

Nicht-Invasives Physikalisches Plasma zur Prävention der Radiodermatitis

**eine Durchführbarkeitsstudie bei
Mammakarzinompatient*innen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Cas Stefaan Jules Victor Dejonckheere

aus Ieper/Belgien

2023

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: PD Dr. med. Leonard Christopher Schmeel
2. Gutachterin: Prof. Dr. med. Brigitte Sabine Strizek

Tag der Mündlichen Prüfung: 20.07.2023

Aus der Klinik für Strahlentherapie und Radioonkologie
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Frank Anton Giordano

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|-----------|--|----|
| | Abkürzungsverzeichnis | 4 |
| 1. | Deutsche Zusammenfassung | 5 |
| 1.1 | Einleitung | 5 |
| 1.2 | Material und Methoden | 6 |
| 1.3 | Ergebnisse | 11 |
| 1.4 | Diskussion | 18 |
| 1.5 | Zusammenfassung | 24 |
| 1.6 | Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung | 25 |
| 2. | Veröffentlichung | 31 |
| | Abstract | 31 |
| | Introduction | 31 |
| | Materials and Methods | 32 |
| | Results | 34 |
| | Discussion | 38 |
| | References | 41 |
| 3. | Danksagung | 44 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|--------|---|
| ADE | Unerwünschtes Geräteereignis (<i>Adverse Device Event</i>) |
| BET | Brusterhaltende Therapie |
| CTCAE | Allgemeine Terminologiekriterien von unerwünschten Ereignissen (<i>Common Terminology Criteria for Adverse Events</i>) |
| DBE | Dielektrische Barriereentladung |
| DLT | Dosislimitierende Toxizität (<i>Dose-Limiting Toxicity</i>) |
| DRKS | Deutsches Register Klinischer Studien |
| ESTRO | Europäische Gesellschaft für Strahlentherapie und Onkologie (<i>European Society for Radiotherapy and Oncology</i>) |
| ICRU | Internationale Kommission für Strahlungseinheiten und Messung (<i>International Commission on Radiation Units and measurements</i>) |
| IMRT | Intensitätsmodulierte Strahlentherapie (<i>Intensity-Modulated Radiation Therapy</i>) |
| NCI | Nationales Krebsinstitut der USA (<i>National Cancer Institute</i>) |
| NIPP | Nicht-invasives physikalisches Plasma |
| PTV | Planungszielvolumen (<i>Planning Target Volume</i>) |
| RD | Radiodermatitis |
| RISRAS | Bewertungsskala für strahleninduzierte Hautreaktionen (<i>Radiation-Induced Skin Reaction Assessment Scale</i>) |
| RONS | Reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies (<i>Reactive Oxygen and Nitrogen Species</i>) |
| VMAT | Volumetrisch modulierte Arc-Therapie |

1. Deutsche Zusammenfassung

1.1 Einleitung

Mit über 70.000 Neudiagnosen in Deutschland und über 2.300.000 weltweit im letzten Jahr bleibt Brustkrebs im Frühstadium die häufigste Krebsdiagnose (Siegel et al., 2022). Um die lokale Kontrolle und das Überleben zu verbessern, wird nach einer brusterhaltenden Therapie (BET) zumeist eine adjuvante Ganzbrustbestrahlung durchgeführt (Hennequin et al., 2016). Die häufigste akute Nebenwirkung der Brustbestrahlung ist die Radiodermatitis (RD). Diese tritt bei bis zu 85 % der Patient*innen auf und kann in bis zu 30 % der Fälle einen moderaten bis schweren Schweregrad annehmen (Chan et al., 2012; Haruna et al., 2017; Schmeel et al., 2020; Shaitelman et al., 2015). Die RD entsteht durch die Strahlungsempfindlichkeit der basalen Keratinozyten und Melanozyten, was zu einer Unterbrechung der Selbsterneuerungsfähigkeit der Epidermis führt. Klinisch wird die RD durch Erythem, Juckreiz, Ödem, trockene und feuchte Desquamationen charakterisiert und beeinträchtigt die Lebensqualität (Schmeel et al., 2020). Außerdem können in schweren Fällen auch Behandlungsunterbrechungen erforderlich sein, welche die Tumorkontrolle beeinträchtigen (Haruna et al., 2017). Eindeutige Leitlinien sind bisher nicht vorhanden, unter anderem aufgrund des Mangels an wirksamen präventiven und therapeutischen Optionen. Trotz laufender Forschungsanstrengungen variiert die Behandlung der RD durch Ärzt*innen somit weiterhin stark (Finkelstein et al., 2022; Haruna et al., 2017).

Das nicht-invasive physikalische Plasma (NIPP) hat sich bereits bei einer Reihe von Hautkrankheiten wie Ekzemen, Psoriasis, diabetischen Ulzera und verschiedenen Arten der Dermatitis als praktikabler und vielversprechender neuer Therapieansatz erwiesen (Gan et al., 2018; Stratmann et al., 2020). Darüber hinaus werden die wundheilenden und regenerativen Eigenschaften auch nach chirurgischen Eingriffen in der Zahnmedizin angewendet (Eggers et al., 2022a, 2022b). Eine solche NIPP-Behandlung ist gut verträglich und bei vorhergehenden Studien wurden keine Nebenwirkungen beschrieben (Assadian et al., 2019; Boekema et al., 2021; Kluge et al., 2016). Physikalisches Plasma, durch freie Elektronen gekennzeichnet, wird als vierter Aggregatzustand bezeichnet (Kletschkus et al., 2020). NIPP erreicht nur Umgebungstemperatur und ist somit klinisch

sicher anzuwenden, dadurch dass es mit einem Hochfrequenz-Wechselfeld unter Atmosphärendruck erzeugt wird, im Gegenteil zu thermalem Plasma. Eine besondere Form von NIPP sind die dielektrischen Barriereentladungen (DBE). Diese können allein mit der Umgebungsluft (ohne Trägergas) erzeugt werden (Brandenburg, 2018). Es hat sich gezeigt, dass die reaktive Mischung aus angeregten Atomen, Ionen, Elektronen, reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies (RONS), UV-Strahlung und Wärme, die dabei entsteht, eine günstige und dosisabhängige Auswirkung auf die Gewebeheilung innehaben kann, was die positiven Auswirkungen bei den oben genannten Krankheitsbildern erklärt (Gelbrich et al., 2019).

Die einzigen präklinischen in-vivo Ergebnisse bei Mäusen deuten auf eine potenzielle Wirksamkeit von NIPP bei RD hin, mit einem verzögerten Auftreten und vermindertem Schweregrad (Bernhardt et al., 2021). Eine klinische Studie mit DBE-generiertem NIPP zur Prävention oder Behandlung der RD wurde indes bisher noch nicht durchgeführt. In der hier vorgelegten Studie wurden die Durchführbarkeit, die Bruttokosten, die vorläufige Wirksamkeit, die Sicherheit und die potenzielle Toxizität bewertet, als Grundlage für eine prospektive klinische Studie, in der der Effekt von NIPP auf das Auftreten und den Schweregrad der RD bei Ganzbrustbestrahlungen untersucht werden soll. Diese (Nachfolge-) Studie wurde dazu bereits präregistriert im Deutschen Register Klinischer Studien (DRKS00026225).

1.2 Material und Methoden

1.2.1 Teilnehmer

Es wurde eine monozentrische, einarmige Phase-I-Studie durchgeführt. Patient*innen, die von Oktober 2021 bis April 2022 eine Ganzbrustbestrahlung an der Klinik für Strahlentherapie und Radioonkologie des Universitätsklinikums Bonn erhielten, wurden prospektiv rekrutiert. Einschlusskriterien waren ein Alter von über 18 Jahren, eine BET bei Brustkrebs und eine Fraktionierung von 40,05 Gy in 15 Fraktionen von 2,67 Gy +/- einer sequenziellen normofraktionierten Dosisaufsättigung (Boost) auf das Tumorbett von 16 Gy in 8 Fraktionen von 2 Gy bei entsprechender Indikation. Als Ausschlusskriterien galten synchrone Metastasierung, Mastektomie, Rekonstruktion mit Brustimplantat,

alternative Fraktionierungsschemata, ipsilaterale Brustbestrahlung in der Vorgeschichte, vorbestehende dermatologische Erkrankungen, eine aktive Dermatitis, laufende topische oder orale Kortikosteroideinnahme oder die Ablehnung, an einer klinischen Studie teilzunehmen. Das schriftliche Einverständnis aller Teilnehmer*innen wurde vor Studienbeginn eingeholt. Das Protokoll für diese Studie, die in Übereinstimmung mit der revidierten Deklaration von Helsinki des Weltärztebundes durchgeführt wurde, wurde am 21. September 2021 von der Ethik-Kommission des Universitätsklinikums Bonn begutachtet und es wurden dabei keine Einwände gegen das Forschungsvorhaben erhoben (210/21).

1.2.2 Strahlentherapie

Patient*innen mit positiven Resektionsrändern, Patient*innen unter 50 Jahren und Patient*innen zwischen 51 und 70 Jahren mit höherem Rezidivrisiko auf Grundlage ihrer jeweiligen Tumorcharakteristiken (Tumorgröße > 20 mm, Grad 3, tripelnegativ oder humaner epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor 2 positiv), erhielten einen sequenziellen normofraktionierten Boost auf das Tumorbett (16 Gy in 8 Fraktionen von 2 Gy).

Die Konturierung der Zielvolumina und Risikoorgane erfolgte nach der ESTRO-Konsensusleitlinie (Offersen et al., 2015). Alle Behandlungspläne wurden mit 6-MV- oder gemischten Energien bis zu 10-MV-Photonen erstellt und eine homogene Dosisverteilung im Zielvolumen wurde dabei angestrebt. Es wurde entweder die tangentielle intensitätsmodulierte Strahlentherapie (IMRT) oder die volumetrisch modulierte Arc-Therapie (VMAT) angewendet und die von der internationalen Kommission für Strahlungseinheiten und Messung (ICRU) empfohlenen Dosisgrenzwerte von 95 bis 107 % wurden jeweils eingehalten.

Alle Patient*innen wurden in Rückenlage mit gehobenen Armen an einem TrueBeam STx Linearbeschleuniger (Varian Medical Systems, Palo Alto, Kalifornien, Vereinigten Staaten von Amerika) behandelt. Bei dazu fähigen Patient*innen wurde die linksseitige Ganzbrustbestrahlung leitliniengerecht in Atemanhaltetechnik durchgeführt (zur Minimierung der Herz- und Lungenbelastung).

1.2.3 Standardhautpflege

Die gesamte Brust wurde mit einer Lotion auf Harnstoffbasis (Eucerin UreaRepair PLUS 5 % Harnstofflotion, Beiersdorf, Hamburg, Deutschland) behandelt, eine leitliniengerechte Empfehlung. Die Anwendung weiterer topischer Präparate wurde ihnen außerdem abgeraten. Vom ersten Tag der Strahlenbehandlung an erhielten alle Patient*innen mündliche und schriftliche Anweisungen, wie sie die Harnstofflotion zweimal täglich im bestrahlten Areal anwenden sollten. Topische Kortikosteroide wurden verschrieben bei Patient*innen mit \geq Grad 2 RD, feuchter Desquamation und/oder akuten Schmerzen, bis diese Symptome abklangen. Dies war es entsprechend des Studienprotokolls gestattet.

1.2.4 NIPP-Protokoll

Ein kabelloser, topischer NIPP-Generator (plasma derma care, terraplasma medical, Garching, Deutschland) wurde zur Erzeugung und Anwendung des NIPP verwendet. Für jeden Patienten bzw. jede Patientin und bei jedem Besuch wurde das Gerät mit einem Spacer von 4 × 4 cm sanft auf der Haut platziert, um einen idealen und reproduzierbaren Abstand zur Haut zu erreichen (Abbildung 1) und dieser Vorgang wurde so lange wiederholt, bis die gesamte Brustoberfläche behandelt war. Unter Verwendung des voreingestellten Programms des Geräts zur Gewährleistung einer konstanten NIPP-Dosis (definiert als eine konstante Dosis Ozon, das als Surrogat für RONS verwendet wird) wurden drei verschiedene Behandlungsdauern und -frequenzen untersucht: 60 Sekunden NIPP-Verabreichung zweimal pro Woche, 180 Sekunden dreimal pro Woche und 120 Sekunden fünfmal pro Woche (Sakiyama et al., 2012).



Abb. 1: Erzeugung und Anwendung vom nicht-invasiven physikalischen Plasma auf der Brusthaut mit plasma derma care. Abbildung aus Dejonckheere et al., 2022.

1.2.5 Evaluierung der Patient*innen

In wöchentlichen Visiten wurden die Patient*innen jeweils untersucht und auch zusätzliche Arztbesuche, die auf speziellen Wunsch des Patienten bzw. der Patientin erbeten wurden, wurden dokumentiert. Zur RD-Bewertung wurden die allgemeinen Terminologiekriterien von unerwünschten Ereignissen (CTCAE) v5.0 des amerikanischen nationalen Krebsinstituts (NCI) herangezogen. Die Abstufung der Radiodermatitis ist in Tabelle 1 angegeben. Ein erfahrener Brust-Radioonkologe bewertete die Toxizität nach Abschluss der Radiotherapie.

Tab. 1: Einstufung der Radiodermatitis gemäß den CTCAE-Kriterien v5.0.

| | |
|--------|---|
| Grad 0 | keine Radiodermatitis |
| Grad 1 | leichtes Erythem oder trockene Desquamation |
| Grad 2 | mäßiges bis starkes Erythem, fleckige feuchte Desquamation, meist auf Hautfalten beschränkt, mäßiges Ödem |
| Grad 3 | feuchte Desquamation in anderen Bereichen als Hautfalten, Blutung durch geringfügiges Trauma oder Abschürfung |
| Grad 4 | lebensbedrohliche Folgen, Hautnekrose oder Ulzeration der gesamten Dermis, spontane Blutung, Hauttransplantation erforderlich |
| Grad 5 | Tod |

Um die klinischen Ergebnisse besser beurteilen zu können, wurden die Daten mit zeitgemäßen und hochqualitativen Toxizitätsbewertungen ähnlicher Kollektive in der internationalen Literatur verglichen (Jagsi et al., 2015; Schmeel et al., 2020; Shaitelman et al., 2015).

