





Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik I  
der Universität Würzburg  
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. hc Arnulf Thiede

Prospektive randomisierte Studie zur Wirksamkeit der Protease modulierenden  
Matrix PROMOGRAN® auf chronischen Wunden bei Diabetes mellitus, chronisch  
venöser Insuffizienz und Dekubitalulzerationen.

Inaugural – Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der  
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg  
vorgelegt von  
Hans-Eberhard Küchler  
aus Lichtenfels

Würzburg, November 2006

**Referent:** Priv.-Doz. Dr. med. Richard Kellersmann

**Koreferent:** Prof. Dr. med. Franz Kehl

**Dekan:** Prof. Dr. med. Matthias Frosch

**Tag der mündlichen Prüfung:** 12.10.2007

**Der Promovend ist Arzt**

### Inhaltsverzeichnis

Einleitung	1
Methodik	6
• Patienten- und Datenakquisition	6
• Produktbezeichnung	7
• Produktbeschreibung	8
• Produktzusammensetzung	8
• Produktindikation	8
• Software	9
• Wundflächenberechnung	10
• Laser-Doppler-Velocimetrie	10
• Hygiene	11
• Wundscore	11
• Bestimmung der Zytokine und Proteasen	12
• Wundversorgung	13
• Statistik	14
Ergebnisse	15
• Wundflächenveränderung	15
• Wundscore	17
• Mikrobiologie	19
• Laser-Doppler-Velocimetrie	25
• Zytokin- und Proteasenbestimmung	27
Diskussion	35
• Diabetisches Fußsyndrom	35
• Ulcus cruris venosum	38
• Dekubitalulcera	40
• Hygiene chronischer Wunden	42

## Inhaltsverzeichnis

---

Schlußfolgerung	43
Literaturverzeichnis	45
Danksagung	

### Einleitung

Wundheilung ist ein komplexer Vorgang mit dem Ziel, eine Wunde möglichst rasch zu schließen und die Barrierefunktion der Haut wieder herzustellen. Um dies zu erreichen, müssen verschiedene Zellpopulationen zeitlich und räumlich genau aufeinander abgestimmt funktionieren. Die dazu erforderlichen Signalübertragungen erfolgen im Wesentlichen auf drei verschiedenen Wegen: Zell-Zell-Interaktion, Zell-Matrix-Kontakte und zytokin-vermittelte Wechselwirkungen [Eming S, 2004]. Die Bedeutung dieser multifaktoriellen Mechanismen der Wundheilung sowohl auf zellulärer als auch molekular-biologischer Ebene sind nach wie vor Gegenstand umfangreicher experimenteller und klinischer Studien.

Aus der klinischen Situation ist bekannt, dass die physiologischen Wundheilungsmechanismen durch eine Vielzahl lokaler und systemischer Einflüsse behindert werden können. Hierzu zählen z.B. metabolische Entgleisungen, Beeinträchtigungen der Blutzirkulation oder kompromittierte immunologische Funktionen des Körpers. Ausgedehnte differentialdiagnostische Überlegungen, oft mit einem interdisziplinären Ansatz sind erforderlich, um diese zugrunde liegenden Störfaktoren der Wundheilung zu erkennen und kausale Therapien einzuleiten [Eming S, 2004].

Schätzungsweise 10-35% der erwachsenen Bevölkerung in Deutschland sind an einem Venenleiden erkrankt. Bei etwa 1-2% der Bevölkerung entwickelt sich daraus ein so genanntes Ulcus cruris. Das Ulcus cruris venosum ist mit 60 bis 80% die häufigste Form der chronischen, nicht spontan abheilenden Wunde im Unterschenkelbereich [[www.wundheilung-online.de/inhalt\\_15\\_u\\_c.html](http://www.wundheilung-online.de/inhalt_15_u_c.html), 2004].

In Deutschland leiden von den ca. 4 Millionen Patienten mit Diabetes mellitus etwa 30% an einer peripheren Neuropathie oder/und Durchblutungsstörungen. Hier geht man davon aus, daß bei ca. 120.000 Patienten bereits eine Amputation durchgeführt wurde bzw. eine chronische Fußläsion besteht [[www.wundheilung-online.de/inhalt\\_38\\_d\\_a.html](http://www.wundheilung-online.de/inhalt_38_d_a.html), 2004]. Die jährlichen Gesamtkosten für die Therapie aller diabetischen Fußsyndrome belaufen sich auf ca. 9 Milliarden Euro. Davon

entfallen rund 80% der Kosten auf die Behandlung in Kliniken. Bei der chronisch venösen Insuffizienz liegen diese Kosten bei rund 1 bis 1,25 und bei Dekubitalucera - einer häufigen Form chronischer Wunden von bettlägerigen Patienten - sind es ca. 0,75 bis 2 Milliarden Euro [Sellmer W 2005].

Diese Zahlen unterstreichen neben den rein medizinischen Aspekten der Wundheilung (z.B. starke Beeinträchtigung der Lebensqualität des Patienten, erheblicher pflegerischer und ärztlicher Behandlungsaufwand) ihre enorme gesundheitsökonomische Bedeutung.

### **Schlüsselwörter**

Wundbettkonditionierung, Wundheilung, chronische Wunden, Debridement

### **Das Konzept der Wundbettkonditionierung**

Das Verständnis über die pathophysiologischen Vorgänge der Heilung chronischer Wunden, im Vergleich zu akuten, ist immer noch sehr gering. Der uneinheitliche Kenntnisstandes bezüglich der Genese chronischer Wunden hat in der Vergangenheit zu teilweise sehr unterschiedlichen Behandlungsstrategien geführt.

Mit dem Begriff der Wundbettkonditionierung wurde in jüngster Zeit darauf fokussiert, dass chronische Wunden im Vergleich zu akuten eine intensivere Wundbehandlung bedürfen. Die Rolle der „wound bed preparation“, oder auch der Status des Wundbettes, als beeinflussender Prädiktor für den Heilungserfolg ist noch nicht vollständig geklärt. Retrospektiv betrachtet scheint eine inadäquate Wundbettkonditionierung einer der Gründe zu sein, warum einige neue, zunächst vielversprechende Therapieformen wie z.B. die Applikation von Wachstumsfaktoren oder auch Hautersatzverfahren oftmals fehlgeschlagen sind [Lauer G, 2000].

Allseits gültige Handlungsleitlinien für die Präparation des Wundbettes zu erstellen ist schwierig, da wir es einerseits mit sehr unterschiedlichen Wundentitäten, andererseits mit wundspezifischen, patientenspezifischen und sozio-ökonomischen Problemen zu tun haben („good wound care“). Der Wundheilungsprozeß als solcher



ist wie eingangs erwähnt zusätzlich ein äußerst komplexes biologisches System molekularer und zellulären Interaktionen.

Wundbettkonditionierung wird bisher vielfach als alleiniges Wunddebridement verstanden. In akuten Wunden führt das chirurgische Wunddebridement [Dräger E, 1999], mit Entfernung von nekrotischem Gewebe und Bakterien in der Regel zu einer einfachen Abheilung. Dies ist bei der chronischen Wunde nicht der Fall. Hier ist mehr als nur das chirurgische Debridement notwendig, um eine Abheilung, zu erzielen. So ist bei chronischen Wunden eine erhöhte Bereitschaft zu Wundinfektionen zu verzeichnen (z. B. diabetisches Fußulcus, Ulcus bei arterieller Verschlusskrankheit). Außerdem wird in diesen Wunden ein erhöhter Anfall von Exsudat verzeichnet, welcher u.a. durch einen damit einhergehenden, erhöhten Proteasenanteil eine sichere Wundheilung behindern kann.

Die Konditionierung des Wundbettes chronischer Wunden zur späteren definitiven Defektdeckung oder Heilung per secundam nimmt deshalb, neben der kausalen Therapie des Ulcus (z. B. Diabeteseinstellung, Kompressionstherapie, Entlastung usw.), eine zentrale Rolle bei der Wundtherapie ein.

Unter Wundbettkonditionierung versteht man somit das gesamte „Management“ der Wunde, um die endogene Heilung zu erhöhen oder die Effektivität anderer therapeutischer Methoden zu erleichtern [Falanga V, 2000]

Ziele der lokalen Wundbettkonditionierung ist die Stimulation

- der Angiogenese,
- der Neuformation von Kollagen,
- der Reepithelisierung,
- der Wundkontraktion und des Zellwachstums.

Die periulceröse Hautumgebung ist einer der klinischen Marker für die Effektivität dieser Behandlung (eigene Erfahrung). Um ein gut vaskularisiertes Granulationsgewebe zu erreichen oder eine bessere Abheilung der Wunde zu erzielen, sind

- die Entfernung von Nekrosen und Wundbelägen (Debridement)
- die Herstellung einer bakteriellen Balance auf der Wundoberfläche (Keimreduktion/-elimination)
- das Management des anfallenden Exsudates

wichtigste Behandlungsmaßnahmen.

An der Chirurgischen Universitätsklinik Würzburg wurde eine prospektive randomisierte Studie zur Wirksamkeit der Proteasen modulierenden Matrix PROMOGRAN® auf chronischen Wunden bei Diabetes mellitus, chronisch venöser Insuffizienz und Dekubitalulcerationen durchgeführt. Der Hauptwirkungsmechanismus von PROMOGRAN® beruht auf der Fähigkeit, eine Matrix aus Kollagen und oxidierte regenerierte Cellulose (ORC) zu bilden, die wie ein Gerüst die Proteasen physikalisch einfängt und die Proteaseaktivität mechanisch moduliert. Zur Erzielung dieses Effekts ist es weder erforderlich, dass ein chemischer Prozess auf oder in der menschlichen Haut, noch eine weitere Verstoffwechslung erfolgt [Produktmonographie PROMOGRAN® 2001].

Wirkungsmechanismen von PROMOGRAN®

1. Proteasen-Bindung und –Inaktivierung

Durch diesen Effekt wird

- die proteolytische Zerstörung der Extrazellulärmatrix verringert und
- der proteolytische Abbau von Molekülen, die sich positiv auf die Wundheilung auswirken, herabgesetzt.

2. Bindung und Schutz von endogenen Wachstumsfaktoren

3. Nachweisliche Beeinflussung der Chemotaxis und Zellproliferation durch die Bestandteile von PROMOGRAN®

- Kollagen: Beeinflussung der Chemotaxis
- Oxidierte regenerierte Cellulose: Beeinflussung von Chemotaxis und Zellproliferation

4. Abfangen freier Radikale

5. Hämostase blutender Wunden

6. Schaffung eines feuchten Wundmilieus zur Heilung

[Produktmonographie PROMOGRAN® 2001]

Auf der Basis der Beobachtungsparameter von Proteasenaktivität, subjektive visuelle Wundbettbeschaffenheit (nach Wollina), Wundgröße, Vaskularisierung sowie bakterielle Population, sollte die Hypothese überprüft werden, ob der oben genannte wundmodulierende Effekt von PROMOGRAN® auf die Wundbettkonditionierung chronischer Wunden im klinischen Einsatz einen günstigen Einfluss hat.

### Methodik

#### Patienten- und Datenakquisition

In die Studie wurden 55 Patienten aufgenommen. 40 davon befanden sich in ambulanter Behandlung in der Wund- und Fußsprechstunde der Chirurgischen Poliklinik der Universität Würzburg. Drei Patienten befanden sich in stationärer Behandlung in der Chirurgischen Universitätsklinik Würzburg. 12 Patienten wurden in der Geriatrischen Reha-Klinik der Arbeiterwohlfahrt in Würzburg behandelt. Der Erfassungszeitraum erstreckte sich vom 15.10.2002 bis zum 30.04.2004.

