

Abschlussbericht zum BMBF-Verbundprojekt

Desinfektion, Entkeimung und biologische Stimulation der menschlichen Haut durch gesundheitsfördernde Licht- und Plasmaquellen (BioLiP)

Grundlegende Erforschung einer Plasmaquelle auf Basis einer Barrierenentladung für Anwendungen auf lebendem biologischem Gewebe (FKZ: 13N9093)

01. August 2006 bis 31. Dezember 2009

Dirk Wandke

CINOGY GmbH
Max-Näder-Str. 15
D-37115 Duderstadt

Inhaltsverzeichnis

I. Kurze Darstellung.....	4
I.1. Aufgabenstellung.....	4
I.2. Voraussetzungen unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde.....	5
I.3. Planung und Ablauf des Vorhabens.....	6
I.4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde...6	
I.5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen.....	7
II. Eingehende Darstellung.....	7
II.1. Erzielte Ergebnisse	7
II.1.1 Simulation.....	7
II.1.2 Versuchsaufbau.....	11
II.1.3 Spannungs- und Stromverläufe.....	14
II.1.4 Leistungcharakteristik.....	17
II.1.5 Zündspannungsverhalten.....	19
II.1.6 Homogenitätsvergleich.....	21
II.1.7 Gastemperaturmessung.....	22
II.1.8 Gaszusammensetzung.....	25
II.1.9 UV-Emission.....	28
II.1.10 Untersuchungen an Hautbiopsien.....	29
II.1.11 Untersuchungen zur Keimreduktion.....	30
II.1.12 Untersuchungen mittels der 2-Photonenmikroskopie.....	33
II.1.13 Untersuchungen am Tiermodell der Maus.....	37
II.2. Positionen des zahlenmäßigen Nachweises.....	40
II.3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit.....	40
II.4. Voraussichtlicher Nutzen der Ergebnisse.....	40
II.5. Fortschritt bei anderen Stellen.....	41
II.6. Erfolgte Veröffentlichungen unter Mitwirkung dieses Teilprojektes.....	43

I. Kurze Darstellung

I.1. Aufgabenstellung

Im Verbundvorhaben sollen im Rahmen eines Verbundes, bestehend aus zehn Partnern aus Industrie und universitärer Forschung, neuartige Licht- und Plasmaquellen aufgebaut und erforscht werden, die für neue therapeutische Verfahren in der Dermatologie eingesetzt werden können. Diese Quellen werden auf die gezielte Verbesserung von Hautfunktionen (z. B. Zell-Proliferation und –Differenzierung, Kollagen-Auf- und –Abbau) hin untersucht. Im Projekt sollen auch die Prozesse der Wundheilung und der Hautalterung mittels dieser neuen Licht- und Plasmaquellen positiv beeinflusst werden. Diese gesundheitsfördernden Eigenschaften beruhen entweder auf einer direkten biologischen Wirkung der emittierten Strahlung sowie spezieller Gasspezies oder auf dem gleichzeitigen Einsatz von Reizstrom, elektrischen Feldern und biologischen Akzeptorsubstanzen, die eine Verstärkung der Wirkmechanismen ermöglichen können.

Es sollen Plasma- und Lichtquellen definiert, aufgebaut und erforscht werden, die durch selektive, absolut kalibrierte Teilchen- und Lichteinwirkung positive Schutzantworten in menschlichen Hautzellen induzieren. Dazu zählt die Steigerung der Expression und Aktivität von Enzymen der Kollagenneusynthese, die Induktion der kutanen Stickstoffmonoxid (NO) Synthese sowie die Wirkung von reaktiven Gasspezies auf menschliche Hautzellen. Die in diesem Vorhaben geplante Vorgehensweise basiert auf dem Einsatz sehr geringer Bestrahlungsstärken bzw. Energiedosen. Auf diese Weise sollen Nebenwirkungen und schädliche Effekte vermieden werden. Ein weiteres Ziel des Verbundprojektes ist es, die Barrierenentladung zu einer Plasmaquelle für die Behandlung von lebendem biologischem Gewebe auszuweiten. Dabei sollen die antibakterielle Wirkung der reaktiven Gasspezies auf Bakterien sowie zusätzliche Effekte im Plasma, verursacht durch UV-Strahlung und Stromfluss, zur Behandlung von Krankheiten wie Neurodermitis und Schuppenflechte nutzbar gemacht werden.

In dem hier vorgestellten Verbundprojekt sollen die umfangreichen Erfahrungen zur Herstellung, Erforschung und Kalibrierung neuartiger Plasma- und Lichtquellen mit selektiven, speziell gezüchteten Eigenschaften genutzt werden. Die zu untersuchenden Plasmaquellen basieren einerseits auf dem Prinzip der Barrierenentladung in Luft, wobei die Haut als Gegenelektrode fungiert. Die hierbei nutzbaren Effekte setzen sich aus einer Applikation von niedrigem Reizstrom mit besonders kurzen Strompulsen, einer geringen Bestrahlung im nützlichen UV-A- bzw.- UV-B Wellenlängenbereich und aus reaktiven Gasspezies zusammen. Damit kombiniert das Verfahren mehrere wirkungsvolle Effekte, woraus eine Minderung des Juckreizes, eine Förderung der Mikrozirkulation und eine antimikrobielle Wirkung resultieren. Andererseits kommt eine neuartige Atmosphärendruck-Plasmaquelle auf der Basis eines Arrays von Mikrohohlkathodenentladungen zum Einsatz. Im Unterschied zur ersten Plasmaquelle werden hier verschiedene Radikale (z. B. NO) erzeugt, wobei keine elektrischen Felder bzw. Stromflüsse aufgrund der fehlenden Gegenelektrode „Haut“ auftreten. Ein weiterer Unterschied bei den Quellen liegt in der Emission von Strahlung im ultravioletten, sichtbaren und infraroten Spektralbereich, die im Fall der Barrierenentladung vernachlässigbar klein ist. Hier sollen insbesondere neue Lichtquellen mit selektiven Spektren auch in Kombination mit den Plasmaquellen näher untersucht werden. Ein Schwerpunkt ist dabei die durch Photonen induzierte zelluläre und kutane Wirkung von

NO. Unter Bestrahlung mit den genannten Quellen soll in Kulturen mit humanen Hautzellen und der menschlichen Haut die Wirkung dieser Exposition auf die Zellteilung, den Kollagenstoffwechsel sowie auf die enzymatische oder nicht-enzymatische NO-Generierung untersucht und quantifiziert werden.

In dem geplanten Teilvorhaben soll im Rahmen eines Verbundes, bestehend aus 10 Partnern aus Industrie und universitärer Forschung, eine Plasmaquelle auf Basis einer Barrierenentladung aufgebaut und erforscht werden. Diese soll neue therapeutische Verfahren in der Dermatologie ermöglichen. Die zu untersuchende Plasmaquelle basiert auf dem Prinzip der Barrierenentladung in Luft, wobei das biologische Gewebe als Gegenelektrode fungiert. Die nutzbaren Effekte setzen sich zusammen aus einer Applikation von niedrigem Reizstrom mit besonders kurzen Strompulsen, einer geringen Bestrahlung im nützlichen UV-A bzw.-UV-B Wellenlängenbereich und aus den Gasspezies in der Entladung. Dabei werden erstmalig physikalische Effekte sinnvoll und effektiv kombiniert. Die Plasmaquelle soll den Juckreiz mindern, ohne das erkrankte biologische Gewebe zu berühren und darüber hinaus die Mikrozirkulation fördern. Diese Eigenschaften könnten neue Therapieoptionen bei der Behandlung von Hautkrankheiten eröffnen.

CINOGY wird in Rahmen dieses Teilvorhabens die Plasmaquelle konzipieren und erforschen. Die Arbeiten umfassen neben dem Aufbau eines Simulationsmodells des Hochspannungsgenerators, in Verbindung mit einer Barrierenentladung auf biologischem Gewebe, auch die Konstruktion, Erstellung und Tests einer Versuchsquelle. Nach der Erforschung der Quelle und der Bestimmung von Betriebsparametern kann diese an die Verbundpartner weitergegeben werden. In der anschließenden Optimierungsphase soll die Versuchsquelle durch Unteraufträge an das AEPT Bochum absolut kalibriert und durch die Immunbiologie Düsseldorf und die Plastische Chirurgie Aachen in ihrer biologisch-medizinischen Wirkung untersucht und systematisch verbessert werden. Die Teilvorhaben der HAWK Göttingen und zell-kontakt Nörten-Hardenberg befassen sich ebenfalls mit der Charakterisierung der Versuchsquelle. So wird die HAWK den Einfluss der biologischen Gegenelektrode auf die Entladungseigenschaften bestimmen und zell-kontakt durch eine zellbiologische Erprobung das Gefährdungspotenzial bei Anwendung auf biologischem Gewebe untersuchen.

1.2. Voraussetzungen unter denen das Vorhaben durchgeführt wurde

Das Vorhaben wurde in enger Kooperation mit der dikon Entwicklungs- und Produktionsgesellschaft mbH, der zell-kontakt GmbH, dem Lehrstuhl für Allgemeine Elektrotechnik und Plasmatechnik an der Ruhr Universität Bochum, dem Institut für Molekulare Medizin an der Heinrich Heine Universität Düsseldorf, der Klinik für Plastische Chirurgie, Hand- und Verbrennungschirurgie der Medizinischen Fakultät der RWTH Aachen und des Instituts für Mechatronik und angewandte Photonik an der Fakultät Naturwissenschaft und Technik der HAWK Hochschule für Angewandte Wissenschaft und Kunst in Göttingen durchgeführt.

Bei der Bearbeitung des Vorhabens kann auf jahrelange Erfahrung der Mitarbeiter der CINOGY GmbH als wissenschaftliche Mitarbeiter an der HAWK im Labor für Laser- und Plasmatechnologie bei der Behandlung von thermolabilen biologischen Stoffen wie Holz oder auch Fingernägeln durch Atmosphärendruckplasmen zurückgegriffen werden [1-3].

Der Einfluss einer Gasentladung auf lebendes biologisches Gewebe hinsichtlich elektrischer, spektrometrischer und radiometrischer Parameter stellte in diesem Vorhaben

die Herausforderung bei der Quellenkonzeption für die Projektpartner dar.

Die Untersuchungen zu grundsätzlichen Fragestellungen für Applikation von Plasmen im Bereich medizinischer Anwendungen bedeutet für die CINOXY GmbH den Schritt unter konsequenter Verfolgung der Strategie, innovative plasmabasierte Verfahren im Bereich biologischer Materialien zu entwickeln und zu etablieren.

I.3. Planung und Ablauf des Vorhabens

Die Planung des Vorhabens erfolgte in gegenseitiger Abstimmung mit den technischen und wissenschaftlichen Partnern. Die Aufgabenstellung und der zeitliche Verlauf der einzelnen Bearbeitungsphasen wurden in einer mit allen Partnern abgestimmten Vorhabensbeschreibung zum Verbundprojekt „BioLiP“ festgelegt. Zur Sicherung der Arbeits- und Zeitpläne für partnerübergreifende Tätigkeiten wurde in regelmäßigen Beratungstreffen aller Partner der Projektfortschritt dokumentiert und diskutiert. Das Vorhaben war zunächst auf 3 Jahre befristet, konnte aber gegen Ende der Projektlaufzeit kostenneutral mit Genehmigung des VDI auf eine Gesamtlaufzeit von 3,5 Jahren verlängert werden.

I.4. Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Die Methode zur Behandlung von biologischem Material wurde durch eine internationale Patentanmeldung unter der Nummer WO 2004/105810 A1 geschützt.

Im Bereich der plasma-medizinischen Forschung waren zum Zeitpunkt der Antragstellung verschiedene Gruppen weltweit aktiv. Die wichtigsten sind nachfolgend aufgeführt.

Die Arbeitsgruppe um **M. Laroussi** et al. beschäftigte sich seit Ende der 90er Jahre neben der Entwicklung von Plasmaquellen nach dem Jet- oder auch RBD¹-Prinzip vor allem mit der Sterilisation von Oberflächen und Untersuchungen zur bakteriziden Wirkung von Atmosphärendruck-Plasmen [5-9].

E. Stoffels und ihre Gruppe stellte bereits 2002 die „Plasma Needle“ vor. Mit diesem Jet, der mit Helium betrieben wird, leistete sie Pionierarbeit bei der Behandlung biologischer Materialien mit einem Atmosphärendruckplasma [10-11].

Fridman et al. haben 2005 auf amerikanischen Tagungen vom Einsatz nicht-thermischer Plasmen auf lebendem Gewebe berichtet, bevor sie 2006 eine Arbeit zur Blut-Koagulation sowie zur Sterilisation mit einem Atmosphärendruckplasma veröffentlichten [12-13]. Die dabei verwendete Quelle basiert auf einem ähnlichen Konzept wie die Quelle in diesem Forschungsprojekt, unterscheidet sich jedoch hinsichtlich elektrischer Beschaltung und Leistungsdichten. Der Arbeit dieser Gruppe wird auf Grund der zu erwartenden Vergleichbarkeit der Ergebnisse während der Laufzeit des Projektes große Aufmerksamkeit gewidmet.

G. E. Morfill et al. haben im Jahr 2005 ein ebenfalls nach dem Jet-Prinzip arbeitendes Gerät mit Argon als Arbeitsgas entwickelt. Zu Anfang des Projektes wurde bekannt, dass diese Arbeitsgruppe eine klinische Studie anstrebte.

Die Arbeitsgruppe um **K.-D. Weltmann am INP in Greifswald** stellte ebenfalls im Jahr 2005 einen Plasma-Jet vor, der nicht-thermisch zur Behandlung von Oberflächen

¹ Resistive Barrier Discharge – eine Abwandlung der dielektrisch behinderten Entladung

eingesetzt werden konnte [14]. Dieses Konzept wurde später zum „KinPen“ weiterentwickelt, der für verschiedenste Anwendungen in Medizintechnik sowie pharmazeutischer Industrie vorgesehen war. In der 2. Förderrunde „Zentren für Innovationskompetenz“ wurde 2006 die Initiative „plasmatis“ gefördert, die durch systematische Grundlagenforschung die Wechselwirkung zwischen physikalischem Plasma und lebender Materie zu erforschen begann [15].

Neben den seit einigen Jahren vorhandenen Produkten für kosmetische Anwendungen von Atmosphärendruck-Plasmen, sind auf dem freien Markt Plasma-Koagulatoren seit 20 Jahren für Applikationen am lebenden Menschen erhältlich [16,17].

I.5. Zusammenarbeit mit anderen Stellen

Das Vorhaben wurde in enger Kooperation mit der dikon Entwicklungs- und Produktionsgesellschaft mbH, der zell-kontakt GmbH, dem Lehrstuhl für Allgemeine Elektrotechnik und Plasmatechnik an der Ruhr Universität Bochum, dem Institut für Molekulare Medizin an der Heinrich Heine Universität Düsseldorf, der Klinik für Plastische Chirurgie, Hand- und Verbrennungschirurgie der Medizinischen Fakultät der RWTH Aachen und des Instituts für Mechatronik und angewandte Photonik an der Fakultät Naturwissenschaft und Technik der HAWK Hochschule für Angewandte Wissenschaft und Kunst in Göttingen durchgeführt.

In Ergänzung zu den zellbiologischen Erprobungen wurden für die DBD-Plasmaquelle an der Hautklinik der Universität des Saarlandes in Zusammenarbeit mit der Firma JenLab GmbH In-vivo Mikroskopien an der Haut von Probanden nach erfolgter Plasmaexposition durchgeführt.

Die Untersuchungen zur Keimreduktion wurden in Zusammenarbeit mit dem Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung IVV in Freising durchgeführt.

II. Eingehende Darstellung

II.1. Erzielte Ergebnisse

II.1.1 Simulation

Zur Erstellung der Simulation einer Barrierenentladung mit einer Gegenelektrode bestehend aus lebendem biologischem Gewebe kommt im Rahmen dieses Forschungsprojekts die Software PSpice zum Einsatz. Dabei soll in vereinfachter Form der Spannungsverlauf ausgangsseitig simuliert werden.

Im Allgemeinen lässt sich das vereinfachte elektrische Schaltbild einer Zelle wie in Abbildung 1 darstellen [4]. Dabei gibt es ein intrazelluläres Gebiet und ein extrazelluläres Gebiet. Zusammengefasst handelt es sich um eine Kombination aus Widerständen (R) und Kapazitäten (C).

