

Proteolytische Enzyme zur Wundreinigung

W. Vanscheidt, J. M. Weiss

Dermatologische Abteilung der Universität Freiburg

EINFÜHRUNG

Die Prävalenz chronischer Wunden, die eine lokale Behandlung erfordern, ist weltweit recht hoch. Die Forschung auf dem Gebiet lokaler enzymatischer Wundbehandlung ist bis vor kurzem vernachlässigt worden. Es überrascht daher nicht, daß nur wenige Präparate im Handel erhältlich sind. Dieser Artikel soll den Stand des Wissens über die chemische Beschaffenheit, Pharmakodynamik und klinische Wirksamkeit der gegenwärtig im Handel erhältlichen proteolytischen Enzyme zur Wundbehandlung zusammenfassen. Exopeptidasen hydrolysieren die terminale Amino- oder Carboxygruppe eines Proteins, während Endopeptidasen Peptidbindungen innerhalb der Proteinmoleküle lösen.

STREPTOKINASE UND STREPTODORNASE

Streptokinase ist ein aus *Streptococcus haemolyticus* Lancefield gewonnener Enzym-Aktivator mit einem Molekulargewicht von 47 000. Dieses Enzym hat eine Sedimentationskonstante von 3,0. Seine Aktivität beschränkt sich auf einen pH-Bereich zwischen 7,3 und 7,6.

Streptokinase bildet einen Komplex mit menschlichem Plasminogen, der zu einer Konformationsänderung des Plasminogen-Moleküls führt. Hierdurch wird das aktive Zentrum des Moleküls freigelegt. Dieser Streptokinase-Plasminogen-Komplex wird rasch zu einem Streptokinase-Plasmin-Komplex umgewandelt, der selbst ebenfalls Plasminogen aktiviert. Dieser Mechanismus erklärt, warum die fibrinolytische Aktivität anfänglich mit der Dosissteigerung von Streptokinase zunimmt und später wieder abnimmt, wenn sich keine Plasminogen-Moleküle mehr in der Wundflüssigkeit befinden. Arginin-Valin-Bindungen sind die bevorzugten Angriffspunkte der Streptokinase.

Streptokinase wirkt durch Umwandlung von Plasminogen in Plasmin und beschleunigt somit indirekt den Abbau von Fibrin: Plasmin spaltet Fibrin, Fibrinogen, Faktor V und Faktor VIII in Polypeptiden und Aminosäuren.

Da das der Wunde anhaftende Fibrin-Netz die Beseitigung nekrotischen Gewebes durch Granulozyten und Makrophagen verhindert, beruht die wundreinigende Wirkung von Streptokinase wahrscheinlich auf der Fibrin-spaltung.

Die Wirkung von Streptokinase ist auf die Gegenwart von Plasminogen angewiesen. Deshalb ist die lokale Anwendung von Streptokinase nur dann sinnvoll, wenn genügend plasminogenhaltiges Wundexsudat anfällt.

Die Abtragung des Fibrins geht mit dem Risiko der Auslösung einer Blutung einher. Deshalb ist Streptokinase auf frischen Wunden kontraindiziert. Das Risiko einer Streptokinase-Sensibilisierung – die eine eventuelle spätere systemische Thrombolyse undurchführbar machen würde – ist zwar theoretisch gegeben, in der Praxis aber äußerst gering.

Streptodornase ist ein weiteres Enzym aus *Streptococcus haemolyticus* der Lancefield-Gruppe. Diese Desoxyribonuklease ist innerhalb eines großen pH-Bereichs aktiv, wobei das Maximum bei pH 7,5 liegt. Durch Degradierung von Nukleinsäuren zu Purinen (Adenin, Guanin) und Pyrimidinen (Zytosin, Thymin) wird das viskose Wundexsudat in einen flüssigeren Zustand gebracht. Streptodornase bewirkt die endonukleolytische Spaltung doppelsträngiger DNS in 3'-Phosphodinukleotid- und 3'-Phosphooligonukleotid-Endprodukte. Dieses Enzym greift keine vitalen Strukturen in der Wunde an. Die Resorption gespaltener Purine und Pyrimidine kann Fieber, Schüttelfrost und Leukozytose verursachen. Eine länger

als 2-3 Wochen dauernde Behandlung kann mit abnehmender wundreinigender Wirkung einhergehen. Eine Kombination von Streptokinase/Streptodornase ist im Handel erhältlich.

