

Wissenschaftliche Grundlagen, Stand und Perspektiven der Plasmamedizin

Thomas von Woedtke, Anke Schmidt, Sander Bekeschus, Kristian Wende

- 2.1 Einleitung – 18**
- 2.2 Plasmamedizin – ein neues Feld medizinischer Forschung und Anwendung – 18**
- 2.3 Wissenschaftliche Grundlagen der Plasmamedizin – 19**
 - 2.3.1 Grundlegende Mechanismen der biologischen Plasmawirkung – 20
 - 2.3.2 Risikoabschätzung – 24
 - 2.3.3 Zellbiologische Grundlagen der plasmaunterstützten Wundheilung – 25
- 2.4 Perspektiven und aktuelle Herausforderungen der Plasmamedizin – 27**
- 2.5 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen – 29**
 - Literatur – 30**

2.1 Einleitung

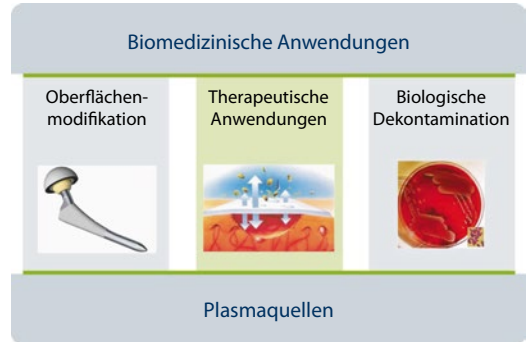
Plasmamedizin ist die Bezeichnung für ein neues Forschungsgebiet an der Schnittstelle zwischen Physik und Lebenswissenschaften, das seit einigen Jahren international einen erheblichen Aufschwung erfährt.

➤ Inhalt und Ziel der Plasmamedizin ist die Nutzung physikalischer Plasmen für medizinische Anwendungen.

Der Versuch einer Systematisierung biomedizinischer Anwendungen von physikalischem Plasma führt zur Einteilung in drei Anwendungsfelder, die nicht scharf voneinander zu trennen sind (■ Abb. 2.1).

Die in der Technik vielfach genutzten Möglichkeiten der plasmabasierten Oberflächenmodifikation werden etwa seit den 1960er Jahren zur Gestaltung und Optimierung biorelevanter Oberflächen genutzt. So kann durch Plasmabehandlung die Biokompatibilität bzw. Biofunktionalität von Medizinprodukten wie z. B. Implantaten verbessert werden. Labormaterialien und -geräte, die z. B. zur Zellkultivierung oder zur Analytik biologischer Flüssigkeiten eingesetzt werden, erhalten durch Plasmabehandlung ihre gewünschte Funktionalität. (d'Agostino et al. 2005).

Ein weiteres, ebenfalls seit den 1960er Jahren intensiv beforschtes Gebiet ist die Verwendung von Plasma zur Inaktivierung bzw. Abtötung von Mikroorganismen. Die etablierten Sterilisations- und Desinfektionsverfahren, die auf der Anwendung hoher Temperaturen, radioaktiver Strahlung oder der Einwirkung hochreaktiver und meist toxischer Chemikalien beruhen, sind für viele Produkte und Einsatzfelder in Hygiene und Medizin nicht anwendbar. Hier bietet Plasma eine vielversprechende Alternative, zumal inzwischen bekannt ist, dass mit Plasma Mikroorganismen und Viren nicht nur inaktiviert oder abgetötet werden können, sondern organisches Material auch vollständig entfernt werden kann. Dies eröffnet angesichts von in den letzten Jahren neu entdeckten infektionsübertragenden Proteinen (z. B. Prionen), die mit herkömmlichen Sterilisations- und Dekontaminationsverfahren nicht angreifbar sind, völlig neue Perspektiven für Plasmaanwendungen in der



■ Abb. 2.1 Biomedizinische Anwendungsfelder von physikalischem Plasma

Hygiene und Infektionskontrolle. Hinzu kommt, dass bisher keine Resistenzbildungen von Mikroorganismen gegen die Wirkung von Plasma bekannt geworden sind und Plasma auch gegen multiresistente Mikroorganismen wirksam ist (Moreau et al. 2008; Daeschlein et al. 2012, 2014).

Diese beiden medizinischen Anwendungsfelder können auch als indirekte Plasmaanwendungen klassifiziert werden, da hierbei Materialien oder Produkte durch Plasmabehandlung mit Eigenschaften bzw. Qualitäten versehen werden, die ihre anschließende medizinische Anwendung unterstützen oder überhaupt erst ermöglichen. Darüber hinaus können für diese Anwendungsfelder auch sog. Niederdruckplasmen eingesetzt werden, wobei die Plasmaerzeugung in abgeschlossenen Kammern bei extrem niedrigem Druck in der Nähe des Vakuums und damit unter sehr kontrollierten Bedingungen erfolgt.

2.2 Plasmamedizin – ein neues Feld medizinischer Forschung und Anwendung

➤ Das zentrale und neue medizinische Anwendungsfeld, die Plasmamedizin im eigentlichen oder engeren Sinne, zielt auf die direkte Anwendung physikalischer Plasmen am oder im menschlichen (oder tierischen) Organismus zum Zweck der Erzielung oder Unterstützung therapeutischer Effekte ab.

Die Anwendung von Plasma direkt am menschlichen Körper ist nicht neu. Dabei sind historische Verfahren wie die Verwendung sog. Hochfrequenzstrahlapparate („violet ray machines“) seit den 1920er Jahren (Bauer et al. 1928; zit. in Weltmann et al. 2012) oder die elektrotherapeutische Zeileis-Methode eher obskure medizinische Plasmaanwendungen, für die es keinerlei wissenschaftliche Grundlagen gibt und die schon sehr früh mit Skepsis betrachtet wurden (Burger 1933).

Insbesondere seit den 1990er Jahren haben Techniken zur stabilen und kontrollierbaren Erzeugung von Plasmen bei Atmosphärendruck und niedrigen Temperaturen unter normalen Umgebungsbedingungen (kalte Atmosphärendruckplasmen) erhebliche Fortschritte erfahren. Damit wurden wesentliche Voraussetzungen für die Intensivierung der Forschung zu therapeutischen Plasmaanwendungen geschaffen, da hier Anwendungen unter vakuumnahen Druckverhältnissen ausgeschlossen sind.

Zu den fest in der medizinischen Praxis etablierten Beispielen für die direkte therapeutische Anwendung von Atmosphärendruckplasmen gehören verschiedene Verfahren der Elektrophysik, für die die Bezeichnung Plasmamedizin bisher noch nicht verwendet wurde. Dabei handelt es sich wie bei der Argon-Plasma-Koagulation (APC) um Verfahren zum Trennen oder Abtragen von Gewebe oder zur Blutstillung (Kauterisation), die auf der Basis thermischer Plasmaeffekte zur gezielten und exakt lokalisierbaren Nekrotisierung von Gewebe führen (Raiser u. Zenker 2006). Auf thermischen Plasmaeffekten beruhen auch in der Kosmetik und der ästhetischen Chirurgie eingesetzte plasmabasierte Verfahren zur Faltenentfernung und Hautregeneration (Foster et al. 2008; Bentkover 2012).

Mit der zunehmenden Verfügbarkeit kalter Atmosphärendruckplasmen eröffneten sich Möglichkeiten der direkten Plasmaanwendung am oder im menschlichen (oder tierischen) Körper bei gewebeträchtigen Temperaturen unter 40 °C.

- **Für die therapeutische Anwendung von Plasma in der Medizin kommen kalte Atmosphärendruckplasmen („cold atmospheric plasma“, CAP) zum Einsatz.**

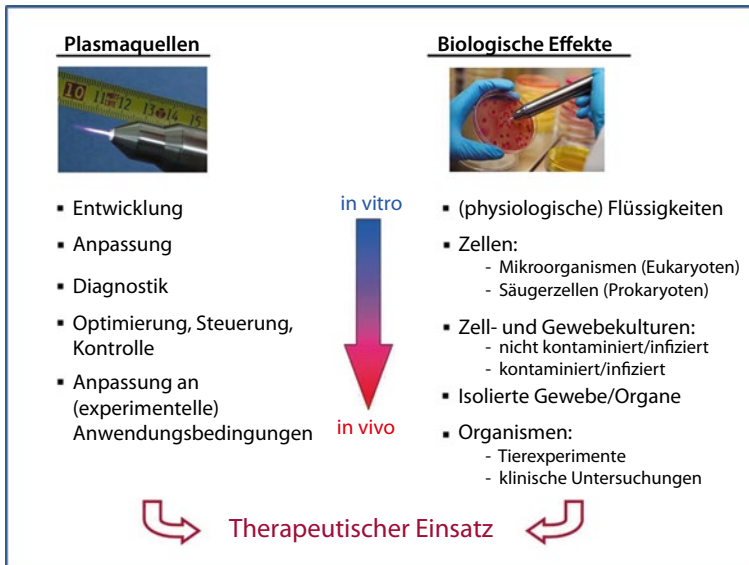
Der Beginn der modernen Plasmamedizin kann insbesondere im Zusammenhang mit experimentellen Arbeiten der Gruppe um Eva Stoffels an der Technischen Universität Eindhoven in den Niederlanden in der ersten Hälfte der 2000er Jahre verortet werden. Es wurde gezeigt, dass die Einwirkung eines kalten Atmosphärendruckplasmas auf kultivierte Zellen eine reversible Herauslösung dieser Zellen aus ihrem Zellverband bzw. eine Ablösung von der für die Zellkultivierung verwendeten Unterlage bewirkt, ohne die Zellen selbst abzutöten. Damit wurde erstmals der Nachweis einer selektiven, nichtletalen Manipulation lebender Zellen durch Plasma erbracht (Stoffels et al. 2003; Stoffels 2007).