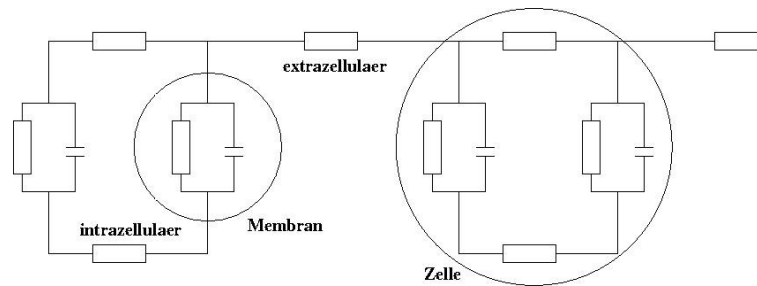


Abbildung 1: Elektrisches Ersatzschaltbild eines Zellstranges

In die Simulations-Software PSpice eingebunden, ergibt sich das wie in Abbildung 2 dargestellte Modell einer Zelle.

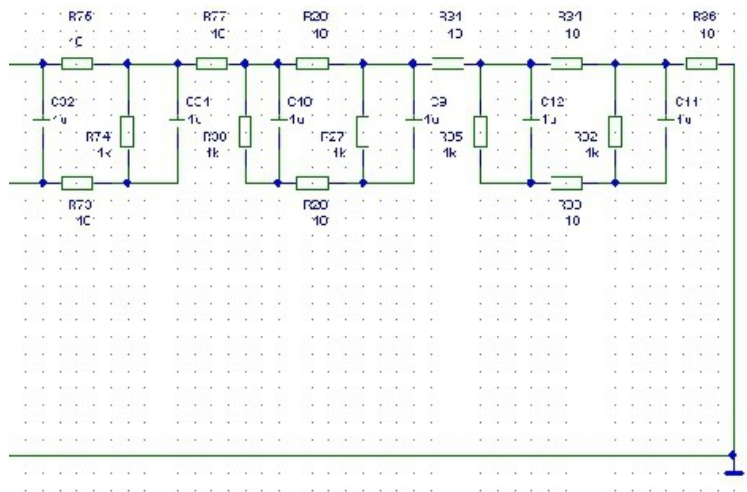


Abbildung 2: Elektrisches Ersatzschaltbild eines Zellstranges in PSpice

Die Simulation der Quelle setzt voraus, dass als Ergebnis ein Spannungspuls der Größenordnung 10 kV generiert wird. Unter dieser Vorgabe ist das in Abbildung 3 dargestellte Modell entstanden.

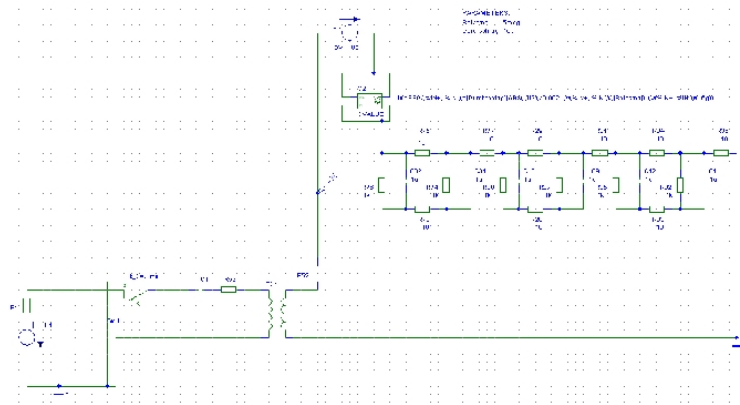


Abbildung 3: PSpice-Modell Quelle-Zellstrang

Nach Durchlaufen der Simulation erhält man die in Abbildung 4 für die Quelle und in Abbildung 5 für die Zelle die entsprechenden Spannungsverläufe.

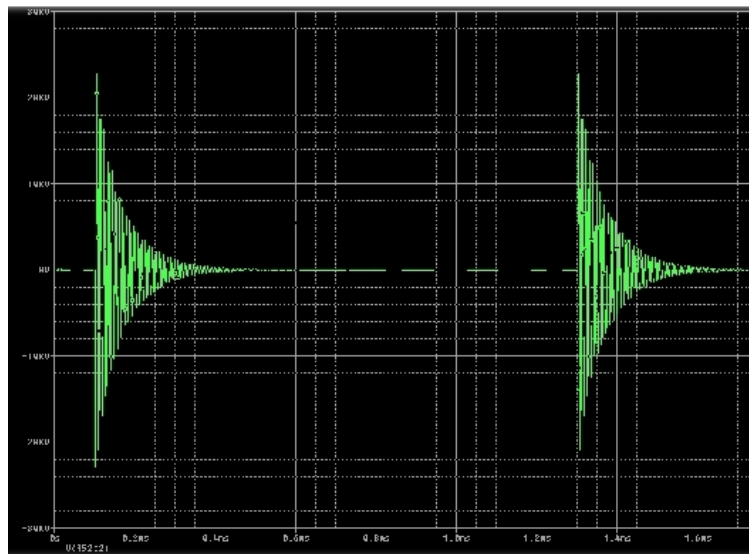


Abbildung 4: Simulierter Spannungsverlauf der Quelle

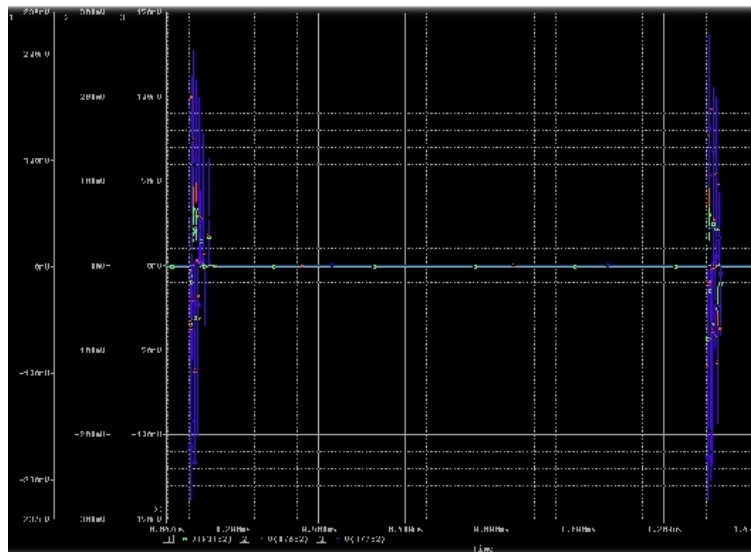


Abbildung 5: Simulierter Spannungsverlauf an der Zelle

II.1.2 Versuchsaufbau

Der Versuchsaufbau der CINOGY GmbH besteht im Wesentlichen aus zwei Komponenten, dem Plasmaversorgungsgerät V01 und dem Hochspannungsmodul (HV-Modul). Durch Kombination beider Geräte kann eine dielektrisch behinderte Gasentladung (Barrierentladung) zwischen der Hochspannungselektrode am HV-Modul sowie einer geeigneten Gegenelektrode realisiert werden. Abbildung 6 zeigt den kompletten Versuchsaufbau, wie er an die entsprechenden Verbundpartner ausgeliefert ist. Das HV-Modul ist zur exakten Positionierung über den entsprechenden Zellkulturen bzw. Gegenelektroden mit einer in vertikal positionierbaren Höhenverstelleinheit verbunden. Diese besitzt eine örtlichen Auflösung in z-Richtung von 0,1mm.

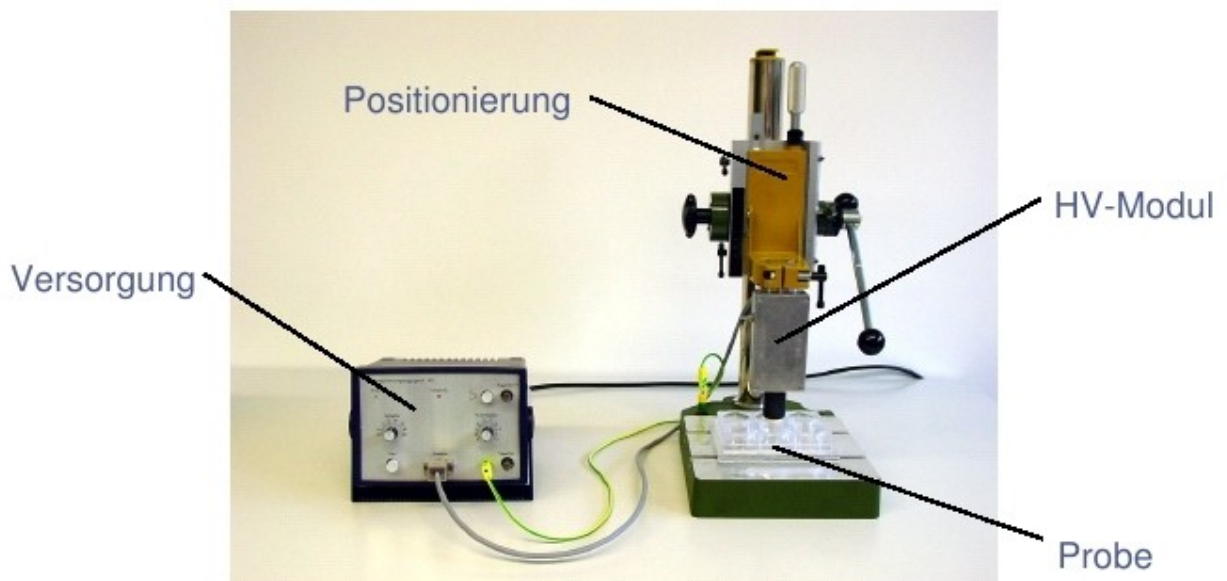


Abbildung 6: Versuchsquelle, bestehend aus Plasmaversorgungsgerät V01 und Hochspannungsmodul

Als Elektrodenmaterial wird zum Einen handelsübliche Keramik (Al_2O_3) benutzt, zum Anderen wird das Material Macor verwendet, welches auch ein keramischer Werkstoff ist. Macor lässt sich jedoch einfacher mechanisch bearbeiten. Dies wiederum ist von entscheidender Bedeutung, wenn die Elektrode an die verschiedenen Größen der benutzten Well-Platten der Verbundpartner angepasst werden muss. Abbildung 7 zeigt die Elektrode aus Keramik (Al_2O_3) inklusive der entsprechenden Halterung. Abbildung 8 zeigt äquivalent die Elektrode aus Macor.



Abbildung 7: Elektrode aus handelsüblichem AL_2O_3

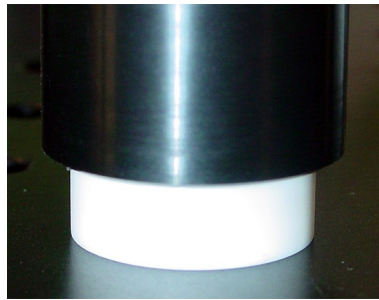


Abbildung 8: Elektrode aus MACOR

Das Plasmaperversorgungsgerät (Abbildung 9) dient zur Spannungsversorgung des HV-Moduls. Mithilfe des Plasmaperversorgungsgerätes können verschiedene Parameter, welche entscheidend für die mikrobiologischen wie auch für die physikalischen Untersuchungen von Bedeutung sind, eingestellt werden.

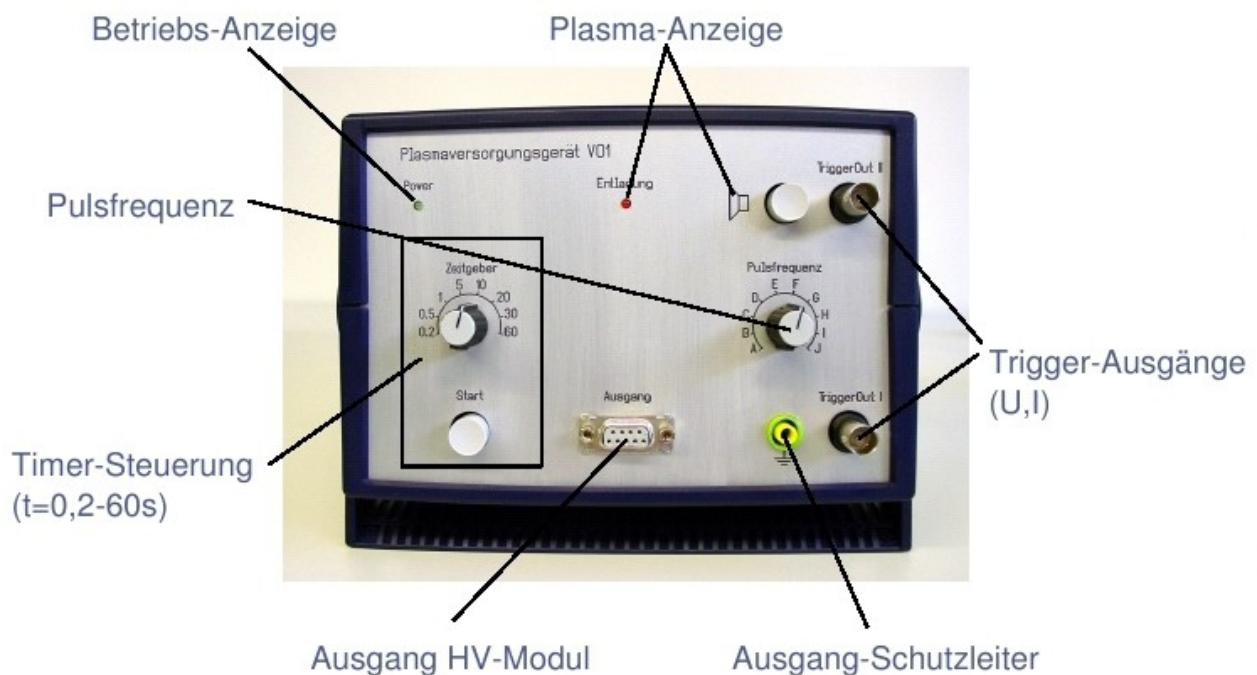


Abbildung 9: Plasmaperversorgungseinheit

In dem HV-Modul (Abbildung 10) wird die Hochspannung generiert, welche laut dem Gesetz von Paschen nötig ist, um ein Plasma zu zünden und anschließend aufrechtzuerhalten. Da von den Verbundpartnern der unterschiedliche Well-Platten für die jeweiligen Versuche verwendet werden, ist an dem HV-Modul ein Schalter angebracht, welcher eine Variation der Höhe der Spannung erlaubt, so dass bei allen Verbundpartnern, trotz unterschiedlicher Ausgangsbedingungen zum Zünden der Spannung ein entsprechend homogenes Plasma zur Verfügung gestellt werden kann.

Damit ist es für jeden Verbundpartner möglich, die für seinen Versuchsaufbau entsprechend beste Zündspannung einzustellen. Die Kombination der Schalterstellung Pulsfrequenz am Plasmaversorgungsgerät und der Position der Schalterstellung am HV-Modul ermöglichen unterschiedliche Parameter.

