



T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**2,4-DİNİTROFLOROBENZEN İLE ATOPIK DERMATİT
BENZERİ LEZYON OLUŞTURULAN CD1 FARELERİNDE
KLİNOPTİLOLİTE VE TOPİKAL TAKROLİMUS
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Veteriner Hekim Büşra GÜLBENLİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**Danışman
Prof. Dr. Metin Koray ALBAY**

BURDUR-2021

T.C.
BURDUR MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**2,4-DİNİTROFLOROBENZEN İLE ATOPIK DERMATİT
BENZERİ LEZYON OLUŞTURULAN CD1 FARELERİNDE
KLİNOPTİLOLİTE VE TOPİKAL TAKROLİMUS
ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Büşra GÜLBENLİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

Danışman
Prof. Dr. Metin Koray ALBAY

Bu Araştırma ‘‘Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü’’ tarafından 0668-YL-20 proje numarası ile desteklenmiştir.

BURDUR-2021

TEŞEKKÜR

Bu çalışma süresince yardımlarından ve deneyimlerinden yararlandığım yüksek lisans tez danışmanım Prof. Dr. Metin Koray ALBAY'a, önerileri ve değerlendirmeleri ile destek ve yardımlarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Volkan İPEK'e, karşılaştığım sorunlarda bana destek olduğu için Doç. Dr. Ramazan YILDIZ'a, yardımlarından dolayı Prof. Dr. Özlem ÖZMEN'e şükranlarımı sunarım. Çalışmamın her aşamasında benim için emek ve zamanlarını ayıran sevgili meslektaşlarım Vet. Hek. Merve ALTINDAL ve Vet. Hek. Büşra Nur YILDIZ'a teşekkürü bir borç bilirim. Tez konumu seçmemde bana yardımcı olan değerli meslektaşım Vet. Hek. Selçuk AKDENİZ'e, acil zamanlarda yardıma koşan değerli meslektaşlarım Arş. Gör. Mehmet Murat DOĞUSAN, Arş. Gör. Mehmet YILDIZ ve Öğr. Gör. Yasemin BEYDİLLİ'ye, çalışmanın sonlandırılmasında büyük yardımları dokunan Öğr. Gör. Leyla Elif AYÖZGER ve Vet. Hek. Adem MİLLETSEVER'e, verilerimin istatistiğinde yardımını esirgemeyen Öğr. Gör. Merve KILINÇ'a teşekkür ederim. Yüksek Lisans öğrenimim sırasında desteklerini bir an olsun benden esirgemeyen sevgili aileme ve Vet. Hek. Ozan TÜRKOĞLU'na şükranlarımı sunarım.

ETİK BEYAN

“2,4-dinitroflorobenzen ile atopik dermatit benzeri lezyon oluşturulan CD1 farelerinde klinoptilolite ve topikal takrolimus etkinliğinin değerlendirilmesi” başlıklı tez çalışmamdaki bütn bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, yararlandığım kaynaklara bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu, tezimin kaynak gösterilen durumlar dışında zgn olduğunu, Prof. Dr. Metin Koray ALBAY danışmanlığında Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Klavuzuna göre yazıldığını beyan ederim.

Büşra GÜLBENLİ

Tarih: 13/08/2021

İmza:

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI	i
KABUL ve ONAY SAYFASI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ETİK BEYAN	iv
İÇİNDEKİLER	v
ŞEKİLLER	vii
TABLolar	vii
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
ÖZET	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Köpeklerde Atopik Dermatit	2
2.1.1. Etiyoloji	3
2.1.2. Epidemiyoloji	4
2.1.3. Patogenez	4
2.1.4. Klinik Görünüm	11
2.1.5. Tanı	12
2.1.6. Sağaltım	22
2.1.7. Korunma	28
2.2. Atopik Dermatitte Kemokinler ve Sitokinler	28
2.2.1. Timus Aktivasyonu ile Düzenlenen Kemokin (TARC)	29
2.2.2. Timik Stromal Lenfopoietin (TSLP)	29
2.3. Zeolit (Klinoptilolite)	30
2.4. Fare Modelleri	31
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1. Hayvan Materyali	34
3.2. Grupların Oluşturulması	34
3.3. Farelerin Hazırlanması ve Atopik Dermatit Benzeri Lezyonların Oluşturulması	35
3.4. Klinik Skorlanması	36
3.5. Kan Örneğinin Alınması ve Serum TARC Düzeyinin Belirlenmesi	36
3.6. Histopatolojik ve İmmunohistokimyasal İnceleme	37
3.7. İstatistiksel Değerlendirme	39

4. BULGULAR	40
4.1. Farelerin Klinik Skorlaması	40
4.2. Serum Timus Aktivasyonu ile Düzenlenen Kemokin (TARC) düzeyleri	46
4.3. Histopatolojik, Histokimyasal ve İmmunohistokimyasal Bulgular	47
5. TARTIŞMA	50
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	59
KAYNAKLAR	60
ÖZGEÇMİŞ	



ŞEKİLLER

Şekil 3.1. Gruplarda 5. haftanın sonunda oluşan atopik dermatit benzeri lezyonlar	36
Şekil 3.2. Farelerden intrakardiyal kan alınması	37
Şekil 4.1. DNFB uygulanan gruptaki farelerin klinik skorlaması	42
Şekil 4.2. Takrolimus uygulanan gruptaki farelerin klinik skorlaması	44
Şekil 4.3. Klinotilolite uygulanan gruptaki farelerin klinik skorlaması	45
Şekil 4.4. Gruplar arasında dermal lezyonların karşılaştırmalı görünüşleri	49



TABLÖLAR

Tablo 2.1. Williemse Tanı Kriterleri	14
Tablo 2.2. Alerjene özgü IgE'yi tespit etmede kullanılan testlerin karşılaştırılması	21
Tablo 4.1. Gruplardaki farelerin haftalık ortalama klinik skorlaması	41
Tablo 4.2. Gruplardaki farelerin serum TARC düzeyleri	46
Tablo 4.3. Gruplardaki farelerin histopatolojik ve immunohistokimyasal bulguları	48



SİMGELER ve KISALTMALAR

AD	Atopik Dermatitis
ASIT	Alerjene Özgü İmmunoterapi
CCR4	CC Kemokin Reseptör 4
Cys A	Siklosporin A
DC	Dendritik Hücre
DHA	Dokosaheksaenoik Asit
DNCB	2,4-dinitroklorobenzen
DNFB	2,4-dinitroflorobenzen
EPA	Eikosapentaenoik Asit
FLG	Filaggrin
H&E	Hematoksilen Eozin
HCA	Hidrokortizon Aseponat
IDT	İntradermal Test
IFNγ	İnterferon gama
IG	İmmunglobulin
IL	İnterlökin
ILIT	İntralenfatik İmmunoterapi
KC	Keratinosit
L	Litre
LT	Lökotrien
MHC	Majör Histokompatibilite Kompleks
ng	Nanogram
nm	Nanometre
PBS	Fosfat Tamponlu Salin
PGE	Prostaglandin E
PO	Oral kullanım
SAG	Süperantijen
SCIT	Subkutan İmmunoterapi
SLIT	Dilaltı İmmunoterapi
TARC	Timus Aktivasyonu ile Düzenlenen Kemokin
TCI	Takrolimus
TEWL	Transepidermal Su Kaybı
TGFβ	Dönüştürücü Büyüme Faktörü (beta)
Th	Yardımcı T lenfosit
TNBS	Trinitrobenzensülfonik asit
TNFα	Tümör Nekroz Faktörü (alfa)
TPA	12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate
Treg	Düzenleyici T lenfosit
TSLP	Timik Stromal Lenfopoetin
μL	Mikrolitre
μm	Mikrometre

