

INTERNATIONAL
CONSENSUS

DIE ROLLE VON PROTEASEN IN DER WUNDDIAGNOSTIK

Ein Expertenkonsens



REDAKTEUR:
Suzie Calne

HERAUSGEBER:
Kathy Day

REDAKTIONSLEITER:
Jason Beckford-Ball

DRUCK:
Printwells

VERÖFFENTLICHT:
Wounds International
Enterprise House
1-2 Hatfields
London SE1 9PG, UK
Tel: + 44 (0)20 7627 1510
Fax: +44 (0)20 7627 1570
info@woundsinternational.com
www.woundsinternational.com

© Wounds International 2011

Unterstützung durch uneinge-
schränkte Forschungsgelder
der Firma Systagenix.



Die hier geäußerten Ansichten
sind die der Autoren
und entsprechen nicht
notwendigerweise denen von
Systagenix.

**Literaturangabe dieser Veröf-
fentlichung:**

International consensus. *The
role of proteases in wound
diagnostics. An expert working
group review.* London: Wounds
International, 2011.

VORWORT

Im Februar 2011 traf sich eine internationale Expertengruppe in Kapstadt, Südafrika, um das Konsensdokument *Diagnostics and Wounds*¹ der World Union of Wound Healing Societies (WUWHS) aus dem Jahr 2008 weiterzuentwickeln. Das Ziel war, die Bedeutung der Proteaseaktivität bei der Wundheilung zu analysieren und einen entsprechenden Konsens über den Wert eines einfach anwendbaren Point-of-Care-Proteasentests, d.h. einer patientennahen Diagnostik, in der klinischen Praxis zu erreichen.

Der Schlüssel für den Erfolg eines solchen Tests bei Klinikärzten ist das eindeutige Wissen, wann, wie und warum ein solcher Test anzuwenden ist. Die einhellige Expertenmeinung der Teilnehmer bestätigte nochmals, dass, bei Ausschluss aller anderen Gründe, die Proteaseaktivität derzeit den besten verfügbaren Biomarker einer beeinträchtigten Wundheilung darstellt, und dass die effiziente Anwendung eines Proteasentestkits direkt am Patienten das Potential hat, die Wundbehandlung weltweit zu ändern.

Professor Keith Harding



EXPERTENARBEITSGRUPPE

Keith Harding, School of Medicine, Cardiff University (UK)

David G Armstrong, Southern Arizona Limb Salvage Alliance (SALSA), University of Arizona (USA)

Simon Barrett, Humber NHS Foundation Trust (UK)

Hanna Kaufman, Wound Healing Unit, Maccabi Healthcare Services, Haifa (Israel)

Jose Luis Lázaro-Martínez, Diabetic Foot Unit, Universidad Complutense, Madrid (Spain)

Dieter Mayer, Clinic for Cardiovascular Surgery, University Hospital of Zurich (Switzerland)

Zena Moore, Royal College of Surgeons in Ireland, Dublin (Ireland)

Marco Romanelli, Wound Healing Unit, University of Pisa (Italy)

Douglas Queen, Department of Dermatology & Wound Healing, Cardiff University (UK)

Greg Schultz, University of Florida, Gainesville, Florida (USA)

Thomas Serena, Pennsylvania North Centers for Advanced Wound Care, Pennsylvania (USA)

Gary Sibbald, University of Toronto (Canada)

Robert Snyder, Wound Healing Center, University Hospital, Florida (USA)

Robert Strohal, Federal University Teaching Hospital of Feldkirch (Austria)

Kathryn Vowden, University of Bradford and Bradford Teaching Hospitals NHS Foundation Trust (UK)

Peter Vowden, University of Bradford and Bradford Teaching Hospitals NHS Foundation Trust (UK)

Paolo Zamboni, University of Ferrara (Italy)

Was sind Proteasen?

Proteasen (auch bekannt als Proteinasen) haben eine Schlüsselrolle im normalen Wundheilungsprozess (Tabelle 1)². Proteasen sind Enzyme, die auf Proteine einwirken, indem sie diese in Peptide und Aminosäuren aufspalten. In der Wundheilung sind Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) und Serinproteasen, wie z.B. Elastase, die wichtigsten Proteasen. Im Allgemeinen wirken verschiedene Wundproteasen auf verschiedene Proteine ein. Dazu gehören die extrazelluläre Matrix (EZM) und Bindegewebsproteine, wie Kollagen, Gelatine, Proteoglykane und Elastin.

Im normalen Wundheilungsprozess spalten Proteasen beschädigte EZM-Proteine und Fremdmaterial auf, damit sich neues Gewebe bilden und der Wundverschluss in einer geordneten Weise ablaufen kann. Ist jedoch der Spiegel der Proteaseaktivität zu hoch, ist das empfindliche Gleichgewicht zwischen Gewebeabbau und -aufbau gestört.

Ein Übermaß an Wundproteasen führt zu einem Abbau neu gebildeter EZM und anderer Proteine, wie z.B. Wachstumsfaktoren und -rezeptoren. Infolgedessen ist die Wundheilung beeinträchtigt durch Schädigung der EZM und abnorme Verlängerung des entzündlichen Stadiums des Heilungsprozesses, was das Übergehen der Wunde in die proliferative Phase verhindert².



Die Proteasenaktivität ist ein essenzieller Teil der Wundheilung³. Gerät die Proteasenaktivität jedoch außer Kontrolle und wird sie nicht überprüft, können die Proteasen in der Wunde der extrazellulären Matrix, den Wachstumsfaktoren sowie Rezeptoren so viel Schaden zufügen, dass die Heilung beeinträchtigt und normales Gewebe zerstört wird

HERKUNFT VON PROTEASEN

Proteasen werden sowohl von Entzündungsprozessen als auch durch Sekretion von den am Reparaturprozess beteiligten eingebundenen Zellen, wie z.B. Fibroblasten und Endothelzellen produziert. Zum Beispiel wird die humane neutrophile Elastase (HNE) von Neutrophilen produziert und ist für den Abbau von Fibronectin in nicht heilenden Wunden verantwortlich.

Dies ist wichtig, da die Abbauprodukte von Fibronectin die weitere Freisetzung von MMPs stimulieren^{4,5}. Intaktes Fibronectin (welches für die Zelladhäsion und die Signalübermittlung des Wachstumsfaktors benötigt wird) fehlt in nicht heilenden Wunden, tritt aber nachweislich mit Einsetzen des Heilungsprozesses wieder im Wundbett auf⁶.

Erhöhte Eisenwerte im Gewebe bei chronischen Venenerkrankungen aufgrund einer Extravasation roter Blutkörperchen gelten als weiterer Stimulus für die Überexpression von MMPs⁷. Außerdem besteht ein signifikant erhöhtes Risiko, ein venöses Beingeschwür zu entwickeln, bei Patienten mit einer chronischen Venenerkrankung, die zusätzlich eine Hämochromatose-Genmutation (C282Y) aufweisen, die einen abnormen Eisenmetabolismus verursacht⁸.