- **Inhalt der aktuellen plasmamedizinischen Forschung ist die Erweiterung der bisher bekannten letalen, Mikroorganismen, Zellen und Gewebe abtötenden oder zerstörenden Effekte von Plasma um nichtletale Plasmawirkungen, d. h. um selektive Beeinflussungen spezifischer zellulärer Funktionen, um so über die Mikroorganismenabtötung und Gewebeerstörung bzw. -versiegelung hinausgehende medizinische Anwendungsmöglichkeiten zu eröffnen.**

2.3 Wissenschaftliche Grundlagen der Plasmamedizin

- **Die plasmamedizinische Forschung umfasst sowohl die Grundlagenforschung zur Aufklärung der Mechanismen von biologischen Plasmaeffekten als auch die anwendungsorientierte Forschung zur Identifizierung von möglichen Einsatzfeldern in der medizinischen Praxis.**

Durch eine systematische, parallele und miteinander eng vernetzte und abgestimmte Forschungsarbeit auf dem Gebiet der Plasmaphysik einerseits und der Chemie, Biologie und Medizin andererseits ist es möglich, über die Aufklärung von Wirkungsmechanismen plasmainduzierter biologischer Effekte Optionen für therapeutische Plasmaanwendungen zu identifizieren und systematisch zu



▣ **Abb. 2.2** Plasmamedizinische Forschung: kombinierte und eng aufeinander abgestimmte plasmaphysikalische und biomedizinische Forschung

eröffnen und zugleich möglichst frühzeitig potenzielle unerwünschte Effekte zu erkennen und zu minimieren bzw. gänzlich zu vermeiden (▣ **Abb. 2.2**) (Weltmann u. von Woedtke 2011a).

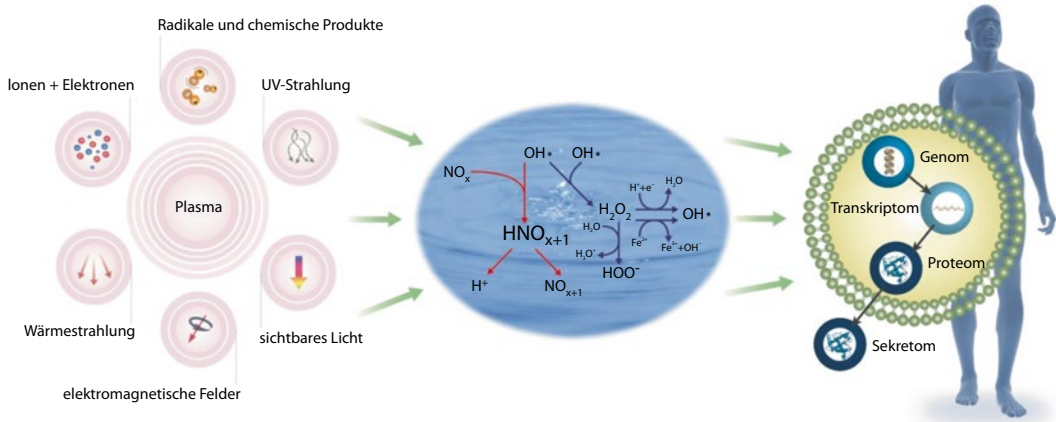
2.3.1 Grundlegende Mechanismen der biologischen Plasmawirkung

Es gibt eine Vielzahl von für medizinische Anwendungen potenziell geeigneten Plasmaquellen, die sich hinsichtlich der Art der Plasmaerzeugung, der Geometrie der Plasmaquelle oder der verwendeten Arbeitsgase und somit auch in der Plasmazusammensetzung unterscheiden und dementsprechend in ihren Anwendungseigenschaften variieren (Weltmann et al. 2010, 2012; Weltmann u. von Woedtke 2011b; Park et al. 2012).

Die Identifizierung und Quantifizierung der im jeweiligen Plasma vorhandenen wirksamen Komponenten bildet die Grundlage für die Lösung einer der aktuell wichtigsten Aufgaben der experimentellen Plasmamedizin: die detaillierte Aufklärung der Mechanismen der Auslösung biologischer Effekte durch Plasmaeinwirkung auf lebende Systeme.

Ausgangspunkt für jedwede biologische Wirkung ist die physikalische Erzeugung eines Plasmas unter Atmosphärenbedingungen. Für die Generierung der in ▣ **Abb. 2.3** dargestellten Plasmakomponenten lassen sich die folgenden drei Grundvorgänge verallgemeinern:

1. Ionisation von Atomen oder Molekülen eines selbst nicht unmittelbar wirksamen Gases (Edelgase wie Argon und Helium, Gasmischungen mit Sauerstoff, Stickstoff und Luft, Luft als Arbeitsgas), bevorzugt durch Zufuhr elektrischer Energie
2. Wechselwirkung der ionisierten Atome/Moleküle und freien Elektronen mit anderen Atomen oder Molekülen in der Plasmaphase sowie aus angrenzenden Medien (v. a. atmosphärische Luft, aber auch Flüssigkeiten und Oberflächen), wodurch sog. angeregte (reaktive) Spezies generiert werden
3. Emission elektromagnetischer Strahlung (UV/VUV, sichtbares Licht, Infrarot-/Wärmestrahlung, elektromagnetische Felder) als zusätzliches Ergebnis der stattfindenden Ionisierungs- und Anregungsprozesse



■ **Abb. 2.3** Kalte Atmosphärendruckplasmen wirken über flüssige Phasen und redoxaktive Spezies auf die Zellbiologie

Nachdem die Untersuchung biologischer Plasmaeffekte zunächst speziell auf Mikroorganismen mit dem Ziel der Charakterisierung und Nutzung antimikrobieller Wirkungen ausgerichtet war, wird seit etwa 10 Jahren zunehmend Grundlagenforschung zu nichtletalen Plasmawirkungen auf Säugetierzellen betrieben, was sich in einer steigenden Zahl wissenschaftlicher Publikationen auf diesem Gebiet äußert.

Dabei werden v. a. die in ■ **Tab. 2.1** durch Einwirkung kalter Atmosphärendruckplasmen induzierten zellulären Effekte *in vitro* beschrieben (von Woedtke et al. 2013a, 2014).

Alle diese Beobachtungen hängen in Art und Ausmaß von diversen Parametern ab, u. a. vom getesteten Zelltyp, der Zellumgebung (Art/Zusammensetzung des Nährmediums für die Zellkultivierung), der verwendeten Plasmaquelle und den damit verbundenen Unterschieden in der Plasmazusammensetzung und den experimentellen Anwendungsmodalitäten sowie der Einwirkungszeit. Auch Säugetierzellen zeigen, so wie Mikroorganismen, sehr unterschiedliche Sensitivitäten gegenüber physikalischem Plasma.

Die Tatsache jedoch, dass mit im Einzelnen sehr unterschiedlichen Plasmaquellen ähnliche biologische Effekte generiert werden können, führte zu der grundsätzlichen Annahme, dass biologische Plasmaeffekte auf einheitliche Grundwirkungsmechanismen zurückzuführen sind.

Der gegenwärtige Kenntnisstand lässt sich in den folgenden beiden zentralen Aussagen zum Wirkungsmechanismus kalter Atmosphärendruckplasmen zusammenfassen (■ **Abb. 2.3**):

- Biologische Plasmaeffekte werden zu einem erheblichen Teil über Veränderungen der flüssigen Zellumgebung vermittelt.
- Biologische Plasmaeffekte basieren überwiegend auf der Wirkung von redoxaktiven Spezies (reaktive Sauerstoffspezies, ROS; reaktive Stickstoffspezies, RNS/RONS; ■ **Tab. 2.2**), die aus der Plasma-/Gasphase in die flüssige Zellumgebung eingetragen und/oder durch Plasmabehandlung in der flüssigen Phase generiert werden.

Kalte Atmosphärendruckplasmen beeinflussen über temporär und lokal erhöhte Konzentrationen von redoxaktiven Spezies (ROS, RNS/RONS; ■ **Tab. 2.2**) in der flüssigen Zellumgebung die zelluläre Redoxbalance (Graves 2012, 2014a). Dieser Einfluss resultiert nach bisherigem Kenntnisstand aus komplexen Interaktionen der aktiven Plasmabestandteile.