Zur Erfassung der von den Patient*innen empfundenen, subjektiven Beschwerden wurde eine modifizierte Bewertungsskala für strahleninduzierte Hautreaktionen (RISRAS), die von dem Patienten bzw. der Patientin selbst ausgefüllt wird, zum Zeitpunkt der Abschlussuntersuchung sowie bei den ersten Nachsorgeterminen zwei und sechs Wochen nach Behandlungsende erfasst (Noble-Adams, 1999). Patient*innen bewerteten dazu die maximale Ausprägung der folgenden subjektiv empfundenen, brustspezifischen Symptome: Unbehagen oder Schmerzen, Juckreiz, brennendes Gefühl sowie Beeinträchtigungen bei alltäglichen Aktivitäten. Jeder dieser Punkte wurde auf einer 4-stufigen Likert-Skala bewertet: 0 = gar nicht; 1 = ein bisschen; 2 = ziemlich stark; 3 = sehr stark. Außerdem wurden vier Ja-Nein-Aussagen verwendet, um die subjektiven Erfahrungen der Patient*innen zu erfassen (Tabelle 2).

Tab. 2: Die subjektiven Erfahrungen der Patient*innen wurden mit vier Ja-Nein-Aussagen erfasst.

| | | |
|---|--|-----------|
| 1 | Die Plasmabehandlung habe ich als unangenehm empfunden. | ja / nein |
| 2 | Ich würde einem Freund/einer Freundin mit Brustkrebs eine Plasmabehandlung empfehlen. | ja / nein |
| 3 | Ich hätte mich außerhalb der Studie auch zur Vorbeugung bzw. Behandlung einer Radiodermatitis mit Plasma behandeln lassen. | ja / nein |
| 4 | Haben Sie den Eindruck, dass Ihre Symptome durch die Plasmabehandlung reduziert werden konnten? | ja / nein |

1.2.6 Durchführbarkeit

Um die generelle Eignung von NIPP zur Prävention und/oder Behandlung der RD bei Brustkrebspatient*innen, die eine Ganzbrustbestrahlung erhalten, zu bewerten, wurden neben oben genannten klinischen Ergebnissen auch weitere Faktoren wie Sicherheit und potenzielle Schäden sowie die Praktikabilität (aus Sicht der Patient*innen und Ärzt*innen) und die Bruttokosten dokumentiert. Unerwünschte Geräteereignisse (ADE) wurden definiert als unerwartete und unerwünschte Ereignisse im Zusammenhang mit der Verwendung des Prüfprodukts, einschließlich solcher, die aus Mängeln bei der Anwendung, dem Betrieb oder einer Fehlfunktion resultieren. Die Zufriedenheit der Benutzer wurde dabei definiert als der Komfort und die Akzeptanz des untersuchten Geräts und der damit vorgenommenen Behandlung.

1.3 Ergebnisse

1.3.1 Charakteristiken der Patient*innen

Abbildung 2 zeigt ein Flussdiagramm des Patient*inneneinschlusses und Tabelle 3 enthält die Zusammenfassung der Patient*innen- und Behandlungscharakteristiken.

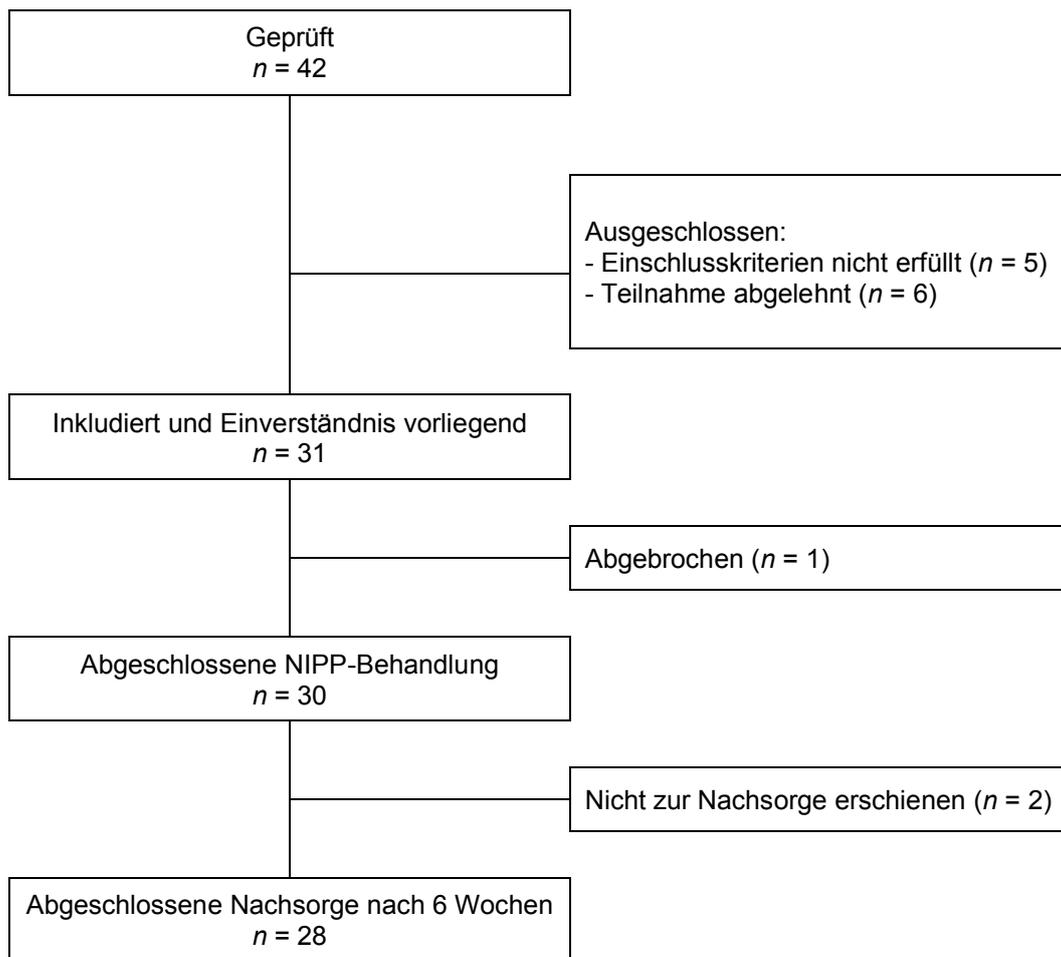


Abb. 2: Flussdiagramm des Patient*inneneinschlusses ($n = 30$). Bei einer Patientin wurde die Radiotherapie für 7 Tage unterbrochen wegen einer ambulant erworbenen (nicht-bestrahlungsbedingten) Lungenentzündung. Diese Patientin wurde aus der Analyse ausgeschlossen. Abbildung aus Dejonckheere et al., 2022 (ins Deutsche übersetzt).

Insgesamt wurden 30 Patient*innen mit einem medianen Alter von 56 (Range 30–83) Jahren eingeschlossen, die zu 90 % kaukasisch und zu 96,7 % weiblich waren. Der häufigste Hauttyp, Fitzpatrick II, lag bei 76,7 % der Teilnehmer*innen vor. In 26,7 % der Fälle wurde eine neoadjuvante oder konkomitante Chemo- und/oder Immuntherapie durchgeführt, und in 83,3 % der Fälle wurde eine antihormonelle Therapie empfohlen. Bei der Hälfte der Patient*innen bestand die Indikation für einen sequenziellen Boost auf das Tumorbett. Das mediane Planungszielvolumen (PTV) der Brust betrug 798 (Range 129–1.771) ml, während das mediane Boost-PTV bei 126 (Range 52–307) ml lag.

Tab. 3: Zusammenfassung der Patient*innen- und Behandlungscharakteristiken ($n = 30$).

| | |
|---|-----------------|
| medianes Alter (Range) in Jahren | 56 (30–83) |
| Geschlecht | <i>n</i> (%) |
| weiblich | 29 (96,7) |
| männlich | 1 (3,3) |
| Ethnizität | |
| kaukasisch | 27 (90) |
| sonstiges | 3 (10) |
| Fitzpatrick-Hauttyp | |
| I | 4 (13,3) |
| II | 23 (76,7) |
| III | 3 (10) |
| Seite | |
| links | 16 (53,3) |
| rechts | 14 (46,7) |
| pathologisches Primärtumorstadium | |
| duktales Karzinom in situ (Tis) | 6 (20) |
| T1 | 19 (63,3) |
| T2 | 4 (13,3) |
| T3 | 1 (3,3) |
| pathologisches Stadium der regionalen Lymphknoten | |
| N0 | 25 (83,3) |
| N1 | 5 (16,7) |
| Boost | 15 (50) |
| medianes PTV der Brust (Range) in ml | 798 (129–1.771) |
| medianes PTV der Boost (Range) in ml | 126 (52–307) |

1.3.2 NIPP-Anwendungsschemata

Es wurden verschiedene Anwendungsschemata untersucht, um eine effektive Behandlungsdauer und -frequenz zu finden. Die Behandlungsdauer betrug 60 Sekunden zweimal wöchentlich bei den ersten 3 Patient*innen (10 %). Bis zu einer Nachbeobachtungszeit von 6 Wochen wurden keine dosislimitierenden Toxizitäten (DLT) festgestellt, d. h. keine Zunahme der RD im Vergleich zur Standardhautpflege. Für die nächste 24 Patient*innen (80 %) wurde die Behandlungsdauer aufgrund der sehr guten Verträglichkeit auf 180 Sekunden dreimal pro Woche erhöht. Eine weitere Dosisescalation auf 120 Sekunden fünfmal pro Woche wurde bei den letzten 3 Teilnehmer*innen (10 %) untersucht. Die NIPP-Anwendungen erfolgten jeweils unmittelbar nach der täglichen Strahlentherapiefraktionen.

1.3.3 Unerwünschte Ereignisse

Unabhängig von der Dauer oder Frequenz der NIPP-Anwendungen, wurden keine unerwünschten Ereignisse oder Wechselwirkungen festgestellt, welche auf die NIPP-Behandlung und nicht auf die Strahlentherapie zurückgeführt werden können.

1.3.4 Akute Hauttoxizität beurteilt durch Ärzt*innen

13,3 % der Patient*innen in der Gruppe ohne Boost ($n = 15$) hatten am Ende der Behandlung keine RD, während sich bei 80 % bzw. 6,7 % der Patient*innen dieser Gruppe eine RD des 1. bzw. 2. Grades entwickelte. Diese Zahlen betragen 20 %, 53,3 % und 26,7 % in der Boost-Gruppe ($n = 15$). Es wurde keine RD des ≥ 3 . Grades beobachtet (Abbildung 3A). Nur 2 Patient*innen (6,7 %) und 1 Patient*in (3,3 %) hatten trockene bzw. feuchte Desquamation, beide in der Boost-Gruppe.

Die Rate und der Schweregrad der RD in der Gruppe ohne Boost lag 2 Wochen nach Ende der Behandlung bei 35,7 % für Grad 0, bei 50 % für Grad 1 und bei 14,3 % für Grad 2. In der Boost-Gruppe waren die entsprechenden Werte 60,7 %, 26,7 % und 13,3 % (Abbildung 3B).

Eine RD 2. Grades war 6 Wochen nach der Brustbestrahlung nicht mehr vorhanden, weder in der Gruppe ohne Boost, noch mit Boost. Die Inzidenz der RD Grad 0 und Grad 1 lag in der Gruppe ohne Boost bei 71,4 % bzw. 28,6 % und in der Boost-Gruppe bei 64,3 % bzw. 35,7 % (Abbildung 3C).

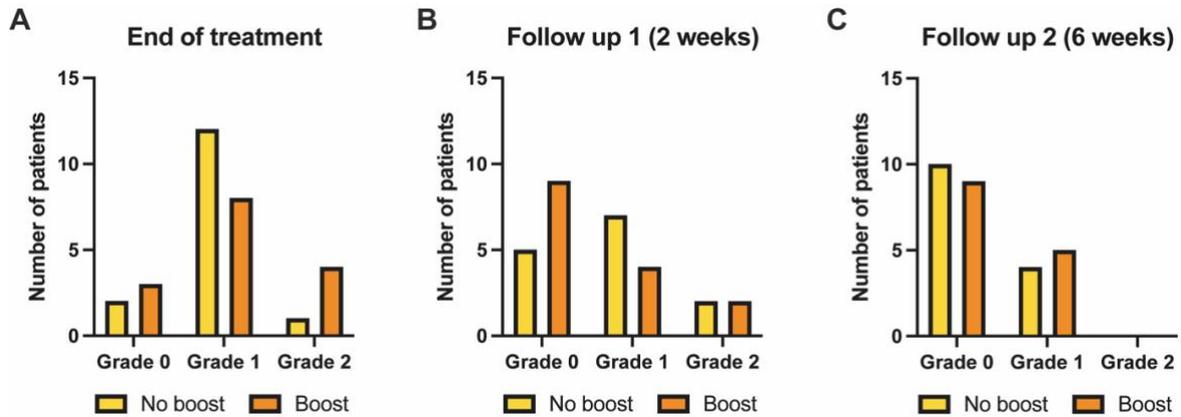


Abb. 3: Maximale Ausprägung der Radiodermatitis bei Patient*innen ohne (gelb) und mit (orange) sequenziellem Boost der ehemaligen Tumorregion, **(A)** am Ende der NIPP- und Strahlenbehandlung, und bei der Nachsorge nach **(B)** 2 und **(C)** 6 Wochen. Bewertung analog der allgemeinen Terminologiekriterien von unerwünschten Ereignissen (CTCAE) v5.0. Abbildung aus Dejonckheere et al., 2022.

Weder während der Bestrahlung noch im Nachsorgezeitraum war die Verordnung topischer Kortikosteroide bei keiner der Patient*innen notwendig.

Die Entwicklung der akuten Hauttoxizität (RD, Hyperpigmentierung, Ödeme sowie trockene und feuchte Desquamation) während und nach der adjuvanten Strahlentherapie in Kombination mit NIPP-Behandlung ist in Abbildung 4A–E dargestellt.

