



Uses of Proteolytic Enzymes on Treatment and Effects on Cow's Mastitis Treatment

Onder AYTEKİN

Firat University, Health Services Vocational School, Elazig, Turkey

Received: 10.02.2015

Accepted: 09.04.2015

SUMMARY

Proteolytic enzymes are hydrolase enzymes which can be used for treatment. They have important roles like control and regulation in homeostasis process. Proteolytic enzymes have been used as a holistic-alternative treatment method in veterinary practice. Nowadays, the researches about proteolytic enzymes have been concentrated on mastitis and endometritis of ruminants in veterinary medicine. It's emphasized that proteolytic enzymes are an option on supportive treatment in researches. The effects on mastitis treatments were interesting.

Key Words: Proteolytic enzymes, Holistic therapy, Veterinary, Supportive treatment, Mastitis

ÖZET

Proteolitik Enzimlerin Tedavide Kullanımı ve İneklerde Mastitis Tedavisindeki Etkileri

Proteolitik enzimler tedavi amacıyla kullanılabilen hidrolaz enzimlerdendir. Proteolitik enzimler, homeostazis sürecinde kontrol ve regülasyon gibi önemli rollere sahiptirler. Proteolitik enzimler veteriner pratikte, holistik-alternatif tedavi yöntemi olarak kullanılmaktadırlar. Günümüzde, veteriner hekimlikte proteolitik enzimlerle ilgili yapılan araştırmalar özellikle ruminantlarda mastitis ve endometritis üzerinde yoğunlaşmıştır. Proteolitik enzimlerin olumlu etkileriyle tedaviye destek amacıyla kullanılacak bir seçenek olduğu yapılan araştırmalarda vurgulanmıştır. Mastitis tedavilerindeki etkileri ilgi çekicidir.

Anahtar Kelimeler: Proteolitik enzim, Holistik tedavi, Veteriner, Destekleyici tedavi, Mastitis

GİRİŞ

Proteolitik enzimler tedavi amacıyla kullanılabilen hidrolaz enzimlerdendir. Proteaz, proteinaz ve peptidaz olarak da adlandırılan proteolitik enzimler, proteinleri parçalama fonksiyonuna sahiptirler (Desser 2007e). Proteolitik enzimler, kompleks molekülleri basit moleküllere parçalama şeklindeki sindirim faaliyetlerinin yanı sıra, vücudun uyum içerisinde tutulmasını sağlayan birçok sürecin kontrolü ve regülasyonunda önemli rol alırlar (Desser 2007e; Anonymus 2010).

Proteolitik enzimler vücut hücrelerinden (endojen) ve alınan gıdalardan (eksojen) sağlanırlar. Yaşın ilerlemesiyle hücrelerin ürettiği endojen enzim miktarı ve gıda kaynaklı enzimlerin bağırsaklardan emilimi azalmaktadır. Ayrıca günümüzde birçok olumsuz faktör endojen enzim üretiminde aksaklıklara yol açmaktadır. Bu durum eksojen enzim takviyesini gerekli kılmaktadır (Desser 2007f; Bowler 2010).

Tedavide sık olarak kullanılan proteolitik enzimler; Bromelain, Papain, Ficin, Nattokinaz, Serrapeptidaz, Tripsin, Kimotripsin ve Pankreatin'dir (Desser 2007a).

Proteolitik enzimler veteriner pratikte, holistik-alternatif tedavi yöntemi olarak, cerrahide, yara tedavilerinde, kas-iskelet yangınlarda, immunomodülasyonda, sindirim bozukluklarında, kanserden korumada, eklem hastalıklarında, deri-kıl bozukluklarında, alerjilerde, lokal mantar enfeksiyonlarında ve detoksifikasyon amacıyla sıkça kullanılmaktadır (Percival 1999).

Günümüzde, veteriner hekimlikte proteolitik enzimlerle ilgili yapılan araştırmalar çoğunlukla ruminantlarda mastitis ve kısmen de endometritis üzerinde yoğunlaşmıştır.

PROTEOLİTİK ENZİM TEDAVİSİNİN TARİHÇESİ

Proteolitik enzim tedavisi, kökenini naturopatiden alan bir tedavi formudur (Anonymus 2010). Yapılan çalışmalar genellikle klinik enzimolojinin bir alanı olan pankreatik

enzimlerin medikal kullanımı üzerinde odaklanmıştır. Pankreatik enzimler uzun tarihçeleri boyunca, başlangıçta ham karışımlar şeklinde kullanılmış, daha sonra teknolojinin gelişimiyle saflaştırılmış formda kullanılmaya başlanmıştır (Scheidlin 2007).

