

WUND MANAGEMENT

R. Strohal, J. Dissemond, G. Hastermann, K. Herberger,
S. Läubli, G. Luch, D. Mayer, T. Neubert, M. Storck

Die Rolle eines Proteasen Schnelltests in der Wunddiagnostik

The role of a point-of-care protease test in wound diagnostics

Offizielles Mitteilungsorgan
Initiative Chronische Wunden e. V. (ICW e. V.)
Österreichische Gesellschaft für Wundbehandlung
(AWA)
Schweizer Gesellschaft für Wundbehandlung (SAfW)
Wundnetz Kiel e. V.
Wundverbund Nord e. V.
Wundverbund Südwest e. V.
Wundzentrum Hamburg e. V.

mhp
Verlag GmbH

Die Rolle eines Proteasen Schnelltests in der Wunddiagnostik*

The role of a point-of-care protease test in wound diagnostics

R. Strohal, J. Dissemond, G. Hastermann, K. Herberger, S. Lächli, G. Luch, D. Mayer, T. Neubert, M. Storck**

Zusammenfassung

MMPs und Serinproteasen wie z. B. Elastase gehören zu den wichtigsten Proteasen, die in der Wundheilung eine maßgebliche Rolle spielen. Bei Wunden liegt der Forschungsschwerpunkt bislang auf MMP-1, MMP-2, MMP-8 und MMP-9.

Aktuelle Resultate der Literatur deuten daraufhin, dass die Proteasen einen vielversprechenden Biomarker für die Beurteilung der Wundheilung auf biochemischer Ebene darstellen. Außer den Proteasen gibt es auch andere, mit Entzündungen assoziierte Marker wie z. B. TNF- α , die sich als potenzielle Kandidaten für weitere diagnostische Tests eignen könnten. Dazu gehört auch der pH-Wert vom Wundexsudat, welcher u. a. maßgeblich die Aktivität der im Wundexsudat beinhaltenden Proteasen beeinflusst.

In der täglichen klinischen Praxis der Wundbehandlung erfolgt die gewählte Therapie der Ursachenbehandlung nach einer vorab erstellten Diagnose. In der Zukunft könnte es möglich sein, eine individualisierte Wundtherapie durchzuführen, zum Beispiel nach Anwendung eines patientennahen Proteasen-Schnelltests am Point of Care (PoC-Test), der die Diagnostik um eine spezifische lokale Wunddiagnostik erweitert. Die Teilnehmer des Expertentreffens haben einen klinischen Algorithmus ausge-

arbeitet, der die Anwendung des Proteasen-Schnelltests beschreibt.

Das frühe Erkennen der korrigierbaren Faktoren in der Wundheilung könnte Wundtherapeuten die Möglichkeit bieten, eine Therapie anzuwenden, die den Heilungsprozess beschleunigen kann. Die Anwendung eines Proteasen-Schnelltests zur Bestimmung der Proteasenaktivität könnte den Therapeuten deutliche Hinweise dazu liefern, welche Behandlungsmöglichkeiten geeignet und welche nicht geeignet sind und bei der Entscheidung unterstützen, wann eine Behandlung begonnen oder beendet werden sollte.

Nach Meinung der Experten könnten denkbare gezielte Indikationen für den Proteasen-Schnelltest Problemwunden sein, die trotz richtiger Diagnose und adäquater Therapie keinen Heilungsfortschritt innerhalb eines Zeitraumes von 2 bis 4 Wochen zeigen. Weitere gezielte Indikationen könnten Problemwunden mit Entzündungszeichen sein. Der Proteasen-Schnelltest könnte auch vor dem Einsatz von Hautspalltransplantaten und Hautersatzprodukten mit dem Ziel des rascheren Einsatzes der richtigen Therapie angewendet werden, der Abkürzung der Heilungszeit, der Vermeidung von Komplikationen und der Kostenreduktion.

Mögliche erweiterte Indikationen des Proteasen-Schnelltests könnten postoperativ nicht-heilende Wunden, offene Abdomenbehandlungen sowie die Forschung im Zusammenhang mit der Entwicklung neuer Produkte beispielsweise resorbierbare MMP-Fänger sein.

Die Experten empfehlen, die Einführung des Proteasen-Schnelltests in mehreren Schritten vorzunehmen. Zum jetzigen Zeitpunkt sollte eine gezielte

Anwendung durch Wundspezialisten in Schwerpunktzentren nach Anordnung durch den Arzt und nach einer Einführung in die praktische Anwendung des Tests erfolgen. Zu einem späteren Zeitpunkt, und sobald mehr Erfahrungen im Umgang mit dem Proteasen-Schnelltest vorliegen, könnte der Proteasen-Schnelltest einem erweiterten Anwenderkreis zur Verfügung gestellt werden.

Ein denkbares und von den Experten vorgeschlagenes Vorgehen für die Gewinnung erster Evidenz des patientennahen Proteasen-Schnelltests ist die Sammlung von Erfahrungsdaten nach breitem Einsatz des Tests durch alle ersten Anwender, die den Test in der täglichen klinischen Praxis der Wundbehandlung unter Berücksichtigung der vorgeschlagenen möglichen Indikationen angewandt haben werden. Die gewonnenen Erfahrungen könnten dazu dienen, ein Register aufzubauen und Antworten zu finden auf Fragen wie z. B. die Dauer und der geeignete Zeitpunkt für die Anwendung des Tests.

Bei der Schulung von Wundtherapeuten zu Proteasen und zu dem Proteasen-Schnelltest ist es wichtig, das Konzept von Gleichgewicht und Ungleichgewicht, d. h. das Gleichgewicht zwischen Bildung und Abbau der EZM in der Heilung zu vermitteln.

SCHLÜSSELWÖRTER

MMPs, chronische Wunden, Proteasen, Proteasenschnelltest, Biomarker, Wunddiagnostik

Prim. Univ.-Doz. Dr. Robert Strohal
Abteilung für Dermatologie und Venerologie
Akademisches Lehrspital
Landeskrankenhaus Feldkirch
Carinagasse 47, 6800 Feldkirch
E-Mail: robert.strohal@lkhf.at

* Zusammenfassung eines Expertentreffens am 10. September 2011 in München.

**Eine Auflistung der Adressen der Koautoren finden Sie am Ende des Artikels.

SUMMARY

Matrix metalloproteinases (MMPs) and serine proteases, such as elastase, are among the proteases that play a pivotal role in wound healing. To date the main focus of wound research has been on MMP-1, MMP-2, MMP-8 and MMP-9.

The current findings of the literature indicate that proteases are a promising biomarker for assessment of wound healing at a biochemical level. Apart from proteases there are also other markers associated with inflammation, such as tumour necrosis factor alpha (TNF- α), which could serve as potential candidates for further diagnostic tests. These include the pH value of wound exudate which, inter alia, determines the activity of proteases contained in the wound exudate.

In daily clinical practice of wound management the therapy chosen after wound diagnosis is based on causal treatment. In future it might be possible to base wound therapy on the needs of the individual patient, for example by means of a protease point-of-care test (PoC-Test), expanding the diagnosis to include a specific local wound diagnosis. The participants of the expert meeting have devised a clinical algorithm describing the application of the protease rapid test.

Early detection of correctable factors in wound healing could offer wound therapists the chance to use a treatment that could expedite the healing process. The use of a protease rapid test to determine protease activity could give therapists important insights into which treatment possibilities are suitable and which are unsuitable and help them decide when treatment should be initiated or terminated.

Experts believe problem wounds, which despite a correct diagnosis and appropriate treatment fail to show any sign of healing within a period of two to four weeks, could be selective indications for the protease rapid test. Other selective indications could include problem wounds showing signs of inflammation. The protease rapid test could also be used before conducting skin graft transplants and using skin substitute products to assure timely and appropriate treatment, shorter healing time, avoidance of complications and reduction of costs.