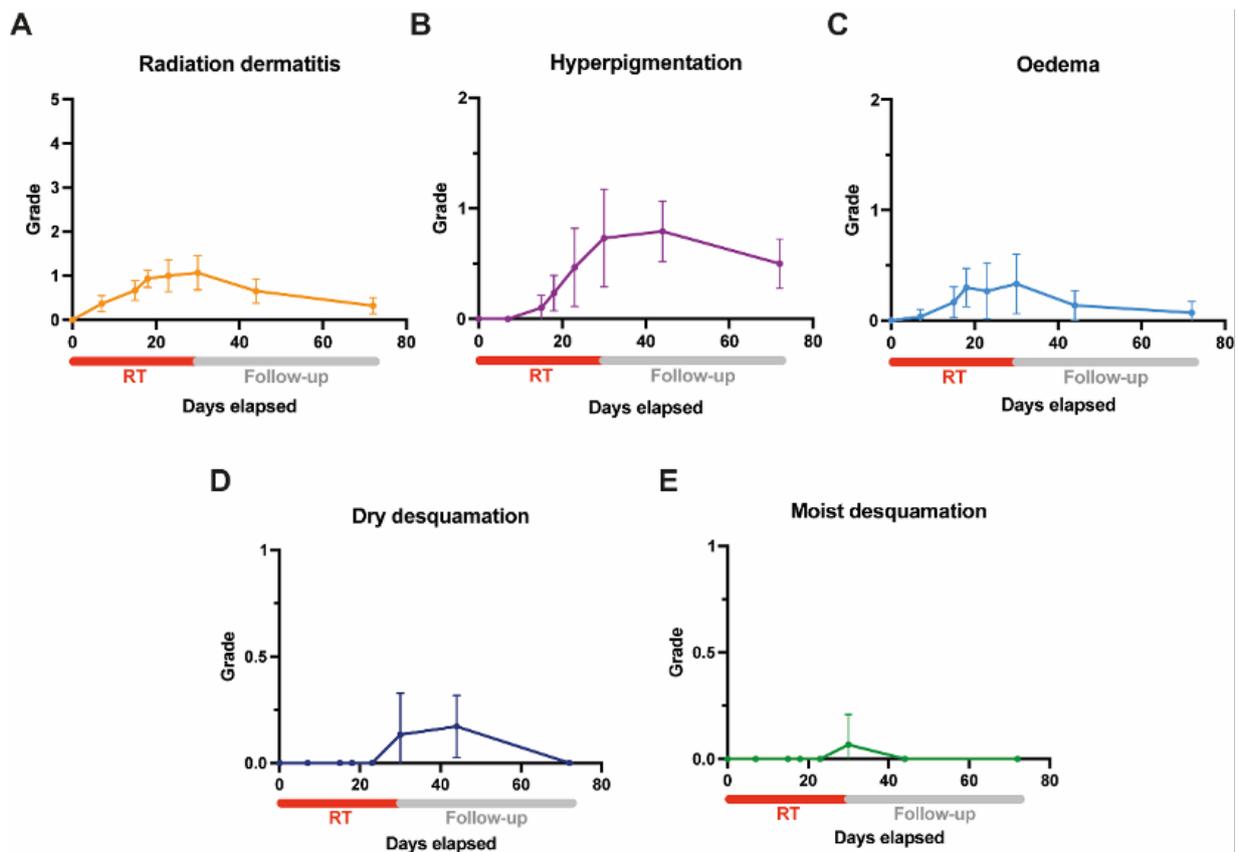


Abb. 4: Entwicklung der durchschnittlichen akuten Hauttoxizität nach adjuvanter Ganzbrustbestrahlung in Kombination mit NIPP für das gesamte Patient*innenkollektiv: (A) Radiodermatitis, (B) Hyperpigmentierung, (C) Ödeme und (D) trockene und (E) feuchte Desquamation. Bewertung analog zu den allgemeinen Terminologiekriterien von unerwünschten Ereignissen (CTCAE) v5.0. Konfidenzintervalle (95 %) sind gezeigt. Abbildung aus Dejonckheere et al., 2022.

1.3.5 Akute Hauttoxizität und subjektive Symptom- und Behandlungserfahrungen durch Patient*innen

Tabelle 4 zeigt die Ergebnisse des modifizierten RISRAS-Fragebogens am Ende der kombinierten Behandlung.

Tab. 4: Ergebnisse des modifizierten RISRAS-Fragebogens am Ende der Behandlung (Noble-Adams, 1999).

| <i>n</i> (%) | gar nicht | ein bisschen | ziemlich stark | sehr stark |
|---|-----------|--------------|----------------|------------|
| Schmerzen | 16 (53,3) | 12 (40) | 2 (6,6) | 0 (0) |
| Juckreiz | 19 (63,3) | 10 (33,3) | 1 (3,3) | 0 (0) |
| Brennen | 25 (83,3) | 5 (16,7) | 0 (0) | 0 (0) |
| Beeinträchtigungen alltäglicher Aktivitäten | 23 (76,7) | 5 (16,7) | 2 (6,6) | 0 (0) |

Keine der Patient*innen empfand die NIPP-Behandlung als unangenehm und alle würden diese einem Freund bzw. einer Freundin, der/die aufgrund von Brustkrebs einer Bestrahlung bedarf, empfehlen. Auch außerhalb dieser Studie hätten sich 93,1 % der Patient*innen eine NIPP-Behandlung während der Ganzbrustbestrahlung gewünscht (3,4 % sind sich unsicher) und 27,6 % waren der Meinung, dass die NIPP-Behandlung ihre Symptome gelindert hat (51,7 % sind sich unsicher).

1.3.6 Handhabung und Praktikabilität

Die Zufriedenheit bei den Anwendern war sehr hoch, da das NIPP-Gerät einfach zu bedienen ist und in der mitgelieferten Dockingstation zwischen den jeweiligen Patient*innenkontakten schnell (< 5 Minuten) aufgeladen werden kann. Es traten außerdem keine ADE auf.

1.3.7 Behandlungskosten

Der Preis für das plasma derma care Gerät beträgt derzeit 2.900,00 €. Für die NIPP-Verabreichung wird ein einzelner 4 × 4 cm Spacer benötigt. Dieser kostet 14,00 € und kann bis zu 10 Minuten lang verwendet werden. Tabelle 5 zeigt eine genaue Übersicht der benötigten wöchentlichen Anzahl an Spacern, der Kosten für Spacer und der

zusätzlichen Behandlungszeit für die jeweils variierenden Behandlungszeiten und Applikationsfrequenzen.

Da das Gerät benutzerfreundlich und selbsterklärend ist, erfordert es nur eine wenige Minuten dauernde Einweisung. NIPP kann somit von einer einzelnen medizinischen Fachkraft oder theoretisch sogar von den Patient*innen selbst appliziert werden.

Tab. 5: Geschätzte wöchentliche Anzahl der Spacer, Spacerkosten und zusätzliche Behandlungszeit (ohne mögliche Wartezeiten oder Zeiten für den Austausch gebrauchter Spacer) für eine durchschnittliche Brustoberfläche von 12 × 16 cm (d. h. 3 × 4 Spacer). Die grauen Bereiche zeigen die 3 verschiedenen Kombinationen von Behandlungsdauer und -frequenz an, die in der aktuellen Studie untersucht wurden. Die Kosten- und Zeitschätzungen können je nach Brustgröße variieren. * Pro 4 × 4 cm Fläche der Brusthaut.

| | | NIPP Behandlungsfrequenz (pro Woche) | | | | | |
|---------------------------------------|-----|--------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-------------|-------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| NIPP-Behandlungsdauer (in Sekunden) * | 60 | Spacer/Woche | 1-2 | 2-4 | 3-6 | 4-8 | 5-10 |
| | | Kosten/Woche | 14-28 € | 28-56 € | 42-84 € | 56-112 € | 70-140 € |
| | | Zeit/Woche | 10-20 min | 20-40 min | 30-60 min | 40-80 min | 50-100 min |
| | 120 | Spacer/Woche | 2-3 | 4-6 | 6-9 | 8-12 | 10-15 |
| | | Kosten/Woche | 28-42 € | 56-84 € | 84-126 € | 112-168 € | 140-210 € |
| | | Zeit/Woche | 20-30 min | 40-60 min | 1-1.5 h | 80-120 min | 100-150 min |
| | 180 | Spacer/Woche | 3-4 | 6-8 | 9-12 | 12-16 | 15-20 |
| | | Kosten/Woche | 42-56 € | 84-112 € | 126-168 € | 168-224 € | 210-280 € |
| | | Zeit/Woche | 30-40 min | 60-80 min | 1.5-2 h | 120-160 min | 150-200 min |

1.4 Diskussion

Bei der Entwicklung neuer präventiver und therapeutischer Optionen hat es in den letzten Jahren kaum Fortschritte gegeben, obwohl die RD die häufigste akute Nebenwirkung im Rahmen adjuvanter Brustbestrahlungen und der Strahlentherapie insgesamt ist. Bei

vielen Patient*innen führt diese somit zu einer erheblichen körperlichen und psychischen Belastung. Aufgrund ihres Nebenwirkungsprofils (z. B. Atrophie der Haut, Entwicklung von Dehnungsstreifen) können topische Kortikosteroide die durch die RD verursachten Symptome zwar lindern, werden aber in praxi nur restriktiv eingesetzt (Haruna et al., 2017). Daneben erwiesen sich nur wenige experimentelle Produkte in randomisierten Studien als wirksam, obgleich einige von ihnen initial eine vielversprechende Wirkung bei der Prävention oder Behandlung der RD zeigten (Yee et al., 2018). Die Gründe hierfür sind vielschichtig und komplex, jedoch sind dabei zwei Aspekte von besonderer Bedeutung. Erstens umfassen Studien zur RD häufig eine heterogene Patient*innenpopulation unter Anwendung verschiedener Dosis- und Fraktionierungsschemata sowie Behandlungsorte, oftmals ohne Vergleichsgruppen oder Placebo-Kontrollen. Ein zweites Problem ist die subjektive Natur der ärztlichen Toxizitätserhebungen, z. B. mittels der CTCAE, welche mit einer erheblichen Variabilität sowohl zwischen verschiedenen, als auch bei ein und demselben Beobachter verbunden sind. Darüber hinaus gibt es bei der ärztlichen Bewertung der RD oft große Diskrepanzen gegenüber den von den Patient*innen berichteten Beschwerdeintensitäten, insbesondere hinsichtlich des Einflusses auf die Lebensqualität (Behroozian et al., 2021a, 2021b; Jagsi et al. 2022). Für die weitere, zukünftige Erprobung potenzieller Präventions- oder Behandlungsmaßnahmen sind daher unbedingt objektive Verfahren zur RD-Bewertung erforderlich, die idealerweise gleichzeitig auch die Perspektive der Patient*innen adäquat berücksichtigen.

Da NIPP die Gewebeheilung ohne Nebenwirkungen positiv beeinflusst und sich somit als eine vielversprechende neue Therapiemodalität für eine Vielzahl von Hauterkrankungen erwiesen hat, ist es auch bei der akuten RD von großem Interesse, einen potenziellen Nutzen von NIPP zur Prävention und/oder Therapie der RD zu untersuchen. Daher wurden in dieser Studie die generelle Durchführbarkeit, die Bruttokosten, erste Ergebnisse zur Wirksamkeit, die Sicherheit und die Toxizität einer topischen NIPP-basierten Präventions- und Behandlungsstrategie für die RD bei der Ganzbrustbestrahlung untersucht.

Bei den durch ionisierende Strahlung verursachten Gewebeschäden spielen RONS eine gewichtige Rolle, gleichwohl sind sie im Rahmen einer NIPP-Therapie jedoch auch an der

Gewebereparatur und -regeneration beteiligt (Riley, 1994). In diesem Zusammenhang ist eine Durchführbarkeits- und Dosisescalationsstudie bei der Kombination von NIPP mit Bestrahlung obligat, insbesondere um potenziell additive und/oder synergistische Toxizität durch die NIPP-Applikation im Rahmen der Radiotherapie ausschließen zu können (Gelbrich et al., 2019). Die NIPP-Behandlung menschlicher Hautzellen beeinträchtigt weder die DNA-Integrität noch die Zellfunktion, was bereits in mehreren in-vitro und in-vivo Studien gezeigt wurde, sodass NIPP im klinischen Alltag sicher angewendet werden kann (Bekeschus et al., 2018; Boekema et al., 2021; Jablonowski et al., 2021; Kluge et al., 2016; Schmidt et al., 2017). Insgesamt war die Compliance in der aktuellen Studie sehr gut und die Anwendung von NIPP wurde zudem sowohl von den Patient*innen als auch von den Ärzt*innen als sicher und praktisch empfunden.

Bei bestrahlten Mäusen wurde in einem präklinischen placebokontrollierten Experiment ein verzögertes Einsetzen sowie ein geringerer Schweregrad der RD festgestellt (Bernhardt et al., 2021). Unsere Studie kann diese initialen, aber vielversprechenden Ergebnisse erstmals auch am Menschen bestätigen. Eine RD 2. Grades und eine trockene sowie feuchte Desquamation waren weniger häufig im Vergleich mit rezenten Toxizitätsbewertungen in der Literatur unter Anwendung moderner, hypofraktionierter Ganzbrustbestrahlung. Darüber hinaus zeigen die von den Patient*innen subjektiv berichteten Symptomgraduierungen, dass die NIPP-Behandlung im Vergleich zur alleinigen Standardhautpflege zu weniger Schmerzen, Juckreiz und Brennen führt. Die Ergebnisse der aktuellen Untersuchung und ausgewählter, hochqualitativer Studien zur akuten Toxizität nach hypofraktionierter Ganzbrustbestrahlung werden in Tabelle 6 dargelegt (Dejonckheere et al., 2022; Jagsi et al., 2015; Schmeel et al., 2020; Shaitelman et al., 2015).

Tab. 6: Vergleich zwischen der aktuellen Studie und ausgewählten rezenten Studien zur akuten Toxizität nach hypofraktionierter Ganzbrustbestrahlung. Ergebnisse bei Bestrahlungsende. Bewertung analog der allgemeinen Terminologiekriterien von unerwünschten Ereignissen (CTCAE) v5.0 für die aktuelle Studie und v4.0 für die übrigen Studien (für die untersuchten Endpunkte gibt es keine relevanten Unterschiede zwischen den beiden Versionen). * Zahl der Patient*innen in den jeweiligen Hypofraktionierungsarmen. ** Mittelwert des modifizierten RISRAS \pm Standardabweichung bei Dejonckheere et al., 2022 und Schmeel et al., 2020.

| Autor, Jahr | n | RD-Grad (%) | | | Desquamation (%) | | beurteilt durch Patient*innen (%) ** | | | |
|---------------------------|-------|-------------|----|----------|------------------|---------|--------------------------------------|--------------------------|--------------------------|---|
| | | 0 | 1 | ≥ 2 | trockene | feuchte | Schmerzen | Juckreiz | Brennen | Beeinträchtigungen alltäglicher Aktivitäten |
| Dejonckheere et al., 2022 | 30 | 17 | 67 | 17 | 7 | 3 | 47 0.53 \pm 0.63 | 36 0.40 \pm 0.56 | 17 0.17 \pm 0.38 | 23 0.30 \pm 0.60 |
| Schmeel et al., 2020 | 70 * | 21 | 51 | 27 | 34 | 9 | 0.62 \pm 0.66 | 0.89 \pm 0.93 | 0.63 \pm 0.68 | 0.24 \pm 0.66 |
| Shaitelman et al., 2015 | 138 * | 6 | 58 | 36 | - | - | 55 | 54 | - | - |
| Jagsi et al., 2015 | 578 * | 6 | 67 | 27 | 19 | 7 | 72 | 37 | 16 | 7 |

Zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist eine abschließende Einschätzung des klinischen Nutzens bzw. der endgültigen präventiven Wirkung von NIPP auf die RD jedoch noch nicht möglich, was mit der geringen Stichprobengröße der aktuellen Studie zusammenhängt, sowie mit dem Einsatz von NIPP als zusätzliche Behandlung zur Standardhautpflege. Darüber hinaus ist die Bewertung mittels CTCAE, eine visuelle und damit subjektive RD-Bewertungsmethode, unzureichend um die genaue Rolle zu bestimmen (Böhner et al., 2020; Robijns et al., 2019; Schmeel et al., 2019).