ÖZET

2,4-dinitroflorobenzen ile Atopik Dermatit Benzeri Lezyon Oluşturulan CD1 Farelerinde Klinoptilolite ve Topikal Takrolimus Etkinliğinin Değerlendirilmesi

Atopik dermatit (AD), çok faktörlü bir hastalık sürecidir. "Çevresel alerjenlere karşı immünoglobulin (Ig) E üretimi ile ilişkili, genetik olarak yatkınlık gösteren, inflamatuvar ve kaşıntılı alerjik deri hastalığı" olarak tanımlanmaktadır. İndüklenmiş modeller, AD'nin tedavisi için terapötik ajanların değerlendirilmesinde önemli görülmektedir. 2,4-dinitroflorobenzen (DNFB) ile oluşturulan AD modelinde klinoptilolite ile takrolimusun atopik dermatit lezyonları üzerindeki etkilerinin ortaya koymak amaçlandı. Bu amaçla klinoptilolite ve takrolimusun klinik skor, serum TARC ile histopatolojik ve immunohistokimyasal değerlendirmeleri yapıldı. Farelerde, aseton içinde çözdürülmüş 2,4-dinitroflorobenzenin tekrarlanan topikal uygulamasının, deride egzematöz değişiklikleri indüklediği ve kalıcı kaşınmaya neden olduğu bildirilmiştir. Çalışmamızda farelere 5 hafta boyunca haftada 2 kez %0,15 DNFB uygulandı. Sonraki 4 hafta boyunca inflamasyonu korumak için haftada 1 kez %0,15 DNFB uygulandı. Bu 4 hafta boyunca topikal takrolimus krem (%0,1) ve topikal klinoptilolite toz ile tedavi edildi. Klinoptilolite tedavisinin gerek klinik skorların ve gerekse histopatolojik değerlerin normalizasyonunda etkin bulunurken serum TARC seviyelerinin ise değişken olduğu tespit edildi. Sonuç olarak klinoptilolitin antiinflamatuvar etkisi takrolimus ile benzerlik göstermiştir.

Anahtar kelimeler: 2,4-dinitroflorobenzen, Atopik dermatit, CD1 fare, Klinoptilolite, Takrolimus

ABSTRACT

Evaluation of Clinoptilolite and Topical Tacrolimus Efficacy in CD1 Mice with 2,4-Dinitrofluorobenzene Induced Atopic Dermatitis-like Lesion

Atopic dermatitis (AD) is a multifactorial disease process. It is defined as "a genetically predisposed inflammatory and itchy allergic skin disease associated with the production of immunoglobulin (Ig) E against environmental allergens". Induced models are considered important in the evaluation of therapeutic agents for the treatment of AD. It was aimed to reveal the effects of clinoptilolite and tacrolimus on atopic dermatitis lesions in the AD model created with DNFB. For this purpose, clinical score, serum TARC and histopathological and immunohistochemical evaluations of clinoptilolite and tacrolimus were performed. In mice, repeated topical application of 2,4-dinitrofluorobenzene dissolved in acetone has been reported to induce eczematous changes in the skin and cause persistent itching. In our study, mice were administered 0.15% 2,4-dinitrofluorobenzene (DNFB) twice a week for 5 weeks. For the next 4 weeks, 0.15% DNFB was applied once a week to maintain inflammation. This was treated with topical tacrolimus cream (0.1%) and topical clinoptilolite powder for 4 weeks. While clinoptilolite treatment was found to be effective in the normalization of both clinical scores and histopathological values, serum TARC levels were found to be variable. As a result, the anti-inflammatory effect of clinoptilolite was similar to that of tacrolimus.

Key words: 2,4-dinitrofluorobenzene, Atopic dermatitis, CD1 mouse, Clinoptilolite, Tacrolimus

1. GİRİŞ

Köpek atopik dermatiti, çok faktörlü bir hastalık sürecidir. "Çevresel alerjenlere karşı immünoglobulin (Ig) E üretimi ile ilişkili, genetik olarak yatkınlık gösteren inflamatuvar ve kaşıntılı alerjik deri hastalığı" olarak tanımlanmaktadır. Köpeklerde AD prevalansının yaklaşık %10-15 olduğu düşünülmektedir. Patogenez tam olarak anlaşılmamış olsada, genetik anormallikler, kutanöz inflamasyonla değişen bağışıklık sistemi ve deri bariyer kusuru olabileceği düşünülmektedir (Gedon ve Mueller, 2018).

Kaşınmanın azaltılması, AD hastalarının yaşam kalitesini iyileştirmek için en etkili terapötik stratejidir. Uzun yıllar boyunca AD'nin tedavisinde lokal veya sistemik kortikosteroidler hakim olmuştur. Bu steroidler, AD'nin iltihaplanmasını azaltmada etkili oldukları için hala ilk tedavi seçeneği olarak akla gelmektedir. Ancak bu steroidlerin yan etkileri sıklıkla gözlenmektedir (Choi ve ark., 2013a). Bu nedenle, AD için yeni ve etkili tedavilerin geliştirilmesine büyük ihtiyaç vardır.

Hayvan modelleri atopik dermatitin etiyopatogenezi üzerine yapılan araştırmalar için yararlı olmaktadır. Hayvan modelleri ile yapılan çalışmalar, immünolojik değişikliklerin (Th2 bağışıklık tepkileri ve artan serum IgE seviyeleri) deri lezyonları ile ilişkili olduğunu göstermektedir. İndüklenmiş modeller, AD'nin tedavisi için terapötik ajanların değerlendirilmesinde önemli olduğu görülmüştür (Shiohara ve ark, 2004). Farelerde, aseton içinde çözdürülmüş %0.15 konsantrasyonda 2,4-dinitroflüorobenzenin tekrarlanan topikal uygulamasının, nötrofil ve eozinofillerde belirgin infiltrasyona ve epidermisin hipertrofisi dahil olmak üzere deride egzematöz değişiklikleri indüklediği ve kalıcı kaşınmaya neden olduğu bildirilmiştir (Yamashita ve ark., 2010).

