

# HİPERBARİK OKSİJEN İLE TEDAVİ EDİLEN OLGULARDA PROLİDAZ ENZİM SEVİYELERİ

Dr. Şenol YILDIZ (\*), Dr. Hakan AY (\*), Dr. Kadir DÜNDAR (\*),  
Dr. M Emin ELBÜKEN (\*), Dr. Oğuz CAYMAZ (\*\*)

Gülhane Tıp Dergisi 46 (2) : 144 - 148 (2004)

## ÖZET

*Kronik yarası olan 15 kadın 20 erkek hastada, hiperbarik oksijen tedavisi (HBO<sub>2</sub>) sonrasında serum ve doku prolidaz enzim seviyeleri değerlendirildi. HBO<sub>2</sub> günde 2 kez 90 dakikalık seanslar halinde uygulandı ve tedavi 30. seansta sonlandırıldı. Tedaviden önce ve sonra hastalardan venöz kan örnekleri ve doku biyopsileri alındı.*

*Serum ve doku örneklerinde, prolidaz enzimler değeri ölçüldü. Serum ve doku prolidaz değeri, tedavi sonrasında, tedavi öncesine göre azalma istatistiksel olarak önemliydi (p<0.001). HBO<sub>2</sub> tedavisinin kronik yara çevresindeki hipoksiyi düzelterek, kollajen yıkımını azalttığı düşünüldü.*

**Anahtar Kelimeler:** Kronik Yara, Hiperbarik Oksijen Tedavisi, Prolidaz Enzimi.

## SUMMARY

### **Hyperbaric Oxygen and Prolidaz Enzym Levels**

*15 female and 20 male patients were included in the study in which we aimed to evaluate the serum and tissue prolidase levels after the hyperbaric oxygen (HBO<sub>2</sub>) therapy. All the cases had chronic refractory wound.*

*HBO<sub>2</sub> therapy was applied twice a day in 90-minute periods at 2 ATA. The treatment was discontinued after 30 periods. We collected venous blood samples and made skin biopsies before and after treatment.*

*The prolidase enzyme was evaluated in serum and tissue samples before and after treatment. The prolidase enzyme activity in serum and tissue samples had a significant decrease after therapy (p<0.001).*

*We conclude that HBO<sub>2</sub> therapy decreased the degradation of collagen by corrected hypoxia around chronic wound.*

**Key Words:** Chronic Unhealing Wound, Hyperbaric Oxygen Therapy, Prolidase Enzyme.

\* GATA Haydarpaşa Eğt. Hast., Su Altı ve Hiper. Tıp Ser.

\*\* GATA Haydarpaşa Eğt. Hast., Biyokimya Servisi

Reprint Request: Dr. Şenol YILDIZ, GATA Haydarpaşa Eğt.

Hast., Su Altı ve Hiper.Tıp Ser. 81010, Kadıköy-İstanbul

Kabul Tarihi: 05.05.2004

\*\* 21-24 Eylül 2003 (Romanya) tarihinde 8. Balkan Askeri Tıp Kongresinde poster bildiri olmuştur.

## GİRİŞ

Değişik yara tiplerinde iyileşme hızı farklılık göstermesine rağmen, genel olarak kronik yara, 30 gün içinde iyileşmeyen yara olarak tarif edilir (1). İyileşmeyen yaralarda, hipoksi, iskemi ve çoğunlukla sonradan eklenen enfeksiyon, sebep olarak karşımıza çıkmaktadır. İskeminin düzeltilmesi için çeşitli yöntemler kullanılmıştır. İskemi ya cerrahi yöntemlerle dokuya giden mevcut dolaşımı artırılarak, veya kanın oksijenasyonunu artırarak düzeltilmeye çalışılmıştır.

Hiperbarik oksijen (HBO<sub>2</sub>) tedavisi, kapalı bir basınç odasında, 1 atmosferden (1 ATA= Absolü Atmosfer) daha yüksek basınç altında, maske, başlık veya endotrakeal tüple, aralıklı olarak oksijen solutmak suretiyle uygulanan bir tedavi yöntemidir (2).