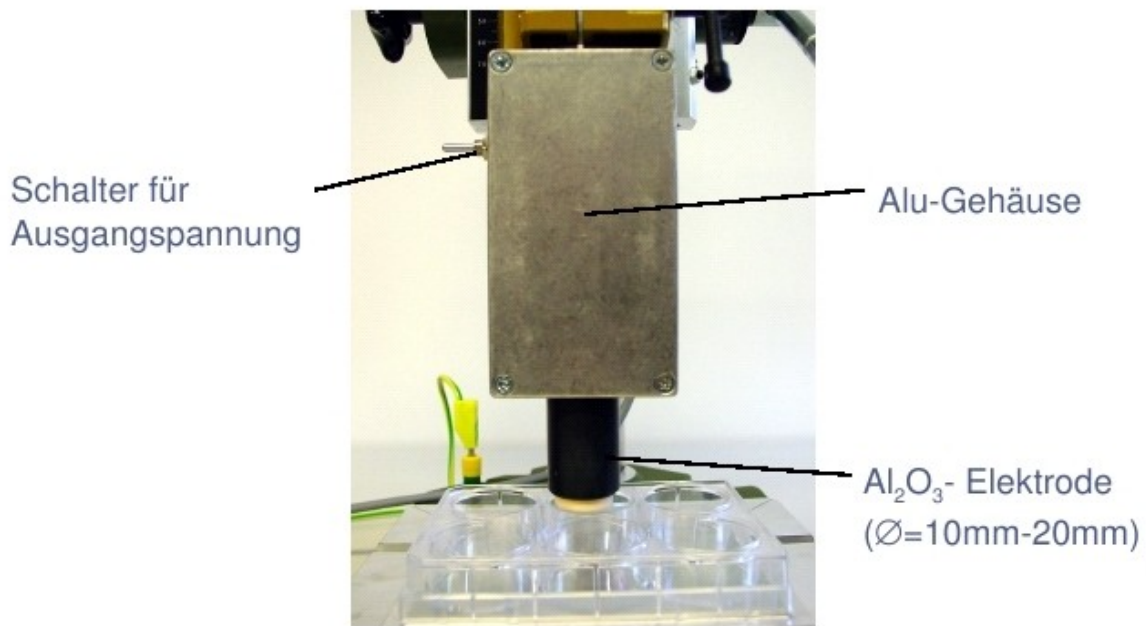


Abbildung 10: HV-Modul

II.1.3 Spannungs- und Stromverläufe

Von entscheidender Bedeutung ist die Kenntnis der Strom- und Spannungscharakteristik des Pulses, welchen die Quelle liefert. Gemessen wurden die Strom- und Spannungsverläufe nach dem Prinzip in Abbildung 11. In Abbildung 12 ist in typischer Verlauf des Strom- und des Spannungspulses an jeweils einer Keramikelektrode (Al₂O₃ Elektrode) und in Abbildung 13 einer Macorelektrode dargestellt. Abbildung 14 zeigt die ersten vier Spannungs- und Strompulse bei einem Elektrodenabstand von 1,0mm.

Gemessen wurde ebenfalls die Stromcharakteristik bei unterschiedlichen Gasspalten. Abbildung 16 zeigt den Spannungs- und Stromverlauf bei Kontakt der Elektrode mit einer Aluminium-Spitze (kein Gasspalt) und Abbildung 15 zeigt den jeweils ersten Strompuls bei unterschiedlichen Gasspalten.

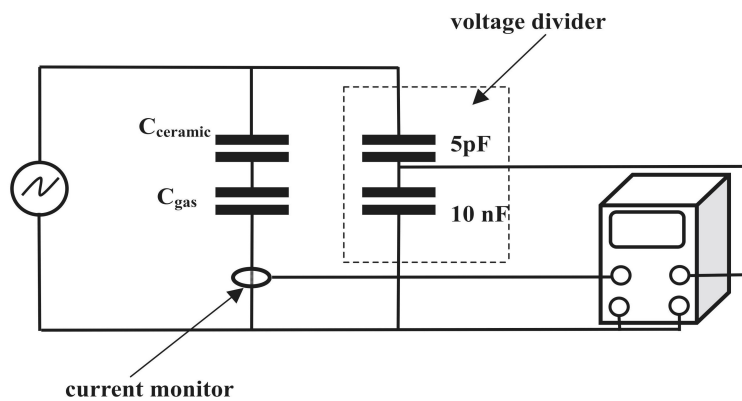


Abbildung 11: Ersatzschaltbild zur Bestimmung der elektrischen Parameter der dielektrisch behinderten Entladung.

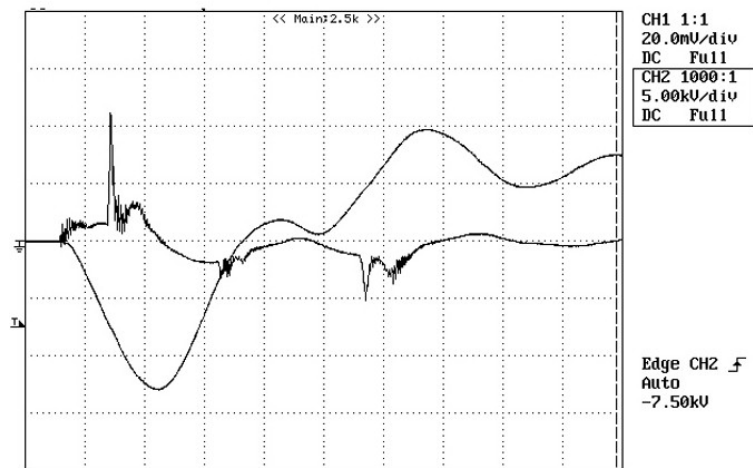


Abbildung 12: Strom- und Spannungsverlauf an der Al_2O_3 Elektrode

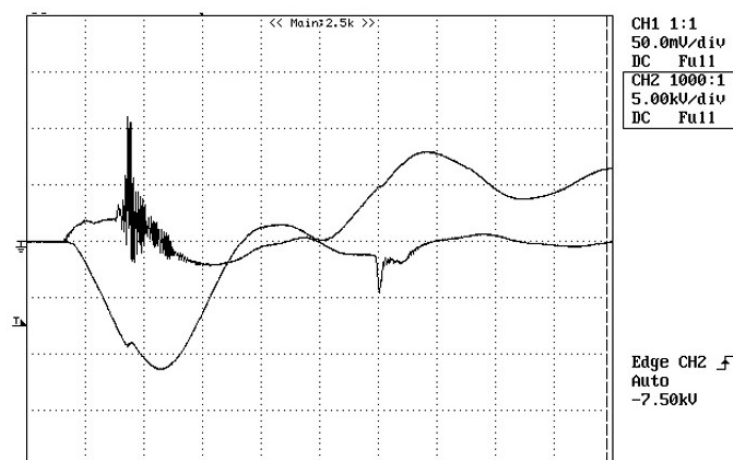


Abbildung 13: Strom- und Spannungsverlauf an der Marcor Elektrode

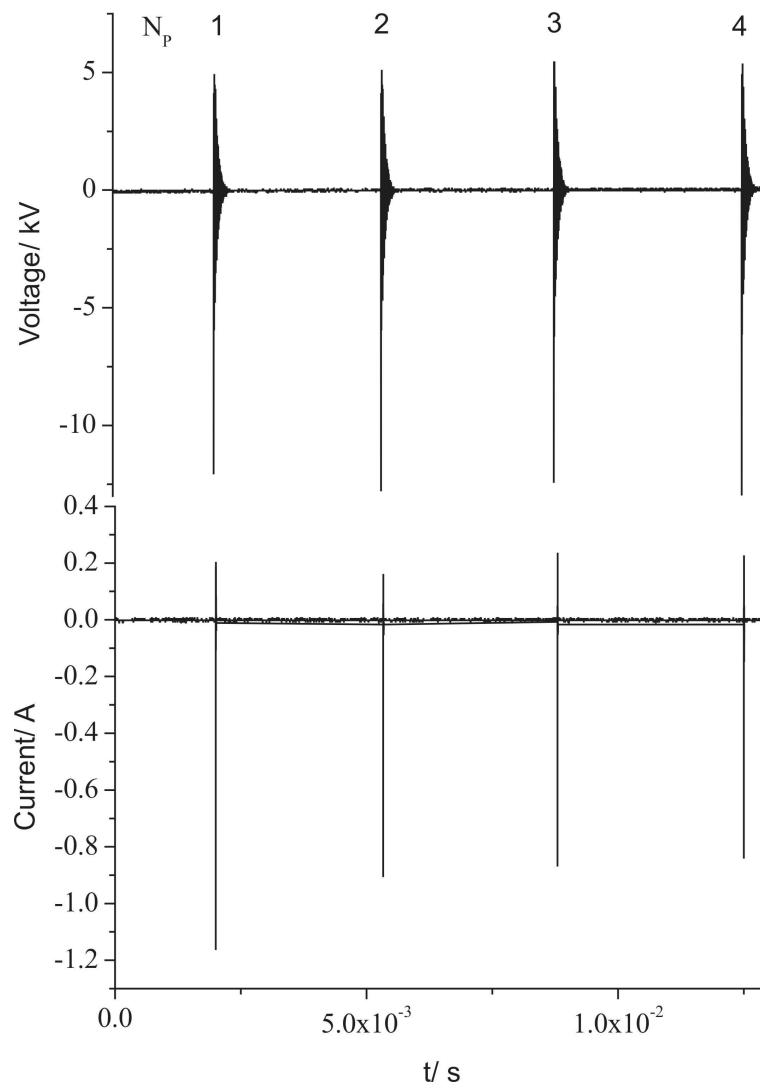


Abbildung 14: Darstellung der ersten vier Spannungs- und Strompulse bei einem Elektrodenabstand von 1,0mm.

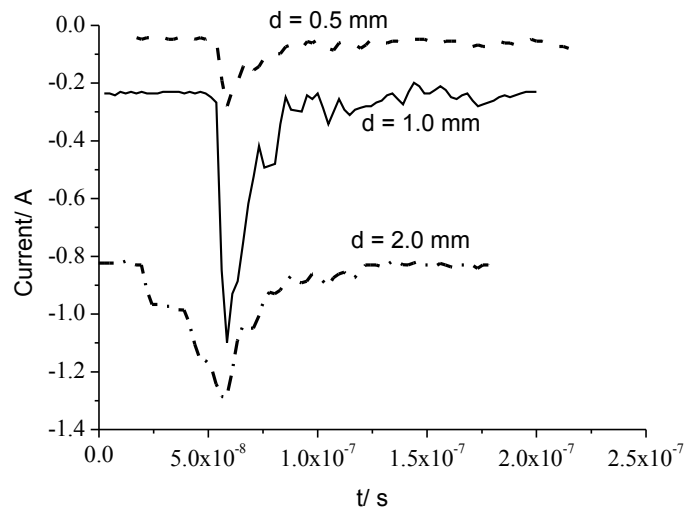


Abbildung 15: Die jeweils ersten Strompulse bei unterschiedlichen Gasspalten. Für eine übersichtlichere Darstellung sind die Ströme vertikal versetzt.

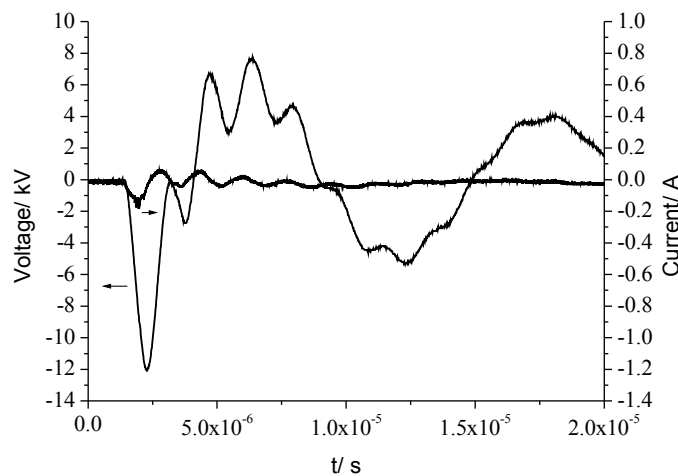


Abbildung 16: Spannungs- und Stromverlauf bei Kontakt der Elektrode mit der Aluminium-Spitze (kein Gasspalt).

II.1.4 Leistungscharakteristik

Um die Energiebilanz aufzustellen, bzw. eine Aussage über die elektrische Leistung treffen zu können, werden zwei unterschiedliche Verfahren eingesetzt. Zum Einen kommt eine Auswertung nach der Methode $\text{Int}(U \cdot I)$ zum Einsatz, zum Anderen wird die Energie mithilfe der Lissajous-Figur bestimmt. Beide Methoden werden durch ein Oszilloskop

ausgewertet. Abbildung 17 zeigt typische Aufnahmen.

Für die Leistungcharakteristik sind zum Einen die Elektrode aus Al_2O_3 und die Elektrode aus Marcor untersucht worden. Die aktive Elektrodenfläche der Elektrode aus Al_2O_3 beträgt $0,79 \text{ cm}^2$, die aktive Elektrodenfläche der Elektrode aus Marcor beträgt $2,0 \text{ cm}^2$. Mit den entsprechenden Werten können nun die Energie, die Leistung und die Leistungsdichte ermittelt werden. Diese sind in Tabelle 1 und Tabelle 2 dargestellt.

	Spannung [kV]	E _{Entladung} [mJ]		P _{entladung} [mW]		Leistungsdichte [W/cm ²]
		Int(U·I)	Lissajous	Int(U·I)	Lissajous	
Al_2O_3	12	0.43	0.41	119	114	0.14
Al_2O_3	14	0.73	0.69	98	93	0.12
Al_2O_3	10	0.33	0.31	127	121	0.15

Tabelle 1: Leistungcharakteristik der Elektrode aus Al_2O_3

	Spannung [kV]	E _{Entladung} [mJ]		P _{entladung} [mW]		Leistungsdichte [W/cm ²]
		Int(U·I)	Lissajous	Int(U·I)	Lissajous	
Marcor	12	0.72	0.75	199	208	0.1
Marcor	14	1.1	1.24	149	167	0.08
Marcor	10	0.55	0.61	212	237	0.12

Tabelle 2: Leistungcharakteristik der Elektrode aus Marcor

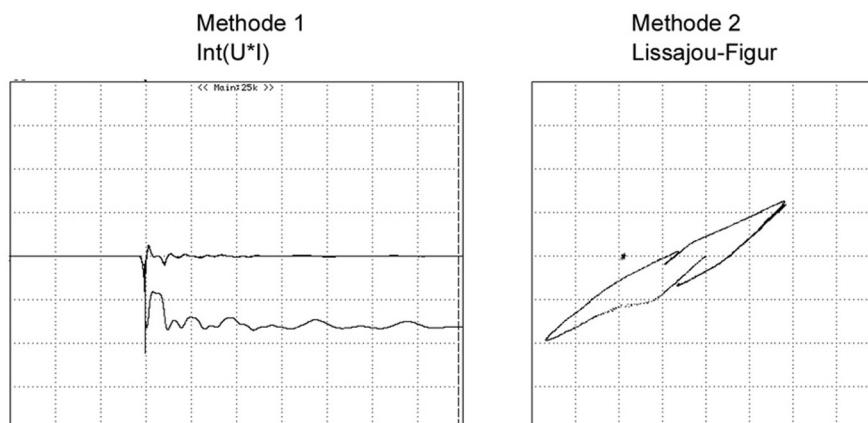


Abbildung 17: Leistungsmessung nach der Methode Int(U·I) (links) und Lissajous-Figur (rechts)

II.1.5 Zündspannungsverhalten

Ein weiteres Kriterium ist das Erreichen der Zündspannung. In Abbildung 18 ist die

erforderliche Zündspannung gegen den Abstand von Elektrode zu Gegenelektrode dargestellt. Dabei ist die Gegenelektrode ohne Barriere, dielektrisch behindert oder als Spitze ausgebildet. Abbildung 19 zeigt den Durchbruch der Entladung beim zweiten Triggerpuls. Der Gasspalt bei diesem Puls beträgt 2 mm.

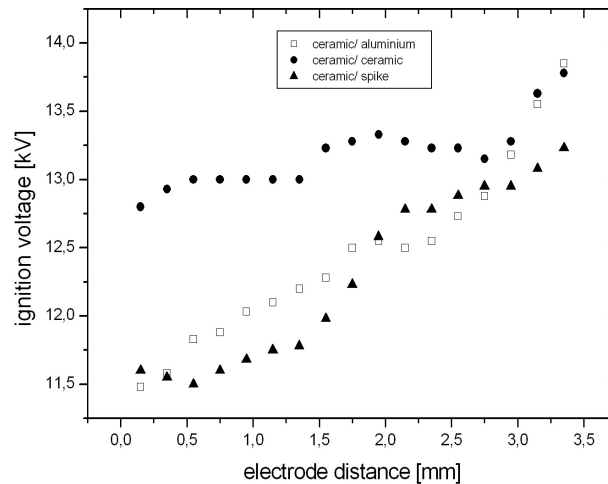


Abbildung 18: Zündspannungsverhalten bei verschiedenen Gegenelektrodenmaterialien

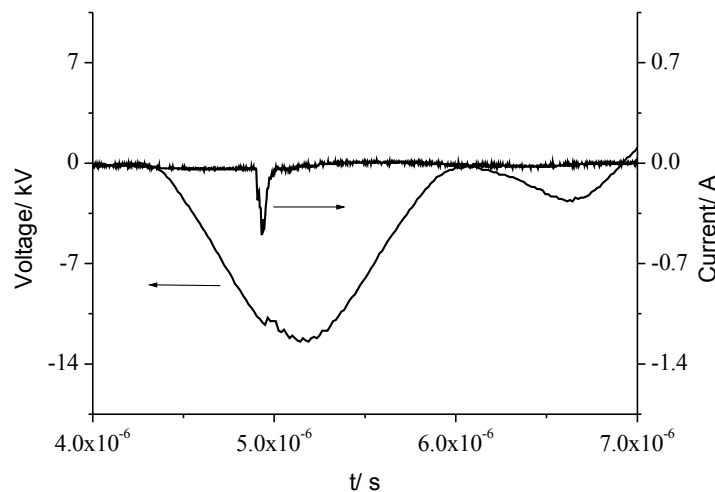


Abbildung 19: Durchbruch der Entladung beim zweiten Triggerpuls. Der Gasspalt beträgt 2 mm.