In der Zukunft könnten Tests auf genetische Varianten ein Teil des Screening-Verfahrens zur Beurteilung des Risikos für eine Ulzeration und die Wahrscheinlichkeit der Heilung werden. Eine weitere Ursache von Proteasen in Wunden sind Bakterien. Zusätzlich zu einer Stimulation der Proteaseproduktion durch Aktivierung des Immunsystems können einige Bakterien in

Was sind Proteasen?

Proteasen sind Enzyme, die Proteine in Peptide und Aminosäuren aufspalten. Die wichtigsten Proteasen der Wundheilung sind Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) und Serinproteasen wie z.B. Elastase. Im Allgemeinen wirken verschiedene Wundproteasen auf verschiedene Proteine. Dazu gehören auch die Proteine der extrazellulären Matrix (EZM) und des Bindegewebes, wie Kollagen, Gelatine, Proteoglykane und Elastin).

Tabelle 1 | Hauptfunktionen der Proteasen bei der normalen Wundheilung²

Phasen der Wundheilung	Funktion der Proteasen
■ Entzündung	■ Entfernen der beschädigten EZM (unterstützt das autolytische Debridement)
■ Proliferation	■ Abbau der Basalmembran der Kapillaren zur Angiogenese ■ Unterstützung bei der Zelltrennung und Zellmigration
■ Remodellierung	■ Kontraktion der extrazellulären Narbenmatrix ■ Remodellierung der extrazellulären Narbenmatrix.

Wunden selbst Proteasen absondern. Die Bedeutung der aus Bakterien stammenden Proteasen auf die Wundheilung und ihr Beitrag zur gesamten Proteaseaktivität in Wunden muss jedoch noch geklärt werden.



Über Proteasen weiß man gegenwärtig mehr als über jeden anderen biochemischen, an der Wundheilung beteiligten Marker

ERHÖHTE PROTEASEAKTIVITÄT ALS MARKER NICHT HEILENDER WUNDEN

Eine Vielzahl an Belegen aus Tierversuchen und klinischen Studien lässt vermuten, dass in Wunden, die keinen Fortschritt in der Heilung aufweisen, eine erhöhte Proteaseaktivität (vor allem der MMPs und der humanen neutrophilen Elastase [HNE]) vorliegt⁹⁻²⁰.

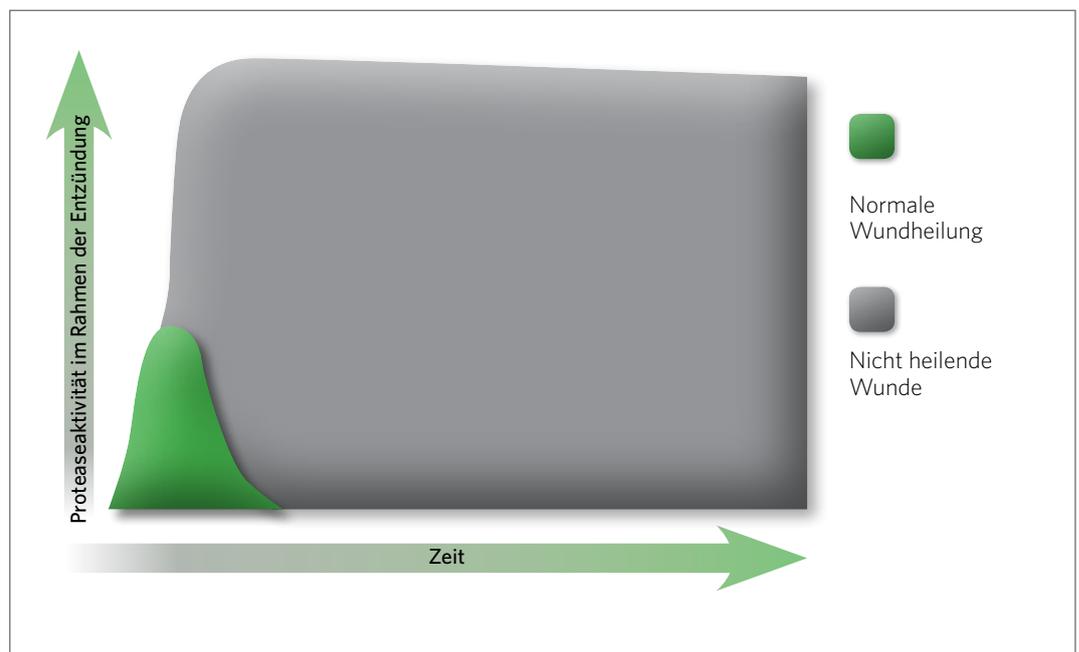
Im normalen Verlauf der Wundheilung steigt der Proteasenspiegel zunächst schnell an^{21,22}. Die Werte erreichen ihren Höhepunkt ungefähr an Tag 3 und sinken etwa ab Tag 5 wieder ab (Abbildung 1). In nichtheilenden Wunden erreichen Proteasen jedoch nicht nur einen höheren Wert als in heilenden Wunden, sondern sie treten dort auch über längere Zeiträume auf. Das Ergebnis ist ein der Heilung entgegenwirkendes Wundmilieu.

Obwohl die Beziehung zwischen Proteasen, Entzündung und der Wundheilung weitgehend bekannt ist, gibt es noch andere mit Entzündungen assoziierte Marker (wie TNF-Alpha), die sich als potentielle Kandidaten für weitere diagnostische Tests eignen könnten²³. Allerdings deutet die Literatur daraufhin, dass die Proteasen den vielversprechendsten Biomarker zur Beurteilung der Wundheilung auf biochemischer Ebene darstellen.



Die Gründe für das Ungleichgewicht zwischen erhöhter Proteaseproduktion und dem Mangel an Proteasehemmung bei nicht heilenden oder chronischen Wunden sind nicht vollständig bekannt, aber ein regelmäßiges Monitoring der Proteaseaktivität während der Behandlung kann zu einer angemessenen Therapie beitragen

Abbildung 1 | Veränderungen der Proteaseaktivität in Wunden



Welche Funktion haben Proteasen?

Bei der Schulung von Klinikärzten zu Proteasen ist es wichtig, das Konzept von Gleichgewicht und Ungleichgewicht in der Heilung zu vermitteln, d.h. das Gleichgewicht zwischen Bildung und Abbau von EZM. Die wichtigsten Lernziele hierbei sind:

- Proteasen sind wichtig für die Organisation und die Bildung neuer EZM. Am Anfang der akuten Wundheilung gibt es einen so genannten „Burst“, einen explosionsartigen Anstieg der Proteaseaktivität. Bei einer normalen Wundheilung erreicht die Aktivität in den ersten Tagen den Höhepunkt und sinkt dann innerhalb einer Woche auf einen sehr niedrigen Wert ab²¹
- Stimuli, die möglicherweise die hohe Proteaseaktivität verlängern, sind unter anderem das Vorliegen von geschädigtem Gewebe, Fremdmaterial, Bakterien und Biofilmen
- Ist die Proteaseaktivität zu hoch, wird die EZM abgebaut und zerstört und neu gebildetes Gewebe beschädigt, das Wundbett beeinträchtigt und die Heilung verzögert
- Eingriffe, mit denen schädliche Proteasen reduziert und das Ungleichgewicht ausgeglichen wird, können die Heilung unterstützen²⁴.

