

Aus der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie
Direktor: Prof. Dr. med. Steffen Emmert

**Quantifizierung hyperspektraler Gewebeparameter bei der
Kaltplasmabehandlung von Ulcera mixta**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin

der Universitätsmedizin Rostock

vorgelegt von
Ida Maria Wrobel, geb. 05.09.1991 in Olesno, Polen
aus Rostock

Rostock, 2022

Gutachter:

Prof. Dr. med. Steffen Emmert

Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie, Universitätsmedizin Rostock

Prof. Dr. med. Markus Zutt

Dermatologikum Bremen

Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Thomas Fuchsluger

Klinik und Poliklinik für Augenheilkunde, Universitätsmedizin Rostock

Datum der Einreichung: 05.10.2022

Datum der Verteidigung: 18.04.2023

„Żeby być sobą, trzeba być kimś.“

Stanisław Jerzy Lec

Inhaltsverzeichnis

1	Zusammenfassung	1
2	Einleitung.....	2
2.1	Das Ulcus cruris	2
2.1.1	Ulcus cruris venosum.....	3
2.1.2	Ulcus bei Diabetes mellitus (diabetisches Fußsyndrom).....	6
2.1.3	Ulcus cruris arteriosum.....	7
2.2	Kaltplasmatherapie des Ulcus cruris	8
2.3	Hyperspektroskopie zur Messung unterschiedlicher Gewebeparameter....	11
2.4	Fragestellung.....	11
3	Material und Methoden.....	14
3.1	Patientenrekrutierung	14
3.2	Ethikvotum	14
3.3	Geräte, Werkzeuge und Software	15
3.3.1	Die hyperspektrale Gewebekamera TIVITA™ Tissue.....	15
3.3.2	Plasma-Gerät PlasmaDerm®FLEX9060	16
3.3.3	Plasmastrahler kINPen® MED	17
3.3.4	Computergestützte Analyse der generierten Rohdaten	17
3.4	Durchführung der Therapie und Messungen.....	18
3.4.1	Die Plasmabehandlung	18
3.4.2	Der Messvorgang mittels der hyperspektralen Kamera	19
3.5	Statistische Analyse	19
4	Ergebnisse	20
4.1	Wunddarstellung durch die hyperspektrale Kamera.....	20
4.2	Die Gewebeoxygenierung (StO ₂)	20
4.3	Gewebe-Hämoglobin-Index (THI).....	21

4.4	Nahinfrarotperfusionsindex (NPI)	22
4.5	Gewebe-Wasser-Index (TWI).....	23
5	Diskussion	25
5.1	Kurzzeiteffekte der Plasmatherapie lassen sich auch bei Ulcera mixta mit Hilfe einer Spektalkamera darstellen	25
5.1.1	Gewebeoxygenierung	25
5.1.2	Gewebe-Hämoglobin-Index.....	26
5.1.3	Nahinfrarotperfusionsindex	27
5.1.4	Gewebe-Wasser-Index	28
5.2	Hyperspektrale Gewebeparameter allein ermöglichen keine ausreichende Beurteilung des Heilungsverlaufs bei Ulcera mixta über mehrere Behandlungstage (Langzeitverlauf)	29
5.3	Stellenwert einer hyperspektralen Überwachung bei der Behandlung der Ulcera mixta	31
6	Danksagung	34
	Literaturverzeichnis	35

Abkürzungsverzeichnis

ABI	Engl. ankle-brachial index - Knöchel-Arm-Index
CVI	Chronisch-venöse Insuffizienz
DBE	dielektrische Barriereentladung
DFS	diabetisches Fußsyndrom
HSI	Engl. hyperspectral imaging - hyperspektrale Bildgebung
KAP	Kaltes Atmosphärendruckplasma
NIR	Engl. near-infrared - Nahinfrarotbereich der elektromagnetischen Strahlung
NPI	Nahinfrarotperfusionsindex
n.s.	nicht signifikant
pAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
postinterv.	postinterventionell
präinterv.	präinterventionell
PTS	postthrombotisches Syndrom
ROI	Engl. Region of Interest - Bereich von Interesse
slm	Engl. standard liter per minute - Standard-Liter pro Minute
StO₂	Gewebeoxygenierung
THI	Engl. Tissue Hemoglobin Index - Gewebe-Hämoglobin-Index
TWI	Engl. Tissue Water Index - Gewebe-Wasser-Index
VIS	Engl. visible – sichtbarer Bereich der elektromagnetischen Strahlung

1 Zusammenfassung

Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich seit wenigen Jahren mit der Verwendung hyperspektraler Bildgebung im klinischen Alltag. In diesem Zusammenhang untersuchten wir in der vorliegenden Arbeit verschiedene hyperspektrale Gewebeparameter bei Patienten mit Ulcera mixta, die mit Kaltplasma therapiert wurden. Dafür rekrutierten wir 15 Patientinnen und Patienten, die in der Klinik und Poliklinik für Dermatologie der Universitätsmedizin Rostock stationär und tagesklinisch behandelt wurden. Wesentliches Kriterium für den Einschluss der Patienten war ein Ulcusleiden mit gemischter Genese (venös, arteriell, diabetisch). Der Beobachtungszeitraum betrug 3 Behandlungstage. An jedem Behandlungstag wurden dafür die Ulcera mixta vor und nach der Kaltplasmabehandlung mittels der Spektalkamera TIVITA™ Tissue untersucht. Dabei legten wir einen Schwerpunkt auf die zuvor beschriebenen Kurzzeiteffekte der Kaltplasmatherapie, die jedoch bisher noch nicht im Zusammenhang mit Ulcera mixta beschrieben worden sind. Eine weitere Analyse sollte die Frage nach Langzeiteffekten, die sich mit hyperspektraler Bildgebung nachweisen ließen, beantworten.

In unserer Studie konnten wir nachweisen, dass in Folge der Plasmabehandlung der Ulcera mixta die oberflächlichen und tiefen Oxygenierungsparameter (StO₂ und NPI) kurzfristig anstiegen, wobei teilweise Signifikanzniveau erreicht wurde. Einen signifikanten kurzfristigen Anstieg nach Plasmabehandlung konnten wir für den Hämoglobingehalt nachweisen (THI). Bei der Betrachtung des Wassergehaltes im Ulcusbereich (TWI) sahen wir nach jeder Kaltplasmabehandlung eine tendenzielle Abnahme. Beim Vergleich der Gewebeparameter vor der ersten Behandlung mit denen vor der dritten Behandlung konnten keine signifikanten Veränderungen nachgewiesen werden (Langzeiteffekt).

In dieser Studie konnten wir die heilungsfördernden Effekte der Kaltplasmabehandlung für Ulcera mixta mithilfe eines hyperspektralen Kamerasystems nachweisen. Die Einbeziehung hyperspektraler Bildgebung zur Erfassung mikrozirkulatorischer Veränderungen ermöglicht ein erweitertes Monitoring in der Ulcusbehandlung.

2 Einleitung

2.1 Das Ulcus cruris

Ulcera sind akute bis chronische tiefe Substanzdefekte, die in die Dermis oder in die Subkutis reichen. Sie treten meist auf vorgeschädigter Haut auf. Davon abzugrenzen sind Erosionen, die flache, akute oder subakute Wunden durch Verlust des Epithels darstellen.

Die Genese von Erosionen ist eine traumatische oder entzündliche Ablösung der Epidermis, die ohne Narbenbildung abheilt. Ulcera dagegen heilen stets unter Narbenbildung ab, da es durch die tiefer reichende Gewebeerstörung zur Wundheilungsstörung kommt. Die Gewebsschädigung ist bei Ulcera meist hypoxischer und/oder entzündlicher Ursache, kann aber auch infektiös, traumatisch oder iatrogen bedingt sein (Moll 2016).

Die Wundheilung lässt sich grob in die Exsudationsphase, die Granulationsphase und die Epithelisierungsphase unterteilen (Broughton et al. 2006; Emmert et al. 2020). Bei der Exsudationsphase wird die Wundreinigung durch eine Exsudation von Blutplasma gefördert und es kommt zur Einwanderung der Makrophagen und Granulozyten in den Wundbereich. In der Folge bauen diese Zellen nekrotisches Gewebe ab und schaffen ein antimikrobielles Milieu. Daran schließt sich die Granulationsphase, oder auch Proliferationsphase, an. Diese zeichnet sich durch eine Neovaskularisierung und eine Bildung von Granulationsgewebe aus. Abschließend werden in der Epithelisierungsphase (oder Regenerationsphase) Kollagenfasern gebildet und umstrukturiert, weiterhin wandern Epithelzellen vom Wundrand ein und verschließen die Wunde (Emmert et al. 2020).

Die differenzialdiagnostische Klassifizierung des Ulcus nach seiner Pathogenese spielt eine entscheidende Rolle. Hinweise auf die Ulcusursache liefern die Komorbiditäten, Lokalisation, Größe, Form und Randbereich, die Ulcusumgebung sowie die Schmerzsymptomatik (Moll 2016).

Uneins sind sich die verschiedenen Fachgesellschaften bezüglich der Dauer, ab der eine Wunde als chronisch gilt. Die Deutsche Gesellschaft für Kinderchirurgie spricht von einer chronischen Wunde, wenn sie länger als 2–3 Wochen besteht, während die Deutsche Gesellschaft für Wundheilung und Wundbehandlung e.V. das Wort „chronisch“ ab einer fehlenden Abheilung innerhalb von acht Wochen verwendet (Metelmann et al. 2016). Wenn die Ursache für die Entstehung einer Wunde persistiert, kann diese Wunde – auch ohne Beachtung der zeitlich orientierten Definition – als chronisch bezeichnet werden. Dies ist der Fall beispielweise beim Ulcus cruris venosum, beim Ulcus aufgrund einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK), beim diabetischen Fußulcus oder beim Dekubitus (Dissemond 2017).

Die Prävalenz aller Ulcera beträgt unter der erwachsenen Population 1% und 3-5 % unter den über 65-jährigen (Mekkes et al. 2003). Nach aktueller Datenlage leiden in Deutschland etwa 1 Mio. Menschen unter einem chronischen Ulcus cruris unterschiedlicher Genese (Dissemond 2017).

2.1.1 Ulcus cruris venosum

Die chronisch-venöse Insuffizienz (CVI) ist mit ca. 80 % die häufigste Ursache eines chronischen Ulcus cruris. Aufgrund der hohen Prävalenz und des chronischen Verlaufs führt die Erkrankung zu einer sozioökonomischen Belastung des Gesundheitssystems. Etwa 1-2 % des Gesundheitssystembudgets in Europa werden für die Behandlung der Venenerkrankungen ausgegeben (Brehmer et al. 2015). In den meisten Fällen entsteht eine CVI durch ein postthrombotisches Syndrom (PTS), durch eine Varikosis oder eine Gefäßmalformation. Zunehmendes Alter, eine Schwangerschaft, genetische Veranlagung oder stehende Tätigkeiten gelten als prädisponierende Faktoren für eine Varikosis (Dissemond 2017).

Die Einteilung einer CVI kann unterschiedlich erfolgen. Die Klassifikation nach Widmer orientiert sich an klinischen Befunden. Eine ausführlichere Klassifikation ist die CEAP-Klassifikation (clinical condition, etiology, anatomic location, pathophysiology; Tabelle 1), welche die klinischen, ätiologischen, anatomischen und pathophysiologischen Aspekte und Stadien beschreibt (Santler und Goerge 2017).

Allerdings umfasst die CEAP-Klassifikation sämtliche chronischen Venenleiden, welche mit morphologischen und funktionellen Störungen des venösen Systems einhergehen, von Teleangiektasien bis zum Ulcus. Manche der beschriebenen Veränderungen treten auch häufig in der gesunden Bevölkerung auf und stellen eher

ein kosmetisches Problem dar, sodass das Wort „Erkrankung“ nicht zutreffend ist. Hingegen bedeutet die chronisch-venöse Insuffizienz eine funktionelle Störung des Venensystems (Eklöf et al. 2004). Per Definitionem spricht man erst ab dem C3 Stadium von einer CVI, d.h. bei Varikosis und Ödem, das initial noch reversibel sein kann (Santler und Goerge 2017).