Es handelte sich um jeweils 20 Patienten mit diabetischen Fußsyndrom (DFS) (Klassifikation nach Wagner I-II) und 20 Patienten mit Ulcus cruris venosum (CVI). Weitere 15 Patienten litten an einem Dekubitalulkus (Grad III-IV). Die Zuteilung der Studienteilnehmer in die Patientengruppen erfolgte durch Losverfahren. Jeweils eine Hälfte erhielt die aktive Behandlung mit Promogran<sup>®</sup> und Tielle<sup>®</sup>, die andere Hälfte die Kontrollbehandlung ausschließlich mit Tielle<sup>®</sup>. Der Tielle<sup>®</sup> Wundverband besteht aus einem Wundkissen aus Hydropolymerschaum, einem sekretaufnehmenden Verteilerfließ und einer atmungsaktiven Schutzschicht.

Folgende Einschlusskriterien mussten erfüllt werden:

- Alter zwischen 35 und 90 Jahren
- Unterschriebene Einverständniserklärung
- Bereitschaft zur Kooperation
- Keine systemische Entzündungszeichen
- Keine lokale Infektion der Zielwunde
- Keine maligne Grunderkrankung
- Keine Allergie auf Prüf- und Kontrollpräparat
- Keine Beteiligung an einer anderen Medikamentenprüfung innerhalb der letzten 30 Tage vor geplanter Aufnahme in die Studie
- Keine Erkrankung die Geschäfts- und Einsichtigkeitsfähigkeit beeinträchtigen

- Kein Alkohol-/Drogenmissbrauch
- Zusätzlich bei weiblichen Patienten: Kein Empfängnischutz, keine Schwangerschaft, kein Stillen.

Tabelle 1: Demographische Daten der Studienteilnehmer

	Promogran® Gruppe (n=30)	Kontrollgruppe (n=25)	Gesamt (n=55)
<b>Geschlecht:</b>			
männlich	13 (42,9%)	11 (44 %)	24 (43,4%)
weiblich	17 (57,1%)	14 (56 %)	31 (56,6%)
<b>Art der Versorgung:</b>			
ambulant	20 (70,3%)	20 (80 %)	40 (72,7%)
Reha-Klinik	8 (26,4%)	4 (16 %)	12 (21,8%)
Stationär	1 (3,3%)	2 (4 %)	3 (5,5%)
<b>Alter (Jahre):</b>			
Mittelwert	65,7	70,3	69,9
Median	66	71	68,5
Spanne	44 - 89	51 - 86	44 - 89

### Produktbezeichnung

PROMOGRAN® Protease modulierende Matrix

Anmerkung: UK-97-0005 von Johnson & Johnson Advanced Wound Care wird vermarktet unter dem Markennamen PROMOGRAN® seit dem 15. Mai 2001

[PROMOGRAN® Wirkmechanismus 2001]

## **Produktbeschreibung**

PROMOGRAN® ist ein resorbierbares Therapeutikum, welches durch Modulation und Regulation der chronischen Wundumgebung das Wundmilieu sowie den Heilungsverlauf bei chronischen Ulcera und Decubiti verbessern soll.

Durch Zusammenwirken folgender physiologischer Prozesse schafft PROMOGRAN® die Voraussetzung, den Heilungsverlauf im feuchten Wundmilieu zu verbessern:

- Bindung und Deaktivierung von überschüssigen Proteasen (Metallomatrixproteasen);
- Bindung und Schutz der endogenen Wachstumsfaktoren vor einem Abbau durch überschüssige Proteasen [Produktmonografie PROMOGRAN® 2001].

## **Produktzusammensetzung**

PROMOGRAN® ist eine sterile gefriergetrocknete Matrix, die zu 45% aus oxidiert regenerierter Cellulose (ORC) und zu 55% aus Kollagen besteht [Produktmonografie PROMOGRAN® 2001].

## **Produktindikation**

PROMOGRAN® ist angezeigt als resorbierbares Therapeutikum für alle chronischen Wunden, die frei sind von nekrotischem Gewebe und sichtbaren Infektionszeichen, wie z.B.:

- Ulcus cruris venosum
- Diabetisches Fußsyndrom
- Decubitus

PROMOGRAN® hat hämostatische Eigenschaften und kann auch bei Kompressionsbehandlung eingesetzt werden [Produktmonografie PROMOGRAN® 2001].



**Abb. 1: Applikation von PROMOGRAN® auf die Wunde (hier ein Ulcus cruris venosum). Wunde mit appliziertem PROMOGRAN® und Tielle® als Wundverschluss. (Original Aufnahme aus Studie vom 12.09.2003)**

## Software

Folgende Software wurde zur Eingabe der gesammelten Daten der Studie verwendet: Betriebssystem Microsoft Windows XP Home mit Service Pack 2. Aus dem Programm Microsoft Office XP Pro wurde die Teilkomponente Word verwendet.

### **Wundflächenberechnung**

Zur Ermittlung der Ulkusgröße wurde eine durchsichtige Folie auf die Wundfläche aufgelegt und mit einem Folienstift die Wundränder abgezeichnet. Die Folie wurde anschließend auf ein Touch-Pad aufgelegt - welches mit einem PC verbunden war - der abgezeichnete Wundrand erneut mit einem speziellen Pen nachgefahren und somit der Wundumfang an einen Computer übertragen. Die Berechnung der Wundflächen erfolgte mit der Software Wunddok für Windows, Produktversion 1.00.0105, Sprache deutsch (standard), Copyright: Jekov Gesellschaft zur Erhebung medizinischer Daten.

### **Laser-Doppler-Velocimetrie**

Die Untersuchung der Vaskularisation wurde mittels einer Laser-Doppler-Velocimetrie durchgeführt (Firma Moor Instruments Ltd., Gerätebezeichnung DRT 4). Die Laser Doppler Technik ist die einzige Methode zur kontinuierlichen Aufzeichnung der Mikrozirkulation in jedem Gewebe. Da die Durchblutung temperaturabhängig ist, werden von den Standardsonden beide Parameter erfasst. Das Laser Doppler Prinzip beruht auf der Verarbeitung von Lichtwellen (Eindringtiefe in das Gewebe ca. 1mm), die von bewegten und unbewegten Zielen reflektiert werden. Es werden dabei wenige mm<sup>3</sup> Gewebevolumen erfasst. Durch flexible Glasfasersonden ist die invasive Messung in verschiedensten Organen wie zum Beispiel in Gehirn, Knochen oder Muskeln möglich [Internet Homepage: [www.lawrenz.com/drt1.htm](http://www.lawrenz.com/drt1.htm)] Die Messung des Blutflusses erfolgte immer am Wundrand und dafür festgelegten Stellen. Die Messsonde wurde ohne Druck für zwei Minuten aufgesetzt.



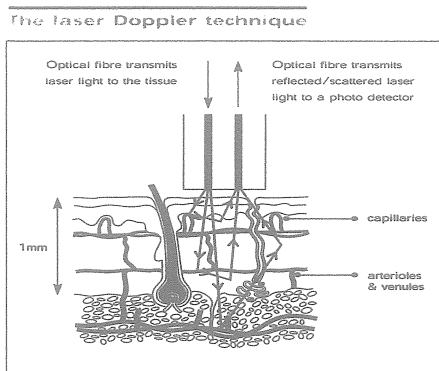


Abb.2: Moor Instruments, Medical & Optic – Electronic Instrumentation,  
Tissue Blood – Flow and Temperature Monitoring with DRT 4™

## Hygiene

Von allen Wunden wurde am ersten und dritten Beobachtungstag ein semiquantitativer Wundabstrich genommen. Die Anlage der Kulturen sowie deren Auswertung erfolgte im Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universitätsklinik Würzburg. Hierbei wurden die Standards des Instituts angewandt.

Patienten mit einem Oxacillin resistenten Staphylokokkus aureus (ORSA) wurden nachträglich von der Studie ausgeschlossen.

## Wundscore

Die Beurteilung der Granulation erfolgte nach der Methode von Prof. Wollina [Schmidt WD, 2001]. Hierbei wird das Granulationsgewebe nach bestimmten Kriterien beurteilt (Qualität des Granulationsgewebes, Farbe und Konsistenz) und die Qualität einer bestimmten Punktzahl zugeordnet (siehe Tabelle).

Tabelle 2: Wundscore nach Wollina

Parameter	Qualität	Punktwert
Granulation	abwesend	0
	¼	1
	½	2
	¾	3
	komplett	4
Farbe	blaß	0
	pink	1
	leuchtend rot	2
Konsistenz	schwammig	0
	fest	1
<b>Maximaler Punktwert</b>		<b>7</b>

Quelle: nach Schmidt W. D., Liebold K., Fassler D. und Wollina U.,  
Journal of Investigative Dermatology  
Vol 116 No 4:531-536, 2001

Die Bewertung des Granulationsgewebes erfolgte an allen drei Studientagen mit zusätzlicher Photo- und klinischer Dokumentation des Wundstatus.

### **Bestimmung der Zytokine und Proteasen**

Durch Debridement gewonnenes Wundmaterial wurde in einem Lysispuffer mit EDTA (Complete® der Firma Roche) fixiert und bei – 70°C eingefroren.

Die Bestimmung der Zytokine *Transforming Growth Factor -  $\beta$ 1* (TGF- $\beta$ 1), *Tissue Inhibitors of Metalloproteinases* (TIMP-1), *Matrix metalloproteinases 3* (MMP-3) und *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) erfolgte über ELISA. Hierzu wurden Immunoassay Kits der Firma BioSource Europe S.A. / Belgien, verwendet. Die

Bearbeitung und anschließende Auswertung der Proben erfolgte nach den Vorgaben des Herstellers der Immunoassay Kits und wurde im Forschungslabor im Zentrum für operative Medizin (ZOM) der Universitätsklinik Würzburg durchgeführt.

### Wundversorgung

Der Behandlungs-/Beobachtungszeitraum erstreckte sich über drei Wochen, der sich wie folgt gliederte:

#### 1. Behandlungstag:

- Patientenanamnese / Aufnahmeuntersuchung
- Abstrich für Hygiene
- Photodokumentation
- Bestimmung der Wundfläche/-größe
- Bestimmung des Wundscore (nach Wollina)
- Gewinnung von Wundsekret für weitere laborchemische Bestimmungen (siehe Anmerkung)
- Laser-Doppler-Velocimetrie am Wundrand
- Debridement der Wunde mit Gewinnung von Wundgewebe für weitere laborchemische Bestimmungen
- Applikation von PROMOGRAN® und Tielle® auf Wunde bzw. nur mit Tielle® bei Kontrollgruppe

#### 2. Behandlungstag (2 Tage nach Studienbeginn):

- Vorgehensweise wie bei Studienbeginn (ausschließlich Abstrich für Hygiene)

#### 3. Behandlungstag (21 Tage nach Studienbeginn):

- Siehe 1. Behandlungstag

Zwischen 2. und 3. Behandlungstag erfolgte in zwei tägigem Abstand die Applikation von PROMOGRAN® und Tielle® auf die Wunde bzw. nur mit Tielle® in der Kontrollgruppe.

### **Statistik**

Alle gesammelten statistischen Daten wurden in einer dazu selbst erstellten Maske mit dem Tabellenkalkulationsprogramm GraphPad Prism 4 eingegeben und berechnet. Als nicht parametrischer Test wurde die Chi-Quadrat Verteilung verwendet. Die Graphiken wurden ebenfalls mit GraphPad Prism 4 erstellt. Mittels dem Textverarbeitungsprogramm Word aus Microsoft Office XP Pro erfolgte die Zusammenfassung der Daten.

### Ergebnisse

Bezüglich der Ergebnisse konnten aus der PROMOGRAN® - Gruppe 25 von 30 (83,3 %) Patienten bis zum 3. Beobachtungszeitpunkt ausgewertet werden, in der Kontrollgruppe 18 von 25 (72 %) Studienteilnehmern.

Von der Auswertung ausgeschlossen wurden Patienten mit einem Oxacillin resistenten Staphylokokkus aureus, sowie Patienten, deren Wunddebridementproben nur unzureichend auswertbar waren.