Kästchen 1: Terminologie von Störungen der Wund- heilung (nach²⁵):

- Chronische Wunden
- Verzögerte Heilung
- Schwer heilende Wunden
- Stagnierende Wunden
- Hartnäckige Verzögerung
- Schwierige Heilung
- Komplexe Wunden
- Nicht ansprechende Wunden

Besuchen Sie zur weiteren Diskussion über nicht heilende Wunden die Chronic Wound Debate im Wounds International Journal, Band 1; Nr. 2 (www.woundsinternational.com)

PROGNOSTIZIERTE PROBLEME BEI DER HEILUNG

Schwer heilende Wunden werden oft als „chronisch“ bezeichnet. Dies ist jedoch nicht hilfreich, da der Begriff „chronisch“ eine lange Dauer und die Notwendigkeit beinhaltet, abzuwarten, ob eine Wunde langsam verheilt. Klinikärzte wissen, dass Wunden bei Patienten mit bestimmten Begleiterkrankungen (z.B. Diabetes mellitus) oder Patienten, die bestimmte Arzneimittel einnehmen (z.B. Steroide) schon ab dem Zeitpunkt des Auftretens als schwer heilend eingestuft werden können.

Weiterhin könnte der Begriff „chronisch“ akute Wunden, z.B. Operationswunden mit problematischem Heilungsprozess, ausschließen. Deshalb wird eine Reihe von Begriffen verwendet, um langsam oder schwer heilende Wunden zu bezeichnen. (siehe Kästchen 1, links).

Zahlreiche andere Faktoren können neben der Dauer die Fähigkeit zur Heilung beeinflussen. Die Anfangsbeurteilung aller Wunden sollte eine Beurteilung dieser Faktoren einschließen (Tabelle 2). Daher sollte der Therapieplan für Patienten mit allen Arten von Wunden die Behandlung aller korrigierbaren Faktoren beinhalten. Das frühe Erkennen der korrigierbaren Faktoren bietet Klinikärzten die Möglichkeit, eine Therapie anzuwenden, die den Heilungsprozess beschleunigen kann.

Genauso wichtig ist es jedoch für den Klinikarzt zu erkennen, wenn es äußerst unwahrscheinlich ist, dass eine Wunde jemals heilen wird (z.B. bei Patienten mit Malignom oder fortgeschrittener Erkrankung, während einer Chemotherapie oder bei hochdosierten Steroiden).



ANSATZPUNKTE FÜR DIE PRAXIS

Die Bedeutung der Proteaseaktivität

- Eine hohe Proteaseaktivität ist der beste verfügbare biochemische Marker, um Störungen der Heilung sowohl bei akuten als auch bei chronischen Wunden vorherzusagen
- Entsprechen die Aktivität und das Verhältnis der Proteasen in der Wunde der Phase der Wundheilung, wird die Heilung geordneter und zeitnah verlaufen
- Untersuchungen sollten zur Bestimmung und Klärung folgender Aspekte durchgeführt werden:
 - Welche Werte der Proteaseaktivität sind während eines autolytischen Debridements angemessen
 - Warum und an welchem speziellen Punkt der Heilungskurve kann sich das Gleichgewicht der Proteaseaktivität verschieben
 - Die typische Proteaseaktivität bei stagnierenden und heilenden Wunden für verschiedene Wundtypen z.B. bei Druckgeschwüren, vaskulitischen Wunden
 - Wie beeinflussen Faktoren, wie Alter, Hormonspiegel und Begleiterkrankungen die Proteaseaktivität?
 - Synergistische und chronologische Beziehungen zwischen verschiedenen Proteasen, d.h. Zusammenarbeit der verschiedenen MMPs und Elastasen beim Abbau der EZM-Proteine
 - Die Bedeutung des Beitrags von Bakterien auf die Proteaseaktivität
- Die Einrichtung eines Registers, in dem Daten über die Aktivität von Proteasen in Wunden unterschiedlichen Typs in verschiedenen Stadien der Heilung gesammelt werden, könnte nützliche Informationen zur Prognose einer Wundheilung liefern.

REDUZIERUNG DER WUNDFLÄCHE ALS ANZEICHEN DER WUNDHEILUNG

Forschungsergebnisse weisen darauf hin, dass eine Reduzierung der Wundfläche in den Wochen 2 bis 4 ein gutes prognostisches Zeichen für die Fähigkeit zur Heilung bis Woche 12 ist. Bei einem venösen Unterschenkelgeschwür ermöglicht eine Reduzierung der Wundfläche um 20 - 40 % innerhalb von 2 bis 4 Wochen nachweislich die Prognose einer Heilung²⁷, bei einem diabetischen Beinulkus gilt dies für eine Reduzierung um > 50 % bis zu Woche 4²⁸⁻³⁰.

Daher ist klar, dass eine Wunde, die diesen Heilungsgrad nicht innerhalb dieses Zeitrahmens aufweist, neu bewertet und die Therapie neu erwogen werden muss.

Anstatt jedoch zu warten, bis sich Probleme entwickeln, wäre es eindeutig von großem Nutzen, noch frühzeitiger erkennen zu können, wann die Heilung mit weitergehenden Interventionen unterstützt werden sollte. Ein Test auf Marker für eine Heilung, wie die Proteaseaktivität, könnte Klinikärzten dabei helfen, zu erkennen, welche Wunden problematisch werden².



Auch bei optimaler Wundbehandlung und Pflege der Patienten und Ausschluss von Infektionen heilen manche Wunden nicht. Diese Wunden können dauerhaft entzündet sein und eine hohe Proteaseaktivität aufweisen, die den Übergang zur proliferativen Heilungsphase verhindert

Tabelle 2 | Faktoren, die möglicherweise die Fähigkeit zur Wundheilung beeinflussen²⁶

Bereich	Faktoren
■ Patient	<ul style="list-style-type: none">■ Ätiologie■ Begleiterkrankungen, z.B. Diabetes mellitus, Autoimmunerkrankungen■ Allergie■ Arzneimittel, z.B. Steroide■ Psychosozialer Status■ Schmerzen■ Konkordanz
■ Wunde	<ul style="list-style-type: none">■ Dauer■ Größe■ Zustand des Wundbetts■ Ischämie■ Entzündung/Infektion■ Anatomische Lage■ Ansprechen auf die Therapie
■ Versorgung	<ul style="list-style-type: none">■ Geschick und Fachwissen der Klinikärzte■ Gesundheitssystem (Verfügbarkeit, Kosten/Erstattung)

Bestimmung der Proteaseaktivität

AKTUELLE METHODEN ZUR BESTIMMUNG DER PROTEASEAKTIVITÄT

Laboruntersuchungen

Derzeit ist es sehr schwierig, den Proteasespiegel in Wunden zu bestimmen. In Forschungsstudien wurden Typen, Werte und die Aktivität von Proteasen in der Wundflüssigkeit von Biopsien analysiert, die unter Laborbedingungen gewonnen wurden. In diesen Studien kamen mehrere verschiedene Verfahrensweisen zur Anwendung, z.B. Gelatine-Zymographie, mit der vorwiegend MMP-2 und MMP-9 nachgewiesen werden, ELISAs, die zur Messung des Proteasespiegels Antikörper verwenden, und Assays zur Messung der Enzymaktivität von Proteasen.