1900'lü yılların başında pankreastan (pankreatin) elde edilen proteolitik enzim ekstraktları, bazı kanserlerin tedavisinde, John Beard tarafından damar içi ve tümör içine verilme şeklinde kullanılmıştır. Bu uygulama tümör gelişimini kısmen durdurmuştur (Anonymus 2010; Bowler 2010). Beard'ı sonradan takip eden Max Wolf, enzimlerin nasıl stabil hale getirilebileceği üzerinde çalışmalar yapmıştır. Wolf ve Benitez'in uzun süren çalışmaları ve deneyleri sonucu proteolitik enzimler optimize edilmiş, sinerjistik kombinasyonları geliştirilmiş, akut ve kronik enfeksiyonlar, ödem ve viral enfeksiyonların tedavisi için uygun oldukları ortaya çıkmıştır (Desser 2007c; Bowler 2010). Max Wolf'un araştırmalarıyla başlayan proteolitik enzim tedavisinin modern çağı günümüzde de devam etmektedir. Avrupa'da gerçekleştirilen klinik araştırmalar proteolitik enzimlerin tek başlarına, kendi aralarında kombinasyonlarla ve antibiyotiklerle kombine edilerek kullanımının tedavide olumlu sonuçlara ulaştığını göstermektedir (Desser 2007b; Lenard 2010).

Proteolitik enzimler tıbbi obstetri ve jinekolojide; kronik ürogenital enfeksiyonlar, abortuslar, reproduktif bozukluklar, endometriozis, jinekolojik cerrahi, genital enfeksiyonlarda immunomodülasyon, meme kanseri, infertilite, mastopatiler ve mastitislerin tedavisinde kullanılmaktadır. Proteolitik enzimlerin insanlarda mastitis tedavisinde kullanılmasıyla ilgili çalışmalar (Ermiglia 1959; Dessarzin ve ark. 1961; Leppanen 1961; Grigorian ve ark. 1974; Tambiev 1977; Gostishchev ve Tambiev 1978; Khanin ve Tambiev 1979; Storozhuk ve ark. 1984-1985; Storozhuk ve Babich 1986) bildirilmiştir.

Proteolitik enzimlerin veteriner hekimlikte kullanımı uzun yıllar öncesine dayanmaktadır. Charles W. Raker, "Use of Enzymes in Veterinary Medicine (1957)" başlıklı yayınında, proteolitik enzimlerin veteriner hekimlikte enfeksiyöz ve non-enfeksiyöz hastalık süreçlerinde tedaviye katkıları olduğunu bildirmiştir. Raker, konvansiyonel tedaviye yeterince cevap vermeyen inatçı vakalarda, enzimlerin kullanılmasında cevabın daha hızlı geliştiğini belirtmiştir. Ayrıca, yangısal durumlarda enzimlerin iyileşme safhasını kısalttığı ve antibiyotik ajanlara daha iyi bir cevabın geliştiğinden bahsetmektedir. Charles W. Raker, Drury ve Bixler isimli araştırmacıların akut ve kronik sığır mastitislerinin tedavisinde proteolitik (pankreatik) enzimleri kullandıkları ve olumlu sonuçlara ulaştıklarını belirtmiştir (Raker 1957).

Veteriner pratikte proteolitik enzimlerin tedavide kullanımıyla ilgili yapılan çalışmalar, özellikle ruminantlarda mastitis ve endometritis üzerinde yoğunlaşmıştır. Mastitiste proteolitik enzim tedavisiyle ilgili yapılan çalışmalarda (Dunkel 1967; Prosandeev 1990; Zander 1997; Muhammad ve ark. 2000; Bake ve Illek 2006; Contreras ve ark. 2009) elde edilen olumlu sonuçlar dikkat çekmektedir. İneklerde endometritiste proteolitik enzim tedavisiyle ilgili çalışmalar da (Anyulis 1989; Marushka 1989; Shelyugina ve ark. 1989; Anyulis 1991; Biziuievichius ve Lukauskas 1998; Drillich ve ark. 2005) bulunmaktadır.

PROTEOLİTİK ENZİM TEDAVİSİNİN ÖNEMLİ ETKİLERİ

Antienflamatuar Etkileri

Hayvanlar üzerinde yapılan bazı çalışmalar proteazların pro-enflamatuar prostaglandinlerin sentezini inhibe ettiğini göstermiştir (Percival 1999). Ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, akut ve subakut yangılarda kimotripsin, tripsin ve serratiopeptidazın antienflamatuar etkinliğe sahip olduğu bildirilmiştir (Viswanatha Swamy ve Patil 2008). Proteolitik enzimler, plazma proteinlerini ve yangısal doku atıklarını yıkımlayarak, uzaklaştırılmasında ve fagositozunda yardımcı olarak şişkinliğin çözülmesini sağlarlar. Bunun sonucu olarak ağrının ortadan kalkmasıyla rahatlama ve basıncın hafiflemesiyle ödemde azalma meydana gelmektedir (Anonymus 2010; Bowler 2010).