Other possible indications for the protease rapid test could include wounds that fail to heal postoperatively, open abdominal wounds, as well as research into development of new products, such as absorbable MMP scavengers.

The experts recommend the protease rapid test to be introduced in several steps. At the present time, the test should be selectively used by wound specialists in specific centres following a medical prescription and after an introduction to the practical implementation of the test.

As soon as more experience is available on the use of the protease rapid test, the test could be made available to a greater number of users. A conceivable approach, which has been proposed by experts for acquisition of initial evidence for the protease point of care rapid test, entails the gathering of experience data after extensive use of the test by all first users who will have used the test in daily clinical practice of wound treatment, while taking account of the proposed indications. The experience gleaned could then be used to set up a register and find answers to questions such as e.g. the duration and suitable time point for using the test.

When training wound therapists on proteases and the protease rapid test it is important to impart an understanding of the concept of balance and imbalance, i.e. balance between synthesis and degradation of the extracellular matrix (ECM) in healing.

KEYWORDS

MMPs, chronic wounds, proteases, protease rapid test, biomarkers, wound diagnostics

Vorwort

Die auf der Pathogenese basierende lokale, nicht-klinische Wunddiagnostik hat mit Ausnahme der molekularen Diagnostik in den letzten Jahren wenig Neues hervorgebracht. Dies ist umso erstaunlicher, als daneben wesentliches Wissen zur regelrechten und gestörten Wundheilung in großem Umfang neu generiert wurde. Es kann damit als positiver Fortschritt eingestuft werden, dass nun der große Komplex der Proteasen, Schlüsselenzyme im Ablauf der Wundheilung, entsprechende dia-

gnostische Aufmerksamkeit, auch für den klinischen Alltag erhalten hat. Um diesem neuen Trend Folge zu leisten wurde im Februar 2011 durch internationale Experten ein „International Consensus Document on Wound Diagnosis“ in Südafrika erarbeitet [1]. Da sich aber die Wundbehandlung in der deutschsprachigen DACH Region nicht nur durch den Einsatz der verschiedenen Proponenten, sondern auch durch Leitlinien, Empfehlungen und klinische Algorithmen deutlich von den englischsprachigen Ländern unterscheidet, haben sich am 10.9.2011 Experten der DACH Region in München getroffen um, den spezifischen Bedürfnissen Rechnung tragend, das vorliegende Papier zu entwickeln. Eingebunden in einen faszinierenden gemeinsamen Arbeitsprozess, hoffen sie, damit eine umfassende Information zum „state of the art“ des Themas erzielt zu haben.

Einleitung

Das Wissen und das Verständnis der molekularen und zellulären Steuerungsmechanismen, die der Wundheilung zugrunde liegen, konnte in den letzten Jahren wesentlich vertieft und erweitert werden, nicht zuletzt durch die Entwicklung moderner Analysemethoden. Hierdurch konnten grundlegende Unterschiede im Mikromilieu von akuten und chronischen Wunden festgestellt werden [2–5].

Fortschritte in der Entwicklung von neuen Materialien und Substanzen für die Versorgung von Wunden und die Etablierung von Behandlungsstandards und Leitlinien in der Wundversorgung haben die Wundtherapie in den letzten Jahren deutlich verbessert und dazu beigetragen, dass die Therapie chronischer Wunden optimiert wurde. Die Entwicklung von Wundtherapien von der rein passiven traditionellen Therapie mit Gazen und Kompressen, über die aktive feuchte Wundbehandlung, bis zur interaktiven Wundtherapie, die aktiv in die Heilung eingreift beispielsweise durch den Einsatz von Wachstumsfaktoren, interaktive Bio-Polymeren etc. hat zu einer Verbesserung der Wundheilung und zu einer Erleichterung der Beschwerden seitens der Patienten geführt [2, 3].

Tabelle 1
Serinproteasen und Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) (mod. nach Visse & Nagase, 2003) [7].

Serinproteasen Enthalten Serin im aktiven Zentrum			
Enzym	Substrat	Herkunft	
Poly-Morpho-Nuclear-Elastase (PMN-Elastase)	Proteine der ECM, Wachstumsfaktoren, Fibronectin	polymorphkernige Granulozyten (PMN)	
Kathepsin-G	Proteine der ECM, Wachstumsfaktoren, Fibronectin	Entzündungszellen (aktivierte Neutrophile)	
Protease-3 (PRTN3)	Elastin, Laminin, Kollagen-Typ-3	Neutrophile Granulozyten	
Urokinase-Plasminogen-aktivator (u-PA)	Aktiviert Plasminogen und wandelt es in Plasmin um	Zellen der Dermis	
Matrix-Metalloproteinasen (MMP) Enthalten Zink im aktiven Zentrum, 23 MMP bekannt, spezifische Inhibitoren (TIMP)			
Enzym	Substrat	Herkunft	
Kollagenasen MMP-1; MMP-8 MMP-13; MMP-18	Fibrilläres Kollagen	Zellen der Dermis, Keratinozyten, Neutrophile	
Gelatinasen, MMP-9; MMP-2	Verschiedene Kollagene, Gelatine, Fibronectin	Zellen der Dermis, Keratinozyten, Entzündungszellen	
Stromelysine, MMP-3; MMP-10; MMP-11	Kollagene, Laminin, Fibronectin, Elastin	Keratinozyten, Zellen der Dermis	
Matrilysine, MMP-7; MMP-26	Kollagene, Gelatine, Elastin, Laminin	Makrophagen	
Membran-typ MMP, MMP-14; MMP-15, MMP-16; MMP-17	Kollagen, Fibronectin, Gelatine	Zerebellum, Leukozyten	
Anderer MMP: MMP-12 (Metalloelastase), MMP-19; MMP-20 (Enamelysin), MMP-21; MMP-23, MMP-27; MMP-28	Kollagene, Gelatine, Elastin, Fibronectin, Amelogenin,	Makrophagen	

Die Krankheitsbilder der chronischen Wunden stellen weltweit weiterhin ein großes sozioökonomisches Problem dar, weshalb die effektive Nutzung moderner Wundtherapien unerlässlich erscheint. Obwohl die derzeit verfügbaren Wundtherapien eine breite Anwendung finden, muss oftmals festgestellt werden, dass deren Anwendung

nicht immer zielgerichtet ist und somit eine wesentliche Ursache für die unzureichende Wirksamkeit derzeit verfügbarer Wundtherapien in Bezug auf die Heilung von Wunden darstellt [2, 3].

Der Einsatz eines einfachen Diagnostiktests, der einen näheren Einblick in das Mikromilieu der Wunde ermöglicht, könnte eine hilfreiche, er-

gänzende Maßnahme in der Wundtherapie werden und zu einem gezielteren und zeitgerechteren Einsatz geeigneter Wundtherapien führen (Abb. 1).

Was sind Proteasen?

Proteasen, auch bekannt als Proteinasen, sind Enzyme, die auf Proteine einwirken, indem sie diese in Peptide und Aminosäuren aufspalten. Proteasen haben eine Schlüsselrolle im normalen Wundheilungsprozess. Sie steuern Vorgänge, wie die Entfernung von beschädigten Fragmenten der extrazellulären Matrix (EZM), die Reinigung der Wunde von Bakterien, die Aktivierung von Wachstumsfaktoren oder die Bildung und Abbau von Fibrin und Aktivierung von Zellmigration und Stimulation [4]. Matrix-Metalloproteinasen (MMPs) und Serinproteasen (z. B. Elastase) gehören zu den wichtigsten Proteasen, denen in der Wundheilung eine maßgebliche Rolle zukommt [5].