Die Ergebnisse dieser Studien zeigen als einheitlichen Trend niedrige Spiegel der Proteaseaktivität bei akuten, heilenden Wunden und hohe Spiegel bei stagnierenden oder schlecht heilenden Wunden, die sinken, wenn die Wunde zu heilen beginnt^{10,17}. Allerdings ist für die meisten Klinikärzte eine Laboruntersuchung der Proteaseaktivität nicht praktikabel.

Klinische Beurteilung

In Wunden, die nicht wie erwartet heilen, nicht auf eine Behandlung ansprechen oder nach einer zu Beginn erfolgreichen Therapie nun stagnieren, liegt möglicherweise ein Übermaß an Proteaseaktivität vor, wenn:

- eine umfassende Behandlung auch die Beseitigung zugrunde liegender Ursachen beinhaltet (z.B. Kompression bei einer venösen Stauung), ebenso die Therapie der Beschwerden des Patienten (z.B. Schmerzen) und eine optimale lokale Wundbehandlung (Debridement und Schaffung eines feuchten Wundmilieus), und;
- eine Infektion nicht vermutet wird oder ausgeschlossen wurde.

Klinische Anzeichen einer Entzündung, die eventuell auf eine hohe Proteaseaktivität hindeuten, sind möglicherweise nur schwer von einer Infektion zu unterscheiden. Zu den Anzeichen kann ein gerötetes Wundbett, eine fehlende oder reduzierte Granulation, die bei Kontakt leicht blutet, und eine gesteigerte Menge an Exsudat sowie Schmerzen gehören.

Zwar kann in der Mehrzahl nicht infizierter, nicht heilender Wunden ein Überschuss an Proteasen nachgewiesen werden, jedoch gibt es auch einen prozentualen Anteil nicht heilender Wunden ohne Proteasenüberschuss.

Folglich könnten Klinikärzte fälschlicherweise annehmen, dass eine chronisch entzündete, nicht infizierte, nicht heilende Wunde, die angemessen versorgt und deren zugrunde liegende Ursache behandelt wurde, eine hohe Proteaseaktivität aufweist.

Eine noch nicht abgeschlossene Studie mit mehr als 100 akuten und chronischen Wunden hat gezeigt, dass erfahrene Klinikärzte anhand der klinischen Kriterien für chronische Entzündungen nicht in der Lage waren, präzise vorherzusagen, in welchen Wunden eine hohe Proteaseaktivität vorliegt. Tatsächlich waren die einzigen Wunden, in denen die Proteaseaktivität mit den Ergebnissen der klinischen Untersuchung korrelierte, vaskulitische Ulzerationen³¹. Abbildung 2 (auf der nächsten Seite) zeigt die Schwierigkeit, eine hohe Proteaseaktivität allein anhand klinischer Untersuchungen vorherzusagen.



Klinische Befunde zeigen nicht immer das Vorkommen einer hohen Proteaseaktivität an. Der genaue Nachweis einer erhöhten Proteaseaktivität wäre hilfreich bei der Auswahl der angemessenen, auf die Modifikation der Proteaseaktivität abzielenden Behandlung und könnte so dabei helfen, eine unnötige Anwendung hoch entwickelter Produkte zur Wundbehandlung zu verhindern

Bedeutung des Proteasespiegels für die Heilung

Studien zeigen als konstanten Trend niedrige Werte für die Proteaseaktivität bei akuten, heilenden Wunden und hohe Werte bei stagnierenden oder schlecht heilenden Wunden. Die Werte sinken, wenn die Wunde zu heilen beginnt^{10,17}. Für die meisten Klinikärzte ist jedoch die Laboruntersuchung der Proteaseaktivität nicht praktikabel, und eine klinische Beurteilung ist notwendig.

Abbildung 2 | Durch klinische Beobachtung kann eine hohe Proteasenaktivität nicht nachgewiesen werden. Zeigen diese Bilder Wunden mit einer hohen oder niedrigen Proteasenaktivität? (Antworten am Ende der Seite - Fotos mit freundlicher Genehmigung von Tom Serena)



A: Ein 52-jähriger Mann ohne Diabetes mit einem langjährigen venösen Beinulcus. Nach der Behandlung mit topischem Silber reduzierte sich die Menge des Exsudats. Vor kurzem wurde auf eine Behandlung mit Kollagenase und Kompressionsverbänden umgestellt. Der Patient hat minimale Schmerzen.



B: Eine 40-jährige Frau ohne Diabetes mit beidseitigen, chronischen venösen Beinulcera am Unterschenkel, die momentan mit einem topischen Alginat und einer Kompressionstherapie behandelt werden. Das rechte Beinulcus (oben links) weist eine saubere Granulationsbasis auf. Am linken Beinulcus entwickelten sich wiederholt fibrinöse Beläge, welche eine Curretage erforderten.



C: mit ORC-Silber/Kollagen behandeltes Dekubitus des Stadiums III.



D: Ein Patient ohne Diabetes mit einer akuten Wunde am Handrücken, entstanden nach Infiltration durch intravenösen Zugang. Die Wunde heilt.



E: Ein Patient mit bekannter Vaskulitis der unteren Extremität.



F: Diabetiker mit einem neuropathischen Geschwür an der Fußsohle, das mit topischem Silberalginat und einer hyperbaren Sauerstofftherapie behandelt wurde.

Antworten

Test auf erhöhte Proteaseaktivität positiv: A, D, E.

Test auf erhöhte Proteaseaktivität negativ: B (beide Beine), C, F.

Wie wird eine hohe Proteaseaktivität behandelt?

Wunden, die nicht heilen, obwohl die zu Grunde liegende Ursache korrigiert, eine Infektion ausgeschlossen wurde und eine optimale Wundpflege erfolgte, können dennoch in einem dauerhaften Entzündungsstadium mit hoher Proteaseaktivität verbleiben. Die Behandlung solcher Wunden erfordert einen systematischen, oftmals interdisziplinären Ansatz, der sich auf die Korrektur der zu Grunde liegenden Entzündungsursache konzentriert. Besonders wichtig ist die Einhaltung geltender nationaler Vorgaben, welche die wesentlichen Grundlagen einer guten Wundbehandlung berücksichtigen.



Die Anwendung eines patientennahen diagnostischen Tests zur Bestimmung der Proteaseaktivität kann dem Klinikarzt bei der Anwendung neuartiger Therapien deutliche Hinweise darauf liefern, welche Behandlungsmöglichkeiten geeignet und welche nicht geeignet sind. Ebenso kann dies die Entscheidung unterstützen, wann eine Behandlung begonnen oder beendet werden sollte

Behandlungsgrundsätze

Die Proteasenaktivität kann mit einer Reihe von Eingriffen an der Wunde reduziert werden. Bei der Behandlung von Wunden mit einer vermuteten übermäßigen Proteasenaktivität gelten drei wesentliche Grundsätze:

- **Behandlung** der zu Grunde liegenden Ursache und aller Faktoren, die eine Wunde verschlimmern können (z.B. Kompression, Druckentlastung, Behandlung einer Ischämie und nicht ausreichenden Versorgung des Gewebes)
- **Optimierung** des Wundbetts und des Zustandes des Patienten, beispielsweise Vorbereitung des Wundbetts (einschließlich Debridement), eine Wundbehandlung mit Unterdruck (NPWT - Negative Pressure Wound Therapie) oder die Modulation der bakteriellen Belastung
- **Modulation** der Proteaseaktivität (z.B. durch protease-modulierende Wundauflagen).