Die wundreinigende Wirkung eines Streptokinase/Streptodornase-Präparats wurde an Rattenhaut getestet und zeigte ungefähr 10% der Wirkung eines sich noch im experimentellen Stadium befindlichen wundreinigenden Enzympräparates (Krill).

Klinische Wirksamkeit

In einer Studie an 40 Patienten mit venösen oder arteriellen Beinulcera wurde der Reinigungseffekt von Streptokinase in Kombination mit Streptodornase untersucht. Hinsichtlich Eiter- und Detritusbeseitigung war die wundreinigende Wirkung groß.

Die Kombination war jedoch nicht geeignet, tiefe Nekrosen in arteriellen Beinulcera abzutragen. Die bakterielle Kontamination dieser Beinulcera wurde jedoch reduziert, was wahrscheinlich auf der Beseitigung nekrotischen Gewebes beruhte. In einer anderen randomisierten Studie erwiesen sich Streptokinase in Verbindung mit Streptodornase wirksamer als lokal applizierte Salzlösung.

Skog führte eine Studie an 24 Patienten mit chronischen venösen, arteriellen oder infizierten Beinulcera durch. Die klinischen Resultate wurden unter Verwendung einer Werteskala für Nekrosebeseitigung und Granulationsinduktion beurteilt. Während der Behandlung wurde die Ausdehnung der Beinulcera gemessen.

Bei arteriellen Beinulcera zeigte sich keine Wirkung auf Gangrän. Vier dieser Ulcera heilten während der Behandlung, dagegen heilte nur eines von sieben venösen Beinulcera während der Behandlung, wobei das Débridement von nekrotischem Gewebe und die Granulationsinduktion in den meisten Fällen als positiv beurteilt wurden.

Bemerkenswert war die Wirkung auf die Nekrosen in Fällen mit infizierten Beinulcera. In all diesen Fällen war es möglich, das nekrotische Gewebe abzutragen. Der Untersucher stellte fest, daß die Hauptwirkung der lokalen Behandlung innerhalb von 2-3 Wochen sichtbar wurde. Längere Behandlungsperioden waren anscheinend weniger erfolgversprechend.

KLINISCHE STUDIEN MIT STREPTOKINASE / STREPTODORNASE

Art der Studie	Einschluss-Kriterium	Zahl der Patienten	Kontrolle	Ergebnis
Einfachblind	Beinulcera	31	Salzlösung	>> Salzlösung
offen	HNO-Wunden	30	keine	++
offen	chirurgische Wunden	24	keine	++
offen	chirurgische Wunden	34	keine	++
offen	Beinulcera	24	keine	++

Andere Veröffentlichungen geben hauptsächlich klinische Erfahrungen wieder. Mit einer Kombination von Streptokinase und Streptodornase behandelte Lang 34 Patienten, die unter Druckgeschwüren, infizierten Wunden, Osteomyelitis oder Fisteln litten. Im allgemeinen entwickelte sich innerhalb einer Woche gesundes Granulationsgewebe. Auswirkungen auf gesundes Gewebe traten nicht auf, die Häufigkeit von Wundinfektionen ging zurück.

Überfeldt behandelte an nekrotisierenden, eitrigen HNO-Wunden leidende Patienten und konnte ein schnelles Wachstum frischen Granulationsgewebes feststellen. Es wurden keine Nebenwirkungen beobachtet.

Wie Lenz und Hoffmann berichten, wurde mit dieser Kombination die sekundäre Wundheilung bei 24 Patienten erreicht. In allen Fällen kam es zur Bildung frischen Granulationsgewebes, und es wurden keine allergischen Nebenwirkungen beobachtet.