Die natürlichen Substrate der verschiedenen MMPs unterscheiden sich

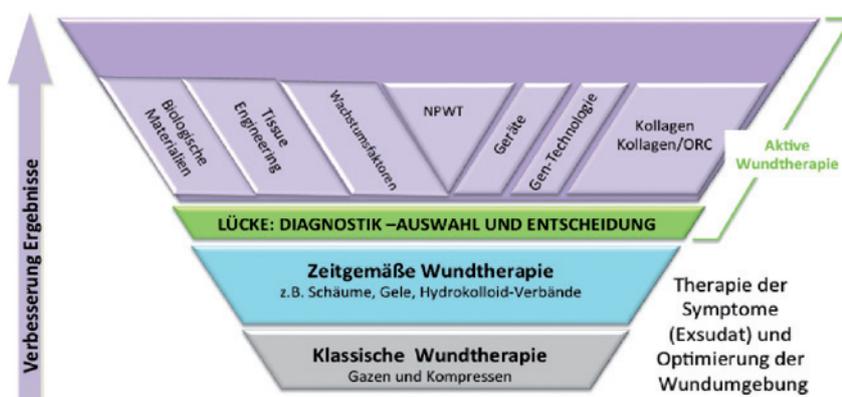


Abbildung 1
Fortschrittliche Therapien erzielen bessere Ergebnisse nur dann, wenn die Ausrichtung der Therapie der Wundsituation angepasst ist.

beträchtlich. Zu ihnen gehören wichtige Bestandteile der EZM wie beispielsweise das Kollagen, die Gelatine und verschiedene Proteoglykane. Die MMPs bauen diese Proteine ab und spalten sie in ihre Bestandteile. Verschiedene MMPs reagieren sequenziell und auf verschiedene Teile desselben Substrats [6]. Bisher wurden 23 humane MMP's identifiziert. Bei Wunden lag der Forschungsschwerpunkt auf MMP-1, MMP-2, MMP-8 und MMP-96. Die wichtigsten Serinproteasen und MMPs sind in Tabelle 1 zusammengefasst [7].

Herkunft, Aktivierung und Hemmung von Proteasen

Im physiologischen Wundheilungsprozess werden drei Phasen unterschieden: In der Entzündungsphase wird nach der Verletzung die Gerinnung aktiviert, Thrombozyten sezernieren Wachstumsfaktoren, neutrophile Granulozyten wehren Mikroorganismen ab, Proteasen reinigen die Wunde und bewirken ein Debridement, Zytokine und Monozyten stimulieren die Gefäßneubildung oder Angiogenese sowie die Proliferation der Fibroblasten [8]. Während der Proliferationsphase sprosst Granulationsgewebe in den Gewebedefekt ein, wobei avitales Gewebe abgebaut und neue EZM angelagert wird [8]. In dieser Phase beginnt auch die Epithelisation. Keratinozyten vermehren sich und beginnen, meist vom Wundrand her, mit der Überhäutung der Granulationsfläche. In der Umbauphase, die bis zu einem Jahr andauern kann, setzen Umbau- und Umstrukturierungsprozesse ein, die dazu führen, dass das Gewebe durch Umwandlung des neu gebildetem Kollagens in ein geordnetes und strukturiertes Netzwerk an Festigkeit gewinnt [8].

Proteasen werden sowohl von Entzündungsprozessen als auch durch Sekretion von den am Reparaturprozess beteiligten eingebundenen Zellen wie z. B. Fibroblasten und Endothelzellen produziert. Die humane neutrophile Elastase wird beispielsweise 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

Tabelle 2
Hauptfunktionen der Proteasen bei der normalen Wundheilung.

Phasen der Wundheilung	Funktion der Proteasen
	(Unterstützung des autolytischen Debridements)
Proliferation	Koordination komplexer Zell-Zell-Interaktionen, die zur Bildung von Granulationsgewebe führen (Gefäßneubildung, Fibroblastenmigration, Synthese von EZM Komponenten) Regulation der Zell-Matrix-Interaktionen, die zur Einleitung der Epithelisation und zum Wundverschluss führen
Umbau	Kontraktion und Umbau der extrazellulären Narbenmatrix

MMPs stimulieren [9, 10]. Intaktes Fibronectin, welches für die Zelladhäsion und die Signalübermittlung des Wachstumsfaktors benötigt wird, fehlt in nicht heilenden Wunden, tritt aber nachweislich mit dem Einsetzen des Heilungsprozesses wieder im Wundbett auf [11].

Ein weiterer Ursprung von Proteasen in Wunden sind die Bakterien. Zusätzlich zu einer Stimulation der Proteasen-Produktion durch Aktivierung des Immunsystems können einige Bakterien in Wunden selbst Proteasen absondern. Die Bedeutung der aus Bakterien stammenden Proteasen muss noch geklärt werden.

Bei ihrer Entstehung liegen MMPs zunächst in einer latenten Form vor (inaktive oder pro-MMP). Sie werden durch andere Proteasen aktiviert, die einen kurzen Abschnitt des Moleküls abtrennen. Dieser Vorgang öffnet das aktive Zentrum des MMP-Moleküls, das sich somit an sein bzw. seine Proteinsubstrat(e) binden kann.

Während die meisten MMPs in die umgebende EZM abgesondert werden, bleiben einige MMPs mit den Zellmembranen verbunden und werden auch Membrantyp-MMP genannt. Diese Gruppe der MMPs soll sowohl bei der Aktivierung der pro-MMPs sowie des pro-TNF (Tumor-Nekrose-Faktor) eine bedeutende Rolle spielen [6, 7].

Andere Moleküle, sogenannte TIMP (Tissue Inhibitors of Metalloproteinases - Gewebeinhibitoren der MMPs), können aktivierte MMPs hemmen und die Aktivierung von pro-MMPs blockieren [6, 7].

Proteasen und Wundheilung

Die Wundheilung ist ein sehr komplexer, dynamischer und kontrollierter Prozess, bei dem molekulare und zelluläre Vorgänge mit dem Ziel der Wiederherstellung intakten Gewebes wohlgeordnet und kaskadenförmig verlaufen. Innerhalb dieser komplexen Umgebung gibt es zahlreiche Regulationspunkte zur Steuerung der für eine normale Wundheilung notwendigen biologischen Prozesse. MMPs spielen eine wichtige Rolle in jeder Phase der normalen Wundheilung (Tab. 2).

Problemwunden

In der Literatur wird eine Reihe von Begriffen verwendet, um langsam oder schwer heilende Wunden zu bezeichnen. Schwer heilende Wunden werden oft als „chronisch“ bezeichnet. Dies ist jedoch nicht immer hilfreich, da gewisse Definitionen des Begriffes „chronisch“ eine lange Dauer und die Notwendigkeit beinhaltet, abzuwarten, ob eine Wunde langsam verheilt. Wunden bei Patienten mit bestimmten Begleiterkrankungen wie z. B. Diabetes mellitus oder Patienten, die bestimmte Arzneimittel einnehmen wie z. B. Kortikosteroide, können schon ab dem Zeitpunkt des Auftretens als schwer heilend eingestuft werden. Außerdem schließt der Begriff „chronisch“ akute Wunden wie z. B. Operationswunden mit problematischem Heilungsprozess aus.

Eine Wunde, die trotz richtiger Diagnose und adäquater Therapie nach 2 bis 4 Wochen Behandlung keine Fortschritte in Richtung Heilung zeigt, wird von den Experten im Konsens als „Problemwunde“ definiert. Die Reduzierung der

Tabelle 3
Faktoren, die neben der Proteasenaktivität die Fähigkeit zur Wundheilung beeinflussen. [33].