In Abbildung 20 ist der Durchbruch der Entladung beim ersten Triggerpuls aufgezeigt. Der Gasspalt bei diesem Puls beträgt ebenfalls 2 mm.

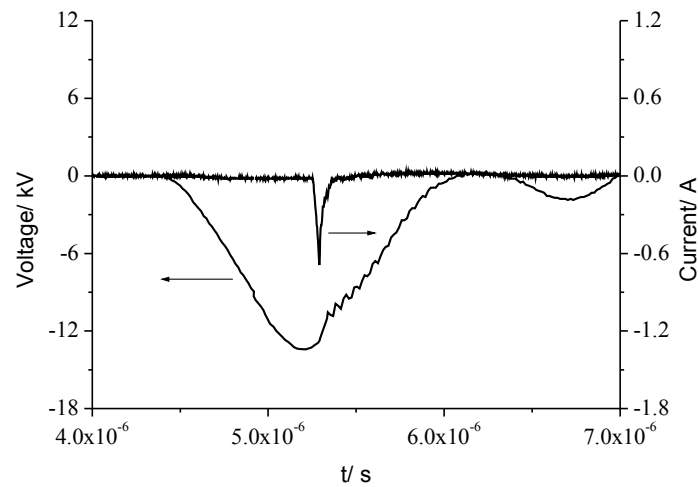


Abbildung 20: Durchbruch der Entladung beim ersten Triggerpuls. Der Gasspalt beträgt 2 mm.

II.1.6 Homogenitätsvergleich

Die Aussage über die Homogenitätsverteilung der Gasentladung ist ein wesentlicher Faktor. Hierzu wurden eine Vielzahl an Untersuchungen durchgeführt. Abbildung 21 zeigt die Gasentladung bei Verwendung einer Al_2O_3 -Elektrode mit einem Durchmesser von 10 mm.

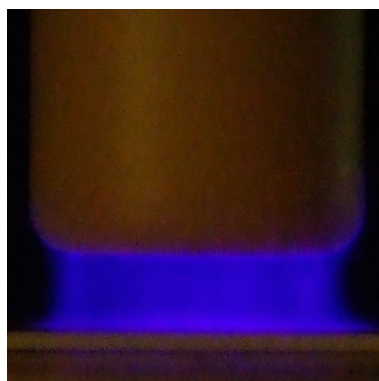


Abbildung 21: Gasentladung bei einem Durchmesser von 10 mm an einer Al_2O_3 -Elektrode

Zum Einen wurde durch Aufnahmen mittels einer Kamera in der radialen Ebene die Homogenitätsverteilung der Entladung bei unterschiedlichen Elektrodengeometrien, Elektrodenmaterialien und Spannungen aufgenommen (Abbildung 22). Zum Anderen wurde mittels Zündung gegen eine Elektrode aus ITO beschichteten Glas (transparente

Gegenelektrode) die Aufnahme in axialer Ebene durchgeführt (Abbildung 23). Hierbei wurden die Abstände zwischen Hochspannungselektrode und Gegenelektrode variiert.

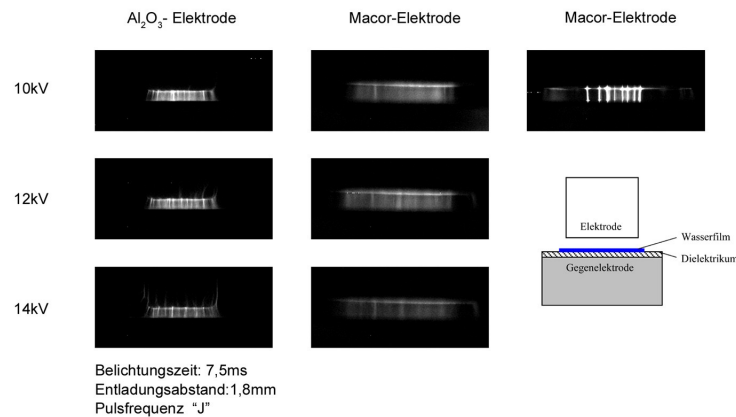


Abbildung 22: Entladungsaufnahmen in radialer Ebene

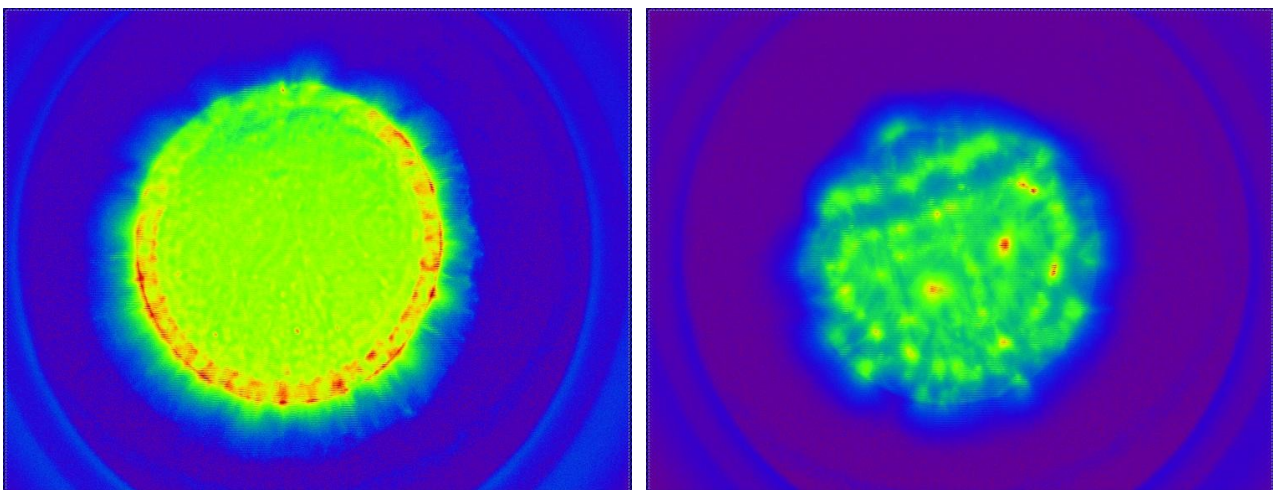


Abbildung 23: Entladungsaufnahme in axialer Ebene

II.1.7 Gastemperaturmessung

Für die Bestimmung der Gastemperatur wird eine spektroskopische Methode genutzt, die den Vorteil bietet, dass das Plasma in seiner Propagation nicht gestört ist und damit die Messbedingungen identisch sind mit den Einsatzbedingungen der Quelle. Diese Methode nutzt den Effekt aus, dass sich translatorische Temperatur und rotatorische Temperatur aufgrund der niedrigen Energiemengen für den Übergang und der geringen Thermalisierungszeiten im Gleichgewicht befinden [18]. Die Rotationstemperatur lässt sich durch Anfitzen eines gerechneten Spektrums an das gemessene bestimmen.

Für die Untersuchungen wird unterschieden zwischen der zentralen Entladung im 19

Gasspalt (Abbildung 24) und der Entladung auf der Dielektrikumoberfläche 25). Weitere Details hierzu finden sich in [19].

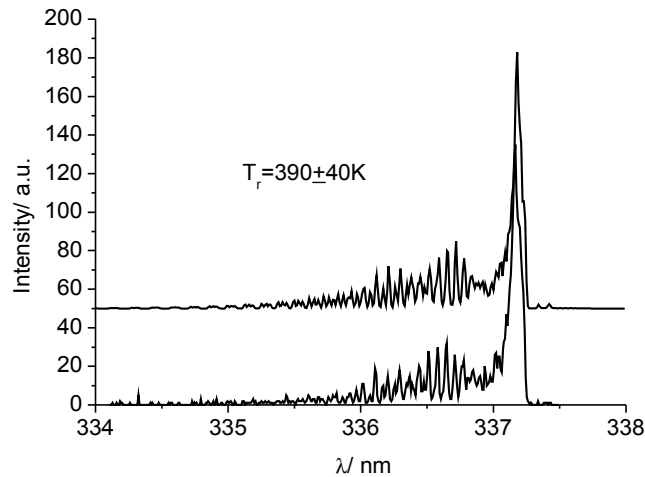


Abbildung 24: Gemessene (unten) und berechnete (oben) Stickstoff-Emission des C-B-Übergangs zentral im Gasspalt

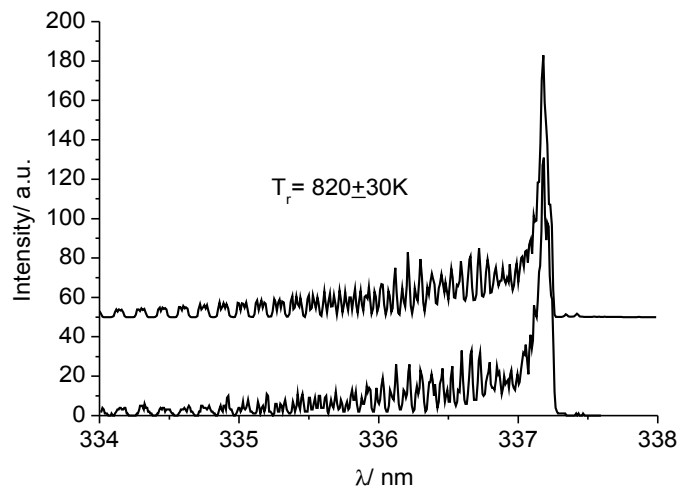


Abbildung 25: Gemessene (unten) und berechnete (oben) Stickstoff-Emission des C-B-Übergangs bei der Oberflächenentladung an der durch den Wolframdraht kurzgeschlossenen Dielektrikumoberfläche.

Es ist festzustellen, dass sich im Gasraum mit 390 K eine deutlich niedrigere Gastemperatur einstellt als an der Dielektrikumoberfläche, wo sich das Gas kurzzeitig auf bis zu 820 K aufheizt. Die Aufheizung des Gases erfolgt nur während der aktiven

Plasmaphase - durch die Pulsung der Hochspannung erfolgt diese dementsprechend alle 2,5 ms. Um die zeitliche Entwicklung dieser Gastemperaturen zu untersuchen, wird die Wärmeleitungsgleichung in räumlicher und zeitlicher Dimension gelöst [20,21]. Dieses ist entsprechend in Abbildung 26 und Abbildung 27 dargestellt.

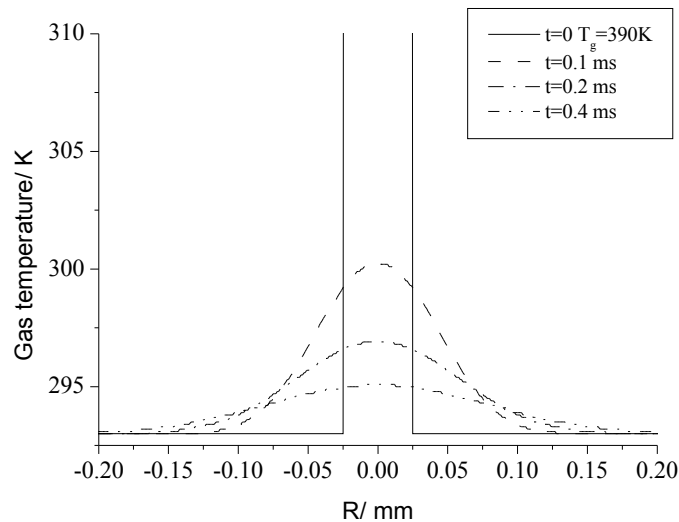


Abbildung 26: Räumliche Verteilung der Gastemperatur im afterglow der Entladung im Spalt durch Lösung der Wärmeleitungsgleichung.

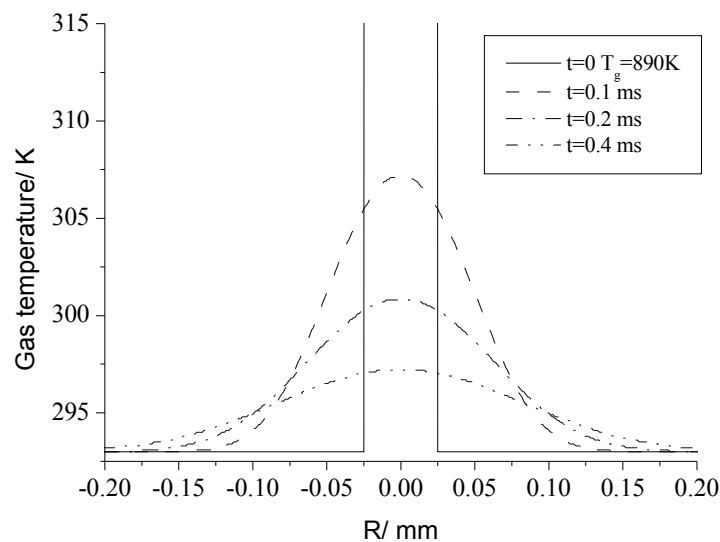


Abbildung 27: Räumliche Verteilung der Gastemperatur im afterglow der Oberflächenentladung durch Lösung der Wärmeleitungsgleichung.

Sowohl in der zentralen Entladung als auch in der Oberflächenentladung sinkt die Gastemperatur in weniger als einer Millisekunde auf das Ausgangsniveau ab. Eine

kumulative Aufheizung des Gases ist damit ausgeschlossen. Dieser geringe Aufheizeffekt wird auch in Abbildung 28 verdeutlicht, wo die Temperatur eines Kupferkörpers mit einer Masse von 0,46 g innerhalb von 10 Minuten um nicht mehr als 16K erhöht wird.

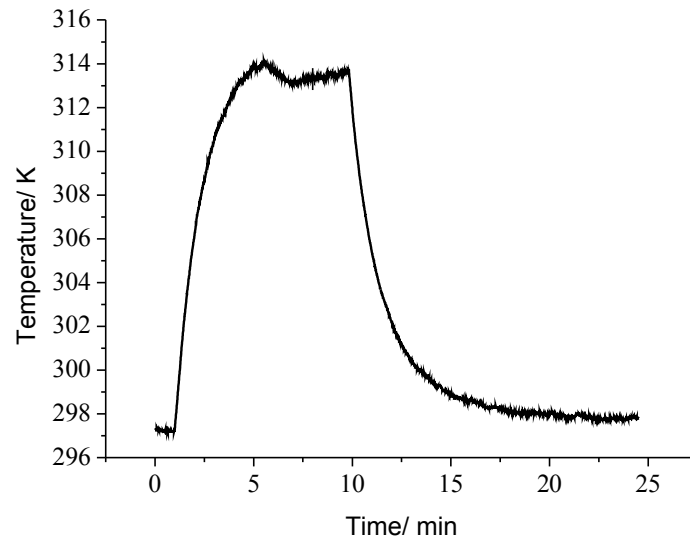


Abbildung 28: Zeitliche Abhängigkeit der Probestemperatur durch 10-minütiges Aufheizen in der Entladung.