Proteolitik enzimlerin analjezik etkisinin, bradikinin ve prostaglandin gibi yangı mediyatörleri sentezinin engellenmesiyle oluştuğu düşünülmektedir (Anonymus 2010; Bowler 2010). Başka bir teoriye göre ise, tripsin gibi peptidazlar antienflamatuar ajan olarak rol almasalar da yangısal süreci oldukça hızlandırarak, ağrı süresinin kısaltılmasını sağlamaktadırlar (Anonymus 2010). Yapılan çalışmalara göre enzim uygulanan hastalar plasebo gruplarıyla kıyaslandığında, enzim uygulanan gruplarda belirgin olarak ağrı ve enflamasyonda azalma ve daha hızlı bir iyileşme oranı görülmüştür (Percival 1999).

Proteolitik enzimler, günümüzde kullanılan en güçlü fibrinolitiklerdir (Bowler 2010). Fibrin pıhtıları oluştuğu zaman, organizmanın kendi fibrinolitik ajanı olan plazmin (endojen proteaz) fibrin bariyerini kırar. Fibrin bariyeri kırıldıktan sonra travmaya cevap veren karaciğer, akut faz reaktantları (APR) salarak plazmin ve fibrinolitik aktivitesini inhibe eder (Anonymus 2005). Plazmini aktive eden tripsin ve kimotripsin, fibrinolitik etkiye katkıda bulunup (Percival 1999; Anonymus 2005), dolaşımı düzenleyerek; ödem, hematoma ve ağrıyı giderirler. Fibrinolizisin oluşumuyla, atık doku döküntüleri ve nekrotik dokuların uzaklaştırılması amacıyla fagositoz teşvik edilir ve iyileşme süreci hızlandırılmış olur. Ayrıca, tripsin ve kimotripsin uygulaması sonucu APR seviyesinde artış şekillenmektedir. APR'ler, proteazlar (nötrofil elastaz ve cathepsinG) tarafından oluşturulan nekrotik hasarı inhibe ederler (Anonymus 2005).

Dokunun yangısal durumlarının azaltılmasında, fibrozisin minimize edilmesi esas teşkil eder ki bu durum ileri derecede yangı ve enfeksiyonların oluşmasını engeller (Kasseroller ve Wenning 2003).

İmmunomodülatör Etkileri

Proteolitik enzimler, enflamatuar cevabın başlıca regülatör ve modülatörleridir. Makrofaj ve doğal öldürücü hücrelerin etkilerini 7-10 kat arttırmak önemli eylemlerindendir (Anonymus 2010; Lenard 2010). Bununla birlikte, proteolitik enzimler tümör nekrozis faktör, interferon (IFN-g) ve interlökinler (IL-1,IL-6) gibi sitokinlerin üretimini indükler veya arttırlar (Weiner ve Piliro 1990).

Proteolitik enzimler, normal immun fonksiyonu inhibe edebilen patojenik immun kompleksleri indirgerler (Lenard 2010). İmmun kompleksler aşırı miktarda artınca, organizmanın ikinci savunma sistemi olan komplement sistemi uyarılmaktadır. Komplement sistemin uyarılmasıyla oto-immun bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Tripsin, papain ve diğer proteolitik enzimler mevcut patojenik immun kompleksleri parçalayabilmekte hatta, oluşumlarını ilk yerlerinde önleyerek (oto-antikörlerin oluşumunun engellenmesine yardımcı olarak) lenfatik

drenajlarını arttırmaktadırlar (Solorazano del Rio 1994; Lenard 2010).

Oto-immun hastalıkların oluşmasına neden olan oto-immun tepkiler, hücreler haberleşmeyi sağlayan sitokinlerin aşırı derecede artmasıyla oluşmaktadır. Akut enfeksiyonlarda, ihtiyaç fazlası sitokin miktarı geçici olarak şekillenmekte, kroniklerde ise süreklilik arz etmektedir (Desser 2007d). Sitokin miktarı dengesinin bozulması oto-immun bozuklukların yanı sıra immun sistem supresyonu ile de sonuçlanmaktadır (Collins 2008). Proteolitik enzimler, bir plazma glikoproteini olan α -2-makroglobulin (α 2M)'e bağlanarak α -2-makroglobulin+proteaz kompleksini oluştururlar (Desser 2007d; Collins 2008). α -2-makroglobulin, organizmayı enzimlerin fazlalığından korumaya yarayan bir anti-proteazdır. İhtiyaç fazlası enzimlere bağlanarak, metabolize edilip ortadan kaldırılmalarını sağlar (Desser 2007d). α -2-makroglobulin+proteaz kompleksi diğer glikoproteine ve proteinlere bağlandığı gibi sitokinlere de bağlanmasıyla α -2-makroglobulin+proteaz-sitokin kompleksi oluşur ve ihtiyaç fazlası sitokinler makrofajlar tarafından hızlı bir şekilde elimine edilirler (Desser 2007d; Collins 2008). α -2-makroglobulinin proteaz aktivasyonu, oksidatif stres ve yüksek ateş sonucu hasara uğramış proteinlerin eliminasyonunu da kolaylaştırmaktadır. Ayrıca, α -2-makroglobulin+proteaz kompleksi immun yanıtı modifiye etmekte ve makrofajların hareket ve kemotaksisini desteklemektedir (Collins 2008).