■ Tab. 2.1 Effekte kalter Atmosphärendruckplasmen

Letale Effekte	Nichtletale Effekte	
Inaktivierung/Abtötung von Mikroorganismen (prokaryotische Zellen) einschließlich antibiotikaresistente Mikroorganismen	Beeinflussung/Stimulation des Stoffwechsels von Mikroorganismen (prokaryotische Zellen)	
Inaktivierung oder Zerstörung von Säugetierzellen (eukaryotische Zellen) einschließlich Krebszellen in Abhängigkeit von der Intensität (Zeit) der Plasmaeinwirkung; Seneszenz → Apoptose → Nekrose)	Spezifische/selektive Effekte auf Säugetierzellen (eukaryotische Zellen)	Beeinflussung der Zellmigration
		Beeinflussung der Expression von u. a. für Zell-Zell- und Zell-Matrix-Wechselwirkungen verantwortlichen Proteinen auf Zelloberflächen
		Beeinflussung/Stimulation der Zellproliferation
		Beeinflussung/Stimulation der Angiogenese
		Reversible Einwirkungen auf die DNA, Einfluss auf den Zellzyklus
		Reversible Permeabilisierung von Zellmembranen („Plasma-poration“)
		Nichtthermische Blutkoagulation

Besonders bedeutsam ist die Tatsache, dass Modifikationen der zellulären Redoxumgebung infolge einer Plasmabehandlung grundsätzlich durch dieselben ROS und RNS/RONS verursacht werden, die auch im menschlichen Körper im Rahmen des normalen Zellstoffwechsels produziert werden und wichtige Funktionen bei der Steuerung und Vermittlung physiologischer und pathologischer Prozesse haben.

Die Beeinflussbarkeit der zellulären Redoxbalance durch Plasma unterscheidet sich in verschiedenen Zellarten. Im Zellkulturmodell zeigten Jurkat-T-Lymphozyten die größte Empfindlichkeit gegenüber kaltem Atmosphärendruckplasma, während andere Zellen der Haut (humane Zelllinien wie MRC5-Fibroblasten, HaCaT-Keratinocyten, THP1-Monozyten) außerordentlich robust waren (Wende et al. 2014a). Diese Effekte in den Hautzellen beruhen auf Redoxveränderungen, die v. a. durch sauerstoffbasierte Radikale und durch Wasserstoffperoxid verursacht werden (Schmidt et al. 2013a, 2015a; Bekeusch et al. 2013a, 2014, 2015).

Aus diesen in der Redoxbiologie verankerten Erkenntnissen ergeben sich wesentliche praktische Konsequenzen für die medizinische Anwendung kalter Atmosphärendruckplasmen:

- Die als wirksame Komponenten kalter Plasmen identifizierten redoxaktiven Spezies spielen auch eine wichtige Rolle im Rahmen von physiologischen Wundheilungsprozessen. Damit ist die wissenschaftliche Basis für das Konzept der plasmaunterstützten Wundheilung gegeben. Die Plasmawirkung beruht somit auf der Unterstützung körpereigener Funktionen, welche – etwa im Fall nicht heilender chronischer Wunden – durch krankheitsbedingte Störungen selbst nicht ausreichend wirksam werden können.
- Aufgrund des physiologischen Vorkommens dieser Spezies können erhöhte Konzentrationen durch körpereigene Systeme wirksam entgiftet werden, und zwar lokal und zeitlich begrenzt. Damit ist unter normalen Bedingungen davon auszugehen, dass das mit einem Eintrag dieser ROS und RNS/RONS in das Gewebe einhergehende Nebenwirkungsrisiko außerordentlich gering ist.
- Die unterschiedliche Sensitivität verschiedener Zellarten ermöglicht selektive Plasmawirkungen.

Tab. 2.2 Wichtige reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies. (Nach Fang 2004)

Reaktive Sauerstoffspezies (ROS)	Reaktive Stickstoffspezies (RNS/RONS)
Superoxid: $O_2^{\cdot -}$	Stickstoffmonoxid: $\cdot NO$
Wasserstoffperoxid: H_2O_2	Stickstoffdioxid: $\cdot NO_2$
Hydroxylradikal: $\cdot OH$	Peroxynitrit: $ONOO^{\cdot -}$
Singulett-Sauerstoff: 1O_2	
Ozon: O_3	
Organische Radikale: $RO\cdot$, $RO_2\cdot$	

Bei der Aufrechterhaltung der zellulären Redoxbalance wirken zahlreiche Antioxidantien, Redoxsensoren, Redoxenzyme, aber auch verschiedene Reparaturmechanismen mit. Dies wurde mithilfe von Transkriptom- und Proteomanalysen experimentell nachgewiesen. Bei geringer Intensität der Plasmaeinwirkung wird die zelluläre Redoxbalance stimuliert. Dies führt zu erhöhter antioxidativer Kapazität sowie ggf. zur Einleitung von Reparaturprozessen. Diese auch als Hormesis bezeichnete Wirkungskinetik wird aktuell in der Redoxbiologie als Wirkprinzip redoxaktiver Spezies diskutiert (Ristow u. Schmeisser 2014; Graves 2014a). Hormetische Effekte sind dadurch gekennzeichnet, dass geringe Dosen von Substanzen eine positive, stimulierende Wirkung auf den Organismus haben können, bei höheren Dosen jedoch schädigende Wirkungen überwiegen (Calabrese u. Baldwin 2003).

Wird die Kapazität der zellulären Redoxbalance überschritten, kommt es zu einer Anhäufung von Zellschäden, die – können sie nicht beseitigt werden – zum Auslösen des programmierten Zelltods (Apoptose) führen.

Generell bestimmt die Menge und Aktivität der radikalabbauenden Enzyme und die Fähigkeit zur Reparatur von DNA- bzw. Proteinmodifikationen, wie die Zellen auf eine Plasmabehandlung reagieren. Weiterhin ist die Plasmasensitivität von der Zellteilungsrate abhängig: Zellen mit einer kurzen Verdopplungszeit sind sensibler gegenüber

der Plasmaeinwirkung als Zellen, die sich nur sehr langsam vermehren.

Übertragen auf mit kaltem Atmosphärendruckplasma induzierbare biologische Effekte bedeutet das:

- **Geringe Behandlungsintensitäten/
Einwirkungszeiten kalter Atmosphärendruckplasmen führen zur Stimulation von Zellen.**
- **Höhere Behandlungsintensitäten/
Einwirkungszeiten kalter Atmosphärendruckplasmen führen zur Inaktivierung/
Abtötung von Zellen.**

Ein solcher Wirkungszusammenhang konnte wiederholt experimentell demonstriert werden. So wurde unter Verwendung eines In-vitro-Wundheilungsmodells mit respiratorischen S9-Epithelzellen eine von der Plasmabehandlungszeit abhängige Stimulation der Zellproliferation und Beschleunigung des Verschlusses artifizieller Wunden in vitro bis zum Erreichen eines Optimums gezeigt. Eine weitere Verlängerung der Einwirkungszeit führte demgegenüber zu einer Reduzierung bis hin zu einer vollständigen Blockade des Wundverschlusses (Lendeckel et al. 2015). Bei ex vivo mit Plasma behandelten humanen Hautbiopsien konnte mit steigender Plasmabehandlungszeit zunächst ein zunehmender Anteil proliferierender Zellen nachgewiesen werden, der bei weiterer Verlängerung der Plasmabehandlung zugunsten eines steigenden Anteils apoptotischer Zellen zurückging (Hasse et al. 2015).

Dieser Stand der Grundlagenforschung ist Ausgangspunkt für weitere Arbeiten zur detaillierten Aufklärung von intrazellulären Reaktionskaskaden und Wirkungsmechanismen. Insbesondere vom Einsatz moderner biologischer Verfahren der Genom-, Proteom- und Metabolomanalyse ist ein erheblicher Erkenntnisfortschritt zu erwarten. Auf der extrazellulären Seite stellt die Analytik reaktiver Spezies, v. a. von Radikalen sowohl in der Plasma- bzw. Gasphase als auch in der flüssigen Zellumgebung, eine besondere Herausforderung dar, deren spezifische Erfassung aufgrund ihrer Reaktionsfreudigkeit und damit häufig verbundenen Kurzlebigkeit schwierig zu realisieren ist.

2.3.2 Risikoabschätzung

Aufgrund des klinischen Anwendungsbezugs spielen Fragen der Risikobewertung in der plasmamedizinischen Forschung von Beginn an eine zentrale Rolle (Fridman et al. 2008). Aus der grundlegenden Erkenntnis, dass biologische Plasmaeffekte überwiegend durch redoxaktive Spezies vermittelt werden, die auch in der normalen Zellphysiologie eine Rolle spielen, ergibt sich die generelle Annahme, dass zelluläre antioxidative Schutzmechanismen (Dröge 2002) auch gegen die Plasmaeinwirkung wirksam sein sollten.

Eine zentrale Rolle in der Regulation und Aufrechterhaltung der zellulären Redoxbalance spielt der Transkriptionsfaktor Nrf2 (Bryan et al. 2013; Ma 2013). Er ist verantwortlich für die Aktivierung der durch das Antioxidant-Response-Element (ARE) vermittelten Expression von Genen für die Transkription von protektiv wirksamen Proteinen. Im Grundzustand befindet sich Nrf2 im Zytosol in einer inaktiven Form, gebunden in einem speziellen Proteinkomplex (u. a. Keap1). Infolge der Einwirkung redoxaktiver Spezies wird Nrf2 freigesetzt, kann in den Zellkern diffundieren und bindet dort mit einem weiteren regulatorischen Protein (Maf) an das Antioxidant-Response-Element (ARE) auf der DNA.