Yara iyileşmesine etkisi : Yaralanmış doku hipoksiktir, parsiyel oksijen basıncı 5-15 mmHg' ye ve hatta daha düşük değerlere kadar düşebilir. Oysa yara, iyileşmesinde gerekli kollajenin fibroblastlarca sentezlenmesi için, minimum 30-40 mmHg parsiyel oksijen basıncı gereklidir. HBO<sub>2</sub> ile doku oksijen parsiyel basıncının artırılması, fibroblastik aktivite artışı ve kollajen matriks birikimine yol açar. Hipoksi ise angiogenesis uyandır. Böylece günde 2-4 saat süreyle uygulanacak HBO<sub>2</sub>, kollajen matriks birimini sağlarken, 20-22 saatlik hipoksinin angiogenesisi uyarıcı etkisiyle de damarsal gelişim olur (3,4,5).

Yara iyileşmesi esnasında sağlıklı bir dokuda kollajen sentezi artıp yarayı doldururken, o oranda kollajen yıkımında değişiklik olup olmadığını araştırdık. İskemik bir yarada, HBO<sub>2</sub> tedavisi sonrasında kollajen sentezindeki olası artış, prolihidroksilaz enzimi ile takip edilebilir, fakat bu enzimin her laboratuvarlarda çalışılmaması, pahalı bir yöntem olması ve hatalı sonuç olasılığının yüksekliği pratik olarak kullanımını engellemektedir. Kollajen katabolizmasında yer alan prolidaz enzimi ise, çalışılması daha ucuz ve her laboratuvarlarda çalışılabilecek bir enzimdir. Yara iyileşmesinde prolidaz enziminin rolü olup olmadığı, doku ve plazmadaki prolidaz değerlerinin HBO<sub>2</sub> tedavisi ile değişikliğe uğrayıp uğramadığı araştırıldı.

Prolidaz enzimi (EC: 3.4.3.7, İminodipeptidaz), C terminalinde prolin veya hidroksiprolin bulunan iminodipeptidleri yıkan enzimdir. Bu dipeptidler, organizmada kollajen yıkımında açığa çıkar. Kollajen, art arda birkaç reaksiyonla, iminodipeptidlere ve bunlar da serbest aminoasitlere ayrılır. Bu aminoasitler, genel sistemik aminoasit havuzuna katılmadan tekrar kollajen yapımına girer. Prolin ve hidroksiprolinin her biri kollajendeki amino asitlerin % 10'unu oluşturur. Fakat hidroksiprolin kollajen sentezine katılmadığından ve polipeptid zincirinin posttranslasyonel modifikasyonu sonucu prolinin hidroksillenmesiyle ortaya çıktığından dolayı, kollajendeki amino asitlerin % 20'sini prolinin oluşturduğu kabul edilir (6).

Prolidaz aktivitesi birçok dokuda bulunur. Bunlar arasında incebarsak mukozası, uterus, beyin, kas dokusu, eritrosit ve serum sayılabilir. Bağırsak mukozasında protein sindiriminde rol alır. Periferik dokularda bulunan sitozolik prolidaz enzimi, C terminalinde prolin veya hidroksiprolin içeren dipeptitleri ayırarak fonksiyon yapar.

Normal serum prolidaz değeri 1000 Ü/L'nin altındadır. 1500 Ü/L'yi aşan değerler kronik karaciğer hastalıklarında görülür. Kemik hastalıklarında, hiçbir zaman yüksek prolidaz değerine rastlanmamıştır (7). Oono ve ark. kronik yara iyileşmesinde prolidaz enzim değerininin yaradan alınan sıvı örneklerinde ve blister oluşan hastalıklarda blister içi sıvı örneklerinde arttığını bildirmişlerdir (8).