II.1.8 Gaszusammensetzung

Für die Bestimmung der Teilchenflüsse bei der Gasentladung wurden drei mögliche Moden des Plasmas unterschieden, die bei der Anwendung der Quelle im Bereich der Dermatologie auftreten können:

- Multifilamentäre Mode (Abbildung 29)
- Einzelfilamentäre Mode (Abbildung 30a)
- Homogene Mode (Abbildung 30b)

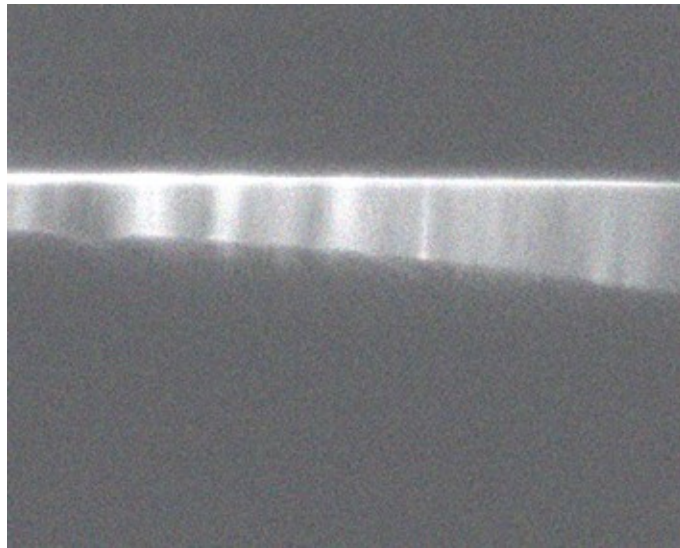


Abbildung 29: Mikrofotografie einer zeitgleichen homogenen und filamentierten Entladung auf einem Finger bei einem Elektrodenabstand von $d = 1$ mm.

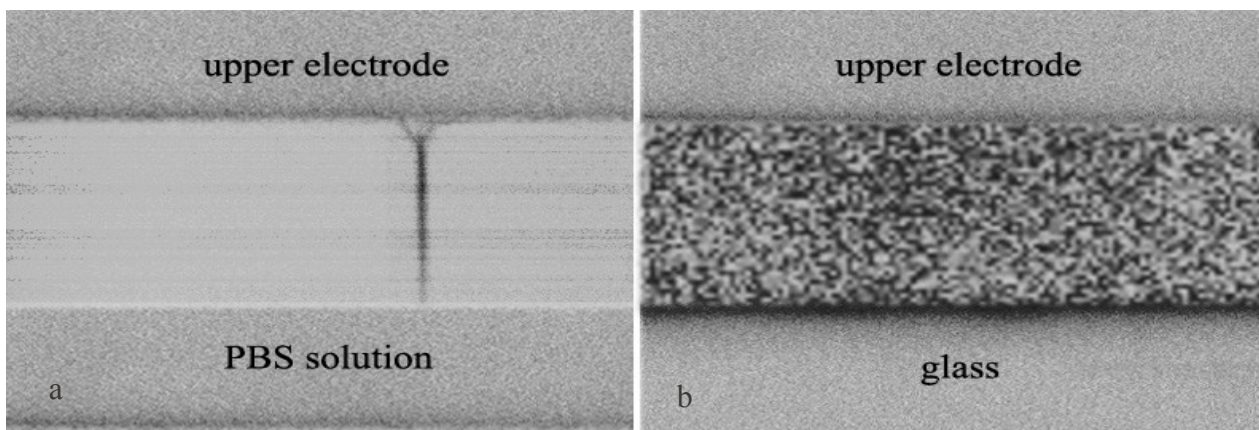


Abbildung 30: Inverse Mikrofotografie von unterschiedlichen Moden der DBD bei $d = 1$ mm: (a) Stochastisch filamentierte Entladung auf PBS Lösung, (b) Homogene Entladung mit Glas. Die Belichtungszeit beträgt 2 ms mit unterschiedlichen Bildvergrößerungen

Um Aussagen über die Teilchenflüsse der aktiven Spezies in Richtung der zu behandelnden Oberfläche treffen zu können, wurden die Erzeugungs- und Vernichtungsprozesse der Teilchen aufgrund der Diffusion berechnet. Als Eingangsparameter für diese Modellierung wurden messtechnisch die Entladungsdauer zu $t \sim 20$ ns, die geometrischen Ausmaße mittels Mikrofotografie, die Gastemperatur und die gemittelte Elektronendichte mittels optischer Emissionsspektroskopie bestimmt. Gemeinsam mit Ratenkonstanten aus den verschiedensten wissenschaftlichen Arbeiten konnten nun Teilchenflüsse bestimmt werden. Die im Modell berücksichtigten Reaktionen zeigt die Tabelle 3. Weitere Details zu diesen Untersuchungen finden sich in [22].

Reaktion	Ratenkonstante	Ref.
$O_2 + e \rightarrow O + O + e$	Berechnet durch EVDF, n_e	—
$N_2 + e \rightarrow N + N + e$	Berechnet durch EVDF, n_e	—
$N_2 + e \rightarrow N_2(A) + e$	Berechnet durch EVDF, n_e	—
$O + O + M \rightarrow O_2 + M$	$3.8 \cdot 10^{-42} T^{-1} \exp(-170/T) m^6 s^{-1}$	[24]
$O + O_2 + O_2 \rightarrow O_3 + O_2$	$8.6 \cdot 10^{-43} T^{-1.25} m^6 s^{-1}$	[25]
$N + N + M \rightarrow N_2 + M$	$8.3 \cdot 10^{-46} \exp(500/T) m^6 s^{-1}$	[26]
$O + O_2 + N_2 \rightarrow O_3 + N_2$	$5.6 \cdot 10^{-41} T^{-2} m^6 s^{-1}$	[25]
$O + O_3 \rightarrow O_2 + O_2$	$1.9 \cdot 10^{-17} \exp(-2300/T) m^3 s^{-1}$	[24,26]
$O + NO + M \rightarrow NO_2 + M$	$9.1 \cdot 10^{-40} T^{-1.6} m^6 s^{-1}$	[27]
$NO + N \rightarrow N_2 + O$	$1.8 \cdot 10^{-18} T^{0.5} m^3 s^{-1}$	[28]
$N + O_2 \rightarrow NO + O$	$1.1 \cdot 10^{-20} T \exp(-3150/T) m^3 s^{-1}$	[26]
$N + O_3 \rightarrow NO + O_2$	$5 \cdot 10^{-18} \exp(-650/T) m^3 s^{-1}$	[29]
$N + O + M \rightarrow NO + M$	$1.8 \cdot 10^{-43} T^{-0.5} m^6 s^{-1}$	[26]
$O_3 + NO \rightarrow NO_2 + O_2$	$9 \cdot 10^{-19} \exp(-1200/T) m^3 s^{-1}$	[26]
$N_2(A) + O_2 \rightarrow N_2 + O + O$	$1.63 \cdot 10^{-18} (T/300)^{0.55} m^3 s^{-1}$	[23]
$N_2(A) + O_2 \rightarrow N_2 + O_2$	$8.75 \cdot 10^{-19} (T/300)^{0.55} m^3 s^{-1}$	[23]
$N_2(A) + N \rightarrow N_2 + N$	$2.6 \cdot 10^{-18} T^{0.5} m^3 s^{-1}$	[23]
$N_2(A) + NO \rightarrow N_2 + NO(A)$	$3.5 \cdot 10^{-18} T^{0.5} m^3 s^{-1}$	[23]
$N_2(A) + N_2(A) \rightarrow N_2(C) + N_2$	$8.7 \cdot 10^{-12} T^{0.5} m^3 s^{-1}$	[30]
$O + O_3 \rightarrow O_2(a^1 \Delta) + O_2$	$6.3 \cdot 10^{-18} \exp(-2300/T) m^3 s^{-1}$	[24,26]
$O + O_3 \rightarrow O_2(b^1 \Delta) + O_2$	$3.2 \cdot 10^{-18} \exp(-2300/T) m^3 s^{-1}$	[24,26]

Tabelle 3: Plasmachemische Prozesse und ihre Ratenkoeffizienten in der Simulation.

Mit diesem Modell lassen sich nun die Teilchenflüsse für NO und O₃ für die experimentellen Bedingungen berechnen, die in Abbildung 31 dargestellt sind.

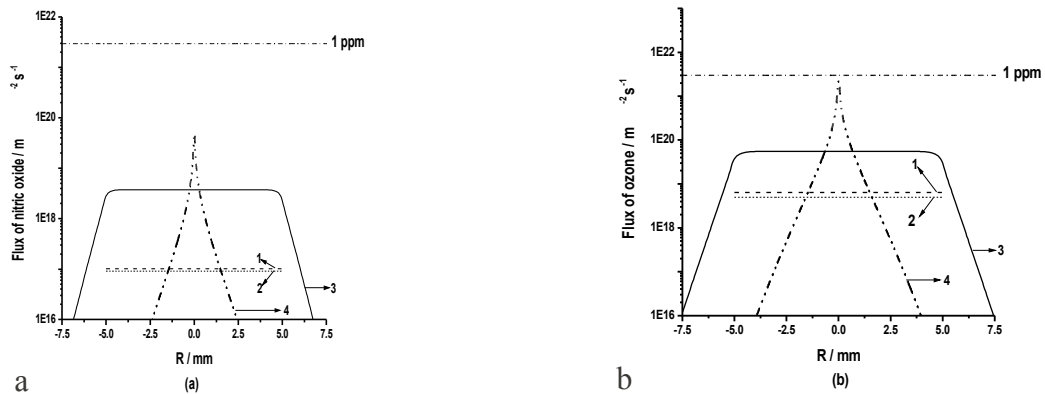


Abbildung 31: Teilchenstromdichten von Stickoxid (a) und Ozon (b) zur behandelten Oberfläche in radialer Ebene bei unterschiedlichen Entladungsmoden: 1. Multifilamentierte Entladung (Al-Platte; $d = 1,5 \text{ mm}$), 2. Stochastisch filamentierte Entladung (PBS Lösung; $d = 1,5 \text{ mm}$), 3. Homogene Entladung (Glas; $d = 1 \text{ mm}$), 4. Einzelfilament (Al-Spitze; $d = 1,5 \text{ mm}$). Der relative Flux von 1 ppm ist berechnet mit der mittleren Geschwindigkeit und üblichen Konzentrationen von Stickstoff- und Sauerstoffmolekülen unter Plasmabedingungen.

II.1.9 UV-Emission

Mit dem gleichen Modell lassen sich auch Bestrahlungsstärken in den UV-A- und UV-B-Bereichen ermitteln. Da die Quelle hauptsächlich im UV-A- und UV-B-Bereich emittiert, eignet sie sich hinsichtlich ihrer spektralen Eigenschaften besonders für die Behandlung von Atopischer Dermatitis², bei der eine kombinierte UV-A-UV-B-Bestrahlung die zur Zeit effektivste Bestrahlungstherapie darstellt [30].

Die entsprechenden simulierten UV-A- (a) und UV-B- (b) Irradianzen sind in Abbildung 32 a und Abbildung 32 b dargestellt.

² Medizinischer Name, auch bekannt als Neurodermitis.

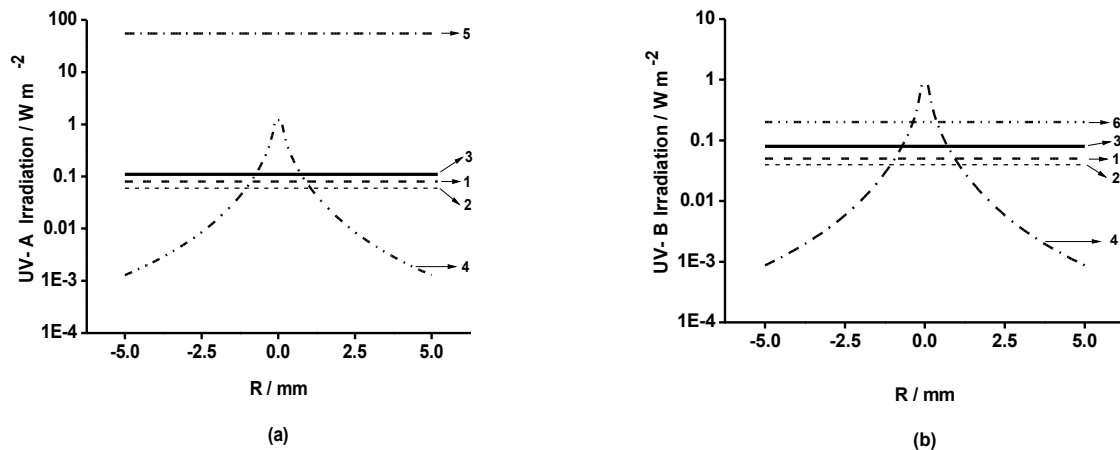


Abbildung 32: Simulierte UV-A- (a) und UV-B- (b) Irradianzen der behandelten Stelle bei unterschiedlichen Elektrodenabständen und Moden - 1. Stochastische Entladung (Al-Platte; $d = 1,5$ mm), 2. Stochastisch-filamentierte Entladung (PBS Lösung; $d = 1,5$ mm), 3. Homogene Entladung (Glas; $d = 1$ mm), 4. Einzelfilament (Al-Spitze; $d = 1,5$ mm), 5. UV-A [XIV] 6. UV-B [31].

Abbildung 32b zeigt, dass die Bestrahlungsstärke der Plasmaquelle im UV-B im Bereich üblicher therapeutisch eingesetzter Werte liegt.

II.1.10 Untersuchungen an Hautbiopsien

In Zusammenarbeit mit dem Institut für Molekulare Medizin an der Heinrich Heine Universität Düsseldorf und der Klinik für Plastische Chirurgie, Hand- und Verbrennungschirurgie der Medizinischen Fakultät der RWTH Aachen sind Untersuchungen an Hautbiopsien vorgenommen wurden. Dabei wurde untersucht, inwieweit die Behandlung der Biopsie Zellkern- und/oder Zellwandschädigungen hervorruft. Gleichzeitig wurden Biopsien mit einer UV-Dosis bestrahlt, von der bekannt ist, dass sie entsprechende Schädigungen hervorruft (Abbildung 33). Als Referenz zu den mit Plasma beaufschlagten Biopsien diente eine unbehandelte Biopsie. Behandelt wurden die Biopsien mit unterschiedlichen Frequenzparametern und unterschiedlichen Behandlungszeiten. Festzustellen ist, dass bei einer maximalen Frequenz von 400 Hz und einer maximalen Behandlungszeit von 120 Sekunden keinerlei Schädigung der Zellen zu beobachten ist. Abbildung 34 zeigt die entsprechenden Aufnahmen. Dabei ist in der oberen Bildreihe der Zellkernauschnitt, eingefärbt mit DYE Hoechst 33342, im unteren Bild ist das Zellskelett, eingefärbt mit DYE Alexa-594 phalloidin dargestellt.

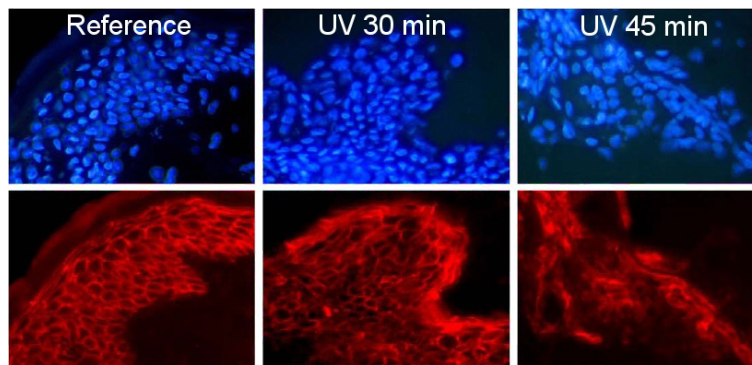


Abbildung 33: UV-Licht behandelte Biopsie

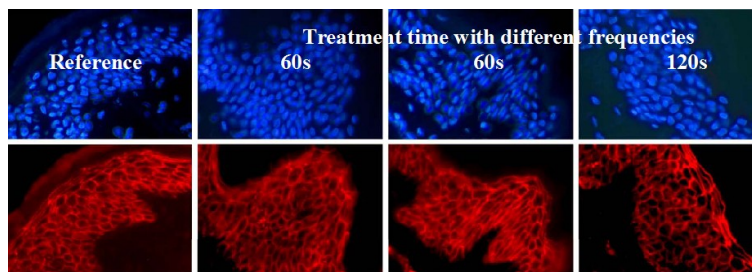


Abbildung 34: Plasmabehandelte Biopsie

II.1.11 Untersuchungen zur Keimreduktion

Ein zentraler Aspekt dieses Forschungsverbundprojektes ist die Untersuchung der Reduktion verschiedenster, relevanter Keime. Hierzu wurden Untersuchungen in Zusammenarbeit mit dem Fraunhofer-Institut für Verfahrenstechnik und Verpackung IVV in Freising durchgeführt.