Vorsicht ist geboten bei der Verwendung von Haut oder Hautäquivalenten bei komplexen, nicht heilenden Wunden mit hoher Proteaseaktivität, da ein Abbau der Matrix sehr wahrscheinlich ist

REDUZIERUNG ÜBERSCHÜSSIGER PROTEASENAKTIVITÄT

Die folgende Vorgehensweise kann zu einer Reduzierung der Proteasenaktivität in Wunden beitragen:

- **Reinigung:** Regelmäßige Wundreinigung hilft möglicherweise, die Proteaseaktivität zu reduzieren, indem Gewebstrümmer an der Oberfläche, die eine Entzündung stimulieren können, entfernt werden. Eine Reinigung kann auch zur Reduzierung der Proteaseaktivität beitragen, indem proteasehaltige Wundflüssigkeit entfernt wird. Studien zur Untersuchung des Effekts der Wundreinigung auf die Proteaseaktivität stehen noch aus
- **Debridement:** Das Entfernen der Beläge bei jedem Verbandswechsel oder chirurgische bzw. scharfe Wundrevision in regelmäßigen Abständen kann bei der Reduzierung einer überhöhten Proteaseaktivität helfen, da mit der Entfernung des nekrotischen Gewebes und einer Reduzierung der bakteriellen Belastung auch der Stimulus für eine Entzündung entfernt wird. Auch Untersuchungen zum Effekt des Debridements auf die Proteaseaktivität stehen noch aus
- **Proteaseninaktivatoren:** protease-modulierende Wundauflagen (z.B. Kollagen oder oxidierte regenerierte Zellulose [ORC]), die mit den Proteasen (MMPs und Elastase) eine Bindung eingehen und zu deren Inaktivierung führen^{32,33}
- **Antiseptische Wundauflagen (z.B. Iod oder Silber):** Eine geringere bakterielle Belastung kann durch Senkung der Proteaseproduktion durch den Wirt und durch Bakterien die Proteasenaktivität in der Wunde vermindern³⁴. Angenommen wird, dass Silber ebenfalls die MMP-Aktivität verringert, indem das für die Funktion der MMPs erforderliche Zinkion der Enzyme ersetzt wird³⁵
- **Antiphlogistika:** Orales oder topisches Doxycyclin ist ein hochwirksames Antiphlogistikum und Antibiotikum, das die Proteasenaktivität hemmt³⁶ Eine Therapie mit Steroiden wirkt

entzündungshemmend, indem sie die Expression entzündungshemmender Proteine steigert und die Expression entzündungsfördernder Proteine senkt. Diesbezügliche Erfahrungen liegen bisher hauptsächlich zu vaskulitischen Wunden und Pyoderma gangrenosum vor. Studien zu anderen Wundarten und zu einer möglichen Kombination dieser Therapien stehen noch aus

- **Wundauflagen und Materialien zur Resorption bzw. Entfernung von Wundexsudat:** Saugfähige Wundauflagen und Materialien können durch die Entfernung der proteasehaltigen Wundflüssigkeit die Proteaseaktivität reduzieren³⁷. Dies muss jedoch noch in einem klinischen Kontext nachgewiesen werden. Eine der Wirkungen einer NPWT bei der Förderung der Heilung kann darin bestehen, dass die Proteaseaktivität gesenkt wird^{38,39}.



Bei einem Einsatz hoch entwickelter Produkte wie protease-modulierenden Wundauflagen oder Produkten zur Infektionskontrolle kann ein patientennaher Test zur Messung der veränderten Proteaseaktivität bei der Überwachung der Wirksamkeit der Behandlung hilfreich sein bzw. einen Hinweis darauf liefern, ob die Behandlung angepasst werden muss

PROTEASE-MODULIERENDE WUNDAUFLAGEN

Wie bei allen neuartigen Produkten zur Wundbehandlung sollte die Anwendung protease-modulierender Wundauflagen sorgfältig in den gesamten Behandlungsplan integriert werden, der in geeigneter Weise auf den Zustand des Wundbetts, die bakterielle Belastung und die Menge an Exsudat abgestimmt sein muss.

Im Allgemeinen werden protease-modulierende Wundauflagen (z.B. ORC/Kollagen) kurzzeitig über 2-4 Wochen angewandt, gefolgt von einer Neubewertung der Wirksamkeit der Behandlung. Gelegentlich wird auch eine intermittierende oder Pulstherapie durchgeführt, z.B. eine zweiwöchige Behandlung mit einer protease-modulierenden Wundauflage gefolgt von einer zweiwöchigen Behandlung ohne Wundauflage.

Kollagen- oder ORC-Wundauflagen reduzieren nachweislich die Proteaseaktivität und haben einen positiven Effekt auf die Heilung verschiedener nicht heilender Wunden^{24,33,40}.

Die Anwendung protease-modulierender Wundauflagen sollte eine zeitlich klar begrenzte Intervention darstellen, d.h. die vorgesehene Dauer der Behandlung sollte unter Angabe eines Datums für eine Überprüfung eindeutig dokumentiert werden. Wesentlich ist, dass der Fortschritt der Heilung während der Behandlung regelmäßig begutachtet wird (z.B. Wundränder, Wundbasis und Wundfläche). Bei einem venösen Beinulcus stellt eine Reduzierung der Wundfläche um 20–40 % nach vier Wochen eine Besserung dar, die anzeigt, dass eine Heilung wahrscheinlich ist²⁷.

Die Einführung eines patientennahen Tests auf überschüssige Proteasenaktivität würde eine gezieltere Anwendung von Proteasenmodulatoren zur Senkung überschüssiger Proteaseaktivität erlauben. Ein Test auf Proteasenaktivität kann ebenfalls ermöglichen, sonstige möglicherweise nützliche Effekte einer dauerhaften Anwendung von Proteasenmodulatoren auf den Heilungsprozess zu untersuchen, nachdem eine Beherrschung der Proteasen erreicht wurde.



Der heutige Wissensstand zur Rolle von Proteasen bei einem verzögerten Heilungsprozess lässt vermuten, dass jede stagnierende oder langsam heilende Wunde ohne Infektion bei einem Patienten, der richtig beurteilt und behandelt wurde, ein möglicher Kandidat für einen patientennahen Test auf Proteasenaktivität darstellt

Welche Funktion hat ein patientennaher Proteasetest?

Idealerweise kommt eine neue diagnostische Methode zur Anwendung bei Wunden, die besondere Modifizierungen der normalen Praxis oder der Behandlung anzeigen, die eine Heilung der Wunde einleiten¹.

Ein patientennaher Proteasetest stellt eine Innovation in der Wundbehandlung dar. Dieser Test soll voraussichtlich eingesetzt werden, um nachzuweisen, ob in Wunden, die nicht wie erwartet heilen, die Proteaseaktivität erhöht ist.