Bu çalışmada, kollajen metabolizmasının yıkım basamağında rol alan prolidaz enzim değerlerinin, HBO<sub>2</sub> tedavisi ile ilişkisi araştırıldı.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma, Şubat-1996, Haziran-1997 tarihleri arasında Gülhane Askeri Tıp Akademisi Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Deniz ve Su Altı Hekimliği Servisine başvuran, kronik yaralı hastalar üzerinde yapıldı. Çalışmaya alınan olguların tümünde, yara oluşumu 1 aydan fazla idi. Yara başlangıcı 6 aydan uzun olan olgular çalışma dışı bırakıldı. HBO<sub>2</sub> tedavisine alınması kontrendike olan hastalar (Tedavi edilmemiş pnömotoraks, amfizem vs.) çalışma dışında bırakıldı. Tedavi süresince kapalı yer fobisi ve/veya orta kulak barotravması tespit edilip tedaviyi bırakmak isteyen hastalarda tedavi sonlandırıldı. Tedaviye kabul edilen hastalara gerekli bilgiler verildikten sonra yazılı olurları alındı.

Tedaviye alınan olguların, günlük pansuman ve debritlemanları yapıp, antibiyoterapi uygulandı. Klinik gözlem değerlendirme dışı bırakıldı.

Kronik yarası olan olgulardan tedavi öncesi 3 cc venöz kan ve yara kenarından 1 adet cilt biopsisi alındı. Venöz kan örnekleri 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edilip, serum -50 °C' de saklandı. Cilt biopsileri doku prolidaz enzimi ölçümü için - 50 °C'de saklandı.

Örnekler alındıktan sonra hastalara günde 2 kez 2 ATA'da 90 dakikalık HBO<sub>2</sub> tedavisi uygulandı. Tedaviler Su Altı ve Hiperbarik Tıp Servisinde bulunan multiplace basınç odasında yapıldı. Günlük pansumanları yapılan hastalara alınan kültür sonuçlarına göre uygun antibiyotik başlandı. Tedaviler, 30 seansa tamamlanınca hastalardan tekrar 3 cc venöz kan ve 1 adet yara kenarından cilt biopsisi alındı. Venöz kan, aynı şekilde 3000 rpm'de santrifüje edilip, serum ve alınan biyopsiler - 50 °C'de saklandı.

Haziran 1997'de tüm hastalar tamamlandıktan sonra, tedavi öncesi ve tedavi sonrası serum ve dokulardan prolidaz enzimi ölçümleri yapıldı.

Prolidaz aktivitesinin ölçümü modifiye edilmiş Myara yöntemi ile yapıldı (9,10).

Prencip: Serum örneğinin Mn<sup>+2</sup> ile ön inkübasyonundan sonra, glisin-L-prolin substrat olarak kullanılır, prolidaz enziminin dipeptidaz aktivitesi prolin açığa çıkarır, oluşan prolin ninhidrin ile reaksiyona girerek renkli bir bileşik oluşturur. Oluşan renkli bileşiğin şiddetinin 515 nm' de ölçülmesiyle, indirek olarak prolidaz aktivitesi hesaplanır.

Düz tüpe 33 cc venöz kan alındı. Örnek 3000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Serumları ayrıldı. Örnekler - 50 °C'de saklandı. Serum 1/5 olacak şekilde 0.005 M MnCl<sub>2</sub>, 4 H<sub>2</sub>O, %0.001 Tx100, 0.001 M GSH içeren Tris/ Hcl pH: 7.8 tamponu ile sulandırıldı. Sulandırılmış serum, 3 saat, 37 °C de ön inkübasyona bırakıldı. Örnek tüpüne, 100 mikrolitre sulandırılmış serum ve 100 mikrolitre glisin-L-prolin konuldu. Örnek kör tüpüne glisin-L-prolin içermeyen sadece sulandırılmış 100 mikrolitre serum konuldu. Her iki tüp, 30 dk 37 °C de inkübe edildi. İnkübasyon sonunda reaksiyonu sonlandırmak için 1 ml 0.45 mol/L'lik TCA her iki tüpe eklendi. Kör tüpüne TCA ilavesinden sonra, enzimatik reaksiyon durduğu için, 100 mikrolitre glisin- L-prolin ilave edilip tüpler vortekste karıştırıldı. 4000 rpm'de 10 dk santrifüj edildi. Santrifüj edilmiş örnek ve örnek körü tüplerinden alınan 0.5 ml süpernatant, spektrofotometre tüplerine konuldu. Standart tüpüne ise, 0.5 ml prolin standart çözeltisi, ayrıca kör tüpüne ise, 0.5 ml 0.45 mol TCA konuldu. Dört tüpe de, 1'er ml glisial asetik asit, 1'er ml modifiye Chinard's çözeltisi ilave edildi (Modifiye Chinard's çözeltisi, 550 ml glisial asetik asit, 450 ml 6 M ortofosforik asit, 30 gr ninhidrin içerir). Tüpler, vortekste 15 sn karıştırıldıktan sonra, sıcak su banyosunda 90 °C de 20 dk inkübe edildi. Vorteks de

15 sn karıştırıldıktan sonra, oda ısısına getirilip, 515 nm'de renk reaksiyonları okundu.