### Wundflächenveränderung

Die Wundgröße reduzierte sich bei Studienende in den 3 Krankheitsgruppen, die mit PROMOGRAN® behandelt wurden signifikant – diabetische Ulcera, venöse Ulcera und Dekubitalgeschwüre – um 43,6 % ( $p < 0,0001$ ), 32,8 % ( $p = 0,0183$ ) und 51,5 % ( $p = 0,0027$ ). In der Kontrollgruppe wiesen nur die diabetischen Ulcera eine signifikante Verringerung von 18,4 % ( $p = 0,0222$ ) auf. Bei der CVI lag die Wundflächenreduktion bei lediglich 4,2 % ( $p = 0,2535$ ) und bei den Dekubitalulcera bei 27,6% ( $p = 0,1551$ ).

Ein Patient der Prüfgruppe mit Dekubitalulcus wies bei Studienende eine komplette Reepithelisierung der Wunde auf, ein weiterer Studienteilnehmer der selben Gruppe eine Wundverkleinerung um 93,5 %.

Bei 2 der 30 Studienteilnehmern der Prüfgruppe (ein Patient mit diabetischem Fußsyndrom und ein Patient mit Ulcus cruris venosum) konnte keine Verringerung der Wundfläche beobachtet werden. In diesen Fällen wurde teilweise eine Wundvergrößerung dokumentiert. In der Kontrollgruppe nahm bei 4 der 25 Patienten die Wundgröße zu.

Abb. 1: Wundflächenverringering bei DFS nach 21 Tagen

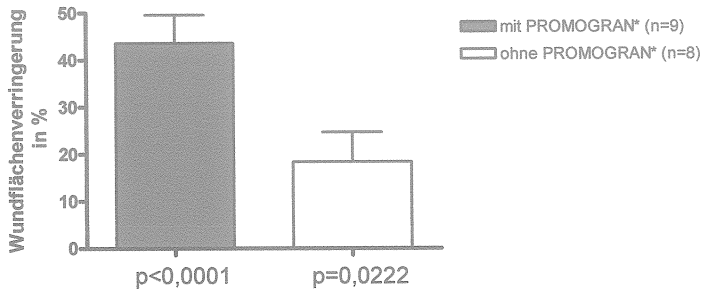


Abb. 2: Wundflächenverringering bei CVI nach 21 Tagen

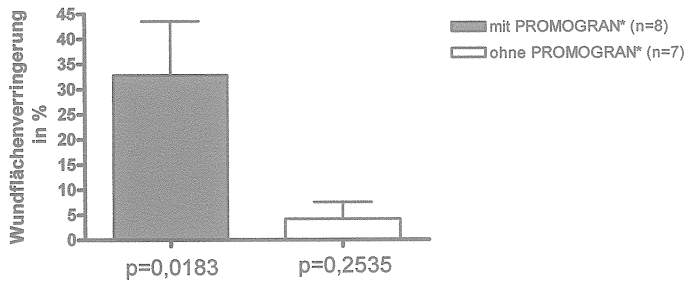
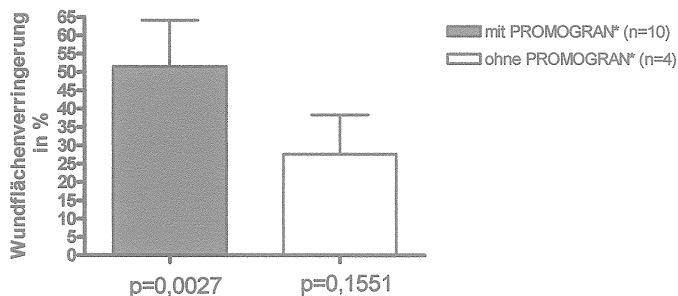


Abb. 3: Wundflächenverringering bei Dekubitalulcera nach 21 Tagen



## Wundscore

In allen drei Patientengruppen, die mit PROMOGRAN® behandelt wurden, zeigte sich bei der Mehrzahl der Patienten eine deutliche Verbesserung des Wundscore. Fast alle Studienteilnehmer der Prüfgruppe wiesen eine Reduzierung des Wundexsudates auf als klinisches Zeichen für eine Abnahme der Inflammation sowie eine verbesserte Granulation mit festerer Konsistenz des Wundgrundes.

Die Punktwerte bei diabetischem Fußsyndrom stiegen signifikant von durchschnittlich 1,2 auf 4,66 ( $p=0,0340$ ) bei Studienende (max. 7 Punkte erreichbar). Beim Ulcus cruris venosum verbesserte sich der Punktwert von 0,6 auf 4,12 ( $p=0,1410$ ). Auch in der Gruppe der Dekubitalulcerationen konnte ein signifikante Zunahme des Punktwertes von 0,6 auf 5,25 ( $p=0,0413$ ) verzeichnet werden

Die Kontrollgruppen wiesen demgegenüber niedrigere Werte auf. Dabei stieg der Wundscore in der Gruppe mit diabetischem Fußsyndrom von anfangs 1,0 auf 1,5 ( $p=0,0937$ ) am Ende, bei chronisch venöser Insuffizienz von 0,6 auf 2,0 ( $p=0,1496$ ) und bei Dekubitalulcerationen von 0,6 auf 1,33 ( $p=0,1913$ ). Siehe Abb. 4-6.

Abb. 4: Wundscore bei DFS (nach Wollina)

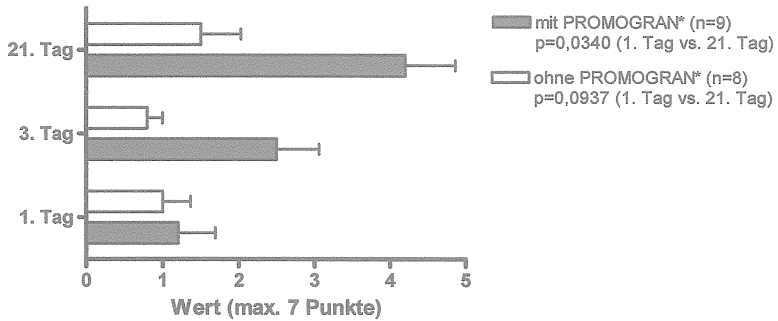


Abb. 5: Wundscore bei CVI (nach Wollina)

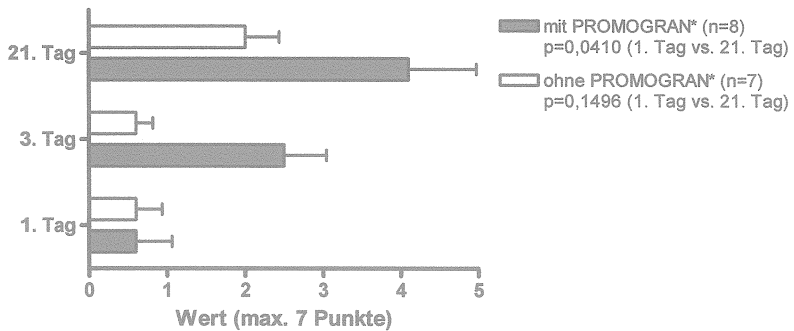
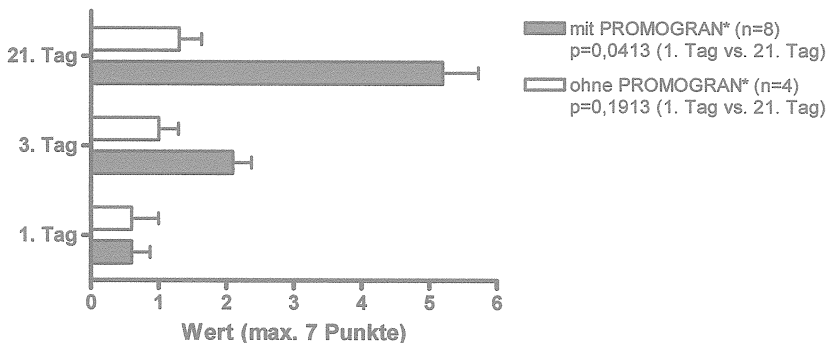




Abb. 6: Wundscore bei Dekubitalulcera (nach Wollina)



### Mikrobiologie

Hinsichtlich des Keimspektrums wiesen die unterschiedlichen Wundentitäten eine weitgehende Übereinstimmung auf. Aus diesem Grund wurden jeweils die Keimspektren der drei Prüfgruppen sowie der drei Kontrollgruppen zusammengefasst.

Staphylokokkus aureus war in allen Wunden der am häufigsten isolierte Keim. Es folgten die koagulase negativen Staphylokokken sowie Pseudomonas aeruginosa. Bei den gramnegativen Enterobacteriaceae waren Proteus mirabilis und E. coli die am meisten nachgewiesenen Bakterien. Bezüglich Anaerobier konnten hier nur jeweils ein Mal Bacteroides spp. und Peptostreptokokkus spp. in der Kultur gefunden werden. (Tabelle 1)

Bei 4 der 55 Patienten musste die Studie nach 3 Tagen wegen Nachweises eines Oxacillin resistenten Staphylokokkus aureus (ORSA) abgebrochen werden – 3 der Patienten gehörten der Prüfgruppe an, ein Patient der Kontrollgruppe.

## Ergebnisse

---

Nur bei einem Patienten konnte zu Studienbeginn kein Keim im Ulkus nachgewiesen werden.

Am Studienende zeigte sich bei keinem mit PROMOGRAN® behandelten Teilnehmer eine wesentliche Reduzierung der bakteriellen Population. Ebenso in den Kontrollgruppen. (Abb. 7-15)

Statistische Berechnungen wurden wegen der geringen Anzahl der Patienten bei der bakteriellen Kontamination nicht durchgeführt.

Tabelle 3: Nachgewiesene Keime

nachgewiesener Keim	Studienanfang		Studienende	
	Prüfgruppe	Kontrollgruppe	Prüfgruppe	Kontrollgruppe
Staph. Aureus	20,30%	17,30%	25,40%	19,50%
KNS	12,90%	15,30%	13,70%	13,00%
Streptokokken Serogruppe A	7,40%	5,70%	5,80%	6,50%
Streptokokken Serogruppe B,C,G	5,50%	5,70%	3,90%	6,50%
Pseudomonas aeruginosa	16,60%	13,40%	15,60%	13,00%
Proteus mirabilis	11,10%	5,70%	9,80%	6,50%
Colliforme Keime	1,80%	11,50%	3,90%	8,60%
Enterococcus faecalis	5,50%	9,60%	5,80%	6,50%
Enterobacter cloacae	5,50%	7,60%	5,80%	6,50%
Klebsiella pneumoniae	7,40%	3,80%	7,80%	6,50%
Citrobacter freundii	0%	3,80%	0%	6,50%
Providentia rettgeri	1,80%	0%	0%	0%
Bacteroides spp.	1,80%	0%	0%	0%
Peptostreptokokkus spp.	1,80%	0%	1,90%	0%

Legende zu den Abbildungen 7 – 15:

