

Aus der Klinik für Dermatologie, Venerologie und Allergologie der  
Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Klinischer Stellenwert nicht-invasiver spektroskopischer in-vivo  
Methoden in der Behandlung onkologischer Erkrankungen**

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Harald Fuss

aus Fambach

Datum der Promotion: 05.03.2021

## INHALTSVERZEICHNIS

Abstract Deutsch/Englisch .....	2
1. EINFÜHRUNG.....	4
1.1 Zielstellung:.....	7
2. MATERIAL UND METHODEN .....	8
3. ERGEBNISSE.....	12
3.1 Publikation 1: Jung S, Sehouli J, Chekerov R, Kluschke F, Patzelt A, Fuss H, Knorr F, Lademann J. Prevention of palmoplantar erythrodysesthesia in patients treated with pegylated liposomal doxorubicin (Caelyx®).....	13
3.2. Publikation 2: Lee BN, Jung S, Darvin ME, Eucker J, Kühnhardt D, Sehouli J, Patzelt A, Fuss H, Yu R, Lademann J. Influence of Chemotherapy on theAntioxidant Status of Human Skin. ....	13
3.3. Publikation 3: Huang MD, Fuss H, Lademann J, Florek S, Patzelt A, Meinke MC, Jung S. Detection of Capecitabin (Xeloda®) on the skin surface after oral administration ....	14
3.4. Publikation 4: Fuss H, Jung S, Lademann J. Influence of Sorafenib (Nexavar®), Sunitinib (Sutent®) and Capecitabin (Xeloda®) on the antioxidant status of the skin. ....	14
4. DISKUSSION .....	15
5. LITERATURVERZEICHNIS .....	20
6. EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG.....	26
7. ANTEILSERKLÄRUNG .....	26
8. DRUCKEXEMPLARE DER AUSGEWÄHLTEN PUBLIKATIONEN .....	28
9. LEBENS LAUF .....	48
10. KOMPLETTE PUBLIKATIONS LISTE .....	49
11. DANKSAGUNG .....	50

## **ABSTRACT DEUTSCH**

Die Haut ist als menschliches Organ leicht zugänglich und für nicht invasive in-vivo Untersuchungen besonders geeignet, zumal Ergebnisse zur Penetration systemisch applizierter Substanzen darauf schließen lassen, dass der Schweiß Substrat eines wichtigen Penetrationsprozesses ist. Insbesondere Chemotherapeutika können in Abhängigkeit von der Barrierefunktion der Haut über die Schweißsekretion auf die Hautoberfläche gelangen und von dort, wie topisch appliziert, von außen in die tieferen Hautschichten gelangen und dort kumulativ toxische Wirkungen entfalten. Nicht selten führt die kutane Toxizität zum Therapieabbruch und zur Verschlechterung der Lebensqualität und des Outcomes. Für Zytostatika wie Taxane, 5-FU oder liposomale Anthrazykline ist dies bekannt, aber auch Substanzen, wie targeted therapies, die nicht zytotoxisch wirken, führen trotz zielgerichteter Wirkweise zu einem breiten Spektrum insbesondere kutaner Nebenwirkungen. Die Kinetik dieser Prozesse war auch in Anbetracht fehlender diagnostischer Tools bis dato größtenteils unklar. Bekannt ist, dass Antioxidantien in der menschlichen Haut Schutzketten bilden und destruktive Effekte freier Radikale verhindern können. Die Detektion von Betacarotin und Lycopin in der menschlichen Haut mittels Resonanz-Raman-Spektroskopie ist ein Indikator für den Antioxidantienstatus der Haut. In Anbetracht der demographischen Entwicklung, der noch fehlenden wissenschaftlich harmonisierten Umsetzung therapeutischer Prozesse in der geriatrischen Onkologie, der Polypharmazie und auch des breiten Einsatzes von Immuntherapeutika bei teils komorbiden Patienten ist die Qualität klinischen Monitorings entscheidend. Im Alltag ist der Wechsel von Zytostatika zu Multikinaseinhibitoren und Immuncheckpoint-Inhibitoren angekommen, Maßnahmen der Prävention und des Nebenwirkungsmanagements bedürfen der Optimierung. Dank der mehrjährigen Forschung der Charité unter Nutzung spektroskopischer Verfahren besteht ein praxisnahes, im Handling einfaches Tool zur Evaluierung in vivo. Mehrere Studien haben die klinisch relevante Beeinflussung des oxidativen Status und sich ableitender therapeutischer Maßnahmen insbesondere des Hand-Fuß-Syndroms(HFS) mittels antioxidativer Salben belegt. Im Umkehrschluss konnte gezeigt werden, dass der Wirkmechanismus von Capecitabine davon different ist und somit keiner analogen Therapie bedarf. Bei Patienten mit molekularen Therapien tritt das HFS in relativ hoher Inzidenz auf, die Pathogenese ist nur teilweise verstanden. Die aktuellen Ergebnisse, welche im Rahmen der Doktorarbeit entstanden sind, belegen eine Capecitabine-vergleichbare Pathogenese. Gleichfalls bestätigen die Ergebnisse die Notwendigkeit eines klinischen, kommunikationsbasierten Monitorings einschließlich gezielter ernährungswissenschaftlicher Intervention unter Erwägung komplementärmedizinischer Maßnahmen. Weitere Studien sollten den Stellenwert des oxidativen Status als stratifizierenden

Faktor für supportive Maßnahmen im multimodalen Ansatz evaluieren. Es handelt sich um eine Publikationspromotion, die auf vier Publikationen basiert.

### **ABSTRACT ENGLISCH**

The skin as a human organ is easily accessible for non-invasive in vivo measuring, especially because studies regarding the penetration of systemically applied substances indicate that sweat is the substrate of an important penetration process. Chemotherapeutic agents in particular can, depending on the skin's barrier function, penetrate it to the surface. From there they can, as though applied topically, reenter it from the outside, reach deeper skin layers and cause cumulative toxic effects. Often this results in termination of treatment and the worsening of life quality and outcome. This process is already well-described for cytostatics such as taxanes, 5-FU and liposomal anthracyclines, but even targeted therapy drugs, which are not cytotoxic, cause a broad spectrum of side effects. Partly due to the lack of suitable diagnostic tools, the corresponding kinetics is to date still not understood in its entirety. It has been established that antioxidants form protective chains within the skin to counteract the destructive effect of free radicals. Beta-carotene and lycopene detection in the skin using resonance Raman spectroscopy is indicative of the oxidative status of the skin. Due to the demographic development, lack of scientifically harmonious execution of therapeutic processes in geriatric oncology, polypharmacy and the widespread use of immunotherapies in patients with comorbidities, a high quality of clinical monitoring is essential. The change from cytostatics to multikinase inhibitors and immune checkpoint inhibitors has arrived in daily practice, while preventive measures and side effect management still need optimizing. Thanks to research performed by the Charité using spectroscopic measuring methods, a practical and easily usable tool exists for in-vivo evaluation. Multiple studies have demonstrated the clinical relevance of influencing the oxidative status via related therapeutic measures, particularly for Hand-Foot-Syndrome (HFS) using antioxidative ointments. Vice versa it was shown that the mechanism of action differs for capecitabine and thus doesn't require therapy analogous to the one for traditional cytostatics. HFS occurs with high incidence in patients treated with molecular therapies, but the pathogenesis remains only partly understood. The current study results discovered during the research for this doctoral dissertation, consisting of four publications, point to a pathogenesis similar to capecitabine. At the same time, our results confirm the necessity for clinical, communication-based monitoring including targeted nutritional intervention and complementary medicine.

## 1. EINFÜHRUNG

Onkologische Erkrankungen sind nach Krankheiten des Kreislaufsystems mit 25 % die zweithäufigste Todesursache in Deutschland. Der demografische Wandel, steigende Inzidenzraten und neue Therapien führen dazu, dass eine zunehmend große Zahl Menschen mit einer Krebserkrankung lebt. Für 2020 wird eine Erkrankungsrate von ca. 510.000 Krebsfällen prognostiziert (1). Neben dem „burden of disease“ auf der bevölkerungsbezogenen Makroebene und dem „burden of symptoms“ und dem „burden of treatment“ auf der patientenbezogenen Mikroebene kommt durch die zunehmende Zentralisierung, Leitlinienorientierung und damit Standardisierung der onkologischen Versorgungsprozesse der Untersuchung von Versorgungsforschungsfragen auf der Mesoebene eine wachsende Bedeutung zu. Im Bereich der pharmakotherapeutischen onkologischen Versorgungsforschung steht die Überwindung der „effectiveness gap“ im Vordergrund. Die vor der Zulassung durchgeführten klinischen Studien sind für den Nachweis der therapeutischen Wirksamkeit neuer Arzneimittel unter Alltagsbedingungen („effectiveness“) bedingt aussagefähig. Daher bleiben zum Zeitpunkt der Zulassung zahlreiche offene Fragen, die in versorgungsnahen Studien im Vergleich zu den bisher bevorzugten Therapieoptionen i.S. von „comparative effectiveness research“ beantwortet werden sollten (2). Im Rahmen multimodaler therapeutischer Prozesse ist oxidativer Stress als morbiditätsfördernd und -auslösend anerkannt, in seiner biologischen Komplexität aber nur bedingt verstanden.

Im menschlichen Organismus stellen Antioxidantien die Gegenspieler zu freien Radikalen dar und stehen mit diesen in einem Gleichgewicht. Unter normalen, physiologischen Umständen fungieren Antioxidantien in der Signalübertragung und Regulation der Proliferation und der Immunantwort.

Bei physiologischen zellulären Aktivitäten erzeugen verschiedene Prozesse innerhalb der Zellen u.a. reaktive Sauerstoffspezies (ROS). Einige der gebräuchlichsten ROS sind Wasserstoffperoxid ( $H_2O_2$ ), das Superoxidion ( $O_2^-$ ) und das Hydroxidradikal ( $OH^-$ )(3). Kommt es zu einer übermäßigen Produktion von freien Radikalen, wird auch von oxidativem Stress gesprochen. Dieser kann zu Schädigungen von Zellstrukturen, u.a. der DNS, aber auch anderer Proteine oder Lipide führen und sich damit negativ auf die menschliche Gesundheit auswirken.

Nichtsdestotrotz sind freie Radikale auch bei physiologischen Prozessen von Nutzen. In mäßigen Konzentrationen spielen freie Radikale, wie z.B. das Superoxidradikal oder Stickstoffmonoxid bei der Abwehr von Bakterien oder auch anderen zellulären Noxen eine Rolle. In der Literatur

wird beschrieben, dass freie Radikale in Zellen als sekundäre Botenstoffe in intrazellulären Signalkaskaden fungieren, die den onkogenen Phänotyp von Krebszellen induzieren und aufrechterhalten. Sie können jedoch auch zelluläre Alterungsprozesse und Apoptose induzieren (4). Die Funktion von Antioxidantien besteht darin, der schädlichen Wirkung von oxidativem Stress entgegenzuwirken. Zu den Antioxidantien zählen Enzyme wie z.B. Superoxiddismutase, Katalase oder Glutathionperoxidase aber auch einige Vitamine, Metalle, Glutathion, Thiole oder sekundäre Pflanzenstoffe wie Isoflavone, Polyphenole und Flavanoide. Die Carotinoide, wie Lycopin und Betacarotin stellen die Hauptvertreter der Antioxidantien in der Haut dar und sind mittels non-invasiver Messmethoden in vivo und ex vivo in der Haut quantifizierbar.

