

A photograph of an elderly couple walking a beagle dog on a beach. The man is wearing a dark sweater and a light scarf, and the woman is wearing a light-colored coat and a patterned scarf. They are both smiling and holding hands. The dog is on a red leash. The background shows the ocean and a cloudy sky.

Stimuleren van wondgenezing met koud plasma

Infectie is een van de meest voorkomende complicaties van slecht- en niet-genezende wonden. Koud plasma is geïoniseerd gas, dat een snelle en sterke bacteriedodende werking heeft, ook bij antibioticaresistente bacteriën. In deze whitepaper worden een aantal studies gepresenteerd over deze en andere positieve effecten van koud plasma behandeling op wondgenezing.

Inhoud:

- **Wat is koud plasma?**
Plasma is geïoniseerd gas dat o.a. reactieve zuurstof- en stikstofverbindingen bevat.
- **Koud plasma stimuleert wondgenezing.**
Behandeling met koud plasma is een nieuwe methode met een korte behandel tijd.
- **Koud plasma inactieveert multidrug resistente bacteriën en deactiveert biofilms.**
Na 2 tot 5 seconden koud plasma overleeft slechts 1 op 100.000 MRSA-bacteriën.
- **Koud plasma stimuleert cel migratie en cel proliferatie.**
Inductie van de cellen die het epidermis regenereren werd waargenomen na blootstelling van 1 en 3 minuten.
- **Koud plasma bevordert microcirculatie.**
Binnen 10 minuten na behandeling zijn het hemoglobine niveau en de zuurstofsaturatie significant gestegen. Een behandeling met koud plasma beïnvloedt niet alleen de doorbloeding aan de oppervlakte, maar tot wel 8 mm diepte.
- **Studie Amsterdam UMC met een indicatie van bevordering van wondgenezing.**
Wonden van gemiddeld 3 jaar namen binnen twee weken gemiddeld 43% af in wondoppervlak. Twee wonden sloten zelfs helemaal.
- **Voorbeeld van een koud plasma oplossing**
- **Conclusies**
- **Literatuur**
- **Contact**

Wat is koud plasma?

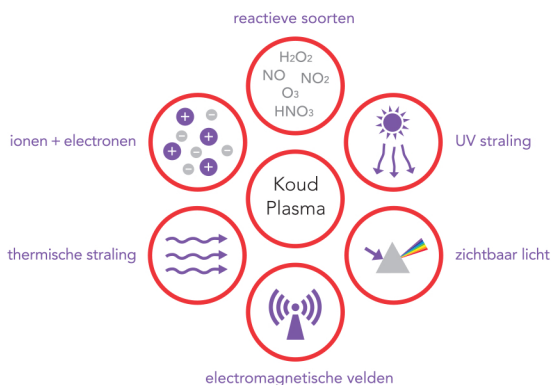


Figuur 1: De 4 fasen of aggregatietoestanden

Plasma is geïoniseerd gas, de zogenaamde 4^e fase van een stof (zie figuur 1). Het ontstaat door toevoeging van energie aan gas.

Plasma is een mix van elektronen en ionen, reactieve stoffen, Uv-straling, zichtbaar licht, elektromagnetische velden, en warmte (zie figuur 2). Tegenwoordig is het mogelijk om de temperatuur laag te houden, onder de 40° C. Dit noemen we een koud plasma, het kan op levende cellen (in vivo) gebruikt worden.

Koud plasma is uitermate reactief. Reactieve zuurstof- en stikstofverbindingen spelen een sleutelrol in de biologische effecten. Deze door koud plasma gegenereerde verbindingen werken samen met andere plasma componenten zoals Uv-straling, milde warmte en elektrische velden. Deze effecten zorgen voor een verbeterde micro-omgeving door het genereren van bacteriedodende condities en beïnvloeden microcirculatie positief in de met plasma behandelde gebieden.



Figuur 2: Koud plasma bestanddelen

Koud plasma stimuleert wondgenezing

Behandeling met koud plasma is een nieuwe methode met een korte behandeltime.