In einer experimentellen Studie konnte unter Verwendung von menschlichen Keratinozyten nachgewiesen werden, dass genau diese Translokation von Nrf2 aus dem Zytosol in den Zellkern infolge Plasmaeinwirkung stattfindet (Schmidt et al. 2015a). Ergebnis einer solchen Aktivierung des Nrf2-Signalwegs ist der Schutz der betroffenen Zelle vor schädigenden Wirkungen redoxaktiver Spezies sowie die Prävention der dadurch verursachten gentoxischen Effekte.

Um eine mögliche gentoxische Wirkung von Atmosphärendruckplasma auszuschließen, wurden OECD-Standardmethoden zur Erfassung der Mutagenität chemischer oder physikalischer Noxen (OECD 1997) eingesetzt.

Im HPRT1-Test werden männliche Säugetierzellen verwendet (V79-Zellen, Hamster), die nur eine funktionelle Kopie für die Kodierung eines bestimmten Enzyms aus der DNA-Synthese besitzen. Wird diese durch eine erbgutverändernde Substanz zerstört, können die Zellen das toxische

Nukleosid-Analogon 6-Thioguanin (6-TG) nicht nutzen und überleben im Gegensatz zu Zellen mit intakter DNA im Selektivmedium mit 6-TG. In zwei unabhängigen experimentellen Studien hat dieser Test keine gesteigerte Mutationsrate durch Plasmabehandlung ergeben (Boxhammer et al. 2013; Wende et al. 2016). Die Zugabe einer bekanntermaßen mutagenen Substanz (Ethylmethansulfonat) erzeugt demgegenüber eine deutliche Reaktion, ebenso wie UV-B-Strahlung, die für ihre mutagene Wirkung bekannt ist. Auch mit Wasserstoffperoxid war keine erhöhte Mutationsrate zu messen. Bereits an anderer Stelle (Kramer et al. 2008a) wurde für das vergleichsweise stabile und über lange Jahre in der medizinischen Anwendung etablierte redoxaktive Wasserstoffperoxid festgestellt: „Keine Einstufung bezüglich karzinogenem Risiko, da die Substanz im normalen Stoffwechsel gebildet und entgiftet wird.“

Der Mikronukleus-Test ist ebenfalls eine OECD-476/1997-Standardmethode und basiert auf der Detektion von fehlerhaften Kernteilungen im Zuge der Mitose von eukaryotischen Zellen. Dadurch werden z. B. Chromosomenbrüche oder Störungen am Zentromer sichtbar gemacht. Zwei unabhängige Studien zeigten zum einen an humanen Hautzellen, zum anderen an Hühnerembryoerythrozyten kein erhöhtes Auftreten von Mikronuklei nach der Anwendung von Argonplasmajets (Wende et al. 2016; Gärtner 2015). Die Verwendung von Kontrollsubstanzen (UV-B-Strahlung, Methotrexat, Mitomycin C) löste demgegenüber die Bildung von Mikronuklei aus. Eine genotoxische Wirkung der untersuchten Plasmaquellen kann somit weitgehend ausgeschlossen werden.

Es ist also davon auszugehen, dass durch das Plasma über die flüssige Zellumgebung in die Zelle eingetragene redoxaktive Spezies durch zelleigene Systeme wirkungsvoll entgiftet werden können. Wird dieses zelluläre antioxidative Potenzial überschritten, kann es durchaus zu Schädigungen auch im Bereich der DNA kommen, die jedoch nicht in gentoxischen Effekten resultieren, sondern entweder repariert werden können oder aber zur Induktion der Apoptose, des programmierten Zelltods, führen (Wende et al. 2014b).

Mögliche zytotoxische Wirkungen des Plasmas auf die Haut wurden anhand von Hautbiopsien ex

vivo untersucht. Histologisch konnten keine epidermalen Schädigungen gezeigt werden. Ebenso wurde keine Erhöhung eines Markers (Cytochrom C) für physikalisch geschädigte Zellen (wie es z. B. bei thermischer Wirkung der Fall wäre) gefunden. Der Anteil andersartig geschädigter Zellen (Apoptose) unterschied sich nicht im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen. Schließlich konnten auch keine Doppelstrangbrüche – die ein Indiz für eine mögliche Mutagenität des Plasmas wären – gefunden werden (von Woedtke et al. 2013b; Hasse et al. 2014, 2015).

Diese experimentellen Ergebnisse wurden in einer klinischen Langzeituntersuchung bestätigt, bei der 6 sowie 12 Monate nach Induktion von oberflächlichen Hautwunden und nachfolgender Plasmabehandlung die behandelten Hautareale analysiert wurden. In insgesamt 15 plasmabehandelten Hautarealen (5 Probanden) wurden keinerlei Anzeichen für präkanzerogene Gewebeeränderungen gefunden (Metelmann et al. 2013).

In einer anderen klinischen Langzeituntersuchung zur Plasmaanwendung zur Dekontamination chronischer Wunden konnten nach mehr als 1 300 Plasmaanwendungen an 150 Patienten keinerlei unerwünschte Nebeneffekte festgestellt werden (Heinlin et al. 2011).

Diese Erkenntnisse, die kontinuierlich durch weitere Ergebnisse der Grundlagenforschung untermauert und ausgebaut werden, geben berechtigten Anlass zu der grundsätzlichen Aussage:

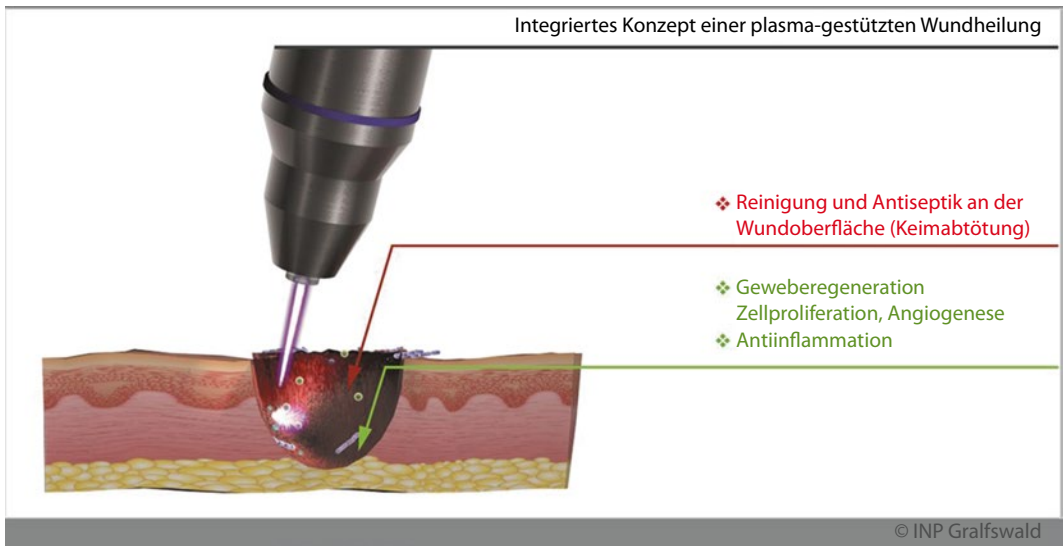
➤ **Die medizinische Anwendung kalter Atmosphärendruckplasmen ist sicher!**

2.3.3 Zellbiologische Grundlagen der plasmaunterstützten Wundheilung

Ausgangspunkt für die Suche nach möglichen medizinischen Plasmaanwendungen war zunächst die bekannte Wirksamkeit von Atmosphärendruckplasmen zur Abtötung von Mikroorganismen. Dies führte zu der Idee der Plasmaanwendung für antiseptische Maßnahmen bspw. im Rahmen der Therapie schlecht heilender chronischer Wunden. Erkenntnisse der Grundlagenforschung führten

dann sehr schnell zu der Hypothese, dass mittels einer Plasmaanwendung die Wundheilung nicht nur über eine Verminderung der bakteriellen Kolonisation bzw. Beseitigung der Wundinfektion unterstützt werden kann, sondern dass darüber hinaus auch eine direkte Stimulation der Regeneration von verletztem Gewebe durch Plasma möglich sein könnte. Aus dieser Hypothese wurde das integrierte Konzept der plasmaunterstützten Wundheilung entwickelt, das eine Reinigung und Antiseptik an der Wundoberfläche mit einer Stimulierung der Gewebeneubildung in der Tiefe verbinden soll (Abb. 2.4) (plasmatis Initiative Group 2008; Kramer et al. 2008b; Lloyd et al. 2010).