Bereich	Faktoren
Patient	<ul style="list-style-type: none"> • Ätiologie • Begleiterkrankungen, z. B. Diabetes mellitus, Autoimmunerkrankungen • Allergien • Arzneimittel, z. B. Kortikosteroide • Psychosoziale Faktoren • Schmerzen • Compliance
Wunde	<ul style="list-style-type: none"> • Dauer • Größe/Tiefe • Zustand des Wundbettes • Durchblutungssituation • Entzündung/Infektion • Anatomische Lage
Versorgung	<ul style="list-style-type: none"> • Geschick und Fachwissen der Ärzte • Gesundheitssystem (Verfügbarkeit, Kosten/Erstattung)

Wundfläche innerhalb eines definierten Zeitraumes ist ein guter prognostizierender Marker für ein Fortschreiten der Heilung [12–15], wobei dies nur für Wunden gilt bei denen eine regelmäßige und detaillierte Wundinspektion mit Angaben zur Menge, Konsistenz und Farbe des Granulationsgewebes, Beschaffenheit der Wundränder, Menge und Konsistenz der Wundexsudation, bakteriellen Besiedlung, Wundtiefe, Wundschmerz etc. stattgefunden hat [16].

Erhöhte Proteasenaktivität als eine Ursache für Problemwunden

Im normalen Verlauf der Wundheilung steigt der Proteasen-Spiegel zunächst schnell an [17–18]. Die Werte erreichen

ihren Höhepunkt ungefähr an Tag 3 und sinken etwa ab Tag 5 wieder ab (Abb. 2). In vielen Problemwunden erreichen Proteasen jedoch nicht nur einen durchschnittlich höheren Wert als in heilenden Wunden, sondern sie treten dort auch über längere Zeiträume auf. Das Ergebnis ist ein der Heilung entgegenwirkendes Wundmilieu. Ergebnisse aus klinischen Studien unterstützen die Annahme, dass in vielen Wunden, die keinen Heilungsfortschritt aufweisen, eine erhöhte Proteasenaktivität vor allem der MMP's und der humanen neutrophilen Elastase vorliegt [19–30].

Ergebnisse klinischer Forschung in mindestens 30 Publikationen haben gezeigt, dass insbesondere die Proteasen MMP-2, MMP-8, und MMP-9 oft im Wundexsudat chronischer Wunden

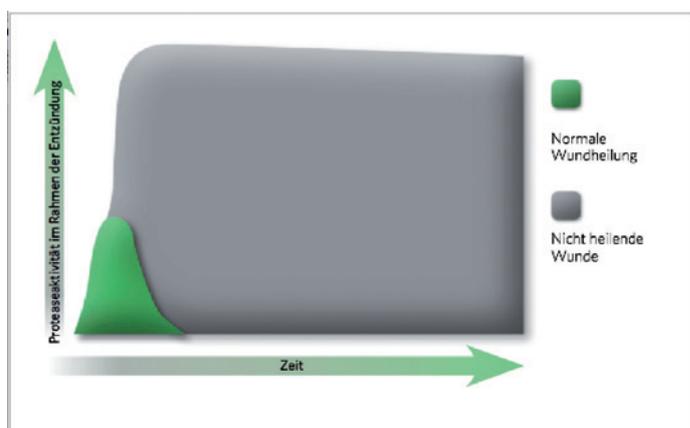


Abbildung 2
Fortschrittliche Therapien erzielen bessere Ergebnisse nur dann, wenn die Ausrichtung der Therapie der Wundsituation angepasst ist.

überwiegen und einen negativen Effekt auf die Heilung dieser Wunden ausüben können [31] (Abb. 3).

Faktoren, die neben der Proteasenaktivität die Wundheilung beeinflussen

Über Proteasen weiß man gegenwärtig mehr als über jeden anderen biochemischen, an der Wundheilung beteiligten Marker. Eine hohe Proteasenaktivität ist ein möglicher biochemischer Marker, um Störungen der Heilung sowohl bei akuten als auch bei chronischen Wunden vorherzusagen. Obwohl die Beziehung zwischen Proteasen, Entzündung und Wundheilung weitgehend bekannt ist, gibt es noch andere mit Entzündungen assoziierte Marker wie beispielsweise TNF- α , die sich als potentielle Kandidaten für weitere diagnostische Tests eignen könnten [32]. Allerdings deutet die Literatur daraufhin, dass die Proteasen den vielversprechendsten Biomarker zur Beurteilung der Wundheilung auf biochemischer Ebene darstellen.

Neben der Proteasenaktivität können zahlreiche andere Faktoren die Fähigkeit zur Heilung beeinflussen [33]. Dazu gehört auch der pH-Wert vom Wundexsudat, welcher u. a. maßgeblich die Aktivität der im Wundexsudat beinhaltenden Proteasen beeinflusst [34].

Um eine Problemwunde möglichst früh zu identifizieren, sollte die Anfangsbeurteilung aller Wunden mehrere Faktoren, wie in Tabelle 3 aufgelistet, einschließen. Das frühe Erkennen der korrigierbaren Faktoren bietet somit den Wundspezialisten die Möglichkeit, eine Therapie anzuwenden, die den Heilungsprozess initiieren und beschleunigen kann. Genauso wichtig ist es jedoch für den Wundbehandler 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 Kortikosteroiden, da hier die Kriterien der palliativen Wundbehandlung anzuwenden sind.

Bestimmung von Proteasen in Wunden

Laboruntersuchungen

Derzeit ist es sehr aufwändig, die Proteasenaktivität in Wunden zu bestimmen. In Forschungsstudien wurden Typen, Werte und die Aktivität von Proteasen in der Wundflüssigkeit von Biopsien analysiert, die unter Forschungslaborbedingungen und Anwendung verschiedener Methoden gewonnen wurden. Die Ergebnisse dieser Studien zeigen als einheitlichen Trend niedrige Proteasenaktivität bei akuten, heilenden Wunden und hohe Aktivität bei vielen stagnierenden oder schlecht heilenden Wunden, die sinken, wenn die Wunde zu heilen beginnt [20, 27].

Klinische Beurteilung der Proteasenaktivität

Die klinische Beurteilung von Wunden ist wichtig und notwendig und gehört zur alltäglichen Routine der Wundbehandlung. Dabei kann angenommen werden, dass in vielen Problemwunden ein Überschuss an Proteasen nachgewiesen werden könnte, wobei aber die nötigen Nachweisverfahren nur für die Forschung verfügbar sind und so in der täglichen Praxis der Wunddiagnostik keine Anwendung finden können. Dies bildet eine zentrale Problematik für den Behandler, da eine hohe Proteasenakti-

vität allein anhand klinischer Untersuchungen nicht vorherzusagen ist (weil auch Problemwunden existieren, welche keinen Proteasen-Überschuss zeigen) [35]. Eine noch nicht abgeschlossene Studie mit mehr als 100 akuten und chronischen Wunden hat gezeigt, dass erfahrene Ärzte anhand der klinischen Kriterien für Problemwunden nicht in der Lage waren, präzise vorherzusagen, in welchen Wunden eine hohe Proteasenaktivität vorliegt. Tatsächlich waren die einzigen Wunden, in denen die Proteasenaktivität mit den Ergebnissen der klinischen Untersuchung konstant korrelierten, vaskulitische Ulzerationen [35].

Behandlungsmöglichkeiten bei hoher Proteasenaktivität

Wunden, die stagnieren, obwohl die zugrunde liegende Erkrankung behandelt wurde, bei denen die Möglichkeit einer vorliegenden Infektion ausgeschlossen wurde, und die Wunde ohne Berücksichtigung einer therapeutischen Proteasen-Modulation optimal versorgt wurde, könnten in der Entzündungsphase aufgrund einer hohen Proteasenaktivität persistieren. Die Behandlung solcher Wunden erfordert einen systematischen, oftmals interdisziplinären Ansatz mit dem primären Ziel, die

Ursachen für die persistierende Entzündungsphase zu korrigieren, so dass der Prozess der Heilung wieder angeregt werden kann. Bei der Therapie dieser Wunden ist es wichtig, hausinterne Standards und allgemeine Empfehlung zur Wundbehandlung zu berücksichtigen und einzuhalten.

Im Fall einer zu hohen Proteasenaktivität könnte die Anwendung eines patientennahen diagnostischen Tests dem Arzt 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 solche spezifische Behandlung begonnen oder beendet werden sollte.