De positieve effecten op wondgenezing zijn:

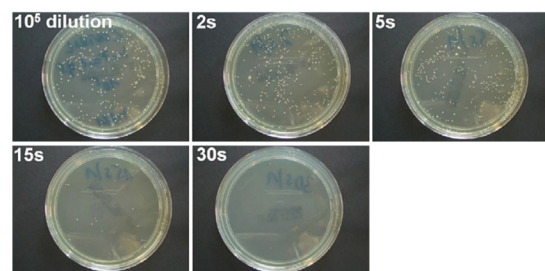
- Het inactiveren van een breedspectrum van micro-organismen
- Het stimuleren van celmigratie en celproliferatie
- Het bevorderen van de microcirculatie

Het effect van koud plasma op bacteriën, biofilm en antibioticaresistente bacteriën

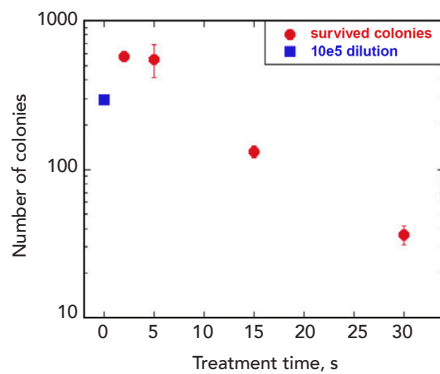
Antibacteriële behandelingen zijn extreem belangrijk voor geïnfecteerde wonden, omdat in dergelijke wonden de genezing niet volgens het reguliere proces kan verlopen. Zoals bekend werkt microbiële kolonisatie vertragend op het wondgenezingsproces, of stopt het zelfs volledig [1], waardoor een chronische wond ontstaat.

Talrijke in vitro en in vivo studies hebben het antimicrobiële potentieel van plasma al aangetoond. Niet alleen tegen de reguliere pathogenen, maar ook tegen resistente micro-organismen en biofilms [1]. Zowel gramnegatieve als grampositieve bacteriën, al dan niet genesteld in een biofilm, maar ook gisten en schimmels zijn succesvol geïnactiveerd. Bijvoorbeeld ook het deactiveren van biofilms van methicilline-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA) of extremophile genus *Deinococcus radiodurans* is aangetoond. Een ander voordeel van koud plasma is dat in tegenstelling tot bij antibiotica behandeling, de bacteriën bij plasmabehandeling geen resistentie vertonen, ook niet na herhaaldelijke behandeling [2].

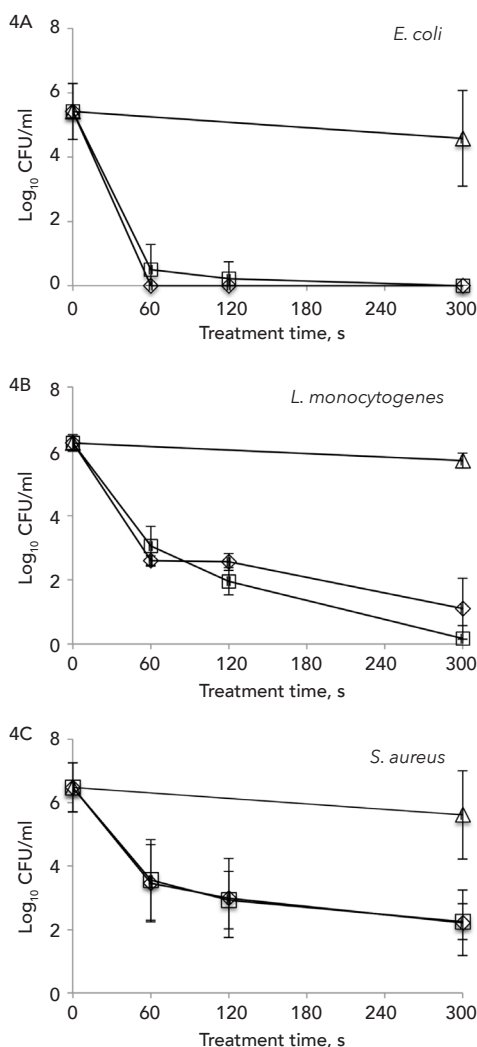
Uit het volgende onderzoek [2] blijkt bijvoorbeeld dat koud plasma binnen 2 tot 5 seconden een log 5 reductie van het aantal bacteriën bereikt (zie figuur 3A en B). Een log 5 reductie is 99,999% reductie, dus 1 op 100.000 overleeft. Dit geldt ook voor antibiotica-resistente bacteriën.



Figuur 3A: Kolonies gevormd door afzonderlijke overlevende MRSA-bacteriën op agarplaten na tijdsduren van plasmabehandeling van 2-30 s. Ter vergelijking een 10⁶ verdunning van onbehandelde bacteriën.



Figuur 3B: Het aantal bacteriën (het aantal MRSA kolonies) die overleefden na verschillende tijdsduren van plasmabehandeling (rode data punten). Ter vergelijking het 10^5 verdunde controle monster (blauwe data punt).