Die Detektion und Quantifizierung von  $\beta$ -Carotin und Lycopin in der menschlichen Haut ist über die Resonanz-Raman-Spektroskopie bei Anregung einer Laserwellenlänge von 488 nm bis 514,5 nm möglich (5). Beide Substanzen sind wichtige Indikatoren für den Antioxidationshaushalt. Durch Untersuchungen von Werncke et al. wurde unter anderem gezeigt, dass die Raman-Signale für Antioxidantien im Anregungsbereich von 400 bis 550 nm resonant verstärkt werden und dieser Wellenlängenbereich bevorzugt anzuwenden ist (6). In vorangegangenen Studien konnte gezeigt werden, dass die Konzentration von kutanen Carotinoiden in ihrer Fluktuation und ihrem Verlauf mit der Konzentration anderer Antioxidantien in der Haut und auch von im Blut gemessenen Antioxidantienspiegeln korrelierte (7). Demnach können kutane Carotinoide auch als Markersubstanz für den antioxidativen Status der Haut und möglicherweise auch des Organismus dienen. Weitere Studien konnten belegen, dass Ernährungs- und Lifestylefaktoren den antioxidativen Status entscheidend beeinflussen können. Eine gesunde Ernährung reich an unverarbeitetem Gemüse und Obst kann demnach zu einem Anstieg der Antioxidantien beitragen, während Stress, akute Krankheiten, Schlafmangel, Rauchen und Alkohol zu einem Anstieg der freien Radikale und somit zu einem Abfall der Antioxidantien führen (8-11). Oxidativer Stress wurde u.a. mit der Entstehung von Krebserkrankungen, Alterungsprozessen und Herz-Kreislauf-Erkrankungen in Verbindung gebracht, die Einnahme supplementärer Antioxidantien als vielversprechende Vorbeugungsmaßnahme gesehen, insbesondere angesichts der Zusammenhänge zwischen Ernährungs- und Lifestylefaktoren wie einer Ernährung reich an Obst und Gemüse auf der einen und negativen Faktoren wie Rauchen, Stress und Alkohol auf der anderen Seite. Inwieweit chronische Erkrankungen oder maligne Prozesse selbst Einflüsse auf das antioxidative Potential haben konnte bisher nicht eindeutig gezeigt werden.

Seit vielen Jahren werden in Deutschland rund 1,85 Mio. Patienten pro Jahr wegen einer Krebserkrankung (Entlassungsdiagnose) stationär versorgt. Offenkundig bleibt die Entwicklung der Fallzahlen der stationär behandelten onkologischen Morbidität seit Jahren hinter der des gesamten Versorgungsbedarfs zurück. Die neuen Behandlungsansätze und die Zunahme der Bedeutung der medikamentösen Krebstherapie, insbesondere besser verträglicher Arzneimittel, und die stetige Weiterentwicklung von zielgerichteten Therapien sowie Immuntherapien stellen neue medizinische Anforderungen in Bezug auf das Management möglicher Nebenwirkungen dar. Ca. 80 % der Chemotherapeutika führen zu Hautnebenwirkungen, die eine Therapiemodifizierung oder einen Abbruch mit negativem Outcome des Patienten zur Folge haben (12). Hier können neben toxischen und allergischen Reaktionen unterschiedliche klinische Symptome beobachtet werden. Es können sich u.a. erosive, exfoliative, exanthematische und acneiforme Läsionen oder in spezifischen Arealen auftretende Läsionen wie beim Hand-Fuß-Syndrom manifestieren. Letzteres tritt an Handflächen und Fußsohlen auf, kann jedoch unter mechanischer Belastung auch an anderen Arealen des Körpers auftreten.

Die Haut als größtes menschliches Organ ist leicht zugänglich und für nicht-invasive In-vivo-Untersuchungen besonders geeignet. Eine Reihe von Substanzen im Körper, auch systemisch applizierte, werden mit dem Schweiß auf die Hautoberfläche transportiert (13). Die bisher in der Literatur veröffentlichten Ergebnisse zur Penetration systemisch applizierbarer Substanzen auf die Haut lassen darauf schließen, dass der Schweiß ein wichtiger Penetrationsweg für körpereigene und systemisch applizierte Substanzen aus dem Körper heraus auf die Hautoberfläche darstellt. Inwieweit auch intrazelluläre oder follikuläre Penetrationswege daran beteiligt sind, ist unklar, gleich, welche Substanzen mit dem Schweiß und welche mit dem Sebum nach außen transportiert werden, was die Kinetik dieses Transportprozesses charakterisiert. In Untersuchungen von Jacobi et al. und Martschick et al. (13, 14) konnte das Zytostatikum Doxorubicin anhand seiner Fluoreszenz mittels konfokaler Laser-Scan-Mikroskopie an der Hautoberfläche detektiert werden. Hier zeigte sich, dass Doxorubicin innerhalb von Minuten nach systemischer Applikation ausgehend von den Schweißdrüsen auf der Hautoberfläche sezerniert wird und wie topisch appliziert spreitet. Zeitgleich mit dieser Sezernierung konnte ein korrelierender Abfall der kutanen Antioxidantien beobachtet werden. Die erhöhte Schweißdrüsendichte an Handtellern und Fußsohlen legte den Verdacht nahe, dass eine kumulativ-toxische Wirkung aufgrund des vermehrten Austritts von Chemotherapeutika über die Schweißdrüsen auf die Haut dem Hand-Fuß-Syndrom zugrunde liegen könnte. In diesem Falle würde das palmoplantar deutlich verdickte Stratum corneum ein mögliches Speicherreservoir für die applizierten Chemotherapeutika darstellen, sodass dies für einen

kumulativ-toxischen Effekt sprechen könnte. Das Hand-Fuß-Syndrom selbst ist eine entzündliche Dermatose, die in befallenen Arealen ebenfalls vermehrt freie Radikale im Rahmen der Entzündungsreaktion freisetzen kann. Das Hand-Fuß-Syndrom (PPE) wird klassifiziert entsprechend der Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTC-AE) (15). Auftreten und Schweregrad kutaner Nebenwirkungen korrelieren teils positiv mit dem therapeutischen Ansprechen (16). In vorangegangenen Studien konnte eine erhöhte Konzentration von freien Radikalen an entzündlichen Hautmodellen in-vitro als auch in-vivo (17-20) gezeigt werden. Anhand dieser Erkenntnisse lag es nahe, eine supportive Therapie mittels hochdosierter systemischer Antioxidantien durchzuführen, um mögliche toxische Nebenwirkungen zu vermeiden. Der Einsatz oraler Antioxidantien wird jedoch kritisch betrachtet, da mehrere Studien Hinweise auf eine verminderte antitumoröse Wirkung und sogar auf eine höhere Mortalitätsrate unter Einnahme von supplementären Antioxidantien gaben (21-25). Eine mögliche Erklärung hierfür wäre, dass die Wirkung einiger Zytostatika teils auf Radikalbildung innerhalb der Tumorzelle beruht. Eine alternative Applikationsform stellt die topische Auftragung hochkonzentrierter Antioxidantien auf der Haut dar, um kutane Nebenwirkungen zu verhindern. Eine Studie von Lademann et al. zeigte, dass bei Patienten unterschiedlicher Tumorentitäten, die kutane Nebenwirkungen ähnlich dem Hand-Fuß-Syndrom zeigten, die therapeutische Applikation einer antioxidantienhaltigen Creme zu einer Besserung der Hautläsionen führte (26,27).

### **1.1 Zielstellung:**

Auf Grundlage dessen war es ein Ziel dieser Promotion, den präventiven Effekt einer hochkonzentrierten, antioxidantienhaltigen Creme unter Chemotherapie zu untersuchen, um der Entstehung eines Hand-Fuß-Syndroms vorzubeugen. Dies wurde im Rahmen einer klinischen Studie unter der Therapie mit pegyliertem liposomalem Doxorubicin bei gynäkologischen Tumorpatientinnen untersucht. Ein weiteres Ziel der durchgeführten Arbeiten war es, zu untersuchen, ob andere Chemotherapeutika, vergleichbar mit Doxorubicin, nach intravenöser Gabe auf der Hautoberfläche sezerniert werden, dort spreiten und zur Bildung freier Radikale in der Haut führen. Zudem sollte untersucht werden, ob dies auf orale Therapeutika insbesondere aus der Gruppe molekularer Kinasehemmer übertragbar ist und diese ebenfalls an der Hautoberfläche nachgewiesen werden können und dort zu Radikalbildung bzw. einem Abfall der Antioxidantienkonzentration führen als Grundlage für geeignete präventive oder therapeutische Maßnahmen. Da die im Rahmen der onkologischen Behandlung eingesetzten



Chemotherapeutika keine Eigenfluoreszenz aufweisen, ist es jedoch nicht möglich, die Sezernierung nach intravenöser Gabe mittels Laser-Scan-Mikroskopie zu untersuchen.

Entscheidend war es hier zu evaluieren, ob auch andere nicht-fluoreszierende Chemotherapeutika oder weitere therapierelevante Stoffe mittels spektroskopischer Methoden nachweisbar sind.

## **2. MATERIAL UND METHODEN**

### **2.1. Reflektionsspektroskopie**

Für die Quantifizierung von Betacarotin in-vivo, welches mit Lycopin zu den Carotinoiden gehört und als Markersubstanz für den Antioxidantienstatus der Haut bestimmt werden kann (7, 28) kam das Biozoom®-Sensor System (Biozoom Services GmbH, Kassel), ein miniaturisiertes Messsystem, welches auf dem Prinzip der Reflektionsspektroskopie beruht, zum Einsatz. Dieses erlaubt im Gegensatz zur Auswertung von exzidierten Hautgewebeproben mittels Massenspektroskopie oder Hochdruckflüssigkeits-Chromatographie, eine non-invasive Quantifizierung der Carotinoide der Haut in einer Tiefe bis zu ca. 150 - 200 µm. Im prinzipiellen Aufbau werden light-emitting Diodes (LED) verwendet, um im Absorptionsbereich der Carotinoide und außerhalb davon Licht in die Haut einzustrahlen, welches reflektiert, zum Teil auch absorbiert oder gestreut wird. Hierbei handelt es sich um sichtbares Licht bei etwa 500 nm im blau-grünen Spektralbereich. Die reflektierte Strahlung wird wiederum detektiert und die Differenz aus der reflektierten Strahlung im Absorptionsbereich der Carotinoide und außerhalb dieses Bereichs ermöglicht die Quantifizierung von Beta-Carotin in der Haut. Die Handflächen eignen sich durch die einfache Zugänglichkeit und ihre Eigenschaften für diese non-invasiven Messungen der Carotinoide. Die Eindringtiefe von ca. 200 µm entspricht in etwa der Dicke des Stratum corneums im palmaren Bereich der Handflächen, sodass Artefakte durch z.B. Blutgefäße, welche erst in tieferen Hautschichten aufzufinden sind, oder Haare und Pigmentierung, die hier im Regelfall nicht vorkommen, vermieden werden können. Das hier beschriebene Gerät kam bereits in vielfältigen Studien in der Vergangenheit zum Einsatz (6-8, 12). Das Gerät selbst wurde anhand von Messungen der Carotinoide mittels Resonanz-Raman-Spektroskopie, welche wiederum mit Antioxidantienkonzentrationen im Blut korrelieren, geeicht (7, 29).

## **2.2. Atomabsorptionsspektroskopie**

Atome bestehen gemäß dem Bohr'schen Modell aus positiv geladenen Protonen sowie Neutronen und mehreren Elektronenschalen, auf denen sich Elektronen in ihrer Bahn um den Kern befinden. Indem Energie, z.B. in Form optischer oder auch elektrischer oder thermischer Energie zugeführt wird, kann ein Elektron von einer dem Kern näher gelegenen Bahn auf eine weiter entfernte, energetisch höhere Bahn wechseln, wo sie den Kern umkreist. Die Aufnahme und Wiederabgabe dieser zugeführten Energie dient als Grundlage für die Atomabsorptionsspektroskopie. Hier werden Atome durch Energiezuführung vom Grund- in den angeregten Zustand gebracht und die bei der Rückkehr in den Grundzustand abgegebene optische Energie spektroskopisch gemessen. Da diese Energie genau jener entspricht, die für den Wechsel vom Grundzustand in den angeregten Zustand notwendig ist, können über spektral zerlegte Emissionsspektren quantitative Daten für spezifische Atome aus Substraten bzw. Probenmaterialien erhoben werden.