Behandlungsgrundsätze

Die Proteasenaktivität kann mit einer Reihe von Maßnahmen 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 wie z. B. durch Kompression, Druckentlastung, Behandlung der Grunderkrankung z.B. einer Ischämie mit nicht ausreichender O₂-Versorgung des Gewebes

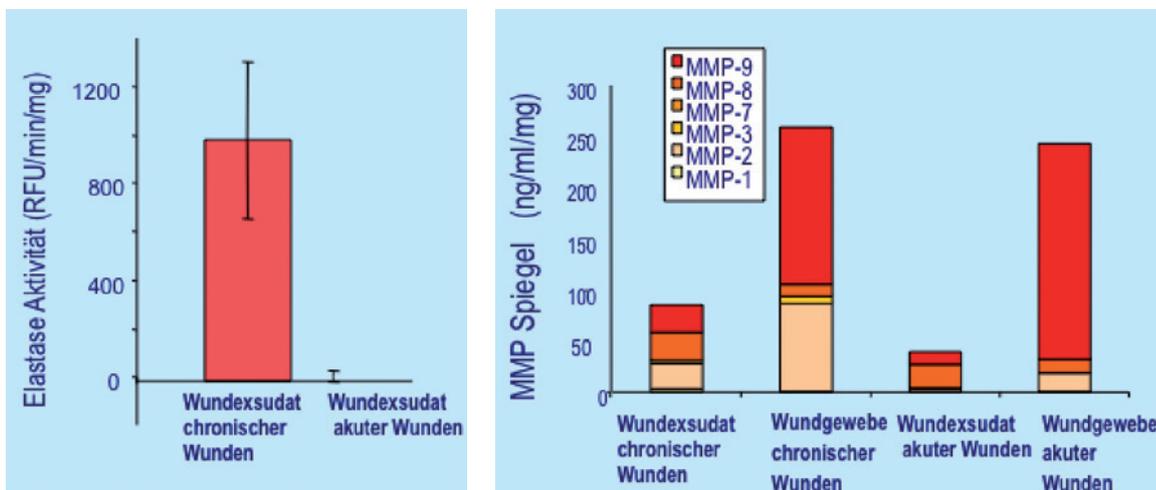


Abbildung 3 Proteasen (MMPs und Elastase) im Wundexsudat und Wundgewebe von Patienten mit akuten Wunden und von Patienten mit Ulcus cruris venosum, diabetischen Fußulzera und Druckgeschwüren [31]. Ergebnisse zur Elastase Aktivität [RFU/min/mg] im Wundexsudat chronischer und akuter Wunden sind in der linken Abbildung dargestellt. Ergebnisse zu dem MMP Spiegel [ng/ml/mg] im Wundexsudat und Wundgewebe chronischer und akuter Wunden sind in der rechten Abbildung dargestellt [31].

- Optimierung des Wundbetts und des Allgemeinzustandes des Patienten, beispielsweise Vorbereitung des Wundbetts (einschließlich Debridement), eine Wundbehandlung mit Unterdruck (NPWT – „Negative Pressure Wound Therapy“) oder die Modulation der bakteriellen Belastung
- Reduktion der Proteasenaktivität wie z. B. durch proteasenmodulierende Wundauflagen.

Vorsicht ist geboten bei der Verwendung von Haut oder Hautäquivalenten bei komplexen, nicht-heilenden Wunden mit hoher Proteasenaktivität, da ein Abbau der Matrix sehr wahrscheinlich und damit eine Einheilung unwahrscheinlich ist.

Reduzierung überschüssiger Proteasenaktivität

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

- **Reinigung:** Eine regelmäßige Wundreinigung hilft möglicherweise, die Proteasenaktivität zu reduzieren, indem Gewebstrümmer an der Oberfläche, die eine Entzündung stimulieren können, entfernt werden. Zudem kann die Reinigung zur Reduzierung der Proteasenaktivität beitragen, indem proteasehaltige Wundflüssigkeit entfernt wird. Systematische Studien zur Untersuchung des Effekts der Wundreinigung auf die Proteasenaktivität stehen aber noch aus.
- **Debridement:** Das Entfernen der Beläge bei jedem Verbandwechsel oder chirurgische bzw. scharfe Wundrevision in regelmäßigen Abständen, sollte bei der Reduzierung einer überhöhten Proteasenaktivität helfen, da mit der Entfernung des avitalen Gewebes und einer Reduzierung der bakteriellen Belastung auch der Stimulus für eine Entzündung entfernt wird. Untersuchungen zum Effekt des Debridements auf die Proteasenaktivität stehen noch aus.
- **Proteasen-Inaktivatoren:** Proteasenmodulierende Wundauflagen, die mit den Proteasen eine Bindung eingehen und zu deren Inaktivierung führen [36–40].
- **Antiseptische Wundauflagen wie z. B. Iod oder Silber:** Eine reduzier-

te bakterielle Belastung kann durch Senkung der Proteasenproduktion durch den Wirt und durch die Bakterien die Proteasenaktivität in der Wunde vermindern [41]. Angenommen wird, dass Silber selbst ebenfalls die MMP-Aktivität verringert, indem das für die Funktion der MMPs erforderliche Zink Ion der Enzyme ersetzt wird [41].

- **Antiphlogistika/Immunmodulatoren:** Die Praxis der Wundbehandlung hat gezeigt, dass eine topische Therapie mit Kortikosteroiden und auch mit Calcineurin-Inhibitoren hilfreich ist und ihre Anwendung entzündungshemmend wirkt, indem die Expression entzündungshemmender Proteine gesteigert bzw. entzündungsfördernder Proteine gesenkt wird.
- **Wundauflagen und Materialien zur Resorption bzw. Entfernung von Wundexsudat:** Saugfähige Wundauflagen und Materialien können durch die Entfernung der proteasehaltigen Wundflüssigkeit die Proteasenaktivität reduzieren [40]. 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 Proteasenaktivität gesenkt wird [42,43].

Proteasenmodulierende Wundauflagen

Wie bei allen neuartigen Produkten zur Wundbehandlung sollte die Anwendung proteasenmodulierender 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 proteasenmodulierende Wundauflagen kurzzeitig über 2–4 Wochen angewendet, gefolgt von einer Neubewertung der Wirksamkeit der Behandlung. Gelegentlich wird auch eine intermittierende oder Pulstherapie durchgeführt, z. B. eine zweiwöchige Behandlung mit einer proteasenmodulierenden Wundaufgabe, die nachweislich die Proteasenaktivität reduziert und einen positiven Effekt auf die Heilung ausübt [36], gefolgt von

einer zweiwöchigen Behandlung ohne eine solche Wundaufgabe usw..

Die Anwendung proteasenmodulierender Wundaufgaben 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 und z. B. Wundränder, Wundbasis und Wundfläche dokumentiert werden. Bei einem venösen Beinulkus stellt eine Reduzierung der Wundfläche um 20–40 % nach vier Wochen eine Besserung dar, die anzeigt, dass eine Heilung wahrscheinlich ist [12].

Kurze Beschreibung des Proteasenschnelltestes

WOUNDCHEK™ Protease Status ist ein Point of Care Schnelltest für die qualitative Messung der Aktivität der humanen, neutrophil-assoziierten inflammatorischen Proteasen in Wundflüssigkeitsproben aus chronischen Wunden. Die Durchführung des Tests nimmt je Probe etwa 15 Minuten in Anspruch und erfordert keine speziellen Geräte. Die Reagenzien sind gebrauchsfertig und können bei Raumtemperatur gelagert werden.

Diese Informationen waren erst mit der Publikation verfügbar und lag zum Zeitpunkt der Konsensus-Konferenz noch nicht vor.