Takrolimus T yardımcı hücrelerin aktivitesini inhibe etmekte ve IL-2, -3, -4 gibi proinflamatuvar sitokinlerin üretimini engelleyerek antiinflamatuvar etki göstermektedir. Hayvan modellerinde takrolimus merhemini, alerjik kontakt dermatit, akut tahriş edici dermatit ve gecikmiş tip aşırı duyarlılığın neden olduğu inflamatuvar deri reaksiyonlarını inhibe ettiği öne sürülmüştür (Bekersky ve ark., 2001).

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Köpeklerde Atopik Dermatitis

Atopi, genetik yatkınlık ve çevresel alerjenlere karşı Immunglobulin E (IgE) geliştirme eğilimidir. Tanımlayıcı olarak kullanıldığında, atopik rinit, atopik astım veya atopik dermatit gibi çeşitli organ hastalığını niteleyebilen genel bir terimdir. (DeBoer, 2014).

Köpeklerde atopik dermatit, genetik yatkınlık gösteren (Gonzales ve ark., 2013), genellikle çevresel veya gıda alerjenlerine karşı (Nuttall ve ark., 2019) IgE antikorları geliştiren (Halliwell, 2006), karmaşık patogenezi olan (Prelaud ve Laprais, 2020) kronik yangısal bir deri hastalığıdır (Kapun ve ark., 2014). Deri bariyer fonksiyonundaki anormallikler ile (Nuttall ve ark., 2019) deri lenfositlerin dermise infiltrasyonu sonucu (Murray ve ark., 2015), şiddetli pruritus ve karın ventralinde, koltuk altlarında veya aksillar bölgede eritem, tüy döküntüsü, hiperpigmentasyon ve likenifikasyon gibi deri lezyonları görülmektedir (Maeda ve ark., 2005).

Temas duyarlılığı olarak da bilinen alerjik kontakt dermatit, lenf düğümlerinde hazırlanan ve reaksiyonun afferent ve efferent fazı sırasında deride toplanan haptenspesifik T hücrelerinin aracılık ettiği gecikmiş tip bir aşırı duyarlılık reaksiyonu olarak bilinmektedir. Deriyle teması olan haptenler, olgunlaşmamış deri dendritik hücreleri tarafından alınarak lenf düğümlerinin parakortikal alanına göç etmektedir. Burada haptensprotein komplekslerinin majör histo-uyumluluk kompleks molekülleri üzerinde sunumu sonucu haptenspesifik T hücrelerini hazırlamaktadır. Aynı haptensuygulanmasının tekrarlanması, deride keratinosit apoptozunun indüksiyonu ile inflamasyonu başlatarak, derideki efektör T hücrelerinin hızlı bir şekilde toplanmasına yol açmaktadır (Bonneville ve ark., 2007).

2.1.1. Etiyoloji

Köpek atopik dermatitin etiolojisinde deri bariyerinde görülen anormallikler, bağışıklık sistemindeki düzensizlikler, genetik kusurlar ve çevresel faktörler önemli bir rol oynar (Lloyd, 2014).

Derinin ve gastrointestinal sistemin mikrobiyotasındaki biyoçeşitlilik kaybı; köpeklerde, farelerde ve insanlarda kronik inflamatuvar ve alerjik hastalıkların gelişimi ile bağlantılıdır (Nuttall ve ark., 2019). Atopik dermatitli köpeklerde artmış stafilokok kolonizasyonu (Marsella ve Girolomoni, 2009) gözlenirken kutanöz mikrobiyotada biyolojik çeşitlilik azalmıştır. Düşük dereceli kolonizasyon, patojenik bakterileri arttırıp, deride zararsız bakterileri azaltabilir (Nuttall ve ark., 2019). Deri bariyerindeki primer anormalliklerin alerjik duyarlılaşmayı arttırarak bariyer fonksiyonunun kötüleşmesine ve derinin daha duyarlı hale gelmesine yol açacağı düşünülmektedir (Marsella ve Girolomoni, 2009).

Atopik dermatitin sık görüldüğü ırklarda hastalığın altında genetik bir birleşenin olduğu düşünülmektedir (Sousa ve Marsella, 2001). Bu ırklarda deri bariyeri anormalliğinin birincil nedeni genetik yatkınlık olarak düşünülür. Ancak yatkın olmayan köpeklerde yardımcı T2 (Th2) hücrelerinden salınan sitokinler deri bariyerinde anormalliklere neden olabilmektedir (Nuttall ve ark., 2019).

Çevre, epidemiyolojik çalışmalarda gösterildiği gibi köpek atopik dermatit gelişiminde muhtemelen önemlidir, ancak bunun aeroalerjenlere maruz kalma ile bağlantılı olup olmadığını bilinmemektedir. Çevresel alerjenlere duyarlılık, atopik köpeklerde ağırlıklı olarak ev tozu akarlarına olduğu düşünülmektedir. Kırsal ortamda yaşayan veya düzenli olarak açık havada yürüyüş yapan köpeklerde atopik dermatit görülme oranı daha azdır. Kapalı ortamda yaşayan köpeklerin atopik dermatite yakalanma riski daha fazladır (Prelaud, 2014).

2.1.2. Epidemiyoloji

Köpek atopik dermatiti, genç köpeklerde daha sık görülür (Marsella ve Girolomoni, 2009) ve özellikle 6 ay ile 6 yaşlı köpekler arasında yaygındır. Bununla birlikte, atopik köpeklerin çoğunda, semptomlar ilk olarak 1-3 yaş aralığında ortaya çıkar (Marsella, 2013). Gıda alerjenleri hastalığın ortaya çıkmasında önemli bir parlama faktörü olabilir. AD'nin özellikle genç köpeklerde geliştiği veya lezyonsuz seyrettiği durumlarda gıda alerjilerinin araştırılmasını gerekmektedir. Köpek atopik dermatitinde çevresel alerjenlere karşı duyarlılaşma, vakaların büyük bir kısmında tespit edilmiştir (Marsella ve Girolomoni, 2009).

Köpeklerde atopik dermatitin kesin prevalansı bilinmemekle birlikte, son çalışmalarda köpek popülasyonunun yaklaşık %10'unun kaşıntılı deri hastalığından etkilendiği bildirilmektedir (Keppel ve ark., 2008) ayrıca köpeklerde atopik dermatitin son on yılda giderek yaygınlaştığı görülmektedir. 1970'lerin başlarında yapılan çalışmalarda, atopik dermatit prevalansının %3,3 kadar iken, 1980'lerin sonlarında Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan başka bir araştırmada ise, prevalansın %27'lere kadar çıktığı gösterilmiştir. Bu artışın veteriner hekimlerin artan farkındalığına bağlı olarak daha sık tanı koymasından veya evcil köpeklerin değişen yaşam tarzından dolayı gerçek bir artış olup olmadığı bilinmemektedir. Ne yazık ki, köpek atopik dermatiti ile epidemiyolojik çalışma oldukça azdır (Marsella ve Girolomoni, 2009).