Doku Ölçümü: Örnekler %0.9 luk NaCl ile 1/50 seyreltildikten sonra, Ultra-Turraks T 25 homojenizatörde, 20500 devir/dakikada ve ultrasonik T460 manyetik karıştırıcı ile homojenize edildi. Homojenizatlar, Beckman soğutmalı santrifüjde 10.000 x g de santrifüj edildi. Üst fazdan 100 mikrolitre alınarak, 1/1 olacak şekilde 0.005 M MnCl<sub>2</sub> 4 H<sub>2</sub>O, %0.001 Triton X100, 0.001 M GSH içeren Tris/Hcl pH: 7.8 tamponu ile sulandırıldı. Bundan sonraki basamaklar olan ön inkübasyon, enzimatik reaksiyon ve prolin ölçümleri serum örneklerinde olduğu gibi çalışıldı ve prolidaz aktivitesi hesaplandı.

Tüm istatistiksel değerlendirmeler için, SPSS yazılımı kullanıldı (SPSS 11.0 , SPSS Inc., Chicago, IL.). Tanımlayıcı istatistikler, ortalama + standart sapma şeklinde ifade edildi. İstatistiksel analizlerden, bağımlı gruplarda t testi kullanıldı. p<0.05 değerleri istatistiksel olarak önemli(anlamli) kabul edildi.

## BULGULAR

Hastaların yaş ortalaması 45.4 ± 8.9 olup, 15 bayan 20 erkek toplam 35 hasta çalışmaya dahil edildi. Tedaviye alınan yaraların etiolojileri Tablo-I'de gösterilmiştir.

**TABLO - I**  
**Çalışmaya Alınan Hastaların HBO Tedavisine**  
**Alınma Sebepleri**  
**(GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi, 1995-1997)**

Etiyoloji	n	%
1. Diyabetik yara	21	60.0
2. Periferik vasküler yetersizliğe bağlı ülser	4	11.4
3. Dekübitus ülseri	2	5.7
4. Ezilme yarası	1	2.9
5. İyileşmeyen cerrahi yara	4	11.4
6. Yumuşak doku enfeksiyonu	2	5.7
7. Radyasyona bağlı nekroz	1	2.9

Tedavi öncesi ve tedavi sonrası sonuçlar karşılaştırıldı. Serum prolidaz değerleri, tedavi sonrasında tedavi öncesine göre istatistiksel olarak önemli derecede düştü (p < 0.001)(Tablo II). Serum prolidaz değerlerinde, 23 hastada tedavi öncesine göre belirgin düşme, 9 hastada belirgin olmayan düşme ve 3 hastada tedavi öncesi değerlerine göre artış gözlemlendi. Doku prolidaz değerlerinde 25 hastada, tedavi öncesine göre belirgin düşme, 3 hastada belirgin olmayan düşme ve 2 hastada tedavi öncesi değerlerine göre artış gözlemlendi. Aynı hastada hem

serum hemde dokuda tedavi öncesine göre yükselen prolidaz değeri saptanmadı.

Tedavi sonrası doku prolidaz değerleri, tedavi öncesine göre istatistiksel olarak önemli derecede düştü (p<0.001) (Tablo II).