FIBRINOLYSIN UND DESOXYRIBONUKLEASE

Fibrinolysin ist ein Plasmin, das aus Rinderplasma gewonnen wird, wo es in Form einer inaktiven Vorstufe vorkommt. Diese Vorstufe kann durch Chloroform extrahiert und aktiviert werden. Fibrinolysin ist in Wasser unlöslich und hat einen isoelektrischen Punkt von pH 5,5. Getrocknetes Fibrinolysin ist stabil; sobald es aber in Lösung geht, verliert es seine enzymatische Aktivität innerhalb von 6-8 Stunden. Fibrinolysin wandelt Fibrin zu relativ großen Spaltprodukten um, inaktiviert Fibrinogen und die Gerinnungsfaktoren I, V, und VII und führt zu einer Blutgefäßerweiterung im Wundbereich. Es löst vorzugsweise Lysin-Argininbindun-

gen. Im Gegensatz zu Streptokinase ist es unmittelbar aktiv und daher nicht von der Gegenwart von Plasminogen im Wundexsudat abhängig. Durch die Spaltung von Fibrin und die Auflösung von Blutgerinnseln wird nekrotisches Gewebe dem Débridement durch Makrophagen in der Wunde zugänglich. Die großen Spaltprodukte werden nicht systemisch aufgenommen, sondern fließen mit dem Wundexsudat ab.

Desoxyribonuklease ist eine aus der Rinderbauchspeicheldrüse stammende DNase. Sie spaltet Kernsubstanzen, vorzugsweise doppelsträngige DNS, und verflüssigt das Wundexsudat durch Verringerung seiner Viskosität. Sie führt durch endonukleolytische Spaltung zu 5'-Phosphodinukleotid- und 5'-Phosphooligonukleotid-Endprodukten. Ihr Molekulargewicht ist 60000; ihr isoelektrischer Punkt liegt zwischen den pH-Werten 4,7 und 5,0. Eine verdünnte wäßrige Lösung bleibt innerhalb eines weiten pH-Bereichs bei einer Temperatur von 5° C stabil. Bei Temperaturerhöhung nimmt die Aktivität dieses Enzyms schnell ab. Nach Abkühlung wird diese Aktivität zurückgewonnen. Da Eiter weitgehend aus Nukleoproteiden und fibrinösen Bestandteilen besteht, erscheint die Verwendung einer Fibrinolysin-enthaltenden Kombination durchaus angemessen. Eine Kombination von Fibrinolysin/Desoxyribonuklease ist im Handel erhältlich.

Klinische Wirksamkeit

Die Wundreinigungswirkung von Fibrinolysin wurde auf Rattenhaut untersucht und wies etwa 10% der Wundreinigungskapazität eines bislang sich noch im experimentellen Stadium be-

findlichen enzymatischen Präparats (Krill) auf.

In einer an 42 Patienten mit sekundär heilenden Wunden durchgeführten klinischen Studie wurde eine Fibrinolysin/Desoxyribonuklease-Kombination auf ihren therapeutischen Wert, d. h. auf klinische Wirksamkeit und Verträglichkeit, getestet. Der therapeutische Erfolg wurde als gut bewertet. Die Lösung war anscheinend wirksamer als die Salbe.

In einer Studie an 30 Patienten mit Brandwunden zweiten und dritten Grades waren Fibrinolysin/Desoxyribonuklease der Silbernitrattherapie überlegen.

In einer randomisierten Einfachblindstudie wurden 44 Patienten mit Wundheilungsstörungen entweder mit Fibrinolysin/Desoxyribonuklease (Gruppe 1) oder Streptokinase/Streptodornase (Gruppe 2) behandelt. Die in Gruppe 1 erzielten Ergebnisse waren anscheinend geringfügig den in Gruppe 2 erzielten überlegen.

30 Patienten mit sekundär heilenden Wunden wurden mit Fibrinolysin/Desoxyribonuklease behandelt und die klinischen Ergebnisse als befriedigend bezeichnet. In einer anderen Studie wurden 25 Patienten mit einer Lösung von Fibrinolysin/Desoxyribonuklease behandelt. In 15 Fällen heilten die zuvor therapieresistenten Wunden vollständig. Neun Patienten wurden aus dem Krankenhaus entlassen, bevor die Heilung ihrer Wunden abgeschlossen war – die Wundheilung hatte jedoch schon vor der Entlassung aus dem Krankenhaus begonnen. Es kam nur zu einem einzigen therapeutischen Mißerfolg. In einer multizentrischen Studie an 258 Patienten wurden drei lokale Enzympräparate miteinander verglichen: Fibrinolysin/Desoxyribonuklease, Clostridiopeptidase + Chloramphenicol und Trypsin + Framycetinsulfat. Bezüglich der klinischen Wirksamkeit wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Präparaten beobachtet. Die Häufigkeit von Nebenwirkungen war jedoch in den beiden antibiotikahaltigen Präparaten größer, dies war hauptsächlich auf allergische Reaktionen zurückzuführen.