2.1.3. Patogenez

Atopik dermatitin patogenezi karmaşıktır. Patogeneizde deri bariyeri önemli bir rol oynamaktadır. Bütünlüğü bozulan derinin, mikrobik yapışmaya, alerjenik proteinlerin penetrasyonuna, anormal inflamatuvar ve alerjik yanıtların başlatılmasına izin verdiği düşünülmektedir (Nuttall ve ark., 2019).

IgE

İki IgE antikorunun bir alerjen tarafından çapraz bağlanması ile mast hücresi degranülasyonu görülür. Bu durum çeşitli sitokinlerin ve histamin gibi enflamatuvar araçların salınmasına yol açar (Eichenseer ve ark., 2013). Alerjene özgü IgE'nin köpek AD'deki rolü birçok çalışmada belgelenmiştir, ancak IgE'nin nedensel ve kritik öneminin kesin kanıtı yoktur. (Marsella, 2013). AD, alerjene özgü IgE'nin yokluğunda ortaya çıkabilir (Marsella ve ark., 2012). Atopik dermatitli köpeklerin büyük bir kısmında alerjene özgü IgE bulunmaktadır (Marsella ve Girolomoni, 2009). Fakat sadece artan IgE düzeyi bizi hastalığın teşhisine götürmemektedir (Marsella ve Girolomoni, 2009). Immunglobulin G (IgG) yanıtı sıklıkla AD'li köpeklerde IgE yanıtına eşlik eder. Ancak, alerjene özgü IgG'ler hem normal hem de atopik köpeklerde meydana geldiğinden ve son çalışmalarda patojenik rolleri desteklenemediğinden, bu antikorun atopik dermatitteki rolü hala tartışmalıdır (Marsella, 2013).

Histamin

Histamin, yakın bağ dokularında bulunan mast hücreleri ve bazofiller tarafından yüksek konsantrasyonlarda üretilen vazoaktif moleküllerdir. Histamin vazodilatasyona neden olur ve inflamatuvar yanıtı tetikler. Yabancı patojenlere karşı bağışıklık yanıtının bir parçası olarak histamin salınır (Marsella ve ark., 2012). Histamin, derideki histamin-1-reseptörlerine bağlanır ve sıklıkla interdigital, inguinal ve perianal alan, aksillalarda ve kafada pruritusu yol açan köpek atopik dermatitinin ani ve geç faz alerjik reaksiyonlarını indükler (Eichenseer ve ark., 2013).

Serotonin

Serotonin, mast hücresi degranülasyonu üzerine salınan bir başka mediyatördür ve insanlarda alerjik reaksiyonlarda önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. İntradermal serotonin enjeksiyonunun kaşıntı üzerine etkisi histaminden daha zayıftır. AD'li köpekleri tedavi etmek için serotonin salınımını inhibe eden çeşitli ilaçlar kullanılmaktadır. Ancak köpek AD'nin patogeneğinde

serotonin rolü belirlenememiştir ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Marsella ve Olivry, 2001).

Lökotrien

Veteriner tıbbında kutanöz lökotrien (LT) konsantrasyonlarının ölçüldüğü çalışmaların sayısı azdır. Bir çalışmada, çeşitli enflamatuvar cilt hastalıkları (piyoderma, sebore, AD ve pire alerjisi) olan köpeklerde kutanöz LT içeriği ölçülmüş ve tüm koşullarda yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda LT konsantrasyonları ile kaşıntı derecesi arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Köpek AD tanısında LT ölçümünün özgüllüğünün olmaması, bu bulguların patojenik etkilerini azaltmaz, çünkü farklı hastalıklar benzer inflamatuvar yanıtları tetikleyebilir (Marsella ve ark., 2012).

İmmun Düzensizlikler

T hücreleri, sitokinler

Atopik dermatitte köpeklerde, insanlar gibi düzensiz bir bağışıklık yanıtına sahiptir. Başlangıçta bağışıklık, Th2 hücreleri tarafından kontrol edilir ve IL-4, IL-5, IL-6, IL-13 ve IL-31 gibi sitokinlerin salınımını uyarır, ancak kronik iltihaplanma şekillenmiş ise Th1, Th2, Th17, Th22 hücreli araçlar ile gerçekleştirilir. Bu hücre alt kümeleri, belirli efektör fonksiyonlara aracılık etmeye yardımcı olur ve antijen sunan hücrelere yanıt olarak gelişir (Nuttall ve ark., 2019). Th2 sitokinleri IL-4, IL-3, IL-6 ve IL-13, atopik hastalıkların karakteristiği olan humoral bağışıklığı ve IgE üretimini desteklemektedir (Nuttall ve ark., 2002). Ayrıca akut kaşıntı ve yangılanma, Th2 lenfositleri (örn., IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 ve IL-31) tarafından üretilen sitokinler ve Th2 lenfositlerinin aktivasyonuna aracılık ettiği düşünülen sitokinlerle (örneğin, IL-25 ve IL-33) sağlanmaktadır (Nuttall ve ark., 2019). Th1 sitokinleri (IFN γ , IL-2, IL-12 ve TNF α) hücre aracılı bağışıklıkta rol oynamaktadır (Nuttall ve ark., 2002).

Sağlıklı bir derinin alerjenler karşısında korunması için Th1 ve Th2 yanıtlarının arasında bir denge olması gerekmektedir. T düzenleyici (Treg) hücre olarak adlandırılan, Th1 ve Th2 hücrelerinden farklı sitokinlere sahip başka bir T

hücreleri alt kümesi açıklanmıştır. İmmüsupresif özellikte olan Treg hücreleri, Th2 hücre aracılı alerjik yanıtın gelişimini engelleyebilir ve IgE üretimi ile ilişkili alerjik inflamasyonu azaltabilir. Bu nedenle alerjen spesifik immunoterapide (ASIT) önemli bir rol oynar. Alerjik bireylerde Treg hücrelerinin antijene özgü baskılayıcı özelliği ASIT tarafından da uyarılmaktadır (Keppel ve ark., 2008).

İnterlökin 31, kemirgenler, köpekler ve insan olmayan primatlar dahil olmak üzere çeşitli türlerde kaşıntıya neden olmaktadır. Ayrıca bağışıklık ve cilt hücrelerinden proinflamatuvar mediyatörlerin salınımında rol oynamaktadır (Nuttall ve ark., 2019). Farelerle yapılan bir çalışmada, IL-31'in aşırı ekspresyonu, ciltte inflamatuvar hücre sayısında artış, şiddetli kaşıntı, alopesi ve cilt lezyonlarını içeren çeşitli atopik dermatit belirtilerinin gelişmesine yol açmıştır. İnterlökin-31'in, yardımcı T2 hücreleri tarafından üretildiği gösterilmiş ve bu hücrelerin sitokinin önemli bir kaynağı olduğu düşünülmektedir. İnterlökin-31'in kaşıntılı insanlarda, kaşıntılı olmayanlara göre daha yüksek olduğu ve IL-31'in serum seviyelerinin, insanlarda hastalık şiddeti ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Gonzales ve ark., 2013).

