

**ÄNDERUNGEN DER HAUTSTRUKTUR
BEI DER EINWIRKUNG DER KALT-PLASMA-KOAGULATION.
(Erste Mitteilung)**

Gvaramija G. S., Zagareli Z. G., Gogiaschwili L. E., Gassinez A. I.

Natschwili-Institut für experimentale Morphologie der Akademie der Wissenschaften Georgien.

Medizinzentrum „Medi“, 1 Al. Kazbegi 380079, Tbilisi, Georgien

Soering GmbH Medizintechnik, 25451 Quickborn, Germany

Einleitung

Die Anwendung der Kalt-Plasma-Koagulation hat eine Reihe der Vorteile im Vergleich zu den bestehenden Argonkoagulatoren, in welchen sich die Koagulation dank der Erwärmung des zu bearbeitenden Gewebes mit heissem Plasmastrahl und mit Hilfe von Leitungsströmen durch das biologische Gewebe verwirklicht [1, 3, -7]. Die vorgeschlagene Methode mit der Verwendung vom Inertgas Helium als Arbeitskörper des Plasmatrons zur Erzeugung von Kaltplasma unterscheidet sich prinzipiell von den bestehenden Methoden durch niedrige Eigentemperatur vom Plasmastrahl und viel niedrigere HF-Ströme durch den Körper. Reduzierung der HF-Ströme durch den Körper des Patienten trägt dazu bei, das die unteroberflächlichen Schichten des zu bearbeitenden Gewebes bei der Einwirkung von Kaltplasma praktisch nicht durchgewärmt werden. Das gewährleistet die minimale Verletzung des Gewebe während der Koagulation oder Devitalisation [2]. Die Eigenschaften vom Kaltplasma im Betrieb des Leerlaufs ermöglichen dem Chirurg, es präzise auf dem Einwirkungsplatz zu lokalisieren. Ein gut sichtbarer, standfester Plasmastrahl gestattet es, gut auf den zu bearbeitenden Gewebenabschnitt zu zielen. Die Visualisierung des Devitalisationsgrades und deren sukzessiver Charakter schließen die Verletzungsmöglichkeit der untenliegenden Gewebe aus. In der tierexperimentellen Studie sind die Vorteile der Kalt-Plasma-Koagulation festgestellt: minimale Verletzung, wesentliche Beschleunigung der Wundheilung, praktisch volles Wegbleiben der lokalen Entzündungsreaktion und Nebenwirkungen.

Das Ziel unserer Arbeit war das Testen des Gerätes CPC-1000 (Söring, Quickborn) nach folgenden Parameter:

- 1) Hauthistologie.
- 2) Elektronenoptische Mikroskopie der Haut.
- 3) Tiefe der makroskopisch zu bestimmenden Nekrosen, die durch die Koagulation in der Zone der epidermalen Verbindung sowie in den intakten Grenzabschnitten hervorgerufen sind.

Material und Untersuchungsmethoden.

Experimente wurden auf 60 weißen Laborratten (Männchen mit dem Ausgangsgewicht 130,0-150,0g) durchgeführt. Nach der intramuskulären Injektion von 2,5% Hexenallösung und 1% Lidokainlösung als lokale Anästhesie wurde gezielte CPC-Applikation auf den depilierten Rückenhautabschnitt des Tieres im Ausmass 2, 0 x 2, 0 cm durchgeführt. Expositionszeit und technische Parameter des Einwirkungsbetriebs sind in der Tabelle angegeben.

Tabelle 1. Technische Angaben von CPC-1000

Step	Power	Gas flow (l/min)
Step 1	10 w	1, 0
Step 2	20 w	2,0
Step 3	30 w	1, 0
Step 4	100 w	2, 5
In all steps Voltage output 2000-3000 v. Minimal frequency 350 KHz		

**Anmerkung:* Parameter der Gasströmung werden durch das Gerät automatisch entsprechend der Leistungsstufe eingestellt.

Die Einwirkung von CPC dauerte bis zur Bildung des weissen Schorfs ohne makroskopisch sichtbare Verletzungen der unterliegenden Gewebe ca. 2-3 sek. Der Abstand Strahl-Oberfläche wurde durch den Bildungsbetrieb des elektrischen Bogens limitiert, was im Durchschnitt 2-4 mm betrug.