Eine CVI äußert sich häufig initial durch das Gefühl schwerer Beine, Schmerzen, Juckreiz, oder nächtliche Wadenkrämpfe (Santler und Goerge 2017). Im fortgeschrittenem Stadium kann es zum Ulcus cruris venosum kommen, welches typischerweise oberhalb oder hinter dem Malleolus medialis auftritt (Dissemond 2017).

Tabelle 1: Stadien der chronisch-venösen Insuffizienz nach Widmer und CEAP (Dissemond 2017)

Widmer-Klassifikation	
Grad	Klinischer Befund
I	Corona phlebectatica paraplantaris, Ödem
II	Trophische Hautveränderungen, z. B. Purpura jaune d’ocre, Stauungsdermatitis, Atrophie blanche, Dermatoliposklerose
III	Ulcus cruris venosum a) abgeheilt b) floride
CEAP-Klassifikation	
C0	Keine sichtbaren Zeichen einer Venenerkrankung
C1	Besenreiser, Teleangiektasien oder retikuläre Venen
C2	Varikose ohne weitere klinische Zeichen einer CVI
C3	Varikose mit Ödem
C4	Varikose mit trophischen Hautveränderungen a) Varikose mit Hyperpigmentierung und/oder Ekzem b) Varikose mit Dermatoliposklerose und/oder Atrophie blanche
C5	Varikose mit abgeheiltem Ulcus cruris venosum
C6	Varikose mit floridem Ulcus cruris venosum

Zur Lokalbehandlung des Ulcus werden Wundverbände eingesetzt. In einer Studie von Palfreyman et. al. wurden unterschiedliche Wundauflagen wie Hydrokolloide, Mullkompressen, Schaumstoffe und Alginat miteinander verglichen. Es konnte keine

signifikante Überlegenheit einer Wundauflage bei Therapie des venösen Ulcus nachgewiesen werden. Daher sollten auch die Kosten der jeweiligen Produkte bei der Auswahl berücksichtigt werden (Palfreyman et al. 2007).

Die medizinische Kompressionstherapie stellt die Grundlage der Therapie der chronischen Venenerkrankungen dar. Sie ist nicht invasiv, leicht in der Anwendung und wirkt dem primären pathophysiologischen Mechanismus der chronischen Venenerkrankung (venöser Reflux und Hypertonus) entgegen. Die Kompressionstherapie ist sowohl in den früheren Stadien als auch beim Vorhandensein eines Ulcus wirksam. Unterstützend können Krankengymnastik und manuelle Lymphdrainage angewendet werden (Santler und Goerge 2017). Wesentliche Kontraindikationen der medizinischen Kompressionstherapie sind fortgeschrittene periphere arterielle Verschlusskrankheit mit einem ABI $<0,5$ (engl. Ankle-brachial-Index, Knöchel-Arm-Index) oder eine dekompensierte Herzinsuffizienz (Rabe et al. 2018).

Zu den invasiven Behandlungsmöglichkeiten gehört beispielweise eine Sklerosierung. Bei der Sklerotherapie wird eine Flüssigkeit (in Deutschland Polidocanol als einzige zugelassene Substanz) in die insuffiziente Vene injiziert. Dies führt zur Entzündungsreaktion am Endothel und schließlich zur lokal begrenzten Thrombosierung (Santler und Goerge 2017).

Ziel der operativen und endovenösen Verfahren ist die Entfernung oder Verödung der insuffizienten Venen. Auch kann durch dieses Verfahren die Refluxquelle vom restlichen System getrennt werden, wodurch sich meist eine deutliche Symptomlinderung ergibt. Die klassische Crossektomie mit Exhairesis ist seit Anfang des 20. Jahrhunderts bekannt und war viele Jahre chirurgischer Standard. Heutzutage spielt die invaginierende Crossektomie mit Exhairesis eine wichtige Rolle, da sie mit weniger Nachblutung als der klassische Eingriff verbunden ist und als weniger traumatisch gilt. Eine alternative operative Behandlungsform ist die CHIVA-Methode, bei der die Hämodynamik des Beinvenensystems verändert wird. Dies geschieht durch selektive Durchtrennung zuführender insuffizienter Gefäße, sodass es zur Entlastung der volumenbelasteten Gefäße kommt.

Auch eine direkte epi- oder subfasziale Ligatur insuffizienter Perforansvenen stellt ein mögliches Therapieverfahren dar. Ebenso kann eine Phlebektomie durchgeführt werden, unter der man die Entfernung einzelner insuffizienter Seitenäste durch kleine

Inzisionen versteht. Diese Verfahren werden häufig in Kombination mit anderen operativen Verfahren verwendet.

Zu den am häufigsten eingesetzten endovenösen thermischen Verfahren gehören die Radiofrequenzablation (RFA) sowie die endovenöse Lasertherapie (EVLV). Diese wurden seit 1999 entwickelt und konnten seitdem verfeinert werden. Sie werden hauptsächlich bei einer Stammveneninsuffizienz angewendet (Santler und Goerge 2017).

2.1.2 Ulcus bei Diabetes mellitus (diabetisches Fußsyndrom)

Die World Health Organization (WHO) bezeichnet alle den Fuß betreffenden Komplikationen des Diabetes mellitus als diabetisches Fußsyndrom (DFS). Im Detail beschreibt die Definition ein „Ulcus des Fußes (distal und einschließlich des Knöchels), das mit einer Neuropathie und einer Ischämie unterschiedlichen Grades und einer Infektion assoziiert ist“ (Tuttolomondo et al. 2015). Im Laufe des Lebens entwickeln etwa 15% der Diabetiker ein diabetisches Fußulcus (Mekkes et al. 2003).

Pathophysiologisch liegt dem diabetischen Fußsyndrom im Wesentlichen die Neuropathie des sensomotorischen und autonomen Nervensystems zugrunde, oft verbunden mit arterieller Minderperfusion durch atherosklerotische Läsionen, die vorwiegend im tibiofibularen Stromgebiet liegen (Mekkes et al. 2003). Wiederkehrende Verletzungen des Fußes mit Durchbrechung der Hautintegrität sind die Folgen der sensomotorischen Neuropathie und stellen eine Eintrittspforte für Keime dar. Ursache der Verletzungen können schlecht passende Schuhe oder eine Fehlbelastung sein. Die autonome Neuropathie führt zur Beeinträchtigung der Schweiß- und Talgdrüsen, sodass die Haut trockener und anfälliger für Fissuren wird (Noor et al. 2015). Diabetische Fußulcera befinden sich vorwiegend an Druckpunkten, besonders auf der Höhe der distalen metatarsalen Gelenke. Die Neuropathie ist bei ca. 60-70% der Ulcuspatienten der alleinige Grund, die Angiopathie bei 15-20% und im Falle von 15-20% liegen beide Schädigungen vor (Mekkes et al. 2003).

Zu den Hauptprinzipien der Behandlung des diabetischen Ulcus gehört die umfassende Druckentlastung der Wunde, ein gründliches chirurgisches Débridement, die Beherrschung möglicher Infektionen und eine Verbesserung des arteriellen Status sowie die Blutzuckerkontrolle. Eine Druckentlastung kann durch orthopädisches Schuhwerk oder einen Entlastungsgips mit Öffnung über der Wunde erzielt werden (Mekkes et al. 2003).

2.1.3 Ulcus cruris arteriosum

Die periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) ist eine häufige Erkrankung und tritt oft zusammen mit kardiorespiratorischen Erkrankungen oder Schlaganfällen auf. Hypertonie, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus und Nikotinabusus spielen bei den atherosklerotischen Umbauvorgängen eine wesentliche Rolle. Die Inzidenz liegt in der Allgemeinbevölkerung bei 7-14% und steigt im höheren Alter an. Die pAVK manifestiert sich klinisch durch eine Claudicatio intermittens, Ruheschmerzen, im fortgeschrittenen Stadium auch eine Gangrän bis hin zum Extremitätenverlust (Williams et al. 2017; Moll 2016). Die Stadieneinteilung erfolgt nach Fontaine (Tabelle 2).

Tabelle 2: Stadieneinteilung der pAVK nach Fontaine (Moll 2016)

Grad	Klinischer Befund
I	arteriosklerotische Gefäßveränderungen ohne klinische Symptome bei Kollateralversorgung
II	Beschwerden bei Belastung, mit typischer Claudicatio intermittens nach unterschiedlich langer Gehstrecke a) schmerzfreie Gehstrecke über 200m b) schmerzfreie Gehstrecke unter 200m
III	Ruheschmerzen
IV	Gangrän unterschiedlichen Ausmaßes und Lokalisation

Die typische Lokalisation des arteriellen Ulcus liegt im Bereich der Zehen. Die Standarddiagnostik bei Verdacht auf das Vorliegen einer pAVK umfasst die klinische Untersuchung, die Palpation der Arterien, die Beurteilung der Hautfarbe und Temperatur (Mekkes et al. 2003). Mittels der Ultraschall-Doppler-Untersuchung der A. dorsalis pedis und A. tibialis posterior ist die Berechnung des Knöchel-Arm-Index (ABI) möglich. Dabei gibt ein Quotient von 0,9–1,2 als normal. Je kleiner der ABI, desto größer ist die Perfusionsstörung. Werte kleiner als 0,9 gelten als Nachweis einer pAVK. Werte unter 0,5 sind aufgrund der hohen Nekrose- und Ulkusgefahr als sehr kritisch zu werten. Werte von deutlich über 1,3 weisen auf eine sog. Mediasklerose hin. Hierbei handelt es sich um sehr starre und inkompressible Gefäßwände (Moll 2016). Therapeutisch steht beim Ulcus cruris arteriosum die Verbesserung der arteriellen Durchblutung im Vordergrund.

Die Deutsche Gesellschaft für Angiologie nennt als primäre Behandlungsziele bei kritischer Extremitätsischämie die Schmerzlinderung, das Abheilen von Ulcera, die Vermeidung von Amputationen und die Verbesserung der Gehfähigkeit und Lebensqualität. Die Revaskularisation hat bei einer kritischen Ischämie höchste Bedeutung, wobei das konkrete Vorgehen interdisziplinär abgestimmt werden soll. Die interventionellen Ergebnisse sind dabei zumindest mittelfristig mit den gefäßchirurgischen Ergebnissen vergleichbar, wobei ein Trend zu interventionellen Verfahren besteht. Ebenfalls indiziert sind Thrombozytenaggregationshemmer (Clopidogrel, ASS) und Statine. Zum Risikofaktorenmanagement gehören außerdem die Nikotinkarenz und eine ausreichende Behandlung von Diabetes mellitus und arterieller Hypertonie. Eine strukturierte Wundbehandlung umfasst das Abtragen von Nekrosen, das Schaffen eines feuchten Wundmilieus und ggf. die Behandlung einer Infektion sowie eine Druckentlastung (Klages et al. 2016).

2.2 Kaltplasmatherapie des Ulcus cruris

Die Plasmamedizin ist ein interdisziplinäres Gebiet und beschäftigt sich mit der therapeutischen Anwendung kalter physikalischer Atmosphärendruckplasmen (KAP). Neben den Aggregatzuständen fest, flüssig und gasförmig, stellt physikalisches Plasma einen vierten Aggregatzustand dar, welcher die höchste Energiedichte besitzt. Erreicht wird dieser Zustand durch die Zufuhr von Energie (beispielsweise elektrische oder thermische) zu einem neutralen Gas, welches dadurch ionisiert wird (Emmert 2015).

Physikalische Plasmen lassen sich grob in thermische und nicht thermische Plasmen unterteilen. Beispielsweise werden thermische Plasmen zur Oberflächenbehandlung und zum Schneiden verschiedener Materialien in der Industrie verwendet. In der Medizin ist das Verfahren der Argon-Plasma-Koagulation (APK) etabliert, welches häufig zur Blutstillung oder Ablation von Gewebe eingesetzt wird.

Demgegenüber stehen nicht thermische oder sogenannte kalte Plasmen, die unter atmosphärischem Druck hergestellt werden. Dieses Plasma stellt eine vielschichtige Mischung aus verschiedenen biologisch aktiven Bestandteilen dar. Dazu gehören reaktive Sauerstoff (ROS)- und Stickstoffspezies (RNS), Ionen und Elektronen, UV-

Strahlung, sichtbares Licht und andere elektromagnetische Felder. Die Komponenten und ihre unterschiedlichen Wirkmechanismen ergänzen sich in ihrer Wirkung auf das Gewebe. So können beispielweise in der Chirurgie die Geräte, welche nicht hitzebeständig sind, mittels Kaltplasma sterilisiert werden.