Kemokinler

Kemokinler lökositlerin taşınmasını düzenleyen önemli moleküllerdir (Maeda ve ark, 2005). Th2 hücrelerinin taşınmasında CC kemokinlerinin ve reseptörlerinin rol oynadığı düşünülmektedir. Timus aktivasyon regülasyon kemokini (TARC), CC kemokinlerinden biridir ve alerjik inflamasyon sırasında CC kemokin reseptör 4 (CCR4) ile bağlanarak Th2 hücrelerinin taşınmasını sağlamaktadır (Maeda ve ark, 2002). AD'li köpeklerin lezyon derisinde seçici olarak eksprese edildiği, ancak sağlıklı veya lezyonsuz deride olmadığı belirtilmiştir (Maeda ve ark.,2005). Bu sonuçlar TARC'nin AD'de alerjik inflamasyonu başlatmak için önemli bir kemokin olabileceğini ve hastalık şiddetini değerlendirmek için güvenilir bir belirteç olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir (Maeda ve ark., 2002).

Yapılan çalışmalar sitokin transkripsiyonlarının zaman içinde değiştiğini göstermektedir. Th2 sitokinleri akut fazda (alerjene maruz kaldıktan 12 ile 24 saat sonra) önemli bir rol alırken, Th1 sitokinlerinin kronik faz ile (alerjene maruz

kaldıktan 48 ile 96 saat sonra) daha alakalı olabileceği düşünülmektedir. Lezyonların başlangıç zamanının tam olarak bilinmediği çalışmaların yapılması sonuçlar arasındaki değişkenliğin nedeni olabilmektedir. Köpek atopik dermatitinde, sitokinlerin rolünü belirlemeden önce biyolojik olarak aktif sitokinlerin varlığının bilinmesi gerekmektedir (Marsella ve ark., 2012).

Yıllarca atopik dermatitin asıl nedeninin inhale edilen alerjenlere karşı tip 1 aşırı duyarlılık reaksiyonu olduğu düşünülmüş, patogenezi ve tedavisi üzerine yapılan araştırmalarda genellikle mast hücrelerine ve alerjene özgü IgE'ye odaklanılmıştır. Artık atopik dermatitte, derideki dendritik hücrelerin, T lenfositlerinin ve diğer birçok hücrenin rol oynadığı bilinmektedir. Çok faktörlü bir hastalık olmasının yanı sıra hastalık sürecinin merkezini deri bariyer fonksiyonlarındaki bozukluklar oluşturmaktadır. Genetik yatkınlığa bağlı veya konjenital olarak görülebilen epidermal geçirgenlikteki değişiklik sonucu çevresel alerjenler, deri bariyerine nüfuz ederek, immunolojik reaksiyonları tetiklemektedir. Dendritik hücreler veya T lenfositleri tarafından salınan sitokinler, immunolojik süreci yönlendirmektedir. Nöronal mekanizmalarla birlikte kutanöz inflamasyon lezyonları inatçı bir kaşıntı döngüsü başlatmaktadır. Hastalık sürecinin sürekli olarak değişmesi tanıyı zorlaştırmakta ve hiçbir tedavinin etkisinin evrensel olmayacağını göstermektedir. İnsanlarda, köpeklerde ve diğer hayvanlarda araştırmalar ilerledikçe, patogenezindeki karmaşıklık daha çok netlik kazanacak. Hastalık sürecindeki birçok noktayı hedefleyen daha etkili ve daha güvenli tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi mümkün olacaktır (Marsella ve ark., 2012).

Deri Bariyeri Anormallikleri

Memelilerin tüm vücut yüzeyini kaplayan deri önemli bir bariyer görevi görmektedir. Stratum korneum epidermisin en dış tabakasıdır, korneositlerden ve hücre dışı lipidlerden oluşur. Hücre dışı lipidlerin ana bileşeni seramidlerdir ve transepidermal su kaybının (TEWL) önlenmesinde önemli bir rol oynar. Hücre dışı lipidlerin veya hücre içi proteinlerin anormal ekspresyonu, atopik dermatitte transepidermal su kaybının artmasına (Nishifuji, 2014) ve çevresel alerjenlerin

başıklık hücrelerine daha kolay temas etmesine neden olmaktadır (Marsella ve ark., 2011).

Atopik dermatitli köpeklerin lezyonlu ve lezyonsuz derisinde ölçülen TEWL değerinin, sağlıklı köpeklere göre arttığı belirlenmiştir. AD'li köpeklerin TEWL değeri, lezyonlu ve gözle görülür lezyon bulunmayan deri ile karşılaştırıldığında, lezyonlu deride değer anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur. Aynı zamanda AD'li köpeklerin lezyonlu ve lezyonsuz derisinde, stratum corneumdaki seramidlerin azaldığı ortaya konmuştur. Ayrıca, AD'li köpeklerin lezyonlu ve lezyonsuz derisinde TEWL ve seramid içeriği arasında bir korelasyon olduğu saptanmıştır. Özetle TEWL ve seramidlerin (Shimada ve ark., 2009), kutanöz bariyerde bir bozukluğu yansıttığına inanılmaktadır. Ancak TEWL değerinin bariyer fonksiyon bozukluğu dışındaki faktörlerden de (yangılı cildin tahribatı veya ödem) etkilenebileceği unutulmamalıdır (Nishifuji, 2014).

İkincil Enfeksiyonların Rolü

Atopik deride staphylococclar daha çabuk kolonize olurlar. Bu duruma antimikrobiyel peptitlerin azalması veya Th2 sitokinlerinin aşırı ekspresyonu neden olduğu düşünülmektedir. Kolonizasyona, kutanöz T hücrelerinden IL-4 ve IL-13ün artışı yol açabilir. IL-4'teki artış, stafilokokların keratinositlere yapışmasına yardımcı olan fibronektin üretimini tetikleyebilir. Staphylococ kolonizasyonunda, bakteriler tarafından seramidaz ve proteazların daha fazla üretilmesi deriye zarar vermektedir bunun sonucunda stratum korneumdaki seramidler azalır ve deri bariyer bütünlüğü bozulur, inflamasyon şekillenebilir (Marsella, 2013).

Bakterilerin, duyarlı bireylerde alerjik bileşenleri uyararak ve enfekte ederek köpek atopik dermatitin patogeneğinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Bu sürece dahil olan baskın bakteriler patojenik stafilokoklardır ve köpeklerde en sık karşılaşılan *S. pseudintermedius*'dur. Atopik dermatitte köpeklerde *S. pseudointermedius*'un, hem korneositlere hem de fibronektin ve fibrinojen dahil olmak üzere epidermisteki diğer maddelere karşı artan bağlılık görülmüştür. Farelerde yapılan bir çalışmada, Th2 hücrelerinin oluşturduğu enflamatuvar ortamın *S.aureus*'un

deriye bağlanmasını kolaylaştırıldığı bildirilmiştir. Bu bağlanmaya fibronektin ve fibrinojenin aracılık ettiği düşünülmektedir (Lloyd, 2014).