Die Gewebemuster wurden nach der Dekapitation des Tieres auf dem Hintergrund der Nembutal-Injektion in 3, 14, 21 und 60 Tage nach der Einwirkung von CPC hergestellt. Das in der 12% Formalinlösung fixierte Material wurde mit Hämalaun-Eosin sowie Pikrophukusin nach van Gieson gefärbt und für die histologische Untersuchung verwendet. Die in der 2,5% Glutaraldehydlösung und 1% Osmiumsäurelösung (pH 7,34) fixierten Muster wurden im Verfahren der Doppelkontrastierung gefärbt und im Elektronenmikroskop **Tesla BS500** bei der Beschleunigungsspannung des Gerätes 60-90 kVt untersucht. Maximale Nekrosetiefe nach der Applikation von CPC wurde in mm gemessen.

Diskussion

Einer der Einschätzungskriterien des CPC-Effektes war die maximale Nekrosetiefe und der Devitalisationsgrad der Gewebe.

Auf der Abbildung 1 sind die Angaben der histologisch zu bestimmenden Nekrosetiefe zu erkennen. Aus den erreichten Resultaten geht hervor, dass bei der Anwendung von CPC die Nekrosetiefe im Gewebe durchschnittlich 1, 25 mm beträgt.

Abbildung 1. *Abhängigkeit der Nekrosetiefe der Hautstruktur (mm) von der Leistung von CPC drei Tage nach der Einwirkung*

Drei Tage nach der Einwirkung von CPC Step 1 ist zu sehen, dass die Oberfläche mit einem dichten weißen Schorf bedeckt ist. Auf den mit Hämalaun-Eosin gefärbten Präparaten wird ein begrenztes Ödem der Keratinozyten der Basalis- und Dornschicht bezeichnet; die Horn- und Körnerschichten fehlen. Dermastrukturen sind angeschwollen, die Kapillaren haben ein ungleichmässiges Lumen, einige haben einen Stau der Blutzellen, öfter überwiegend die der Erythrozyten.

Bei der Untersuchung der Ultrastruktur stellte sich heraus, dass die Kollagenfasern und elastische Fasern der Dermapapillarschicht geschwollen sind und die interzelluläre Hauptsubstanz ödematös ist (Abb. 2).

Abb. 2 Elektronenogramm, x 18000

Es zeigte sich die Desquamation der Keratinozyten der Körnerschicht, die ödematösen und desintegrierten Zellen der germinativen Schicht. Besonders änderte sich die dermo-epidermale Basalplatte: teilweise homogenisiert, mit kleinem Anteil der Fibrillenstrukturen und mit dem praktisch ungeänderten Netz der Ankerfasern, die sich in die Basalmembran einflechten und die Hautstruktur stabilisieren.

Bei der Einwirkung von CPC-Betrieb Step 2 ist die Epidermis in derselben Periode völlig abgeschilfert, auf den Präparaten bilden sich nekrotische Einzelzellen der Basalis- und Dornschichten (germinative Schicht). Die erhalten gebliebenen Schichten sind den desmosomalen Verbindungen entbehrt, was auf der Ultrastrukturebene als Dehiszenz der Zellschicht und Ansammlung des amorphen Detritus im Interzellulärraum in Erscheinung tritt. Die dermoepidermale Basalmembran ist stellenweise in grosse Fragmente eingeteilt, die eine Homogenstruktur haben. In der Dicke der Membran sind Ödem- und Schwellungszonen zu sehen. Die sogenannten Ankerfasern sind auch fragmentiert. Ein Teil der freiliegenden glattmuskulären Zellen der Dermapapillarschicht haben eine lysierte Zellmembran, einen pyknomorphen Kern, der mit kleinem Zytoplasmastrang umringt ist.

Im lockeren Verbindungsgewebe des Dermis werden die degranulierten Mastzellen bestimmt (Abb. 3), Fragmente der Kollagenfibrillen, viele davon haben eine unausgeprägte Struktur, die sind anscheinend in der Ödemflüssigkeit vermauert. Hier befinden sich auch Fibroblaste mit einer kleinen Anzahl der Membrane des zytoplasmischen Körnernetzes und der Ribosome. Der Kern ist zusammengeschrumpft, das Kernchen ist nicht sichtbar, was von deren schwachen Aktivität zeugt.