Quantität der bakteriellen Belastung

+ = mäßig  
++ = reichlich  
+++ = massenhaft

Abb. 7: Bakterielle Belastung mit *Staphylokokkus aureus* bei DFS

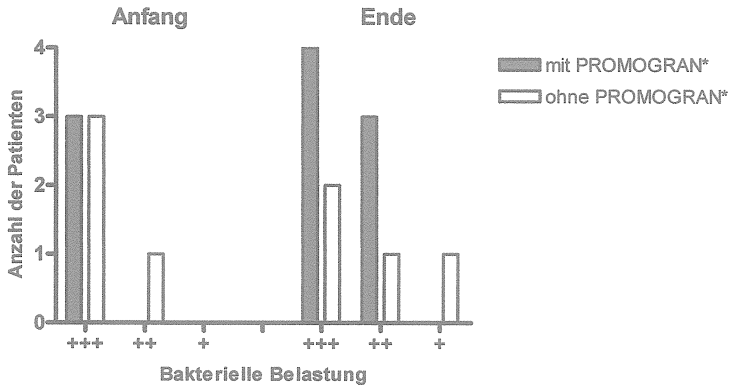


Abb. 8: Bakterielle Belastung mit *Pseudomonas aeruginosa* bei DFS

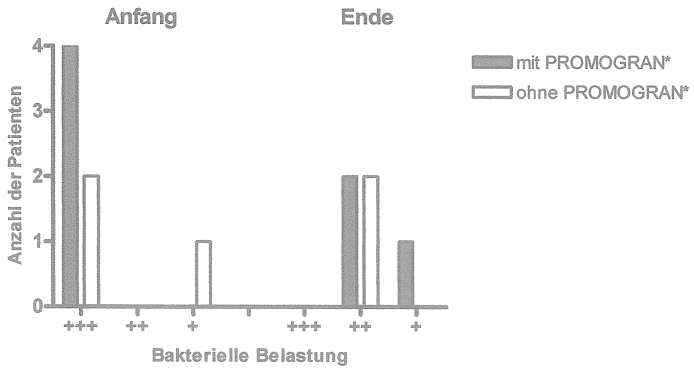


Abb. 9: Bakterielle Belastung mit Enterobakterien bei DFS

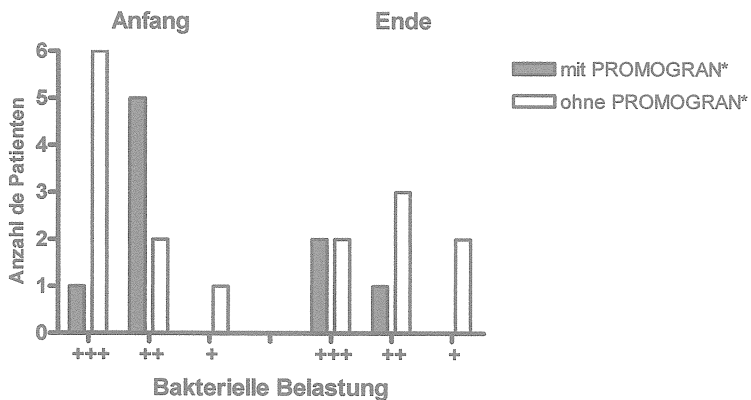


Abb. 10: Bakterielle Belastung mit Staphylokokkus aureus bei CVI

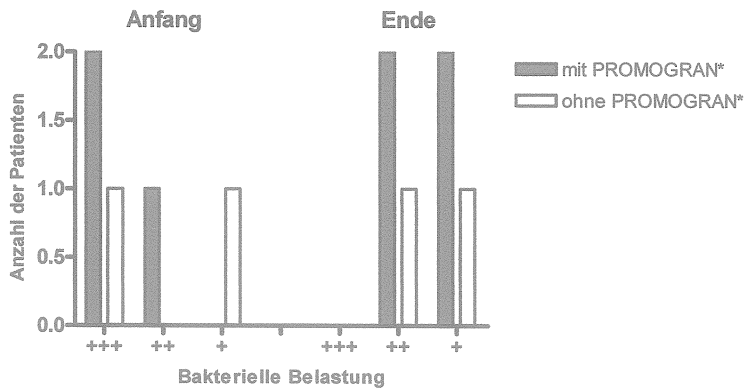


Abb. 11: Bakterielle Belastung mit *Pseudomonas aeruginosa* bei CVI

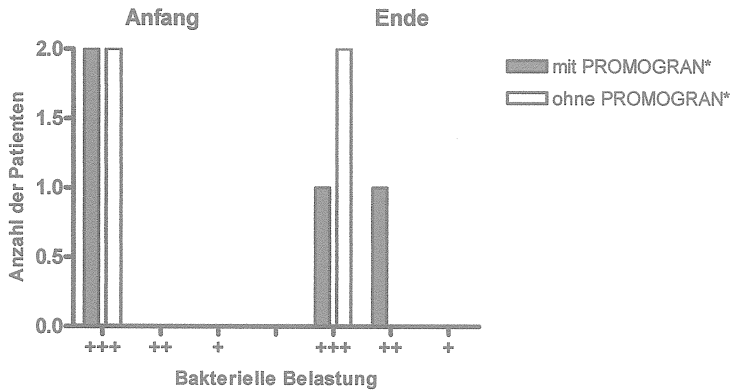


Abb.12: Bakterielle Belastung mit Enterobakterien bei CVI

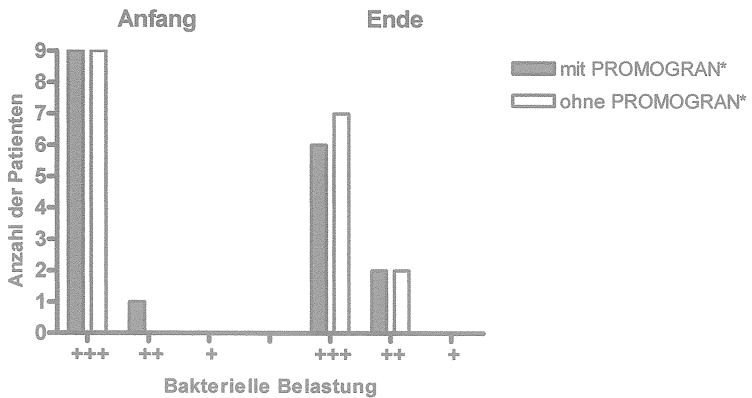


Abb. 13: Bakterielle Belastung mit Staphylokokkus aureus bei Dekubitus

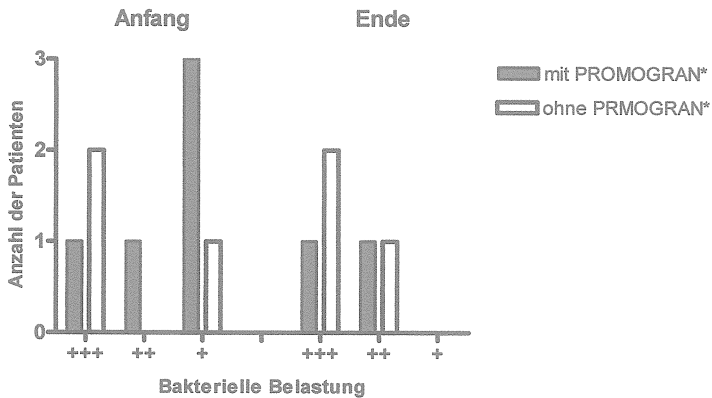


Abb. 14: Bakterielle Belastung mit Pseudomonas aeruginosa bei Dekubitus

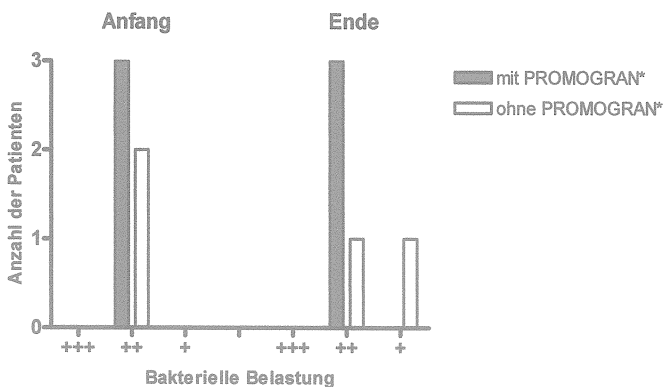
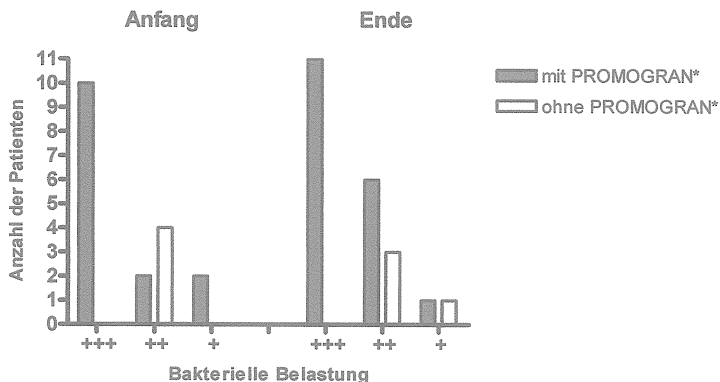


Abb. 15: Bakterielle Belastung mit Enterobakterien bei Dekubitus



### Laser Doppler Velocimetrie

Bei der Laser Doppler Velocimetrie am Wundrand der Ulcera konnte bei den mit PROMOGRAN® behandelten Diabetikern und Patienten mit Dekubitalulcera ein gesteigerter Blutfluß gemessen werden. Eine besondere Erhöhung erfuhr die Prüfgruppe der diabetischen Fußsyndrome (DFS) um 57,0 % ( $p=0,2927$ ). In der Kontrollgruppe lag die Verbesserung bei lediglich 14,7 % ( $p=0,3501$ ). Die Prüfgruppe der Dekubitalulcera zeigte eine Verbesserung des Flow um 30,6 % ( $p=0,2584$ ) im Gegensatz zu 12,2 % ( $p=0,2771$ ) in der Kontrollgruppe.

Bezüglich des Ulcus cruris venosum (CVI) konnte in beiden Studiengruppen eine deutliche und nahezu gleichmäßige Steigerung der Durchblutung am Wundrand verzeichnet werden: 64,9 % ( $p=0,3252$ ) in der PROMOGRAN® - Gruppe und 62,4 % ( $p=0,4796$ ) in der Kontrollgruppe. (Abb. 16-18)

Abb. 16: Durchblutung am Wundrand bei DFS (Laser-Flow)

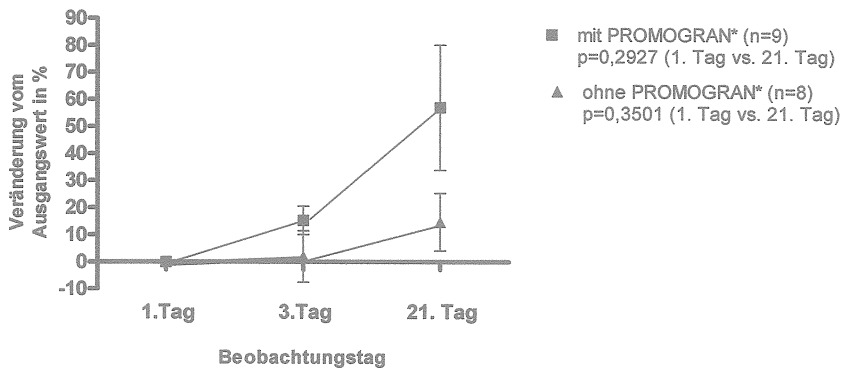


Abb. 17: Durchblutung am Wundrand bei CVI (Laser-Flow)

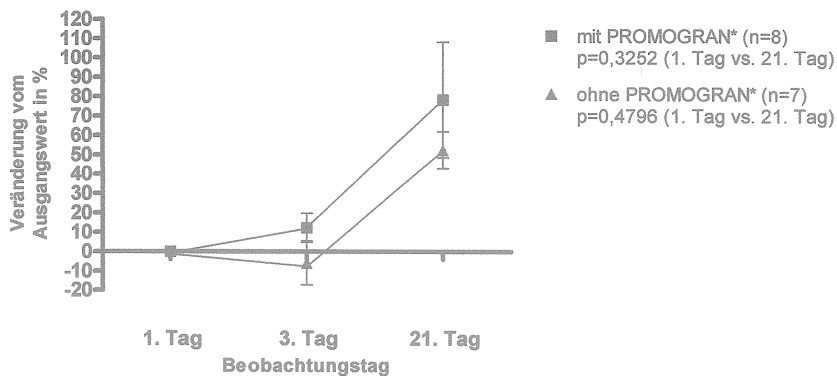
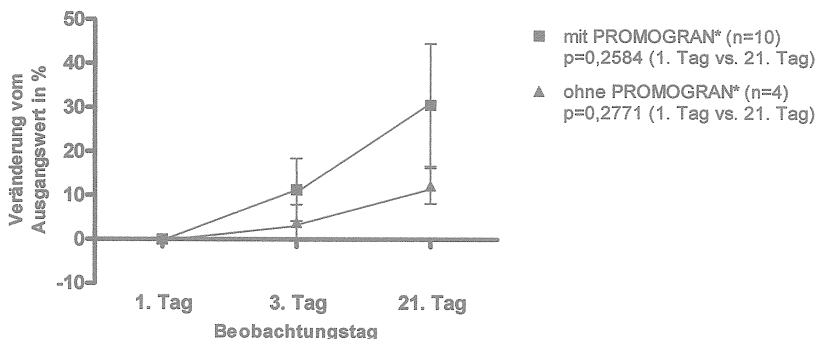




Abb. 18: Durchblutung am Wundrand bei Dekubitus (Laser-Flow)



### Zytokin- und Proteasenbestimmung

In allen Studiengruppen wurden folgende Zytokine aus dem Wunddebridement bestimmt: TGF- $\beta$ 1, VEGF und TIMP-1 sowie die Protease MMP-3.