Die Behandlungsdauer und -frequenz wurden aufgrund der hervorragenden initialen Verträglichkeit von 60 Sekunden zweimal wöchentlich auf 180 Sekunden dreimal wöchentlich und dann auf 120 Sekunden fünfmal wöchentlich (d. h. täglich) erhöht, um Wechselwirkungen auszuschließen und eine effektive Dosis und das ideale Intervall für die Prävention der RD zu finden. Da bereits berichtet wurde, dass längere Behandlungszeiten mit einer erhöhten Ozonkonzentration (das als Surrogat für RONS verwendet wird, die bei der bakteriellen Dekolonisation eine wichtige Rolle spielen und somit eine akute RD verhindern können) einhergehen, stellen wir die Hypothese auf, dass eine weitere Dosis-Eskalation zu einem verstärkten Effekt und damit zu einem noch besseren Ergebnis führen könnte (Kost et al., 2022; Sakiyama et al., 2012). Die Freisetzung entzündungshemmender und regenerativer Signalmoleküle wird bei längerer NIPP-Verabreichung ebenfalls gefördert, was das Ergebnis ebenfalls verbessern kann (Eggers et al., 2022b). Vor allem bei Frauen mit größeren Brustvolumina ist die Größe der einzelnen Spacer relativ betrachtet zu klein, was wiederum zu einer erheblichen kumulativen Behandlungszeit führt. Da jedoch die Größe des Spacers ein limitierender Faktor ist, ist das derzeitige System wenig geeignet, diesem Umstand Rechnung zu tragen. Das Gerät wurde jedoch entwickelt für z. B. chronische Wunden und weitere kleinere Flächen, die unter die Abmessungen eines einzelnen 4 × 4 cm Spacers passen. Ein Spacer mit einem größeren Behandlungsbereich, der also einen größeren Teil der Brust abdeckt, wäre vorteilhaft und könnte die Behandlungszeit substantiell verkürzen, während die gleiche Menge NIPP verabreicht wird und somit vergleichbare Ergebnisse erreicht werden könnten. Außerdem verursacht die Verwendung mehrerer Spacer für eine einzelne Behandlungssitzung zusätzliche Kosten. Wenn weniger (oder nur ein einzelner) Spacer für eine einzelne Therapiesitzung verwendet werden könnten, wäre die Behandlung gleichwohl kostengünstiger und ökologisch nachhaltiger möglich.

RD hat eine komplizierte Pathophysiologie und die Mechanismen und Signalwege, durch die NIPP die Gewebeheilung günstig beeinflusst, sind noch größtenteils unbekannt. Die Dekolonisation von Bakterien, Viren und Pilzen könnte eine mögliche Erklärung sein. Die Funktion der Hautbarriere wird durch ionisierende Strahlung beeinträchtigt, entweder durch eine direkte Schädigung der DNA von Zellen in der epidermalen Basalzellschicht oder durch eine indirekte Schädigung der DNA durch die sekundäre Produktion von RONS (Hill et al., 2004; Robijns und Laubach, 2018). Infolge einer Entzündungsreaktion,

die durch Mikroben oder mikrobielle Antigene ausgelöst wird, kann die klinische Ausprägung der RD außerdem verstärkt werden und führt zu einer Abschwächung bzw. Verzögerung der adäquaten Heilung der epidermalen Barriere. Kost et al. (2022) bestätigten dies zuletzt in einer klinischen Studie: die einmal tägliche lokale Anwendung von Chlorhexidin auf der Haut führte, im Vergleich zur Standardhautpflege, zu einer signifikanten Verringerung der RD und feuchte Desquamation bei Patient*innen, die eine Ganzbrustbestrahlung erhielten. Da NIPP eine hocheffiziente antibakterielle Wirkung besitzt, könnte es ähnlich wirken, indem es die bakterielle Belastung des bestrahlten Integuments verringert und so die lokale Entzündungsreaktion minimiert (Daeschlein et al., 2015; Puligundla und Mok, 2017).

NIPP fördert die Proliferation und Migration von Keratinozyten, Fibroblasten und Endothelzellen und fazilitiert dadurch die Heilung des Gewebes, was ein weiterer möglicher Mechanismus sein könnte (Haertel et al., 2014). Die Beschleunigung der Neovaskularisation erhöht die vaskuläre Scherspannung, was somit die Angiogenese fördert. Ein dadurch erhöhter kapillarer Blutfluss, der durch diese neuen Gefäßnetze entsteht, erhöht außerdem auch die lokale Nährstoffversorgung und Sauerstoffsättigung des behandelten Gewebes (Duchesne et al., 2019; Kisch et al., 2016). Darüber hinaus wird die Transkription und Translation spezifischer DNA-Abschnitte, wie z. B. transformierender Wachstumsfaktor-beta, Typ-I-Kollagen und alpha-glattmuskuläres Aktin, die an einer effektiven Wundheilung beteiligt sind, durch NIPP induziert (Arndt et al., 2013).

Veränderungen in der Lipidstöchiometrie der Hautbarriere sind eine weitere mögliche Auswirkung der NIPP-Behandlung auf die Gewebereparatur (Marschewski et al., 2012). Es ist jedoch noch unklar, wie dies mit der Regulierung der Hautbarriere und somit der Vorbeugung der RD zusammenhängt.

Aufgrund der limitierten Stichprobengröße ist es derzeit nicht möglich, die klinische Wirksamkeit in den verschiedenen Subgruppen (Dauer und Frequenz der NIPP-Behandlung) zu analysieren. Diesbezüglich ist eine prospektive und randomisierte Studie notwendig unter Einschluss einer substanziiell größeren Zahl an Patient*innen.

Schlussfolgernd lässt sich festhalten, dass in diesem Kollektiv von Patient*innen, die eine adjuvante Ganzbrustbestrahlung erhielten, keine DLT gemeldet wurden, was somit die Sicherheit und Durchführbarkeit des DBE-generierten NIPP und damit des primären Studienziels beweist. Der tatsächliche klinische und möglicherweise dosisabhängige Nutzen von NIPP zur Prävention und/oder Behandlung der RD wird durch eine durch uns bereits initiierte und aktuell rekrutierende randomisierte, doppelblinde, placebokontrollierte Studie abschließend geklärt werden können.

1.5 Zusammenfassung

Die häufigste akute Nebenwirkung einer Ganzbrustbestrahlung ist die Radiodermatitis (RD), aber es gibt immer noch keine wirksamen prophylaktischen und/oder therapeutischen Behandlungsoptionen, was zu einer erheblichen körperlichen und psychischen Belastung vieler Patient*innen führt. Der Einsatz von nicht-invasivem physikalischem Plasma (NIPP), einer Form des vierten Aggregatzustands, charakterisiert durch freie Elektronen, hat sich bereits als praktikabler neuer Therapieansatz in der Behandlung einiger dermatologischer Erkrankungen erwiesen. In dieser Studie wurden erstmals die Durchführbarkeit und Sicherheit von NIPP in der Kombination mit einer simultan applizierten Strahlentherapie am Menschen untersucht. Eingeschlossen wurden 30 Patient*innen, die eine adjuvante hypofraktionierte Ganzbrustbestrahlung erhielten. Die bestrahlte Brust erhielt parallel zur Strahlentherapie eine NIPP-Behandlung und verschiedene Behandlungsdauern und -Frequenzen wurden evaluiert (60 Sekunden zweimal pro Woche, 180 Sekunden dreimal pro Woche, 120 Sekunden fünfmal pro Woche). Die RD wurde während und nach der Behandlung durch Ärzt*innen und Patient*innen beurteilt und die subjektiven Erfahrungen der Patient*innen mit NIPP erfasst. Außerdem wurden die potenziell anfallenden Bruttokosten bei variierenden Behandlungsregimen geschätzt. Zwar sind die bisher erhobenen Daten derzeit nicht ausreichend für eine suffizient gepowerte Analyse, doch erscheint die prophylaktische Anwendung eines topischen NIPP-Generators effektiv zur Vorbeugung der RD. Die beobachtete Prävalenz und Schweregrade sind im Vergleich zur rezenten Literatur seltener und milder, so auch die von den Patientinnen empfundenen Beschwerden (Schmerzen, Juckreiz, Brennen). Auch wurden bei keiner der Patient*innen topische

Kortikosteroide verschrieben, weder während der Bestrahlung noch im Nachsorgezeitraum. Die NIPP-Behandlung wurde von den Patient*innen als sehr verträglich empfunden und es wurden keine unerwünschten Geräteereignisse oder Neben- oder Wechselwirkungen im Zusammenhang mit NIPP dokumentiert. Die bakterielle Dekolonisation der Haut, eine Förderung der Proliferation und Migration spezifischer Zellgattungen, welche an der Gewebeheilung beteiligt sind und potenzielle Veränderungen der Lipidstöchiometrie der Hautbarriere sind mögliche Wirkungsmechanismen. Auf Grundlage des in dieser Studie nachgewiesenen Sicherheits- und Durchführbarkeitsprofils mit dem hier geprüften topischen NIPP-Generator, initiierten wir bereits eine randomisierte, doppelblinde, placebokontrollierte Studie, mit objektiven Messverfahren und unter Berücksichtigung der von den Patient*innen berichteten Ergebnisse, um die prophylaktische Effektivität einer NIPP-Behandlung in der Prävention der akuten RD im Rahmen der adjuvanten Ganzbrustbestrahlung als primäres Studienziel darzustellen.

1.6 Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung

Arndt S, Unger P, Wacker E, Shimizu T, Heinlin J, Li YF, Thomas HM, Morfill GE, Zimmermann JL, Bosserhoff AK, Karrer S. Cold atmospheric plasma (CAP) changes gene expression of key molecules of the wound healing machinery and improves wound healing in vitro and in vivo. *PLoS One* 2013; 8: e79325

Assadian O, Ousey KJ, Daeschlein G, Kramer A, Parker C, Tanner J, Leaper DJ. Effects and safety of atmospheric low-temperature plasma on bacterial reduction in chronic wounds and wound size reduction: a systematic review and meta-analysis. *Int Wound J* 2019; 16: 103–111

Behroozian T, Milton LT, Shear NH, McKenzie E, Razvi Y, Karam I, Pon K, Lam H, Lam E, Chow E. Radiation dermatitis assessment tools used in breast cancer: a systematic review of measurement properties. *Support Care Cancer* 2021a; 29: 226522–226578

Behroozian T, Milton LT, Zhang L, Lou J, Karam I, Lam E, Wong G, Szumacher E, Chow E. How do patient-reported outcomes compare with clinician assessments? A prospective

study of radiation dermatitis in breast cancer. *Radiother Oncol J Eur Soc Ther Radiol Oncol* 2021b; 159: 98–105

Bekeschus S, Schmidt A, Kramer A, Metelmann HR, Adler F, von Woedtke T, Niessner F, Weltmann KD, Wende K. High throughput image cytometry micronucleus assay to investigate the presence or absence of mutagenic effects of cold physical plasma. *Environ Mol Mutagen* 2018; 59: 268–277

Bernhardt T, Manda K, Hildebrandt G, Stachs O, Bekeschus S, Vollmar B, Emmert S, Boeckmann L. Kaltes Atmosphärendruckplasma zur Behandlung einer Radiodermatitis und Untersuchung objektiver Verlaufsparemeter im Mausmodell. Vortrag auf der 7. Plasmamedizin-Workshop in Magdeburg 2021

Boekema B, Stoop M, Vlig M, van Liempt J, Sobota A, Ulrich M, Middelkoop E. Antibacterial and safety tests of a flexible cold atmospheric plasma device for the stimulation of wound healing. *Appl Microbiol Biotechnol* 2021; 105: 2057–2070

Böhner AMC, Koch D, Schmeel FC, Röhner F, Schoroth F, Sarria GR, Abramian AV, Baumert BG, Giordano FA, Schmeel LC. Objective evaluation of risk factors for radiation dermatitis in whole-breast irradiation using the spectrophotometric L*a*b* colour-space. *Cancers (Basel)* 2020; 12: 2444

Brandenburg R. Dielectric barrier discharges: progress on plasma sources and on the understanding of regimes and single filaments. *Plasma Sources Sci Technol* 2018; 27: 79501

Chan RJ, Larsen E, Chan P. Re-examining the evidence in radiation dermatitis management literature: an overview and a critical appraisal of systematic reviews. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2012; 84: 357–362

Daeschlein G, Napp M, Lutze S, Arnold A, von Podewils S, Guembel D, Jünger M. Skin and wound decontamination of multidrug-resistant bacteria by cold atmospheric plasma coagulation. *J Der Dtsch Dermatologischen Gesellschaft* 2015; 13: 143–50

Dejonckheere CS, Torres-Crigna A, Layer JP, Layer K, Wiegrefe S, Sarria GR, Scafa D, Koch D, Leitzen C, Köksal MA, Müdder T, Abramian AV, Kaiser C, Faridi A, Stope MB, Mustea A, Giordano FA, Schmeel LC. Non-invasive physical plasma for preventing

radiation dermatitis in breast cancer: a first-in-human feasibility study. *Pharmaceutics* 2022; 14: 1767

Duchesne C, Banzet S, Lataillade JJ, Rousseau A, Frescaline N. Cold atmospheric plasma modulates endothelial nitric oxide synthase signalling and enhances burn wound neovascularisation. *J Pathol* 2019; 249: 368–380

Eggers B, Stope MB, Mustea A, Nokhbehshaim M, Heim N, Kramer FJ. Non-invasive physical plasma treatment after tooth extraction in a patient on antiresorptive medication promotes tissue regeneration. *Appl Sci* 2022a; 12: 3490

Eggers B, Stope MB, Marciniak J, Götz W, Mustea A, Deschner J, Nokhbehshaim M, Kramer FJ. Non-invasive physical plasma generated by a medical argon plasma device induces the expression of regenerative factors in human gingival keratinocytes, fibroblasts, and tissue biopsies. *Biomedicines* 2022b; 889