Die Untersuchungen wurden am *Aspergillus Niger* (Pilz), *Staphylococcus aureus* (Bakterium) und *Pseudomonas aeruginosa* (Bakterium) durchgeführt.

Hierzu wurde unter einer Elektrodenfläche von 2,0 cm² ein entsprechender Keimfilm aufgesprüht und dann mit einer Gasentladung beaufschlagt. Der Versuchsaufbau ist in Abbildung 35 dargestellt.

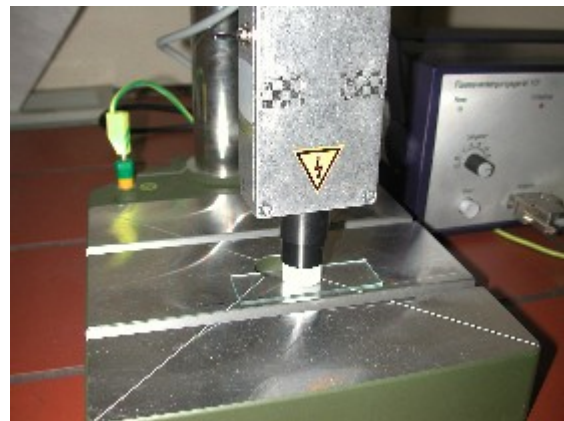
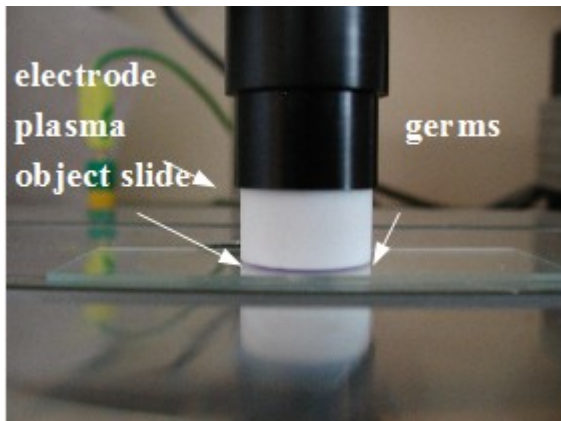


Abbildung 35: Versuchsaufbau zu Untersuchungen der Keimreduktion

Ergebnis der Versuchsreihen ist, dass eine Keimreduktion mehrerer log-Stufen sowohl bei dem *Aspergillus Niger* als auch bei dem *Staphylococcus aureus* und dem *Pseudomonas aeruginosa* in-vitro zu beobachten ist. Eine Reduktion um 5 log-Stufen tritt bereits ab einer Behandlungsdauer von 20 Sekunden ein. Abbildung 36 zeigt die Ergebnisse der Untersuchungen am *Aspergillus niger*, Abbildung 37 zeigt die Ergebnisse am *Staphylococcus aureus* und Abbildung 38 zeigt die Ergebnisse am *Pseudomonas aeruginosa*. Dabei ist zu beachten, dass auf der linken vertikalen Achse die Anzahl der entsprechenden Keime und auf der rechten vertikalen Achse die Reduktion in log-Stufen der entsprechenden Keime aufgetragen ist. Auf der horizontalen Achse ist indirekt, wie in Tabelle 4 (*Aspergillus niger*) und Tabelle 5 (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*) dargestellt, die Behandlungszeit aufgetragen.

Probe	Behandlungszeit [s]
1	0 (Referenz, Ausgangskonzentration)
2	30
3	60
4	120
5	180

Tabelle 4: Zusammenhang zwischen Probe und Behandlungszeit *A. niger*

Probe	Behandlungszeit [s]
1	0 (Referenz, Ausgangskonzentration)
2	1
3	5
4	10
5	20
6	30

Tabelle 5: Zusammenhang zwischen Probe und Behandlungszeit *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*

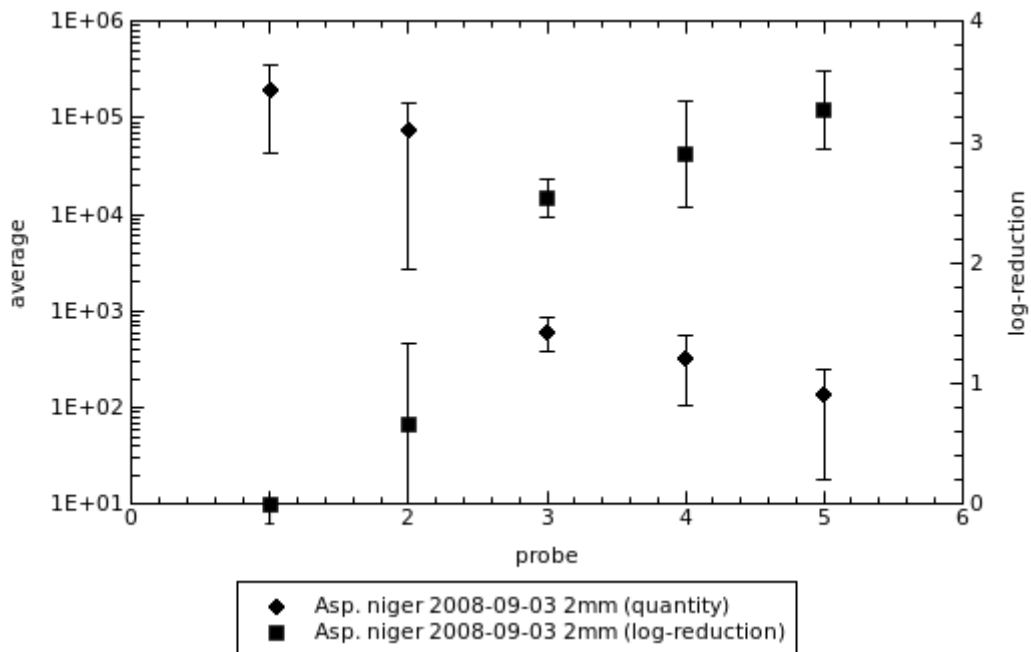


Abbildung 36: Keimreduktion *Aspergillus niger*

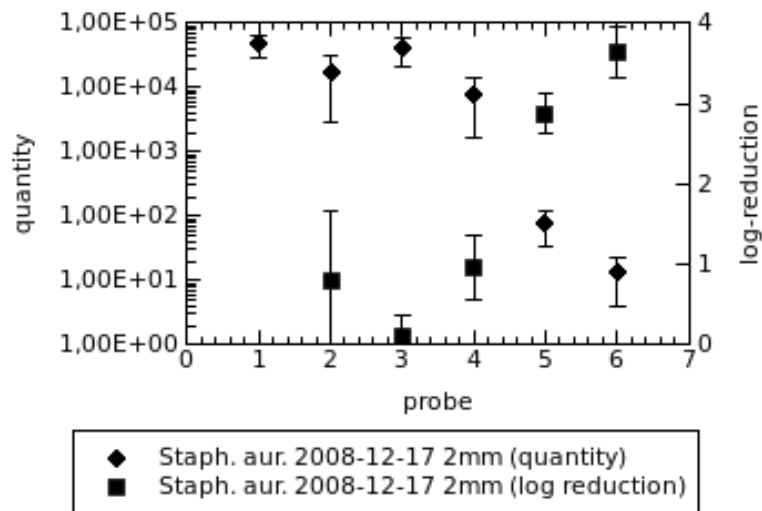


Abbildung 37: Keimreduktion *Staphylococcus aureus*

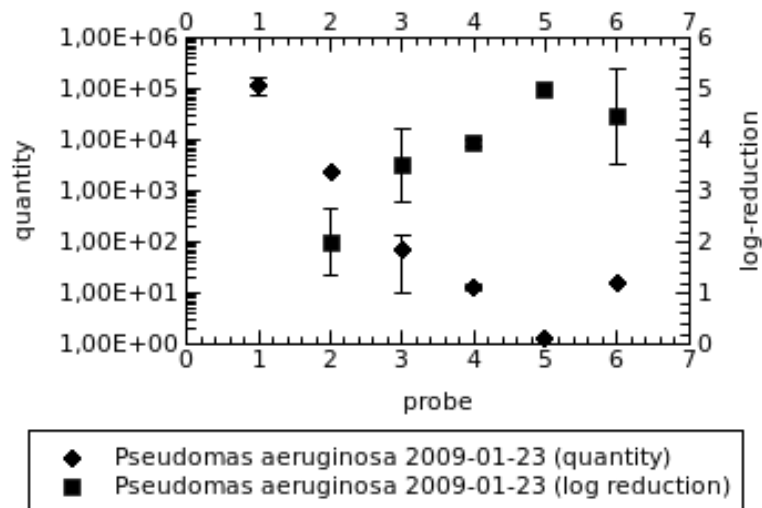


Abbildung 38: Keimreduktion *Pseudomonas aeruginosa*

II.1.12 Untersuchungen mittels der 2-Photonenmikroskopie

Die Untersuchungen mittels 2-Photonenmikroskopie wurden in Ergänzung zu den zellbiologischen Untersuchungen in Zusammenarbeit mit der zell-kontakt GmbH, der Hautklinik der Universität des Saarlandes und der Firma JenLab GmbH durchgeführt. Hierbei handelt es sich um in-vivo Mikroskopie-Untersuchungen an der Haut nach erfolgter Plasmaexposition.

Bei der 2-Photonenmikroskopie wird ausgenutzt, dass die Fluoreszenzanregung statt durch Absorption eines energiereichen Photons auch durch die zeitgleiche Absorption zweier energieärmerer Photonen erfolgen kann. Hierzu ist ein Ti:sapphire Femtosekunden Laser eingesetzt.

Die Untersuchungen wurden bis zu einer Tiefe im Hautgewebe von 105 µm durchgeführt. In Abbildung 39 ist der Aufbau der Epidermis prinzipiell wiedergegeben in Anlehnung an die Aufnahmen und Eindringtiefen der 2-Photonenmikroskopie.

Dabei sind sowohl Untersuchungen an der Beugeseite des Unterarms als auch an der Streckseite des Unterarms vorgenommen wurden. Dieses wird in Abbildung 40 – Abbildung 43 dargestellt.

Es konnte nachgewiesen werden, dass keine Zerstörung des Zellverbundes vorlag bei einer Plasmaexposition von bis zu 120 Sekunden. Dieses wird bestätigt durch das Fluorescence Lifetime Imaging (FLIM). Abbildung 44 zeigt entsprechende Aufnahmen ventral und Abbildung 45 zeigt die entsprechenden Aufnahmen dorsal.

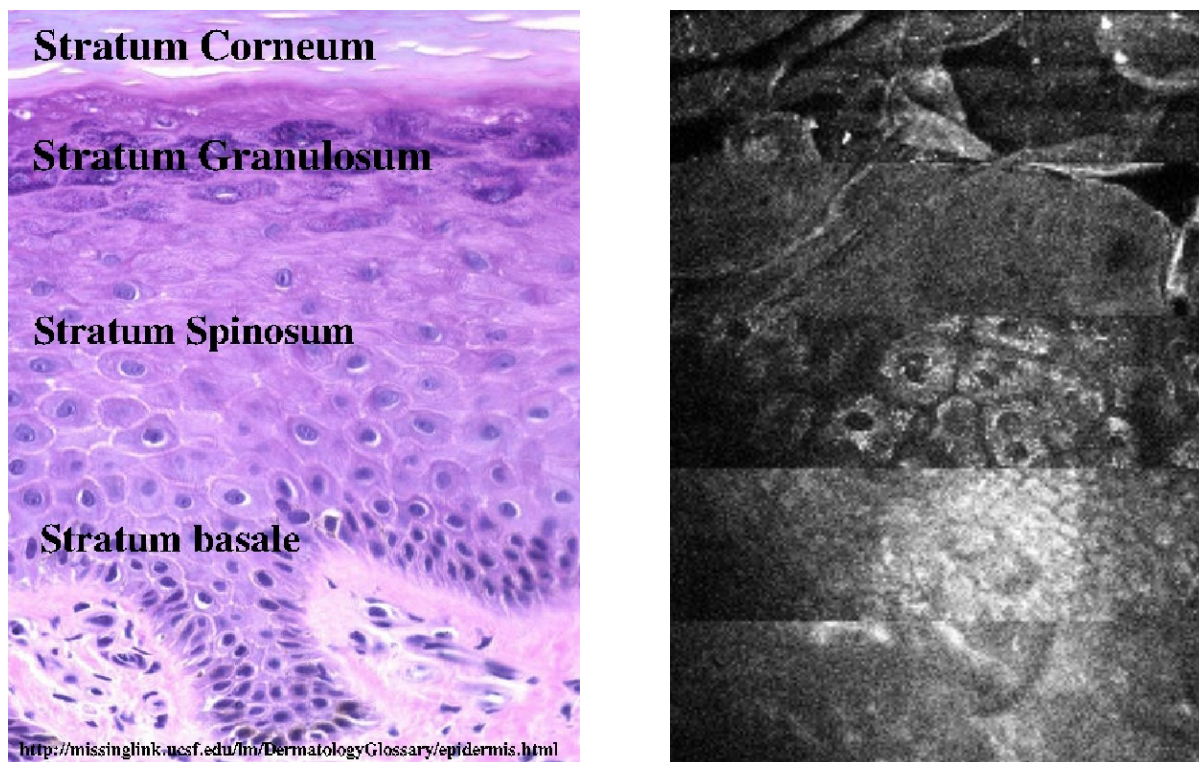


Abbildung 39: Histologie der Epidermis (links) und entsprechende multiphotonenmikroskopische Aufnahmen

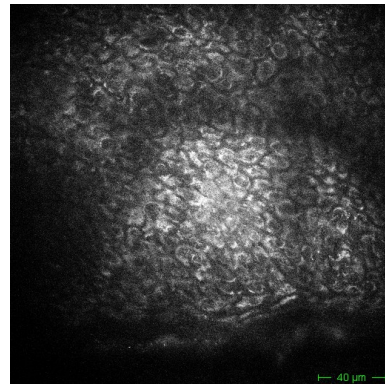
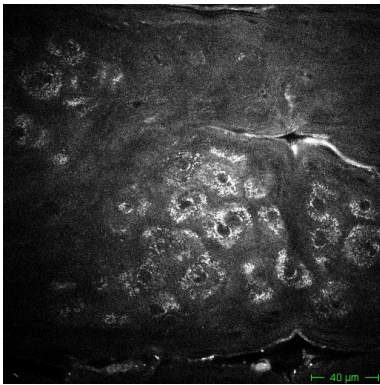


Abbildung 40: Multiphotonenaufnahme beugeseitig ohne Plasmaexposition in einer tiefe von 15 μm (links) und 50 μm (rechts)

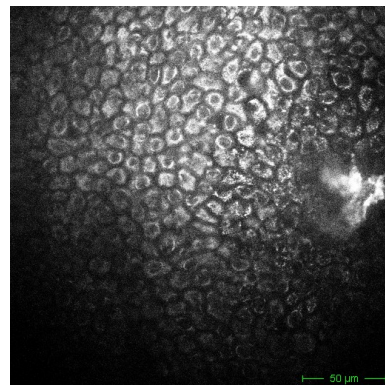
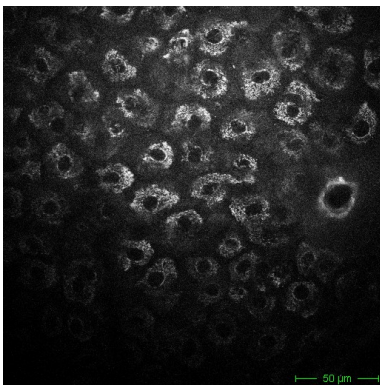


Abbildung 41: Multiphotonenaufnahme beugeseitig bei einer Plasmaexposition von 120s in einer tiefe von 15 μm (links) und 50 μm (rechts)