ANWENDUNG EINES PROTEASETESTS

Ein patientennaher Proteasetest kann den Klinikarzt bei einer kosteneffizienten Entscheidung über eine geeignete oder nicht geeignete Behandlung unterstützen. Beispielsweise wäre es nicht angebracht, eine protease-modulierende Wundauflage bei einer Wunde mit geringer Proteaseaktivität anzuwenden. Ebenso wären gezüchtete Hautpräparate Zellträger und Hauttransplantate bei einer Wunde mit erhöhter Proteaseaktivität ungeeignet.

Die Vorteile einer solchen Steuerung der Therapie wären weniger häufige Verbandswechsel, Vermeidung unnötiger Eingriffe, reduzierte Pflegezeit, weniger Krankenhausaufenthalte, eine kürzere Dauer der Gesamtbehandlung, frühzeitiges Erkennen und Vermeiden von Komplikationen, eine verbesserte Lebensqualität, schnellere Heilung und frühzeitigere Rückkehr zur Arbeit. Dieser mögliche Nutzen kann in Zukunft dazu führen, dass die Aufsichtsbehörden einen entsprechenden Test vor Anwendung bestimmter Behandlungsmethoden verlangen werden.

Die Überwachung der Proteasen, z.B. durch einen wöchentlichen Test, ermöglicht es dem Klinikarzt festzustellen, ob die Behandlung die Proteaseaktivität wirksam reduziert und der aktuelle Behandlungsansatz als geeignet anzusehen ist. Vermutet wurde, dass die Ergebnisse eines patientennahen Proteasetest möglicherweise langfristig dazu genutzt werden können, erfolgreiche Behandlungsmethoden zu identifizieren und dass das Ergebnis per se auch als ein wesentlicher neuer Parameter der Wundheilung Anerkennung findet.

Möglicherweise besitzt ein patientennaher Proteasetest das Potenzial, frühzeitig schwer heilende Wunden zu identifizieren. Dies vermeidet Verzögerungen und damit einhergehende Risiken, welche durch "ausreichendes Abwarten" vor der Klassifizierung einer Wunde als schwer heilend entstehen. Möglicherweise kann dies auch dazu beitragen, wesentlich teurere diagnostische Tests (z.B. invasive Untersuchungen wie eine Wundbiopsie) zu vermeiden, und dazu beitragen, die Diagnose einer entzündlichen Erkrankung (z.B. einer Vaskulitis) zu bestätigen.

Ein einfach anzuwendender patientennaher Proteasetest kann auch eine Möglichkeit für den Arzt oder Patienten darstellen, bereits im Vorfeld zur eigentlichen Therapieentscheidung zu agieren, d.h. zunächst einen Test auf hohe Proteaseaktivität in der Wunde durchzuführen und danach anhand der Ergebnisse Rat einzuholen oder sich für eine Überweisung zu entscheiden). Beispielsweise könnte ein weniger erfahrener Arzt den Test als Hinweis nutzen, ob die Notwendigkeit besteht, einen Spezialisten hinzuzuziehen.

Die Krankenkasse benötigt einen Nachweis der Kosteneffizienz, um einen patientennahen Proteasetest zu akzeptieren. Dazu bedarf es einer breiten Verwendung und Akzeptanz durch führende Meinungsbildner, wie auch eines eindeutigen Belegs des Nutzens.



Damit ein patientennaher Test fest in die bestehende Praxis eingebunden wird, werden Daten benötigt, welche die Aussagekraft des Tests für ein Spektrum von Wundtypen in der klinischen Praxis zeigen. Unbeantwortet bleibt die zentrale Frage, wie Wunden mit hoher Proteaseaktivität zu behandeln sind, die ohne Komplikationen weiterheilen sowie Wunden mit niedriger Proteaseaktivität, die nicht heilen

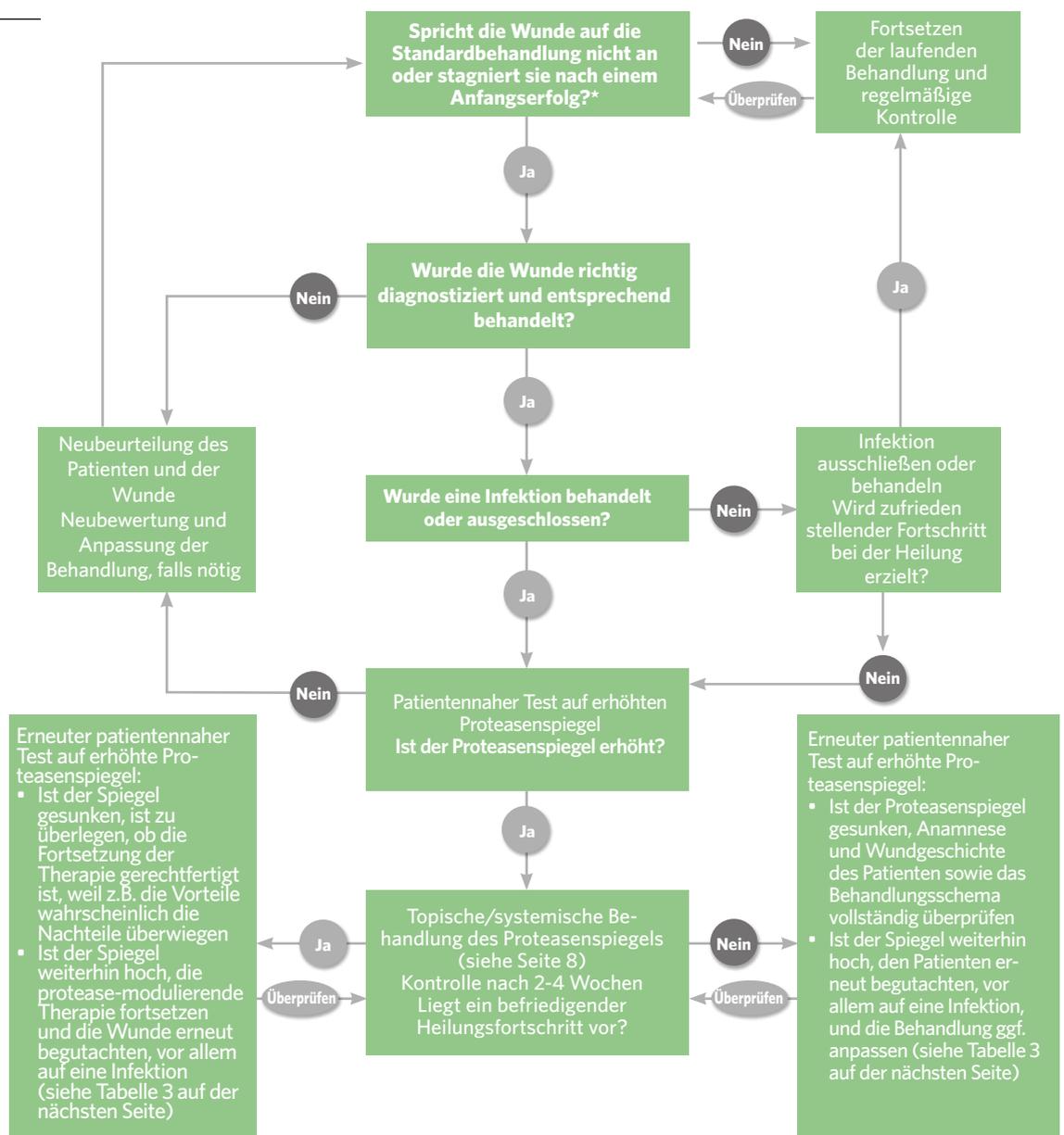
Möglicher Ablaufplan für die Anwendung eines patientennahen Proteasetests