## **2.3 Studiendesign und statistische Auswertung**

Die im Rahmen der Dissertation aufgeführten Publikationen enthalten sowohl Untersuchungen im Rahmen von Pilotstudien mit kleinerem Probandenkollektiv an Patienten, die antitumoröse Therapien erhielten, als auch eine klinische Phase III-Studie und werden im Folgenden näher erläutert:

### Publikation 1: „Prevention of palmoplantar erythrodysesthesia in patients treated with pegylated liposomal Doxorubicin (Caelyx®)“

Publikation 1 beschreibt Untersuchungen im Rahmen einer klinischen randomisierten placebokontrollierten Doppelblindstudie, die die Überlegenheit einer antioxidantienhaltigen Creme mit hohem Radikalschutzfaktor (Mapisal®, Medac Gesellschaft für klinische Spezialpräparate mbH, Hamburg) in der Prävention eines Hand-Fuß-Syndroms Grad III im Vergleich zu einer analog zusammengesetzten Placebocreme ohne Antioxidantien als primären Endpunkt untersuchte. Sekundärer Endpunkt war der Vergleich von Verum- und Placebogruppe bezüglich der Häufigkeit des Auftretens und des Schweregrades eines aufgetretenen Hand-Fuß-Syndroms Grad I bis III. Patienten erhielten 3 Tage vor Beginn für den gesamten Zeitraum der Therapie mit Caelyx® entweder die Verum- oder Placebocreme und wurden instruiert, diese

mindestens 3 x täglich an den Händen und 2 x täglich an den Füßen aufzutragen. Alle eingeschlossenen Patienten wurden zu Beginn vor Einleitung einer Therapie mit pegyliertem liposomalem Doxorubicin dermatologisch untersucht und dann, jeweils zum nächsten Zyklus alle 4 Wochen über insgesamt 16 Wochen (4 Zyklen) erneut dermatologisch untersucht und befragt. Die Fragen bezogen sich auf aktuell oder in den letzten Wochen aufgetretenen Hautveränderungen, Schmerzen und Juckreiz und zu jedem Untersuchungszeitpunkt erfolgte auch eine körperliche, dermatologische Untersuchung. Bei Auftreten eines Hand-Fuß-Syndroms wurde der Hautbefund deskriptiv und mittels Fotos dokumentiert. Bei Auftreten einer PPE Grad III wurden betroffene Patienten entblindet und erhielten das Verumpräparat.

Einschlusskriterien waren:

1. Alter über 18 Jahre,
2. geplante Therapie mit pegyliertem liposomalem Doxorubicin (Caelyx®) im Rahmen einer malignen Tumorerkrankung mit 40 - 50 mg/m<sup>2</sup> in Monotherapie,
3. Studieneinschluss vor Beginn des ersten Zyklus mit Caelyx®,
4. der Patient ist aufgeklärt über das Ziel und den Ablauf der Studie,
5. eine unterschriebene datierte Aufklärungs- und Einwilligungserklärung liegt vor,
6. der Patient ist rechts- und geschäftsfähig.

Die Ausschlusskriterien lauteten wie folgt:

1. bereits bestehende Hautläsionen,
2. bekannte Allergien und Intoleranzreaktionen auf Kosmetika oder Externa,
3. Patientin während Schwangerschaft oder Stillzeit,
4. Patienten in schlechtem Allgemeinzustand.

Abbruchkriterien waren eine Dosisreduktion von Caelx®, eine Unverträglichkeit der Creme oder das Zutreffen von Ausschlusskriterien bzw. der Widerruf der Einwilligungserklärung.

Die Studie war initial für den Einschluss von 68 Patienten ausgelegt. Laut der zum Zeitpunkt der Studienplanung vorliegenden Literatur entwickelten unter Placebo 80 % der Patienten ein Hand-Fuß-Syndrom unter einer Therapie mit Caelyx®. Bei der Studienplanung wurde als konservative Schätzung davon ausgegangen, dass dies nur 70 % sind. Ferner wurde angenommen, dass bei der Verwendung von Verum diese Anzahl halbiert werden könne. Bei einem  $\alpha$  von 0,05 und einer Power von 80 % wären somit 31 Patienten pro Arm nötig gewesen, um diesen Unterschied aufzeigen zu können. Legt man eine Drop-Out-Rate von 10 % zugrunde, so müssten 68

Patienten in die Studie eingeschlossen werden. Die statistische Auswertung erfolgte für den primären Endpunkt, dem Auftreten eines Hand-Fuß-Syndroms Grad III, mittels exaktem  $\chi^2$ -Test (exakter Test nach Fisher). Die sekundären Endpunkte wurden explorativ evaluiert und mittels Mann Whitney-U Test analysiert.

#### Publikation 2: „Influence of Chemotherapy on the Antioxidant Status of Human Skin”

Um die Radikalbildung in der Haut nach weiteren intravenösen Chemotherapien – analog zu der bekannten Radikalbildung nach Infusion von Doxorubicin – zu untersuchen, wurden Patienten im ambulanten hämato-onkologischen Setting direkt vor und nach Infusion verschiedener Chemotherapeutika mittels des oben beschriebenen Biozoom®-Sensor gemessen, um die Konzentration von Betacarotin in der Haut vor und nach Therapie zu bestimmen. Die Messungen wurden während bereits bestehender Behandlungszyklen mit unterschiedlichen Chemotherapeutika vor und nach intravenöser Gabe durchgeführt. Insgesamt wurden 42 Patienten in einer Altersgruppe von 27 bis 77 Jahren in die Studie eingeschlossen. 28 Patienten erhielten Paclitaxel in einer Dosis von 60 bis 175 mg/m<sup>2</sup> dreiwöchentlich, 6 Patienten Docetaxel 30 bis 100 mg/m<sup>2</sup> dreiwöchentlich und 8 Patienten 5-Fluorouracil (5-FU) 2000 bis 2400mg/m<sup>2</sup> alle zwei Wochen. Die statistische Analyse der Betacarotinwerte vor und nach Chemotherapie-Infusion erfolgte mittels Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test.

#### Publikation 3: „Detection of Capecitabine (Xeloda®) on the skin surface after oral administration”

Unter der Einnahme von Capecitabin ist in der Literatur das gehäufte Auftreten des Hand-Fuß-Syndroms mit Inzidenzen bis zu 40 % beschrieben (30, 31). In der durchgeführten Studie wurde die topische Detektion von Capecitabin auf der Hautoberfläche nach oraler Einnahme untersucht. Hierfür wurden kleinste Mengen Schweiß mit einem Schweiß-Sammelsystem an den Handinnenflächen eine Woche vor dem ersten Therapiezyklus mit Capecitabin 1250 mg/m<sup>2</sup> 2 x täglich oral und 10 Tage nach Beginn der Therapie entnommen und analysiert. Der Nachweis basiert auf der in der Substanz enthaltenden Fluorkomponente, die auf der menschlichen Haut nur in äußerst niedrigen Konzentrationen nachweisbar ist und hochspezifisch mittels Atomabsorptions-Spektroskopie nachgewiesen werden kann. Die statistische Analyse der

gemessenen Fluorkonzentrationen vor und nach Beginn des ersten Capecitabin-Zyklus erfolgte mittels Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test.

#### Publikation 4: „Influence of Sorafenib (Nexavar®), Sunitinib (Sutent®) and Capecitabine (Xeloda®) on the Antioxidant Status of the Skin”

Unter dem Multikinaseinhibitor Sorafenib ist eine Inzidenz von PPE von bis zu 62 % und für Sunitinib bis zu 28 % beschrieben worden (32). Der Pathomechanismus ist unklar, es werden u.a. toxische Reaktionen in der Haut und in den exokrinen Schweißdrüsen ähnlich einer Graft-versus-Host-Reaktion, beschrieben als Syringometaplasie, vermutet (33, 34).

Auf der Basis des in Publikation 3 erbrachten Nachweises von Capecitabin auf der Hautoberfläche von Patienten nach oraler Einnahme wurde in dieser Studie der Einfluss der oral eingenommenen Multikinasehemmer Sorafenib und Sunitinib sowie Capecitabin auf die Radikalbildung bzw. im Umkehrschluss den antioxidativen Status der Haut mit dem analog oben erwähnten Bio-Zoom®-Sensor untersucht, welches auf dem Messverfahren der Resonanz-Raman-Spektroskopie basiert. Evaluiert wurde sowohl der oxidative Status der Haut, als auch das Auftreten eines Hand-Fuß-Syndroms.

42 Patienten im Alter von 47 bis 83 Jahren wurden in die Studie inkludiert. Diese litten an Kolon- (35 %), Nieren- (33 %), Pankreas- (11 %) und hepatozellulären Karzinomen (11 %) sowie anderen malignen Erkrankungen (9 %), hierunter akuter myeloischer Leukämie, ösophagealen Karzinomen, Schilddrüsenkarzinomen und cholangiozellulären Karzinomen. Es erhielten 19 Patienten Capecitabin (Xeloda®) in Monotherapie oder in Kombination mit Oxaliplatin oder Gemcitabin, 10 Patienten Sunitinib (Sutent®) und 7 Sorafenib (Nexavar®). Änderungen von Betacarotin wurden, als Markersubstanz für das antioxidative Potential und indirekte Messung der Radikalbildung, mittels Reflektionsspektroskopie® einen Tag vor Behandlungsbeginn (Tbase) sowie nach im Median 18 Tagen (T1) durchgeführt. Zudem wurden 10 Wochen nach Therapiebeginn (T2) follow-up Messungen an Patienten durchgeführt, die Capecitabin in Monotherapie oder in Kombination mit Oxaliplatin oder Gemcitabin erhielten. Die statistische Analyse wurde mittels Friedman-Test durchgeführt.

### **3. ERGEBNISSE**

Bei der Doktorarbeit handelt es sich um eine Publikationspromotion, welche auf vier Publikationen basiert:

### **3.1 Zusammenfassung Publikation 1**

Das Auftreten eines Hand-Fuß-Syndroms oder auch palmoplantare Erythrodyästhesie (PPE) variiert abhängig von der Wahl des Chemotherapeutikums, des gewählten Dosisregimes und des Observationszeitraumes. Hackbarth et al. fanden eine Inzidenz von PPE Grad I bis III bei bis zu 80 % von mit pegyliertem liposomalen Doxorubicin behandelten Patienten (35). Insgesamt wurden 32 Patienten in die Studie eingeschlossen, hiervon beendeten 17 Patienten (66 %) die Studie. Die applizierte Dosis von PLD (Caelyx®) betrug 40 bis 50 mg/m<sup>2</sup> vierwöchentlich oder 20 mg/m<sup>2</sup> zweiwöchentlich als Monotherapie. Im Ergebnis zeigte sich ein Auftreten von PPE Grad III nach 16 Wochen mit 71 % in der Placebo-Gruppe und keine PPE Grad III im Therapiearm (P = 0,03). Zudem war ein Auftreten von PPE Grad I bis III in der Placebo-Gruppe von 86 % verglichen mit 60 % in der Therapie-Gruppe zu verzeichnen. Die hohe Dropout-Quote ergab sich aufgrund klinischer Ereignisse entsprechend CTC-AE. Die im Rahmen dieser Publikation erzielten Ergebnisse bestätigen den präventiven Effekt einer antioxidantienhaltigen Creme mit hohem Radikalschutzfaktor bezüglich des Auftretens eines Hand-Fuß-Syndroms Grad III. Die Studie wurde aufgrund der hohen Inzidenz einer PPE Grad III im Placeboarm aus ethischen Gründen vorzeitig beendet.

### **3.2. Zusammenfassung Publikation 2**

Der therapie- und dosislimitierende Aspekt bei Auftreten von PPE unter Einsatz von pegyliertem liposomalem Doxorubicin (PLD), 5-Fluorouracil (5-FU), Capecitabine, Docetaxel oder Tyrosinkinaseinhibitoren ist bekannt. Auch wenn der genaue Mechanismus von PPE unklar ist, konnten Martschick et al. zeigen, dass PLD systemisch appliziert mit dem Schweiß auf die Hautoberfläche austritt, hier spreitet und in die Haut penetriert, als wäre es topisch appliziert (14). Die Methode der in-vivo Laser-Mikroskopie ermöglicht die Detektion bereits eine Stunde nach systemischer Applikation. PLD beziehungsweise Doxorubicin entfaltet seine zytotoxischen Effekte primär über Interaktionen mit DNA-Strukturen, basierend auf der Wechselwirkung mit molekularem Sauerstoff, welcher in Form von ROS als Radikal zur Zellschädigung führt. Die hier durchgeführten Messungen der kutanen Carotinoide als Hauptvertreter der Antioxidantien in der Haut wurden an 42 Patienten im Alter von 27 bis 77 Jahren durchgeführt und zeigten für alle Substanzen eine signifikante Reduktion des antioxidativen Status. Mit Reflektionsspektroskopie zeigte sich ein signifikanter Abfall der mittleren Konzentration der Carotinoide, unter Paclitaxel von  $3,59 \pm 1,26$  a.u. auf  $3,41 \pm 1,28$  a.u. mit einer Signifikanz von Taxan  $p = 0,000231$ , unter Docetaxel von  $6,33 \pm 2,43$  a.u. auf  $5,63 \pm 2,29$  a.u. ( $p = 0,027$ ), und unter 5-FU von  $4,26 \pm 1,81$  a.u. auf  $3,9 \pm 1,53$  ( $p = 0,042$ ).