Finkelstein S, Kanee L, Behroozian T, Wolf JR, van den Hurk C, Chow E, Bonomo P. Comparison of clinical practice guidelines on radiation dermatitis: a narrative review. *Support Care Cancer* 2022; 30: 4663–4674

Gan L, Zhang S, Poorun D, Liu D, Lu X, He M, Duan X, Chen H. Medical applications of nonthermal atmospheric pressure plasma in dermatology. *J Der Dtsch Dermatologischen Gesellschaft* 2018; 16: 7–13

Gelbrich N, Stope MB, Burchardt M. Cold atmospheric plasma for the treatment of urological tumors. *Urologe A* 2019; 58: 673–679

Haertel B, von Woedtke T, Weltmann KD, Lindequist U. Non-thermal atmospheric-pressure plasma possible application in wound healing. *Biomol Ther (Seoul)* 2014; 22: 477–490

Haruna F, Lipsett A, Marignol L. Topical management of acute radiation dermatitis in breast cancer patients: a systematic review and meta-analysis. *Anticancer Res* 2017; 37: 5343–5353

Hennequin C, Barillot I, Azria D, Belkacémi Y, Bollet M, Chauvet B, Cowen D, Cutuli B, Fourquet A, Hannoun-Lévi JM, Leblanc M, Mahé MA. Radiotherapy of breast cancer. *Cancer Radiother* 2016; 20: S139–146

Hill A, Hanson M, Bogle MA, Duvic M. Severe radiation dermatitis is related to *Staphylococcus aureus*. *Am J Clin Oncol* 2004; 27: 361–363

Jablonowski L, Kocher T, Schindler A, Müller K, Dombrowski F, von Woedtke T, Arnold T, Lehmann A, Rupf S, Evert M, Evert K. Side effects by oral application of atmospheric pressure plasma on the mucosa in mice. *PLoS One* 2019; 14: e0215099

Jagsi R, Griffith KA, Boike TP, Walker E, Nurushev T, Grills IS, Moran JM, Feng M, Hayman JA, Pierce LJ. Differences in the acute toxic effects of breast radiotherapy by fractionation schedule: comparative analysis of physician-assessed and patient-reported outcomes in a large multicenter cohort. *JAMA Oncol* 2015; 1: 918–930

Jagsi R, Griffith KA, Vicini F, Boike TP, Dominello M, Gustafson G, Hayman JA, Moran JM, Radawski JD, Walker E, Pierce LJ. Identifying patients whose symptoms are underrecognized during treatment with breast radiotherapy. *JAMA Oncol* 2022; 8: 887–894

Kisch T, Schleusser S, Helmke A, Mauss KL, Wenzel ET, Hasemann B, Mailaender P, Kraemer R. The repetitive use of non-thermal dielectric barrier discharge plasma boosts cutaneous microcirculatory effects. *Microvasc Res* 2016; 106: 8–13

Kletschkus K, Haralambiev L, Mustea A, Bekeschus S, Stope MB. Review of innovative physical therapy methods: introduction to the principles of cold physical plasma. *In Vivo* 2020; 34: 3103–3107

Kluge S, Bekeschus S, Bender C, Benkhail H, Sckell A, Below H, Stope MB, Kramer A. Investigating the mutagenicity of a cold argon-plasma jet in an HET-MN model. *PLoS One* 2016; 11: e0160667

Kost Y, Mieczkowska K, Deutsch A, Nazarian R, Muskat A, Hosgood D, Lin J, Shinoda K, Daily J, Kabarriti R, Ohri N, McLellan B. Bacterial decolonization to prevent acute radiation dermatitis: a randomised controlled trial. *J Clin Oncol* 2022; 40: LBA12003

Marschewski M, Hirschberg J, Omairi T, Höfft O, Viöl W, Emmert S, Maus-Friedrichs W. Electron spectroscopic analysis of the human lipid skin barrier: cold atmospheric plasma-induced changes in lipid composition. *Exp Dermatol* 2012; 21: 921–925

Noble-Adams R. Radiation-induced skin reactions. 3: evaluating the RISRAS. *Br J Nurs* 1999; 8: 1305–1312

Offersen BV, Boersma LJ, Kirkove C, Hol S, Aznar MC, Sola AB, Kirova YM, Pignol JP, Remouchamps V, Verhoeven K, Weltens C, Arenas M, Gabrys D, Kopek N, Krause M, Lundstedt D, Marinko T, Montero A, Yarnold J, Poortmans P. ESTRO consensus guideline on target volume delineation for elective radiation therapy of early stage breast cancer. *Radiother Oncol* 2015; 114: 3–10

Puligundla P, Mok C. Potential applications of nonthermal plasmas against biofilm-associated micro-organisms in vitro. *J Appl Microbiol* 2017; 122: 1134–1148

Riley PA. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int J Radiat Biol* 1994; 65: 27–33

Robijns J, Laubach HJ. Acute and chronic radiodermatitis: clinical signs, pathophysiology, risk factors and management options. *J Egypt Women's Dermatologic Soc* 2018; 15: 2–9

Robijns J, Censabella S, Claes S, Pannekoeke L, Bussé L, Colson D, Kaminski I, Lodewijckx J, Bulens P, Maes A, Noé L, Brosens M, Timmermans A, Lambrichts I, Somers V, Mebis J. Biophysical skin measurements to evaluate the effectiveness of photobiomodulation therapy in the prevention of acute radiation dermatitis in breast cancer patients. *Support Care Cancer* 2019; 27: 1245–1254

Sakiyama Y, Graves DB, Chang HW, Shimizu T, Morfill GE. Plasma chemistry model of surface microdischarge in humid air and dynamics of reactive neutral species. *J Phys D Appl Phys* 2012; 45: 425201

Schmeel LC, Koch D, Schmeel FC, Bücheler BM, Leitzen C, Mahlmann B, Kunze D, Heimann M, Brüser D, Abramian AV, Schoroth F, Müdder T, Röhner F, Garbe S, Baumert BG, Schild HH, Wilhelm-Buchstab TM. Hydrofilm polyurethane films reduce radiation dermatitis severity in hypofractionated whole-breast irradiation: an objective, inpatient randomized dual-center assessment. *Polymers (Basel)* 2019; 11: 2112

Schmeel LC, Koch D, Schmeel FC, Röhner F, Schoroth F, Bücheler BM, Mahlmann B, Leitzen C, Schüller H, Tschirner S, Fuhrmann A, Heimann M, Brüser D, Abramian AV, Müdder T, Garbe S, Vornholt S, Schild HH, Baumert BG, Wilhelm-Buchstab TM. Acute

radiation-induced skin toxicity in hypofractionated vs. conventional whole-breast irradiation: an objective, randomized multicenter assessment using spectrophotometry. *Radiother Oncol J Eur Soc Ther Radiol Oncol* 2020; 146: 172–179

Schmidt A, von Woedtke T, Stenzel J, Lindner T, Polei S, Vollmar B, Bekeschus S. One year follow-up risk assessment in SKH-1 mice and wounds treated with an argon plasma jet. *Int J Mol Sci* 2017; 18: 868

Shaitelman SF, Schlembach PJ, Arzu I, Ballo M, Bloom ES, Buchholz D, Chronowski GM, Dvorak T, Grade E, Hoffman KE, Kelly P, Ludwig M, Perkins GH, Reed V, Shah S, Stauder MC, Strom EA, Tereffe W, Woodward WA, Ensor J, Baumann D, Thompson M, Amaya D, Davis T, Guerra W, Hamblin L, Hortobagyi G, Hunt KK, Buchholz TA, Smith BD. Acute and short-term toxic effects of conventionally fractionated vs. hypofractionated whole-breast radiation: a randomized clinical trial. *JAMA Oncol* 2015; 1: 931–941

Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin* 2022; 72: 7–33

Stratmann B, Costea TC, Nolte C, Hiller J, Schmidt J, Reindel J, Masur K, Motz W, Timm J, Kerner W, Tschoepe D. Effect of cold atmospheric plasma therapy vs. standard therapy placebo on wound healing in patients with diabetic foot ulcers: a randomized clinical trial. *JAMA Netw Open* 2020; 3: e2010411

U.S. Department of Health and Human Services, 2017: Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 5.0. https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic_applications/docs/ctcae_v5_quick_reference_5x7.pdf (Zugriffsdatum: 01.10.2021)

Yee C, Wang K, Asthana R, Drost L, Lam H, Lee J, Vesprini D, Leung E, DeAngelis C, Chow E. Radiation-induced skin toxicity in breast cancer patients: a systematic review of randomized trials. *Clin Breast Cancer* 2018; 18: e825–840

2. Veröffentlichung



Article

Non-Invasive Physical Plasma for Preventing Radiation Dermatitis in Breast Cancer: A First-In-Human Feasibility Study

Cas Stefaan Dejonckheere ¹, Adriana Torres-Crigna ¹, Julian Philipp Layer ^{1,2}, Katharina Layer ¹, Shari Wiegrefte ¹, Gustavo Renato Sarria ¹, Davide Scafa ¹, David Koch ¹, Christina Leitzen ¹, Mümtaz Ali Köksal ¹, Thomas Müdder ³, Alina Abramian ³, Christina Kaiser ³, Andree Faridi ³, Matthias Bernhard Stope ⁴, Alexander Mustea ⁴, Frank Anton Giordano ¹ and Leonard Christopher Schmeel ^{1,*}

¹ Department of Radiation Oncology, University Hospital Bonn, 53127 Bonn, Germany

² Institute of Experimental Oncology, University Hospital Bonn, 53127 Bonn, Germany

³ Department of Gynaecology, Division of Senology, University Hospital Bonn, 53127 Bonn, Germany

⁴ Department of Gynaecology and Gynaecological Oncology, University Hospital Bonn, 53127 Bonn, Germany

* Correspondence: christopher.schmeel@kbonn.de

Citation: Dejonckheere, C.S.; Torres-Crigna, A.; Layer, J.P.; Layer, K.; Wiegrefte, S.; Sarria, G.R.; Scafa, D.; Koch, D.; Leitzen, C.; Köksal, M.A.; et al. Non-Invasive Physical Plasma for Preventing Radiation Dermatitis in Breast Cancer: A First-In-Human Feasibility Study. *Pharmaceutics* 2022, 14, 1767. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14091767>

Academic Editors: Michael Mildner and Hendrik Jan Ankersmit

Received: 28 July 2022
Accepted: 22 August 2022
Published: 24 August 2022

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Radiation dermatitis (RD) is the most common acute side effect of breast irradiation. More than a century following the therapeutic utilisation of X-rays, potent preventative and therapeutic options are still lacking. Non-invasive physical plasma (NIPP) is an emerging approach towards treatment of various dermatological disorders. In this study, we sought to determine the safety and feasibility of a NIPP device on RD. Thirty patients undergoing hypofractionated whole-breast irradiation were included. Parallel to radiation treatment, the irradiated breast was treated with NIPP with different application regimens. RD was assessed during and after NIPP/radiation, using clinician- and patient-reported outcomes. Additionally, safety and feasibility features were recorded. None of the patients was prescribed topical corticosteroids and none considered the treatment to be unpleasant. RD was less frequent and milder in comparison with standard skin care. Neither NIPP-related adverse events nor side effects were reported. This proven safety and feasibility profile of a topical NIPP device in the prevention and treatment of RD will be used as the framework for a larger inpatient-randomised double-blind placebo-controlled trial, using objective and patient-reported outcome measures as an endpoint.

Keywords: non-invasive physical plasma; cold atmospheric plasma; cold atmospheric pressure plasma; tissue tolerable plasma; physical plasma medicine; radiation dermatitis; breast cancer; radiation therapy; feasibility

1. Introduction

Early breast cancer remains the most common cancer diagnosis [1]. Treatment usually includes lumpectomy followed by adjuvant whole-breast irradiation (WBI) to improve local control and survival [2]. Radiation dermatitis (RD) is the most common acute side effect of breast irradiation, arising in up to 85% of patients and being of moderate to severe degree in up to 30% [3–6]. Not only does it impact quality of life (QOL), but treatment interruptions might be necessary in severe cases, compromising disease control outcomes [4,6]. Despite continuous research efforts, effective preventive and therapeutic alternatives are lacking. Furthermore, substantial variation in the management of RD amongst practitioners persists, as compelling guidelines are yet to be published [4,7].

Non-invasive physical plasma (NIPP) is emerging as a promising novel treatment modality for various skin conditions, such as psoriasis, eczema, diabetic ulcers, and different types of dermatitis [8,9]. Physical plasma is referred to as the fourth state of matter and is characterised by free electrons [10]. Contrary to thermal plasma, NIPP is generated using a high-frequency alternating field under atmospheric pressure, and therefore, only reaches room temperatures, rendering it safe for clinical application. Dielectric barrier discharges (DBD) are a type of NIPP, generated out of ambient air, without the need of a carrier gas [11]. The reactive mix of electrons, ions, excited atoms, reactive oxygen and nitrogen species (RONS), UV radiation, and heat that arises has been shown to positively affect tissue healing in a dose-dependent manner [12]. NIPP treatment is well-tolerated, and no side effects have been reported in previous series for other treatment purposes [13–16].

DBD-generated NIPP for preventing or treating RD has not yet been studied in a clinical setting. However, limited preclinical data in mice suggest effectiveness (i.e., delayed onset and reduced severity of RD) [17]. In the current first-in-human feasibility study, we evaluate safety and toxicity, practicality, gross costs, and preliminary efficacy. The herein obtained results will be considered as baseline for a future prospective clinical trial to evaluate the effect on incidence and severity of RD in patients undergoing WBI (DRKS00026225).

2. Materials and Methods

2.1. Participants

From October 2021 through April 2022, we conducted a monocentric, single-arm phase I study enrolling patients that were scheduled for WBI of any side. Inclusion criteria were: age > 18 years, breast-conserving surgery for breast cancer, and a fractionation regimen of 40.05 Gy in 15 fractions of 2.67 Gy with or without a sequential normofractionated boost to the tumour bed of 16 Gy in 8 fractions of 2 Gy. The exclusion criteria were defined as synchronous metastatic disease, mastectomy, breast implant reconstruction, alternative fractionation regimens, history of ipsilateral breast irradiation, any pre-existing dermatological disorders, active dermatitis, current treatment with topical or oral corticosteroids, and patient refusal to participate. A written informed consent was obtained from all included participants. This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and the protocol was approved by the local Institutional Review Board on 29 September 2021 (210/21).