In einer kontrollierten, randomisierten Doppelblindstudie an 34 Patienten mit chronischen Beinulcera wurden 37 Ulcera entweder mit Fibrinolysin/Desoxyribonuklease (Verum-Präparat) oder

KLINISCHE STUDIEN MIT FIBRINOLYSIN / DESOXYRIBONUKLEASE

Art der Studie	Einschluss-Kriterium	Zahl der Patienten	Kontrolle	Ergebnis
offen	chirurgische Wunden	42	keine	++
offen	Brandwunden	30	Silbernitrat	F >> Silbernitrat
Einfachblind	chirurgische Wunden	44	ST/SD	F >> ST/SD
offen	chirurgische Wunden	30	keine	++
offen	Beinulcera	34	Salzlösung	F >> Salzlösung

Salzlösung (Plazebo) behandelt. Bei Patienten mit venösen Beinulcera war das Verum-Präparat bezüglich der Wundreinigung und Granulationszunahme signifikant wirksamer als Plazebo. Bei der Behandlung kombinierter Beinulcera war dieser Unterschied nicht signifikant.

TRYPSIN

Trypsin ist ein in kristalliner Form erhältliches proteolytisches Enzym aus der Rinderbauchspeicheldrüse. Es hydrolysiert Ätherbindungen und Peptidbindungen zwischen Aminosäuren, die hauptsächlich betroffenen Aminosäuren sind hierbei Lysin und Arginin.

Trypsin baut denaturierte Proteine ab, doch nicht Kollagen und Elastin. Es verflüssigt Blutgerinnsel und Wundschorf. Sein Temperaturoptimum entspricht der normalen Körpertemperatur.

Klinische Wirksamkeit

Die Wundreinigungswirkung von Trypsin wurde auf Rattenhaut geprüft und wies ungefähr 50% der Wundreinigungskapazität eines sich zur Zeit noch im experimentellen Stadium befindlichen enzymatischen Präparates (Krill) auf.

40 Patienten mit venösen oder arteriellen Beinulcera wurden entweder mit Streptokinase/Streptodornase oder mit stabilisiertem Trypsin behandelt. Beide Präparate zeigten eine totale oder subtotale Reinigungswirkung auf nekrotisches Gewebe in der Wunde und steigerten die Granulationsgewebebil- dung. Hinsichtlich der Elimination von Eiter und nekrotischem Gewebe waren Streptokinase/Streptodornase dem Trypsin überlegen. Es war jedoch kei-

nes der Präparate dazu imstande, tiefe Nekrosen bei arteriellen Geschwüren zu beseitigen. Beide Behandlungsmodi führten zu einer Reduzierung bakterieller Kontamination der Geschwüre; dies war wahrscheinlich auf das Abräumen nekrotischen Materials zurückzuführen.

In einer Studie an 328 Patienten wurden 110 mit auf Zellulose inaktiviertem Trypsin, 148 mit nicht-alteriertem Trypsin, und 70 mit Antiseptika behandelt.

Diese vergleichende Studie ergab, daß inaktiviertes Trypsin unter Umständen kleinere Vorteile aufweisen könnte.

In einer weiteren Studie wurden die Wirksamkeit von zellulose-inaktiviertem Trypsin und Kollagenase untersucht. Beide Präparate beschleunigten die Reinigung schwer zugänglicher Wunden, reduzierten die Häufigkeit von Infektionen und beeinflussten den Wundheilungsprozeß in positiver Weise.

Nebenwirkungen, wie beispielsweise Juckreiz oder Schmerzen, haben in mehreren Ländern dazu geführt, daß auf Trypsinbasis hergestellte Präparate aus dem Handel gezogen wurden.

BROMELAIN

Bromelain ist ein Bestandteil eines aus der Ananas stammenden Enzymkomplexes. Christopher Kolumbus berichtete von Kriegerern der Karibischen Inseln, die ihre Wunden mit Ananassaft behandelten. Wenn auch noch nicht die chemische Struktur jedes wirksamen Bestandteils des Bromelainkomplexes aufgeklärt worden ist, so hat diese Substanz doch interessante pharmakologische Wirkungen:

- ▶ Interferenz mit dem Wachstum von Tumorzellen,

- ▶ Hemmung der Blutplättchenaggregation,
- ▶ fibrinolytische Aktivität,
- ▶ entzündungshemmende Wirkungen,
- ▶ Wundreinigung.