İnsanlarda *Malassezia* antijenlerinin, otoantijenler ile çapraz bağlanmasının T hücre aracılı otoimmünite ile sonuçlandığı görülmüştür. *M. Pachydermatis*'in genetik bir alt tipinin (3D) atopik dermatitli Japon köpeklerinde yaygın olduğu bulunmuştur. Sağlıklı köpeklerden izole edilen alt tiplere kıyasla 3D alt tipinin in vitro fosfolipaz aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmüştür. İnsanlarda *Malassezia* ile ilişkili cilt hastalıklarının patogeneğinde lipazların potansiyel rolünden ve fosfolipaz aktivitesinden bahsedilmektedir. Köpeklerde *M. pachydermatis* enfeksiyonuna aday bir virülans faktör olarak tanımlanmıştır (Bond, 2014).

Gıda Alerjilerinin Etkisi

AD'li köpeklerin %30'una kadar eşzamanlı olumsuz gıda reaksiyonları olduğunu, ancak daha yeni çalışmaların daha az yaygın olduğunu bulmuştur. %2, %4 ve %5.7 rapor edilmiştir. Buna karşılık, kutanöz advers gıda reaksiyonları teşhisi konan köpeklerin %13 ile %30'unun eşzamanlı AD olduğu bildirilmiştir. Yüksek IgE üreten beagle'ların duyarlı hale getirildiği *Dermatophagoides* ekstresinin oral yoldan uygulanmasının AD belirtilerini indükleyeceği gösterilmiştir. Ayrıca, depolama akarları gibi bazı alerjenler (örneğin; *Tyrophagus*, *Acarus*, *Lepidoglyphus*) IgE yanıtını tetikleyebilir, yanlış depolanan gıdalarda yutulursa çevresel alerjenler veya gıda alerjenleri olarak kabul edilebilir. Başlangıçta *D. farinae*'ye duyarlı olan ancak çeşitli depolama akarlarına çapraz duyarlılık gösteren beagles kullanan bir başka çalışma, depolama akarı alerjenlerinin yutulmasının AD'den klinik olarak ayırt edilemeyen bir dermatiti ve çevresel bir zorluğun tetiklenebileceğini açıkça göstermiştir. Bu bulgular ışığında, Köpek AD üzerindeki Uluslararası Görev Gücü, bazı köpek hastalarında kutanöz advers gıda reaksiyonlarının AD olarak ortaya çıkabileceği ya da başka bir deyişle, gıda bileşenlerinin, bu tür alerjenlere aşırı duyarlı köpeklerde AD alevlenmelerini tetikleyebileceği kavramını desteklemektedir (Marsella, 2013).

2.1.4. Klinik Görünüm

Köpeklerde atopik dermatitinin başlangıç yaşını belirleyen birçok faktör vardır (Marsella, 2012) ancak genellikle 6 ay ile 3 yaş arasında olduğu düşünülmektedir. Atopik dermatitli köpeklerin yaklaşık %78'inin klinik belirtileri 3 yaşından önce gösterdiği bildirilmiştir (Favrot ve ark., 2010). Atopik dermatit (AD) bulunan köpeklerde klinik belirtiler 60 yıldan uzun bir süredir tanımlanmıştır. Bu süre zarfında yayınlanan çalışmalarda, yaş, cinsiyet ve ırk yatkınlıkları, deride görülen değişiklikler, oluşan lezyonların yeri ve tanımı, kaşıntının yaygınlığı veya dağılımı gibi özelliklerini gösteren prevalans değerlerinde önemli farklılıklar bildirilmiştir (Griffin ve DeBoer, 2001). Klinik belirtiler duyarlı olunan alerjene bağlı olarak mevsimsel veya mevsimsel olmayabilir (Marsella, 2013).

Köpek atopik dermatitinde birincil klinik belirti kaşıntıdır ancak atopinin hafif seyrettiği köpeklerde ikincil enfeksiyonların gelişmesiyle kaşıntı görülebilir ve enfeksiyon şekillenmez ise kaşıntı gözlenmeyebilir (Marsella, 2013). Bununla birlikte hafif pruritus, hayvan sahibi tarafından farkedilemeyebilir. Veteriner Hekim klinik muayene sırasında derideki lezyonlardan, bozulmuş veya yalanmaktan rengi değişmiş kıllardan pruritisin dolaylı tanısını yapabilir. Klinik belirtilerin çoğu genelde kendi kendine travma ve/veya ikincil enfeksiyonlardan kaynaklanmaktadır (Favrot, 2014). Araştırmalar köpek atopik dermatitinde görülebilen birincil lezyonların değişiklik gösterdiğini bildirmektedir. Bazı araştırmacılar birincil lezyonların olmadığını öne sürerken; bazıları ise, eritematöz makülleri ve plak benzeri döküntüleri birincil lezyonlar olarak tanımlamıştır. Yapılan bir çalışmada tüm hastalarda yüz kaşıntısı olduğu belirtilmiş ancak %33'ünün kaşıntılı bölgelerinde gözle görülür lezyonlara rastlanmamıştır (Griffin ve DeBoer, 2001). Bu nedenle birincil lezyon olarak kabul edilen küçük eritematöz papüller, atopik köpeklerde nadiren görülmektedir (Favrot, 2014). Genellikle köpek AD'de ikincil lezyonlar görülmektedir. Bunlar kronik kaşıntı, travma, kronik inflamasyon ve ikincil enfeksiyonlar veya mikrobiyal aşırı üremeye bağlı şekillenmektedir (Griffin ve DeBoer, 2001). İkincil enfeksiyonlara genellikle bakteriler veya mayalar neden olmaktadır. Bakteriyel enfeksiyonlarda, papüller, püstüller, kabuklar ve erozyonlar şekillenirken, mayaların rol oynadığı

enfeksiyonlarda genellikle hiperplazi, hiperpigmentasyon ve likenifikasyon görülmektedir (Favrot, 2014).

Lezyonlar genel olarak yüz (ağız, perioküler deri), kulakların iç yüzü, pençelerin dorsal ve ventral yönü, karpal ve tarsal bölgeler, ekstremiteler eklemlerinin bükülme yeri, aksillalar, karın, kasık ve medial uyluk gibi bölgelerde görülür. Akut nemli dermatit, akral kaşıntılı nodüller ve bakteriyel pododermatit, AD'nin bildirilen diğer potansiyel ikincil belirtileridir. Hastaların %12-23'ünde belirgin sebore tanımlanmıştır (Griffin ve DeBoer, 2001).

Köpek atopik dermatitinde, tekrarlayan veya kronik deri ve kulak enfeksiyonları çok sık görülür. Atopik dermatitli 843 köpeğin %66'sının bakteriyel %33'ünün maya enfeksiyonlarından sekonder olarak etkilendiği bildirilmiştir. Ayrıca bu köpeklerin %50'sinde otitis eksternanın varlığı ifade edilmiştir (Favrot ve ark., 2010).