In der Dermatologie findet die Kaltplasmatherapie Anwendung in der Behandlung von Wunden und entzündlichen Hauterkrankungen, aber auch zur Hautantiseptik und zur Hautregeneration. Bei der Kaltplasmatherapie wirken mehrere Mechanismen in positiver Weise auf die Wundheilung ein. Dazu zählt erstens der starke antimikrobielle Effekt, welcher die bakterielle Kolonisation der Wunde einschränkt. Zweitens hat die Plasmabehandlung eine stimulierende Wirkung auf die Proliferation der Endothelzellen. Beispielweise konnte beobachtet werden, dass bei leichter Temperaturerhöhung auf 38,5° C die Proliferation von Keratinozyten stimuliert wird. Drittens führt die Therapie zum Absenken des pH-Wertes, was dem natürlichen Wundheilungsprozess des Körpers entspricht (Tiede et al. 2014; Boukamp et al. 1988).

Grundsätzlich wird es zwischen indirekten (Plasma-Strahl) und direkten (dielektrische Barriereentladung, DBE) Plasmaquellen unterschieden.

Indirektes Plasma wird produziert, indem konstant Gas durch eine Düse fließt, in der sich eine oder zwei Elektroden unter Spannung befinden. Dabei können unterschiedliche Gase, wie Helium, Argon oder Luft als Gasgemisch, verwendet werden, wodurch sich die Zusammensetzung des Plasmacocktails verändert. Durch einen feinen Plasmastrahl wird das präzise Eindringen in feinere Gewebestrukturen ermöglicht. Dieser Aufbau wird beispielhaft in Abbildung 1 dargestellt.

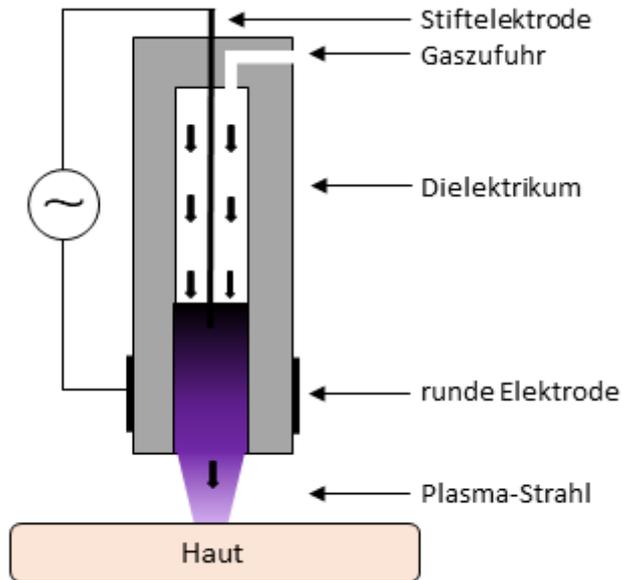


Abbildung 1: Schematischer Aufbau indirekter Quelle (nach Tiede et al. 2014).

Direktes Plasma wird erzeugt, indem eine hohe Spannung (bis zu mehreren kV) über einen kleinen Zwischenraum angelegt wird, wobei wenigstens eine Elektrode mit einem Dielektrikum bedeckt ist. Das biologische Gewebe stellt dabei die Gegenelektrode dar. Zwischen der Elektrode und der Gegenelektrode kommt es zu multiplen Mikroentladungen. Dieses Verfahren sorgt im Vergleich zum indirekten Plasma dafür, dass das behandelte Gewebe einer niedrigeren Plasmadichte ausgesetzt wird (Tiede et al. 2014). Den schematischen Aufbau einer direkten Plasmaquelle zeigt Abbildung 2.

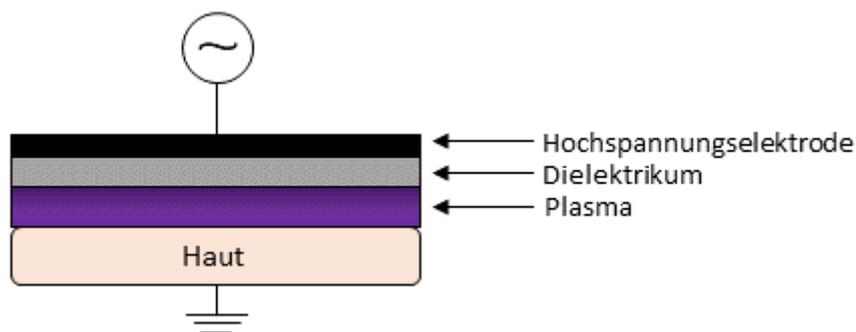


Abbildung 2: Schematischer Aufbau direkter Quelle (nach Tiede et al. 2014).

Ein wichtiger Aspekt ist die thermische Auswirkung der Kaltplasmatherapie, da die Hautzellen bei Temperaturen ab 40° C zu degenerieren beginnen und Abbauprozesse in Gang gesetzt werden (Tiede et al. 2014). Die Temperatur des Plasmas kann jedoch durch Abstand zum behandelten Gewebe und die Eingangsleistung des Gerätes reguliert werden. Beispielweise liegt die Temperatur direkt an der Düse des kINPen® MED-Plasmastrahlers bei 49° C (Einstellung Gasflussrate 5 slm, Eingangsleistung 3 W). Bei einem Abstand von 15 mm zur Düse ist die Temperatur bereits auf 30° C reduziert.

Abschließend sollte erwähnt werden, dass die Kaltplasmatherapie bei korrekter Anwendung harmlos ist, insbesondere in Bezug auf die möglichen Risikofaktoren UV-Strahlung, Temperatur, reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies und Stromleitung (Tiede et al. 2014).

2.3 Hyperspektroskopie zur Messung unterschiedlicher Gewebeparameter

Die wichtige Rolle der Kaltplasmatherapie bei der Versorgung chronischer Wunden wurde im vorherigen Kapitel beschrieben. Ein Aspekt, der jedoch bisher wenig untersucht wurde, ist der Einfluss der Kaltplasmatherapie auf die Mikrozirkulation. Hierfür eignet sich die hyperspektrale Bildgebung (Hyperspectral imaging, HSI), welche eine schnelle und umfassende Analyse der wichtigsten mikrozirkulatorischen Parameter ermöglicht (Daeschlein et al. 2018). Diese Analyse wurde in unserer Studie mit der Spektalkamera TIVITA™ Tissue durchgeführt. Dabei handelt es sich um ein hochintegriertes, hyperspektrales Kamerasystem, welches die nichtinvasive Messung verschiedener Gewebeparameter in Echtzeit ermöglicht. Dazu zählen die Gewebeoxygenierung (StO₂), der Gewebe-Hämoglobin-Index (THI), der Nahinfrarotperfusionsindex (NPI, NIR Perfusion Index) und der Gewebe-Wasser-Index (TWI). Eine ausführliche Schilderung der Funktionsweise der Kamera erfolgt im Abschnitt 3.3.1.

2.4 Fragestellung

In der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie der Universitätsmedizin Rostock werden regelmäßig Patienten mit Beinulcera unterschiedlicher Genese

stationär und tagesklinisch behandelt, wobei ein wesentlicher Bestandteil der Behandlung die Kaltplasmatherapie ist. Entsprechend der Ulcusgenese wurden die Patienten in zwei Kohorten eingeteilt und von unserer Arbeitsgruppe untersucht. Die erste Kohorte umfasste Patienten mit Ulcera crura venosa, in der zweiten Kohorte fassten wir Patienten mit einer Mischgenese ihrer Ulcera (venös, diabetisch, arteriell) als Ulcera mixta zusammen. Bisher jedoch wissen wir wenig über die mikrozirkulatorischen Auswirkungen der Kaltplasmatherapie bei Ulcera mixta.

Daher untersuchten wir in der vorliegenden Arbeit Patienten mit Ulcera mixta mit Hilfe der neuartigen Spektralkamera TIVITA™ Tissue.

Kisch et. al. konnten bei gesunden Personen, deren Unterarmhaut für 90 sec. mit direktem Kaltplasma (DBE) behandelt wurde, mittels des Oxygen-to-see-Systems (Kombination aus Laser-Doppler-Flowmeter und Gewebespektrometer; Lea Medizintechnik, Gießen, Deutschland) nachweisen, dass die Sauerstoffsättigung im Gewebe direkt nach der Behandlung um 24% anstieg und über 8 min signifikant erhöht blieb. Außerdem zeigten sie, dass der kutane Blutfluss um 73% anstieg und über 11 min erhöht blieb (Kisch et al. 2016).

Daeschlein et al. untersuchten mittels HSI die Wirkung der Kaltplasmatherapie sowohl auf ein Ulcus arteriosum als auch auf eine akute Wunde nach Entfernung zervikaler Lymphknoten. Sie konnten zeigen, dass die Kaltplasmatherapie zu einem relevanten Anstieg der Sauerstoffsättigung in oberflächlichen und tiefen Gewebeschichten führte. Bei einer akuten Wunde konnte eine erhöhte Hämoglobinkonzentration im behandelten Wundbereich nachweisen werden (Daeschlein et al. 2018).

Die genannten Arbeiten zeigen beispielhaft, dass Veränderungen verschiedener Gewebeparameter als Effekte der Plasmatherapie bei unterschiedlichen Wunden und auf gesunder Haut bekannt sind und quantifiziert werden können.

Konkret ergaben sich für uns folgende Fragen:

- 1. Lassen sich die bereits zuvor beschriebenen Kurzzeiteffekte der Plasmatherapie bei unseren Patienten mit Ulcera mixta mit Hilfe der Spektralkamera TIVITA™ Tissue reproduzieren?**
- 2. Eignen sich die gewählten Gewebeparameter zur Beurteilung des Heilungsverlaufs über mehrere Behandlungstage (Langzeitverlauf)?**

3. Welchen Stellenwert kann ein hyperspektrales Monitoring in der Behandlung von Patienten mit Ulcera mixta erlangen?

3 Material und Methoden

3.1 Patientenrekrutierung

Für die Studie wurden weibliche und männliche Patienten aus der Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie der Universitätsmedizin Rostock ausgewählt, die sich aufgrund einer Ulcuserkrankung der Beine einer Kaltplasmatherapie unterzogen. Als weiteres Einschlusskriterien galt, dass die Patienten an sogenannten Ulcera mixta litten.

Bei jedem Patienten wurde am ersten, zweiten und dritten Behandlungstag eine Wunddokumentation mittels der Spektralkamera durchgeführt. Der Abstand zwischen dem ersten und zweiten Behandlungstag betrug zwischen 2 und 5 Tage (Median 2 Tage), bzw. zwischen dem zweiten und dritten Behandlungstag 2 bis 21 Tage (Median 3). Ausgeschlossen wurden Patienten, deren Ulcera ausschließlich durch eine CVI verursacht wurden. Die Auswahl umfasste sowohl stationär als auch tagesklinisch behandelte Patienten. Diese wurden mündlich und schriftlich aufgeklärt und willigten schriftlich in die Studienteilnahme ein.

Schließlich konnten 15 Patienten im Alter zwischen 51 und 83 Jahren für die Studie rekrutiert werden, davon 6 weibliche und 9 männliche Patienten.

3.2 Ethikvotum

Die Ethikkommission der Universität Rostock bestätigte am 28.06.2017, dass gegen diese Studie keine berufsrechtlichen und ethischen Bedenken bestehen.

Die Studie ist unter Reg.-Nr.: A 2017-0089 bei der Ärztekammer Mecklenburg-Vorpommern angezeigt.

3.3 Geräte, Werkzeuge und Software

3.3.1 Die hyperspektrale Gewebekamera TIVITA™ Tissue

Das TIVITA™ Tissue System besteht im Wesentlichen aus der hyperspektralen Kamera und der TIVITA™ Suite Basissoftware.