Proteolitik enzim tedavisi, T-hücre bağımlı hastalıkların tedavisinde umut verici bir yaklaşım olarak görülmektedir (Lehmann 1996; Anonymus 2008).

Reproduksiyon alanında, hayvansal ve bitkisel proteolitik enzim kombinasyonu tedavileri, immunolojik etkenli abortuslarda (Dittmar 2000; Nouza ve Madar 2001) ve erkek-dişi kısırlıklarında (Nouza ve Madar 2001), immunomodülasyon etkileri bakımından faydalı bulunmuştur.

Antibiyotik Etkinliğini Destekleyici Etkileri

Yapılan çalışmalar, proteolitik enzimlerin kendi aralarında kombine edildiğinde sinerjizma oluşturmasının yanı sıra; antibiyotikler, sulfonamidler, steroidler ve diğer ilaçlarla da kombine edildiklerinde aynı şekilde sinerjik etki gösterdiklerini kanıtlamıştır (Solorazano del Rio 1994). Proteolitik enzimler, antibiyotik tedavisiyle birlikte kullanıldıklarında, antibiyoterapinin etkinliğini destekleyici bir faktör olarak görülmüştür (Rusca ve Perone 1969; Sibilla 1970; Melis 1990; Dittmar ve Weissenbacher 1992; Dittmar ve ark. 1993; Sukhikh ve ark. 1997; Friedrich 2003).

Proteolitik enzimlerle birlikte uygulanan antimikrobiyal tedavi, bakteriyel kontaminasyon ve antibiyotik rezistansında azalma sağlamaktadır (Daniushchenkova ve ark. 1982). Stafilocok enfeksiyonlarında, proteolitik enzimlerin antibiyotik etkinliğini arttırabilirdiği belirlenmiştir (Mecikoglu ve ark. 2006).

Proteolitik Enzimlerin Yan Etkileri ve Güvenilirlikleri

Uzun süre boyunca kullanılan enzim takviyelerinin güvenliğinin detaylı olarak araştırılması sonucu, yüksek oranda güvenli oldukları ve toksik limitlerinin olmadığı görülmüştür. Sağlıklı dokular ve hücreler doğaları gereği enzimatik saldırıdan etkilenmemektedirler. Organizmada birçok enzim inhibitörü mevcuttur. Proteolitik enzimler sadece ölü veya enfekte dokuların olduğu yerlerde tedavi fonksiyonu gösteren selektif yapılardır. Yapılan araştırmalarda toksik doz belirlenemediğinden, enzimlerle alakalı LD₅₀ de bulunamamıştır. İnsan dozu uygulanan

ratlarda herhangi bir rahatsızlık görülmemiştir (Anonymus 2010). Proteolitik enzimlerin gebelikte kullanımı güvenli olup, şimdiye kadar herhangi bir teratojenik etkileri bildirilmemiştir (Bowler 2010).

İNEKLERDE MASTİTİS TEDAVİSİNDE PROTEOLİTİK ENZİM KULLANIMI

Sığırlarda mastitislerin tedavisinde proteolitik enzimlerin kullanılmasıyla ilgili yeterli sayıda bilimsel çalışma olmamasına rağmen, yapılan araştırmalarda elde edilen olumlu sonuçlar, mastitis tedavisinin etkinliğinin arttırılması açısından umut verici niteliktedir.

Proteolitik enzimler, mastitis sırasında meme içinde şekillenen protein yapısındaki döküntülerin, kan pıhtısı ve fibrinlerin yıkılıp inceltmesi amacıyla kullanılabilir. Böylece antibiyotiklerin meme içi etkinliği artmaktadır. Meme dokusuna zarar vermeyen proteolitik enzimlerden tripsin, streptodornaz ve streptokinaz meme içi olarak, hyaluronidaz meme dışına pomat şeklinde kullanılmaktadır (Alaçam 1991; Devci ve ark. 1994).

Bake ve Illek (2006) 'in yaptıkları araştırmada; proteolitik enzimler antibiyotiklerle kombine şekilde lokal uygulandıklarında, antibiyotik dozunun azaltılmasına imkan tanımakta, tek başına yüksek dozda antibiyotik kullanımıyla aynı etkiyi sağlamakta ve enflamasyon şiddetinde belirgin bir azalma meydana getirmektedir.