Die Anwendung eines patientennahen Proteasetests bei Wunden, die nicht auf eine Behandlung ansprechen, muss im Kontext ständiger erneuter Beurteilung und Optimierung der Therapie in Übereinstimmung mit der lokalen Praxis und den Grundsätzen für die Behandlung von Wunden erfolgen. Abbildung 3 und Tabelle 3 zeigen, wie solch ein Test in der Praxis angewendet werden



Weitere Forschungsaktivitäten sind erforderlich, um die Rolle eines patientennahen Proteasetests in der klinischen Praxis vollständig zu erfassen

Abbildung 3 | Möglicher Ablaufplan für die Anwendung eines patientennahen Proteasetests



* Der Status des Heilungsprozesses muss durch eine frühzeitige umfassende Beurteilung, einschließlich einer Begutachtung und Korrektur der Ursache der Wunde ermittelt werden. Probleme bei der Heilung treten mit größerer Wahrscheinlichkeit bei geschwächten Patienten oder Vorliegen von Begleiterkrankungen wie Diabetes oder Tumoren auf.

Tabelle 3 | Verhältnis zwischen Proteasenaktivität, Bakterienlast/Infektionen und Vorgehen bei der Behandlung

BEFUNDE/SYMPTOME EINER INFektion		PROTEASEAKTIVITÄT	
		Niedrige Proteasenaktivität	Erhöhte Proteasenaktivität
NIEDRIGE BAKTERIENLAST	Keine Anzeichen einer Infektion	Wundauflage zum Feuchtigkeitsausgleich	Proteasemodulierende Wundauflage
HOHE BAKTERIENLAST	Oberflächliche Infektion Drei Merkmale von: <ul style="list-style-type: none"> ● Nicht heilende Wunde ● Exsudat ▲ ● Schmerzen ▲ ● Rotes, fragiles Granulationsgewebe ● Gewebstrümmer, Geruch 	Antimikrobielle Wundauflage	Proteasemodulierende Wundauflage mit antimikrobieller Wirkung; +/- systemische Antibiotika
	Tiefe/systemische Infektion Drei Merkmale von: <ul style="list-style-type: none"> ● Größe ▲ ● Temperatur ▲ ● Schmerzen ▲ ● Fisteln/freiliegende Knochen ● Neue/Satellitenwunden ● Erythem/Ödem ● Geruch ● Erhöhte Werte der Akutphasen-proteine 	Systemische Antibiotika	Systemisches Antibiotikum Systemisches Antiphlogistikum Antimikrobielle Wundauflage Protease-modulierende Wundauflage mit antimikrobieller Wirkung



Es ist wahrscheinlich, dass Kostenträger die Verfügbarkeit einer objektiven Messmethode begrüßen werden, wenn diese den Klinikärzten ermöglicht, eine zur Heilung führende Behandlung früher und über eine kürzere Dauer durchiezuführen, und wenn dieser Test in der Lage ist, nachweislich die Kosten insgesamt zu reduzieren



ANSATZPUNKTE FÜR DIE PRAXIS

Die Anwendung eines patientennahen Proteasentests

- Ein patientennaher Proteasentest sollte nur angewandt werden, wenn die Ergebnisse die klinische Entscheidung zur topischen Wundbehandlung beeinflussen
- Benutzerbedingte falsch positive und falsch negative Testergebnisse sollten durch die sorgfältige Befolgung der Gebrauchsanweisung vermieden werden
- Es sollte bekannt sein, wie der Test positive und negative Ergebnisse anzeigt
- Die Bedeutung der Testergebnisse und deren Auswirkungen auf die Behandlung des Patienten sollte nachvollziehbar sein
- Es sollte bekannt sein, ob der Test vor oder nach einer Wundrevision oder einer Wundreinigung durchzuführen ist
- Wird die Wunde vor dem Test gereinigt, muss bekannt sein welche Lösung(en) verwendet werden dürfen und wie diese Lösung(en) das Testergebnis möglicherweise beeinflussen
- Es sollte bekannt sein, welche Art von Wundflüssigkeit und welche Mengen für den Test benötigt werden
- Es sollte bekannt sein, wie die Wundflüssigkeit zu entnehmen ist
- Es sollte bekannt sein, wie schnell nach der Entnahme der Wundflüssigkeit der Test durchzuführen ist
- Es sollte bekannt sein, ob und wie das Vorkommen von Blut oder nekrotischem Gewebe das Testergebnis beeinflussen kann
- Es sollte bekannt sein, was zu tun ist, wenn Wundflüssigkeit nur schwer zu gewinnen oder nicht vorhanden ist
- Es sollte bekannt sein, warum, wann und wie oft der Test zu wiederholen ist
- Die Aussagekraft des Tests für verschiedene Wundtypen sollte nachvollziehbar sein, d.h. wie genau die Proteaseaktivität in verschiedenen Wundtypen gemessen wird
- Es sollte bekannt sein, welche Sensitivität und Spezifität der Test hat und wie diese eine Interpretation der Testergebnisse beeinflussen können, d.h. wie oft ein richtig positives Ergebnis (hohe Proteasenaktivität wird angezeigt, wenn die Aktivität hoch ist) und ein richtig negatives Ergebnis (niedrige Proteasenaktivität wird angezeigt, wenn die Aktivität niedrig ist) von dem Test angezeigt werden.