Grundprinzip der TIVITA™ Tissue Kamera ist die Spektroskopie, sodass man von einem bildgebenden Gewebeoxymeter sprechen kann. Die Kamera misst das vom Gewebe reflektierte Licht und ermittelt anhand der aufgenommenen Wellenlängen dessen chemische Zusammensetzung (Beckert 2017).

Das Spektrum der Kamera umfasst die Bandbreite von 500 bis 1000 nm. Damit werden sowohl der sichtbare Bereich der elektromagnetischen Strahlung (VIS, engl. Visible, 400 nm bis 780 nm) als auch Teile des nicht sichtbaren Nahinfrarotbereichs (NIR, 780 nm bis 2500 nm) erfasst (Lu und Fei 2014). Die Kamera berechnet aus den aufgenommenen Spektren des VIS-Bereichs einerseits ein Rot-Grün-Blau-Bild (RGB-Bild), das einem normalen Foto ähnelt, aber mit objektiv vergleichbarer Farbgebung. Andererseits liefert die Analyse des sichtbaren Lichts Informationen über Melanin- und Hämoglobingehalt des Gewebes nahe der Gewebeoberfläche. Ergänzend dazu ermöglicht die Analyse des NIR-Bereichs Rückschlüsse auf die Zusammensetzung tieferer Gewebeschichten, wie etwa Hämoglobin-, Wasser- oder Fettgehalt (Beckert 2017).

Zusammenfassend ist es der Kamera möglich, aus den sichtbaren Anteilen der elektromagnetischen Strahlung die oberflächliche Gewebeoxygenierung und den Gewebe-Hämoglobin-Index, sowie aus den Nahinfrarotanteilen den Nahinfrarotperfusionsindex und den Gewebe-Wasser-Index zu berechnen (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Gewebeparameter der TIVITA™ Tissue (Beckert 2017)

Parameter	Beschreibung
Gewebeoxygenierung (StO ₂)	Laut Herstellerangaben beschreibt der Parameter die relative Sauerstoffsättigung des Blutes im mikrozirkulären System in oberflächlichen Gewebeschichten. Die Eindringtiefe liegt bei ungefähr 1 mm. Der Messbereich liegt zwischen 1-100%.

Gewebe-Hämoglobin-Index (THI, Tissue Hemoglobin Index)	Dieser Parameter ist definiert als die Hämoglobin-Verteilung im mikrozirkulären System des betrachteten Gewebeareals. Es handelt sich um einen Indexwert und keine absolute Größe. Der Messbereich liegt zwischen 1-100.
Nahinfrarotperfusionsindex (NPI, NIR Perfusion Index)	Der Parameter beschreibt die relative Sauerstoffsättigung des Blutes im mikrozirkulären System in tieferen Gewebeschichten, d.h. die Eindringtiefe kann 4 - 6 mm betragen. Der Messbereich liegt ebenfalls zwischen 1-100.
Gewebe-Wasser-Index (TWI, Tissue Water Index)	Der Parameter beschreibt die Wasser-Verteilung im betrachteten Gewebeareal. Es handelt sich um einen Indexwert und keine absolute Größe. Der Messbereich liegt zwischen 1-100.

3.3.2 Plasma-Gerät PlasmaDerm®FLEX9060

Dieses Kaltplasma-Gerät der Firma CINOGY GmbH aus Duderstadt, Deutschland, wurde nach dem Prinzip der dielektrischen Barriereentladung (DBE) entwickelt. Das Gerät ist handlich und mittels Ein-Knopf-Technik leicht in der Anwendung. Das Kaltplasma wird ausschließlich aus der Umgebungsluft erzeugt, weswegen keine zusätzliche Gasversorgung für die Behandlung notwendig ist. Für den Betrieb ist lediglich eine Netzsteckdose (100-240 V) erforderlich.

Die sterile Elektrode in der Größe von 27,5 cm² eignet sich gut für größere Wunden und ist durch einen umgebenden Schwamm flexibel, sodass eine gleichmäßige Auflagefläche während der Behandlung gewährleistet wird. Die empfohlene Dauer der Behandlung beträgt 90 s pro cm² Hautoberfläche. Die Therapie wird durch kontinuierliches Aufsetzen der Elektrode in neue Hautareale fortgeführt (CINOGY System GmbH 2017).

3.3.3 Plasmastrahler kINPen® MED

Dieser Plasmastrahler, oder auch Plasmajet genannt, wird der anderen Gruppe der Plasmaquellen zugeordnet – den indirekten Plasmaquellen. Das Gerät wurde durch die Firma Neoplas med GmbH aus Greifswald, Deutschland, entwickelt.

Zur Erzeugung des Kaltplasmas bei dem Plasmajet wird das Edelgas Argon genutzt. Das Plasma hat eine Temperatur von $< 40^{\circ}$ Celsius und wird durch eine feine Düse kontaktfrei, punktgenau und mit einer kontrollierten Gasflussrate von 5 l/min appliziert. Das Gerät ist einfach in der Anwendung. Die Düse des Plasmajets wird vertikal und mit einer kontinuierlichen Geschwindigkeit von ca. 5 mm/s über die Wunde geführt. Dank eines sterilen Abstandhalters wird der vorgegebene Mindestabstand zur Wunde gewährleistet. Die Wundfläche, die mit dem Plasmajet erfasst und behandelt wird, beträgt ca. 1 cm². Die Behandlungsintensität kann durch die Therapiezeit reguliert werden und sollte ca. 30-60 s/cm² dauern (neoplas med GmbH 2022).

3.3.4 Computergestützte Analyse der generierten Rohdaten

ROI Analysis Tool wurde durch Diaspective Vision GmbH zur Verfügung gestellt. Dieses Programm ermöglicht eine Bearbeitung der zuvor durch die TIVITA™ Suite Software generierten Cube-Dateien. Nach dem Öffnen der Cube-Datei ist es möglich, auf dem RGB-Bild die Wundgrenzen des Ulcus (ROI, Bereich von Interesse) einzuzeichnen (siehe Abbildung 3). Innerhalb dieser Grenzen wird dann für jeden Parameter (StO₂, THI, NPI und TWI) der Mittelwert berechnet und als CSV-Datei abgelegt.



Abbildung 3: Beispielhafte Darstellung der Markierung des Ulcus mittels ROI Analysis Tool.

3.4 Durchführung der Therapie und Messungen

Die Messungen mit der hyperspektralen Kamera wurden direkt vor (präinterventionell) und nach (postinterventionell) der jeweiligen Plasmabehandlung durchgeführt.

3.4.1 Die Plasmabehandlung

Die Behandlung wurde am liegenden Patienten durchgeführt. Nach der Entfernung der Verbände wurde, abhängig vom Ulcuszustand, ein Wunddébridement durchgeführt. Nach der Abtragung von avitalem Gewebe und Durchführung der präinterventionellen Messung mittels HSI-Kamera, wurden die Wunden unmittelbar mittels Kaltplasma therapiert. Zur Behandlung der Wunden bei unseren Patienten wurden die Geräte PlasmaDerm®FLEX9060 und Plasmastrahler kINPen® MED benutzt.

Bei großflächigen Ulcera wurde hauptsächlich das PlasmaDerm®FLEX9060 angewendet, indem die mittelgroße viereckige Elektrode gleichmäßig und für 90 s pro cm² Hautoberfläche aufgelegt wurde. Die Therapie war abgeschlossen, nachdem alle Bereiche des Ulcus mit dem Schwamm und Kaltplasma behandelt wurden.

Darüber hinaus wurden kleinere Ulcera und solche mit Kavitäten und Vertiefungen mit dem kINPen® MED behandelt.

3.4.2 Der Messvorgang mittels der hyperspektralen Kamera

Die Messung wurde am liegenden Patienten durchgeführt, bei dem unter die betroffene Extremität ein grünes OP-Tuch gelegt wurde, sodass eine Überbeleuchtung des fotografierten Areals reduziert werden konnte. Des Weiteren wurde der Raum abgedunkelt, um eine Verfälschung der Messwerte zu vermeiden. Laut Hersteller würden externe Lichtquellen, wie z. B. eine Raumbelichtung, den Messbereich zusätzlich zu der TIVITA™ Tissue-Lichtquelle beleuchten und somit zu Störungen führen.

Nachdem die Hyperspektralkamera ca. 50 cm über dem jeweiligen Ulcus platziert wurde, konnte eine Messung mit Standardbildauflösung und einer Dauer von ca. 6 Sekunden durchgeführt werden. Die durch die Kamera generierten Daten wurden von der TIVITA™ Suite Software visuell aufgearbeitet und waren als Falschfarbbilder einzusehen (siehe Abbildung 4).

Bei Vorhandensein mehrerer Ulcera an einer Extremität wurde für die Analyse das Ulcus ausgewählt, was einerseits deutlich erkennbar war und für das andererseits eine vollständige Fotodokumentation vorlag (Diaspective Vision GmbH 2017).

3.5 Statistische Analyse

Die statistische Analyse erfolgte mithilfe der Software GraphPad Prism, Version 8 der Firma GraphPad Software, Inc.

Die Untersuchung der Daten auf eine Normalverteilung erfolgte mittels D'Agostino & Pearson-Test. Nachdem sich eine Normalverteilung ergeben hatte, wurden die Variablen mittels gepaartem t-Test verglichen. Die Signifikanzniveaus sind in dieser Arbeit mit * ($p < 0,05$) und mit ** ($p < 0,01$) angegeben.

4 Ergebnisse

4.1 Wunddarstellung durch die hyperspektrale Kamera

In der folgenden Abbildung 4 zeigen wir beispielhaft die Darstellung eines Ulcus durch die Spektalkamera TIVITA™ Tissue.

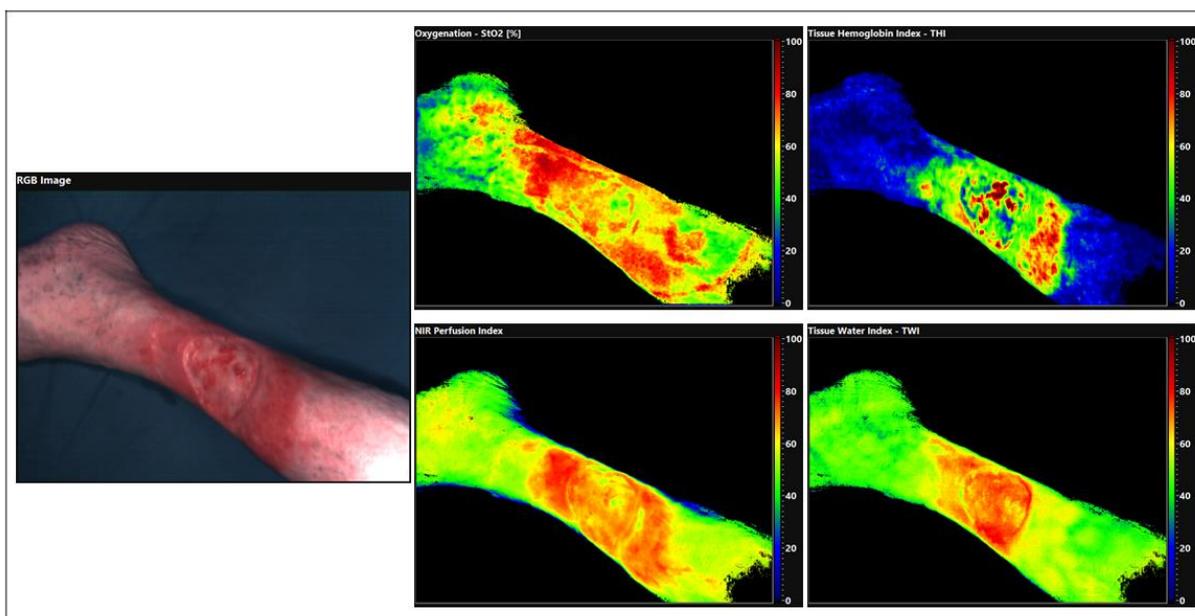


Abbildung 4: Beispielhafte Darstellung der von der HSI-Kamera erfassten Gewebeparameter sowie des RGB-Bildes. Anhand der Farben der Spektralbilder lassen sich die Werte von StO₂, THI, NPI, TWI auf einer Skala von 0 (blau) bis 100 (rot) darstellen.