Genellikle en sık etkilenen bölgeler kulak (%58), aksilla (%62), karın (%66), ön (%79) ve arka ayaklar (%75), dudaklar (%42) ve perineal alan (%43) 'dır. Bu bölgelerin aynı anda etkilendiği (kronik olgular hariç) nadiren görülmektedir. Bazen diğer dermatolojik (piyotramatik dermatit, interdigital fistül) ve dermatolojik olmayan belirtiler de köpek atopik dermatit ile ilişkili olabilir. Bu belirtilerin varlığı şüpheyi güçlendirmektedir. Örneğin atopi durumlarında ilkbahar veya yaz aylarında oluşan konjonktivit, köpeklerin yaklaşık %20'sinde görülmektedir (Favrot, 2014).

2.1.5. Tanı

Köpeklerde atopik dermatit tanısında önemli olan kaşıntı ve eritemin diğer çevresel alerjenler, ektoparazitler, gıda veya enfeksiyon gibi durumlarda da şekillenebileceğini bilmek ve ayırımı yapmak önemlidir (Griffin, 2014).

Uluslararası hayvanlarda alerjik hastalıklar komitesi, yaptığı kapsamlı çalışmalar sonucunda köpek atopik dermatitinde, uygulayıcılara ve araştırmacılara

yönelik yayınladıkları bir kılavuzda köpek AD tanısına genel bir bakış sunmaktadır (Hensel ve ark., 2015).

- 1- AD klinik bulgularına benzeyen diğer hastalıkların ekarte edilmesi.
- 2- Hastalığın geçmişi ve klinik belirtilerin ayrıntılı yorumunun yapılması önemlidir. Bu hususta Favrot'un kriterlerinden yararlanılmalıdır.
- 3- İntradermal Test (IDT) veya Alerjene özgü Serolojik IgE Testi ile alerjenin saptanması tanıya giderken bize yardımcı olabilir. Fakat unutulmamalıdır ki tek başına kullanıldığında bizi tanıya götürmez (Hensel ve ark., 2015).

Hanifin ve Rajka 1980 yılında insan atopik dermatit tanı kriterlerini yayınlamış. Willemse'da bu kriterlerin köpek atopik dermatitine uyarlamıştır (Olivry, 2010). Willemse kriterleri (Tablo 2.1.) genellikle klinik çalışmalarda kullanılır, ancak hiçbir zaman doğrulanmamıştır. Prelaud'un kriterleri doğrulanmıştır ancak test edilen numune coğrafi ve kantitatif olarak sınırlıdır. Genel olarak, her iki kriter kümesinin de yalnızca diğer pruritus nedenleri göz ardı edildikten sonra kullanılması kabul edilir (Favrot, 2010).

Tablo 2.1. Williemse tanı kriterleri (Willemse, 1986).

WILLIEMSE Tanı kriterleri (1986)	
Büyük Faktörler	Kaşıntı
	Tipik morfoloji ve dağılım - tarsal eklemin fleksör yüzeyinin ve/veya karpal eklemin ekstensör yüzeyinin likenifikasyonu. - yüz ve/veya ayakta lezyon.
	Kronik veya kronik olarak nükseden dermatitis
	Bireysel veya ailevi atopi öyküsü ve/veya ırk yatkınlığı
Küçük Faktörler	3 yaşından önce semptomların başlaması
	Yüz eritemi ve cheilitis
	Bilateral konjunktivit
	Yüzeysel stafilokokal piyoderma
	Hiperhidrozis
	İnhalanlara karşı oluşan pozitif intradermal test
	Yüksek alerjen-spesifik IgG
	Yüksek alerjen-spesifik IgE

1998'de daha az sayıda vaka kullanılarak Prélaud ve arkadaşları bu kriterleri değerlendirmiş ve değiştirmiştir (Griffin, 2014) (Tablo 2.2). Beş kriterden iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu bulunmuştur. Herhangi bir üç kriterin kombinasyonu AD tanısı için %79 duyarlılık ve %81 özgüllük göstermiştir. Bu yeni kriterlerin bazıları, daha kesin de olsa, Williem tarafından AD teşhisi kriterlerine benzerdi (Olivry, 2010).

Prelaud Tanı Kriterleri;

- Glukokortikoide duyarlı kaşıntı
- Bilateral ön interdigital eritematöz pododermatit
- İç kulak kepçesinin eritemi
- Dudak yangısı
- Klinik belirtilerin 6 ay ile 3 yaş arasında ortaya çıkması (Olivry, 2010).

Favrot ve arkadaşları kronik kaşıntılı 1096 köpekte çalışma yapmış (Favrot, 2010) 843 köpekte atopik dermatiti teşhis edilirken, 253'ünde pire, uyuz veya kaşıntıya neden olan diğer parazitler görülmüştür (Griffin, 2014). Willemse ve Prelaud'un kriterleri daha sonra bu 1096 köpek popülasyonunda test edilmiştir. Bu analiz Willemse kriterleri için sırasıyla %49.3 ve %80.2 ve Prelaud kriterleri için sırasıyla %74.3 ve %68.4 arasında bir duyarlılık ve özgüllük ortaya koymuştur (Favrot, 2010). Favrot ve arkadaşları yaklaşık 50 klinik bulguyu değerlendirmiş ve köpek atopik dermatit tanısı için farklı duyarlılık ve özgüllüğe sahip iki set şeklinde tanı kriterleri belirlemiştir. Köpek atopik dermatit tanısı için, birinci sette 8 kriterden 5'ine sahip olmasıyla %85.4'lük en yüksek duyarlılığa ulaşılmaktadır. Dezavantajı, vakaların yaklaşık %20'si köpek atopik dermatit olmayabilir. İkinci sette 7 kriter vardır ve 6'sına sahip köpeklerin %93.7'sinde atopik dermatit vardır. Ne yazık ki, bu yedi kriterin altısına ihtiyaç duyulması vakaların %58'ini tanımlamayacaktır (yüksek özgüllük ve düşük duyarlılık). Çalışmada, köpek atopik dermatit ile ilişkili olan kronik veya tekrarlayan otitis eksterna için başvuran köpekleri değerlendirilmemiştir (Griffin, 2014).

Favrot'un Tanı Kriterleri Set 1;

- Başlangıç yaşı 3 yaştan küçük
- Çoğunlukla kapalı alanda yaşama
- Kortikosteroide duyarlı kaşıntı
- Kronik veya tekrarlayan maya enfeksiyonları
- Etkilenen ön ayaklar
- Etkilenen kulak kepçesi

- Etkilenmemiş kulak boşlukları
- Etkilenmeyen dorso-lumbal bölge (Favrot, 2010).

Favrot'un Tanı Kriterleri Set 2;

- Başlangıç yaşı 3 yaştan küçük
- Çoğunlukla kapalı alanda yaşama
- Başlangıçta gözle görünür lezyonu olmayan kaşıntı
- Etkilenen ön ayaklar
- Etkilenen kulak kepçesi
- Etkilenmemiş kulak boşlukları
- Etkilenmeyen dorso-lumbal bölge (Favrot, 2010).