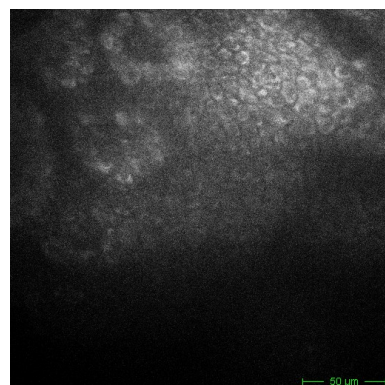
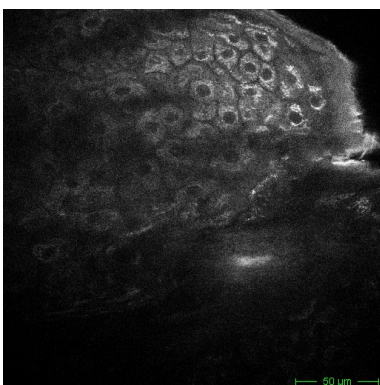


Abbildung 42: Multiphotonenaufnahme streckseitig ohne Plasmaexposition in einer tiefe von 15 μm (links) und 50 μm (rechts)

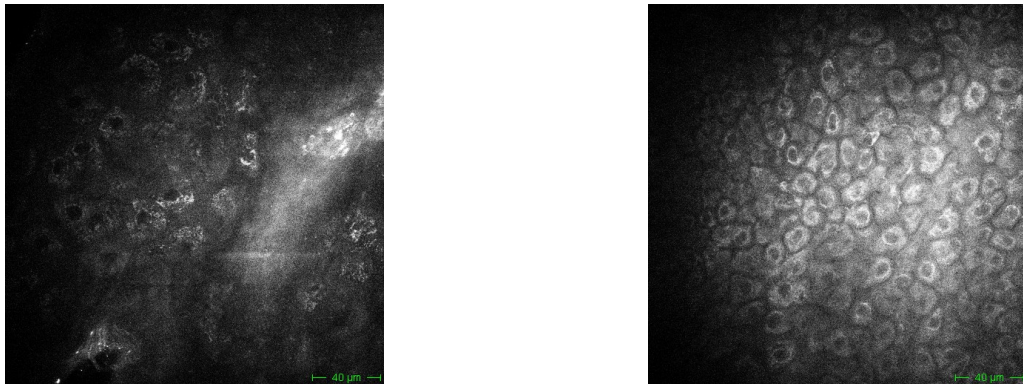


Abbildung 43: Multiphotonenaufnahme streckseitig bei einer Plasmaexposition von 120s in einer tiefe von 15 μm (links) und 50 μm (rechts)

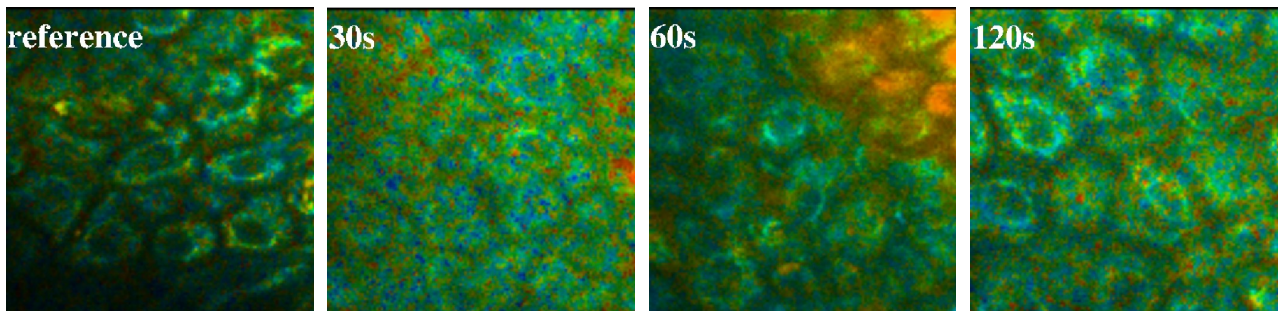


Abbildung 44: FLIM Unterarm dorsal bei verschiedenen Plasmaexpositionszeiten

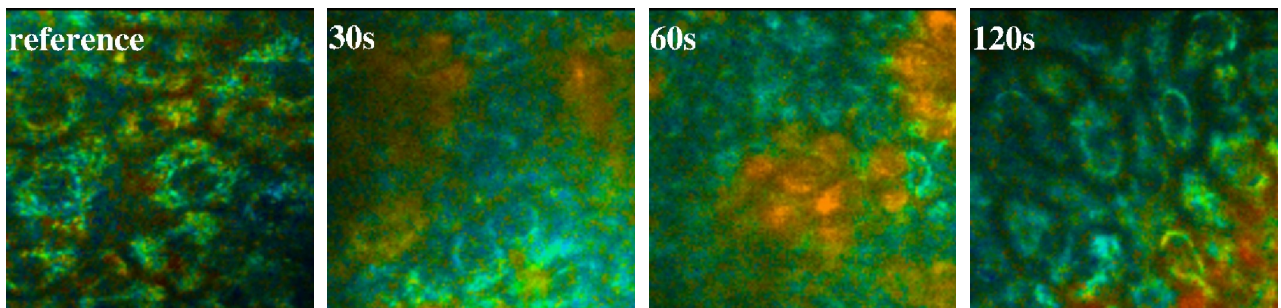


Abbildung 45: FLIM Unterarm ventral bei verschiedenen Plasmaexpositionszeiten

II.1.13 Untersuchungen am Tiermodell der Maus

Die Untersuchungen am Tiermodell der Maus wurden in Zusammenarbeit mit der Klinik für Plastische Chirurgie, Hand- und Verbrennungschirurgie der Medizinischen Fakultät der RWTH Aachen durchgeführt.

Entsprechend des im Tierversuch beschriebenen Versuchsprotokolls sind 5 Tiere des Mausstammes BALB-C auf dem kahl rasierten Rücken 120 Sekunden lang mit der Barriereentladung behandelt. Nach 48 Stunden bzw. 96 Stunden wurden die Region der behandelten sowie Regionen der unbehandelten Maushaut entnommen, formalinfixiert, parafineingebettet, geschnitten (2 µm) und histologisch mit Gimsa angefärbt.

Anhand der vorhandenen Präparate lässt sich wiederum die gesicherte Aussage treffen, dass die zweiminütige Behandlung mit der Barriereentladung nach 48 Stunden sowie auch nach 96 Stunden keine nekrotischen Läsionen und keine Apoptosen im behandelten Hautgewebe induziert hat. Eine nekrotische Läsion würde man an einer klar erkennbaren Unterbrechung der Hautstruktur erkennen, die sich in einer unregelmäßigen Anhäufung von partiell zerrissenen und ruptierten Zellen und Gewebestrukturen erkennen ließe. Solche Strukturen konnten in den behandelten Hautregionen nicht identifiziert werden. Nach der erwähnten Behandlung wurden zudem auch keine apoptotischen Ereignisse im exponierten Gewebe beobachtet. Apoptotische Zelle würde man in den obersten Zellschichten morphologisch anhand kleiner, fast schwarz gefärbter, eventuell fragmentierter Zellkerne identifizieren können. Die Kernmorphologie ist aber vollkommen intakt.

Zudem können wir aufgrund der Gimsa-Färbung eine Einwanderung bzw. Anhäufung von Entzündungszellen, wie z.B. Granulozyten und somit einen entzündlichen Prozess in den behandelten Hautregionen ausschließen.

Die in den Präparaten rosa-angefärbte extrazelluläre Matrix, das Bindegewebe unterhalb der blau-gefärbten obersten Hautschicht, der Epidermis, weist nach der Behandlung ebenfalls keine Veränderungen gegenüber unbehandelten Hautpräparaten auf.

Zusammenfassend lässt sich bis dato die sichere Aussage treffen, dass eine zweiminütige Barriereentladungen auf der Haut der Maus keinerlei morphologische Veränderung im Hautgewebe der Maus verursacht.

In Abbildung 46 ist die Kontrolle, in Abbildung 47 der Zustand nach 48 Stunden und in Abbildung 48 der Zustand nach 96 Stunden dargestellt.

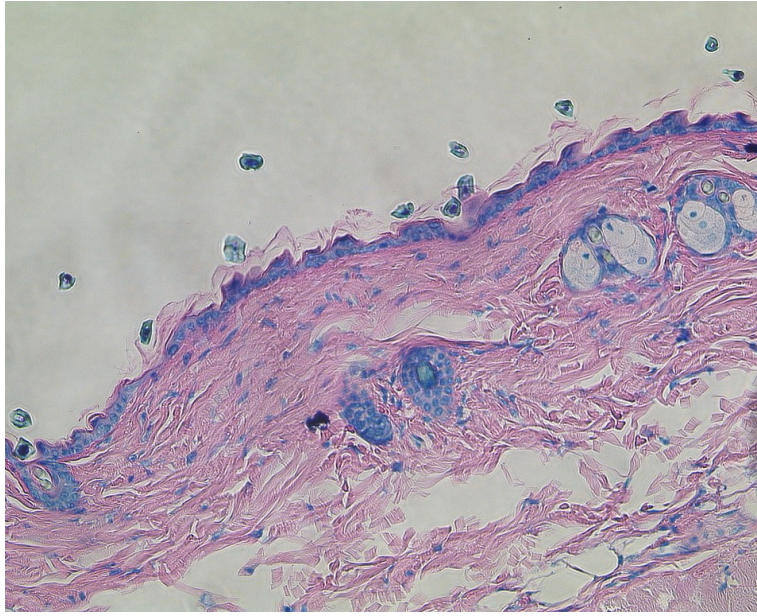


Abbildung 46: Kontrolle Mausmodell

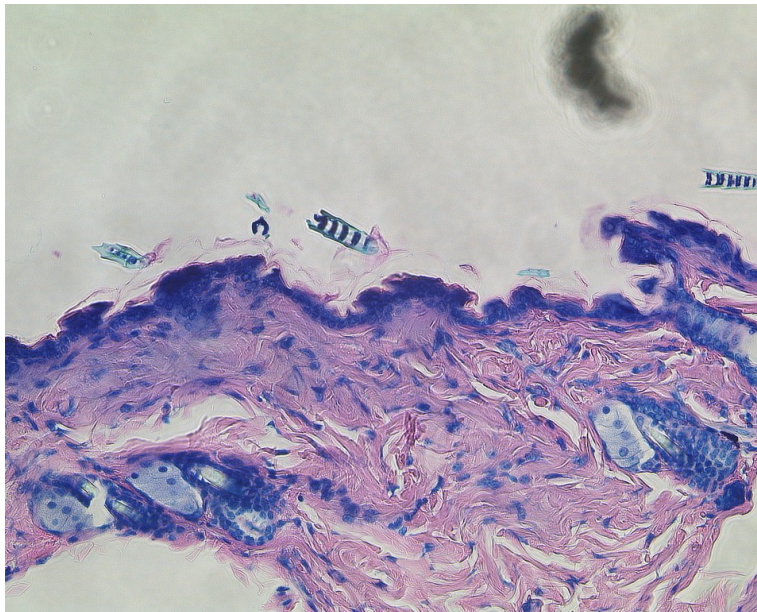


Abbildung 47: 46h Mausmodell

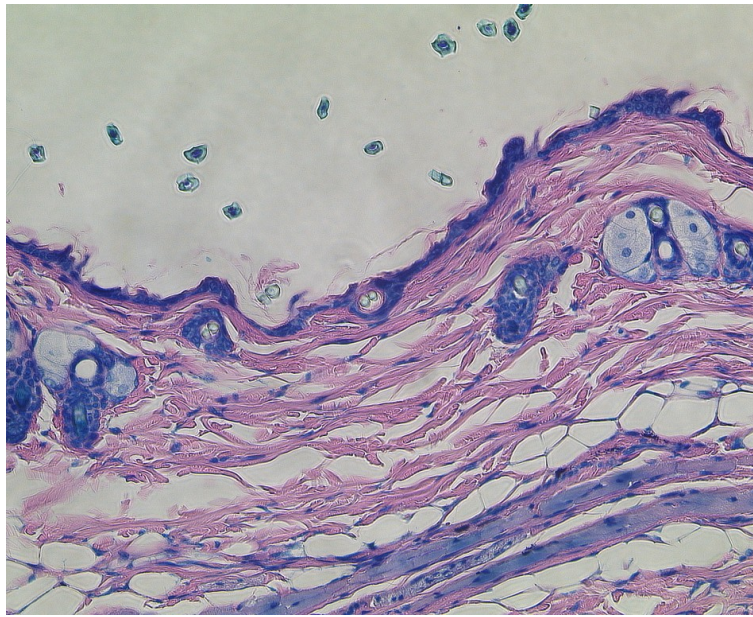


Abbildung 46: 96h Mausmodell

II.2. Positionen des zahlenmäßigen Nachweises

Die wichtigsten Positionen des zahlenmäßigen Nachweises sind dem "Verwendungsnachweis" zu entnehmen.

II.3. Notwendigkeit und Angemessenheit der geleisteten Arbeit

Auf dem interdisziplinären Gebiet der Plasmamedizin für therapeutische Anwendungen am Menschen besteht ein besonders hoher Forschungsbedarf, um innerhalb der komplexen Vorgänge im technischen Plasma Risikopotentiale zu identifizieren und durch gezielte Untersuchungen zu adressieren. Gerade für direkte Plasmen, bei denen der menschliche Organismus einen Teil des elektrischen Grundkonzeptes darstellt, besteht ein hoher Bedarf an gesicherten Daten, um den Einzug der Plasmatechnologie in medizinische Therapien zu gewährleisten.

II.4 Voraussichtlicher Nutzen der Ergebnisse

Die Ergebnisse haben zum grundlegenden Verständnis der Anwendung und Wechselwirkung Plasma-Biomaterie beigetragen und liefern dem Quellenhersteller CINOGY GmbH wichtige Anhaltspunkte für Elektrodendesign und elektrische Beschaltung. Dabei konnten im Rahmen einer Risikoanalyse hinsichtlich physikalischer Parameter wie Strahlungsintensität, Ozonkonzentration, Temperatur und Stromfluss keine akuten oder langfristigen Gefährdungen für den menschlichen Organismus identifiziert werden.

In einem weiteren Schritt konnten medizinisch-therapeutisch relevante Veränderungen der Hautoberfläche nach einer Plasmabehandlung nachgewiesen werden [47].

Diese beiden Punkte bilden als zentrale Ergebnisse die Grundlage, um hinsichtlich der Verwertung eine klinische Studie zur Plasmabehandlung von Wunden anzustreben.

II.5 Fortschritt bei anderen Stellen

Grundsätzlich ist das Forschungsgebiet der Plasmamedizin während der Laufzeit dieses Projektes stärker in den Fokus internationaler Forschung getreten, was sich vor allem in vielen Publikationen durch immer neue Gruppen weltweit äußert. Um dieser Tatsache gerecht zu werden, haben große wissenschaftliche Journale wie *Plasma Processes and Polymers* (2008 & 2010) oder *New Journal of Physics* (2009) diesem Themenkomplex Sonderausgaben gewidmet. Im Verlauf des Projektes wurden ferner Ergebnisse von vielen Arbeitsgruppen auf internationalen Tagungen (ICPM, International Workshop on Plasma-Tissue Interaction, ISPC) sowie in einer Reihe von Pressebeiträgen veröffentlicht.

Einen relativ aktuellen Überblick über den Stand der Forschung liefern die Literaturstellen [32,33,34]. Ein gemeinsamer Forschungsschwerpunkt der meisten aktiven Gruppe auf dem Gebiet der Plasmamedizin ist die antimikrobielle Wirkung der Atmosphärendruckplasmen und deren zu Grunde liegende bio-chemikalische Mechanismen.

Besonderer Erwähnung bedarf die Errichtung des **ZIK Plasmatis** im Jahr 2006 und des **Campus PlasmaMed** im Jahr 2008 mit zentralem Sitz in **Greifswald**. In diesem interdisziplinären Zusammenschluss aus universitärer und institutioneller Forschung arbeiten Mitarbeiter an Grundlagenforschungen (ZIK) und Plasmaanwendungen (Campus)

- zur Entfernung von Biofilmen,
- für den Einsatz im Dentalbereich,
- für biofunktionale Beschichtungen,
- zur Dekontamination in der Pharmazeutik,
- zu antiseptischen Therapien von Wunden,
- für dermatologische Therapien,
- zur Hautregeneration und Wundheilung,
- sowie indirekt an Beleuchtungseinflüssen auf die Gesundheit.

Ferner wird in diesem Verbund ein Studiengang konzipiert, der speziell auf die Herausforderungen der Plasmamedizin zugeschnitten wird.