4.2 Die Gewebeoxygenierung (StO₂)

Bei der Betrachtung der Kurzzeiteffekte konnten wir nachweisen, dass die Gewebeoxygenierung nach jeder einzelnen Behandlung anstieg. Nach der ersten Behandlung zeigte sich ein tendenzieller Anstieg um 5,2 % ($68,9 \pm 11,9$ % vom Ausgangswert $65,5 \pm 16,3$ %, $p=0,082$), nach der zweiten um 2,6 % ($65,5 \pm 13,1$ % vom Ausgangswert $63,8 \pm 11,4$ %, $p=0,206$). Lediglich nach der dritten Behandlung konnten wir einen signifikanten Anstieg um 5,1 % ($66,1 \pm 12,6$ % vom Ausgangswert $62,9 \pm 15,1$ %, $p=0,047$) beobachten.

Ein Vergleich der StO₂-Werte vor der ersten Behandlung mit denen vor der dritten Behandlung (Langzeiteffekte) ergab keine signifikanten Unterschiede ($65,5 \pm 16,3$ % bzw. $62,9 \pm 15,1$ %, $p=0,481$).

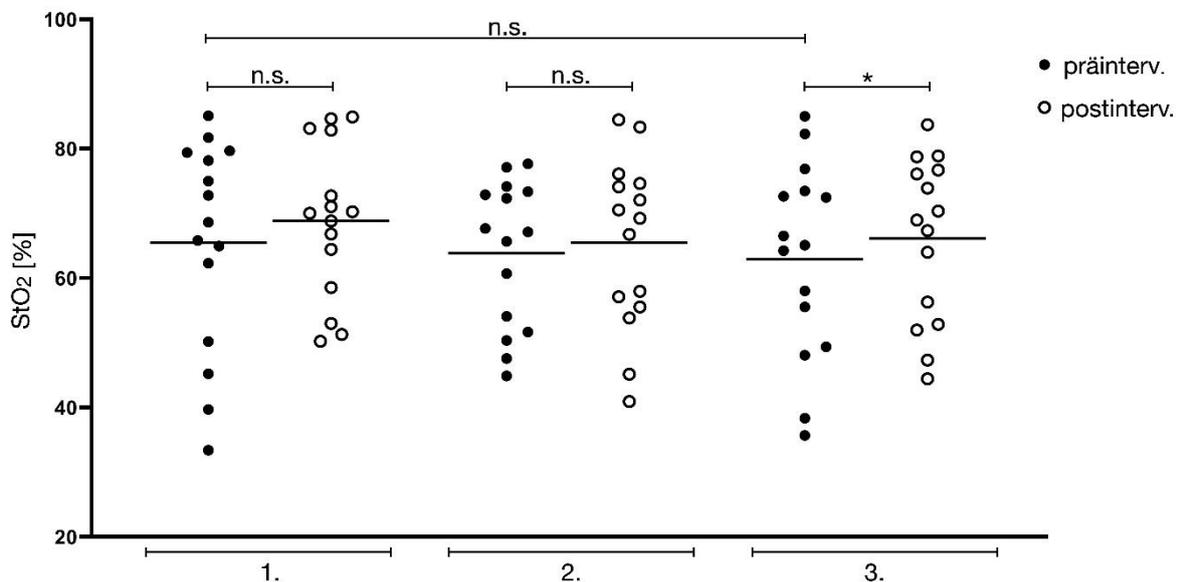


Abbildung 5: Die Gewebeoxygenierung zeigte nach jeder Behandlung einen tendenziellen Anstieg, erreichte jedoch lediglich nach der dritten Behandlung Signifikanz. Die Messungen der Werte erfolgten an drei unterschiedlichen Behandlungstagen (1., 2., 3.). Die Anzahl der Patienten betrug 15 ($n=15$). Dargestellt sind die Mittelwerte; gepaarter t-Test; n.s.- nicht signifikant, $*p<0,05$.

4.3 Gewebe-Hämoglobin-Index (THI)

Es konnte nachgewiesen werden, dass der Gewebe-Hämoglobin-Index direkt nach jeder Behandlung signifikant anstieg. Am ersten Tag sahen wir einen Anstieg um 18,1 % ($64,4 \pm 14,8$ vom Ausgangswert $54,6 \pm 15,3$, $p=0,008$), am zweiten Tag um 10,6 % ($60,7 \pm 10,2$ vom Ausgangswert $54,9 \pm 9,1$, $p=0,005$) und am dritten Tag um 15,5 % ($60,0 \pm 14,4$ vom Ausgangswert $52,0 \pm 11,7$, $p=0,029$).

Ein Vergleich der THI-Werte vor der ersten Behandlung mit denen vor der dritten Behandlung (Langzeiteffekte) ergab keine signifikanten Unterschiede ($54,6 \pm 15,3$ bzw. $52,0 \pm 11,7$, $p=0,509$).

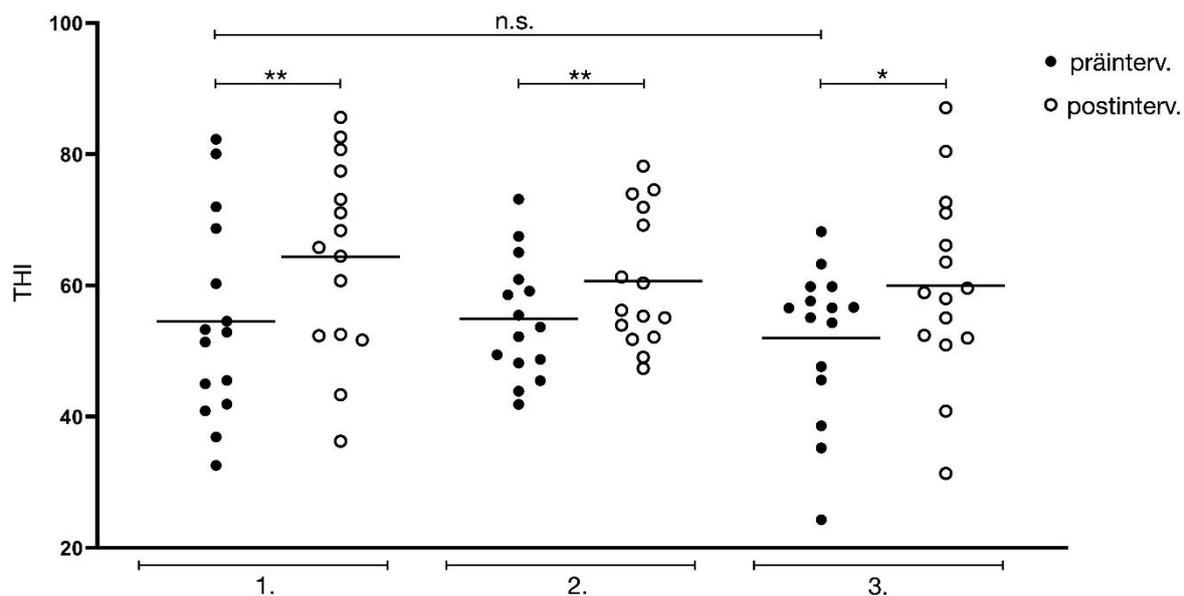


Abbildung 6: Der Gewebe-Hämoglobin-Index zeigte nach jeder Behandlung einen signifikanten Anstieg. Die Messungen der Werte erfolgten an drei unterschiedlichen Behandlungstagen (1., 2., 3.). Die Anzahl der Patienten betrug 15 (n=15). Dargestellt sind die Mittelwerte; gepaarter t-Test; n.s.- nicht signifikant, *p<0,05, **p<0,01.

4.4 Nahinfrarotperfusionsindex (NPI)

Ausschließlich bei der ersten Behandlung konnte ein signifikanter Anstieg des Nahinfrarotperfusionsindex von 6,7 % gemessen werden ($54,2 \pm 18,8$ vom Ausgangswert $50,8 \pm 20,2$, $p=0,048$). Bei den anderen Behandlungstagen kam zu keiner signifikanten Änderung. Am zweiten Tag betrug der Anstieg 4,2 % ($51,9 \pm 16,5$ vom Ausgangswert $49,8 \pm 16,9$, $p=0,055$), am dritten Tag kam es sogar zu einem Abfall des Nahinfrarotperfusionsindex um 0,3 % ($51,0 \pm 15,6$ vom Ausgangswert $51,1 \pm 16,5$, $p=0,929$).

Ein Vergleich der NPI-Werte vor der ersten Behandlung mit denen vor der dritten Behandlung (Langzeiteffekte) ergab keine signifikanten Unterschiede ($50,8 \pm 20,2$ bzw. $51,1 \pm 15,6$, $p=0,920$).

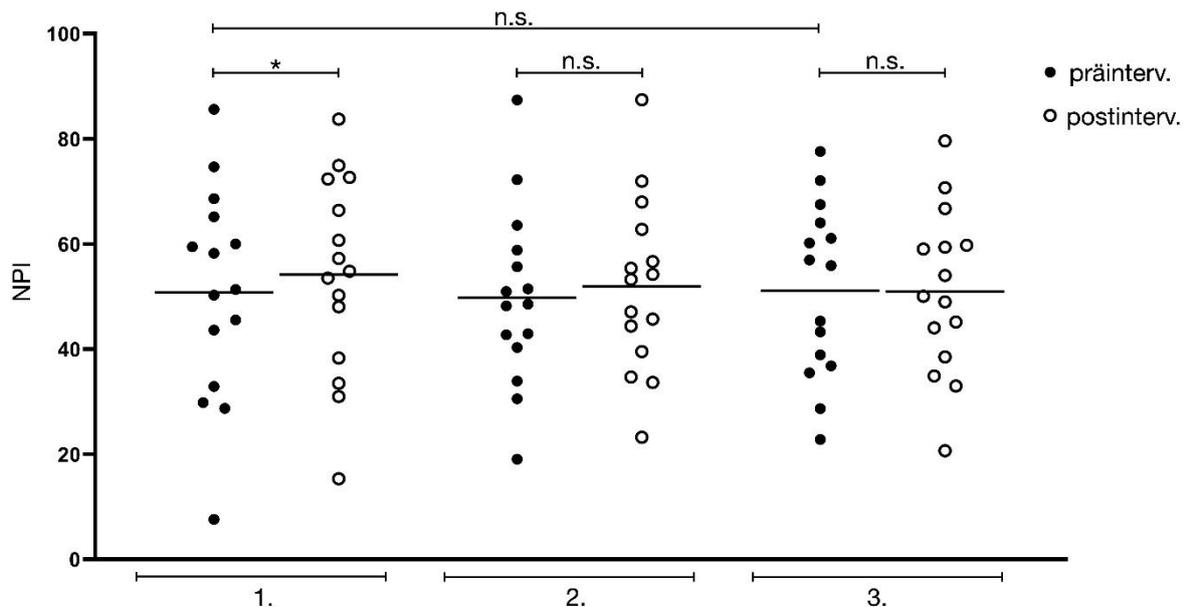


Abbildung 7: Der Nahinfrarotperfusionsindex zeigte lediglich bei der ersten Behandlung einen signifikanten Anstieg. Die Messungen der Werte erfolgten an drei unterschiedlichen Behandlungstagen (1., 2., 3.). Die Anzahl der Patienten betrug 15 (n=15). Dargestellt sind die Mittelwerte; gepaarter t-Test; n.s.- nicht signifikant, *p<0,05.

4.5 Gewebe-Wasser-Index (TWI)

Nach jeder der Behandlungen konnten wir eine geringe Abnahme des Gewebe-Wasser-Indexes beobachten. Am ersten Tag um 2,4 % ($53,9 \pm 14,6$ vom Ausgangswert $55,2 \pm 15,2$, $p=0,225$), am zweiten Tag um 1,9 % ($51,3 \pm 13,1$ vom Ausgangswert $52,3 \pm 12,1$, $p=0,370$) und am dritten Tag um 1,8% ($51,9 \pm 13,7$ vom Ausgangswert $52,8 \pm 13,3$, $p=0,318$). Die Kurzzeiteffekte waren nicht signifikant.

Ein Vergleich der TWI-Werte vor der ersten Behandlung mit denen vor der dritten Behandlung (Langzeiteffekte) ergab keine signifikanten Unterschiede ($55,2 \pm 15,2$ bzw. $52,8 \pm 13,3$, $p=0,136$).