Eine defekte Wundheilung stellt Patienten wie Kliniken vor große Herausforderungen. Trotz ihrer häufig unterschiedlichen Ätiologie sind diese Wunden durch eine gestörte Synchronität einzelner Prozesse der Wundheilung, durch Wundinfektionen, Flüssigkeitsansammlungen, Wundrandnekrosen, überschießende Gewebeneubildung sowie durch eine gesteigerte Proteinase- und Zytokinausschüttung gekennzeichnet (Pastar et al. 2014). Proteinasen zerstören den Aufbau der extrazellulären Matrix und inhibieren Migrationsvorgänge von Fibroblasten und Keratinozyten, die wiederum für eine erfolgreiche Reepithelialisierung in den späten Phasen der Wundheilung essenziell sind. Neben der damit einhergehenden Verringerung des Wundverschlusses wird außerdem eine erhöhte Anzahl an Immunzellen detektiert (Portou et al. 2015). Im Allgemeinen werden Immunzellen aus dem Blut und dem umliegenden Gewebe in die Wunde gelockt und verlängern die inflammatorische Phase der Wundheilung. Die Immunzellpersistenz ist auch in keimarmen, chronischen Wunden präsent, und es ist nicht abschließend geklärt, ob sie die Ursache oder Folge schlecht heilender Wunden ist. Es verdichten sich Hinweise, dass eine fehlgeleitete Redoxbalance in den Zellen aller Hautschichten das Züngeln an der inflammatorischen Waage sein könnte. Das Prinzip der Redoxbalance beschreibt eine Homöostase oxidativer und reduzierender Prozesse in Zellen und Geweben. Durch enzymatische oder nichtenzymatische Abwehrmechanismen werden reaktive Moleküle und Radikale eliminiert, die per se in der Atmungskette des zellulären Stoffwechsels sowie bei Entzündungen generiert werden (Giorgiou 2015).



■ **Abb. 2.4** Prinzip der plasmaunterstützten Wundheilung

Lange wurde angenommen, dass reaktive Spezies ausschließlich zellschädigende Wirkungen vermitteln. Heute weiß man jedoch, dass sie in Abhängigkeit von ihrer Konzentration neben ihren pathophysiologischen Effekten essenziell für zelluläre Prozesse sind (Circu u. Aw 2010; Ray et al. 2012). Unter physiologischen Bedingungen liegen geringe Konzentrationen an reaktiven Spezies vor, die strengen Kontrollmechanismen unterliegen, ein wichtiger Bestandteil intrazellulärer Signalkaskaden sind und zentrale Funktionen in der Zell-Zell-Kommunikation, der Zelladhäsion, -proliferation und -differenzierung übernehmen. Besonders das angeborene Immunsystem ist mit diesen Molekülen assoziiert, die in diesem System als antipathogene Komponenten und zur Kontrolle des Signalnetzwerks dienen.

Mit kaltem Atmosphärendruckplasma können redoxaktive Spezies (ROS, RNS/RONS) gezielt und lokal in das Gewebe appliziert werden und auf diese Weise Redoxprozesse gezielt modulieren. Aus der Literatur ist bekannt, dass alle Zellen eines Wundgebiets u. a. durch Redoxprozesse koordiniert werden (Sen u. Roy 2008; Sen 2009).

➤ **Das Konzept der redoxbasierten Wundtherapie bildet eine wichtige wissenschaftliche Basis für plasmaunterstützte Wundheilung.**

Die Wundheilungsphasen werden maßgeblich durch Immunmediatoren, sog. Zytokine, sowie Wachstumsfaktoren orchestriert (Werner u. Grose 2003). Eine Plasmaanwendung resultierte in kultivierten Zellen in einer gesteigerten Genexpression wundheilungsrelevanter Faktoren wie Oxidoreduktasen und Matrixmetalloproteinasen, verschiedener Zytokine und Wachstumsfaktoren (Barton et al. 2013; Schmidt et al. 2013a,b, 2015a). Geringe Plasmabehandlungsintensitäten (Einwirkungszeiten) erhöhten außerdem die Zellproliferation, die u. a. auf einer ROS-vermittelten Ausschüttung des Fibroblasten-Wachstumsfaktors FGF2 beruht (Kalghatgi et al. 2010; Bekeschus et al. 2013a; Bundscherer et al. 2013a,b).

In chronischen Wunden dominiert ein proinflammatorisches Milieu, mit erhöhten Konzentrationen an Interleukinen und Zytokinen (Mast u. Schultz 1996). Kaltes Atmosphärendruckplasma verringerte die Produktion von Zytokinen in aktivierten humanen Leukozyten, während gleichzeitig antiinflammatorische Mediatoren wie IL 10 und TGF β – beide mit gut heilenden Wunden assoziiert – in T-Lymphozyten vermehrt gebildet wurden (Bekeschus 2015). Zeitgleich erfolgte eine verstärkte Sekretion des hochinflammatorischen IL 8, welches v. a. neutrophile Granulozyten anlockt. Kaltes Atmosphärendruckplasma erzeugt also keine monodirektional pro- oder antiinflammatorische

Zytokinsignatur, sondern verändert die Qualität der Entzündungsreaktion. Eine solche Graduierung erscheint wichtig, denn die topische Applikation von antientzündlichen Zytokinen wie TGF β zeigte bisher nur wenig vielversprechende Ergebnisse in der Heilung chronischer Wunden (Barrientos et al. 2008).

Für Wundheilungsprozesse ist die Kommunikation zwischen den Zellpopulationen über die sog. Zell-Zell-Kontakte von großer Bedeutung, da sie Veränderungen der Migration, Proliferation und Inflammation vermitteln (Brandner et al. 2004). Plasma beeinflusst die Expression einer Vielzahl von Adhärenz- und Migrationsmolekülen (Haertel et al. 2012, 2014; Schmidt et al. 2015b).

Die wenigen, bisher durchgeführten Studien zur Plasmabehandlung von Immunzellen zeigen vielversprechende Ergebnisse. In isolierten Lymphozyten des humanen peripheren Blutes induzierte Plasma bereits nach geringer Behandlungszeit Apoptose. Dieser Effekt war ähnlich in zytotoxischen und T-Helfer- sowie B-Lymphozyten und auch in den als negative Regulatoren der Wundheilung beschriebenen NKT-Zellen (Bekeschus et al. 2013a). Zeitgleich wurden im Verhältnis zu anderen Lymphozyten nur wenige $\gamma\delta$ -T-Zellen apoptotisch. Diesen Zellen werden wundheilungsfördernde Eigenschaften zugeschrieben (Jameson et al. 2004).

In Wunden kann kaltes Atmosphärendruckplasma durch gezieltes Einbringen redoxaktiver Spezies selektiv Hautzellen stimulieren und Lymphozyten schädigen, während regulatorische Monozyten nur wenig betroffen wären. Infizierte chronische Entzündungen erfordern eine Aktivierung des adaptiven Immunsystems, um mittelfristig die Erreger mit hochspezifischen Antikörpern zu bekämpfen. Kaltes Atmosphärendruckplasma induzierte zwar in einem Teil der T-Helfer-Zellen Apoptose, blockierte jedoch nicht die für eine Immunantwort wichtige Fähigkeit zur Zellteilung in den verbliebenden vitalen Zellen (Bekeschus et al. 2013b). Gleichzeitig proliferierten mit Plasma behandelte, aber nichtmitogen-stimulierte Zellen nicht, – eine unspezifische Stimulation einer Immunantwort durch Kaltplasma fand also nicht statt. Auch wenn weiterhin Forschungsbedarf über die detaillierten Mechanismen der Plasmawirkung in der Wundheilung besteht, bestätigen bisherige Studien grundsätzlich das Potenzial der Plasmamedizin für therapeutische Anwendungen.

2.4 Perspektiven und aktuelle Herausforderungen der Plasmamedizin

In einem Workshop in Greifswald im April 2012 wurde von den damals in Deutschland auf dem Gebiet der klinischen Plasmamedizin tätigen Akteuren ein Konsensuspapier zum Stand und den Perspektiven der klinischen Plasmamedizin erarbeitet, in dem konstatiert wird, dass aufgrund des schon damals erreichten Standes der klinischen Forschung Plasmaanwendungen in der Dermatologie sowie der plastischen und ästhetischen Chirurgie die höchsten Erfolgsaussichten haben. Dabei stehen die Nutzung antimikrobieller Plasmaeffekte, die plasmaunterstützte Stimulierung der Geweberegeneration sowie entzündungsmodulierende Plasmawirkungen im Fokus möglicher therapeutischer Indikationen (Emmert et al. 2013). Diese Einschätzung ist grundsätzlich nach wie vor zutreffend und wird mittlerweile durch zunehmende klinische Erfahrungen bestätigt.

Nachdem der therapeutische Einsatz kalter Atmosphärendruckplasmen in der Wundheilung jahrelang die plasmamedizinische Forschung dominierte, hat sich mittlerweile ein weiteres großes Feld in der plasmamedizinischen Grundlagenforschung etabliert: die Erforschung von Möglichkeiten zur Plasmaanwendung in der **Krebsbehandlung**. Ausgangspunkt dafür ist die mittlerweile vielfach publizierte, auf diversen In-vitro-Experimenten basierende Erkenntnis, dass kaltes Atmosphärendruckplasma in der Lage ist, auch in Krebszellen die Einleitung der Apoptose zu induzieren (Schlegel et al. 2013; Ratovitski et al. 2014). Auch hier spielen die durch die Plasmabehandlung in die flüssige Zellumgebung eingebrachten redoxaktiven Spezies eine zentrale Rolle (Graves 2014b). In einem In-vivo-Tumormodell konnte experimentell demonstriert werden, dass eine Behandlung mit kaltem Atmosphärendruckplasma die oberen Zellschichten solider Tumoren über die Einleitung der Apoptose inaktiviert (Partecke et al. 2012). Darüber hinaus wurde in Tierexperimenten an subkutan induzierten soliden Tumoren gezeigt, dass transkutane Plasmabehandlungen zur Reduzierung des Tumorwachstums und zur Verlängerung der Überlebenszeit der behandelten Mäuse im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen

führten (Keidar et al. 2011; Vandamme et al. 2012). Aus diesen Forschungsergebnissen ergeben sich neue und erfolgversprechende Optionen eines zukünftigen Plasmaeinsatzes in der Krebstherapie. Die experimentell demonstrierte Möglichkeit der Inaktivierung einzelner Schichten von Krebszellen würde eine unterstützende Plasmaanwendung in Kombination mit chirurgischen Eingriffen ermöglichen in Fällen, wo eine großräumige Tumorentfernung nicht möglich ist. Die Option eines unmittelbaren Plasmaeinsatzes zur Verkleinerung bzw. vollständigen Entfernung solider Tumoren, wie es in ersten Tierexperimenten demonstriert wurde, bedarf weitergehender Grundlagenforschung. Hier muss insbesondere geklärt werden, ob und auf welche Weise eine Tiefenwirkung des Plasmas zu erzielen ist.