Zander (1997) yaptığı çalışmada sadece proteolitik enzimler içeren meme tüpünü uygulamış, subklinik, akut ve kronik enfeksiyon gruplarında somatik hücre sayılarının uygulama sonrası dikkate değer düzeyde düştüğünü ve yüksek iyileşme oranlarının şekillendiğini tespit etmiştir.

Prosandeev (1990) mastitisli 166 inek üzerinde yapmış olduğu çalışmada, enzim ve antibiyotigi enjektabl formda kombine olarak kullanmıştır. Enjektabl tripsin uygulaması, enflamasyon sürecinin ilk fazında tedavinin etkinliğini arttırmıştır.

Dunkel (1967) kronik streptokok ve stafilocok mastitisli 320 meme lobuna, sulfadimidin+framisetin+streptomisin (SFS) kombinasyonu ve penisilin antibiyotik tedavisine, enzim karışımı ekleyerek ve enzimsiz olarak uygulayarak karşılaştırma yapmıştır. Enzim karışımı eklenen SFS ve penisilin gruplarında terapötik etkinin arttığı gözlenmiştir.

Muhammad ve arkadaşları (2000), fibröz mastitisli buffalolar ve ineklerin tedavisinde Tenazyme® ticari isimli antibiyotik+proteolitik enzim kombine meme tüpünü intramammar uygulamışlardır. Tedavi sonrası örneklerde bakteriyel üreme olmamış, fibrozis kaybolmuş ve süt veriminin yeniden normale dönmesiyle karakterize iyileşme şekillenmiştir.

Yapılan *in vitro* mikrobiyolojik çalışmalarda; tripsin, kimotripsin ve papainin, *Staphylococcus* spp. (Krüger ve ark. 1999), *Streptococcus* spp. (Krüger ve ark. 1999), *E.coli* (Krüger ve ark. 1999; Herzog 2005) ve *Salmonella* (Herzog 2005) bakterilerinin üremelerini inhibe ettikleri ve bu mikroorganizmaları öldürdükleri belirlenmiştir (Krüger ve ark. 1999; Herzog 2005).

Taşal ve arkadaşları (2008) yaptıkları çalışmada, saha şartlarında, laktasyondaki akut mastitisli ineklere meme içi uygulanan sefapirin+tripsin+kimotripsin kombinasyonunun (Sefapir®) tedavideki klinik etkinliğini %98.5 olarak tespit etmişlerdir.

Proteolitik enzimlerin (tripsin, kimotripsin, papain) meme içine uygulanmasını takiben iki saat içinde mikrobiyal kolonilerde dağılma meydana gelmektedir. Özellikle iyi

adhezyon yeteneğine sahip bakteriler (örn: *Staph. aureus*) saldırıya uğrayarak, yapışma özellikleri enzimler tarafından ortadan kaldırılmaktadır (Zaremba 2002).

Subklinik, akut ve kronik meme yangılarında, eş zamanlı antibiyotik ve proteolitik enzim uygulamalarının, tek başına antibiyotik uygulamasına göre daha yüksek oranda bakteriyolojik iyileşme sağladığı tespit edilmiştir. Normal mastitis tedavisinde dirençli patojen olarak bilinen *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida parapsilosis*, tekrarlanan enzim tedavisi yardımıyla iyileştirilebilmektedir. Bu nedenle, proteolitik enzimlerin daha önce dirençli etiyolojiye sahip mastitis vakalarında da faydalı olabileceği bildirilmiştir (Zaremba 2002).

Mastitiste hastalığa direnç sürecinde immunmodülasyon, konakçı immünesinin istenen seviyeye göre ayarlanmasını sağlamaktadır (Sordillo ve Streicher 2002). Mastitise neden olan geniş bakteri çeşitliliği ve patojenitesi düşünüldüğünde, proteolitik enzimler etkili immunomodulatorler olarak görülmektedirler. Parenteral ve lokal uygulanan proteolitik enzim preparatlarıyla, mastitiste immun sistemin aktivasyonu veya reaktivasyonunun sağlanmasının yanı sıra, proteolitik enzimler immunmodülasyon etkiler göstermektedirler. Proteolitik enzimler hücresel yapışma moleküllerini etkileyerek, çeşitli immun reaksiyonları düzenlerler. Makrofajların fagositik aktivitesinde artış gözlenmektedir. Ayrıca zararlı sitokin fazlalığını minimize etmektedirler (Zaremba 2002).

Mastitis tedavisinde, proteolitik enzimler imm veya parenteral uygulandıklarında, organizmada bulunan anti-proteazların varlığı nedeniyle, canlı dokulara zarar vermemektedirler (Zaremba 2002).