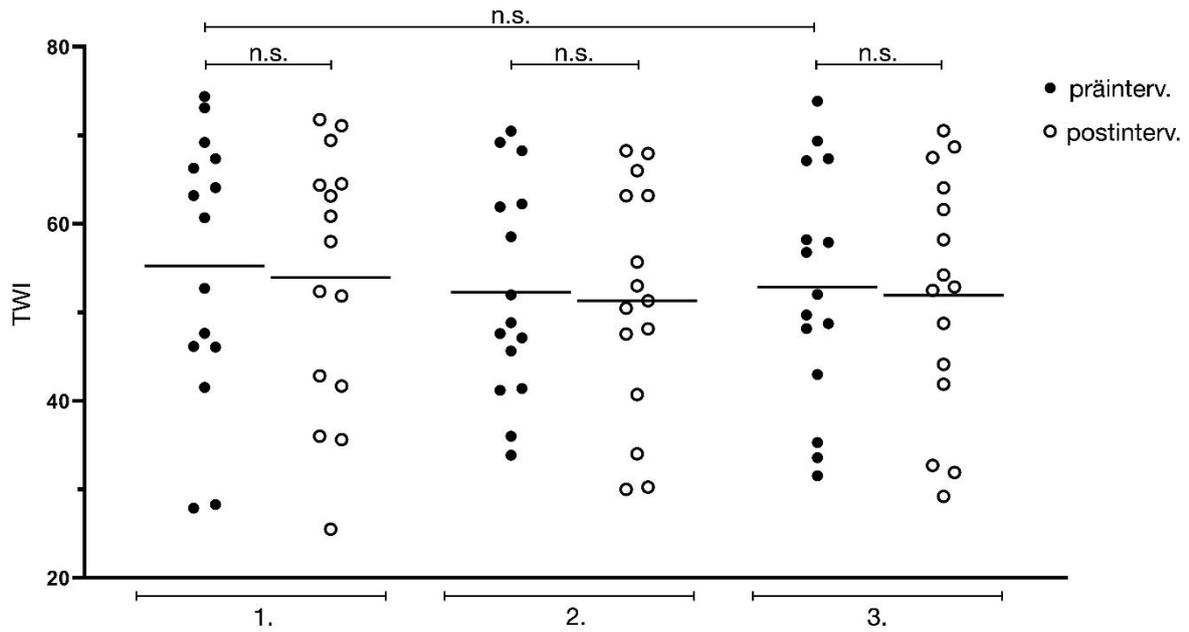


Abbildung 8: Bei dem Gewebe-Wasser-Index zeigte sich nach jeder Behandlung tendenziell eine geringe Abnahme ohne Signifikanz. Die Messungen der Werte erfolgten an drei unterschiedlichen Behandlungstagen (1., 2., 3.). Die Anzahl der Patienten betrug 15 (n=15). Dargestellt sind die Mittelwerte; gepaarter t-Test; n.s.- nicht signifikant.

5 Diskussion

5.1 Kurzzeiteffekte der Plasmatherapie lassen sich auch bei Ulcera mixta mit Hilfe einer Spektalkamera darstellen

In unserer Arbeit konnten wir die kurzfristigen Veränderungen verschiedener Gewebeparameter durch die Kaltplasmatherapie bei Ulcera mixta mittels der Spektalkamera TIVITA™ Tissue darstellen.

5.1.1 Gewebeoxygenierung

Wir konnten nachweisen, dass die Gewebeoxygenierung nach jeder einzelnen Behandlung tendenziell anstieg, jedoch lediglich nach der dritten Behandlung mit schwacher Signifikanz. Wie bereits in der Einleitung beschrieben, konnten Kisch et al. einen Anstieg der Gewebeoxygenierung um 24 % nach der 90 s dauernden Kaltplasmabehandlung messen (Kisch et al. 2016). Wir stellten in unserer Studie einen Anstieg der Gewebeoxygenierung um 5,2 % nach der ersten Behandlung, um 2,6 % nach der zweiten Behandlung und um 5,1 % nach der dritten Behandlung fest. Damit liegen die von uns ermittelten Werte deutlich unter denen von Kisch et al. Allerdings nahmen Kisch et al. Messungen bei gesunden Probanden vor, sodass von einer insgesamt günstigeren Mikrozirkulation auszugehen war. Borchardt et. al maßen die Veränderung der Sauerstoffsättigung nach KAP-Behandlung ebenfalls an gesunder Haut. Dabei stellten sie nach 180 s einen signifikanten Anstieg der Gewebeoxygenierung um 7,1% fest, bzw. um 9,4% nach 270 s. Nach 90 s konnte noch kein signifikanter Anstieg nachgewiesen werden (Borchardt et al. 2017). Kulcke et al. konnten einen deutlichen Anstieg der Gewebeoxygenierung nach einer Plasmabehandlung eines diabetischen Fußulcus nachweisen, wobei nähere Angaben zur Dauer und Ausmaß der Steigerung fehlen (Kulcke et al. 2018).

In Annäherung an unsere Beobachtungen zeigten Matzkeit et al. in einer Studie, dass im Bereich akuter Wunden nach Hauttransplantation bei ansonsten gesunden Probanden die Anwendung von Kaltplasma über 90 s eine Verbesserung der Gewebeoxygenierung von 5 % erbrachte (Matzkeit et al. 2021).

Die Dauer der erhöhten Gewebeoxygenierung als Kurzeffekt wurde von uns nicht aufgezeichnet, da uns hierzu bereits die Ergebnisse von Kisch et al. vorlagen. Sie erhoben in ihrer Studie eine auf 8 Minuten begrenzte Erhöhung der Gewebesauerstoffsättigung nach KAP-Behandlung, beziehungsweise eine auf 11 Minuten begrenzte Erhöhung des kutanen Blutflusses (Kisch et al. 2016).

Zusammenfassend konnten wir in unserer Studie darstellen, dass die Kaltplasmabehandlung von Patienten mit Ulcus mixtum innerhalb kurzer Zeit zu einem Anstieg der Oxygenierung in oberflächlichen Gewebeschichten geführt hat.

Auffällig war, dass bei einigen Patienten teils erhebliche Veränderungen der StO₂-Werte nach Kaltplasmabehandlung gemessen wurden. Auch Rutkowski et al. bemerkten bei den Messungen an den Unterarmen ihren Probanden intra- und interindividuelle Schwankungen bis zu 30% abhängig vom Messpunkt. Sie erwähnten dabei den Einfluss anatomischer Strukturen, z. B. oberflächlicher Venen (Rutkowski et al. 2020). In unserer Studie führten wir diese Unterschiede auch auf eine in Teilen unvollständige Standardisierung der Messbedingungen (Lichtverhältnisse, Abstand zwischen Kamera und Wunde, Patientenlagerung, Markieren des Wundbereichs für Berechnung der Parameter im ROI Analysis Tool) zurück.

Da eine hohe Standardisierung für die Qualität der Messergebnisse entscheidend ist, erfolgten unsererseits Nachbesserungen. So wurden nach Rücksprache mit dem Hersteller ein standardisierter Abstandsanzeiger des Kamerasystems eingeführt.

Als Alternativhypothese ist zu diskutieren, dass bestimmte Patientensubgruppen wesentlich mehr von der Kaltplasmatherapie profitieren als andere. In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, dass die Patienten mit Ulcera mixta durch ihre häufig vorliegende Multimorbidität eine gewisse Heterogenität aufwiesen. Eine genaue Betrachtung der Subgruppen könnte sich in einer wissenschaftlichen Arbeit anschließen.

5.1.2 Gewebe-Hämoglobin-Index

In der von uns durchgeführten Studie konnte nachgewiesen werden, dass der Gewebe-Hämoglobin-Index im Ulcusbereich direkt nach jeder KAP-Behandlung signifikant anstieg. Am ersten Tag kam es zu einem Anstieg um 18,1 %, am zweiten Tag um 10,6 % und am dritten Tag um 15,5 %. Damit zeigten wir, dass die

Kaltplasmabehandlung zu einer Erhöhung des Hämoglobingehalts im Bereich des Ulcus führte.

Borchardt et al. untersuchten mittels des Oxygen-to-see-System in ihrer Studie die Wirkung von KAP auf gesunde Haut. Dabei bestimmten sie allerdings nicht den THI, sondern das lokale relative Hämoglobin (rHb). Bei einer Abwendungsdauer von 90 s kam es zu keiner signifikanten Erhöhung des rHbs. Lediglich bei 270 s Kaltplasmatherapie konnten sie einen Anstieg des rHbs um 5,1% nachweisen und schlussfolgerten, dass die Dauer der KAP-Anwendung einen Einfluss auf den Anstieg des Parameters rHb habe (Borchardt et al. 2017).

Beim Vergleich der THI-Werte mit anderen Autoren sahen wir bei van Welzen et al, dass der THI nach insgesamt 18 KAP-Behandlungen und über 7 Tage um insgesamt 19,93 THI-Einheiten anstieg (van Welzen et al. 2021).

Insgesamt gehen die von uns ermittelten THI-Werte einher mit den Ergebnissen anderer Autoren. Wir konnten den Nachweis erbringen, dass der Hämoglobingehalt im Ulcusbereich bei Patienten mit Ulcera mixta nach einer Kaltplasmatherapie signifikant anstieg. Dies ist insbesondere daher relevant, da der Hämoglobingehalt neben der Gewebeoxygenierung als kritischer physiologischer Faktor für die Wundheilung angesehen wird (Schmidt et al. 2021).

5.1.3 Nahinfrarotperfusionsindex

Unsere Studie ergab, dass der Nahinfrarotperfusionsindex nur am ersten Tag signifikant um 6,7 % anstieg. Am zweiten Tag betrug der Anstieg 4,2 %, am dritten Tag kam es zu einer Stagnation, bzw. zu einem leichten Abfall des Nahinfrarotperfusionsindex um 0,3 %.

Daeschlein et al. konnten nach KAP-Behandlung einer akuten Wunde einen signifikanten Anstieg des NPI um 30% nachweisen. In der gleichen Studie konnten sie nach KAP-Behandlung einer chronischen Wunde zeigen, dass der NPI an zwei von drei Messpunkten der Wunde um 44% bzw. 47% anstieg. Einschränkend war bei dieser Studie die äußerst geringe Teilnehmeranzahl (Daeschlein et al. 2018). Kulcke et al. wiesen ebenfalls einen deutlichen Anstieg des NPI nach einer Plasmabehandlung eines diabetischen Fußulcus nach, wobei nähere Angaben zur Dauer und Ausmaß der Steigerung fehlen (Kulcke et al. 2018).

Van Welzen et al. untersuchten in ihrer Studie die Veränderung des Nahinfrarotperfusionsindexes nach insgesamt 18 KAP-Behandlungen und über 7 Tage. Ein signifikanter Anstieg um insgesamt 6,83 NPI-Einheiten konnte nachgewiesen werden, wobei der genaue Zeitpunkt des Anstiegs nicht angegeben wird (van Welzen et al. 2021).

Aus den zitierten Studien zeigt sich, dass je nach Studiendesign äußerst unterschiedliche Nahinfrarotperfusionsindices erhoben wurden, was die Einordnung unserer Werte deutlich erschwert. Festzuhalten bleibt, dass es nach einer KAP-Behandlung im Bereich des Ulcus mixtum zu einem Einstieg der tiefen Oxygenierung kam.

Insgesamt ist festzustellen, dass eine Einordnung des NPI nach Kaltplasmatherapie nur eingeschränkt möglich war, weil nur sehr wenige Autoren ein vergleichbares Studiendesign gewählt haben. Da hyperspektrale Messungen besonders in dem letzten Jahrzehnt fortentwickelt worden sind, können wir auf Studienveröffentlichungen hoffen, die ähnlich wie unsere konzipiert sind und die uns eine bessere Einordnung der Daten ermöglichen.

5.1.4 Gewebe-Wasser-Index

Wir konnten nach jeder KAP-Behandlung ein minimales Absinken des Gewebe-Wasser-Indexes beobachten. Am ersten Tag sahen wir einen Abfall um 2,4 %, am zweiten Tag um 1,9 % und am dritten Tag um 1,8%.