2.2. Radiation Protocol

All treatment plans were generated with 6-MV or combined energies up to 10-MV photons, either with tangential intensity-modulated radiotherapy (IMRT) beams or volumetric modulated arc therapy (VMAT). In invasive cancer cases, a sequential normofractionated boost to the tumour bed (16 Gy in 8 fractions of 2 Gy) was applied in patients with positive margins following surgical resection, patients aged 50 and younger, and patients aged above 51 in case of a high grade tumour (\geq pT2, HER2/neu positive, triple-negative, G3).

Contouring was carried out following the ESTRO consensus guideline [18]. Treatment planning aimed to achieve a homogenous dose distribution in the target volume. The International Commission on Radiation Units and Measurements (ICRU) recommendations for dose limits of 95% to 107% were applied.

All patients were treated on a TrueBeam STx (Varian Medical Systems, Palo Alto, CA, USA) linear accelerator in a supine position with both arms up. Left-sided WBI was performed in deep inspiration breath-hold (DIBH) for compliant patients.

2.3. Standard Skin Care

Standard skin care with a urea-based lotion (Eucerin UreaRepair PLUS 5% Urea Lotion, Beiersdorf, Hamburg, Germany) was applied to the whole breast. All patients received oral and written information to apply the urea lotion twice daily, from the first day of treatment onwards, according to institutional standards. In addition, they were encouraged not to use any complementary topical treatment. Compliance was checked during the scheduled patient visits. Patients presenting with grade ≥ 2 RD with moist desquamation and severe pain were prescribed topical corticosteroids if required until symptoms resolved.

2.4. NIPP Protocol

To generate and apply the NIPP, a wireless topical plasma generator (plasma derma care, terraplasma medical, Garching, Germany) was employed. The device was pressed loosely on the skin with a 4×4 cm spacer per patient and visit, to achieve an optimal and reproducible distance to the skin (Figure 1). This process was repeated in all patients until the entire breast surface was treated. Three different treatment durations and frequencies were explored: 60 s of NIPP administration twice a week, 180 s three times a week, and 120 s five times a week, using the device's pre-set program ensuring a constant dose of NIPP (defined as a constant dose of ozone, used as a surrogate for RONS) [19].



Figure 1. Generation and application of NIPP to the breast. The device is pressed loosely on the skin with a separate 4×4 cm spacer for each patient and each visit. NIPP = non-invasive physical plasma.

2.5. Patient Evaluation

Patients were evaluated at the routine weekly on-treatment visits. Any additional visits requested by the participants were also recorded. RD was assessed according to the National Cancer Institute's Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v5.0: grade 0 = no radiation dermatitis; grade 1 = faint erythema or dry desquamation; grade 2 = moderate to brisk erythema, patchy moist desquamation, mostly confined to skin folds and creases, moderate oedema; grade 3 = moist desquamation in areas other than skin folds and creases, bleeding induced by minor trauma or abrasion; grade 4 = life-threatening consequences, skin necrosis or ulceration of full thickness dermis, spontaneous bleeding from involved site, skin graft indicated; grade 5 = death [20]. Upon completion of radiotherapy, toxicity was graded by an experienced breast radiation oncologist.

By the end of treatment, as well as during the first follow-up visits two and six weeks after treatment completion, the patient-assessed modified Radiation-Induced Skin Reaction Assessment Scale (RISRAS) was recorded [21]. All patients reported their maximum breast-related experience of pain, itching, burning, as well as limitations in daily activities. All items were scored on a 4-point Likert scale: 0 = not at all; 1 = a little; 2

= quite a bit; 3 = very much. Furthermore, the subjective experience of each patient was monitored with four yes-no statements (Table 1).

Table 1. The subjective experience of patients was monitored with four yes-no statements.

| |
|---|
| 1. I found the NIPP treatment to be unpleasant. |
| 2. I would recommend NIPP treatment to a friend undergoing irradiation for breast cancer. |
| 3. I would also have wanted to be treated with NIPP to potentially prevent and/or treat RD outside of this study. |
| 4. I have the impression that my symptoms have been reduced by the NIPP treatment. |

NIPP = non-invasive physical plasma; RD = radiation dermatitis.

2.6. Feasibility

Besides clinical outcomes, safety and potential harm, practicality (from both patients' and physicians' point of view), as well as gross costs were documented, in order to assess the overall feasibility of NIPP in preventing and/or treating RD in breast cancer patients undergoing WBI. Operator satisfaction was defined as the user's comfort with and acceptability of the device studied. Adverse device events (ADEs) were defined as unexpected adverse events related to the use of the investigational medical device, including those resulting from insufficiencies or inadequacies in the instructions for use, the deployment, the operation, or any malfunction.

3. Results

3.1. Patient Characteristics

A flowchart of patient selection and inclusion is shown in Figure 2. Patient and treatment characteristics are summarised in Table 2. A total of 30 patients were included (90.0% Caucasian; 96.7% female), with a median age of 56 (30–83) years. Fitzpatrick II was the most common skin type, present in 76.7% of patients. Neoadjuvant or concomitant chemo- and/or immunotherapy were administered in 26.7%, and hormone therapy was prescribed in 83.3%. Half of all patients had an indication for a sequential boost to the tumour bed. The median breast planning target volume (PTV) was 798 (129–1771) mL, whereas the median boost PTV was 126 (52–307) mL.

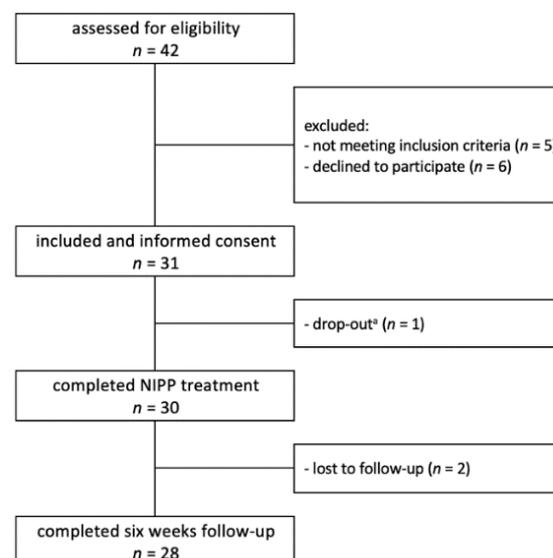


Figure 2. Flowchart of patient selection. NIPP = non-invasive physical plasma. ^a Interruption of radiation treatment for 7 days due to community-acquired pneumonia.

Table 2. Summary of patient and treatment characteristics ($n = 30$).

| Median Age (Range) in Years | 56 (30–83) |
|-----------------------------|----------------|
| Sex | n (%) |
| female | 29 (96.7) |
| male | 1 (3.3) |
| Ethnicity | n (%) |
| Caucasian | 27 (90.0) |
| other | 3 (10.0) |
| Fitzpatrick skin type | n (%) |
| I | 4 (13.3) |
| II | 23 (76.7) |
| III | 3 (10.0) |
| Side | n (%) |
| left | 16 (53.3) |
| right | 14 (46.7) |
| pT-stage | n (%) |
| Tis | 6 (20) |
| T1 | 19 (63.3) |
| T2 | 4 (13.3) |
| T3 | 1 (3.3) |
| pN-stage | n (%) |
| N0 | 25 (83.3) |
| N1 | 5 (16.7) |
| Boost | 15 (50.0) |
| Median PTV Breast (mL) | 798 (129–1771) |
| Median PTV Boost (mL) | 126 (52–307) |

pT = pathological stage of the primary tumour; Tis = carcinoma in situ; pN = pathological stage of the regional lymph nodes; PTV = planning target volume.

3.2. NIPP Application Regimens

To determine the optimal treatment duration and frequency, different application regimens were explored. In the first 3 patients (10%), treatment time was 60 s twice a week. No dose-limiting toxicities (DLTs) were observed, i.e., no increase in RD severity compared to standard skin care up to six weeks of follow-up. Because of the excellent tolerance in these patients, treatment time was increased to 180 s three times a week (80%). In the last 3 patients (10%), a further dose intensification to 120 s five times a week was investigated.

3.3. Severe Adverse Reactions

No severe adverse reactions or interactions deemed related to NIPP therapy, but not radiation therapy, were observed, regardless of the duration or frequency of NIPP applications.

3.4. Acute Skin Toxicity as Assessed by Clinicians (Clinician-Reported Outcome)

At the time of treatment completion, 13.3% of patients in the no-boost group ($n = 15$) had no RD, while 80% and 6.7% developed grade 1 and grade 2 RD, respectively. In the boost group, these rates were 20%, 53.3%, and 26.7%. No grade ≥ 3 RD was observed (Figure 3A). Dry desquamation was seen in only 2 patients (6.7%) and moist desquamation in 1 patient (3.3%), all occurring in the boost group.

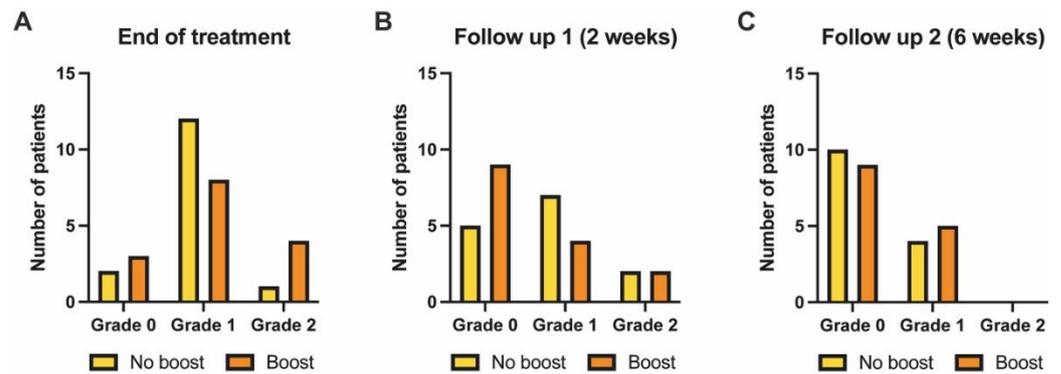


Figure 3. Maximum severity of radiation dermatitis (A) upon NIPP and radiation treatment completion and (B) at two and (C) six weeks follow-up, stratified by absence (yellow) or presence (orange) of a sequential normofractionated boost. Grading according to the National Cancer Institute's Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v5.0 [20]. NIPP = non-invasive physical plasma.

Two weeks after treatment completion, the rate and severity of RD was grade 0 in 35.7%, grade 1 in 50%, and grade 2 in 14.3% within the no-boost group; proportionally, these rates were 60%, 26.7%, and 13.3% in the boost group (Figure 3B).

At six weeks following breast irradiation, grade 2 RD was not observed anymore. The incidence of RD in the no-boost group was 71.4% and 28.6% for grade 0 and grade 1 RD, respectively. In the boost group, these incidences were 64.3% and 35.7% (Figure 3C).

None of the patients was prescribed topical corticosteroids during radiotherapy or follow-up period.

Figure 4A–E shows the evolution of acute toxicity (RD, hyperpigmentation, oedema, and dry and moist desquamation) during and after adjuvant radiation treatment in combination with NIPP.

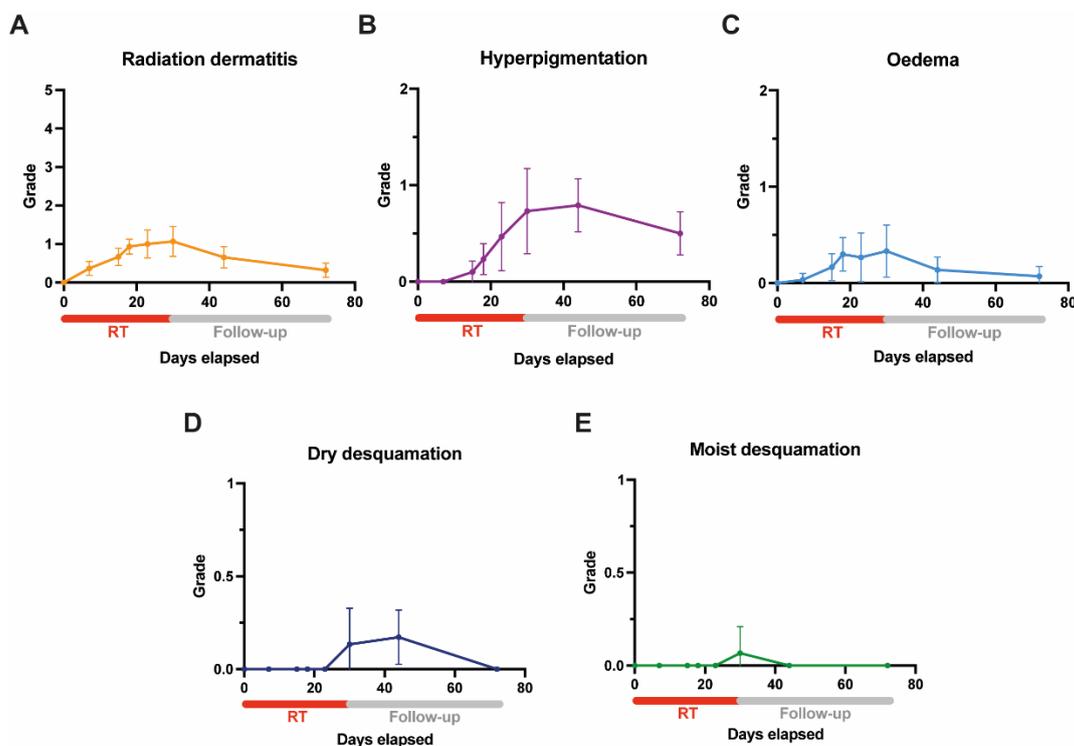


Figure 4. Evolution of mean acute toxicity for the entire cohort during (routine weekly on-treatment visits) and after (two- and six-weeks follow-up) adjuvant whole-breast irradiation in combination with NIPP: (A) radiation dermatitis, (B) hyperpigmentation, (C) oedema, and (D) dry and (E) moist desquamation. Grading according to the National Cancer Institute's Common Terminology Criteria

for Adverse Events (CTCAE) v5.0 [20]. Error bars indicate 95% confidence intervals. NIPP = non-invasive physical plasma; RT = radiation treatment.

3.5. Acute Skin Toxicity and Treatment Experience as Assessed by Patients (Patient-Reported Outcome)

The results of the patient-assessed modified RISRAS questionnaire, upon treatment completion, are shown in Table 3.