Möglicher Einsatz eines Proteasen-Schnelltests

In der täglichen klinischen Praxis der Wundbehandlung dient die gewählte Therapie der Ursachenbehandlung nach einer vorab erstellten Diagnose. In der Zukunft wird es vermutlich möglich sein, eine sehr gezielte Wundtherapie durchzuführen, zum Beispiel nach Anwendung eines patientennahen Proteasen-Schnelltests am Point of Care (PoC-Test), der die allgemeine Diagnostik um eine spezifische lokale Wunddiagnostik erweitert (Abb. 4).

Die Überwachung der Proteasen könnte dem Wundbehandler die Möglichkeit bieten festzustellen, ob die Behandlung die Proteasenaktivität wirk-

Tabelle 4
Möglicher Einsatz eines patientennahen Proteasen-Schnelltestes.

Gezielte Anwendungsindikationen	Erweiterte Indikationen
Nicht heilende Wunden trotz adäquater Diagnose/Therapie (2–4 Wochen)	Postoperative Wunden, die nicht heilen
Vor Verwendung von Hauttransplantaten, (Verbesserung der "Take"-Rate)	Offene Abdomenbehandlung Entwicklung neuer Produkte, (Resorbierbare MMP-Fänger)

sam reduziert und ob der aktuelle Behandlungsansatz entsprechend der Diagnose als geeignet anzusehen ist oder angepasst werden sollte. Die Ergebnisse eines patientennahen PoC-Tests könnte möglicherweise auch langfristig dazu genutzt werden, erfolgreiche Behandlungsmethoden zu identifizieren.

Gezielte und erweiterte Indikationen des Proteasen-Schnelltests

Nach Meinung der Experten sind eine Fülle von gezielten Anwendungsindikationen sowie auch einige erweiterte Indikationen für den Proteasen-Schnelltest denkbar (Tab. 4).

Mögliche gezielte Indikationen

- Denkbare gezielte Indikationen für den Proteasen-Schnelltest sind Problemwunden, die trotz richtiger allgemeiner Diagnose und adäquater Therapie innerhalb eines Zeitraumes von 2 bis 4 Wochen keinen Heilungsfortschritt zeigen.
- Eine weitere gezielte Anwendungsindikation wären die chronischen Wunden mit Entzündungszeichen. Bei diesen Wunden sollte nach Meinung der Experten der Proteasen-Schnelltest sofort angewandt werden.
- Denkbar wäre auch eine Anwendung des Tests vor dem Einsatz kostenintensiver Wundtherapien wie beispielsweise die Verwendung von Hautspalttransplantaten und Hautersatzprodukten, z. B. zur verbesserten Einschätzung der „Take“-Rate.

Eine Anwendung des Proteasen-Schnelltests bei den genannten gezielten Indikationen könnte zu folgenden Resultaten führen:

- ein rascherer Einsatz der richtigen Therapie,

- eine Abkürzung der Heilungszeit,
- die Vermeidung von Komplikationen
- und eine Kostenreduktion durch rechtzeitige Anwendung der geeigneten Therapie.

Mögliche erweiterte Indikationen

- Als mögliche erweiterte Indikationen für den Proteasen-Schnelltest könnten die postoperativen Problemwunden, genannt werden. In der täglichen klinischen Praxis treten diese Wunden nach wie vor oft auf und repräsentieren ein großes Problem für den Patienten sowie auch für die behandelnde Institution. Die Patienten müssen länger hospitalisiert werden und die Kosten der Behandlung sind enorm.
- Offene Abdomenbehandlungen könnten eine denkbare erweiterte Indikation des Proteasen-Schnelltests sein.

Zytokine und Proteasen häufen sich in diesen Wunden an den tiefsten Stellen und führen zu Komplikationen. Ein Monitoring der Therapie dieser Wunden mit Hilfe des Proteasen-Schnelltests wäre hier denkbar und könnte hilfreich sein.

- Der Proteasen-Schnelltest könnte auch zur gezielten Entwicklung neuer Produkte angewendet werden. Denkbar wäre die Entwicklung eines resorbierbaren MMP-Fängers. Der resorbierbare MMP-Fänger könnte präventiv eingesetzt werden, es wäre also ein Produkt, welches in die Wunde eingesetzt und anschließend der chirurgische Wundverschluss durchgeführt wird.

Schaffung von Evidenz

Damit ein patientennaher Proteasen-Schnelltest fest in die bestehende Praxis eingebunden werden kann, werden Daten als Bestätigung der Aussagekraft des Tests nach Anwendung in den oben genannten gezielten und erweiterten Indikationen benötigt. Nach Meinung der Experten ist die Schaffung von Evidenz für den Proteasen-Schnelltest essentiell. Ein denkbares und von den Experten vorgeschlagenes Vorgehen für die Gewinnung erster Evidenz ist die

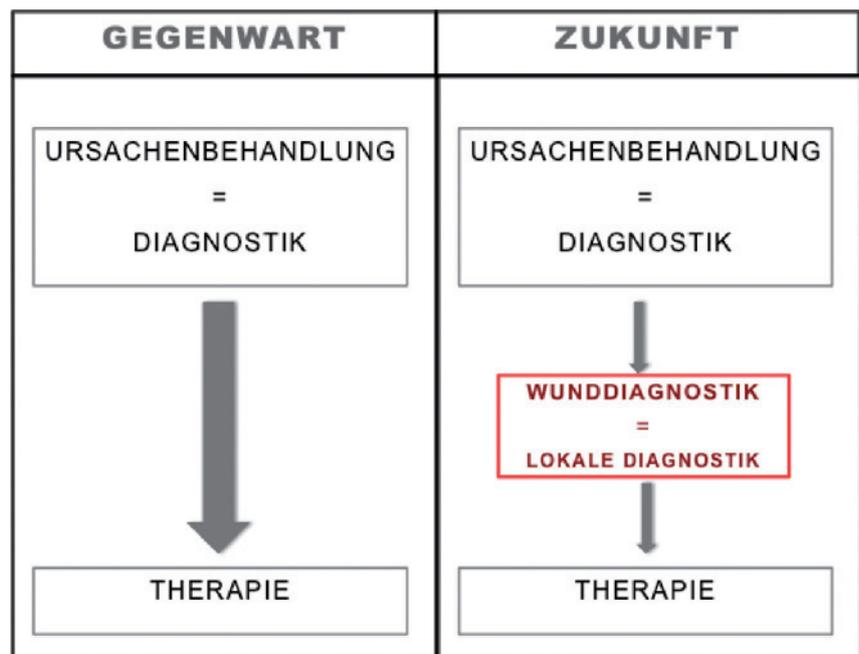


Abbildung 4
Von der Wunddiagnostik zur Wundtherapie: Vorgehen in der Gegenwart und in der Zukunft.