Van Welzen et al. beschrieben bei Wunden nach Spalthautentnahme ebenfalls ein signifikantes Absinken des TWI im Vergleich zur Kontrollgruppe, welche mit klassischen Wundverbänden behandelt wurde. Dabei sank der TWI insgesamt um 6,47 Einheiten und erreichte am dritten Tag den niedrigsten Wert (van Welzen et al. 2021). In unserer Studie hingegen zeigte sich ein Absinken zwischen 0,9 und 1,3 Einheiten, wobei zu beachten ist, dass sich unsere Messungen auf chronische Wunden beziehen. Entsprechend ergibt sich der Hinweis, dass der relative Wasserverlust chronischer Wunden durch die Plasmatherapie niedriger ist als bei akuten Wunden.

Schmidt et al. (Schmidt et al. 2021) untersuchten die Wirkung von Argon-Plasma auf die Wundheilung in einem Mausmodell. Sie fügten Mäusen eine Ohrwunde zu und behandelten diese anschließend über 14 Tage mit Argon-Plasma (alle 3 Tage für jeweils 10 Sekunden). Dabei konnten sie nachweisen, dass es am Tag 9 zu einer

signifikanten Abnahme des TWI in der Interventionsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe kam. Im Anschluss zeigte sich allerdings der TWI fluktuierend und erst am letzten Tag signifikant erniedrigt, was die Autoren als Hinweis auf die verringerte Ödembildung deuteten. Diese fluktuierenden Ergebnisse stehen beispielhaft für eine eingeschränkte Aussagekraft des TWI und lassen ihn insgesamt eher nachrangig bei der Wundbeurteilung mittels HSI erscheinen.

5.2 Hyperspektrale Gewebeparameter allein ermöglichen keine ausreichende Beurteilung des Heilungsverlaufs bei Ulcera mixta über mehrere Behandlungstage (Langzeitverlauf)

In unserer Studie bestimmten wir die Gewebeparameter Gewebeoxygenierung (StO₂), Gewebe-Hämoglobin-Index (THI), Nahinfrarotperfusionsindex (NPI) und Gewebe-Wasser-Index (TWI) vor der ersten Behandlung von Ulcera mixta mit Kaltplasma und verglichen diese mit den Parametern vor der dritten Behandlung. Dabei zeigten sich in diesem Vergleich keine signifikanten Veränderungen dieser Parameter. Verschiedene Faktoren könnten dabei eine Rolle gespielt haben.

Es ist denkbar, dass die Effekte der Plasmatherapie im von uns gewählten Beobachtungszeitraum noch gering sind und sich bei längerer Beobachtungszeit ausprägen würden. Zum Vergleich fanden wir eine Studie von Heinlin et al., die bereits kurz nach Beginn der KAP-Behandlung Effekte aufzeigte. Die Autoren untersuchten die Wirkung der Kaltplasma auf akute Wunden, indem sie Spalthautwunden randomisiert zur Hälfte mit KAP und zur Hälfte mit Placebo (Argon) behandelten. Anschließend wurde der Wundheilungsverlauf von zwei verblindeten Dermatologen beurteilt. Es zeigte sich bereits ab dem zweiten Tag eine deutliche Verbesserung der mittels KAP behandelten Wundbereiche. Eine Beurteilung mittels HSI erfolgte in dieser Studie nicht (Heinlin et al. 2013).

Der wesentliche Unterschied zu unserer Studie ist, dass Heinlin et al. akute Wunden behandelte und als Bewertungssystem eine visuelle Analyse durch Dermatologen angewendet wurde. Dadurch ist die Vergleichbarkeit dieser Studie mit unserer äußerst eingeschränkt.

Eine Beobachtung der hyperspektralen Parameter über den dritten Behandlungstag hinaus wäre für zukünftige Arbeiten interessant.

Ein weiterer Einflussfaktor ist die Therapiefrequenz. In unserer Studie betrug der Abstand zwischen der ersten und zweiten Behandlung durchschnittlich 2 und zwischen der zweiten und dritten 3 Tage (Spannbreite 2-5 bzw. 2-21 Tage). Damit bewegten wir uns durchaus im üblichen Therapiesetting, wie beispielweise die Studie von Moelleken et al. belegt. Diese hatten den Einfluss der Therapiefrequenz auf die Wundheilung chronischer Wunden untersucht und festgestellt, dass eine Behandlung einmal wöchentlich vergleichbare Ergebnisse liefert wie eine dreimal wöchentliche Behandlung (Moelleken et al. 2020).

Es bestehen verschiedene Möglichkeiten, den Heilungsverlauf einer Wunde zu beurteilen. Moelleken et al. definierten als primäres Zielkriterium die Wundflächenreduktion, welche sie mittels Lasertechnik bestimmten. Des Weiteren waren die Bakterienreduktion in den Wunden, die Reduktion von Wundtiefen, Schmerzen und die wundspezifische Lebensqualität sekundäre Zielkriterien (Moelleken et al. 2020). Heinlin et al. gaben ihren unabhängigen Untersuchern Parameter vor, nach denen sie die Wundheilung beurteilen sollten. Dazu gehörten die Reepithelisierung, Blutkrustenbildung, Fibrinbeläge und der Zustand der umgebenden Haut (Heinlin et al. 2013). Van Welzen et al. evaluierten das klinische Erscheinungsbild und die Schmerzintensität anhand der visuellen Analogskala (van Welzen et al. 2021).

Eine fehlende Beschreibung des Heilungsverlaufes durch Parameter, die nicht vom HSI-System stammten, stellte sich im Studienverlauf als Einschränkung dar. Ein wesentlicher Mangel war die ungenaue Standardisierung des Abstands zwischen Ulcus und Kamera beim Messen. Ebenfalls war keine Flächenberechnung des Ulcus mittels Software möglich. Diese Schwäche der Kamera wurde bereits durch den Hersteller erkannt und durch Installation zweier sich kreuzender Laser zur Abstandmarkierung behoben. Ein Softwareupdate ermöglicht die Berechnung der Ulcusfläche.

5.3 Stellenwert einer hyperspektralen Überwachung bei der Behandlung der Ulcera mixta

Hyperspektrale Bildgebung wird in unterschiedlichen klinischen Bereichen eingesetzt. Ein Beispiel liefern Dietrich et al., die in ihrer Studie die Veränderung der Mikrozirkulation in einem definiten Hautbereich während chirurgischer Eingriffe am Pankreas untersuchten. Ziel war es, Zusammenhänge zwischen perioperativen Organdysfunktionen und hyperspektralen Gewebeparameter zu finden. Sie schlussfolgerten, dass HSI eine nützliche Erweiterung der hämodynamischen Überwachung und Therapie darstellen kann (Dietrich et al. 2021).

Nouvong et al. konnten zeigen, dass durch die HSI-gestützte Anfertigung einer anatomischen Wundabbildung mit Darstellung der Sauerstoffsättigung das Heilungspotenzial diabetischer Fußulcera bewertet werden kann (Nouvong et al. 2009).

Kulcke et al. befassten sich mit der Durchblutung transplantierte Hautlappen, die im Zeitraum 2-4 Tage nach der Transplantation besonders anfällig ist. Durchblutungsdefizite könnten gemäß den Autoren zu einem Verlust des Transplantats und einer operativen Revision führen. Sie stellten fest, dass durch eine HSI-gestützte Betrachtung eines Transplantates eine Quantifizierung der Durchblutung ermöglicht wird und dadurch die Therapieplanung verbessert werden kann (Kulcke et al. 2018).

Auch in der Gefäßchirurgie wurde der Nutzen der hyperspektralen Bildgebung im klinischen Alltag untersucht. Grambow et al. analysierten den Nutzen der hyperspektralen Bildgebung bei Patienten mit peripheren Verschlusskrankheit, die eine chirurgische oder endovaskuläre Therapie erhielten. Sie urteilten, dass die via HSI ermittelten Werte StO_2 und NPI ein nützliches zusätzliches Werkzeug sein können, um die Durchblutung der Extremitäten bei Patienten mit pAVK zu überwachen. Als Konsequenz sahen sie, dass aufgrund eines Absinkens der HSI-Gewebeparameter weitere Diagnostik zur Lokalisation der Gewebepathologien eingeleitet werden kann (Grambow et al. 2022).

In Bezug auf die Plasmabehandlung von Ulcera mixta sind – auch aufgrund der komplexen Ätiologie der Ulcera mixta – verschiedene Einsatzmöglichkeiten der hyperspektralen Bildgebung denkbar.

In Anlehnung an Grambow et al. ermöglicht die hyperspektrale Bildgebung bei Ulcera mixta eine Beurteilung der Gewebeoxygenierung im mikrozirkulatorischen System zusätzlich zu Methoden, die vor allem die Makrozirkulation beschreiben (Knöchel-Arm-Index, Duplex-Sonographie und Angiographie). In diesem Zusammenhang wurde beschrieben, dass letztgenannten Methoden, die hauptsächlich den Blutfluss beschreiben, frühe Stadien einer pAVK nicht erkennen könnten, während ein Abfall der Oxygenierung via HSI bereits früh darstellbar wäre (Grambow et al. 2022). Diese Information über einen Abfall der Gewebeoxygenierung könnte beispielweise im Patientengespräch genutzt werden, um günstig auf die Reduktion atherosklerotischer Risikofaktoren einzuwirken oder weitere Diagnostik in die Wege zu leiten. Auch die regelmäßige Erhebung des Fußstatus bei Diabetespatienten könnte um eine hyperspektrale Bildgebung – mit dem Vorteil der kontaktfreien und damit schmerzfreien Diagnostik – standardmäßig erweitert werden, wie auch Grambow et al. in ihrer Arbeit erwähnen. Allerdings erwähnen sie auch als Kritikpunkt, dass unauffällige mikrozirkulatorische HSI-Parameter eine Stenosierung oder Okklusion wesentlicher Arterien nicht ausschließen können, da im Rahmen der Neovaskularisation entstandene Kollateralarterien einen Teil der Gewebeoxygenierung ausgleichen können (Grambow et al. 2022).

Ferner ermöglichen Kamerasysteme, wie die TIVITA™ Tissue, die Identifikation der Wundbereiche, in denen relativ ungünstige Heilungsbedingungen vorliegen. Diese Beurteilung könnte dazu führen, das Therapieregime gesondert zu diskutieren und ggf. anzupassen. Welche Veränderung sich daraus ergäben, scheint jedoch eine Einzelfallentscheidung zu sein. So stellten Moelleken et al. fest, dass eine Erhöhung der Frequenz einer Kaltplasmatherapie von einmal wöchentlich auf dreimal wöchentlich weder eine schnellere Wundflächenreduktion noch eine größere Verminderung der Bakterienlast bewirkte (Moelleken et al. 2020).

Auch besteht die Möglichkeit, die Ausprägung eines Ödems mittels TWI zu beurteilen. Dies wurde beispielweise im Rahmen eines Reperfusionsoedems nach Bypass-OP oder endovaskulärer Behandlung bei Patienten mit pAVK beschrieben (Grambow et al. 2022). Welchen Vorteil allerdings eine Beurteilung des Ödems mittel TWI bietet im Vergleich zur konventionellen klinischen Befundung, ist unklar.

Jedoch lässt die Kombination des TWI mit den Gewebeparameter StO_2 und NPI Rückschlüsse zu, die im klinischen Alltag als Hinweise gewertet werden können. So kann ein hoher TWI mit niedrigem StO_2 auf eine venöse Stauung hinweisen, während ein niedriger TWI mit niedrigem StO_2 ein Anzeichen für eine arterielle Stenosierung sein kann (Thiem et al. 2021).

6 Danksagung

Für die Bereitstellung des Themas dieser Dissertation, die ausführliche Hilfe und nahezu ständige Verfügbarkeit bei Fragen aller Art danke ich Herrn Prof. Dr. Steffen Emmert herzlich.

Des Weiteren danke ich Schwester Christina Henneke, die mich maßgeblich bei der Anfertigung der Aufnahmen mit der Spektalkamera unterstützte.

Außerdem danke ich von ganzem Herzen meinem Söhnke für die tolle Unterstützung und alle motivierenden Worte.