Der Campus PlasmaMed bearbeitet grundsätzliche Fragestellungen zur Wirkungsweise von unterschiedlichen Atmosphärendruckplasmen auf biologische Komponenten sowie zur biokompatiblen Schichtabscheidung.

Im Bereich der in-vivo-Dekontamination wurde 2007 seitens der Arbeitsgruppe um G. E. Morfill und das **Max-Planck-Institut für extraterrestrische Physik in Garching** auf der International Conference on Plasma Medicine I in Corpus Christi (USA) eine Mikrowellenquelle mit großem Plasmavolumen vorgestellt, mit der chronische Wunden am

Menschen behandelt werden sollen. Eine zu diesem Zeitpunkt abgeschlossene Phase-I-Studie wies die Sicherheit und Verträglichkeit dieses Gerätes bei unterschiedlichen Behandlungszuständen nach [35]. In einer Arbeit zur Charakterisierung dieser Quelle, in der einige physikalische Parameter vor allem aber die in-vitro-Wirkung an e.coli-Bakterien untersucht wurden, kam der Autor zu dem Schluss, dass die UV-Strahlung der dominierende Mechanismus bei der bakteriziden Wirkung dieser Quelle sei [36]. Diese These wurde jedoch nach weiteren Untersuchungen in einem weiteren Paper wieder verworfen [37]. Eine weitere Arbeit zu dieser Quelle weist mit mikroskopischen Techniken strukturelle Schäden an den Zellwänden der plasmabehandelten Bakterien (e.coli, Staphylococcus) nach 3-minütiger Behandlung auf [38]. Im Jahr 2009 wurde schließlich eine Neuentwicklung mit der Bezeichnung PlasmaDispenser vorgestellt, die konzeptionell eine Alternative zur gebräuchlichen aber oft unzulänglichen Flüssigdesinfektion der Hände im klinischen Sektor darstellen soll [39]. Im Jahr 2010 wurden erfolgreiche Zwischenergebnisse des klinischen Einsatzes (Phase II) eines argonbetriebenen Jets in [40] veröffentlicht. Dort konnte demonstriert werden, dass die bakterielle Belastung chronischer Wunden durch die Einbettung einer Plasmabehandlung in den Therapieplan signifikant reduziert werden konnte.

Die Arbeitsgruppe der **Drexel University in Philadelphia, USA** unter Leitung von A. Fridman konnte in einem Artikel von 2006 nachweisen, dass mit Hilfe einer dielektrisch behinderten Entladung ($f \sim 10\text{kHz}$, $U \sim 28\text{ kV}$, $d = 1,5\text{-}2,7\text{ mm}$, $P/A \sim 1\text{W/cm}^2$) die Blutgerinnung deutlich beschleunigt werden kann und Bakteriengemische, welche der menschlichen Haut entnommen und kultiviert wurden, im in-vitro-Versuch auf Blutagarböden binnen weniger Sekunden inaktiviert werden können [41]. In einem Beitrag von 2007 berichtete die Gruppe über die erfolgreiche in-vitro-Inaktivierung von Melanom-Zelllinien, welche im Wachstumsmedium befindlich mit DBD-Leistungsdichten von $\sim 0,8 - 1,4\text{ W/cm}^2$ ($P = 4 \pm 1\text{ W}$) behandelt wurde. Dabei konnte sowohl Nekrose als auch Apoptose der Zellen nachgewiesen werden [42]. Im gleichen Jahr verglichen sie die bakterizide Effizienz von DBD-Plasmen mit einer Entladung unter Ausschluss geladener Spezies. Sie folgerten auf Grund der Ergebnisse, dass geladene Teilchen eine wesentliche Rolle bei der Inaktivierung von Bakterien spielen und die Temperatur von $< 50^\circ\text{C}$ bei der Behandlung eine untergeordnete Rolle spielt [43]. In einer Arbeit von 2009 wurde der Versuch unternommen, die jeweils komplexen Mechanismen der Plasmaphysik und der Zellbiologie in ein generelles, vorläufiges Muster zu fassen, um eine Selektivität der Plasmawirkung auf eukaryotische und prokaryotische³ Zellen zu erarbeiten [44]. Ebenfalls im gleichen Jahr wurde die bakterizide Effizienz von Plasmen mit unterschiedlichen elektrischen Betriebsparametern untersucht. Dabei war zu erkennen, dass Quellen mit HV-Pulsen im ns-Bereich in deutlich geringerer Zeit Bakterien inaktivieren als Quellen mit HV-Pulsen im μs -Bereich und zusätzliche Vorteile bieten, was den Behandlungserfolg an unebenen Oberflächen (z.B. in-vivo-Behandlung) betrifft [45].

Weiterhin ist die Arbeitsgruppe um J.M. Pouvesle an der **Université d'Orleans in Frankreich** zu nennen, die Plasmaquellen für endoskopische Maßnahmen entwickelt und diese in der Krebsforschung einsetzt [46].

Es gibt noch eine Reihe weiterer Arbeitsgruppen im asiatischen, europäischen und

³ Als Eukaryoten werden alle Zellen bezeichnet, die gemäß ihres Zellaufbaus über einen Zellkern und eine Zellmembran sowie über Chromosomen verfügen (menschliche Zellen sind zumeist Eukaryoten). Prokaryoten hingegen besitzen keinen Zellkern – die DNA ist weniger geschützt und liegt frei im Zytoplasma vor. Bakterien gehören den Prokaryoten an.

nordamerikanischen Raum, allerdings lassen sich hier keine konkreten Schwerpunkte der Forschungsthematik erkennen.

II.6 Erfolgte Veröffentlichungen unter Mitwirkung dieses Teilprojektes

Die Ergebnisse dieses Teilprojektes wurden auf mehreren internationalen Tagungen sowie in Fachzeitschriften vorgestellt und veröffentlicht.

Veröffentlicht:

N. Mertens, et. al. "Low Temperature Plasma Treatment of Human Tissue", Vortrag bei 2nd International Conference for Plasma Medicine (ICPM 2), San Antonio, USA, März 16-20, 2009

M.Kuchenbecker, et. al. "Characterization of DBD plasma source for biomedical applications" J.Phys.D: Appl.Phys. v.42, (2009) 045212 (10pp),

P.Raisekaran, et.al."Characterization of DBD plasma source for biomedical applications" 2.Int.Workshop on PlasmaTissue Interactions, 2009, Greifswald (lecture),

P.Raisekaran,et. al. "Characterization of DBD plasma source for biomedical applications" 8.Workshop on Frontiers in Low Temperature Plasma Diagnostics, 2009, Blasko, Czech.Rep. (Poster),

P.Raisekaran,et.al. "Characterization of DBD in air for biomedical applications" DPG-Tagung, 2009, Greifswald (lecture),

P.Raisekaran, et. al. "Characterization of DBD in air for biomedical applications" ISPC 19, 2009,Bochum (Poster),

P.Raisekaran, et. al. " DBD plasma source operated in single filamentary mode for therapeutic use in dermatology" 2009 J. Phys. D: Appl. Phys. 42 225201 (8pp)

P.Raisekaran, et. al. "DBD plasma source operated in filamentary and homogeneous modes for therapeutic use in dermatology" 2009 J. Phys. D: Appl. Phys, submitted

P.Awakowicz, et. al. "Biological Stimulation of the Human Skin Applying Health Promoting Light and Plasma Sources" Contributions to Plasma Physics Volume 49 Issue 9, Pages 641 647

M. Born et. al. „Biologische Stimulation der menschlichen Haut durch gesundheitsfördernde Licht- und Plasmaquellen“ PT 14 Wuppertal Wednesday, 04. March 2009

M.Born et. al. "Interaction of plasmas and photons with humanskin cells" (lecture) ISPC-19 Bochum Thursday, 30. July 2009

D. Wandke et. al. "Interaction of plasma with human skin cells and reduction of germs by using dielectric barrier discharges" (lecture) , ISPC19 Bochum Friday, 31. July 2009

P.Raisekaran, et. al. „Filamentary and homogeneous Dielectric Barrier Discharge (DBD) modes for human skin treatment: Investigation through plasma characterization and simulation of surface irradiation“, Plasma Processes and Polymers submitted

Literatur

- [1] Rehn, P. et al., *Wood surface modification in dielectric barrier discharges at atmospheric pressure*, Surface and Coatings Technology **174-175**, 2003
- [2] Kaemling, C. et al., *Plasma treatment on finger nails prior to coating with a varnish*, Surface and Coatings Technology **200**, 2005
- [3] W. Viöl, HAWK: *Behandlung von lebende Zellen enthaltenden biologischen Materialien mit einem durch eine Gasentladung erzeugten Plasma*, DE 10324926 B3, 2003
- [4] G.Seemann: *Bioelektrische Signale und Felder: 5. Impedanz von Körpergewebe* SS 2006, Institut für Biomedizinische technik an der Universität Karlsruhe (TH)
- [5] Laroussi, M., *Nonthermal Decontamination of Biological Media by Atmospheric-Pressure Plasmas: Review, Analysis, and Prospects*, IEEE Transactions on Plasma Science **30(4)**, 2002
- [6] Laroussi, M. et al., *Plasma interaction with microbes*, New Journal of Physics **5**, 2003
- [7] Laroussi, M. and Leipold, F., *Evaluation of the role of reactive species, heat, and UV radiation in the inactivation of bacterial cells by air plasmas at atmospheric pressure*, International Journal of Mass Spectrometry **233**, 2004
- [8] Laroussi, M. and Lu, X., *Room-temperature atmospheric pressure plasma plume for biomedical applications*, Applied Physics Letters **87**, 2005
- [9] Laroussi, M. et al., *Low Temperature Plasma-Based Sterilization: Overview and State-of-the-Art*, Plasma Process. Polym. **2**, 2005
- [10] Stoffels, E. et al., *Plasma needle: a non-destructive atmospheric plasma source for fine surface treatment of (bio)materials*, Plasma Sources Sci. Technol. **11**, 2002
- [11] Stoffels, E. et al., *A plasma needle generates nitric oxide*, Plasma Sources Sci. Technol. **15**, 2005
- [12] Fridman, G. et al., *Use of Non-Thermal Atmospheric Pressure Plasma Discharge for Coagulation and Sterilization of Surface Wounds*, 32nd IEEE International Conference on Plasma Science, June 20-23, Monterey, California, 2005
- [13] Fridman, G. et al., *Blood Coagulation and Living Tissue Sterilization by Floating-Electrode Dielectric Barrier Discharge in Air*, Plasma Chemistry and Plasma Processing, **26**, 2006
- [14] Foest, R. et al., *Non-thermal atmospheric pressure discharges for surface modification*, Plasma Phys. Control. Fusion **47**, 2005
- [15] Weltmann, K.D., *PlasmaplusBio/Med*, Vakuum in Forschung und Praxis **18**, 2006
- [16] <http://www.thevictorianscosmeticinstitute.com.au/plasma-skin/> Stand: 11.05.2010
- [17] <http://www.erbe-med.de/de/public/Produkte/Argonplasma-Koagulation--APC->
Stand: 11.05.2010
- [18] Laroussi, M., Lu, X. and Mallot, C.M., *A non-equilibrium diffuse discharge in atmospheric pressure air*, Plasma Sources Sci. Technol. **12**, 2003
- [19] Kuchenbecker, M. et al., *Characterization of DBD plasma source for biomedical applications*, J. Phys. D: Appl. Phys. **42**, 2009

- [20] Kohlrausch F, *Praktische Physik 3*, Stuttgart: Teubner, S. 356
- [21] Bibinov N., Fateev A. und Wiesemann K., *Variations of the gas temperature in He/N₂ barrier discharges*, Plasma Sources Sci. Technol. **10**, 2001
- [22] Rajasekaran, P. et al., *DBD plasma source operated in single-filamentary mode for therapeutic use in dermatology*, J. Phys. D: Appl. Phys. **42**, 2009
- [23] Herron, J. T. , *Evaluated Chemical Kinetics Data for Reactions of N(²D), N(²P), and N₂(A³Σ_u⁺) in the Gas Phase*, J. Phys. Chem. Ref. Data **28**, 1999
- [24] Zakharov, A.I. et al., *Kinetics of processes excited by a self-sustaining volume discharge in oxygen*, Sov. J. Plasma Phys. **14**, 1988
- [25] Mukkavilli, S., Lee, C. K., Varghese, K. und Tavlarides, L. L., *Modeling of the electrostatic corona discharge reactor*, IEEE Trans. Plasma Sci. **16**, 1988
- [26] McEwan, M. J. und Phillips, L. F., *Chemistry of the Atmosphere*, Edward Arnold Ltd. Publishers, London, U.K., 1975
- [27] Atkinson, R. , Baulch, D. L., Cox, R. A., Hampson, R. F. Jr., Kerr, J. A. und Troe, J., *Evaluated kinetic and photochemical data for atmospheric chemistry: Volume I – gas phase reactions of O_x, HO_x, NO_x and SO_x species*, J. Chem. Phys. Ref. Data **18**, 1989
- [28] Fraser, M.E. und Piper, L.G., *Product branching ratios from the nitrogen (A³Σ_u⁺) + oxygen interaction* , J. Phys. Chem. **93**, 1989
- [29] Larin, V. F., *Sov. Tech. Phys. Lett.* **16**, 1990
- [30] Jeker, J. und Larkö, O., *Combined UVA-UVB versus UVB phototherapy for atopic dermatitis: A paired-comparison study*, Journal of the American Academy of Dermatology **22(1)**, 1990
- [31] Bruch-Gerhurz, D., Ruzicka, T., Kolb-Bachofen, V., *Nitric oxide in human skin—Current status and future prospects*, J. Invest. Dermatol. **100**, 1998
- [32] Fridman, G. et al., *Applied Plasma Medicine*, Plasma Processes Polymers **5**, 2008
- [33] Kong, M. et al., *Plasma medicine: an introductory review*, New Journal of Physics **11**, 2009
- [34] Lloyd, G. et al., *Gas Plasma: Medical Uses and Developments in Wound Care*, New Journal of Physics **11**, 2009
- [35] Stolz, W. et al., *Low temperature Argon plasma for the sterilization of chronic wounds: from bench to bedside*, International Conference on Plasma Medicine, Corpus Christi, USA, 2007
- [36] Shimizu, T. et al., *Characterization of Microwave Plasma Torch for Decontamination*, Plasma Processes and Polymers **5**, 2008
- [37] Shimizu, T. et al., *Characterization of Low-Temperature Microwave Plasma Treatment With and Without UV Light for Disinfection*, Plasma Processes Polymers **7**, 2010
- [38] Pompl, R. et al., *The effect of low-temperature plasma on bacteria as observed by repeated AFM imaging*, New Journal of Physics **11**, 2009
- [39] Morfill, G. et al., *Nosocomial infections-a new approach towards preventive medicine using plasmas*, New Journal of Physics **11**, 2009

- [40] Isbary, G. et al., *A first prospective randomized controlled trial to decrease bacterial load using cold atmospheric argon plasma on chronic wounds in patients*, angenommen im British Journal of Dermatology am 19.02.2010
- [41] Fridman, G. et al., *Blood Coagulation and Living Tissue Sterilization by Floating-Electrode Dielectric Barrier Discharge in Air*, Plasma Chem Plasma Process 26, 2006
- [42] Fridman, G. et al., *Floating Electrode Dielectric Barrier Discharge Plasma in Air Promoting Apoptotic Behavior in Melanoma Skin Cancer Cell Lines*, Plasma Chem Plasma Process 27, 2007
- [43] Fridman, G. et al., *Comparison of Direct and Indirect Effects of Non-Thermal Atmospheric-Pressure Plasma on Bacteria*, Plasma Processes and Polymers 4, 2007
- [44] Dobrynin, D. et al., *Physical and biological mechanisms of direct plasma interaction with living tissue*, New Journal of Physics 11, 2009
- [45] Ayan, H. et al., *Application of nanosecond-pulsed dielectric barrier discharge for biomedical treatment of topographically non-uniform surfaces*, J. Phys. D: Appl. Phys. 42, 2009
- [46] Vandamme, M. et al., *Antitumor Effect of Plasma Treatment on U87 Glioma Xenografts: Preliminary Results*, Plasma Processes and Polymers 7, 2010
- [47] Helmke, A. et al., *The acidification of lipid film surfaces by non-thermal DBD at atmospheric pressure in air*, New Journal of Physics 11, 2009