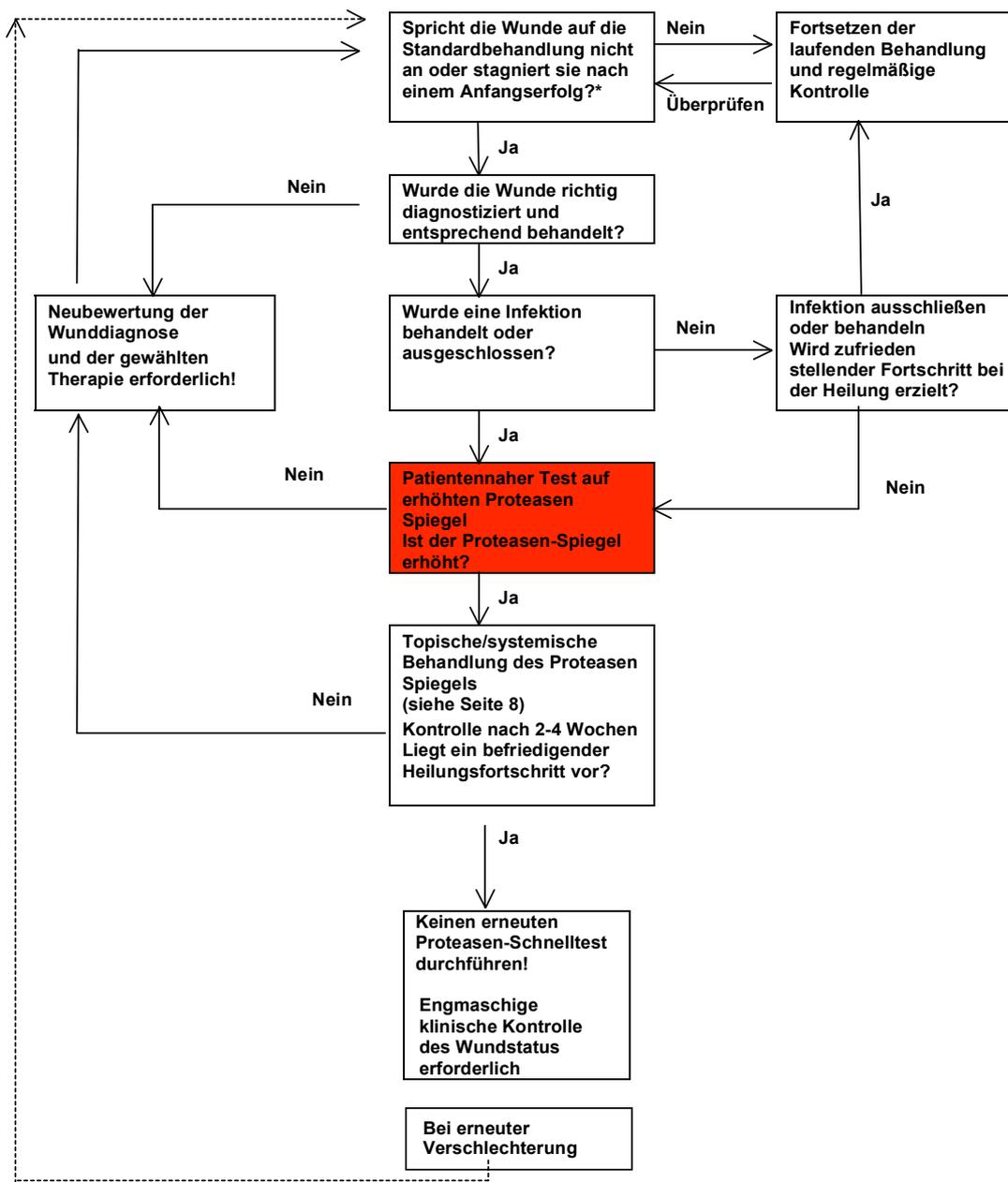


Abbildung 5

Klinischer Algorithmus für die Anwendung eines patientennahen Proteasen-Schnelltests.

*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 immunsupprimierten Patienten oder Vorliegen von Begleiterkrankungen wie Diabetes mellitus oder Neoplasien auf.

Sammlung von Erfahrungsdaten nach breitem Einsatz des Proteasen-Schnelltests durch alle ersten Anwender, die den Test in der täglichen klinischen Praxis der Wundbehandlung unter Berücksichtigung der oben vorgeschlagenen möglichen Indikationen angewandt haben werden.

Die gewonnenen Erfahrungen könnten dazu dienen, ein Register aufzubauen und Antworten zu finden auf

Fragen wie z. B. die Dauer und der geeignete Zeitpunkt für die Anwendung des Tests.

Anwendung des Proteasen-Schnelltests

Die Experten empfehlen eine schrittweise Einführung des Proteasen-Schnelltests. Zum jetzigen Zeitpunkt empfehlen die Experten eine gezielte

Anwendung des Proteasen-Schnelltests durch Wundspezialisten in Schwerpunktzentren nach Anordnung durch den Arzt und nach einer Einführung in die praktische Anwendung des Tests. Zu einem späteren Zeitpunkt, und sobald erste Erfahrungen im Umgang mit dem Proteasen-Schnelltest vorliegen, könnte der Proteasen-Schnelltest einem erweiterten Anwenderkreis zur Verfügung gestellt werden.

Kosten

Ein patientennaher Proteasen-Schnelltest kann den Wundtherapeuten bei einer kosteneffizienten Entscheidung über eine geeignete oder nicht geeignete Behandlung unterstützen. Die Vorteile einer solchen Steuerung der Therapie wären eine verbesserte, situationsgerechte Therapiestrategie, weniger häufige Verbandwechsel, 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 Wiederherstellung der Arbeitsfähigkeit.

Es ist wahrscheinlich, dass Kostenträger wie z. B. die Krankenkassen die Verfügbarkeit einer objektiven Messmethode wie z. B. den Proteasen-Schnelltest begrüßen werden, wenn dieses den Wundtherapeuten ermöglicht, eine zur Heilung führende Behandlung spezifischer, früher und über eine kürzere Dauer bei nachweislicher Kostenreduktion durchzuführen.

Schulung

Bei der Schulung von Wundtherapeuten zu Proteasen und zu dem Proteasen-Schnelltest ist es wichtig, das Konzept von Gleichgewicht und Ungleichgewicht, d.h. das Gleichgewicht zwischen Bildung und Abbau der EZM in der Heilung zu vermitteln. Die wichtigsten Lernziele der Schulung sollten sein:

- Proteasen sind wichtig für die Organisation und die Bildung einer neuen EZM. Am Anfang der akuten Wundheilung gibt es einen sogenannten „Burst“ (einen explosionsartigen Anstieg) der Proteasenaktivität. Bei einer normalen Wundheilung erreicht die Aktivität in den ersten Tagen den Höhepunkt und sinkt dann innerhalb einer Woche auf einen sehr niedrigen Wert ab [17].
- Stimuli, die möglicherweise die hohe Proteasenaktivität verlängern, sind unter anderem das Vorliegen von geschädigtem Gewebe, Fremdmaterial, Bakterien und Biofilmen. Ist die Proteasenaktivität zu hoch, wird die EZM abgebaut und zerstört sowie neu gebildetes Gewebe beschädigt, das

Wundbett beeinträchtigt und die Heilung verzögert. Eingriffe, mit denen schädliche Proteasen reduziert und das Ungleichgewicht ausgeglichen werden, können die Heilung unterstützen [38].

Danksagung

Die Autoren danken Fr. Dr. Welling für die hervorragende Unterstützung beim Schreiben des Papiers und ihre wichtige Aufgabe als Editorin

Literatur

1. INTERNATIONAL CONSENSUS: The role of proteases in wound diagnostics. An expert working group review. London: Wounds International, 2011.
2. RIEDEL K, RYSEL H, KOELLENSPREGER G, GERMANN G, KREMER T: Pathophysiologie der chronischen Wunde. *Chirurg* 2008; 79 (6): 526–534.
3. EMING S, KAUFMANN J, LÖHRER R, KRIEG T: Chronische Wunde: Neue Wege in Forschung und Therapie. *Hautarzt* 2007; 58 (11): 939–944.
4. NWOMEH BC, YAGER DR, COHEN IKH: Physiology of the chronic wound. *Clin Plast Surg* 1998; 25 (3): 341–356.
5. PAGE-McCAW A, EWALD AJ, WERB Z: Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007; 8 (3): 221–233.
6. GIBSON D, CULLEN B, LEGERSTEE R, HARDING K, SCHULTZ G: MMPs made easy. *Wounds Int* 2009; 1 (1): Verfügbar unter: <http://www.woundsinternational.com>.
7. VISSÉ R, NAGASE H: Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases. *Structure, Function and Biochemistry*. *Circ Res* 2003; 92 (8): 827–839.
8. SMOLA H, EMING S, HESS S, WERNER S, KRIEG T: Wundheilung und Wundheilungsstörungen. *Dtsch Arztebl* 2001; 43: A2802–2809.
9. GRINNELL F, ZHU M: Fibronectin degradation in chronic wounds depends on relative levels of elastase, a proteinase inhibitor and $\alpha 2$ macroglobulin. *J Invest Dermatol* 1996; 106(2):335–341.
10. GRINNELL F, ZHU M (1994) Identification of neutrophil elastase as the proteinase in burn wound fluid responsible for the degradation of fibronectin. *J Invest Dermatol* 1994; 103(2):155–161.
11. HERRICK SE, SLOAN P, MCGURK M, FREAK L, MCCOLLUM CN, FERGUSON MW: Sequential changes in histologic pattern and extracellular matrix deposition during the healing of chronic venous ulcers. *Am J Pathol* 1992; 141 (5): 1085–1095.
12. FLANAGAN M: Improving accuracy of wound measurement in clinical practice *Ostomy Wound Manage* 2003; 49 (10): 28–40.
13. SHEEHAN P, JONES P, CASELLI A, GIURINI JM, VEVES A: 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 (6): 1879–1882.