Abb. 3 Elektronenogramm, x 4000

Von der Seite der elastischen Fasern zeigen sich die Änderungen im Amorphelastin, welches locker, osmophil aussieht, der äußere Mikrofibrillenteil d. h. die Fibrillinen sind fragmentiert und ödematös. Bei der Einwirkung von CPC im Betrieb Step 3 fehlt auf den 3 Tage nach der Koagulation genommenen histologischen Präparaten die Epidermis, das Ödem mit der deutlich begrenzten Verletzungszone herrscht vor. Der Zelldetritus hat eine ausgeprägte Eosinophilie und Pikrinophilie, in der Regel mit der Zerfallsneigung. In Bezug auf die oben angeführten Änderungen muss man ein mehr monomorphes Verletzungsbild der Strukturen vom Derma hervorheben, welches sich von der Epidermis als ein dünner Strang der geänderten Basalmembran abtrennt.

Es muss darauf hingewiesen werden, dass in den visuell geänderten Grenzabschnitten die Architektur der Epidermis nicht verletzt ist, das betrifft sowohl Reihenfolge, als auch Orientierung der Keratinozyten der Basalis- und Dornschichten.

Unter der Epidermis werden eine ödematöse Dermis mit dem Bild der Koagulationsnekrose, Fragmente der Fasern und Bündel von Kollagen bestimmt, sowie einzelne Ansammlungen der verdünnten elastischen Fasern. Im Grenzabschnitt neben der Verletzungszone wurde unter der Epidermis ein Strang des ungeänderten Kollagens bestimmt.

Nach den Angaben der Ultrastrukturforschung zeigten sich zerstreutes Diffusionsödem, Lumenerweiterung und Verstärkung des Gefässbildes unmittelbar unter der Epidermis mit der Eindringung in den Detritus.

Bei der Einwirkung von CPC Step 4 zeigte sich der Koagulationseffekt als eine Tiefnekrose, die das Oberdrittel oder eine Hälfte des Dermis einnahm und in die tieferen Abschnitte als perivaskuläre oder perifollikuläre Infiltrate verbreitete, was von einem beachtlichen Verletzungsumfang zeugte. Weiterhin wurde dieser CPC-Betrieb wegen der beträchtlichen Verletzungseinwirkung nicht verwendet.

14 Tage nach der Einwirkung von Step 1 wird die Epithelisierung makroskopisch bezeichnet, Die Oberfläche ist glatt oder etwas uneben, ohne Hyperkeratose.

Bei der geringer Vergrößerung des Mikroskops zeigen sich Epithel- und Dermalkomponenten mit der erhalten gebliebenen Architektur der Keratinozyten histologisch deutlich. Kernelemente haben deutliche Merkmale der Differenzierung in der Plattenepithelrichtung.

Das Derma ist gut vaskularisiert, reichlich, auf meisten Abschnitten sind orientierte Kollagenbündel zu sehen, neben den aktiven Fibroblasten liegen einzelne GMK mit den Merkmalen der syntetischen Aktivität (Abb. 4).

Abb. 4 Elektronenogramm, x 10 000

Die interzelluläre Substanz ist durch die lockeren Eosinophil- und Pikrinophilmassen vertreten. Bei der Untersuchung der Ultrastruktur der Epidermis offenbarten sich zwei deutliche Typen der Epithelzellen: 1) der erste Typ (der seltenere) - die Zellen sind relativ gross, oft haben sie den Kern unregelmässiger Form und dunkles Zytoplasma wegen der grossen Anzahl der Polyribosome (Abb. 5) ; der zweite Typ ist der Hauptteil, die Zellen sind locker angeordnet und haben eine polygonale Form. Demosome finden sich seltener, im Zytoplasma gibt es viele Tonofilamente.

Abb. 5. Elektronenogramm, x 4000.

Das Derma ist durch die osmiophilen dünnen Kollagenfibrillen vertreten, die mit der dermäpidermalen Verbindung gekuppelt sind. Die Elastinfasern sind hell, desorientiert. Unter verschiedenen Zelltypen dominieren junge Fibroblaste sowie Zellen, die dem GMK ähnlich sind.