**TABLO - II**  
**Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Serum ve**  
**Doku Prolidaz Tanımlayıcı İstatistikleri ve**  
**Standart Sapmaları**

ÖLÇÜM	Tedavi Öncesi	Tedavi Sonrası
Serum Prolidaz (Ü/L)	739.8 +166.4	646.3+169.4
Doku Prolidaz (Ü/mg)	3194.0 + 559.8	2943.7 + 594.5

## TARTIŞMA

Yara iyileşmesi, genel olarak inflamatuvar, proliferatif ve rejeneratif faz olarak üç bölümde incelenen kompleks bir prosesdir (11). Bu fazlarda oluşan lökosit aktivasyonu, angiogenesis, kollajen sentezi, ve reepitelizasyon gibi tüm prosesler doku oksijen basıncı ile yakından ilişkilidir. Problemler yaralarda, yara iyileşmesi için oksijen ihtiyacı kan tarafından yeterince sağlanamaz (12).

Lokal hipoksi, doku injürisinin normal ve kaçınılmaz bir sonucudur (13). Hipoksi tamir için uyaran gibi davranır. Diğer taraftan, pek çok tamir prosesinde moleküler oksijen ihtiyacından kaynaklanan lokal iskemi ve enfeksiyon, yetersiz doku iyileşmesine yol açabilir. Doku oksijenasyonunun düzelmesi, tamir işlevini kolaylaştırır. Deniz seviyesinde % 100 oksijen ile orta derecede arteriyel hiperoksi oluşturulursa, yarayı çevreleyen lokal damarlarda oksijen basıncı beklenmeyen ölçüde pik yapar. Fakat yaranın ciddiyetine bağlı olarak, hipoksi relatif olarak merkez bölgede daha az değişir. Kollajen sentezi, matriks deposizyonu, anjioneogenezis, epitelizasyon ve bakteriyel öldürme bir ivme kazanır. Yara hücreleri yüksek oksijen basıncında daha fazla oksijen kullanmaktadır. Oksijen, sadece protein sentezi ve hücre bölünmesi gibi enerji gerektiren proseslerde değil, aynı zamanda kollajen alfa zincirlerinin oluşumunda, onun fiberlere bağlanmasında ve salgılanmasında gerekli olan prolin ve lizin moleküllerinin hidrosilasyonunda da gereklidir. Pek çok rolünden dolayı oksijen yara iyileşme prosesinde kontrol edici durumdadır. Beyin ve kalpte olduğu gibi oksijen yarada da kritik moleküldür (14).

Lokal doku, oksijen basıncı tamir esnasında kollajen sentez ve deposizyonunu etkiler. Eğer anoksi olursa, fibroblastlar invitro olarak hücre içi polipeptit kollajen prokürsörlerini yapacaklardır, fakat onları sal-

gılayamayacaklardır (14). Oksijen, tekrar uygun konsantrasyona eriştiğinde kollajen üretilir (10). Prockop, geçici bir anoksinin bile daha az hidroksile kollajen oluşumu ile sonuçlandığını göstermiştir. İn vivo sınırlı bir anoksik periyod, düşük mekanik gerilime neden olacak daha az dayanıklı kollajen sentezine yol açar (15). Chvapil ve arkadaşları, kollajenin çapraz bağ ve maturasyonlarının çevre oksijen basıncının yükselmesiyle lineer olarak arttığını göstermişlerdir (16). Young, invivo olarak cerrahi hastalarda ve tavşan modellerinde ince ve kalın bağırsak anastomozlarında kan akımını ölçerek, perianastomotik oksijen basınçlarını, kırılma gerginliği ve kan akımı ile uyumlu bulmuşlardır. Tavşanlarda,  $pO_2$  55 mmHg nin üstünde % 10 kırılma hızına rağmen,  $pO_2$  25 mmHg nin altına düştüğünde bu % 100'e erişmiştir (17). Diğerleri, oksijen ile doku gerginlik kuvveti, total kollajen depozisyonu, total protein ve total hücre DNA'sı arasında yakın ilişki olduğunu göstermiştir. Oksijen ihtiyacı epitelizasyonla da ilgilidir. Rejenere olan epitelial hücreler, başlangıçta anaerobik yaşam için hazırlanırlar, fakat aerobik fonksiyonlarını da muhafaza ederler. Daha fazla oksijen verildiği takdirde bu aerobik metabolizmaya dönüşür. Pek çok araştırmacı 1-2 ATA arası oksijen verildiği takdirde, normal ve iskemik yaralarda epitelizasyon hızını oksijen sunusunun kontrol ettiğini rapor etmişlerdir. Epitelial hücreler, bazal membran kollajenini yaparlar ve tabii ki bu etkinin bir parçası da, onların kendi kendini sınırlama yeteneklerindeki artıştır. Keza replikasyon hızı da oksijen bağımlıdır (18).