LITERATURANGABEN

1. World Union of Wound Healing Societies (WUWHs). *Principles of best practice: Diagnostics and wounds. A consensus document*. London: MEP Ltd, 2008.
2. Gibson D, Cullen B, Legerstee R, et al. *MMPs Made Easy*. Wounds International 2009; 1(1): **Verfügbar unter**: <http://www.woundsinternational.com>
3. Agren MS, Mirastschijski U, Karlsmark T, Saarialho-Kere UK. Topical synthetic inhibitor of matrix metalloproteinases delays epidermal regeneration of human wounds. *Exp Dermatol* 2001; 10(5): 337-48.
4. Grinnell F, Zhu M. Fibronectin degradation in chronic wounds depends on relative levels of elastase, a1 proteinase inhibitor and a2 macroglobulin. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 335-41.
5. Grinnell F, Zhu M. Identification of neutrophil elastase as the proteinase in burn wound fluid responsible for the degradation of fibronectin. *J Invest Dermatol* 1994; 103(2): 155-61.
6. Herrick SE, Sloan P, McGurk M, et al. Sequential changes in histologic pattern and extracellular matrix deposition during the healing of chronic venous ulcers. *Am J Pathol* 1992; 141(5): 1085-95.
7. Zamboni P, Scapoli G, Lanzara V, et al. Serum iron and matrix metalloproteinase-9 variations in limbs affected by chronic venous disease and venous leg ulcers. *Dermatol Surg* 2005; 31(6): 644-49.
8. Zamboni P, Tognazzo S, Izzo M, et al. Hemochromatosis C282Y gene mutation increases the risk of venous leg ulceration. *J Vasc Surg* 2005; 42(2): 309-14.
9. Beidler SK, Douillet CD, Berndt DF, et al. Multiplexed analysis of matrix metalloproteinases in leg ulcer tissue of patients with chronic venous insufficiency before and after compression therapy. *Wound Repair Regen* 2008; 16(5): 642-48.
10. Ladwig GP, Robson MC, Liu R, et al. Ratios of activated matrix metalloproteinase-9 to tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 in wound fluids are inversely correlated with healing of pressure ulcers. *Wound Repair Regen* 2002; 10(1): 26-37.
11. Liu Y, Min D, Bolton T, et al. Increased matrix metalloproteinase-9 predicts poor wound healing in diabetic foot ulcers. *Diabetes Care* 2009; 32(1): 117-19.
12. Lobmann R, Ambrosch A, Schultz G, et al. Expression of matrix-metalloproteinases and their inhibitors in the wounds of diabetic and non-diabetic patients. *Diabetologia* 2002; 45(7): 1011-16.
13. Muller M, Trocme C, Lardy B, et al. Matrix metalloproteinases and diabetic foot ulcers: the ratio of MMPsP-1 to TIMP-1 is a predictor of wound healing. *Diabet Med* 2008; 25(4): 419-26.
14. Norgauer J, Hildenbrand Y, Idzko M, et al. Elevated expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer (CD147) and membrane-type matrix metalloproteinases in venous leg ulcers. *Br J Dermatol* 2002; 147(6): 1180-86.
15. Pirilä E, Korpi JT, Korkiamäki T, et al. Collagenase-2 (MMPsP-8) and matrilysin-2 (MMPsP-26) expression in human wounds of different etiologies. *Wound Repair Regen* 2007; 15(1): 47-57.
16. Rayment EA, Upton Z, Shooter GK. Increased matrix metalloproteinase-9 (MMPsP-9) activity observed in chronic wound fluid is related to the clinical severity of the ulcer. *Br J Dermatol* 2008; 158(5): 951-61.
17. Trengove NJ, Stacey MC, MacAuley S, et al. Analysis of the acute and chronic wound environments: the role of proteases and their inhibitors. *Wound Repair Regen* 1999; 7(6): 442-52.
18. Weckroth M, Vaheri A, Lauharanta J, et al. Matrix metalloproteinases, gelatinase and collagenase, in chronic leg ulcers. *J Invest Dermatol* 1996; 106(5): 1119-24.
19. Wysocki AB, Staiano-Coico L, Grinnell F. Wound fluid from chronic leg ulcers contains elevated levels of metalloproteinases MMPsP-2 and MMPsP-9. *J Invest Dermatol* 1993; 101(1): 64-6
20. Yager DR, Zhang LY, Liang HX, et al. Wound fluids from human pressure ulcers contain elevated matrix metalloproteinase levels and activity compared to surgical wound fluids. *J Invest Dermatol* 1996; 107(5): 743-48.
21. Nwomeh BC, Liang HX, Diegelmann RF, et al. Dynamics of matrix metalloproteinases MMPsP-1 and MMPsP-8 in acute open dermal wounds. *Wound Repair Regen* 1998; 6(2): 127-34.
22. Baker EA, Leaper DJ. Profiles of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in intraperitoneal drainage fluid: relationship to wound healing. *Wound Repair Regen* 2003; 11(4): 268-74.
23. Trengove NJ, Bielefeldt-Ohmann H, Stacey MC. Mitogenic activity and cytokine levels in non-healing and healing chronic leg ulcers. *Wound Repair Regen* 2000; 8(1): 13-25.
24. Smeets R, Ulrich Dm Unglaub F, et al. Effect of oxidised regenerated cellulose/collagen matrix on proteases in wound exudate of patients with chronic venous ulceration. *Int Wound J* 2008; 5(2): 195-203.
25. Legerstee R. The 'chronic' wound debate. Wounds International 2009; 1(1). **Verfügbar unter**: <http://www.woundsinternational.com/article.php?issueid=1&contentid=123&articleid=21&page=7>
26. Vowden P, Apelqvist J, Moffatt C. Wound complexity and healing. In: *European Wound Management Association (EWMA). Position Document: Hard-to-heal wounds: a holistic approach*. London: MEP Ltd, 2008.
27. Flanagan M. Improving accuracy of wound measurement in clinical practice. *Ostomy Wound Manage* 2003; 49(10): 28-40.
28. Sheehan P, Jones P, Caselli D, et al. Percent change in wound area of diabetic foot ulcers over a 4-week period is a robust predictor of complete healing in a 12-week prospective trial. *Diabetes Care* 2003; 26: 1879-82.
29. Snyder RJ, Cardinal M, Dauphinée DM, Stavosky J. A post-hoc analysis of reduction in diabetic foot ulcer size at 4 weeks as a predictor of healing by 12 weeks. *Ostomy Wound Manage* 2010; 56(3): 44-50
30. Lavery L, Seaman JW, Barnes SA, Armstrong DG, Keith MS. Prediction of healing for postoperative diabetic foot wounds based on early wound area progression. *Diabetes Care* 2008; 31(1): 26-29.
31. Serena T, manuscript in progress, 2011.
32. Cullen B, Smith R, McCulloch E, et al. Mechanism of action of PROMOGRAN, a protease modulating matrix, for treatment of diabetic foot ulcers. *Wound Repair Regen* 2002; 10(1): 16-25.
33. Cullen B, Ivins N. Promogran & Promogran Prisma Made Easy. Wounds International 2010; 1(3): **Verfügbar unter**: <http://www.woundsinternational.com>
34. Widgerow AD. Chronic wound fluid—thinking outside the box. *Wound Repair Regen* 2011; [Epub ahead of print]
35. Walker M, Bowler PG, Cochrane CA. In vitro studies to show sequestration of matrix metalloproteinases by silver-containing wound care products. *Ostomy Wound Manage* 2007; 53(9): 18-25.
36. Stechmiller J, Cowan L, Schultz G. The role of doxycycline as a matrix metalloproteinase inhibitor for the treatment of chronic wounds. *Biol Res Nurs* 2010; 11(4): 226-44.
37. Eming S, Smola H, Hartmann B, et al. The inhibition of matrix metalloproteinase activity in chronic wounds by a polyacrylate superabsorber. *Biomaterials* 2008; 29(19): 2932-40.
38. Mouës CM, van Toorenenbergen AW, Heule F, et al. The role of topical negative pressure in wound repair: expression of biochemical markers in wound fluid during wound healing. *Wound Repair Regen* 2008; 16(4): 488-94.
39. Shi B, Zhang P, Li WZ, et al. Effect of vacuum assisted closure on collagenase activity in human chronic wound. *Chinese J Plast Surg* 2006; 22(6): 465-67.
40. Romanelli M, Dini V, Romanelli P. Hydroxyurea-induced leg ulcers treated with a protease-modulating matrix. *Arch Dermatol* 2007; 143(10): 1310-13.



Dies ist eine Veröffentlichung von Wounds International©2011
Verfügbar unter www.woundsinternational.com