Ein weiteres aktuelles Forschungsgebiet der Plasmamedizin ist die Anwendung **plasmabehandelter Flüssigkeiten**. Im Zusammenhang mit den bereits erwähnten Forschungsarbeiten, die zur Identifizierung der Schlüsselrolle der flüssigen Zellumgebung für die Vermittlung biologischer Plasmaeffekte führte, wurde festgestellt, dass eine Plasmabehandlung von Flüssigkeiten dazu führt, dass diese vorübergehend selbst biologisch wirksam werden. Dies wurde zunächst am Beispiel der antimikrobiellen Aktivität plasmabehandelter Kochsalzlösung demonstriert (Oehmigen et al. 2011). Mittlerweile konnte auch gezeigt werden, dass plasmabehandeltes Zellkulturmedium ebenfalls in der Lage ist, Krebszellen in die Apoptose zu führen, woraus sich mögliche Optionen für die Behandlung disseminierter Tumoren bspw. in der Bauchhöhle ergeben könnten (Utsumi et al. 2013; Tanaka et al. 2015). Dieses auch als Plasmapharmazie bezeichnete Gebiet der plasma-basierten Herstellung, Optimierung oder Stabilisierung wirkstoffhaltiger Flüssigkeiten ist derzeit noch im Stadium der Grundlagenforschung (von Woedtker et al. 2013c).

Ebenso lange wie die Forschung zur plasma-unterstützten Wundheilung ist die Anwendung von Plasma in der **Zahnmedizin** Gegenstand wissenschaftlicher Untersuchungen. Hier steht v. a. die antimikrobielle Plasmawirkung einschließlich der Entfernung von Biofilmen sowie die plasma-basierte Reinigung und Optimierung von Zahn- und Implantatoberflächen zur Verbesserung des

Einwachsverhaltens im Mittelpunkt des medizinischen Interesses (Cha u. Park 2014). Eine Einführung in die klinische Praxis ist bisher nicht erfolgt.

Ein bisher wenig bearbeitetes, aber ebenfalls erfolgversprechendes Einsatzgebiet für kalte Atmosphärendruckplasmen ist die **Ophthalmologie**, hier ebenfalls speziell die Nutzung antimikrobieller Plasmaeffekte zur Infektionsbehandlung (Martines et al. 2013).

Insgesamt steht die Plasmamedizin noch am Anfang eines allerdings sehr erfolgversprechenden Weges in die klinische Anwendung. Die Anwendung kalter Atmosphärendruckplasmen zur Unterstützung der Wundheilung ist mittlerweile klinische Realität. Aus den zunehmenden klinischen Erfahrungen ergeben sich **neue Fragestellungen**, so z. B. zur Dauer bzw. Intensität der Einzelbehandlung und zur Dauer und Frequenz von Plasmabehandlungszyklen, die Grundlagenforschung und anwendungsbezogene klinische Forschung gemeinsam zu bearbeiten und zu beantworten haben werden.

Auch wenn die Plasmaanwendung grundsätzlich als sicher eingeschätzt werden kann, steht in enger Verbindung mit dem zunehmenden klinischen Einsatz weiterhin die anwendungsbegleitende und auf spezifische Anwendungsfelder bezogene Forschung zu potenziellen Risiken und Nebenwirkungen des medizinischen Einsatzes kalter Atmosphärendruckplasmen.

Die Beobachtung, dass sich biologische Effekte kalter Atmosphärendruckplasmen auch in tieferen Schichten behandelter Hautbiopsien oder in soliden Tumoren nachweisen lassen, führt zu der aktuellen Fragestellung, ob und ggf. über welche Mechanismen sich Wirkungen in räumlicher Entfernung zum eigentlichen lokalen Behandlungsareal oder sogar systemische Effekte nachweisen und u. U. nutzen lassen.


Die medizinisch nutzbare Wirkung kalter Atmosphärendruckplasmen resultiert aus der komplexen Wechselwirkung verschiedener Plasmakomponenten mit flüssigen Phasen in der Umgebung der zu behandelnden Zellen und Gewebe. Dies macht die besondere Qualität und Einzigartigkeit der Plasmamedizin aus. Daraus ergibt sich jedoch auch eine der größten **Herausforderungen** für die plasmamedizinische Forschung: die Identifizierung eines

Parameters zur Steuerung und Kontrolle der Plasmawirksamkeit im Sinn einer „Dosis“, wie sie etwa in der Photo- und Strahlentherapie üblich ist. Derzeit erfolgt die Steuerung und Kontrolle der Plasmabehandlung über die Einwirkungszeit. Da die für die Erreichung eines bestimmten biologischen Effektes erforderliche Behandlungszeit in Abhängigkeit von der verwendeten Plasmaquelle sehr variieren kann, ist einerseits eine Vergleichbarkeit von Forschungsergebnissen nur sehr eingeschränkt möglich. Andererseits ergibt sich daraus auch die gegenwärtige Einschränkung, dass eine geräteunabhängige Angabe von Behandlungsintensitäten („Behandlungsdosen“) bisher nicht möglich ist.

2.5 Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Die Plasmamedizin ist auf dem Gebiet der Unterstützung der Wundheilung mittlerweile in der klinischen Praxis angekommen. Der medizinische Einsatz kalter Atmosphärendruckplasmen basiert auf Ergebnissen solider Grundlagenforschung. Nach gegenwärtigem Forschungsstand kann die therapeutische Plasmaanwendung als sicher eingeschätzt werden. Aus der fortgesetzten Grundlagenforschung ergeben sich medizinische Anwendungsoptionen insbesondere auf dem Gebiet der Krebsbehandlung.

Das Besondere und Einzigartige kalter Atmosphärendruckplasmen in der Medizin kann in den folgenden drei Punkten zusammengefasst werden:

1. Die im Plasma enthaltenen Wirkkomponenten ( [Abb. 2.3](#)) werden lokal am Ort und nur für die erforderliche Zeit der Anwendung primär durch einen physikalischen Prozess, die Zufuhr elektrischer Energie, aus an sich nicht direkt wirksamen Gasen (Argon, Helium, Sauerstoff, Stickstoff, Luft oder Gemischen daraus) generiert.
2. Die hauptsächlich biologisch aktiven Plasmakomponenten, die in die flüssige

Zellumgebung eingetragen oder dort generierten redoxaktiven Spezies, sind dieselben, die auch in normalen physiologischen bzw. pathophysiologischen Prozessen in der Zelle agieren. Sie sind aufgrund ihrer Wirksamkeit nur begrenzt stabil und können daher nicht durch konventionelle pharmazeutische Präparate, sondern nur in statu nascendi durch Plasmaanwendung zur Wirkung gebracht werden.

3. Aufgrund ihrer physiologischen Natur sowie aufgrund ihrer lokalisierten und zeitlich begrenzten Generierung über genau lokalisierte Plasmaanwendungen können die wirksamen redoxaktiven Substanzen über Prozesse des regulären Zellmetabolismus entgiftet werden, wodurch potenzielle Risiken der medizinischen Plasmaanwendung einschätzbar und kontrollierbar sind.

Aufgrund der hohen Dynamik der plasmamedizinischen Forschung während der letzten Jahre und der damit verbundenen zunehmenden Sichtbarkeit auch in öffentlichen Medien werden hohe Erwartungen auf der Seite von Patienten und Ärzten geweckt, mit der Plasmamedizin innovative Therapiewerkzeuge für bisher nicht oder nur unbefriedigend gelöste klinische Probleme in die Hand zu bekommen. Trotz der Neuheit des Forschungsfelds lässt sich bereits ein erhebliches ökonomisches Potenzial prognostizieren, das sich auch in beginnenden wirtschaftlichen Interessen widerspiegelt. Daher liegt bei den auf dem Gebiet der Plasmamedizin tätigen Forschern und Geräteentwicklern eine hohe Verantwortung, einerseits auf solider wissenschaftlicher Basis möglichst zur zügigen Erfüllung derartiger Erwartungen beizutragen, andererseits aber nicht mit voreiligen Versprechungen und ungenügend getesteten Plasmaquellen und Anwendungsoptionen falsche Hoffnungen zur kurzfristigen Lösung einer Vielzahl medizinischer Probleme zu wecken und damit mittelfristig die Plasmamedizin in Misskredit zu bringen (Emmert et al. [2013](#)).