Bei den diabetischen Fußsyndromen konnte in der Prüfgruppe bei Studienende im Vergleich zu Studienbeginn ein Anstieg von TGF- $\beta$ 1 um 52,7% ( $p=0,4207$ ) und VEGF um 154,4% ( $p=0,3723$ ) gemessen werden. In der Kontrollgruppe sanken die Werte um -2,1% ( $p=0,6475$ ) bzw. -20,8% ( $p=0,8366$ ).

Die Konzentrationen von MMP-3 und TIMP-1 reduzierten sich in der Prüfgruppe dabei um -57,2% ( $p=0,2849$ ) bzw. -27,1% ( $p=0,1746$ ). Die Kontrollgruppe wies einen Anstieg von 71,3% ( $p=0,0031$ ) für MMP-3 und 117,8% ( $p=0,3286$ ) für TIMP-1 auf. (Abb. 19-21)

Abb. 19: Konzentrationsveränderung von TGF- $\beta$ 1 bei DFS

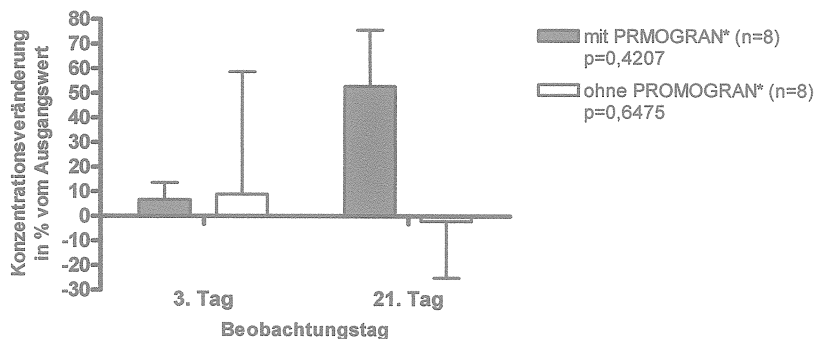


Abb. 20: Konzentrationsveränderung von MMP-3 bei DFS



Abb. 21: Konzentrationsveränderung von VEGF bei DFS

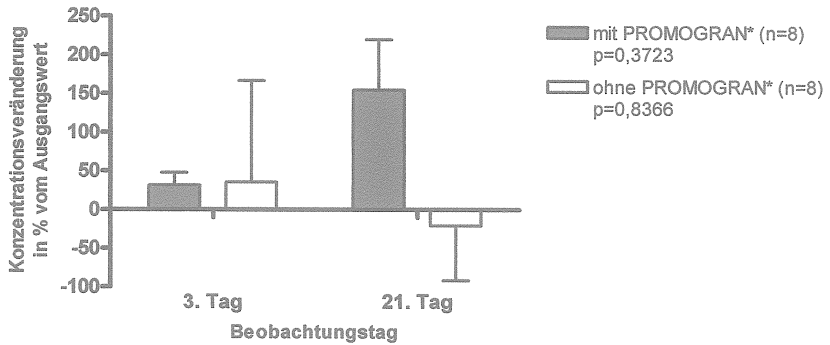
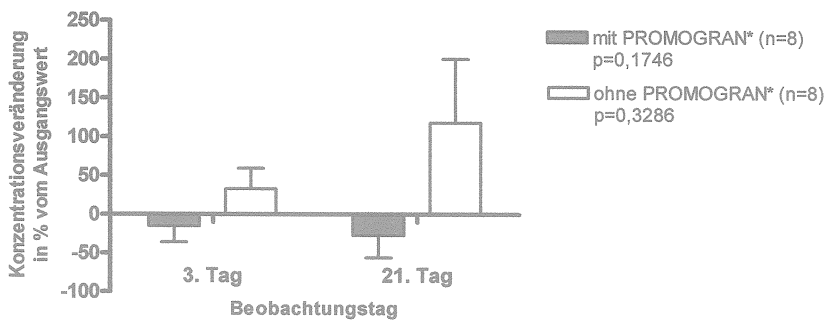


Abb. 22: Konzentrationsveränderung von TIMP-1 bei DFS



Die venösen Ulcera zeigten unter der PROMOGRAN® - Behandlung einen Anstieg der TGF-β1 Konzentration von 38,7% ( $p=0,0712$ ) und bei VEGF von 221,6% ( $p=0,2544$ ). Bei MMP-3 fand sich ein Abfall von 30,6% ( $p=0,8338$ ), ebenso bei der TIMP-1 Konzentration um -0,1% ( $p=0,4626$ ). In der Kontrollgruppe erhöhten sich die Konzentrationen von TGF-β1 um 0,4% ( $p=0,4928$ ), von VEGF um 42,2% ( $p=0,3895$ ), bei TIMP-1 um 132,7% ( $p=0,2585$ ) und MMP-3 um 5% ( $p=0,2505$ ) (Abb. 23-26).

**Abb. 23: Konzentrationsveränderung von TGF-β1 bei CVI**

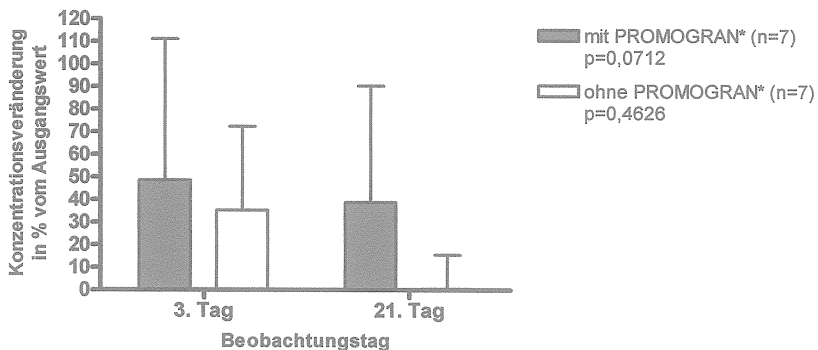


Abb. 24: Konzentrationsveränderung von MMP-3 bei CVI

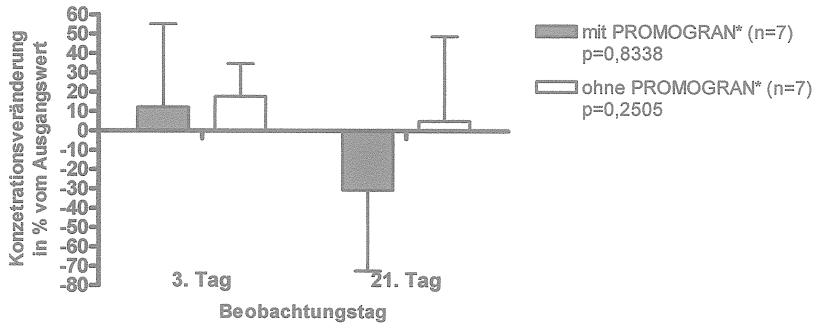


Abb. 25: Konzentrationsveränderung von VEGF bei CVI

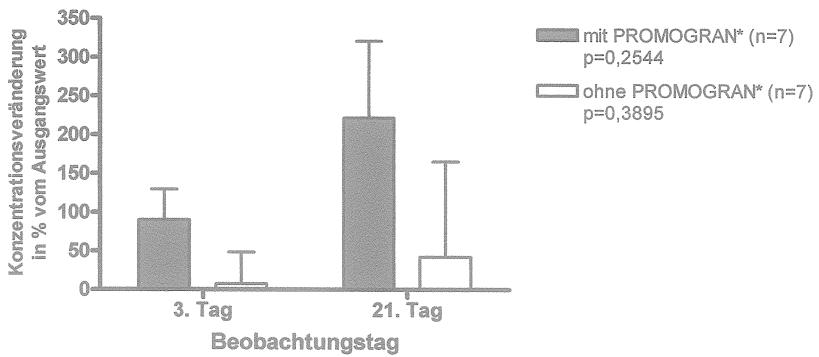
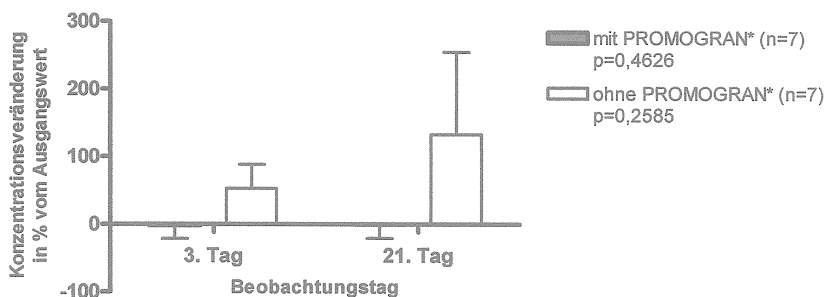


Abb. 26: Konzentrationsveränderung von TIMP-1 bei CVI



Die Dekubitalulcera zeigten in der Prüfgruppe einen Anstieg der TGF- $\beta$ 1 Konzentration um 43,2% ( $p=0,1186$ ) und von VEGF um 101,3% ( $p=0,0093$ ). Für MMP-3 und TIMP-1 sanken die Werte um 32,9% ( $p=0,0863$ ) bzw. um 17,1% ( $p=0,1133$ ). Die Kontrollgruppe zeigte demgegenüber ein Anstieg von TGF- $\beta$ 1 um 11,9% ( $p=0,7756$ ), von MMP-3 um 19% ( $p=0,1444$ ) und bei TIMP-1 von 76,3% ( $p=0,2241$ ). Die Konzentration von VEGF sank dagegen um 12,6% ( $p=0,7322$ ). (Abb. 27-30)