Figuur 4 A, B, C: Overlevende populaties van bacteriële biofilms na koud plasmabehandeling. (A) Escherichia coli, (B) Listeria monocytogenes en (C) Staphylococcus aureus: (Δ) onbehandelde 24 uur controle, (◇) na directe en (□) indirecte koud plasmabehandeling.

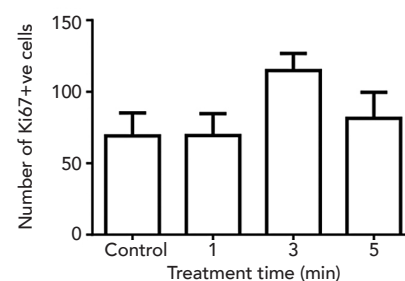
Onderzoek [3] toont dat koud plasmatechnologie effectief is bij het deactiveren van biofilm en dat het een belangrijke rol zou kunnen spelen in het afzwakken van de virulentie van pathogene bacteriën (zie figuur 4A, 4B en 4C).

Koud plasma stimuleert cel migratie en cel proliferatie

Een van de belangrijkste taken van fibroblasten tijdens wondgenezing is migratie naar het wondgebied om nieuw granulatieweefsel te vormen en om verloren bindweefsel opnieuw op te bouwen. De verhoogde proliferatie van fibroblasten en keratinocyten is ook een belangrijk mechanisme voor wondgenezing, omdat het helpt bij snelle re-epithelialisatie en matrix vorming.

Onderzoek toont aan dat koud plasma niet alleen fibroblasten activeert, maar ook invloed heeft op de differentiatie van fibroblasten in myofibroblasten [4]. Myofibroblasten zijn belangrijk voor het handhaven van de homeostase van de huid en voor fysiologisch weefselherstel en wondcontractie. Studies hebben aangetoond dat plasmabehandeling de expressie van verschillende voor wondgenezing relevante cytokines en groeifactoren in keratinocyten en fibroblasten induceert en cellulaire mechanismen beïnvloedt die belangrijk zijn voor wondgenezing, zoals:

- migratie van fibroblasten en keratinocyten
- proliferatie van fibroblasten en keratinocyten
- collageenexpressie en matrixvorming
- cytokine- en groeifactor-expressie van fibroblasten en keratinocyten



Figuur 5: Kwantificatie van Ki67-positieve cellen (keratinocyten) in de basale huidlaag van plasma-behandelde en onbehandelde monsters. Het aantal prolifererende cellen was significant gestegen na 3 min.

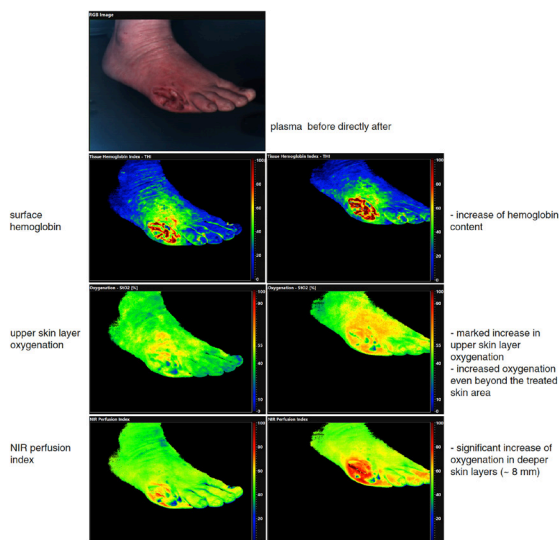
Onderzoek [5] toont dat het aantal prolifererende cellen na 3 minuten behandeling significant was toegenomen (zie figuur 5).

Koud plasma bevordert microcirculatie

Bloedvatvorming of angiogenese en voldoende bloedtoevoer zijn belangrijk in de 2^e fase van wondgenezing. Hierbij zijn groeifactoren, cytokines belangrijk, maar ook reactieve zuurstof- en stikstofverbindingen zoals ozon en stikstofoxide die door koud plasma worden geleverd.

De invloed van plasma op lokale microcirculatie is aangetoond in meerdere studies. Een studie toonde aan dat behandeling van een intacte huid resulteerde in een onmiddellijke toename van de microcirculatie parameters bloedstroom en snelheid, relatieve hemoglobine en postcapillaire zuurstofverzadiging, die ten minste één uur duurde [6].

Herhaalde behandeling versterkt en verlengt de microcirculatie-effecten en een langere behandeling leidde tot sterkere effecten. Bovendien blijven de effecten van behandeling met plasma niet beperkt tot het oppervlakkige gebied waar het plasma direct op inwerkt, maar zijn de effecten ook zichtbaar in de huidlagen eronder tot een diepte van ca. 8 mm [7].