Literatur

- d'Agostino R, Favia P, Oehr C, Wertheimer MR (2005) Low-temperature plasma processing of materials: past, present, and future. *Plasma Process Polym* 2: 7–15
- Barrientos S, Stojadinovic O, Golinko MS, Brem H, Tomic-Canic M (2008) Growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Rep Regen* 16: 585–601
- Barton A, Wende K, Bundscherer L, Hasse S, Schmidt A, Bekeschus S, Weltmann KD, Lindequist U, Masur K (2013) Non-thermal Plasma Increases Expression of Wound Healing Related Genes in a Keratinocyte Cell Line. *Plasma Med* 3: 125–136
- Bauer, Faulhaber, Kober (1928) *Der Hochfrequenzstrahlapparat. Sein Wesen und seine Anwendung.* Verlag Dr. H. Stock, München
- Bekeschus S (2015) Effects of Cold Physical Plasma on Human Leukocytes. Dissertation, Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät der Ernst-Moritz-Arndt Universität Greifswald
- Bekeschus S, von Woedtke T, Kramer A, Weltmann KD, Masur K (2013a) Cold physical plasma treatment alters redox balance in human immune cells. *Plasma Med* 3: 267–278
- Bekeschus S, Masur K, Kolata J, Wende K, Schmidt A, Bundscherer L, Barton A, Kramer A, Bröker B, Weltmann KD (2013b) Human Mononuclear Cell Survival and Proliferation is Modulated by Cold Atmospheric Plasma Jet. *Plasma Process Polym* 10: 706–713
- Bekeschus S, Kolata J, Winterbourn C, Kramer A, Turner R, Weltmann KD, Bröker B, Masur K (2014) Hydrogen peroxide: A central player in physical plasma-induced oxidative stress in human blood cells. *Free Radical Res* 48: 542–549
- Bekeschus S, Iséni S, Reuter S, Masur K, Weltmann KD (2015) Nitrogen shielding of argon plasma jet and its effects on human immune cells. *IEEE Trans Plasma Sci* 43: 776–781
- Bentkover SH (2012) Plasma Skin Resurfacing: Personal Experience and Long-Term Results. *Facial Plast Surg Clin North America* 20: 145–162
- Boxhammer V, Li YF, Körtitz J, Shimizu T, Maisch T, Thomas HM, Schlegel J, Morfill GE, Zimmermann JL (2013) Investigation of the mutagenic potential of cold atmospheric plasma at bactericidal dosages. *Mutat Res-Gen Tox* 753: 23–28
- Brandner JM, Houdek P, Hüsing B, Kaiser C, Moll I (2004) Connexins 26, 30, and 43: differences among spontaneous, chronic, and accelerated human wound healing. *J Invest Dermatol* 122: 1310–1320
- Bryan HK, Olayanju A, Goldring CE, Park BK (2013) The Nrf2 cell defence pathway: Keap1-dependent and -independent mechanisms of regulation. *Biochem Pharmacol* 85: 705–717
- Bundscherer L, Bekeschus S, Tresp H, Hasse S, Reuter S, Weltmann KD, Lindequist U, Masur K (2013a) Viability of Human Blood Leukocytes Compared with Their Respective Cell Lines after Plasma Treatment. *Plasma Med* 3: 71–80
- Bundscherer L, Wende K, Ottmüller K, Barton A, Schmidt A, Bekeschus S, Hasse S, Weltmann KD, Masur K, Lindequist U (2013b) Impact of non-thermal plasma treatment on MAPK signaling pathways of human immune cell lines. *Immunobiology* 218: 1248–1255
- Burger H (1933) The doctor, the quack and the appetite of the public for magic in medicine. *P Roy Soc Med* 27: 171–176
- Calabrese EJ, Baldwin LA (2003) Hormesis: The dose-response revolution. *Annu Rev Pharmacol* 43: 175–197
- Cha S, Park YS (2014) Plasma in dentistry. *Clin Plasma Med* 2: 4–10
- Circu ML, Aw TY (2010) Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis. *Free Radical Bio Med* 48: 749–762
- Daeschlein G, Scholz S, Emmert S, von Podewils S, Haase H, von Woedtke T, Jünger M (2012) Plasma medicine in Dermatology: Basic antimicrobial efficacy testing as prerequisite to clinical plasma therapy. *Plasma Med* 2: 33–69
- Daeschlein G, Napp M, von Podewils S, Lutze S, Emmert S, Lange A, Klare I, Haase H, Gümbel D, von Woedtke T, Jünger M (2014) In Vitro Susceptibility of Multidrug Resistant Skin and Wound Pathogens Against Low Temperature Atmospheric Pressure Plasma Jet (APPJ) and Dielectric Barrier Discharge Plasma (DBD). *Plasma Process Polym* 11: 175–183
- Dröge W (2002) Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev* 82: 47–95
- Emmert S, Isbary G, Klutschke F, Lademann J, Westermann U, Podmelle F, Metelmann HR, Daeschlein G, Masur K, von Woedtke T, Weltmann KD (2013) Clinical Plasma Medicine – Position and Perspectives. *Clin Plasma Med* 1: 3–4
- Fang FC (2004) Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: Concepts and controversies. *Nat Rev Microbiol* 2: 820–832
- Foster KW, Moy RL, Fincher EF (2008) Advances in plasma skin regeneration. *J Cosmet Dermatol* 7: 169–179
- Fridman G, Friedman G, Gutsol A, Shekhter AB, Vasilets VN, Fridman A (2008) Applied Plasma Medicine. *Plasma Process Polym* 5: 503–533
- Gärtner S (2015) Genotoxizitätsuntersuchung von atmosphärischem Niedertemperaturplasma anhand des Micronucleustests am angebrüteten Hühnerrei. Inauguraldissertation, Universitätsmedizin der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
- Giorgiou M (2015) Oxidative stress and the unfulfilled promises of antioxidant agents. *ecancer* 9: 556
- Graves DB (2012) The emerging role of reactive oxygen and nitrogen species in redox biology and some implications for plasma applications to medicine and biology. *J Phys D Appl Phys* 45: 263001
- Graves DB (2014a) Oxy-nitroso shielding burst model of cold atmospheric plasma therapeutics. *Clin Plasma Med* 2: 38–49
- Graves DB (2014b) Reactive Species from Cold Atmospheric Plasma: Implications for Cancer Therapy. *Plasma Process Polym* 11: 1120–1127
- Haertel B, Hähnel M, Blackert S, Wende K, von Woedtke T, Lindequist U (2012) Surface molecules on HaCaT kerati-