Abb. 27: Konzentrationsveränderung von TGF-β1 bei Dekubitus

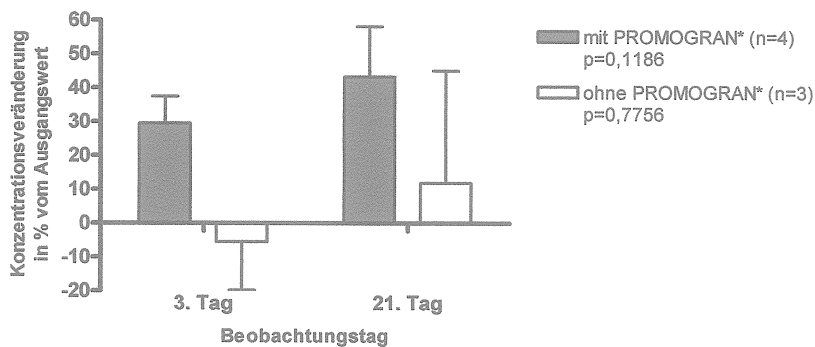


Abb. 28: Konzentrationsveränderung von MMP-3 bei Dekubitus

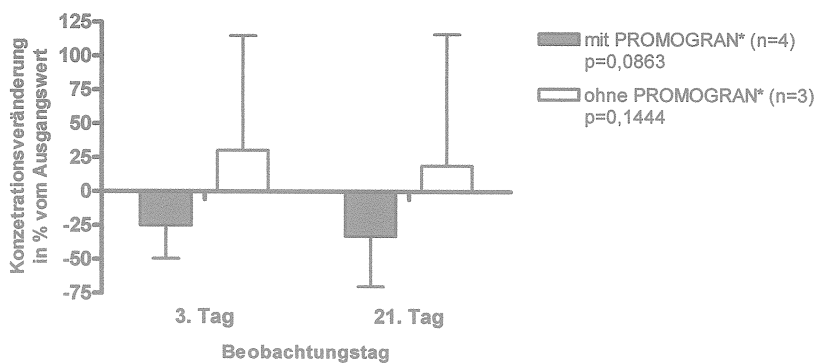


Abb. 29: Konzentrationsveränderung von VEGF bei Dekubitus

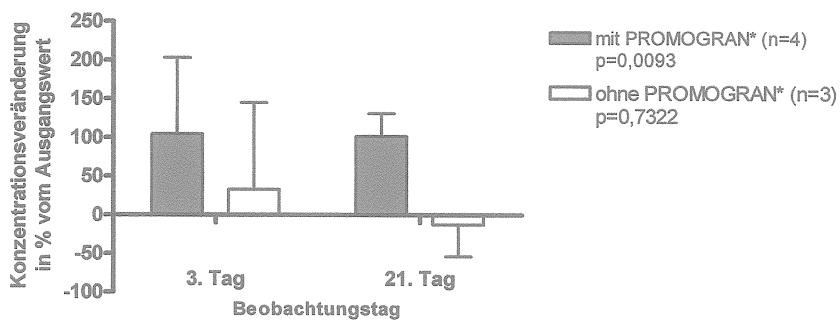
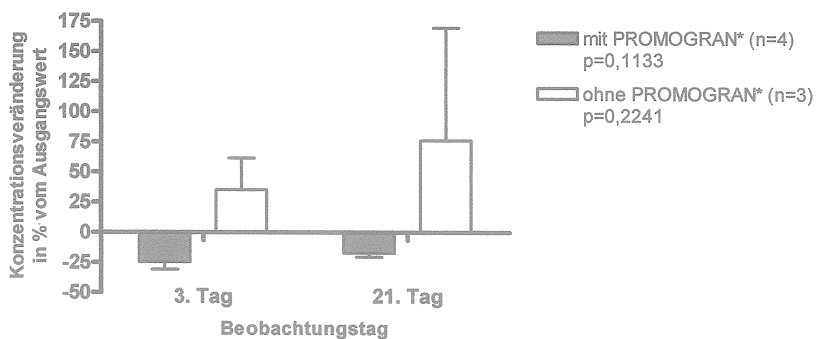


Abb. 30: Konzentrationsveränderung von TIMP-1 bei Dekubitus





### Diskussion

Der Prozeß der primären Wundheilung setzt ein optimales Zusammenspiel der folgenden vier Heilungsphasen voraus: 1. exsudative Entzündungsphase, 2. resorptive Entzündungsphase, 3. proliferative Phase, 4. reparative Phase [Siewert Chirurgie 2001]. Die Ursache für einen chronischen Gewebedefekt ist in einer Fehlregulation dieses komplexen Systems zu sehen. Nicht zuletzt aufgrund der gesundheitlichökonomischen Bedeutung der gestörten Heilung chronischer Wunden hat die Pharmaindustrie in den letzten Jahren eine Vielzahl innovativer molekularbiologischer und biotechnologischer Methoden entwickelt. Hieraus resultierten neue physikalische, chemische und auch biologische Korrekturmöglichkeiten der gestörten Wundheilung [Coerper et al., 2004]

Gegenstand dieser Arbeit ist eine prospektive randomisierte Studie zur Wirksamkeit der Protease modulierenden Matrix PROMOGRAN® auf chronische Wunden bei Diabetes mellitus, chronisch venöser Insuffizienz und Dekubitalcera.

### Diabetisches Fußsyndrom

Definition: Unter einem Diabetischen Fuß versteht man eine Infektion, Ulceration und/oder Zerstörung tiefer Gewebe am Fuß, verbunden mit neuropathischen Störungen sowie peripheren arteriellen Durchblutungsstörungen (pAVK) unterschiedlichen Grades am Unterschenkel [www.medizin-aktuell.de, Definition der World Health Organisation; WHO].

Grundsätzlich ist bei diabetischen Ulcera eine ursachenbezogene Therapie essentiell. Absolute Entlastung durch spezielle Entlastungsschuhe oder Orthesen [Armstrong, D.G. et al., 2001; Ha Van, G. et al., 2003] und sachgerechte Wundpflege ist beim neuropathischen Fuß relevant, während beim ischämischen Fuß, wie bei Patienten mit pAVK, die Revaskularisation im Vordergrund der Therapie stehen muß [Kalra, M et al., 2001; Pomposelli, F. B. et al., 1995]. Ebenso sollte immer das Wundalter, das Patientenalter – Wunden älterer Patienten heilen langsamer [Ashcroft, G. S. et al., 2002] sowie die Compliance im Therapiekonzept ambulanter

Patienten berücksichtigt werden [Coerper, S. et al., 2004].

Am Beginn stand eine sorgfältige Diagnostik, die das Ausmaß der Läsion klassifizierte (nach Wagner), die Durchblutungssituation bestimmte sowie die mikrobiologischen Situation [Mason, J., et al., 1999; Halsbeck, M. et al., 2000] analysierte. Bei allen Patienten dieser Studiengruppen fanden sich sowohl neuropathische Störungen wie auch peripher arterielle Durchblutungsstörungen.

Unter der Behandlung mit PROMOGRAN® konnte bei den Patienten mit DFS bei Studienende eine signifikante Verringerung ( $p < 0,0001$ ) der Wundfläche um durchschnittlich 43,6% im Verhältnis zu 18,4% in der Kontrollgruppe verzeichnet werden. Dabei betrug in der Prüfgruppe die minimale Wundverkleinerung nach 21 Tagen 22,4% und das Maximum lag bei 81,1%. Die Kontrollgruppe hingegen wies bei zwei Patienten sogar eine Vergrößerung der Wundfläche um max. 8,7% auf, während die Wundverkleinerung max. 46,5% bei einem Patienten betrug.

Unter der Behandlung mit PROMOGRAN® konnte auch eine eindeutige Verbesserung der Granulation verzeichnet werden. Bei Studienende wiesen die Wunden eine verbesserte Bildung des Granulationsgewebes von mindestens  $\frac{1}{2}$  bis  $\frac{2}{3}$  der Wundfläche auf, zwei Wunden zeigten sogar eine komplette Granulation der Wundfläche. Durchweg konnte auch eine gesteigerte mechanische Festigkeit des Wundgrundes erkannt werden. Die Wundfarbe wechselte in allen Fällen von blass zu rosa, bei 3 Patienten war ein kräftiges rosa sichtbar. Dies kann als ein gesteigertes Zeichen der Neoangiogenese angesehen werden. Die Sezernierung von Wundsekret war deutlich geringer als bei Studienbeginn, was sich als klinisches Zeichen für eine Abnahme der Inflammation werten lässt. Auch die Kontrollgruppe wies Verbesserungen des Wundscores auf, jedoch nicht in dem Ausmaß wie dies in der Prüfgruppe erkennbar war.

Die oben aufgeführten positiven Ergebnisse der Wundflächenverringerung und des Wundscores unter der PROMOGRAN® - Behandlung lassen sich zusätzlich durch die Ergebnisse des Laser-Flow sowie der Zytokinmessung untermauern.

In der Prüfgruppe konnte am Wundrand eine deutliche Steigerung der Durchblutung gemessen werden, was für eine Steigerung der Neoangiogenese spricht. Diese Steigerung lässt sich auch durch die erhöhte Konzentration der Zytokine VEGF und

TGF- $\beta$ 1 bei Studienende belegen. VEGF ist als Schlüsselmediator für die Stimulation der Angiogenese durch Permeabilitätserhöhung verantwortlich [Senger, D. R. et al., 1996]. TGF- $\beta$ 1 ist für die Stabilisierung der Gefäße durch Stimulation extrazellulärer Matrixproduktion zuständig [Pepper, M. S., 1997; Frater-Schröder, M., 1987]. Beide Wachstumsfaktoren sind in diabetischen Wunden vermindert vorhanden [Schäffer, M. et al., 1997; Doxey, D. L. et al., 1995]. Im Gegenzug wurde bei Studienende eine Verringerung der Konzentration der Inhibitoren der Angiogenese – TIMP-1 (blockiert die Bindung von MMPs [Brew, K. et al., 2000]) – verzeichnet. Ebenso kam es zur Reduktion von MMP-3, welches wie alle Matrixmetalloproteasen (MMPs) für das Matrixremodeling steht, die Freisetzung von VEGF aus der Matrix bewirkt sowie eine Aktivierung von TGF- $\beta$ 1 hervorruft [Hiraoka, N. et al., 1998]. Trotz einzelner widersprüchlicher Untersuchungsergebnisse scheint experimentell wie klinisch eine Verzögerung oder Hemmung der Wundheilung mit einer erhöhten und verlängerten MMP-Expression zu korrelieren [Agren, M. S. et al., 1998; Bullen E. C. et al., 1995; Parks W. C., 1999]. Entsprechend konnte in chronischen Wunden eine im Vergleich zu akuten Wunden erhöhte Expression von MMPs – hier MMP-3 – sowie eine verminderte Aktivität von TIMP-1 verzeichnet werden [Yager, D. R. et al., 1996]. Zwei weitere experimentelle Studien konnten bereits nachweisen, dass die Proteaseaktivität in Wundflüssigkeiten durch die Anwendung von PROMOGRAN® signifikant vermindert wird [Cullen, B. et al., 2002; Veves et al., 2002].

Die Referenzgruppe wies demgegenüber bei Studienende eine deutlich erhöhte Konzentration von TIMP-1 auf und auch für MMP-3 wurden im Verlauf der Studie konstant hohe Werte gemessen (siehe Abb. 20 u. 22). Für TGF- $\beta$ 1 konnten für den Erfassungszeitraum nahezu konstant niedrige Werte ermittelt werden und auch bei VEGF kam es zu keinen nennenswerten Konzentrationsveränderungen in positiver Hinsicht (siehe Abb. 19 u. 21). Diese Ergebnisse spiegeln somit auch den makroskopisch nur gering sichtbaren Erfolg der Wundheilung in der Kontrollgruppe wieder.

### **Ulcus cruris venosum**

Definition: Das Ulcus cruris venosum tritt aufgrund einer chronisch venösen Insuffizienz (CVI) auf, bedingt durch den Folgezustand einer Varikose oder nach einer Phlebothrombose. Entscheidend ist das Missverhältnis zwischen Flüssigkeitszu- und -abstrom mit Ödembildung, das zu Bindegewebsneubildung und Entzündung und letztlich zum Gewebsuntergang führt [Jung, G et al., 2003]

Die Behandlung der chronisch venösen (venolymphatischen) Insuffizienz basiert wie das diabetische Fußsyndrom auf Grundprinzipien bzw. drei Therapiesäulen: Kompressionsbehandlung, lokale Wundbehandlung und falls nötig operative Therapie der Ursache [Lippert 2001; Rieger et al., 1998; DePalma et al., 1996; Gallenkemper et al., 1996].

Ähnlich wie beim diabetischen Fußsyndrom konnte auch in der Prüfgruppe der venösen Ulcera eine deutliche Verkleinerung der Wundfläche um 32,8% ( $p=0,0183$ ) bei Studienende beobachtet werden. Die Kontrollgruppe wies demgegenüber eine weit geringere Abnahme der Wundfläche von lediglich 4,2 % auf. Diese Ergebnisse spiegeln sich auch im Wundscore wieder. Hier konnten deutlich verbesserte Werte ermittelt werden. So stieg der Punktwert bei den mit PROMOGRAN® behandelten Wunden um 3,5 Punkte bei Studienabschluß, die Kontrollgruppe zeigte eine Verbesserung um lediglich 1,4 Punkte (siehe Abb 5).