### **3.3. Zusammenfassung Publikation 3**

Eine typische Nebenwirkung unter Applikation von Chemotherapie ist das Hand-Fuß-Syndrom, synonym palmoplantare Erythrodyästhesie (PPE). Für Doxorubicin und pegyliertes liposomales Doxorubicin konnten mittels Fluoreszenz-Spektroskopie geringe Mengen des Chemotherapeutikums als mit dem Schweiß auf die Hautoberfläche austretend, hier spreitend und penetrierend nachgewiesen werden (13, 14, 36). Besonders intensiv erfolgt dieser Prozess an Hand- und Fußballen, da hier die größte Schweißdrüsendichte vorliegt und das große Reservoir des dicken Stratum corneum gleichfalls eine intensivierete Speicherung und damit Akkumulation zur Folge hat. Für andere Chemotherapeutika ist unabhängig von der Applikationsform trotz analoger dermaler Nebenwirkungen dieser Nachweis nicht zu führen, welches mit mangelnder Messbarkeit infolge fehlender Fluoreszenzeigenschaften assoziiert ist. Für das als Pro-drug fungierende Zystostatikum Capecitabin sind dermale Nebenwirkungen und Inzidenz des Hand-Fuß-Syndroms bis zu 50% beschrieben. Es ist zudem bekannt, dass die Entstehung einer PPE durch Faktoren wie mechanischen Druck getriggert werden kann (37). Alle zehn gemessenen Patienten wiesen einen deutlichen Anstieg der Fluorkonzentration nach einwöchiger Einnahme von Capecitabin im Schweiß auf. Die Fluorkonzentration stieg signifikant ( $p < 0,001$ ) von  $40 \pm 10$  ppb (dies entspricht  $2 \pm 0,5$  pM) vor Einnahme von Capecitabin auf  $27,7 \pm 11,8$  ppm (dies entspricht  $14,6 \pm 6,5$  nM). Ein Unterschied zwischen den Geschlechtern bestand nicht. Die Ergebnisse zeigen, dass mindestens Anteile von Capecitabin nach oraler Einnahme auf die Hautoberfläche gelangen.

### **3.4. Zusammenfassung Publikation 4**

Bereits in der Studie von Huang et al. (Publikation 3) konnte demonstriert werden, dass Anteile von oral appliziertem Capecitabin im Schweiß von Patienten nachgewiesen werden können. Ob sich hieraus toxische Effekte entwickeln könnten, die auf Radikalbildung beruhen, und ob dies auch auf Tyrosinkinaseinhibitoren (38, 39) zutrifft war Gegenstand der im Rahmen dieser Studie durchgeführten Untersuchungen. Von den 42 eingeschlossenen Patienten beendeten 36 (85 %) die Studie bis zum Zeitpunkt T1, was einem Dropout von 14 % entspricht. Weitere 9 Patienten (25 %) wurden im Nachbeobachtungszeitraum aus der Studie ausgeschlossen, sodass insgesamt 27 Patienten bis Woche 10 beobachtet werden konnten. Gründe für den Ausschluss aus der Studie stellten u.a. Therapieabbruch, Notwendigkeit einer stationären Therapie oder Exitus letalis dar.

Der mittlere Antioxidantienstatus der Patienten in der Capecitabin-Gruppe zeigte einen insignifikanten Anstieg während des gesamten Evaluationszeitraums von initial  $4,4 \pm 0,67$  auf  $4,59 \pm 0,8$  a.u. Der antioxidative Status in der Sunitinib-Gruppe erhöhte sich signifikant zwischen Tbase und T1 von  $3,99 \pm 1,01$  auf  $4,68 \pm 1,32$  ( $p = 0,047$ ), und in der Sorafenib-Gruppe signifikant von  $4,83 \pm 0,74$  auf  $5,3 \pm 0,78$  ( $p = 0,007$ ). Der Anstieg des oxidativen Status unter Sunitinib und Sorafenib war ohne klinisch erklärliches Korrelat. 4 Patienten entwickelten eine PPE, davon 3 in der Capecitabin-Gruppe und ein Patient in der Sunitinib-Gruppe. Bei einem dieser Patienten war eine PPE  $\geq$  Grad III zu verzeichnen.

#### **4. DISKUSSION**

Die Beteiligung von freien Radikalen an der Entstehung und Entwicklung von entzündlichen und chronischen Erkrankungen wird heute weitestgehend akzeptiert (19, 21, 39, 40). So geht man davon aus, dass auch im Rahmen physiologischer Stoffwechselprozesse zelluläre und molekulare freie Radikale als vorläufige aggressive Moleküle entstehen (41). Diese sind zwar zum einen für zelluläre Signale und zellbiologische Prozesse essenziell, zum anderen aber auch mögliche Ursache für die Entstehung von gestörten Zellfunktionen, in der wichtige molekulare Strukturen wie DNA, Proteine, Lipide etc. strukturell geschädigt werden. Die Evaluierung des jeweiligen Radikalstatus und seiner konkreten klinischen Folgen ist zurzeit weitestgehend unklar. Ursächlich dürfte dafür die mangelnde Messbarkeit in-vivo beziehungsweise fehlende praxisnahe Methodik sein. Der Einsatz von aufwändigen Verfahren wie z.B. der direkten Elektronenspinresonanz-Spektroskopie (E-Scan, Bruker BioSpin GmbH, Rheinstetten) aus Vollblut ist in der Praxis patientennah nur mit großem materiellen und zeitlichen Aufwand umsetzbar. Insofern sind die vorgestellten Verfahren der Raman-Spektroskopie bzw. miniaturisierter Systeme wie des Biozoom®-Sensors eine deutliche Erleichterung für in-vivo Untersuchungen am Patienten, zumal die Messung an der Haut mit der Bestimmung des antioxidativen Status mit selbiger im Blut korreliert (7, 29, 42). Im Rahmen der durchgeführten klinischen Studie (Publikation 1) konnte der präventive Effekt einer hochkonzentrierten Antioxidantien-haltigen Creme bezüglich einer PPE Grad III unter pegyliertem liposomalem Doxorubicin gezeigt werden. Für die Therapie oder die Prävention anderer Chemotherapeutika können keine eindeutigen Schlüsse gezogen werden. Wie oben beschrieben konnte bereits gezeigt werden, dass in entzündlicher Haut freie Radikale nachgewiesen werden können. Das Hand-Fuß-Syndrom selbst geht mit entzündlichen Prozessen der Haut einher, welche sich in Form von ekzematösen Hautveränderungen, Rötungen und sogar Blasenbildung äußern. Es



erscheint daher möglich, dass auch in Läsionen des Hand-Fuß-Syndroms, selbst wenn freie Radikale nicht ursächlich dem Pathomechanismus zugrunde liegen, im Rahmen der Entzündung freie Radikale gebildet werden (18, 19, 43), sodass ein therapeutischer Nutzen, der in einer Pilotstudie auch beschrieben wurde (27), durch die Anwendung topischer, hochkonzentrierter Antioxidantien für die PPE möglich erscheint.

In den Untersuchungen der Schweißproben nach Capecitabin-Einnahme konnte nachgewiesen werden, dass zumindest Anteile von Capecitabin nach oraler Einnahme auf die Hautoberfläche gelangen. Dies könnte möglicherweise analog zu Doxorubicin über die Sekretion der Schweißdrüsen erfolgen. Sofern Capecitabin in höheren Konzentrationen auf der Haut austreten sollte, wären lokale toxische Effekte im Sinne eines Hand-Fuß-Syndroms hier denkbar. Die Studienergebnisse der Publikation 3 zeigen, dass eine zeitnahe Reduktion der Carotinoid-Konzentrationen in der Haut nach Gabe verschiedener intravenös verabreichter Chemotherapeutika beobachtet werden kann. Ob dieser Effekt auf Grund der Sezernierung der Chemotherapeutika auf die Hautoberfläche durch den Schweiß durch eine lokal toxische Wirkung verursacht wird, kann hier nicht abschließend geklärt werden, dies ist jedoch denkbar. Es zeigten sich signifikante Abfälle, deren Differenz jedoch unter 15 % der initial gemessenen Carotinoid-Konzentration liegen. Die Kinetik der Antioxidantien im weiteren Verlauf der nächsten Stunden und Tage in-vivo und ob hieraus nach kumulativer Gabe toxische Wirkungen entstehen könnten, ist nicht abschließend geklärt und wäre Gegenstand zukünftiger Untersuchungen. Das geringe Auftreten von PPE in der untersuchten Probandenpopulation könnte auf den zu kurzen Evaluierungszeitraum zurückzuführen sein. Im Rahmen zukünftiger Studien wäre eine Ausdehnung des Mess- und Kontrollintervalls auf mindestens 16 - 24 Wochen anzustreben.

Bei klinisch insignifikanten Veränderungen des antioxidativen Potentials (Publikation 4) ist davon auszugehen, dass die TKI-und Capecitabin-assoziierte PPE nicht durch einen lokal toxischen Effekt basierend auf freier Radikalentstehung beruht, sondern eher einem anderen ursächlichen Pathomechanismus unterliegt. Die Ergebnisse der AIO-Studiengruppe hinsichtlich eines fehlenden Benefits des Einsatzes einer topischen antioxidativen Creme (Mapisal) bzw. der Überlegenheit einer Urea-haltigen Salbe im Vergleich zu Mapisal® in der Prävention von PPE unter Capecitabin (44) sind im Kontext der Ergebnisse der Publikationen 3 und 4 uneingeschränkt interpretierbar, da nicht von einer erhöhten Radikalbildung unter Capecitabin in der Haut ausgegangen werden kann (s. Publikation 4). Klinisch auffallend war im Vergleich zur Literatur ein deutlich vermindertes Auftreten von PPE und sonstigen höhergradigen

Nebenwirkungen entsprechend CTC-AE (Publikation 4). Die Autoren führen dies auf das engmaschige klinische Monitoring zurück. Alle durchgeführten Untersuchungen beruhen auf relativ kleinen Probandenkollektiven verschiedener Tumorentitäten, Tumorstadien und Co-Morbiditäten sowie Co-Medikationen. Diese Faktoren sowie Unterschiede im Ernährungs- und Suchtverhalten können das antioxidative Potential ebenfalls beeinflussen. Interessant dürfte in Zukunft sein, neben einer Ausdehnung des Untersuchungs- und Zyklusintervalls unter Therapie mit Capecitabin und Kinasehemmern auch mögliche klinische Interaktionsfaktoren zu erfassen, um etwaige Bias zu verhindern. So verdient der Aspekt pharmakologischer Interaktionen – z.B. Protonenpumpeninhibitoren reduzieren Wirksamkeit von Capecitabin und TKI – Beachtung (45). Gleichfalls ist eine differenzierte Beurteilung von adjuvanten Therapien und palliativen Behandlungsansätzen bei reduziertem Allgemeinzustand und hoher Tumorlast angezeigt. Aber auch dem Fakt eines individuellen therapeutischen Drug-Monitorings (TDM) bei Einsatz von 5-FU Metaboliten unter Bestimmung der Dihydropyrimidin-Dehydrogenase (DPD) ist bei zukünftigen Untersuchungen Rechnung zu tragen (46). Zukünftige Studien müssen auch komplementärmedizinische Inhalte sowie psycho-onkologische Evaluierung beinhalten. Die hohen Drop-out Raten unter den Patienten, die Chemotherapie erhielten, zeigt, wie komplex das klinische Ansprechen auf eine Therapie und der klinische Verlauf sein können, was den Stellenwert eines Coachings derartiger Studien erhöht. In diesem Kontext dürften die Ergebnisse der prospektiven PREPARE-Studie, die den Einfluss eines Coachings auf den Outcome der Patienten unter Therapie mit Immuncheckpointinhibitor und TKI versus TKI-Mono untersucht, interessant sein (47).

Ob Radikalbildung dem Pathomechanismus des Hand-Fuß-Syndroms unter verschiedenen oralen und intravenösen Therapien zugrunde liegt, kann in Wertung der erörterten Publikationen nicht abschließend beurteilt werden. Es bestehen eine Reihe möglicher Theorien zugrundeliegender Pathomechanismen. Hier sind u.a. ein direkter toxischer Effekt, eine Graft-versus-Host-ähnliche Reaktion, mechanische Belastung und nicht zuletzt die Störung der Hautbarriere durch Änderung der Lipidstruktur zu nennen (30, 32, 34). Im Falle der vascular-endothelial-growth-factor (VEGF) Hemmer wird postuliert, dass die antiangiogenetische Blockade des VEGF-Rezeptors zu einer erhöhten kapillären Fragilität führt. Infolge von mechanischem Stress kommt es dann zu einer traumatischen Schädigung von Kapillaren und in der Folge zu einer Akkumulation toxischer Metabolite im perivaskulären Bindegewebe (sogenanntes capillary leakage). In diesem Zusammenhang sei nochmals auf den differenten Wirkmechanismus verwiesen. Sowohl Sorafenib als auch Sunitinib inhibieren Multikinasen und somit die Autophosphorylierung von Rezeptorkinasen durch kompetitive Bindung an Adenosin-

Triphosphat oder allosterische Inhibition, womit die Signalübertragung von BRAF-, VEGF- und PDGF-aktivierten Signalwegen unterbunden wird. Hautveränderungen nehmen in diesem Kontext einen hohen Stellenwert ein, da sie die Lebensqualität der Patienten in hohem Maße beeinflussen können und ein folgenschwerer Hautbefund bei inadäquatem Management gegebenenfalls zu Abbruch oder Dosisreduktion effektiver Behandlungsstrategien führt.