Yüksek arteriel  $pO_2$ 'nin hipoksik alanlarda anjiogenezisi başlattığı gözlenmiştir. Diğer taraftan, yaranın merkez kısmının yüksek  $pO_2$ 'ye maruz kalması damar gelişimini durdurur. Bunun arkasında yatan mekanizma, makrofajların hipoksi veya yüksek laktat seviyesi olduğu zaman anjiogenezetik faktör üretme kabiliyetlerinin olmasındandır (19). Böylece günde, 2 kez 90 dakikalık HBO<sub>2</sub> ile kişi ortalama olarak 3 saat hiperbarik ortama, 21 saat de hipobarik ortama maruz kalır. Bu kombinasyon neticesinde, hem yüksek oksijen basıncı ile angioneogenez artacak, hem de göreceli düşük oksijen basıncı ile makrofajların salgıladığı angioneogenezetik faktör sayesinde yeni damar oluşumu uyarılacaktır.

Çalışmamızda, kronik yaralı olgularda kollajen yıkımında rol alan prolidaz enzimi seviyeleri üzerine HBO<sub>2</sub> tedavisinin etkisi araştırıldı. Serum ve doku prolidaz enzim örneklerinde, kollajen yıkımında rol alan prolidaz enzim aktivitesi tedavi sonrası değerler itibarıyla, tedavi öncesi değerlere göre istatistiksel bakımdan anlamlı olarak azaldı ( $p<0.001$ ).

Kronik yaralarda prolidaz enzimi seviyelerinde değişim ile ilgili tek bir çalışmada, Oono ve ark.'ları, kronik yara iyileşmesinde prolidaz enzim değerinin, yaradan alınan sıvı örneklerinde ve blister oluşan hastalıklarda, blister içi sıvı örneklerinde arttığını bildirmişlerdir (8). Bizim çalışmamızda, prolidaz enzimi serum ve dokuda değerlendirilmiştir. Prolidaz seviyelerinde, HBO<sub>2</sub> tedavisi öncesine göre artan, azalan ve değişmeyen sonuçlar aldık. Sonuçların tamamı istatistiksel olarak değerlendirildiğinde, HBO<sub>2</sub> tedavisi sonrasında prolidaz seviyelerinde düşme eğilimi gördük. Kronik yara çevresindeki hipoksinin HBO<sub>2</sub> tedavisi ile, normoksi veya hiperoksiye dönüşerek, kollajen yıkımını azalttığını düşündük.

Prolidaz enzim aktivitesi ölçümü yanı sıra bir diğer önem taşıyan prolil hidrosilaz enzim ölçümünün de, bu çalışmanın anlamlılığını artırma bakımından parametre olarak kullanılması düşünüldü. Ancak prolil hidrosilaz ölçüm yönteminin hata kaynaklarının fazla olması, ileri teknikler gerektirmesi, ve pahalı bir laboratuvar yöntem olması nedeniyle çalışma kapsamına alınmadı. Modifiye Myara yöntemi ile ön inkübasyon süresi, 24 saatten 3 saate indirilen prolidaz enziminin pratik olarak kullanılabilir bir test olduğunu düşündük. Deneyde kullanılan materyal de, hem ucuz hem de her laboraturlarda bulunabildiği için, prolidaz enziminin rutin olarak kronik refrakter yaraların tedavisi esnasında kollajen yıkım sürecinin azalttığını gösterebilmek amacıyla kullanılabilirliği sonucuna vardık.

Sonuç olarak;

1. Kollajen yıkımı ve yıkımda rol alan prolidaz enzimi anlamlı olarak azalmıştır ( $p<0.001$ ).
2. HBO<sub>2</sub> tedavi derinliği ve tedavi süresinin prolidaz enzimi ve kollajen yıkımı üzerindeki etkisi hususunda, optimal değerlerin ortaya konabilmesi için, değişik derinlik ve sürelerin kullanıldığı tedavi profillerinin uygulandığı farklı çalışmaların yapılmasına gerek vardır.