21 Tage nach der Einwirkung von CPC Step1 ist die Architektonik der Epidermis wiederhergestellt, aber im Derma finden sich dünne, unreife Kollagenfibrillen, die die gewöhnliche Querstreifung verloren haben. Elastische Fasern haben eine amorphe Komponente mit schwacher Kontur.

Step 2 CPC: nach 14 Tagen zeigt sich die teilweise wiederhergestellte Epidermis wie bei der Einwirkung von **Step 1**, aber die Merkmale der Desmos-Differenzierung sind deutlich vertreten, infolgedessen sind die interzellulären Räume verengt (Abb. 6).

Im Derma gibt es viele Kollagenfasern und Kollagenbündel mit den Differenzierungs- und Reifungsmerkmalen, weniger junge Fibroblaste und GMK. Es ist eine bessere als bei **Step 1** Vaskularisation des Unterdrittels von Derma zu sehen, sowie kurze zahlreiche Fasern der elastischen Strukturen, die am 21. Beobachtungstage mehr kompakt werden und von der umgebenen Mikrofilamentenkomponente deutlich umgerissen sind.

Die Kollagenfibrillen sind reif und haben eine deutliche Querstreifung. 14 Tage nach der Einwirkung von CPC **Step 3** offenbarten sich die Hauptänderungen: die Dominierung des 1. Typs der Epithelzellen, Mitosefiguren in ihnen, zahlreiche Tonofilamente im Zytoplasma, die die breiten, sich in Desmosome einflechtenden Bündel bilden.

Bei der Elektronenmikroskopie ist die dermoepidermale Membran auch deutlich strukturiert, sie hat Ankerfasern von Kollagen 7-er Typs, viele junge Fibroblasten, die mit den Bündeln der Kollagenfibrillen umgeben sind.

Gefäßreaktion äußerte sich schwächer als bei der Einwirkung von **Step 2**.

Abb. 6. Elektronenogramm, x 6000.

21 Tage nach der Einwirkung von CPC **Step 3** ist die Oberfläche eben, sie hat keine Merkmale von Hyperkeratose, Apoptose oder Parakeratose. Architektur und Orientierung der Keratinozyten sind mit zahlreichen Desmosomen aufbewahrt. Körnerzellen enthielten eine gemässigte Anzahl der Keratohyalingranula.

Die Basalmembran war ohne Änderungen, unter der Epidermis war ein Strang des ungeänderten Kollagens. Bemerkenswert sind die verminderte Anzahl der jungen Fibroblasten, die vergrößerte Anzahl der freien GMK und die deutlich umrissenen reifen Kollagenbündel, die um die elastische Fibrille herum gruppiert sind (Abb. 7) .

Abb. 7. Elektronenogramm, x 10 000.

60 Tage nach der Einwirkung von CPC unterschieden sich Histo- und Ultrastrukturen der Haut und Behaarung von den normalen unabhängig vom Einwirkungsbetrieb nicht.

SCHLUSSFOLGERUNGEN:

1. CPC im Betrieb **Step 1** übt einen schwachen verletzenden und wachstumsaktivierenden Einfluss auf die Keratinozyten und Dermalstrukturen aus.
2. CPC im Betrieb **Step 2** verursacht die Abschilferung und die Nekrose der Epidermis sowie eine schwache Reaktion von der Seite der Gefäße, der lockeren Bindegewebezellen und der Kollagenkomponente von Derma. Ödem, Plasmorrhagie und Fragmentierung der Kollagenfibrillen verschwanden 14 Tage nach der Applikation von CPC.
3. CPC im Betrieb **Step 3** führt zur Abschilferung eines begrenzten Abschnitts der Epidermis mit nachfolgender Bildung eines Schorfs, zur Wiederherstellung der Architektur der Keratinozyten und der dermoepidermalen Ankerfasern 7-er Typs im Laufe von 21 Tagen ohne Merkmale der Nekrose der tiefer liegenden Gewebe.
4. CPC im Betrieb **Step 4** hat einen offensichtlich negativen Effekt auf der Haut im Hinblick auf Nekrosentiefe und Charakter des pathologischen Prozesses und führt zur Bildung der kleinen, blutenden, mit der Kruste bedeckten Ulzerationen.

References:

2.Germany. 2001, 1-5. Manuskript.