14. 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.
15. 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.
16. SIBBALD GR, GOODMAN L, WOO YK, KRASNER DL, SMART H, TARIQ G, AYELLO EA, BURRELL RE, KEAST DH, MAYER D, NORTON L: Clinical Management extra: Special considerations in Wound bed Preparation 2011: An update. *Adv Skin Wound Care* 2011; 24 (9): 415–436.
17. NWOMEH BC, LIANG HX, DIEGELMANN RF, COHEN KI, YAGER DR: Dynamics of matrix metalloproteinases MMPsP-1 and MMPsP-8 in acute open dermal wounds. *Wound Repair Regen* 1998; 6 (2): 127–134.
18. 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): 268–274.
19. Beidler SK, Douillet CD, Berndt DF, Keagy BA, Rich PB, Marston WA (2008) 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):642–648.
20. LADWIG GP, ROBSON MC, LIU R, KUHN MA, MUIR DF, SCHULTZ GS: 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.
21. LIU Y, MIN D, BOLTON T, NUBÉ V, TWIGG SM, YUE DK, McLENNAN SV: Increased matrix metalloproteinase-9 predicts poor wound healing in diabetic foot ulcers. *Diabetes Care* 2009; 32(1):117–119.
22. LOBMANN R, AMBROSCH A, SCHULTZ G, WALDMANN K, SCHIWECK S, LEHNERT H: Expression of matrix- metalloproteinases and their inhibitors in the wounds of diabetic and non-diabetic patients. *Diabetologia* 2002; 45 (7): 1011–1016.
23. MULLER M, TROCME C, LARDY B, MOREL F, HALIMI S, BENHAMOUR PY: 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): 419–426.
24. NORGAEUER J, HILDENBRAND Y, IDZKO M, PANTHER E, BANDEMIR E, HARTMANN M, VANSCHIEDT W, HEROUY Y: Elevated expression of extracellular matrix metalloproteinase inducer (CD147) and membrane-type matrix metalloproteinases in venous leg ulcers. *Br J Dermatol* 2002; 147 (6): 1180–1186.
25. PIRILÄ E, KORPI JT, KORKIAMÄKI T, JAHKOLA T, GUITIERREZ-FERNANDEZ A, LOPEZ-OTIN C, SAARIALHO-KERE U, SALO T, SORSA T: Collagenase-2 (MMPsP-8) and matrilysin-2 (MMPsP-26) expression in human wounds of different etiologies. *Wound Repair Regen* 2007; 2007; 15 (1): 47–57.
26. 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): 951–961.

27. TRENGOVE NJ, STACEY MC, MACAULEY S, BENNETT N, GIBSON J, BURSLEM F, MURPHY G, SCHULTZ GS: Analysis of the acute and chronic wound environments: the role of proteases and their inhibitors. *Wound Repair Regen* 1999; 7 (6): 442–452.
28. WECKROTH M, VAHERI A, LAUHARANTA J, SORSA T, KONTTINEN YT: Matrix metalloproteinases, gelatinase and collagenase, in chronic leg ulcers. *J Invest Dermatol* 1996; 106 (5): 1119–1124.
29. 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): 64–66.
30. YAGER DR, ZHANG LY, LIANG HX, DIEGELMANN RF, COHEN IK: Wound fluids from human pressure ulcers contain elevated matrix metalloproteinase levels and activity compared to surgical wound fluids. *J Invest Dermatol* 1996; 107 (5): 743–748.
31. NISBET L, ESSLER A, CULLEN B, DUNN R, LALIKOS R, ROTH T, SHERRILL C, STOM H: Biochemical differences in chronic & acute wounds: The role of the macromolecule environment. Poster presented at the joint Scientific meeting of ETRS, EWMA and DGfW, Stuttgart 2005.
32. 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.
33. 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.
34. SCHNEIDER LA, KÖRBER A, GRABBE S, DISSEMOND J: Influence of pH on wound-healing: A new perspective for wound-therapy? *Arch Dermatol Res* 2007; 298 (9): 413–420.
35. SERENA T: (personal communication).
36. CULLEN B, IVINS N: Promogran & Promogran Prisma made easy. *Wounds Int* 2010; 1(3): Verfügbar unter <http://www.woundsinternational.com>.
37. Widgerow AD: Chronic wound fluid - thinking outside the box. *Wound Repair Regen* 2011; 19 (3): 287–291.
38. SMEETS R, ULRICH D, UNGLAUB F, WÖLTJE M, PALLUA N: 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.
39. ROMANELLI M, DINI V, ROMANELLI P: Hydroxyurea-induced leg ulcers treated with a protease-modulating matrix. *Arch Dermatol* 2007; 143 (10): 1310–1313.
40. EMING S, SMOLA H, HARTMANN B, MALCHAU G, WEGNER R, KRIEG T, SMOLA-HESS S: The inhibition of matrix metalloproteinase activity in chronic wounds by a polyacrylate superabsorber. *Biomaterials* 2008; 29 (19): 2932–2940.
41. 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.
42. MOUËS CM, VAN TOORENENBERGEN AW, HEULE F, HOP WC, HOVIUS SE: 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): 488–494.
43. SHI B, ZHANG P, LI WZ, CHEN SZ, LI JQ: Effect of vacuum assisted closure on collagenase activity in human chronic wound. *Chinese J Plast Surg* 2006; 22 (6): 465–467.

| Adressen der Koautoren

Prof. Dr. Joachim Dissemund

Oberarzt Dermatologie,
Universitätsklinikum Essen
Hufelandstr. 55, 45122 Essen

Dr. Gabriele Hastermann

Krankenanstalt Rudolfstiftung Wien
Juchgasse 25, A-1030 Wien

Dr. med. Katharina Herberger

OÄ für Dermatologie und Venerologie
Institut für Versorgungsforschung in
der Dermatologie und bei Pflegebe-
rufen; CeDeF – Dermatologische For-
schung und Ambulanzen
Universitätsklinikum
Hamburg-Eppendorf
Martinistr. 52, 20246 Hamburg

Dr. med. Severin Läuchli

Facharzt FMH für Dermatologie,
Dermatologische
Klinik University Hospital of Zurich
Raemistrasse 100, CH-8091 Zurich

Dr. Gerlinde Luch

Landeskrankenhaus Steyr
Sierninger Straße 170, A-4400 Steyer

PD Dr. Dieter Mayer

Oberarzt Gefäßchirurgie, Leiter Wund-
zentrum, UniversitätsSpital Zürich,
Raemistrasse 100, CH-8091 Zurich

Dr. Thomas Neubert

Universitätsmedizin Gießen
und Marburg
Baldingerstraße 1, 35033 Marburg

Prof. Dr. Martin Storck

Klinik für Gefäß- und Thoraxchirurgie
Städtisches Klinikum Karlsruhe
gGmbH
Moltekstraße 90, 76133 Karlsruhe