Figuur 6: Hyperspectraal analyse beeld van veranderingen in de microcirculatie in een diabetesische voet.

Dus plasmabehandeling kan de microcirculatie noemenswaardig verbeteren voor een therapeutisch relevante periode, aanzienlijk langer dan de duur van de plasma behandeling (behandelduur 2 minuten, versterkte doorbloeding 10+ minuten).

Een derde onderzoek [7] toont dat binnen 10 minuten na behandeling het hemoglobine niveau en de zuurstofsaturatie significant gestegen zijn (zie figuur 6).

Studie Amsterdam UMC met een indicatie van bevordering van wondgenezing

In het Amsterdam UMC is een klinische studie [8] met de koud plasma behandeling van Plasmacure uitgevoerd op 20 volwassen diabetes type 1 en 2 patiënten met slecht- of niet-helende diabetische voetulcers. De wonden bestonden gemiddeld 1090 dagen. De mediaan was 140 dagen. De patiënten ontvingen 10 behandelingen in een periode van twee weken of tot hun wond genezen was.

De resultaten:

De hoeveelheid *Staphylococcus aureus* bacteriën nam af direct na de behandeling. Dat is belangrijk, want *S. aureus* wordt gezien als de belangrijkste pathogeen in diabetische voetinfecties in gematigd klimaat.

Het formaat van de wond nam significant af binnen de behandelperiode. De mediaan van de afname van het wondoppervlak in twee weken was 55%. Twee ulcers heelden volledig en twee namen toe in grootte. 55% Van de chronische wonden leken omgezet te zijn van niet-helend naar helend na twee weken behandelen.

Met deze studie is een eerste indicatie van de effectiviteit van de koud plasma behandeling van Plasmacure verkregen.

Voorbeeld van een koud plasma toepassing

Een voorbeeld van een koud plasmaoplossing is PLASOMA (zie figuur 7 en 8).



Figuur 7: Onder de elektrische pad op de bal van de voet ontstaat koud plasma. De pad is verbonden met een pulser die energie naar de pad zendt om het plasma te genereren.



Figuur 8: De PLASOMA Pulser

Conclusies

Koude plasma's bevatten biologisch actieve componenten, vooral reactieve zuurstof- en stikstofverbindingen, die ook een essentiële rol spelen in natuurlijke lichamelijke processen. Samen met andere koud plasma componenten zoals elektrische velden zorgen deze voor een verbeterde micro-omgeving door het genereren van bacteriedodende condities en stimuleren ze de cel migratie en -proliferatie en de micro-circulatie in de met plasma behandelde gebieden. Daarom zijn koude plasma's nuttig om wondheling te ondersteunen bij slecht of niet-genezende wonden.

Heb je interesse of vragen over koud plasma en PLASOMA? Neem dan [contact](#) op.

Literatuur

1. Tiede, R., et al. (2018). Treatment of Ulcerations and Wounds. In H.-R. Metelmann, et al. (eds.), *Comprehensive Clinical Plasma Medicine* (pp. 127-149). Springer International Publishing.
2. Zimmermann, J.L., et al. (2012). Test for bacterial resistance build-up against plasma treatment. *New J Phys*, 14: 73037(16 pp).
3. Ziuzina, D., et al. (2015). Cold Plasma Inactivation of Bacterial Biofilms and Reduction of Quorum Sensing Regulated Virulence Factors. *PLoS One*, 10(9): e0138209.
4. Arndt, S., et al. (2018). Comparing two different plasma devices kINPen and Adtec SteriPlas regarding their molecular and cellular effects on wound healing. *Clin Plasma Med*, 9: 24–33.
5. Hasse, S., et al. (2016). Induction of proliferation of basal epidermal keratinocytes by cold atmospheric-pressure plasma. *Clin Exp Dermatol*, 41(2): 202-9.
6. Borchardt, T., et al. (2017). Effect of direct cold atmospheric plasma (diCAP) on micro-circulation of intact skin in a controlled mechanical environment. *Microcirculation*, 24(8): e12399.
7. Schönebeck, R. (2018). kINPen MED. In H.-R. Metelmann, et al. (eds.), *Comprehensive Clinical Plasma Medicine* (pp. 485-494). Springer International Publishing.
8. Peters, E.J., et al. (2018). Cold Atmospheric Pressure Plasma as a Novel Treatment Modality in Diabetic Foot Ulcers - A Pilot Study. *Diabetes*, 67 (Supplement 1).