2010-2012 tarihleri arasında, akut mastitisli 79 ineğe ait, 120 meme lobunda yapılan araştırmada (Aytekin 2012), ineklerde akut mastitis tedavisinde meme içi kullanılan tripsin ve kimotripsin proteolitik enzimlerinin (pankreatik proteazlar) antibiyotiklerle kombine edilmesinin tedavi etkinliğini arttırdığı sonucuna varılmıştır.

Sonuç olarak; proteolitik enzimlerin olumlu etkileriyle tedaviye destek amacıyla kullanılacak bir seçenek olduğu ve destek tedavisinin gittikçe belirginleşen önemi dikkate alındığında bu alanda daha detaylı araştırmaların yapılarak, tedaviye olumlu etkileri olan proteolitik enzimlerin sığır mastitislerinin tedavisindeki faydasının göz ardı edilmemesi gerektiği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Alaçam E (1991).** Sığır Hastalıkları (Meme Hastalıkları Bölümü), Tümvet Yayınları, İstanbul, Türkiye, 577-584.
- Anonymus (2005).** Chymoral Forte data-sheet, Elder Pharmaceuticals Ltd, Mumbai, India. www.elderindia.com Erişim tarihi: 22 Ekim 2014.
- Anonymus (2008).** Why we need systemic enzymes. WAM Essentials, Inc. http://www.zymessence.com/why_systemic_enzymes.html Erişim tarihi: 1 Eylül 2013.
- Anonymus (2010).** Applications - Enzyme therapy. Advanced Enzymes Technologies Ltd, India. <http://www.enzymeindia.com/Applications-EnzymeTherapy.php> Erişim tarihi: 25 Kasım 2014.
- Anyulis E (1989).** Proteolytic enzymes in treatment of endometritis in cows. LVA Mokslo Darbai, Veterinariya/Proceedings of the Lithuanian Academy of Veterinary Medicine, *Vet Med*, 19, 117-122.
- Anyulis E (1991).** Antimicrobial preparations and proteolytic enzymes in treatment of endometritis in cows. LVA Mokslo Darbai, Veterinariya/Proceedings of the Lithuanian Academy of Veterinary Medicine, *Vet Med*, 20, 3-7.
- Aytekin Ö (2012).** Laktasyondaki akut mastitisli süt ineklerinde meme içi uygulanan 1. kuşak sefalosporin ve proteolitik enzim kombinasyonunun tedavideki etkinliği. Yüzyüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Van, Türkiye.