Die Wirkung dieser Substanz beruht wahrscheinlich auf einer Interferenz mit dem Arachidonsäurestoffwechsel in der Wunde. Beim Débridement experimenteller Brandwunden in Schweinen erwies sich der Bromelainkomplex als erfolgreich und schädigte keine unverbrannten Hautareale.

Klinische Wirksamkeit

Die nekrolytische Aktivität von Bromelain wurde an Ratten mit Brandwunden dritten Grades untersucht. Bei Verwendung einer 35%igen Lösung wurde eine vollständige und selektive Reinigung der Wunden beobachtet. Histologisch war keine Wirkung auf das benachbarte Gewebe zu beobachten. Die Kombination mit PVP-Jodlösung hemmte diese Enzyme vollständig, währenddessen die Kombination mit Sulfapyrimidin oder Gentamicin sich nicht nachteilig auswirkte.

In einer anderen Studie wurde die Wirksamkeit von Bromelain auf Frostbeulen untersucht. Mit flüssigem Stickstoff wurden experimentelle Hauterfrierungen dritten Grades an Schweinen hervorgerufen. Anschließend wurden die Wunden lokal mit Bromelain behandelt. Bromelain hatte keine signifikante Wirkung. Es wurde daraus geschlossen, daß der Mangel an geronnenem Protein Bromelain wohl zu rasch inaktiviert.

KOLLAGENASEN

Kollagenasen identifizieren mit hoher Spezifität die Aminosäuresequenz, an der sie innerhalb der helixförmigen Regionen des nativen Kollagens angreifen und das Kollagenmolekül in kleinere Fragmente spalten. Kollagenasen spalten Glycin vorzugsweise in den x-Prolin-y-Glycin-Prolin-z-Sequenzen. Diese sind vermutlich sterisch schwache Glieder in der Dreierhelix-Struktur des Kollagenmoleküls.

Kollagenasen sind in Kombination mit Chloramphenicol oder als Monopräparat im Handel erhältlich. Das Haupterzeugnis wird aus Clostridium histolyticum gewonnen. Eine weitere Kollagenase aus Achromobacter iophagus wurde ebenfalls kürzlich untersucht.

Klinische Wirksamkeit

Nach intradermaler Injektion von Kollagenase, Hyaluronidase oder einer Kombination von beiden, erwies sich hinsichtlich des Abbaus bindegewebiger Matrix die Kombination von Kollagenase mit Hyaluronidase am wirksamsten, gefolgt von Kollagenase als Monosubstanz. Hyaluronidase hatte allein nur eine minimale Wirkung.

ACR-59 ist eine Kollagenase aus *Achromobacter iophagus*. Nach thermischer Schädigung der Rückenhaut männlicher Wistar-Ratten wurden verbrannte und gesunde Haut (HCl gepuffert, pH-Wert = 7,2, bei 37° C) sofort exzidiert und mit ACR-59 behandelt. Der Abbau der Hautproben wurde mittels Hydroxyprolinbestimmung gemessen. Zum Abbau kam es in dosisabhängiger Weise bei Konzentrationen von ungefähr 0,03 nkat/ml ACR-59. Für gesunde Haut waren jedoch Konzentrationen von 30 nkat/ml erforderlich.

Aus fötaler Rattenhaut stammende Fibroblasten wurden in modifiziertem Eagles Medium kultiviert. Bei Konzentrationen von 3,125 nkat/ml ACR-59 nahm die Zellvermehrung zu; bei Konzentrationen von > 25 nkat/ml wurde sie gehemmt.

Die perkutane Absorption von ACR-59-Salbe wurde an der Rückenhaut von Ratten und Kaninchen untersucht. Die Salbe wurde unter Verwendung eines Okklusivverbands lokal appliziert. Die ACR-59-Konzentrationen wurden mittels Enzymimmunoassay (EIA) und enzymatischer Aktivität in regelmäßigen Zeitabständen ermittelt. Auf gesunder Haut konnte nach Behandlung

mit 50 µkat/g/kg für Ratten und 2 µkat/g/kg für Kaninchen kein ACR-59 gemessen werden. Perkutane Absorption wurde nach lokaler Anwendung auf „nackter“ Haut nachgewiesen, während die Absorption bei Brandwunden und anderen offenen Wunden irgendwie gehemmt wurde.