Table 3. Results of the patient-assessed modified Radiation-Induced Skin Reaction Assessment Scale (RISRAS) questionnaire upon treatment completion [21]. All items were scored on a 4-point Likert scale.

| <i>n</i> (%) | Not at All | a Little | Quite a Bit | Very Much |
|---------------------------|------------|-----------|-------------|-----------|
| Pain | 16 (53.3) | 12 (40) | 2 (6.6) | 0 (0) |
| Itching | 19 (63.3) | 10 (33.3) | 1 (3.3) | 0 (0) |
| Burning | 25 (83.3) | 5 (16.7) | 0 (0) | 0 (0) |
| Limitations in ADL | 23 (76.7) | 5 (16.7) | 2 (6.6) | 0 (0) |

ADL = activities of daily living.

Regarding the subjective patient experience of the NIPP treatment, none of the patients found the treatment to be unpleasant, whereas all would recommend NIPP treatment to a friend undergoing irradiation for breast cancer. Outside of this study, 93.1% would also have wanted to be treated with NIPP during WBI (3.4% are undecided) and 27.6% believed that their symptoms had been reduced by the NIPP treatment (51.7% do not know).

3.6. Handling and Practicality

There were no ADEs (i.e., no insufficiencies or inadequacies in the instructions for use, deployment, or operation), and no malfunctions were reported. Operator satisfaction was high as the investigational NIPP device is easy to use and can be rapidly changed in between patients using the included docking station.

3.7. Cost Estimation

NIPP can be applied by a single healthcare professional or prospectively even by patients themselves and requires only minimal training as the device is user-friendly and self-explanatory.

The plasma derma care device set is offered for EUR 2900.00. A single 4 × 4 cm spacer, which is needed for NIPP application, costs EUR 14.00 and can be used up to 10 min. A detailed overview of the estimated weekly number of spacers, spacer cost, and additional treatment time, for the different treatment durations and frequencies, is provided in Table 4.

Table 4. Estimated weekly number of spacers, spacer cost, and additional treatment time (excluding possible waiting time and time needed to replace used spacers) for a mean breast surface area of 12 × 16 cm (i.e., 3 × 4 spacers). The grey areas indicate the three different treatment duration and frequency combinations that were explored in the current study. Cost and time estimates may vary depending on breast size.

| | | NIPP Treatment Frequency Per Week | | | | | |
|--------------------------------------|-------|-----------------------------------|-----------|------------|-------------|-------------|-------------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | |
| NIPP treatment duration ^a | 60 s | spacers/w | 1–2 | 2–4 | 3–6 | 4–8 | 5–10 |
| | | cost/w | EUR 14–28 | EUR 28–56 | EUR 42–84 | EUR 56–112 | EUR 70–140 |
| | | time/w | 10–20 min | 20–40 min | 30–60 min | 40–80 min | 50–100 min |
| | 120 s | spacers/w | 2–3 | 4–6 | 6–9 | 8–12 | 10–15 |
| | | cost/w | EUR 28–42 | EUR 56–84 | EUR 84–126 | EUR 112–168 | EUR 140–210 |
| | | time/w | 20–30 min | 40–60 min | 1–1.5 h | 80–120 min | 100–150 min |
| | 180 s | spacers/w | 3–4 | 6–8 | 9–12 | 12–16 | 15–20 |
| | | cost/w | EUR 42–56 | EUR 84–112 | EUR 126–168 | EUR 168–224 | EUR 210–280 |
| | | time/w | 30–40 min | 60–80 min | 1.5–2 h | 120–160 min | 150–200 min |

^a Per 4 × 4 cm area of breast skin. NIPP = non-invasive physical plasma; w = week.

4. Discussion

Even though RD is the most common acute side effect of breast irradiation and in radiation oncology overall, there has been little progress in the development of new topical preventative and treatment agents. This results in a significant physical and psychological impact among a large proportion of patients affected by RD. While topical corticosteroids are effective in reducing RD-induced symptoms, widespread use remains limited due to its side effect profile [4]. Despite some experimental products showing promising results in RD prevention or management, barely any of them proved efficacious in randomised trials [22]. Reasons for this predicament are manifold, but primarily, there are two sets of factors. Firstly, studies on RD often encompass a heterogeneous patient population with either varying dose-fractionation regimens or treatment sites, or lack comparison groups, not to mention placebo controls. A second issue is the subjectivity of physician-assessed grading of RD such as CTCAE with high inter- and intra-observer variability. This may also be accompanied by significant discrepancies with patient-reported outcomes, e.g., when evaluating the impact of RD on QOL [23–25]. There is a need for objective RD assessment methods, while simultaneously acknowledging the patient's perspective, in order to investigate future prevention and treatment strategies.

As NIPP is emerging as a promising novel treatment modality for a number of skin conditions and positively affects tissue healing without side effects, it is of major interest to test its clinical application and value in RD. In this first-in-human feasibility study, we therefore investigated the safety, practicality, and gross costs of a topical NIPP-based prevention and treatment method for RD in breast cancer irradiation.

RONS play a crucial role in tissue damage induced by ionising radiation [26]. However, in the context of NIPP therapy, RONS are also significantly involved in tissue healing and regeneration, necessitating a feasibility and dose escalation study for the combination of NIPP and radiation [12]. In vitro and in vivo studies have shown that NIPP application to human skin cells does not result in any impairment of cell physiology, cytology, nor DNA integrity, making it safe for clinical application [13,15,27–29]. Overall, the use of NIPP in the current study was safe and practical from both the patient's and the physician's point of view, along with excellent patient compliance.

A preclinical placebo-controlled trial in irradiated mice showed delayed onset and reduced severity of RD [17]. These promising initial observations were confirmed in the current study, at least for the time being: grade ≥ 2 RD, dry and moist desquamations were less frequent in comparison with recent high-quality toxicity assessments in contemporary hypofractionated WBI. The patient-reported outcomes also indicate a reduced incidence of pain, itching, and burning following NIPP treatment compared to standard skin care. Table 5 compares clinician- and patient-reported outcomes of the current study and selected previous studies on acute toxicity following hypofractionated WBI [3,6,30]. The clinical benefit of these differences, i.e., an actual effect of NIPP application, however, cannot be accurately determined yet. This relates to the relatively small sample size and the use of NIPP as a potential add-on treatment. Additionally, the use of visual and thus subjective physician-assessed RD grading such as CTCAE does not suffice to establish its exact role [31–33].

Table 5. Comparison between the current study and selected previous studies of acute toxicity incidence and severity upon treatment completion following hypofractionated whole-breast irradiation, including assessment of PRO.

| Author (year) | n | RD Grade ^b | | | Desquamation | | PRO | | | |
|-------------------------------|------------------|-----------------------|-----|----------|--------------|-------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| | | 0 | 1 | ≥ 2 | dry | moist | pain | itching | burning | ADL limitations |
| Current study (2022) | 30 | 17% | 67% | 17% | 7% | 3% | 0.53 \pm 0.63 ^c (47%) | 0.40 \pm 0.56 ^c (36%) | 0.17 \pm 0.38 ^c (17%) | 0.30 \pm 0.60 ^c (23%) |
| Schmeel et al., (2020) [6] | 70 ^a | 21% | 51% | 27% | 34% | 9% | 0.62 \pm 0.66 ^c | 0.89 \pm 0.93 ^c | 0.63 \pm 0.68 ^c | 0.24 \pm 0.66 ^c |
| Shaitelman et al., (2015) [3] | 138 ^a | 6% | 58% | 36% | N/A | N/A | 55% | 54% | N/A | N/A |
| Jagsi et al., (2015) [30] | 578 ^a | 6% | 67% | 27% | 19% | 7% | 72% | 37% | 16% | 7% |

^a Number of patients in the hypofractionation arm. ^b CTCAE v5.0 for the current study and CTCAE v4.0 for the others. ^c Mean modified RISRAS \pm standard deviation. RD = radiation dermatitis; PRO = patient-reported outcome; ADL = activities of daily living; N/A = not available.

The individual spacer size is relatively small, resulting in a considerable cumulative treatment time, especially for women with larger breast size. Because of the excellent initial tolerance with 60 s twice a week, the treatment time and frequency were increased to 180 s three times a week and subsequently 120 s five times a week (i.e., daily), in order to identify the optimal dose and interval. We hypothesise that an additional dose escalation step might yield an even better outcome, since it has been shown that longer treatment times generate more ozone, used as a surrogate for RONS, key players in bacterial decolonisation, which might prevent acute RD [19,34]. Furthermore, with

increased NIPP treatment duration, the secretion of anti-inflammatory and regenerative signalling molecules is also promoted, which could also lead to a better outcome [16]. The current device, however, is rather unsuitable to accommodate for this, since the spacer size is a limiting factor. A spacer with a larger treatment area, encompassing larger areas of the breast would deem useful and could reduce the total treatment time while delivering the same dose of NIPP, resulting in a similar outcome. The device was, however, designed to treat smaller surfaces such as chronic wounds, which are more likely to fit within the dimensions of a single spacer. Furthermore, the use of multiple spacers for a single treatment session yields an additional cost. If fewer or a single spacer could be used for individual treatment sessions, it would significantly reduce the cost, and also entail a more sustainable treatment method.

The pathophysiology of RD is complex and the signalling pathways and mechanisms in which NIPP positively affects tissue healing are not yet fully understood. One possible explanation might lie in bacterial decolonisation. Ionising radiation disrupts skin barrier function through direct DNA damage in epidermal basal layer cells or indirect DNA damage due to secondary formation of RONS [35,36]. Microorganisms or microbial antigens may subsequently trigger an inflammatory response, which enhances the clinical appearance of RD through an increased immune reaction. This also impairs the repair of the epidermal barrier and further prolongs RD. A recent report underpins this hypothesis: the local use of chlorhexidine body wash once daily significantly lowered median RD severity and prevented moist desquamation in patients undergoing breast irradiation when compared to standard skin care [34]. NIPP may work in a similar fashion by reducing the bacterial load on the irradiated skin, thereby mitigating the local inflammatory reaction, since the highly effective antimicrobial activity of NIPP is well-documented [37,38].

A further mechanism might be that NIPP promotes the proliferation and migration of keratinocytes, fibroblasts, and endothelial cells, thus facilitating tissue recovery [39]. In the latter, tube formation is accelerated, improving vascular shear stress and contributing to angiogenesis. These new vascular networks lead to enhanced capillary blood flow and result in increased local oxygen saturation and nutrient supply [40,41]. Furthermore, NIPP induces the expression of genes relevant to proper wound healing in immune cells (e.g., type I collagen, transforming growth factor-beta, and alpha-smooth muscle actin) [42].

An additional possible effect of NIPP on tissue healing includes significant changes to the human skin barrier lipid stoichiometry [43]. The relevance of this in the light of skin barrier regulation, however, is still poorly understood.

An analysis of the potential differences in efficacy between the different NIPP treatment duration and frequency subgroups is not possible at this time due to the small sample size. The main scope of the current study was safety, tolerability, and feasibility; therefore, a thorough assessment of the (possibly dose-dependent) efficacy will be performed in a randomised, prospective fashion. Patient recruitment is ongoing to elucidate the actual clinical value of NIPP in WBI-associated RD management. Additionally, the assessment of biochemical markers of inflammation could be of added value.

5. Conclusions and Future Perspectives

DBD-generated NIPP proved to be safe and feasible with no DLT events in this cohort of patients undergoing adjuvant WBI. An ongoing randomised double-blind placebo-controlled trial to evaluate the effect of NIPP on RD will elucidate the clinical value of this approach in a larger number of patients.

Author Contributions: Conceptualization, L.C.S.; methodology, C.S.D., M.B.S. and L.C.S.; validation, C.S.D. and L.C.S.; formal analysis, C.S.D., J.P.L. and L.C.S.; investigation, C.S.D., A.T.-C. and L.C.S.; resources, C.S.D. and L.C.S.; data curation, C.S.D. and L.C.S.; writing—original draft preparation, C.S.D.; writing—review and editing, C.S.D., A.T.-C., J.P.L., K.L., S.W., G.R.S., D.S.,

D.K., C.L., M.A.K., T.M., A.A., C.K., A.F., M.B.S., A.M., F.A.G. and L.C.S.; visualization, C.S.D. and J.P.L.; supervision, L.C.S.; project administration, C.S.D. and L.C.S. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: This study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki, and the protocol was approved by the Institutional Review Board of the University Hospital Bonn in September 2021 (210/21).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from all subjects involved in the study.

Data Availability Statement: Not applicable.

Acknowledgments: The authors would like to thank Katja Klever and Monika Brüggemann for their technical expertise and assistance in conducting this study, as well as Jens Kirsch, Stefanie Ascher, Lisa Gebhardt, and Mara Murgia from terraplasma medical for kindly providing the plasma derma care device free of charge.

Conflicts of Interest: None of the authors declared any conflict of interest or personal, financial, professional, political, or legal interest that could have a significant chance of interfering with the data presented here. The sponsors had no role in the design, execution, interpretation, or writing of the study.