Der Vorteil topisch hochkonzentrierter Antioxidantien liegt nicht nur in der Möglichkeit therapeutischer und präventiver Effekte für die Haut, sondern auch im niedrigen Nebenwirkungspotential. Anders als die u.a. in der Behandlung für das Hand-Fuß-Syndrom eingesetzten topischen Kortikosteroide ist hier keine Atrophie zu erwarten. Für die Wirksamkeit bzw. Unwirksamkeit diverser Antioxidantien/Mikronährstoffe systemisch liegen im Gegensatz zu gleichfalls nicht indizierten Krebsdiäten umfangreiche Daten aus randomisierten Studien vor. Die großangelegte SELECT-Studie zeigte keinen Hinweis für eine protektive Wirkung von Selen hinsichtlich des Risikos der Patienten für die Entwicklung von Prostatakrebs, ist aber in Anbetracht nicht adäquater Selen-Spiegelkontrollen nur bedingt interpretierbar (48). So führte die Supplementierung von Vitamin E und  $\beta$ -Carotin bei Radiotherapie von HNO-Tumoren sogar zu mehr, anstatt weniger Lokalrezidiven.

Pantuck et al. zeigten, dass der Einsatz von Phytotherapeutika mit angeblich antioxidativem Wirkprofil zu keiner Verbesserung, sondern eher zu einer Verschlechterung des klinischen Verlaufes von Prostatakarzinomen führte (49). Die negativen medikamentösen Interaktionen insbesondere mit dem Zytochrom-System sind gleichsam klinisch bedeutsam. Vorangegangene Studien halten einer Anwendung von Vitaminprodukten entgegen, dass die vermehrte Zufuhr von antioxidativ wirkenden Vitaminen über Supplemente den körpereigenen Schutz gegen Radikale eher schädigen kann (23). Allenfalls für die Supplementation von Vitamin D und Selen nach Spiegelbestimmung im Serum existieren belastbare Daten (50). Demzufolge sind protektive Faktoren wie die Vermeidung von mechanischem Stress und topische Verfahren zum optimierten Nebenwirkungsmanagement zu präferieren. Unseres Erachtens stellt die gezielte trophologische Betreuung der Patienten entsprechend der Leitlinien der DKGM einen bedeutsamen Faktor für die Adhärenz der Patienten dar. Die Daten von Hauner et al. zeigen in einem vergleichbaren Patientenkollektiv onkologischer Schwerpunktpraxen einen hohen Grad an Mangelernährung vor etwaiger Therapieeinleitung (51). Die Untersuchungen von van der Werf et al. und Najafi S. et al. belegen eindeutig das mittels gezielter trophologischer Intervention geringere Nebenwirkungen der antitumorösen Therapie einschließlich längeren Überlebens zu beobachten sind (52,53).

Zusammenfassend hat sich die eingesetzte Methodik unter den Bedingungen einer onkologischen Schwerpunktpraxis unseres Erachtens bewährt, die Ergebnisse stehen allerdings unter dem Vorbehalt kleiner Patientenzahlen, unterschiedlicher Tumorentitäten und Tumorstadien. Selbiges schränkt nicht nur die statistische Aussage ein, Folgeuntersuchungen müssen die getroffenen Aussagen bestätigen, zumal mit der Integration von Immuncheckpoint-Therapien in der klinischen Routine eine neue Komponente immunbedingter, auch dermalen Ereignisse klinisch zu beobachten ist. Die Kombinationen verschiedener antitumoröser Therapeutika, z.B. aus Immuncheckpoint-Inhibitoren und TKI erschweren bei überlappender Toxizität die Durchführung präventiver Maßnahmen und eines gezielten Nebenwirkungsmanagements: hier wäre ein diagnostisches Tool zur frühzeitigen Erkennung dieser Nebenwirkungen, für Prävention und im klinischen Verlauf sinnvoll

## **5. LITERATURVERZEICHNIS**

- (1) Robert Koch Institut. Pressemitteilung: Neue Daten zu Krebs in Deutschland [Internet]. 11/2015, last updated 17/12/15 [zitiert am 21.02.2017]. URL: [https://www.rki.de/DE/Content/Service/Presse/Pressemitteilungen/2015/11\\_2015.html](https://www.rki.de/DE/Content/Service/Presse/Pressemitteilungen/2015/11_2015.html).
- (2) Glaeske G. Versorgungsforschung in der Onkologie. Forum Fam PlanWest Hemisph 28(4);247-253 (2013).
- (3) Seifried HE, Anderson DE, Fisher EI, Milner JA. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. J Nutr Biochem 18(9), 567-579 (2007).
- (4) Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell B 39(1), 44-84 (2007).
- (5) Maiwald M, Schmidt H, Sumpf B, Güther R, Erbert G, Kronfeldt HD, Tränkle G. Microsystem Light Source at 488 nm for Shifted Excitation Resonance Raman Difference Spectroscopy. Appl Spectrosc 63(11), 1283-1287 (2009).
- (6) Werncke W, Latka I, Sassning S, Dietzek B, Darvin ME, Meinke MC, Popp J, König K, Fluhr JW, Lademann J. Two-color Raman spectroscopy for the simultaneous detection of chemotherapeutics and antioxidative status of human skin. Laser Phys Lett 8(12), 895-900 (2011).
- (7) Meinke MC, Darvin ME, Vollert H, Lademann J. Bioavailability of natural carotenoids in human skin compared to blood. Eur J Pharm Biopharm 76(2), 269-274 (2010).
- (8) Darvin ME, Patzelt A, Knorr F, Blume-Peytavi U, Sterry W, Lademann J. et al. One-year study on the variation of carotenoid antioxidant substances in living human skin: influence of dietary supplementation and stress factors. J Biomed Opt 13(4), (2008).
- (9) Lademann J, Köcher W, Yu R, Meinke MC, Na Lee B, Jung S, Sterry W, Darvin ME. Cutaneous Carotenoids: The Mirror of Lifestyle?. Skin Pharmacol Phys 27(4), 201-207 (2014).

- (10) Jung S, Darvin ME, Chung HS, Jung B, Lee SH; Lenz K, Chung WS, Yu RX, Patzelt A, Lee BN. Antioxidants in Asian-Korean and Caucasian Skin: The Influence of Nutrition and Stress. *Skin Pharmacol Phys* 27(6), 293-302 (2014).
- (11) Yu RX, Köcher W, Darvin ME, Büttner M, Jung S, Na Lee B, Klotter C, Hurrelmann K, Meinke M, Lademann J. Spectroscopic biofeedback on cutaneous carotenoids as part of a prevention program could be effective to raise health awareness in adolescents. *J Biophotonics* 7(11-12), 926-937 (2014).
- (12) Degen A, Alter M, Schenck F, Satzger I, Völker B, Kapp A, Gutzmer R. The hand-foot-syndrome associated with medical tumor therapy – classification and management. *J Dtsch Dermatol Ges* 8(9), 652-661 (2010).
- (13) Jacobi U, Waibler E, Schulze P, Sehouli J, Oskay-Ozcelik G, Schmook T, Sterry W, Lademann J. Release of doxorubicin in sweat: first step to the palmoplantar erythrodysesthesia syndrome? *Ann Oncol* 16(7), 1210-1211 (2005).
- (14) Martschick A, Sehouli J, Patzelt A, Richter H, Jacobi U, Oskay-Ozcelik G, Sterry W, Lademann J. The pathogenetic mechanism of anthracycline-induced palmar-plantar erythrodysesthesia. *Anticancer Res* 29(6), 2307-2313 (2009).
- (15) Setser A. NCI Common Terminology Criteria for Adverse Events Updated to Encompass Skin Toxicities from Targeted Therapies. *Ann Oncol* 20(23-23 (2009).
- (16) Vincenzi B, Santini D, Russo A, Addeo R, Giuliani F, Montella L, Rizzo S, Venditti O, Frezza AM, Caraglia M, Colucci G, Del Prete S, Tonini G. Early skin toxicity as a predictive factor for tumor control in hepatocellular carcinoma patients treated with sorafenib. *Oncologist* 15(1), 85-92 (2010).
- (17) Forrester SJ, Kikuchi DS, Hernandez MS, Xu Q, Griendling KK. Reactive Oxygen Species in Metabolic and Inflammatory Signaling," *Circ Res* 122(6), 877-902 (2018).
- (18) M. Mittal, Siddiqui MR, Tran K, Reddy SP, Malkik AB. Reactive Oxygen Species in Inflammation and Tissue Injury," *Antioxid Redox Sign* 20(7), 1126-1167 (2014).
- (19) Pereira L. The Role of Oxidative Stress and Inflammation in Left Ventricular Hypertrophy in Type 2 Diabetes Patients with Chronic Kidney Disease. *Nephrol Dial Transpl* 33 (2018).

- (20) Jha JC, Banal C, Chow BSM, Cooper ME, Jandeleit-Dahm K. Diabetes and Kidney Disease: Role of Oxidative Stress. *Antioxid Redox Sign* 25(12), 657-684 (2016).
- (21) Heaney ML, Gardner JR, Karasavvas N, Golde DW, Scheinberg DA, Smith EA, O'Connor OA. Vitamin C antagonizes the cytotoxic effects of antineoplastic drugs," *Cancer Res* 68 (19), 8031-8038 (2008).
- (22) Conklin KA. Dietary antioxidants during cancer chemotherapy: Impact on chemotherapeutic effectiveness and development of side effects. *Nutr Cancer* 37(1), 1-18 (2000).
- (23) Bjelakovic G, Nikolova D, Gluud LL, Simonetti RG, Gluud C. Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention - Systematic review and meta-analysis," *Jama-J Am Med Assoc* 297(8), 842-857 (2007).
- (24) Perrone G, Hideshima T, Ikeda H, Okawa Y, Calabrese E, Gorgun G, Santo L, Cirstea D, Raje N, Chauhan D, Baccarani M, Cavo M, Anderson KC. Ascorbic acid inhibits antitumor activity of bortezomib *in vivo*. *Leukemia* 23, 1679–1686 (2009).
- (25) Golden EB, Lam PY, Kardosh A, Gaffney KJ, Cadenas E, Louie SG, Petasis NA, Chen TC, Schönthal AH. et al. Green tea polyphenols block the anticancer effects of bortezomib and other boronic acid-based proteasome inhibitors," *Blood* 113(23), 5927-5937 (2009).
- (26) Lademann J, Röwert-Huber HJ, Haas N, Kluschke F, Patzelt A, Zastrow L, Lange-Asschenfeldt B, Jung S, Sterry W, Sehouli J. Palmoplantar Erythrodysesthesia-Like Skin Symptoms in Patients under Various Chemotherapeutics: Preventive and Therapeutic Options. *Skin Pharmacol Phys* 27(5), 229-233 (2014).
- (27) Stahl W, Sies H. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Bba-Mol Basis Dis* 1740(2), 101-107 (2005).
- (28) Darvin ME, Sandhagen C, Koecher W, Sterry W, Lademann J, Meinke MC: Comparison of two methods for noninvasive determination of carotenoids in human and animal skin: Raman spectroscopy versus reflection spectroscopy. *J Biophotonics* 5(7), 550-558 (2012).