- nocytes after interaction with non-thermal atmospheric pressure plasma. *Cell Biol Int* 36: 1217–1222
- Haertel B, von Woedtk T, Weltmann KD, Lindequist U (2014) Physical plasma – possible application in wound healing. *Biomol Ther* 22: 477–490
- Hasse S, Hahn O, Kindler S, von Woedtk T, Metelmann HR, Masur K (2014) Atmospheric Pressure Plasma Jet Application on Human Oral Mucosa Modulates Tissue Regeneration. *Plasma Med* 4: 117–1129
- Hasse S, Tran T, Hahn O, Kindler S, Metelmann HR, von Woedtk T, Masur K (2015) Induction of proliferation of basal epidermal keratinocytes by cold atmospheric pressure plasma. *Clin Exp Dermatol* 41: 202–209
- Heinlin J, Isbary G, Stolz W, Morfill G, Landthaler M, Shimizu T, Steffes B, Nosenko T, Zimmermann JL, Karrer S (2011) Plasma applications in medicine with a special focus on dermatology. *J Eur Acad Dermatol* 25: 1–11
- Jameson JM, Sharp LL, Witherden DA, Havran WL (2004) Regulation of skin cell homeostasis by gamma delta T cells. *Front Biosci* 9: 2640–2651
- Kalghatgi S, Friedman G, Fridman A, Morss Clyne A (2010) Endothelial Cell Proliferation is Enhanced by Low Dose Non-Thermal Plasma Through Fibroblast Growth Factor-2 Release. *Ann Biomed Eng* 38: 748–757
- Keidar M, Walk R, Shashurin A, Srinivasan P, Sandler A, Dasgupta S, Ravi R, Guerrero-Preston R, Trink B (2011) Cold plasma selectivity and the possibility of a paradigm shift in cancer therapy. *Brit J Cancer* 105: 1295–1301
- Kramer A, Reichwagen S, Heldt P, Widulle H, Nürnberg W (2008a) 45. Oxidanzien, 45.3.1. Wasserstoffperoxid. In: Kramer A, Assadian O (Hrsg) *Wallhäußers Praxis der Sterilisation, Desinfektion, Antiseptik und Konservierung*, Thieme, Stuttgart, S 719–725
- Kramer A, Hübner NO, Weltmann KD, Lademann J, Ekkernkamp A, Hinz P, Assadian O (2008b) Polypragmasia in the therapy of infected wounds – conclusions drawn from the perspectives of low temperature plasma technology for plasma wound therapy. *GMS Krankenhaushyg Interdisziplin* 3: Doc13
- Lendeckel D, Eymann C, Emicke P, Daeschlein G, Darm K, O’Neil S, Beule AG, von Woedtk T, Völker U, Weltmann KD, Jünger M, Hosemann W, Scharf C (2015) Proteomic Changes of Tissue-Tolerable Plasma Treated Airway Epithelial Cells and Their Relation to Wound Healing. *Bio-Med Res Int*: 06059
- Lloyd G, Friedman G, Jafri S, Schultz G, Fridman A, Harding K (2010) Gas plasma. Medical uses and developments in wound care. *Plasma Process Polym* 7: 194–211
- Ma Q (2013) Role of Nrf2 in oxidative stress and toxicity. *Annu Rev Pharmacol* 53: 401–426
- Martines E, Brun P, Brun P, Cavazzana R, Deligianni V, Leonardi A, Tarricone E, Zuin M (2013) Towards a plasma treatment of corneal infections. *Clin Plasma Med* 1(2): 17–24
- Mast BA, Schultz GS (1996) Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds. *Wound Repair Regen*. 4: 411–420
- Metelmann HR, Vu TT, Do HT, Le TNB, Hoang THA, Phi TTT, Luong TML, Doan VT, Nguyen TTH, Nguyen THM, Le DQ, Le TKX, von Woedtk T, Bussiahn R, Weltmann KD, Khalili R, Podmelle F (2013) Scar formation of laser skin lesions after cold atmospheric pressure plasma (CAP) treatment: A clinical long term observation. *Clin Plasma Med* 1: 30–35
- Moreau M, Orange N, Feuilloley MGJ (2008) Non-thermal plasma technologies: new tools for bio-decontamination. *Biotechnol Adv* 26: 610–617
- OECD (1997) Test No. 476: In vitro Mammalian Cell Gene Mutation Test. Guidelines for the Testing of chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris. doi: <http://dx.doi.org/10.1787/9789264071322-en>
- Oehmigen K, Winter J, Hähnel M, Wilke C, Brandenburg R, Weltmann KD, von Woedtk T (2011) Estimation of Possible Mechanisms of Escherichia coli Inactivation by Plasma Treated Sodium Chloride Solution. *Plasma Process Polym* 8: 904–913
- Park GY, Park SJ, Choi MY, Koo IG, Byun JH, Hong JW, Sim JY, Collins GJ, Lee JK (2012) Atmospheric-pressure plasma sources for biomedical applications. *Plasma Sources Sci Technol* 21: 043001
- Partecke LI, Evert K, Haugk J, Doering F, Normann L, Diedrich S, Weiss FU, Evert M, Hübner NO, Guenther C, Heidecke CD, Kramer A, Bussiahn R, Weltmann KD, Pati O, Bender C, von Bernstorff W (2012) Tissue Tolerable Plasma (TTP) induces apoptosis in pancreatic cancer cells in vitro and in vivo. *BMC Cancer* 12: 473
- Pastar I, Stojadinovic O, Yin NC, Ramirez H, Nusbaum AG, Sawaya A, Patel SB, Khalid L, Isseroff RR, Tomic-Canic M (2014) Epithelialization in Wound Healing: A Comprehensive Review. *Adv Wound Care* 3: 445–464
- plasmatis Initiative Group (2008) Declaration of the 1st International Workshop on Plasma Tissue Interactions. *GMS Krankenhaushyg Interdisziplin* 3: Doc01
- Portou MJ, Baker D, Abraham D, Tsui J (2015) The innate immune system, toll-like receptors and dermal wound healing: A review. *Vasc Pharmacol* 71: 31–36
- Raiser J, Zenker M (2006) Argon plasma coagulation for open surgical and endoscopic applications: state of the art. *J Phys D Appl Phys* 39: 3520–3523
- Ratovitski EA, Cheng X, Yan D, Sherman JH, Canady J, Trink B, Keidar M (2014) Anti-Cancer Therapies of 21st Century: Novel Approach to Treat Human Cancers Using Cold Atmospheric Plasma. *Plasma Process Polym* 11: 1128–1137
- Ray PD, Huang BW, Tsui Y (2012) Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal* 24: 981–990
- Ristow M, Schmeisser K (2014) Mitohormesis: Promoting health and lifespan by increased levels of reactive oxygen species (ROS). *Dose-Response* 12: 288–341
- Schlegel J, Köritzer J, Boxhammer V (2013) Plasma in cancer treatment. *Clin Plasma Med* 1(2): 2–7
- Schmidt A, Wende K, Bekešchus S, Bundscherer L, Barton A, Ottmüller K, Weltmann KD, Masur K (2013a) Non-thermal plas-

ma treatment is associated with changes in transcriptome of human epithelial skin cells. *Free Radical Res* 47: 577–592

- Schmidt A, von Woedtke T, Weltmann KD, Masur K (2013b) Identification of the molecular basis of non-thermal plasma-induced changes in human keratinocytes. *Plasma Med* 3: 15–25
- Schmidt A, Dietrich S, Steuer A, Weltmann KD, von Woedtke T, Masur K, Wende K (2015a) Non-Thermal Plasma Activates Human Keratinocytes by Stimulation of Antioxidant and Phase II Pathways. *J Biol Chem* 290: 6731–6750
- Schmidt A, Bekeschus S, von Woedtke T, Hasse S (2015b) Cell migration and adhesion of a human melanoma cell line is decreased by cold plasma treatment. *Clin Plasma Med* 3: 24–31
- Sen CK (2009) Wound healing essentials: Let there be oxygen. *Wound Repair Regen* 17: 1–18
- Sen CK, Roy S (2008) Redox signals in wound healing. *Biochim Biophys Acta* 1780: 1348–1361
- Stoffels E (2007) „Tissue Processing“ with Atmospheric Plasmas. *Contrib Plasma Phys* 47: 40–48
- Stoffels E, Kieft IE, Sladek REJ (2003) Superficial treatment of mammalian cells using plasma needle. *J Phys D Appl Phys* 36: 2908–2913
- Tanaka H, Mizuno M, Ishikawa K, Kondo H, Takeda K, Hashizume H, Nakamura K, Utsumi F, Kajiyama H, Kano H, Okazaki Y, Toyokuni S, Akiyama S, Maruyama S, Yamada S, Kodera Y, Kaneko H, Terasaki H, Hara H, Adachi T, Iida M, Yajima I, Kato M, Kikkawa F, Hori M (2015) Plasma with high electron density and plasma-activated medium for cancer treatment. *Clin Plasma Med* 3: 72–76
- Utsumi F, Kajiyama H, Nakamura K, Tanaka H, Mizuno M, Ishikawa K, Kondo H, Kano H, Hori M, Kikkawa F (2013) Effect of Indirect Nonequilibrium Atmospheric Pressure Plasma on Anti-Proliferative Activity against Chronic Chemo-Resistant Ovarian Cancer Cells In Vitro and In Vivo. *PLOS ONE* 8: e81576
- Vandamme M, Robert E, Lerondel S, Sarron V, Ries D, Dozias S, Sobilo J, Gosset D, Kieda C, Legrain B, Pouvesle JM, Le Pape A (2012) ROS implication in a new antitumor strategy based on non-thermal plasma. *Int J Cancer* 130: 2185–2194
- von Woedtke T, Reuter S, Masur K, Weltmann KD (2013a) Plasmas for medicine. *Phys Rep* 530: 291–320
- von Woedtke T, Metelmann HR, Weltmann KD (2013b) Editorial. *Clin Plasma Med* 1: 1–2
- von Woedtke T, Haertel B, Weltmann KD, Lindequist U (2013c) Plasma pharmacy –physical plasma in pharmaceutical applications. *Pharmazie* 68: 492–498
- von Woedtke T, Metelmann HR, Weltmann KD (2014) Clinical Plasma Medicine: State and Perspectives of in Vivo Application of Cold Atmospheric Plasma. *Contrib Plasma Phys* 54: 104–117
- Weltmann KD, von Woedtke T (2011a) Campus PlasmaMed – From Basic Research to Clinical Proof. *IEEE Trans Plasma Sci* 39: 1015–1025
- Weltmann KD, von Woedtke T (2011b) Basic requirements for plasma sources in medicine. *Eur Phys J Appl Phys* 55: 13807
- Weltmann KD, Kindel E, von Woedtke T, Hähnel M, Stieber M, Brandenburg R (2010) Atmospheric-pressure plasma sources: Prospective tools for plasma medicine. *Pure Appl Chem* 82: 1223–1237
- Weltmann KD, Polak M, Masur K, von Woedtke T, Winter J, Reuter S (2012) Plasma processes and plasma sources in medicine. *Contrib Plasma Phys* 52: 644–654
- Wende K, Reuter S, von Woedtke T, Weltmann KD, Masur K (2014a) Redox-Based Assay for Assessment of Biological Impact of Plasma Treatment. *Plasma Process Polym* 11: 655–663
- Wende K, Straßenburg S, Haertel B, Harms M, Holtz S, Barton A, Masur K, von Woedtke T, Lindequist U (2014b) Atmospheric pressure plasma jet treatment evokes transient oxidative stress in HaCaT keratinocytes and influences cell physiology. *Cell Biol Int* 38: 412–425
- Wende K, Bekeschus S, Schmidt A, Jatsch L, Hasse S, Masur K, von Woedtke T (2016) Risk assessment of a cold argon plasma jet in respect to its mutagenicity. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 798: 48–54

Plasmamedizin

Kaltplasma in der medizinischen Anwendung

Metelmann, H.-R.; von Woedtke, Th.; Weltmann, K.-D.

(Hrsg.)

2016, XXIII, 225 S. 88 Abb., 77 Abb. in Farbe., Softcover

ISBN: 978-3-662-52644-6