References

1. Siegel, R.L.; Miller, K.D.; Fuchs, H.E.; Jemal, A. Cancer statistics. *CA Cancer J. Clin.* **2022**, *72*, 7–33. <https://doi.org/10.3322/caac.21708>.
2. Hennequin, C.; Barillot, I.; Azria, D.; Belkacémi, Y.; Bollet, M.; Chauvet, B.; Cowen, D.; Cutuli, B.; Fourquet, A.; Hannoun-Levi, J.M.; et al. Radiotherapy of breast cancer. *Cancer Radiother.* **2016**, *20*, 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.canrad.2016.07.025>.
3. Shaitelman, S.F.; Schlembach, P.J.; Arzu, I.; Ballo, M.; Bloom, E.S.; Buchholz, D.; Chronowski, G.M.; Dvorak, T.; Grade, E.; Hoffman, K.E.; et al. Acute and short-term toxic effects of conventionally fractionated vs. hypofractionated whole-breast radiation: A randomized clinical trial. *JAMA Oncol.* **2015**, *1*, 931–941. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.2666>.
4. Haruna, F.; Lipsett, A.; Marignol, L. Topical management of acute radiation dermatitis in breast cancer patients: A systematic review and meta-analysis. *Anticancer Res.* **2017**, *37*, 5343–5353. <https://doi.org/10.21873/anticancer.11960>.
5. Chan, R.J.; Larsen, E.; Chan, P. Re-examining the evidence in radiation dermatitis management literature: An overview and a critical appraisal of systematic reviews. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **2012**, *84*, e357–e362. <https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2012.05.009>.
6. Schmeel, L.C.; Koch, D.; Schmeel, F.C.; Röhner, F.; Schoroth, F.; Bücheler, B.M.; Mahlmann, B.; Leitzen, C.; Schüller, H.; Tschirner, S.; et al. Acute radiation-induced skin toxicity in hypofractionated vs. conventional whole-breast irradiation: An objective, randomized multicenter assessment using spectrophotometry. *Radiother. Oncol. J. Eur. Soc. Ther. Radiol. Oncol.* **2020**, *146*, 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2020.02.018>.
7. Finkelstein, S.; Kanee, L.; Behroozian, T.; Wolf, J.R.; van den Hurk, C.; Chow, E.; Bonomo, P. Comparison of clinical practice guidelines on radiation dermatitis: A narrative review. *Support. Care Cancer* **2022**, *30*, 4663–4674. <https://doi.org/10.1007/s00520-022-06829-6>.
8. Gan, L.; Zhang, S.; Poorun, D.; Liu, D.; Lu, X.; He, M.; Duan, X.; Chen, H. Medical applications of nonthermal atmospheric pressure plasma in dermatology. *JDDG J. Dtsch. Dermatol. Ges.* **2018**, *16*, 7–13. <https://doi.org/10.1111/ddg.13373>.
9. Stratmann, B.; Costea, T.-C.; Nolte, C.; Hiller, J.; Schmidt, J.; Reindel, J.; Masur, K.; Motz, W.; Timm, J.; Kerner, W.; et al. Effect of cold atmospheric plasma therapy vs. standard therapy placebo on wound healing in patients with diabetic foot ulcers: A randomized clinical trial. *JAMA Netw. Open* **2020**, *3*, e2010411. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2020.10411>.
10. Kletschkus, K.; Haralambiev, L.; Mustea, A.; Bekeschus, S.; Stope, M.B. Review of innovative physical therapy methods: Introduction to the principles of cold physical plasma. *In Vivo* **2020**, *34*, 3103–3107. <https://doi.org/10.21873/invivo.12143>.
11. Brandenburg, R. Dielectric barrier discharges: Progress on plasma sources and on the understanding of regimes and single filaments. *Plasma Sources Sci. Technol.* **2018**, *27*, 79501. <https://doi.org/10.1088/1361-6595/aaced9>.
12. Gelbrich, N.; Stope, M.B.; Burchardt, M. Cold atmospheric plasma for the treatment of urological tumors. *Urologe A* **2019**, *58*, 673–679. <https://doi.org/10.1007/s00120-018-0754-8>.
13. Boekema, B.; Stoop, M.; Vlig, M.; van Liempt, J.; Sobota, A.; Ulrich, M.; Middelkoop, E. Antibacterial and safety tests of a flexible cold atmospheric plasma device for the stimulation of wound healing. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2021**, *105*, 2057–2070. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11166-5>.
14. Assadian, O.; Ousey, K.J.; Daeschlein, G.; Kramer, A.; Parker, C.; Tanner, J.; Leaper, D.J. Effects and safety of atmospheric low-temperature plasma on bacterial reduction in chronic wounds and wound size reduction: A systematic review and meta-analysis. *Int. Wound J.* **2019**, *16*, 103–111. <https://doi.org/10.1111/iwj.12999>.

15. Kluge, S.; Bekeschus, S.; Bender, C.; Benkhail, H.; Sckell, A.; Below, H.; Stope, M.B.; Kramer, A. Investigating the Mutagenicity of a Cold Argon-Plasma Jet in an HET-MN Model. *PLoS ONE* **2016**, *11*, e0160667. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160667>.
16. Eggers, B.; Stope, M.B.; Marciniak, J.; Götz, W.; Mustea, A.; Deschner, J.; Nokhbehshaim, M.; Kramer, F.-J. Non-Invasive Physical Plasma Generated by a Medical Argon Plasma Device Induces the Expression of Regenerative Factors in Human Gingival Keratinocytes, Fibroblasts, and Tissue Biopsies. *Biomedicines* **2022**, *10*, 889. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10040889>.
17. Bernhardt, T.; Manda, K.; Hildebrandt, G.; Stachs, O.; Bekeschus, S.; Vollmar, B.; Emmert, S.B.L. *Kaltes Atmosphärendruckplasma zur Behandlung einer Radiodermatitis und Untersuchung objektiver Verlaufsparameter im Mausmodell*; Wiley: Hoboken, NJ, USA, 2021.
18. Offersen, B.V.; Boersma, L.J.; Kirkove, C.; Hol, S.; Aznar, M.C.; Sola, A.B.; Kirova, Y.M.; Pignol, J.-P.; Remouchamps, V.; Verhoeven, K.; et al. ESTRO consensus guideline on target volume delineation for elective radiation therapy of early stage breast cancer. *Radiother. Oncol.* **2015**, *114*, 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2014.11.030>.
19. Sakiyama, Y.; Graves, D.B.; Chang, H.-W.; Shimizu, T.; Morfill, G.E. Plasma chemistry model of surface microdischarge in humid air and dynamics of reactive neutral species. *J. Phys. D Appl. Phys.* **2012**, *45*, 425201. <https://doi.org/10.1088/0022-3727/45/42/425201>.
20. Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) Version 5.0 n.d. Available online: https://ctep.cancer.gov/protocoldevelopment/electronic_applications/docs/ctcae_v5_quick_reference_5x7.pdf (accessed on 1 October 2021).
21. Noble-Adams, R. Radiation-induced skin reactions 3: Evaluating the RISRAS. *Br. J. Nurs.* **1999**, *8*, 1305–1312. <https://doi.org/10.12968/bjon.1999.8.19.1305>.
22. Yee, C.; Wang, K.; Asthana, R.; Drost, L.; Lam, H.; Lee, J.; Vesprini, D.; Leung, E.; DeAngelis, C.; Chow, E. Radiation-induced Skin Toxicity in Breast Cancer Patients: A Systematic Review of Randomized Trials. *Clin. Breast Cancer* **2018**, *18*, e825–e840. <https://doi.org/10.1016/j.clbc.2018.06.015>.
23. Behroozian, T.; Milton, L.; Zhang, L.; Lou, J.; Karam, I.; Lam, E.; Wong, G.; Szumacher, E.; Chow, E. How do patient-reported outcomes compare with clinician assessments? A prospective study of radiation dermatitis in breast cancer. *Radiother. Oncol.* **2021**, *159*, 98–105. <https://doi.org/10.1016/j.radonc.2021.03.020>.
24. Behroozian, T.; Milton, L.T.; Shear, N.H.; McKenzie, E.; Razvi, Y.; Karam, I.; Pon, K.; Lam, H.; Lam, E.; Chow, E. Radiation dermatitis assessment tools used in breast cancer: A systematic review of measurement properties. *Support. Care Cancer* **2021**, *29*, 2265–2278. <https://doi.org/10.1007/s00520-020-05889-w>.
25. Jagsi, R.; Griffith, K.A.; Vicini, F.; Boike, T.; Dominello, M.; Gustafson, G.; Hayman, J.A.; Moran, J.M.; Radawski, J.D.; Walker, E. et al. Identifying patients whose symptoms are under-recognized during treatment with breast radiotherapy. *JAMA Oncol.* **2022**, *8*, 887–894. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2022.0114>.
26. Riley, P.A. Free Radicals in Biology: Oxidative Stress and the Effects of Ionizing Radiation. *Int. J. Radiat. Biol.* **1994**, *65*, 27–33. <https://doi.org/10.1080/09553009414550041>.
27. Jablonowski, L.; Kocher, T.; Schindler, A.; Müller, K.; Dombrowski, F.; Von Woedtke, T.; Arnold, T.; Lehmann, A.; Rupf, S.; Evert, M.; et al. Side effects by oral application of atmospheric pressure plasma on the mucosa in mice. *PLoS ONE* **2019**, *14*, e0215099. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215099>.
28. Bekeschus, S.; Schmidt, A.; Kramer, A.; Metelmann, H.-R.; Adler, F.; von Woedtke, T.; Niessner, F.; Weltmann, K.-D.; Wende, K. High throughput image cytometry micronucleus assay to investigate the presence or absence of mutagenic effects of cold physical plasma. *Environ. Mol. Mutagen.* **2018**, *59*, 268–277. <https://doi.org/10.1002/em.22172>.
29. Schmidt, A.; Woedtke, T.; von Stenzel, J.; Lindner, T.; Polei, S.; Vollmar, B.; Bekeschus, S. One Year Follow-Up Risk Assessment in SKH-1 Mice and Wounds Treated with an Argon Plasma Jet. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *18*, 868. <https://doi.org/10.3390/ijms18040868>.
30. Jagsi, R.; Griffith, K.A.; Boike, T.P.; Walker, E.M.; Nurushev, T.; Grills, I.S.; Moran, J.M.; Feng, M.; Hayman, J.; Pierce, L.J. Differences in the Acute Toxic Effects of Breast Radiotherapy by Fractionation Schedule: Comparative analysis of physician-assessed and patient-reported outcomes in a large multicenter cohort. *JAMA Oncol.* **2015**, *1*, 918–930. <https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.2590>.
31. Böhner, A.M.C.; Koch, D.; Schmeel, F.C.; Röhner, F.; Schoroth, F.; Sarria, G.R.; Abramian, A.-V.; Baumert, B.G.; Giordano, F.A.; Schmeel, L.C. Objective Evaluation of Risk Factors for Radiation Dermatitis in Whole-Breast Irradiation Using the Spectrophotometric L*a*b Color-Space. *Cancers* **2020**, *12*, 2444. <https://doi.org/10.3390/cancers12092444>.
32. Schmeel, L.; Koch, D.; Schmeel, F.; Bücheler, B.; Leitzen, C.; Mahlmann, B.; Kunze, D.; Heimann, M.; Brüser, D.; Abramian, A.-V.; et al. Hydrofilm Polyurethane Films Reduce Radiation Dermatitis Severity in Hypofractionated Whole-Breast Irradiation: An Objective, Intra-Patient Randomized Dual-Center Assessment. *Polymers* **2019**, *11*, 2112. <https://doi.org/10.3390/polym11122112>.
33. Robijns, J.; Censabella, S.; Claes, S.; Pannekoeke, L.; Bussé, L.; Colson, D.; Kaminski, I.; Lodewijckx, J.; Bulens, P.; Maes, A.; et al. Biophysical skin measurements to evaluate the effectiveness of photobiomodulation therapy in the prevention of acute radiation dermatitis in breast cancer patients. *Support. Care Cancer* **2019**, *27*, 1245–1254. <https://doi.org/10.1007/s00520-018-4487-4>.
34. Kost, Y.; Mieczkowska, K.; Deutsch, A.; Nazarian, R.; Muskat, A.; Hosgood, D.; Lin, J.; Shinoda, K.; Daily, J.; Kabarriti, R.; et al. Bacterial decolonization to prevent acute radiation dermatitis: A randomized controlled trial. *J. Clin. Oncol.* **2022**, *40*, LBA12003. https://doi.org/10.1200/jco.2022.40.17_suppl.lba12003.
35. Hill, A.; Hanson, M.; Bogle, M.A.; Duvic, M. Severe Radiation Dermatitis is Related to Staphylococcus Aureus. *Am. J. Clin. Oncol.* **2004**, *27*, 361–363. <https://doi.org/10.1097/01.coc.0000071418.12121.c2>.

36. Robijns, J.; Laubach, H.-J. Acute and chronic radiodermatitis: Clinical signs, pathophysiology, risk factors and management options. *J. Egypt Women's Dermatol. Soc.* **2018**, *15*, 2–9.
37. Puligundla, P.; Mok, C. Potential applications of nonthermal plasmas against biofilm-associated micro-organisms in vitro. *J. Appl. Microbiol.* **2017**, *122*, 1134–1148. <https://doi.org/10.1111/jam.13404>.
38. Daeschlein, G.; Napp, M.; Lutze, S.; Arnold, A.; von Podewils, S.; Guembel, D.; Jünger, M. Skin and wound decontamination of multidrug-resistant bacteria by cold atmospheric plasma coagulation. *JDDG J. Dtsch. Dermatol. Ges.* **2015**, *13*, 143–150. <https://doi.org/10.1111/ddg.12559>.
39. Haertel, B.; von Woedtke, T.; Weltmann, K.-D.; Lindequist, U. Non-Thermal Atmospheric-Pressure Plasma Possible Application in Wound Healing. *Biomol. Ther.* **2014**, *22*, 477–490. <https://doi.org/10.4062/biomolther.2014.105>.
40. Kisch, T.; Schleusser, S.; Helmke, A.; Mauss, K.L.; Wenzel, E.T.; Hasemann, B.; Mailaender, P.; Kraemer, R. The repetitive use of non-thermal dielectric barrier discharge plasma boosts cutaneous microcirculatory effects. *Microvasc. Res.* **2016**, *106*, 8–13. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2016.02.008>.
41. Duchesne, C.; Banzet, S.; Lataillade, J.; Rousseau, A.; Frescaline, N. Cold atmospheric plasma modulates endothelial nitric oxide synthase signalling and enhances burn wound neovascularisation. *J. Pathol.* **2019**, *249*, 368–380. <https://doi.org/10.1002/path.5323>.
42. Arndt, S.; Unger, P.; Wacker, E.; Shimizu, T.; Heinlin, J.; Li, Y.-F.; Thomas, H.M.; Morfill, G.E.; Zimmermann, J.L.; Bosserhoff, A.K.; et al. Cold Atmospheric Plasma (CAP) Changes Gene Expression of Key Molecules of the Wound Healing Machinery and Improves Wound Healing In Vitro and In Vivo. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e79325. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079325>.
43. Marschewski, M.; Hirschberg, J.; Omairi, T.; Höfft, O.; Viöl, W.; Emmert, S.; Maus-Friedrichs, W. Electron spectroscopic analysis of the human lipid skin barrier: Cold atmospheric plasma-induced changes in lipid composition. *Exp. Dermatol.* **2012**, *21*, 921–925. <https://doi.org/10.1111/exd.12043>.

3. Danksagung

Ich möchte mich gerne bei Herrn Priv.-Doz. Dr. Schmeel für die Überlassung des Themas, die ausgezeichnete Betreuung und die kollegiale Zusammenarbeit im Zeitraum meiner Promotion bedanken. Auch danke ich Klinikdirektor Herrn Univ.-Prof. Dr. Giordano und allen beteiligten Koautoren für die Unterstützung und das Feedback bei der Anfertigung der Publikation. Des Weiteren danke ich Frau Klever und Frau Brüggemann für ihre Unterstützung bei der Durchführung dieser klinischen Studie, sowie Herrn Kirsch, Frau Ascher, Frau Gebhardt und Frau Murgia von terraplasma medical um die Geräte kostenlos zur Verfügung zu stellen. Zuletzt gilt ein besonderer Dank meiner liebevollen Freundin Teresa, die mich stets unterstützt hat.