- (29) Stahl W, Heinrich U, Jungmann H, Von Laar J, Schietzel M, Sies H, Tronnier H. Increased dermal carotenoid levels assessed by noninvasive reflection spectrophotometry correlate with serum levels in women ingesting betatene. *J Nutr* 128(5), 903-907 (1998).
- (30) Lassere Y, Hoff P. Management of hand-foot syndrome in patients treated with capecitabine (Xeloda). *Eur J Oncol Nurs* 8 Suppl 1 S31-40 (2004).
- (31) Gressett SM, Stanford BL, Hardwicke F. Management of hand-foot syndrome induced by capecitabine. *J Oncol Pharm Pract* 12(3), 131-141 (2006).
- (32) Lipworth AD, Robert C, Zhu AX. Hand-foot syndrome (hand-foot skin reaction, palmar-plantar erythrodysesthesia): focus on sorafenib and sunitinib. *Oncology* 77(5), 257-271 (2009).
- (33) Valks R, Fraga J, Porrás-Luque J, Figuera A, García-Diéz A, Fernández-Herrera J. Chemotherapy-induced eccrine squamous syringometaplasia: A distinctive eruption in patients receiving hematopoietic progenitor cells. *Arch Dermatol* 133(7), 873-878 (1997).
- (34) Degen A, Alter M, Schenck F, Satzger I, Völker B, Kapp A, Gutzmer R. The hand-foot-syndrome associated with medical tumor therapy – classification and management. *J Dtsch Dermatol Ges* 8(9), 652-661 (2010).
- (35) Hackbarth M, Haas N, Fotopoulou C, Lichtenegger W, Sehouli J. Chemotherapy-induced dermatological toxicity: Frequencies and impact on quality of life in women's cancers. Results of a prospective study. *Support Care Cancer* 16(3), 267-273 (2008).
- (36) Von Moos R, Thuerlimann BJ, Aapro M, Rayson D, Harrold K, Sehouli J, Scotte F, Lorusso D, Dummer R, Lacouture ME, Lademann J, Hauschild A. Pegylated liposomal doxorubicin-associated hand-foot syndrome: Recommendations of an international panel of experts. *Eur J Cancer* 44(6), 781-790 (2008).
- (37) Sibaud V, Delord JP, Chevreau C. Sorafenib-induced hand-foot skin reaction: A koebner phenomenon? *Target Oncol* 4(4), 307-310 (2009).
- (38) Lipworth AD, Robert C, Zhu AX. Hand-foot syndrome (hand-foot skin reaction, palmar-plantar erythrodysesthesia): Focus on sorafenib and sunitinib. *Oncology* 77(5), 257-271 (2009).



- (39) Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev* 78(2), 547-581 (1998).
- (40) Meydani M. Nutrition interventions in aging and age-associated disease. *P Nutr Soc* 61(2), 165-171 (2002)
- (41) Lü JM, Lin PH, Yao Q, Chen C. Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems. *J Cell Mol Med* 14(4), 840-860 (2010).
- (42) Darvin ME, Sterry W, Lademann J, Patzelt A. Alcohol consumption decreases the protection efficiency of the antioxidant network and increases the risk of sunburn in human skin. *Skin Pharmacol Phys* 26(1), 45-51 (2013).
- (43) Elpelt A, Albrecht S, Teutloff C, Hüging M, Saeidpour S, Lohan S, Hedtrich S, Meinke M. Insight into the redox status of inflammatory skin equivalents as determined by EPR spectroscopy," *Chem Biol Interact* 310(108752 (2019).
- (44) Hofheinz RD, Gencer D, Schulz H, Stahl M, Hegewisch-Becker S, Mantovani-Loeffler L, Kronawitter U, Bolz G, Potenberg J, Tauchert F, Al-Batran SE, Schneeweiss A. Mapisal® Versus Urea Cream as Prophylaxis for Capecitabine-Associated Hand-Foot Syndrome: A Randomized Phase III Trial of the AIO Quality of Life Working Group. *J Clin Oncol.* 33(22), 2444-U2452 (2015).
- (45) Sun J, Ilich AI, Kim CA, Chu MP, Wong GG, Ghosh S, Danilak M, Mulder KE, Spratlin JL, Chambers CR, Sawyer MB. Concomitant Administration of Proton Pump Inhibitors and Capecitabine is associated with increased recurrence risk in early stage colorectal cancer patients. *Clin Colorectal Canc* 15(3), 257-263 (2016).
- (46) Deenen MJ, Meulendijks D. Recommendation on testing for dihydropyrimidine dehydrogenase deficiency in the ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 28(1), 184-184 (2017).
- (47) Grünwald V, Ivanyi P, Jakobasch L, Zahn MO, Eberhardt B, Detzner M. PREPARE Phase-III-Studie zur proaktiven Therapiebegleitung (Coaching) in Bezug auf die Patienteneinschätzung der Lebensqualität unter Behandlung eines fortgeschrittenen oder metastasierten Nierenzellkarzinoms mit Checkpoint-Inhibitoren plus Axitinib oder Sunitinib-Monotherapie. *Forum* 35, p152–154(2020).

- (48) Lü J, Zhang J, Jiang C, Deng Y, Özten N, Bosland MC. Cancer chemoprevention research with selenium in the post-SELECT era: Promises and challenges. *Nutr Cancer*. 68(1):1-17. (2016)
- (49) Pantuck AJ, Pettaway CA, Dreicer R, Corman J, Katz A, Ho A, Aronson W, Clark W, Simonson G, Heber D. A randomized, double-blind, placebo-controlled study of the effects of pomegranate extract on rising PSA levels in men following primary therapy for prostate cancer. *Prostate Cancer P D* 18(3), 242-248 (2015).
- (50) Mücke R, Micke O, Büntzel J. Mikronährstoffe in der Onkologie. *Klinikerzt*, 2019; 48: 28-34 (2019).
- (51) Hauner H, Kocsis A, Jaeckel B, Martignoni M, Hauner D, Holzapfel C. Häufigkeit eines Risikos für Mangelernährung bei Patienten in onkologischen Schwerpunktpraxen – eine Querschnittserhebung. *Dtsch Med Wochenschr* 2020; 145: 1–9
- (52) van der Werf A, Languis JAE, Beeker A, Ten Tije AJ, Vulink AJ, Haringhuizen A, Berkohf J, van der Vliet HJ, Verheul HMW, de van der Schueren MAE. The Effect of Nutritional Counseling on Muscle Mass and Treatment Outcome in Patients With Metastatic Colorectal Cancer Undergoing Chemotherapy: A Randomized Controlled Trial. *Clin Nutr*. Jan 29 (2020).
- (53) Najafi S, Haghghat S, Lahiji MW, RazmPoosh E, Chamari M, Abdollahi R, Asgari M, Zarrati M. Randomized Study of the Effect of Dietary Counseling During Adjuvant Chemotherapy on Chemotherapy Induced Nausea and Vomiting, and Quality of Life in Patients With Breast Cancer. *Nutr Cancer*. 71(4):575-584 (2019).

## Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Harald Fuss, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: Klinischer Stellenwert nicht-invasiver spektroskopischer in-vivo Methoden in der Behandlung onkologischer Erkrankungen selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe. Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum 22.06.2020

  
Unterschrift

## Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen

Harald Fuss hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: Jung S, Sehouli J, Chekerov R, Kluschke F, Patzelt A, Fuss H, Knorr F, Lademann J. Prevention of palmoplantar erythrodysesthesia in patients treated with pegylated liposomal doxorubicin (Caelyx®). Supportive Care in Cancer 2017 Nov; 25(11):3545-3549

Beitrag im Einzelnen:

- inhaltliche Mitarbeit am Konzept der Studie
- Mitauswertung der Ergebnisse

Publikation 2: Lee BN, Jung S, Darvin ME, Eucker J, Kühnhardt D, Sehouli J, Patzelt A, Fuss H, Yu R, Lademann J. Influence of Chemotherapy on the Antioxidant Status of Human Skin. Anticancer Res 2016; 36:4089-4093.

Beitrag im Einzelnen:

- Redaktionelle Mitarbeit am Studiendesign und zwischenzeitlicher Erstellung der Basisversion
- Mitauswertung der Ergebnisse

Publikation 3: Huang MD, Fuss H, Lademann J, Florek S, Patzelt A, Meinke MC, Jung S. Detection of capecitabine(Xeloda®) on the skin surface after oral administration, J Biomed Opt. 2016 Apr 30; 21(4):047002

Beitrag im Einzelnen:

- Teilnahme an konzeptioneller Erstellung der Methodik
- Mitauswertung der Ergebnisse


Publikation 4: Fuss H, Jung S, Lademann J. Influence of Sorafenib (Nexavar®), Sunitinib (Sutent®) and Capecitabine (Xeloda®) on the antioxidant status of the skin, Anticancer Res 2018 Sept; 38(9): 5283-5288

Beitrag im Einzelnen:

- Konzeptionelle Erstellung des Studiendesigns
- komplette Durchführung der Studie in meiner Schwerpunktpraxis inhaltlich und logistisch entsprechend der GCP-Kriterien
- Studienauswertung komplett einschließlich statistischer Evaluierung (siehe Tab. 1 S. 5284, Tab. 2 und 3 S. 5286)

- Erstellung der Basisversion der Publikation und nach redaktioneller Erörterung mit Co-Autoren der Publikationsversion

23.06.20

  Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

  
Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

---

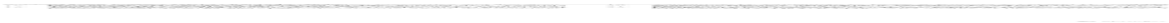
<https://doi.org/10.1007/s00520-017-3781-x>











## Influence of Chemotherapy on the Antioxidant Status of Human Skin

BICH NA LEE<sup>1</sup>, SORA JUNG<sup>1</sup>, MAXIM E. DARVIN<sup>1</sup>, JAN EUCKER<sup>2</sup>,  
DAGMAR KÜHNHARDT<sup>2</sup>, JALID SEHOULI<sup>3</sup>, RADOSLAV CHEKEROV<sup>3</sup>,  
ALEXA PATZELT<sup>1</sup>, HARALD FUSS<sup>4</sup>, RUO-XI YU<sup>1</sup> and JÜRGEN LADEMANN<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Center of Experimental and Applied Cutaneous Physiology,

Department of Dermatology, Venereology and Allergology, and Departments of

<sup>2</sup>Hematology and Oncology, and <sup>3</sup>Gynecology, Charité – University of Medicine Berlin, Berlin, Germany;

<sup>4</sup>Department of Hematology, Oncology and Palliative Care, Helios Hospital, Bad Saarow, Germany

**Abstract.** *Background:* Palmoplantar erythrodysesthesia is a frequent dermal side-effect during chemotherapy. Previous investigations showed radical formation subsequent to doxorubicin infusion and preventative and therapeutic effects of an antioxidant-containing ointment. *Patients and Methods:* Using a non-invasive vivo-measuring system (Biozoom®; Biozoom Services GmbH, Kassel, Germany) changes in the antioxidant status (as measured by relative carotenoid concentration) of the skin prior to and after intravenous administration of paclitaxel, docetaxel and 5-fluorouracil were investigated in 42 patients with cancer. *Results:* A significant decrease of antioxidant concentration subsequent to intravenous administration was found for all investigated chemotherapeutic agents. The mean concentration of carotenoids decreased from  $3.59 \pm 1.26$  arbitrary units (a.u.) to  $3.41 \pm 1.28$  a.u. ( $p < 0.001$ ) after paclitaxel administration, from  $6.33 \pm 2.43$  to  $5.63 \pm 2.29$  a.u. after docetaxel ( $p = 0.027$ ) and from  $4.26 \pm 1.81$  to  $3.98 \pm 1.53$  a.u. ( $p = 0.042$ ) after 5-fluorouracil infusion. *Conclusion:* Oxidative stress might play a significant role in the pathomechanism of palmoplantar erythrodysesthesia associated with paclitaxel, docetaxel and 5-fluorouracil. Therefore, an antioxidant-containing ointment might serve as preventative and therapeutic option.

Developed in the early 20th century, chemotherapy is an effective way to fight cancer cells using a variety of potent

*Correspondence to:* Sora Jung, MD, Center of Experimental and Applied Cutaneous Physiology, Department of Dermatology, Venereology and Allergology, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Germany.

**Key Words:** Hand-foot syndrome, palmar plantar erythrodysesthesia, antioxidants, dermal toxicity.

chemotherapeutic agents (1). These treatments have specific effects on arresting the progression of tumor cells by acting in various stages of the cell cycle (2, 3). Antimetabolites, such as 5-fluorouracil (5-FU), hamper the synthesis of DNA or RNA either by inhibiting the production of normal purine or pyrimidine precursors, or by interfering with them (3). Anthracyclines, such as doxorubicin, not only intercalate into DNA, but also produce free radicals causing single-strand breaks in DNA (3).