- Bake J, Illek J (2006).** Plasma ceruloplasmin and fibrinogen during enzyme therapy of mastitis in dairy cows. *Acta Vet Brno*, 75, 241-246.
- Biziulevichius GA, Lukauskas K (1998).** In vivo studies on lysosubtilin. 2. Efficacy for treatment of post-partum endometritis in cows. *Vet Res*, 29(1), 47-58.
- Bowler J (2010).** Precious enzymes. Precious Organics, Australia. http://www.preciousorganics.com.au/index_files/Page1024.htm Erişim tarihi: 30 Aralık 2013.
- Collins JJ (2008).** Systemic enzyme support. Poster presentation. <http://www.systemicenzymesupport.org/poster/ses.pdf> Erişim tarihi: 11 Ağustos 2014.
- Contreras A, Paape MJ, Miller RH, Corrales JC, Luengo C, Sánchez A (2009).** Effect of bromelain on milk yield, milk composition and mammary health in dairy goats. *Trop Anim Health Prod*. 41(4), 493-498.
- Daniushchenkova NM, Berenshtein TF, Kardovich GA, But-Gusdaim AM (1982).** Efficacy of antibiotics and proteolytic enzymes in the treatment of patients with chronic osteomyelitis. *Antibiotiki*, 27(3), 196-199.
- Dessarzin D, Meylan D, Volet B (1961).** Treatment of abscessing mastitis by puncture and drainage by means of a polyethylene sound with general and local antibiotic therapy associated with proteolytic enzymes. Analysis of current therapeutic trends. *Ther Umsch*, July; 18, 259-266.
- Desser L (2007a).** Description of some enzymes used in therapy. http://www.enzymetherapy.at/cms/?page_id=8 Erişim tarihi: 11 Aralık 2014.
- Desser L (2007b).** Diseases in which enzyme therapy is beneficial. <http://www.enzymetherapy.at/cms/?cat=32&lang=en> Erişim tarihi: 11 Aralık 2014.
- Desser L (2007c).** History of enzyme therapy. http://www.enzymetherapy.at/cms/?page_id=9 Erişim tarihi: 11 Aralık 2014.
- Desser L (2007d).** How does enzyme therapy work? http://www.enzymetherapy.at/cms/?page_id=7 Erişim tarihi: 11 Aralık 2014.
- Desser L (2007e).** What are enzymes? http://www.enzymetherapy.at/cms/?page_id=4?&lang=en Erişim tarihi: 11 Aralık 2014.
- Desser L (2007f).** Why enzyme therapy? <http://www.enzymetherapy.at/cms/?&lang=en> Erişim tarihi: 11 Aralık 2014.
- Deveci H, Apaydın AM, Kalkan C, Öcal H (1994).** Evcil Hayvanlarda Meme Hastalıkları. Fırat Üniversitesi Basımevi, Elazığ, Türkiye.
- Dittmar FW (2000).** Enzyme therapy - A method of immune therapy for immunologically caused habitual abortions. *Forum Immunologie*, No. 3/2000, II - VIII.
- Dittmar FW, Weissenbacher ER (1992).** Therapy of adnexitis - Enhancement of the basic antibiotic therapy with hydrolytic enzymes. *Int J Exp Clin Chemother*, 5, 2, 73-81.
- Dittmar FW, Weissenbacher ER, Vogel S (1993).** Hydrolytic enzymes as support for the basic therapy with antibiotics in the treatment of adnexitis. *Arch Gynecol Obstet*, 254 (1-4), 631-633.
- Drillich M, Raab D, Wittke M, Heuwieser W (2005).** Treatment of chronic endometritis in dairy cows with an intrauterine application of enzymes. A field trial. *Theriogenology*, 63(7), 1811-1823.
- Dunkel R (1967).** Treatment of bovine mastitis with antibiotics and sulphonamides together with proteolytic enzymes and vitamin A. Proceedings. 4th Int. Meet. Wld Ass. Buiatrics, Zurich 1966, 520-525.
- Ermiglia G (1959).** The effectiveness of enzyme therapy (Trypsin and Chymotrypsin) in mastitis (acute and chronic). *Riv Ostet Ginecol Prat*, 41, 890-892.
- Friedrich F (2003).** Wobenzym® in the treatment of chronic pelvic inflammatory disease. Pharmascrypt Report, Kathi-Kobus-Steig 1, W-8190. Study Number: MU-89210, Germany.
- Gostishchev VK, Tambiev EI (1978).** Proteolytic enzymes in complex treatment of mastitis. *Sov Med*, 5, 80-83.
- Grigorian AV, Gostishchev VK, Kostikov BA, Shkliarov SK (1974).** Proteolytic enzymes in the treatment and prevention of suppurative mastitis. *Vestn Khir Im I Grek*, 112(1), 23-27.
- Herzog P (2005).** Effects of the enzyme combination Trypsin / Chymotrypsin / Papain on enterohaemolytic *E. coli* and *Salmonella* strains. [Wirkung der Enzymkombination Trypsin-Chymotrypsin-Papain auf enterohämolyisierende *E. coli* und *Salmonellen*]. Dissertation PhD. Institut of Bakteriologie und Mykologie at Veterinärmedizinischer Fakultät der Universität Leipzig, Germany.
- Kasseroller R, Wenning HG (2003).** Efficacy and tolerability of proteolytic enzymes as an anti-inflammatory agent in lymphoedema after axillary dissection due to mammary cancer. *European J Lymp*, 10 (37-38), 18-26.
- Khanin AG, Tambiev EI (1979).** Wound infection of the breast and enzyme therapy. *Klin Med (Mosk)*, 57(5), 56-61.
- Krüger M, ThiHien T, Zaremba W, Penka L (1999).** Untersuchungen zum einfluss der proteolytischen enzyme Trypsin, Chymotrypsin und Papain auf euterpathogene mikroorganismen. *Tierärztl Prax*, 27, 207-215.