Der Laser-Flow wies interessanterweise nahezu identisch hohe Steigerungen in der Durchblutung des Wundrandes bei beiden Gruppen auf (siehe Abb. 17). Man könnte diese Tatsache mit der gestiegenen Konzentration von VEGF in beiden Studiengruppen begründen, jedoch war der Anstieg in der Prüfgruppe mit 221,6 % wesentlich stärker als mit 42,2 % in der Kontrollgruppe. Untersuchungen anderer Studien ergaben, daß die Expression von VEGF durch die Pathophysiologie der chronisch venösen Insuffizienz grundsätzlich erhöht ist [Detmar et al., 1997; Lauer et al., 2000]. Hinzu kommt, daß eine gesteigerte Konzentration von TGF- $\beta$ 1 ebenso zu einer verstärkten Expression von VEGF führt [Frank et al., 1995]. In unserer Studie konnte bezüglich TGF- $\beta$ 1 eine Konzentrationsteigerung von 38,7% unter der

PROMOGRAN® - Behandlung gemessen werden. In der Kontrollgruppe wurde keine Erhöhung von TGF-β1 registriert (siehe Abb. 23). Die Bindegewebe abbauenden Metalloproteinasen (MMPs) – hier MMP-3 – sind auch bei der CVI sehr stark exprimiert [Cook et al., 2000]. In der PROMOGRAN® - Gruppe wurde bei Studienende eine Abnahme der MMP-3 – Konzentration von 30,6 % gemessen. Dies läßt sich auch durch das verstärkte anfallen von TGF-β1 erklären, welches für die Reduzierung von MMPs in chronischen Wunden verantwortlich gemacht wird [Schultz et al., 1998]. Die Kontrollgruppe wies einen Anstieg der MMP-3 – Konzentration von 5% auf, was sich auch mit der nicht vorhandenen Erhöhung von TGF-β1 erklären läßt (siehe Abb. 23 u. 24). Für die Gewebeinhibitoren der Matrix-Metalloproteasen TIMPs – in dieser Studie TIMP-1 – welche bei der CVJ deutlich vermindert vorhanden sind [Döring 1994; Grinnell et al., 1996; Travis et al., 1983; Weiss 1989], konnten während des Studienverlaufs in der Prüfgruppe nahezu konstante Werte ermittelt werden. In der Kontrollgruppe hingegen fand sich eine Abnahme von TIMP-1 von 132,7 % bei Abschluß der Studie. Dieses Ungleichgewicht zwischen proteolytischen Enzymen und ihren Inhibitoren führt zur Proteolyse des Ersatzgewebes und teilweise zur therapierefraktären Persistenz von chronischen Ulcera [Grinnell et al., 1992].

In einer weiteren prospektiven und randomisierten Studie an Patienten mit chronisch venöser Insuffizienz [Vin et al., 2002], konnte an 73 Patienten demonstriert werden, daß PROMOGRAN® zu einer signifikant schnelleren Reduktion der Wundfläche führt, wengleich die absolute Heilungsrate nur einen Trend zugunsten des Produktes aufwies.

## Dekubitalucera

Definition: Eine längerfristige, lokale Druckeinwirkung, oft kombiniert mit weiteren Faktoren, wie Bewegungseinschränkung, Kachexie, Angiopathie, Dysproteinämie, kann zur Ausbildung eines Dekubitalulkus führen [www.wundheilung-online.de/inhalt\_38\_d\_a.html, 2004]

In beiden Gruppen konnte bei Studienende eine deutliche Verkleinerung der Wundfläche protokolliert werden. Bezüglich der drei Wundentitäten wurden bei den Dekubitalucera generell die größte Verringerung der Wundflächen beobachtet. Dabei wies die PROMOGRAN® - Gruppe eine signifikante Abnahme von 51,5% ( $p=0,0027$ ) auf. Ein Dekubitus war bei Studienabschluß komplett reepithelisiert, ein weiterer wies eine Reepithelisierung von 93,5% auf. Jedoch sollte in beiden Fällen das Wundalter von neun bzw. elf Wochen nicht außer Acht gelassen werden. Aber auch in der Kontrollgruppe wurde nach 21 Tagen Beobachtungszeitraum eine Abnahme der Wunde um 27,6% verzeichnet.

Hinsichtlich des Wundscores (Abb. 6) konnten auch hier in der Prüfgruppe wiederum eindeutige Steigerungen im Punktwert von initial 0,6 auf 5,25 erzielt werden. Die Kontrollgruppe wies zwar eine weitaus geringere Verbesserung des Punktwertes auf – von 0,6 auf 1,33 ( $p=0,0413$ ) – jedoch konnte auch diese geringe signifikante Steigerung immerhin zu einer Reduktion der Wundfläche um ein Viertel der Ausgangsgröße erbringen.

Der Laser-Flow erbrachte bei den Dekubiti die geringsten Steigerungen von allen drei Wundentitäten. So konnte bei den mit PROMOGRAN® behandelten Wunden eine Zunahme des Blutflusses um 30,6% gemessen werden, während der Blutfluss in der Kontrollgruppe nur um 12,2% anstieg (Abb. 18). Es bleibt jedoch festzustellen, dass eine übermäßige Steigerung des Blutflusses bzw. der Neoangiogenese nicht unbedingt nötig zu sein scheint, da selbst in der Kontrollgruppe ein ordentliches Ergebnis hinsichtlich der Wundverkleinerung zustande kam.

Hinsichtlich der Zytokine TGF- $\beta$ 1 und VEGF konnten unter der PROMOGRAN® - Therapie deutliche Steigerungen der Konzentration gemessen werden. Besonders bei VEGF kam es zu einer signifikanten Konzentrationssteigerung von 101,3%

( $p=0,0093$ ). Für die Protease MMP-3 und das Zytokin TIMP-1 kam es zu entsprechender und auch erwünschter Verringerung (Abb. 27 – 30). Insgesamt gesehen, spiegeln sich diese Ergebnisse auch in den bereits vorher erwähnten Parametern wieder. Die Ergebnisse der Kontrollgruppe zeigten eine leichte Erhöhung für TGF- $\beta$ 1 um 11,9%, aber auch eine Konzentrationsabnahme von VEGF um 12,6%. MMP-3 wies einen Anstieg von 19,0% auf, die TIMP-1 – Konzentration stieg sogar um 76,3%. Bezüglich der Wundflächenverringerung in der Kontrollgruppe können diese Ergebnisse allerdings nicht in Einklang gebracht werden. Auch wenn unter der Behandlung mit PROMOGRN® in der Gruppe der Dekubitalulcera die besten Ergebnisse erzielt werden konnten, ist ein Grundsatz eminent wichtig: Die externe Druckentlastung und die vorsichtige, möglichst druckfreie Wundtamponade ist entscheidend für den Therapieerfolg. Ohne entsprechende Druckentlastung – der Patient darf darauf weder liegen, noch sitzen oder stehen – ist jegliche Therapieform ineffektiv [Neander 2000].

### Hygiene chronischer Wunden

Auch der bakteriellen Besiedlung chronischer Wunden wird heute eine große Bedeutung beigemessen. Dabei scheint nicht nur die Anzahl der Bakterien eine wichtige Rolle zu spielen, sondern auch die Virulenz des Erregers, die Menge an nekrotischem Material und die Immunsituation des Wirtes [Falanga V, 2000]. Zur Therapie infizierter Wunden werden in der Regel antiinflammatorische Agentien (z. B. Silberpräparate) und Antiseptika verwendet [Sibbald R. G. et al., 2000].

Ebenso wird dem Wundtherapeutikum PROMOGRAN® eine bakterio-statische Komponente mittels Senkung des pH-Wertes in der Wunde nachgesagt. Eine in vitro Studie bei Johnson & Johnson zeigte eine Reduzierung der bakteriellen Belastung mit *Staphylokokkus aureus* und *Pseudomonas aeruginosa*  $10^6$  auf  $10^4$  [Wound Care Expert Meeting 2003]. Veröffentlichungen darüber, dass PROMOGRAN® zur Reduzierung der bakteriellen Belastung in vivo beiträgt, gibt es derzeit noch nicht.

Alle Wundentitäten unserer Studie wiesen eine weitgehende Übereinstimmung hinsichtlich des Keimspektrums auf. *Staph. aureus* war in allen Wunden der am häufigsten isolierte Keim. Danach folgten *Pseudomonas aeruginosa*, koagulase negative Staphylokokken, *Proteus mirabilis*, apathogene Streptokokken sowie eine weitere Gruppe von Enterobacteriaceae. Anaerobier wurden nur in 2% aller Abstriche nachgewiesen (siehe Tabelle 2). Diese Keimverteilung spiegelt somit das Keimspektrum wieder, wie es in der Literatur beschrieben ist [Chanteleau E, 1996]

Unter der Behandlung mit PROMOGRAN® konnte nach dem 3 wöchigen Behandlungszeitraum jedoch keine bemerkenswerte Reduzierung der bakteriellen Belastung erkannt werden. Dies könnte an dem relativ kurzen Studienzeitraum liegen. Eine längere Beobachtung hätte in diesem Fall möglicherweise näheren Aufschluß zur postulierten Keimreduktion unter einer PROMOGRAN® - Therapie geben können. Auch in den Kontrollgruppen konnte bei Studienende keine außerordentliche Abnahme der Keimbelastung verzeichnet werden (siehe Abb. 7 – 15).



### Schlußfolgerung

Komplexe immunologische Vorgänge prägen die verschiedenen Phasen der Wundheilung. Sowohl lokal wie auch systemisch wirkende immunkompromittierende Faktoren verschiedener Ursachen führen zu einem Ungleichgewicht zwischen hemmenden und aktivierenden Wundfaktoren (Proteasen und Zytokinen). Daraus resultiert ein gestörter Wundheilungsverlauf, die chronische Wunde.

PROMOGRAN® greift nun an diesem Punkt, der Modulierung der Proteasenaktivität an, um wieder einen physiologischen Wundheilungsverlauf herzustellen.

Die Studie über 21 Tage erbrachte in allen drei Prüfgruppen überwiegend positive Ergebnisse zugunsten des Wundtherapeutikums PROMOGRAN®. Der Vergleich innerhalb der Prüfgruppen sowie der Kontrollgruppen zeigte diesen Vorteil sehr deutlich. Hätte man die Gruppen an den einzelnen Behandlungstagen gegeneinander verglichen, hätte man aufgrund der Streuung in den einzelnen Gruppen diesen Effekt nicht so deutlich herausarbeiten können. Bereits am 3. Beobachtungstag waren meistens deutliche Verbesserungen der Wundbeschaffenheit erkennbar. Nur in zwei Fällen blieb eine sichtbare Besserung der Wundverhältnisse aus, was sich auch bis zum Studienende fortsetzte. In der Kontrollgruppe konnten lediglich die Dekubitalulcera mit einem beachtlich positivem Ergebnis bei der Wundflächenverkleinerung aufwarten.

Die Ergebnisse der Zytokin- und Proteasenbestimmung erbrachten trotz einer gewissen Streubreite überwiegend die guten Ergebnisse zugunsten von PROMOGRAN® wie sie auch in den Studien von Johnson & Johnson (persönliche Mitteilung) zu finden sind. Somit fanden sich in dieser Studie auch Hinweise dafür, daß sich der positive Einfluß des Prüfproduktes auf molekularbiologischer Ebene widerzuspiegeln scheint.

Grundsätzlich sollte bei jeder chronischen Wunde die entitätsspezifische Standardtherapie angewandt werden. Zusätzlich muß die Wundsituation analysiert und anschließend die individuell bestmögliche Wundtherapie begonnen werden.

Welche Wundtherapeutika letztlich zum Einsatz kommen, obliegt dem behandelnden Arzt und seiner Erfahrung im Umgang mit diesen Produkten.

## Schlußfolgerung

---

Insgesamt kann PROMOGRAN® als eine gute Ergänzung zur Wundbettconditionierung angesehen werden. Es hat in nahezu allen Fällen dieser Studie wesentlich zu einer schnelleren Wundheilung beigetragen.