Although anticancer therapy is targeted to eliminate cancer cells, there exists a variety of side-effects affecting healthy cells of other organs. A frequent dermal side-effect due to chemotherapeutic treatment is hand-foot syndrome, also known as palmar-plantar erythrodysesthesia (PPE). This is a common dose-limiting adverse effect under treatment with several agents, such as pegylated liposomal doxorubicin (PLD), 5-FU, capecitabine, docetaxel, or tyrosine-kinase inhibitors such as sorafenib and sunitinib (4-6). The initial symptoms are swelling or erythema in the palmar and interdigital areas of the hands and soles of the feet, accompanied by dysesthesia and paresthesia, which can progress to burning pain with dryness, rhagades, desquamation, ulceration, edema and rash (5). PPE is rarely life-threatening, but it can significantly impair the quality of life of patients, leading to the need for dose reduction or interruption of therapy (6). Depending on the severity, there are three grades of PPE according to the National Cancer Institute (Table I).

The exact pathomechanisms of PPE are unclear for most chemotherapeutic agents and treatment options are very limited. Martschick *et al.* showed that systemically applied PLD, one of the most widely used antitumor agents, is secreted with sweat onto the skin surface, spreading over the skin and penetrating into the stratum corneum as if topically applied (7). Using *in vivo* laser scanning microscopy, PLD was detected on the skin surface about an hour after

Table 1. Classification of palmar-plantar erythrodysesthesia (25).

Grade	Definition
1	Minimal skin changes (e.g. erythema, swelling, or hypokeratosis) without pain
2	Skin changes (e.g. peeling, blisters, bleeding, edema, or hyperkeratosis) with pain; limiting instrumental ADL*
3	Severe skin changes (e.g. peeling, blisters, bleeding, edema, or hyperkeratosis) with pain; limiting self care ADL**

ADL: Activities of daily living; \*Instrumental ADL refers to preparing meals, shopping for groceries or clothes, using the telephone, managing money, etc.; \*\*Self care ADL refers to bathing, dressing and undressing, feeding self, using the toilet, taking medications, and not being bedridden.

intravenous infusion. Doxorubicin exerts its cytotoxic effect primarily through interactions with DNA. In addition, doxorubicin interacts with molecular oxygen, producing reactive oxygen species (ROS) and causes single-strand breaks in DNA (3). It seems that the effects of PLD, both on the tumor and on the skin, are similar, explaining a possible mechanism of doxorubicin-induced PPE.

Free radicals can damage cells and cell compartments (8). The fact that PPE occurs mainly on the palms and soles is due to the anatomical difference between these areas and other skin sites, namely the increased thickness of the stratum corneum and the high density of eccrine sweat glands. It was discussed that the secretion of doxorubicin with sweat after intravenous administration subsequently induced the formation of free radicals in the epidermal skin layers, reducing the antioxidant potential of the skin. Antioxidant substances such as carotenoids (beta-carotene, lycopene, and lutein/zeaxanthin), vitamins (A, C, D, and E), enzymes (superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase), as well as various other substances (flavonoids, lipid acid, uric acid, selenium, coenzyme Q10), are very efficient in neutralizing free radicals and especially ROS (9-11). Based on these mechanisms, a preventative and therapeutic strategy for PPE has been developed using topical application of antioxidant-containing ointment. In previous investigations, it was demonstrated that the regular topical application of this antioxidant-containing ointment had efficient preventative and even therapeutic effects on doxorubicin-induced PPE (12, 13).

In order to enhance the understanding of PPE pathogenesis and preventative options, the present study investigated the change in antioxidant status of the skin after systemic administration of paclitaxel, docetaxel, or 5-FU. We hypothesized that a decline in the antioxidant status after systemic administration of these chemotherapeutic agents would indicate a similar pathomechanism to that of doxorubicin-induced PPE.

## Materials and Methods

**Patients.** Patients were recruited at the Department of Hematology and Oncology and the Department of Gynecology of the Charité

University of Medicine Berlin. The included patients suffered from primary and metastatic breast or ovarian cancer, oral, nasopharyngeal, pancreatic or colorectal cancer, or neuroendocrine tumors. Prior to the beginning of the investigation, the study had been approved by the Ethics Committee (approval number EA1/235/14) of the Charité University of Medicine Berlin. The investigations were conducted in accordance with the ethical guidelines of the Declaration of Helsinki. All participants gave their informed written consent. Volunteers were only included if they showed neither any pathological skin lesion nor initial symptoms of PPE, such as swelling, erythema, dysesthesia or paresthesia on their hands and feet at the time of the measurements.

**Chemotherapeutic agents.** The chemotherapeutics investigated in this study included docetaxel, paclitaxel and 5-FU. The chemotherapeutic agents investigated in our study can be classified into different groups regarding their mechanism of action. In previous studies, we observed that doxorubicin leads to radical formation and thus to a decline in the antioxidant status of the skin (7, 14). The majority of patients in our study received paclitaxel, which has high activity against ovarian and breast cancer (3). By binding to tubulin molecules, it stabilizes these excessively so that depolymerization in mitosis does not occur, which leads to cell death. Docetaxel is a taxane having a similar mechanism to paclitaxel, but with slightly different side-effects (2, 3). The third chemotherapeutic agent applied in our investigation was 5-FU, a pyrimidine analog. It impedes the conversion of deoxyuridylic acid to thymidylic acid. Without thymidine, DNA synthesis decreases, which leads to imbalanced cell growth and cell death.

Each treatment was systemically applied by intravenous infusion. Paclitaxel was administered at a dose of 60-90 mg/m<sup>2</sup> weekly or 175 mg/m<sup>2</sup> every 3 weeks, while the patients treated with docetaxel had their infusion at a dose of 30-35 mg/m<sup>2</sup> weekly or 75-100 mg/m<sup>2</sup> every 3 weeks. 5-FU was administered at a dose of 2,000 mg/m<sup>2</sup> weekly or 2,400 mg/m<sup>2</sup> every 2 weeks.

**Study design.** The concentration of carotenoids, serving as markers of the overall antioxidant status of the skin, was non-invasively measured immediately before and directly after termination of intravenous administration of chemotherapy using a miniaturized measuring system (Biozoom® sensor; Biozoom Services GmbH, Kassel, Germany; see below). Measurement was made in each patient once before and once after chemotherapy administration during the scheduled treatment period. Regarding paclitaxel and docetaxel infusions, the time period between the first and the second measurement was 1.5 to 2 h. Depending on the individual therapy regimen for each patient, 5-FU was administered over a period of 22 to 46 h. Therefore, measurements of the antioxidant status in

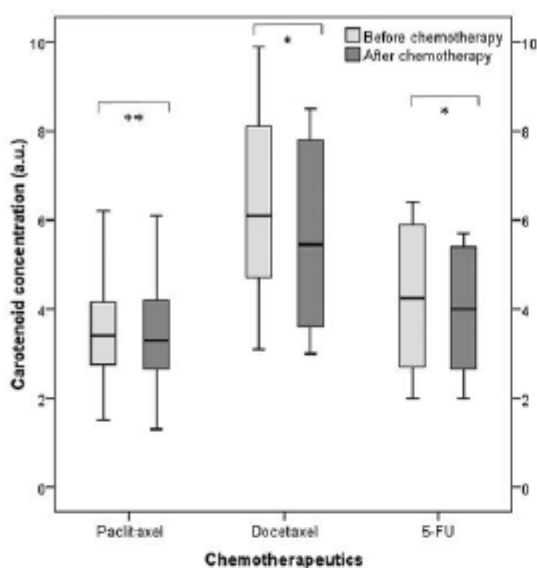


Figure 1. Boxplot of carotenoid concentrations according to chemotherapeutic agent. Whiskers represent the minimum and the maximum concentrations within the 1.5-fold interquartile range. \* $p < 0.05$ ; \*\* $p < 0.01$ .

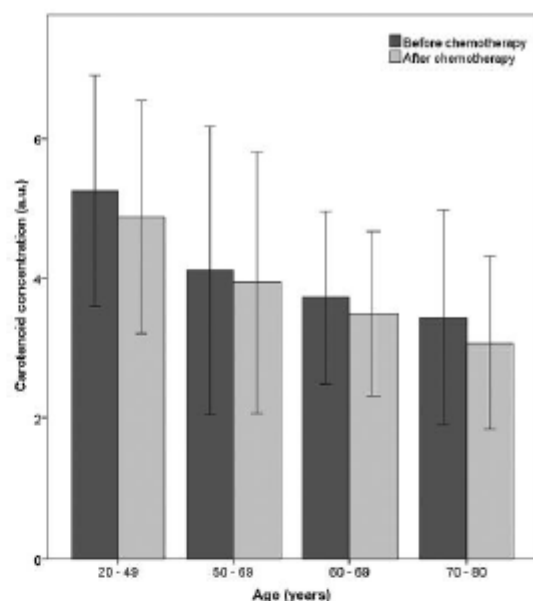


Figure 2. The chart shows the mean carotenoid concentrations before and after chemotherapy administration in different age groups. Whiskers represent the standard deviation.

these patients were conducted before infusion and 22 to 46 h afterwards.

Overall, the investigations were conducted over the course of 24 months.

**Noninvasive determination of antioxidants in the skin.** In previous studies, it could be demonstrated that carotenoids can be measured as a marker substances for the whole antioxidant status of the human skin (15). Using a Biozoom® sensor, whose working principle is based on reflection spectroscopy, the concentration of carotenoids in human skin was determined *in vivo* and noninvasively (16, 17). The measuring device has been described in detail previously (15). Briefly, the device is a mobile measuring system with a light emitting diode (LED) operating at a wavelength of  $465 \pm 25$  nm as a source of excitation. This wavelength was chosen due to the absorption maximum of carotenoids in this range. The bottom of the skin scanner contains a measuring head carrying an optical window. The LED emits a ray of light through this channel window which is brought into contact with the skin. The design of the channel window requires tight contact between the skin and the measuring head to exclude the undesirable influence of light from the outside. This optical window not only sends light out to excite the tissue below the surface of the skin, but also receives the light reflected back from the tissue. The signal reflected from the human skin was analyzed by a miniature replicated holographic grating spectrometer (15, 18). Measured carotenoid concentrations were displayed on a linear scale from 1 to 12 in arbitrary units (a.u.).

The measurement of carotenoids was performed twice on the thenar eminence of each patient's palms: once prior to the systemic

application of chemotherapeutic agent and once after termination of the intravenous drug administration. Each measurement took about 60 seconds. For every measurement, both left and right palms were measured twice each to determine the mean carotenoid concentration. Along with the measurements, the patients were asked about the occurrence of dermatological side-effects under treatment with the chemotherapeutic agents. Their skin status, including skin lesions and conditions such as dryness, wounds or ulcerations, was also examined prior to making the measurements.

**Statistical analysis.** The statistical analysis was conducted using SPSS version 22 for Windows (IBM Corporation, Armonk, NY, USA). The Kolmogorov-Smirnov test was applied to test for normal distribution of continuous data. All described data were analyzed using nonparametric testing. The Wilcoxon signed-rank test was used to analyze differences in the antioxidant status before and after treatment.  $p$ -Values of less than 0.05 were considered to indicate statistical significance.

## Results

A total of 42 patients, aged from 27 to 77 years, were enrolled, including 28 patients treated with  $60$ - $175$  mg/m<sup>2</sup> paclitaxel, six treated with  $30$ - $100$  mg/m<sup>2</sup> docetaxel, and eight treated with  $2000$ - $2400$  mg/m<sup>2</sup> 5-FU.

**Influence of chemotherapeutic agents on carotenoid concentration.** The carotenoid concentration before the

application of the chemotherapeutic agents showed a high variance, ranging between 1.5 and 9.9 a.u. The mean carotenoid concentration prior to the infusion of the chemotherapy in all patients was measured at  $4.08 \pm 1.77$  a.u., while it decreased to  $3.81 \pm 1.63$  a.u. after infusion; this difference was found to be statistically highly significant ( $p=0.000017$ ).

*Influence of the different chemotherapeutic agents.* All chemotherapeutic agents significantly reduced the antioxidant status.

The mean concentration of carotenoids before the application of paclitaxel was  $3.59 \pm 1.26$  a.u. After infusion, the mean concentration was significantly reduced to  $3.41 \pm 1.28$  a.u. ( $p=0.000231$ ). Patients who received docetaxel showed a significant decline of their antioxidant status, from a mean value of  $6.33 \pm 2.43$  to  $5.63 \pm 2.29$  a.u. ( $p=0.027$ ). 5-FU also significantly reduced the carotenoid concentration: the mean antioxidant level decreased from  $4.26 \pm 1.81$  to  $3.98 \pm 1.53$  a.u. ( $p=0.042$ ). Figure 1 presents carotenoid concentration depending on the chemotherapeutic drug.