#### KAYNAKLAR

1. Smith, A.P.S.: *Etiology of the problem wound. In: Wound Care Practice, Eds: Sheffield PJ, Smith APS, Fife CE, Best Publishing Company, China, p: 3-49, 2004.*
2. Çimşit, M.: *Hiperbarik oksijenin kullanım alanları, Tıbbi Ekoloji ve Hidroklimatoloji Dergisi, Hiperbarik Oksijenasyon özel sayısı, Cilt:2, Sayı:1, 8-15, 1984.*
3. Çimşit, M.: *Hiperbarik Oksijen Tedavisi. Sendrom. Yıl: 2, Sayı: 6, 67- 69, 1990.*



4. Hunt, T.K., Niinikoski, J., Zederfeldt, B. H., Silver, I. A.: Oxygen in Wound Healing enhancement: Cellular effect of oxygen, Hyperbaric oxygen therapy, Ed: Davis, J. C., Hunt, T.K., Undersea Medical Society Inc, 111-122, Maryland 1977.
5. Mader, J.T.: Hyperbaric Oxygen Therapy: A Committee Report. Bethesda, Md: Undersea and Hyperbaric Medical Society; 1989.
6. Rojkind, M., Gatmaitan, Z.: Connective tissue biomatrix in rat hepatocytes. *J. Cell. Biol*, 87: 55-256, 1980.
7. Zuyderhoudt, F. M.C., Brugman, A. M., Smith, J. J.H., Jong, L.: Plasma prolydase in the rat; no index of liver fibrosis. *Clinical Chemistry*, 31:4, 1985.
8. Oono, T., Fujiwara, Y., Yoshioka, T., Arata, J.: Prolidase activity in chronic wound and blister fluids. *J Dermatol*. 24(10): 626-9, 1997.
9. Myara, I., Charpentier, C., Lemonnier, A.: Optimal conditions for prolydase assay by proline colorimetric determination. *Clinica Chimica Acta*, 125:193-205, 1982.
10. Myara, T., Mangeot, A., Fabre, M., Charpentier, C., Lemonnier, A.: Plasma prolydase activity; a possible index of collagen catabolism in chronic liver disease. *Clin. Chem*, 30:211- 215, 1984.
11. Clark, R.A.F. :Cutaneous tissue repair. Basic biologic considerations. *I. J. Am. Acad. Dermatol*. 13: 701, 1985.
12. Pai, M.P., Hunt, T.K.: Effect of varying oxygen tension on healing of open wounds. *Surg. Gynecol. Obstet*. 135: 756, 1972.
13. Tanoue, A., Endo, F., Matsuda, I.: Structural organization of the gene for human prolydase and demonstration of a partial gene deletion in a patient with prolydase deficiency. *J. Biol. Chem*. 265:11306-11311, 1990.
14. Hunt, T.K., La Van, F.B.: Oxygen and Wound Healing. *Clinics in Plastic Surg.*, Vol 17, No. 3, July 1990.
15. Uitto, J., Prockop, D.J.: Synthesis and secretion of under-hydroxylated procollagen at various temperatures by cells subject to temporary anoxia. *Biochem Biophys Res Commun* 60: 414, 1974.
16. Chvapil, M., Hurych, J., Ehrlichova, E.: The influence of varying oxygen tensions upon proline hydroxylation and the metabolism of collagenous and non-collagenous proteins in skin slices. *Z. Physiol Chem* 349:211, 1968.
17. Shandall, A., Lowndes R., Young H. L.: Colonic anastomotic healing and oxygen tension. *Br. J. Surg*. 72:606-609, 1985.
18. Laurent, G.J.: Dynamic state of collagen. Pathways of collagen degradation in vivo and their possible role in regulation of mass. *American Journal of Physiology*, 252:C1-C9, 1987.
19. Jain, K.K.: Hyperbaric Oxygen Therapy in Wound Healing. In: *Textbook of Hyperbaric Medicine* Eds: Jain, K. K., Neabauer, R., Correa, J. G. Hogrefe and Huber Publ. Toronto 193-199, 1989.