## Literaturverzeichnis

Agren MS, Jorgensen LN, Andersen M, Viljanto J, Gottrup F 1998, Matrix metalloproteinase 9 level predicts optimal collagen desposition during early wound repairs in humans. *Br J Surg* 85: 68

Brew K, Dinakarandian D and Nagase H 2000. Tissue inhibitors of metalloproteinases: evolution, structure and function. *Biochim. Biophys. Acta.* 1477,267 -283

Braun B 2004. [www.wundheilung-online.de/inhalt\\_15\\_u\\_c.html](http://www.wundheilung-online.de/inhalt_15_u_c.html), 2004. [www.wundheilung-online.de/inhalt\\_38\\_d\\_a.html](http://www.wundheilung-online.de/inhalt_38_d_a.html), 2004

Chanteleau E 1996. Infektion und antiinfektiöse Therapie. In *Amputation? Nein Danke*. Chanteleau (Hrsg) 203 – 215

Coerper S, Beckert S, Becker HD 2004. Korrekturmöglichkeiten der gestörten Wundheilung. *Der Chirurg* 75: 471 – 476

Cook H, Davies KJ, Harding KG, Thomas DW 2000. Defective extracellular matrix reorganization by chronic wound fibroblasts is associated with alterations in TIMP-1, TIMP-2 and MMP-2 activity. *J Invest Dermatol* 115: 225 – 233

Cullen B, Smith R, McMulloch E, Silcock D, Morrison L 2002, Mechanism of Promogran, a protease modulating matrix, for the treatment of diabetic ulcers. *Wound Rep Reg* 10: 16 – 25

DePalma RG, Kowallek DL 1996. venous ulceration: A cross-over study from nonooperativ to operative treatment. *J Vasc Surg* 1996; 25: 254 – 256

Detmar M, Brown LF, Berse B, Jackmann RW, Elicker BM, Dvorak HF, Claffey KP 1997. Hypoxia regulates the expression of VPF/VEGF and its receptors in human skin. *J Invest Dermatol* 108:263 – 268

Döring G 1994. The role of neutrophile elastase in chronic inflammation. *Am J Respir Crit Care Med* 1994; 150: 114 – 117

Doxey DL, Ng MC, Dill RE, Iacopino AM 1995, Platelet-derived growth factor levels in wounds of diabetic rats. *Life Sci* 57: 1111

Eming S 2004. [www.aerztlichepraxis.de](http://www.aerztlichepraxis.de). Chronische Wunden, die große Herausforderung. PD Dr. med. Sabine A. Eming, Universitätsklinik zu Köln, Klinik und Poliklinik für Dermatologie und Venerologie, Joseph-Stelzmann Str. 9, 50931 Köln

Falanga V 2000. Classification for wound bed preparation and stimulation of chronic wounds. *Wound Rep Reg* 8: 347 – 352

Frank S, Hübner G, Breier G, Longaker MT, Greenhalgh DG, Werner S 1995. Regulation of the VEGF expression in cultured keratinocytes. *J Biol Chem* 270: 12607 – 12613

Frater-Schröder M, Risau W, Hallmann R, Gautschi P, Böhlen P 1987. Tumor necrosis factor type alpha, a potent inhibitor of endothelial cell growth in vitro, is angiogenic in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.*;84:5277–5281.

Gallenkemper g, Bulling BJ, Kahle B, Klüken N, Lehnert W, Rabe E, Schwahn-schreiber C. Leitlinien zur Diagnostik und Therapie des Ulcus cruris venosum. *Phlebology* 1996; 25: 254 – 285

Grinnell F, Zhu M, Wysocki A 1992. Degradation of fibronectin and vitronectin in chronic wound fluid: Analysis by cell blotting, immunoblotting, and cell adhesions assays. *J Invest Dermatol* 1992; 98: 410 – 416

Grinnell F, Zhu M 1996. Fibronectin degradation in chronic wounds depends on the relative levels of elastase,  $\alpha$ 1-protease inhibitor, and  $\alpha$ 2-macroglobulin. *J Invest Dermatol* 1996; 106: 335 – 341

Halsbeck M et al.: Das diabetische Fußsyndrom, MMT, *Medizin & Wissen* 2000, 25-28

Herold G. und Mitarbeiter ,2003. Dr. med. Gerd Herold, Arzt für Innere Medizin/Arbeitsmedizin, August-Haas-Str. 43, 50737 Köln. Herold, Ausgabe 2003, S.594.

Hiraoka N., Allen E., Apel I. J., Gyetko MR and Weiss SJ 1998. Matrix metalloproteinases regulate neovascularization by acting as pericellular fibrinolysis. *Cell* 95, 365 – 377

Internet Homepage: [www.lawrenz.com/drt1.htm](http://www.lawrenz.com/drt1.htm)

Jung GE, Moll I et al 2003. *Dermatologie, Duale Reihe, 5. komplett überarbeitete Auflage, Thieme-Verlag* 2003, S. 415

Lauer G, Sollberg St, Cole M, Flamme I, Stürzebecher J, Mann K, Krieg T, Eming SA 2000. Expression and Proteolysis of Vascular Endothelial Growth Factor is Increased in Chronic Wounds. *J Invest Dermatol* 115: 12 – 18

Lippert H (Hrsg). *Wundatlas . Heidelberg: JA Barth* 2001; 1: 133 – 142

Mason J et al.: Footulcer in Typ 2 DM II: treatment. *Diabetic Medicine* 16 1999, 889-909

Neander KD 2000. Aktuelle Aspekte der Therapie chronischer Wunden. Zentralbl. Chir 125 (2000) Suppl 1: 94 – 99

Parks W. C., Matrix metalloproteinases in repair. Wound Rep Reg 1999; 7: 423 – 432

Pepper, M. S. 1997. Manipulating angiogenesis: from basic science to the bedside. Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol 17, 605-619

Produktmonografie PROMOGRAN® Protease modulierende Matrix 2001 ETHICON GmbH, Johnson & Johnson Advanced Woundcare

Rieger H, Wuppermann T 1998. Chronisch venöse Insuffizienz. In: Rieger H, Schoop W (Hrsg). Klinische Angiologie. Berlin: Springer 1998: 1108 – 1123

Salenus GmbH 2005. [www.salenus.de](http://www.salenus.de) , Integrierte Versorgung chronischer Wunden, S. 6, Salenus GmbH, Kirchstraße 6, 90762 Fürth

Schäffer M, Tantry U, Efron PA, Ahrendt G et al 1997, Diabetes impaired healing and reduced wound nitric oxide synthesis: a possible pathophysiologic correlation. Surgery 121: 513

Scharffetter-Kochanek k, Schüller S, meewes C, Hinrichs R, Eich D, Eming S, Wenk J, Wlaschek M 2003. Das chronisch venöse Ulcus cruris: Pathogenese und Bedeutung des „aggressiven Mikromelieus“. JDDG 1/2003: 58 – 66

Schultz GS, Mast BA 1998. Molecular Analysis of the Environment of Healing and Chronic Wounds: Cytokines, Proteases, and Growth Factors. Wounds 1998; 10 Supplement F: 1F – 9F

Selmer W, 2005. Seminar-/Fortbildungsbegleitende Information. Handout 2005, Version 04. Die zeitgemäße Versorgung chronischer Wunden: S. 2

Senger DR et al 1996, Stimulation of endothelial cell migration by vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor through cooperative mechanisms involving the alphavbeta3 integrin, osteopontin , and thrombin. American Journal of Pathology 149(1): 293-305

Sibbald RG, Williamson D, Orsted HL, Campbell K, Keast D, Krasner D, Sibbald D 2000. Preparing the wound bed – Debridement, bacterial balance and moisture balance. Ostomy Wound Management 2000; 46: 14 – 35

Siewert, Lehrbuch der Chirurgie, Springer-Verlag 2001, 7. Auflage, S. 117f

Tarvis J, Salvesen GS 1983. Human plasma proteinase inhibitors. Annu Rev Biochem 1983; 52: 655 – 709

Veves A, Sheehan P, Pham HT 2002. A randomised, controlled trial of Promogran (a collagen/oxidised regenerated cellulose dressing) vs standard treatment in the management of diabetic foot ulcers. Arch Surg 137: 822 – 827

Vin F, Teot L, Meaume S 2002. The healing properties of PROMOGRAN® in venous leg ulcers. J Wound Care 11

Weiss SJ 1989. Tissue distruction by neutrophiles. New Engl J Med 1989; 320: 365 – 376

World Health Organization (WHO), [http://www.medizin-aktuell.de/cme-diabetes/15fuss\\_syndrom/02st/expertenwissen.htm](http://www.medizin-aktuell.de/cme-diabetes/15fuss_syndrom/02st/expertenwissen.htm)

Wound Care Expert Meeting , Executive Report. 3 – 4 April 2003, Hotel Savoy, Prag.

Yager D. R., Zhang L. Y., Liang H. X., Diegelmann R. F., Cohen I. K. 1996, Wound fluids from human pressure ulcers contain elevated matrix metalloproteinase levels and activity compared to surgical wound fluids. J Invest Dermatol 107:743

### **Abbildungsquelle**

Abb. 2: Moor Instruments, Medical & Optic – Electronic Instrumentation,  
Tissue Blood – Flow and Temperature Monitoring with DRT 4<sup>TM</sup>  
(Abbildung von: [www.moor.co.uk/products/monitoring/DRT4](http://www.moor.co.uk/products/monitoring/DRT4))

### **Tabellenquelle**

Tabelle 2: nach Schmidt W. D., Liebold K., Fassler D. und Wollina U.,  
Journal of Investigative Dermatology, Vol 116 No 4:531-536, 2001



## Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. Ulrich Ziegler für die Anregung zu diesem Thema, sein stetes Interesse und die Betreuung. Ebenso gilt besonderer Dank Herrn PD Dr. med. Richard Kellersmann für die unproblematische und gute Weiterbetreuung dieser Arbeit.

Danken möchte ich auch Herrn Dr. med. Karsten Schmidt für die gute Unterstützung und Frau Mariola Dragan aus dem Forschungslabor (ETI).

Allen Mitarbeitern der Chirurgischen Universitätsklinik, insbesondere den Schwestern der Poliklinik, danke für die gute Zusammenarbeit, die freundliche Atmosphäre und die freundschaftliche Unterstützung während der ganzen Zeit.

Zum Schluß möchte ich noch meinen lieben Eltern für die große Unterstützung während meines Studiums danken.



# Lebenslauf

## Persönliche Daten

Hans-Eberhard Kächler  
geboren am 10.04.1970 in Würzburg  
Familienstand: verheiratet

## Schulbildung

1976 – 1981 Grund- und Hauptschule in Gerbrunn  
1981 – 1991 Röntgen-Gymnasium Würzburg

## Wehrdienst

10/91 – 09/92 Sanitätsbataillon 12 der 12. Panzerdivision  
in Veitshöchheim

## Außerberufliche Tätigkeiten

10/92 – 09/93 Einjähriges Pflegepraktikum in der Missionsärztlichen Klinik Würzburg  
10/93 – 03/98 Angestellter in der Würzburger Gastronomie  
04/98 – 03/99 Krankenpflegeausbildung an der Berufsfachschule für Krankenpflege an der Universität Würzburg

## Hochschulstudium

04/99 – 11/05 Studium der Humanmedizin an der Julius-Maximilians-Universität Würzburg  
Physikum 08/2001  
I. Staatsexamen 03/2003  
II. Staatsexamen 08/2004  
III. Staatsexamen am 10.11.2005

## Berufliche Tätigkeit

Seit 01.12.2005 Assistenzarzt für Chirurgie in Weiterbildung am Helmut-G.-Walther-Klinikum Lichtenfels  
Abteilung für Allgemein-, Visceral- und Gefäßchirurgie  
Chefarzt PD Dr. med. B. Greger

Lichtenfels, Oktober 2007



Hans-Eberhard Kächler