- Lehmann PV (1996)**. Immunomodulation by proteolytic enzymes. *Nephrol Dial Transplant*, 11, Editorial Comments, 953-955.
- Lenard L (2010)**. Systemic multi-enzyme therapy. Unizyme: Enzyme research breakthrough - part I. <http://www.vrp.com/physical-performance/unizyme-enzyme-research-breakthrough-part-i-systemic-multi-enzyme-therapy> Erişim tarihi: 10 Ekim 2013.
- Leppanen MK (1961)**. Treatment of suppurative mastitis by aspiration and with Streptokinase-Streptodornase and antibiotics. *Ann Chir Gynaecol Fenn*, 50, 272-278.
- Marushka R (1989)**. Treatment of cow uterus with enzyme and antimicrobial preparations, LVA Mokslo Darbai, Veterinariya/Proceedings of the Lithuanian Academy of Veterinary Medicine, *Vet Med*. 19, 153.
- Mecikoglu M, Saygi B, Yildirim Y, Karadag-Saygi E, Ramadan SS, Esemeli T (2006)**. The effect of proteolytic enzyme Serratiopeptidase in the treatment of experimental implant-related infection. *J Bone Joint Surgery (American)*, 88, 1208-1214.
- Melis GB (1990)**. Clinical experience with Methoxybutopate vs. Bromelain in the treatment of female pelvic inflammation. *Minerva Ginecol*, 42 (7-8), 309-312.
- Muhammad G, Saqib M, Athar M (2000)**. Evaluation of Tenazyme™ for the treatment of mastitis in buffaloes and a cow. *Pakistan Vet J*, 20 (4), 212.
- Nouza K, Madar J (2001)**. Immunomodulation in the treatment of reproduction disturbances. *Am J Repr Immun*, 46 (1), 106.
- Percival M (1999)**. Understanding the natural management of pain and inflammation. Advanced Nutrition Publications Inc, *Clin Nutrition Insights*, NUT030 Rev. 4/99.
- Prosandeev V (1990)**. Mastitis: Current problems and methods of treatment. *Sel'skoe Khozyaistvo Uzbekistana*, 2, 17-18.
- Raker CW (1957)**. Use of enzymes in veterinary medicine. *Ann NY Acad Sci*, 68(1), 144-150.
- Rusca F, Perone N (1969)**. Combination of tetracycline and pancreatic proteolytic enzymes in the therapy of gynecologic inflammation [Associations de la tetracycline et d'enzymes proteolytiques pancreatiques dans la therapie des phlogoses gynecologiques]. *Praxis*, 58 (17), 556-559.
- Scheindlin S (2007)**. Clinical enzymology: Enzymes as medicine. *Mol Interv*, 7, 4-8.
- Shelyugina ZG, Avdeenko VS, Gonchar AM, Salganik RI, Pankov BG, Goncharov VP, Stradina Yu N (1989)**. Immobilized proteolytic enzymes for post-partum purulent-catarrhal endometritis in cows, *Veterinariya (Moscow)*, 6, 41-42.
- Sibilla P (1970)**. Proteolytic enzymes with a factor favouring the efficacy of antibiotic therapy in osteomyelitis. *Arch Orthop*, 83(1), 85-90.
- Solorazano del Rio HE (1994)**. Systemic enzyme therapy-supplement to the art of getting well. Programa de Estudios de Medicinas Alternativas, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, Jal. Mexico.
- Storozhuk VT, Babich MM (1986)**. Use of papain and ultrasound in the combined treatment of gangrenous lactation mastitis. *Klin Khir*, (1), 47-48.
- Storozhuk VT, Shamolina II, Lobova AB (1985)**. Immobilized papain in the treatment of acute destructive lactation mastitis. *Vestn Khir Im I Grek*, 135(10), 42-46.
- Storozhuk VT, Sutiuseva RR, Aikenova ZZ (1984)**. Treatment of acute lactational mastitis with proteolytic enzymes of plant origin. *Klin Khir*, (1), 73-74.
- Sukhikh GT, Loginova NS, Faizullin LZ, Zdanov AV, Malinina EV, Bozedomov VA (1997)**. The use of WOBENZYM® to facilitate interferon synthesis in the treatment of chronic urogenital Chlamydia. *Int J Immunotherapy*, 8 (3-4), 131-133.
- Tambiev EI (1977)**. Enzymatic therapy in the overall treatment of the initial forms of mastitis. *Vopr Okhr Materin Det*, 22 (12), 66-67.
- Taşal İ, Aytekin Ö, Kurucaoğlu A (2008)**. Laktasyondaki akut mastitisi ineklerde Sefapirin-Tripsin-Kimotripsin kombinasyonu (Sefapir) meme içi tedavinin etkinliği. Poster Sunum. 3. Türk Veteriner Jinekoloji Kongresi (Uluslararası katılımlı), 23-26 Ekim, Antalya, Türkiye.
- Viswanatha Swamy A, Patil PA (2008)**. Effect of some clinically used proteolytic enzymes on inflammation in rats. *Indian J Pharm Sci*, 70, 114-117.
- Weiner M, Piliero SJ (1990)**. Nonsteroidal anti-inflammatory agents. *Ann Rev Pharmacol* 10, 171-198.
- Zander H (1997)**. Klinische untersuchungen über die wirksamkeit von enzymen bzw. Enzym-/antibiotika kombinationen bei der therapie von mastitiden unterschiedlicher genese und manifestation [Examinations about the effectiveness of enzymes and enzyme/antibiotic-combinations in the therapy of different kind of bovine mastitis]. Dissertation, Berlin: Free University of Berlin, Faculty of Veterinary Medicine, Germany.
- Zaremba W (2002)**. The mode of effect of proteolytic enzymes applied therapeutically in animals. Veyx-Pharma GmbH Publication, Germany.