*Further observations.* Prior to the study it was expected that patients with cancer in general would have a notably lower antioxidant concentration than shown in this study, as they suffer from a disease that can cause psychological and physical distress. Surprisingly, the concentration of carotenoids varied considerably between individual patients and showed a high overall variance. The patients who had higher antioxidant levels reported that they tried to eat and live healthily, avoiding stress exposure and consuming high amounts of antioxidant-rich fruit and vegetables.

Although no significant differences were found between different age groups of patients, Figure 2 shows that the group of younger patients had a tendency to have a higher mean level of carotenoids. Furthermore, there was no significant difference found in the antioxidant status depending on the type of cancer nor on gender.

## Discussion

*Influence of the antioxidant status.* The antioxidant status of the human skin correlates with antioxidant concentrations measured in the blood circulation (19-21). Systemically applied substances can reach the papillary dermis by blood circulation and can be secreted on the skin surface via the sweat glands. This can account for the significant influence of intravenously administered chemotherapeutics on the antioxidant status of the skin. Furthermore, there is an individual variance due to lifestyle factors, living environments, as well as medication and disease. All influencing factors form an equilibrium between antioxidants and free radicals in the human body. Many antioxidants

cannot be synthesized by humans, but have to be taken-up in healthy nutrition, especially fruits and vegetables. Therefore, the antioxidant status of individuals depends on many factors, among them a healthy diet (22). However, not only nutritional habits but also smoking and alcohol consumption influence the antioxidant status (21). Previous investigations showed that low carotenoid values correlate with physical stress factors, such as illness and sleep deprivation, as well as psychological stress and excessive physical activity, which can cause their rapid decline (23). Since the measurements of this study were conducted before and directly after chemotherapy administration, it is possible that psychological distress due to the clinical setting and medication process enhanced the decrease of carotenoids.

*PPE association with chemotherapeutic agents.* There are many case reports and studies with patients affected by PPE as a side-effect of chemotherapeutic agents such as doxorubicin, paclitaxel, docetaxel and 5-FU (4, 24). Despite the differences in the investigated chemotherapeutic drugs and doxorubicin in their mechanisms, the carotenoid concentration in the skin declined significantly after administration of all investigated agents. Skin toxicity can affect dose density, with treatment delay, dose reduction and discontinuation, and influence the quality of life of the patients. These can negatively influence the clinical outcome and tumor control rate.

The cytotoxic effect of doxorubicin is based on free radical processes, which are also assumed to cause the inflammatory and necrotic skin lesions of PPE. This study revealed subsequent radical formation after infusion of the PPE-associated chemotherapeutics paclitaxel, docetaxel and 5-FU. This finding is interesting, since the main cytotoxic effects of these chemotherapeutic agents are not attributed to radical formation. Although the measured decline in carotenoids after infusion of the investigated chemotherapeutics, especially paclitaxel, was relatively small, a cumulative toxic effect can be presumed after several infusions of chemotherapy. On the other hand, the small effect after paclitaxel infusion correlates with the rare occurrence of PPE with this drug. Whether there is a concentration-dependent or a time-dependent development of PPE lesions after a critical antioxidant decline due to chemotherapeutic treatment remains to be investigated.

The purpose of the present study was to identify a possible mechanism of PPE induction by cytotoxic drugs reported to cause PPE. Since all the chemotherapeutic agents administered in this study showed subsequent antioxidant decay in the skin, it can be assumed that oxidative stress might play a significant role in the pathomechanism of PPE induced by these agents. Therefore, the topical application of an antioxidant-containing ointment could also be effective in the prevention and treatment of PPE associated with

paclitaxel, docetaxel and 5-FU, as was shown for doxorubicin-induced PPE (12, 13).

## Acknowledgements

The Authors would like to thank Biozoom® for providing the measuring sensor in these investigations and the Foundation of Skin Physiology for financial support.

## References

- 1 Chu CS and Rubin SC: Basic Principles of Chemotherapy. In: Clinical Gynecologic Oncology. Di Saia PJ and Creasman WT (eds.). St. Louis: Mosby, pp. 515-538, 2012.
- 2 Chu E and Sartorelli AC: Cancer Chemotherapy. In: Basic & Clinical Pharmacology. Katzung BG and Trevor AJ (eds.). New York: McGraw-Hill Medical, pp. 949-975, 2012.
- 3 Chapter 39: Anticancer Drugs. In: Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology. Finkel R, Cabeddu LX, Clark MA (eds.). Philadelphia, PA: Kluwer, Lippincott, Williams and Wilkins, pp. 457-488, 2009.
- 4 Hueso L, Sanmartín O, Nagore E, Botella-Estrada R, Requena C, Lombart B, Serra-Guillén C, Alfaro-Rubio A and Guillén C: Chemotherapy-induced acral erythema: a clinical and histopathologic study of 44 cases. *Actas Dermosifiliogr* 99: 281-290, 2008.
- 5 Webster-Gandy JD, How C and Harrold K: Palmar-plantar erythrodysesthesia (PPE): a literature review with commentary on experience in a cancer centre. *Eur J Oncol Nurs* 11: 238-246, 2007.
- 6 Degen A, Alier M, Schenk F, Satzger I, Völker B, Kapp A and Gutzmer R: The hand-foot-syndrome associated with medical tumor therapy – classification and management. *J Dtsch Dermatol Ges* 8: 652-661, 2010.
- 7 Martschick A, Sehouli J, Patzelt A, Richter H, Jacobi U, Oskay-Ozcelik G, Sterry W and Lademann J: The pathogenetic mechanism of anthracycline-induced palmar-plantar erythrodysesthesia. *Anticancer Res* 29: 2307-2313, 2009.
- 8 Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M and Telser J: Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol* 39: 44-84, 2007.
- 9 Darvin M, Zastrow L, Sterry W and Lademann J: Effect of supplemented and topically applied antioxidant substances on human tissue. *Skin Pharmacol Physiol* 19: 238-247, 2006.
- 10 Stahl W and Sies H: Antioxidant activity of carotenoids. *Mol Aspects Med* 24: 345-351, 2003.
- 11 Wollfe U, Seelinger G, Bauer G, Meinke MC, Lademann J and Schempp CM: Reactive molecule species and antioxidative mechanisms in normal skin and skin aging. *Skin Pharmacol Physiol* 27: 316-332, 2014.
- 12 Kluschke F, Martschick A, Darvin ME, Zastrow L, Chekerov R, Sehouli J and Lademann J: Application of an ointment with high radical protection factor as a prevention strategy against PPE. ASCO Annual Meeting, 2012.
- 13 Lademann J, Röwert-Huber HJ, Haas N, Kluschke F, Patzelt A, Zastrow L, Lange-Asschenfeldt B, Jung S, Sterry W and Sehouli J: Palmoplantar erythrodysesthesia-like skin symptoms in patients under various chemotherapeutics: preventive and therapeutic options. *Skin Pharmacol Physiol* 27: 229-233, 2014.
- 14 Jacobi U, Waibler E, Schulze P, Sehouli J, Oskay-Ozcelik G, Schmook T, Sterry W and Lademann J: Release of doxorubicin in sweat: first step to induce the palmar-plantar erythrodysesthesia syndrome? *Ann Oncol* 16: 1210-1211, 2005.
- 15 Darvin ME, Sandhagen C, Koecher W, Sterry W, Lademann J and Meinke MC: Comparison of two methods for noninvasive determination of carotenoids in human and animal skin: Raman spectroscopy versus reflection spectroscopy. *J Biophotonics* 5: 550-558, 2012.
- 16 Darvin ME, Fluhr JW, Meinke MC, Zastrow L, Sterry W and Lademann J: Topical beta-carotene protects against infra-red-light-induced free radicals. *Exp Dermatol* 20: 125-129, 2011.
- 17 Jung S, Darvin ME, Chung HS, Jang B, Lee SH, Lenz K, Chung WS, Yu RX, Patzelt A, Lee BN, Sterry W and Lademann J: Antioxidants in Asian-Korean and caucasian skin: the influence of nutrition and stress. *Skin Pharmacol Physiol* 27: 293-302, 2014.
- 18 Lademann J, Köcher W, Yu R, Meinke MC, Na Lee B, Jung S, Sterry W and Darvin ME: Cutaneous carotenoids: the mirror of lifestyle? *Skin Pharmacol Physiol* 27: 201, 2014.
- 19 Stahl W, Heinrich U, Jungmann H, von Laar J, Schietzel M, Sies H and Tronnier H: Increased dermal carotenoid levels assessed by noninvasive reflection spectrophotometry correlate with serum levels in women ingesting Betatene. *J Nutr* 128: 903-907, 1998.
- 20 Meinke MC, Darvin ME, Vollert H and Lademann J: Bioavailability of natural carotenoids in human skin compared to blood. *Eur J Pharm Biopharm* 76: 269-274, 2010.
- 21 Darvin ME, Sterry W, Lademann J and Patzelt A: Alcohol consumption decreases the protection efficiency of the antioxidant network and increases the risk of sunburn in human skin. *Skin Pharmacol Physiol* 26: 45-51, 2013.
- 22 Darvin ME, Patzelt A, Knorr F, Blume-Peytavi U, Sterry W and Lademann J: One-year study on the variation of carotenoid antioxidant substances in living human skin: influence of dietary supplementation and stress factors. *J Biomed Opt* 13: 044028, 2008.
- 23 Lademann J, Schanzer S, Meinke M, Sterry W and Darvin ME: Interaction between carotenoids and free radicals in human skin. *Skin Pharmacol Physiol* 24: 238-244, 2011.
- 24 Miller KK, Gorcoy L and McLellan BN: Chemotherapy-induced hand-foot syndrome and nail changes: A review of clinical presentation, etiology, pathogenesis, and management. *J Am Acad Dermatol* 71: 787-794, 2014.
- 25 Common Terminology Criteria for Adverse Events v4.03. U.S. Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, National Cancer Institute, Bethesda, MD, 2010.

Received April 28, 2016

Revised June 10, 2016

Accepted June 13, 2016

---

<https://doi.org/10.1117/1.jbo.21.4.047002>









---

<https://doi.org/10.21873/anticanres.12854>





=====







## **CURRICULUM VITAE - Harald Fuss**

**Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.**

## PUBLIKATIONSLISTE

Huang MD, **Fuss H**, Lademann J, Florek S, Patzelt A, Meinke MC, Jung S. *Detection of capecitabine(Xeloda®) on the skin surface after oral administration*. J Biomed Opt. 2016 Apr 30; 21(4):047002. **[Impact-Faktor: 2,367 / 5-year-IF: 2,609]**

Lee BN, Jung S, Darvin ME, Eucker J, Kühnhardt D, Sehouli J, Patzelt A, **Fuss H**, Yu R, Lademann J. *Influence of Chemotherapy on the Antioxidant Status of Human Skin*. Anticancer Res 2016;36:4089-4093. **[Impact-Faktor: 1,865]**

Jung S, Sehouli J, Chekerov R, Kluschke F, Patzelt A, **Fuss H**, Knorr F, Lademann J. *Prevention of palmoplantar erythrodysesthesia in patients treated with pegylated liposomal doxorubicin (Caelyx®)*. Supportive Care in Cancer 2017 Nov; 25(11):3545-3549. **[Impact-Faktor: 2,676 / 5-y-IF: 2,846]**

**Fuss H**, Lademann J, Jung S. *Influence of Sorafenib (Nexavar®), Sunitinib (Sutent®) and Capecitabine(Xeloda®) on the Antioxidant Status of the Skin*. Anticancer Res 2018 Sept; 38(9): 5283-5288. **[Impact-Faktor: 1,865]**

Xing Y, **Fuss H**, Lademann J, Huang MD, Becker-Ross H, Florek S, Patzelt A, Meinke M, Jung S, Esser N. *A new concept of efficient therapeutic drug monitoring of capecitabine by using a combined spectroscopic approach of HR-CSAS and SERS*. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy 2018 Apr; Vol 142:91-96. **[Impact-Faktor: 2,854 / 5-y-IF: 3,015]**

## **DANKSAGUNG**

Zu besonderem Dank bin ich Herrn Prof. Dr. Lademann verpflichtet, welcher mich stets mit seinen Anregungen und seiner Präsenz unterstützte. Ebenso geht mein Dank an die Mitarbeiter seiner AG, insbesondere Frau Dr. Sora Jung, die mir hinsichtlich der Studiendurchführung und Auswertung stets zur Seite stand. Eine herausragende Stellung in jeglicher Sicht nimmt meine Familie ein ohne deren Unterstützung und Verständnis dies nicht möglich gewesen wäre. Ein Dank geht auch an die Mitarbeiter meiner Praxis für nicht nur logistische Unterstützung im Rahmen des Studiendesigns.