Klinische Studien

Eine lokale Kombination von Kollagenasen und Chloramphenicol induzierte eine schnelle Reinigung von Wunden, die durch ulzerative Dermatitis entstandenen waren. 95 Patienten mit chronischen Ulcera wurden in einer weiteren Studie mit dieser Kombination behandelt. In allen Fällen erwiesen sich die Ergebnisse als befriedigend. In einer in Rußland durchgeführten Studie wurden 239 Patienten mit suppurativen Hautläsionen mit einem Kollagenasepräparat behandelt. Die Abtragung nekrotischen Gewebes wurde hierdurch gefördert. Lazzari berichtet über positive klinische Ergebnisse mit Kollagenasen in einer klinischen Studie an 20 Patienten mit Beinulcera. Palmieri behandelte 30 Patienten in einer Doppelblindstudie und konnte nachweisen, daß Kollagenase dem Plazebo überlegen ist.

SUTILAIN

Sutilain ist ein im Jahr 1960 entdecktes, aus *Bacillus subtilis* stammendes proteolytisches Enzym. Es hydrolysiert Proteine und baut nekrotisches Gewebe und denaturiertes Kollagen ab. Sutilain ist in vitro gegen Fibrin aktiv, doch etwas weniger gegen andere Proteine,

darunter Hämoglobin und Kollagen. Sein pH-Optimum liegt zwischen 6,0 und 6,8.

Klinische Wirksamkeit

Gute Ergebnisse wurden nach Behandlung von Brandwunden mit Sutilain mitgeteilt. Die schwerwiegendsten Nebenwirkungen waren ein brennendes Gefühl in der Wunde und eine geringgradige Entzündung der gesunden, benachbarten Hautareale. Die Behandlung ist kontraindiziert bei Geschwüren, die mit größeren Körperhöhlräumen kommunizieren oder freiliegendes Nervengewebe aufweisen, sowie bei neoplastischen Geschwüren. Über systemische allergische Reaktionen liegen keine Berichte vor; die Bildung von Antikörpern infolge Absorption des Enzyms ist jedoch möglich.

KRILL-ENZYME

Erste experimentelle und klinische Studien mit dem neuen Krill-Enzymsystem aus Endo- und Exopeptidasen wurden nun veröffentlicht. Die Hauptwirkung beruht auf den Endopeptidasen, wobei Exopeptidasen als kooperative Enzyme dienen. Das pH-Optimum der Krill-Enzyme ist alkalisch, und sie erfordern viel weniger Aktivierungsenergie als Säugetierenzyme. Sowohl schon veröffentlichte als auch derzeit in mehreren europäischen Ländern durchgeführte Studien bestätigen offenbar die Beobachtung, daß die Krill-Enzyme sehr wirksame Wundreiniger darstellen.

SCHLUSSFOLGERUNG

Enzymatische Wundreiniger sind zweifellos ein wesentlicher Bestandteil der Behandlung von Patienten mit chronischen Wunden und Brandwunden. Infolge der hohen weltweiten Prävalenz von Problemwunden erscheint die Durchführung weiterer experimenteller und klinischer Untersuchungen auf diesem Gebiet dringend angeraten.

*PD Dr. med. W. Vanscheidt
Leitender Oberarzt der Hautklinik der
Albert-Ludwigs-Universität Freiburg
Hauptstraße 7
79104 Freiburg*

*Literatur bei der Redaktion.
Abdruck mit freundlicher
Genehmigung der Knoll AG.*

KLINISCHE STUDIEN MIT KOLLAGENASEN

Art der Studie	Einschluss-Kriterium	Zahl der Patienten	Kontrolle	Ergebnis
offen	dermatolog. Ulcera	20	Keine	++
offen	Beinulcera	95	Keine	++
offen	eiternde Wunden	239	Keine	++
offen	Beinulcera	258	F ST/SD	n. s.
offen	Beinulcera	20	Keine	++
Doppelblind	Beinulcera	30	Plazebo	Kollagenase >> Plazebo