Zum Schluss danke ich meinen Eltern und insbesondere meiner Mutter. Ty doskonała wiesz, że nóż na gardle działa na mnie niesamowicie motywująco.

Literaturverzeichnis

Beckert, Steffi (2017): TIVITA Tissue System Data Sheet- DE. Diaspective Vision GmbH. Online verfügbar unter <https://diaspective-vision.com/produkt/tivita-tissue/>.

Borchardt, Thomas; Ernst, Jennifer; Helmke, Andreas; Tanyeli, Murat; Schilling, Arndt F.; Felmerer, Gunther; Viöl, Wolfgang (2017): Effect of direct cold atmospheric plasma (diCAP) on microcirculation of intact skin in a controlled mechanical environment. In: *Microcirculation (New York, N.Y. : 1994)* 24 (8). DOI: 10.1111/micc.12399.

Boukamp, P.; Petrussevska, R. T.; Breitkreutz, D.; Hornung, J.; Markham, A.; Fusenig, N. E. (1988): Normal keratinization in a spontaneously immortalized aneuploid human keratinocyte cell line. In: *The Journal of cell biology* 106 (3), S. 761–771. DOI: 10.1083/jcb.106.3.761.

Brehmer, F.; Haenssle, H. A.; Daeschlein, G.; Ahmed, R.; Pfeiffer, S.; Görlitz, A. et al. (2015): Alleviation of chronic venous leg ulcers with a hand-held dielectric barrier discharge plasma generator (PlasmaDerm®) VU-2010): results of a monocentric, two-armed, open, prospective, randomized and controlled trial (NCT01415622). In: *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology : JEADV* 29 (1), S. 148–155. DOI: 10.1111/jdv.12490.

Broughton, George; Janis, Jeffrey E.; Attinger, Christopher E. (2006): The basic science of wound healing. In: *Plastic and reconstructive surgery* 117 (7 Suppl), 12S–34S. DOI: 10.1097/01.prs.0000225430.42531.c2.

CINOGY System GmbH (Hg.) (2017): CINOGY GmbH Die Produktfamilie PlasmaDerm® und ihre einzelnen Produkte DE. Online verfügbar unter <https://plasmaderm.de>.

Daeschlein, Georg; Rutkowski, Rico; Lutze, Stine; Podewils, Sebastian von; Sicher, Claudia; Wild, Thomas et al. (2018): Hyperspectral imaging: innovative diagnostics to visualize hemodynamic effects of cold plasma in wound therapy. In: *Biomedizinische Technik. Biomedical engineering* 63 (5), S. 603–608. DOI: 10.1515/bmt-2017-0085.

Diaspective Vision GmbH (Hg.) (2017): TIVITA Tissue Bedienungsanleitung.

Dietrich, Maximilian; Marx, Sebastian; Forst, Maik von der; Bruckner, Thomas; Schmitt, Felix C. F.; Fiedler, Mascha O. et al. (2021): Hyperspectral imaging for perioperative monitoring of microcirculatory tissue oxygenation and tissue water content in pancreatic surgery - an observational clinical pilot study. In: *Perioperative medicine (London, England)* 10 (1), S. 42. DOI: 10.1186/s13741-021-00211-6.

Dissemond, J. (2017): Chronisches Ulcus cruris. In: *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete* 68 (8), S. 614–620. DOI: 10.1007/s00105-017-4010-8.

Eklöf, Bo; Rutherford, Robert B.; Bergan, John J.; Carpentier, Patrick H.; Gloviczki, Peter; Kistner, Robert L. et al. (2004): Revision of the CEAP classification for chronic venous disorders: consensus statement. In: *Journal of vascular surgery* 40 (6), S. 1248–1252. DOI: 10.1016/j.jvs.2004.09.027.

Emmert, S.; van Welzen, A.; Masur, K.; Gerling, T.; Bekeschus, S.; Eschenburg, C. et al. (2020): Kaltes Atmosphärendruckplasma zur Behandlung akuter und chronischer Wunden. In: *Der Hautarzt; Zeitschrift für Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete* 71 (11), S. 855–862. DOI: 10.1007/s00105-020-04696-y.

Emmert, Steffen (2015): Plasmamedizin--eine Innovation weit über die Dermatologie hinaus. In: *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG* 13 (2), S. 95–96. DOI: 10.1111/ddg.12589.

Grambow, Eberhard; Sandkühler, Niels Arne; Groß, Justus; Thiem, Daniel G. E.; Dau, Michael; Leuchter, Matthias; Weinrich, Malte (2022): Evaluation of Hyperspectral Imaging for Follow-Up Assessment after Revascularization in Peripheral Artery Disease. In: *Journal of clinical medicine* 11 (3). DOI: 10.3390/jcm11030758.

Heinlin, Julia; Zimmermann, Julia L.; Zeman, Florian; Bunk, Wolfram; Isbary, Georg; Landthaler, Michael et al. (2013): Randomized placebo-controlled human pilot study of cold atmospheric argon plasma on skin graft donor sites. In: *Wound repair and regeneration : official publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society* 21 (6), S. 800–807.

Kisch, Tobias; Helmke, Andreas; Schleusser, Sophie; Song, Jungin; Liodaki, Eirini; Stang, Felix Hagen et al. (2016): Improvement of cutaneous microcirculation by cold

atmospheric plasma (CAP): Results of a controlled, prospective cohort study. In: *Microvascular research* 104, S. 55–62. DOI: 10.1016/j.mvr.2015.12.002.

Klages, C.; Huppert, P.; Rümenapf, G. (2016): S3-Leitlinie PAVK - Diagnostik, Therapie und Nachsorge der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit. Hg. v. Deutsche Gesellschaft für Angiologie - Gesellschaft für Gefäßmedizin e.V. (Supplement 95).

Kulcke, Axel; Holmer, Amadeus; Wahl, Philip; Siemers, Frank; Wild, Thomas; Daeschlein, Georg (2018): A compact hyperspectral camera for measurement of perfusion parameters in medicine. In: *Biomedizinische Technik. Biomedical engineering* 63 (5), S. 519–527. DOI: 10.1515/bmt-2017-0145.

Lu, Guolan; Fei, Baowei (2014): Medical hyperspectral imaging: a review. In: *Journal of biomedical optics* 19 (1), S. 10901. DOI: 10.1117/1.JBO.19.1.010901.

Matzkeit, Nico; Schulz, Lysann; Schleusser, Sophie; Jensen, Jan-Oluf; Stang, Felix Hagen; Mailaender, Peter et al. (2021): Cold atmospheric plasma improves cutaneous microcirculation in standardized acute wounds: Results of a controlled, prospective cohort study. In: *Microvascular research* 138, S. 104211. DOI: 10.1016/j.mvr.2021.104211.

Mekkes, J. R.; Loots, M.A.M.; van der Wal, A. C.; Bos, J. D. (2003): Causes, investigation and treatment of leg ulceration. In: *Br J Dermatol* 148 (3), S. 388–401. DOI: 10.1046/j.1365-2133.2003.05222.x.

Metelmann, Hans-Robert; Woedtke, Thomas von; Weltmann, Klaus-Dieter (Hg.) (2016): Plasmamedizin. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.

Moelleken, Maurice; Jockenhöfer, Finja; Wiegand, Cornelia; Buer, Jan; Benson, Sven; Dissemond, Joachim (2020): Pilotstudie zum Einfluss von kaltem atmosphärischem Plasma auf bakterielle Kontamination und Heilungstendenz chronischer Wunden. In: *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG* 18 (10), S. 1094–1102. DOI: 10.1111/ddg.14294_g.

Moll, Ingrid (Hg.) (2016): Dermatologie. Unter Mitarbeit von Matthias Augustin. Georg Thieme Verlag KG. 8. vollständig überarbeitete Auflage. Stuttgart: Thieme (Duale Reihe).

neoplas med GmbH (2022): Produktbeschreibung Plasmajet kINPen® MED. neoplas med GmbH Walther-Rathenau-Str. 49a 17489 Greifswald Germany. Online verfügbar unter <https://neoplas-med.eu/en/product/>, zuletzt geprüft am 21.07.2022.

Noor, Saba; Zubair, Mohammad; Ahmad, Jamal (2015): Diabetic foot ulcer--A review on pathophysiology, classification and microbial etiology. In: *Diabetes & metabolic syndrome* 9 (3), S. 192–199. DOI: 10.1016/j.dsx.2015.04.007.

Nouvong, Aksone; Hoogwerf, Byron; Mohler, Emile; Davis, Brian; Tajaddini, Azita; Medenilla, Elizabeth (2009): Evaluation of diabetic foot ulcer healing with hyperspectral imaging of oxyhemoglobin and deoxyhemoglobin. In: *Diabetes care* 32 (11), S. 2056–2061. DOI: 10.2337/dc08-2246.

Palfreyman, Simon; Nelson, E. Andrea; Michaels, Jonathan A. (2007): Dressings for venous leg ulcers: systematic review and meta-analysis. In: *BMJ (Clinical research ed.)* 335 (7613), S. 244. DOI: 10.1136/bmj.39248.634977.AE.

Rabe, Eberhard; Földi, E.; Gerlach, H. (2018): Leitlinie: Medizinische Kompressionstherapie der Extremitäten mit Medizinischem Kompressionsstrumpf (MKS), Phlebologischem Kompressionsverband (PKV) und Medizinischen adaptiven Kompressionssystemen (MAK). Hg. v. Deutsche Gesellschaft für Phlebologie e.V. Online verfügbar unter https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/037-005I_S3k_Medizinische-Kompressionstherapie-MKS-PKV_2019-05.pdf.

Rutkowski, Rico; Daeschlein, Georg; Woedtke, Thomas von; Smeets, Ralf; Gosau, Martin; Metelmann, Hans-Robert (2020): Long-term Risk Assessment for Medical Application of Cold Atmospheric Pressure Plasma. In: *Diagnostics (Basel, Switzerland)* 10 (4). DOI: 10.3390/diagnostics10040210.

Santler, Bettina; Goerge, Tobias (2017): Chronic venous insufficiency - a review of pathophysiology, diagnosis, and treatment. In: *Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology : JDDG* 15 (5), S. 538–556. DOI: 10.1111/ddg.13242.

Schmidt, Anke; Niesner, Felix; Woedtke, Thomas von; Bekeschus, Sander (2021): Hyperspectral Imaging of Wounds Reveals Augmented Tissue Oxygenation Following Cold Physical Plasma Treatment in Vivo. In: *IEEE Trans. Radiat. Plasma Med. Sci.* 5 (3), S. 412–419. DOI: 10.1109/TRPMS.2020.3009913.

Thiem, D. G. E.; Frick, R. W.; Goetze, E.; Gielisch, M.; Al-Nawas, B.; Kämmerer, P. W. (2021): Hyperspectral analysis for perioperative perfusion monitoring-a clinical feasibility study on free and pedicled flaps. In: *Clinical oral investigations* 25 (3), S. 933–945. DOI: 10.1007/s00784-020-03382-6.

Tiede, R.; Hirschberg, J.; Daeschlein, G.; Woedtke, T. von; Vioel, W.; Emmert, S. (2014): Plasma Applications: A Dermatological View. In: *Contrib. Plasma Phys.* 54 (2), S. 118–130. DOI: 10.1002/ctpp.201310061.

Tuttolomondo, Antonino; Maida, Carlo; Pinto, Antonio (2015): Diabetic foot syndrome: Immune-inflammatory features as possible cardiovascular markers in diabetes. In: *World journal of orthopedics* 6 (1), S. 62–76. DOI: 10.5312/wjo.v6.i1.62.

van Welzen, Annika; Hoch, Matti; Wahl, Philip; Weber, Frank; Rode, Susen; Tietze, Julia Katharina et al. (2021): The Response and Tolerability of a Novel Cold Atmospheric Plasma Wound Dressing for the Healing of Split Skin Graft Donor Sites: A Controlled Pilot Study. In: *Skin pharmacology and physiology* 34 (6), S. 328–336. DOI: 10.1159/000517524.

Williams, K. J.; Babber, A.; Ravikumar, R.; Davies, A. H. (2017): Non-Invasive Management of Peripheral Arterial Disease. In: *Advances in experimental medicine and biology* 906, S. 387–406. DOI: 10.1007/5584_2016_129.