Sitolojik inceleme

Temel bir başlangıç sitolojisi, derin ve yüzeysel kazıntıları ile mantar kültürünü içermelidir. İkincil enfeksiyonların teşhisine yardımcı olmak için sitolojik çalışma rutin olarak yapılmalıdır, çünkü ikincil enfeksiyonların doğru teşhisi ve yönetimi atopik köpeklerde klinik belirtilerin şiddetini büyük ölçüde azaltabilir. Sitolojik bulgular, pruritusun ikincil enfeksiyona bağlı olduğunu tanımlamaya da yardımcı olur (Marsella, 2013).

Alerji testleri

Alerji testi, immünoterapide alerjenlerin seçimine yardımcı olmak için kullanılır, ancak tanı kriterleri olarak kullanılmamalıdır. Herhangi bir biçimde alerji testinin tarama testi olarak kullanılmaması gerektiğini anlamak önemlidir (Marsella, 2013). Tedavide alerjene spesifik immünoterapi uygulanacaksa bu testler gereklidir (DeBoer ve Hillier, 2001).

Akar alerjenleri arasındaki çapraz duyarlılığın oldukça sık olduğu düşünülmektedir. Köpeklerde Dermatophagoides akarları ile çok sayıda parazit akarı (Sarcoptes scabiei, Cheyletiella sp. ve Otodectes cynotis) arasında çapraz duyarlılaşma

bildirilmiştir. Enfekte köpeklerde deri testinde veya IgE tayininde yanlış pozitif sonuçlara yol açabilir (Prelaud, 2014).

Intradermal Deri Testi

Deri testi, küçük miktarlarda (genellikle 0.05 mL) bireysel alerjenlerin intradermal olarak enjekte edildiği alerji testini ifade eder. Sulu alerjen ekstraktları rutin olarak intradermal deri testi için kullanılır. Alerjenler coğrafi konuma göre seçilmelidir. Alerji testinin sonuçlarını rutin olarak gözden geçirmek ve nadiren pozitif olan alerjenleri potansiyel olarak ortadan kaldırmak önemlidir. İntradermal deri testinin zayıf performansı nedeniyle şu anda gıda alerjenleri için önerilmemektedir. Alerji testinde histamine gelişen reaksiyona göre alerjene verilen yanıtlar değerlendirilebilir ancak bu her zaman kesin sonuç vermemektedir. Klinik teşhis de oldukça önemlidir (Marsella, 2013).

İntradermal deri testi hayvan sedasyona alınarak veya alınmadan yapılabilir. Deri reaktivitesini etkilemeyen sakinleştiriciler ve anestezikler arasında ksilazin hidroklorür, medetomidin, tiletamin/zolazepam, tiamilal, halotan, izofluran ve metoksifluran bulunur. Bu ilaçlar intradermal deri testi için kabul edilebilir. Deri testi reaktivitesini olumsuz etkileyebilen ve kullanılmaması gereken sakinleştiriciler ve anestezikler arasında oksimorfin, ketamin/diazepam, acepromazine ve propofol bulunabilir. Mevsimin deri testi üzerindeki etkisi tam olarak bilinmemektedir. Yine de negatif deri testi riskini en aza indirmek için, alerji mevsiminin sona ermesinden sonra 2 ay içinde yapılmalıdır (Marsella, 2013).

İntradermal olarak histamin fosfat enjekte edilir. Enjeksiyondan 15 ila 20 dakika sonra 10 ila 20 mm çapında kabarcık oluşmalıdır. Histamin kabarcığı (<10 mm) küçükse, intradermal deri testi ertelenmeli ve beklenen reaksiyon görülene kadar haftada bir histamin ile test edilmelidir. Uygun anestezikler ile hayvan sedasyona alınır ve yan yatırılır. Lateral toraks genellikle tercih edilen bölgedir. Bölge kimyasal preparat kullanılmadan temizlenmeli ve dikkatli bir şekilde tıraşı yapılmalıdır. Enjeksiyon bölgeleri keçeli kalemle belirlenmeli ve aralarında en az 2 cm olmalıdır. Bir 1 mL tek kullanımlık enjektöre bağlı 26 ila 27 gauge, 0,38 inç (0,9 cm) bir iğne

kullanılmalıdır. Negatif kontrol için 0,05 ml salin intradermal enjekte edilmelidir. Pozitif kontrol grubu için 0,05 ml histamin fosfat intradermal verilmelidir. Uygun şekilde hazırlanmış alerjenlerde aynı şekilde uygulanmalıdır. 15. ve 30. dakikalarda test alanları değerlendirilmeli. Hayvanın bu bölgeyi kaşması önlenmelidir (Marsella, 2013).

Değerlendirmede salin enjeksiyonuna 0 puan, histamin fosfata 4+ puan verilmelidir. 2+ veya daha yüksek yanıtlar önemli kabul edilir. Palpasyon ile değerlendirilebilir. Her kabarcığın çapının ölçülmesi önerilmektedir. Kontrol gruplarında gözlenen kabarcıkların çapları arasında yarısına veya daha büyük çapı olan kabarcıklar pozitif olarak değerlendirilir. Pozitif olan bölgelerde kaşıntı şekillenebilir, soğuk kompres veya topikal steroid kullanılabilir. Anafilaksi nadir olarak görülebilir (Marsella, 2013).

Serolojik Test

Seroloji testi, alerjene özgü IgE'nin saptanması için sıklıkla kullanılır. Toplam IgE ölçümü alerjik durumun zayıf bir göstergesidir, alerjik ve normal hastalar arasında ayırım yapmak için kullanılmamalıdır. Alerjene özgü IgE'nin ölçümü bile düşük özgüllüğe ve düşük pozitif tahmin değerine sahip olabilir. Köpek atopik dermatitiste tanı değeri yoktur (Marsella, 2013).

Serum bazlı in vitro “alerji testleri” köpeklerin atopik dermatitin tanısı için değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılır. İlk klinik teşhisi takiben, atopik köpeğin hangi alerjenlere aşırı duyarlı olduğunu belirlemek amacıyla alerjene özgü IgE ölçümü kullanılabilir. Bu testlerin metodolojisi laboratuvarlara göre değişiklik gösterebilir. Çok sayıda çalışma bu testlerin performansını değerlendirmiştir, mevcut laboratuvarlar arası standardizasyon ve kalite kontrolleri yetersizdir. Serolojik testler ile ilgili bilginin sınırlı olduğu diğer alanlar, gıda alerjisi tanısında yararlılığı, mevsimin sonuçlara etkisini ve kortikosteroid tedavisinin test sonuçları üzerindeki etkisini içerir. Alerjene özgü IgE serolojik testleri hiçbir zaman tamamen hassas veya tamamen spesifik değildir (Marsella, 2013).

Rutin aşılama prosedürleri ve/veya parazitlerin varlığı köpeklerde toplam serum IgE konsantrasyonlarını da etkileyebilir. Toplam serum IgE ölçümü, yetişkin bir köpekte AD teşhisi için yararlı bir araç olarak görünmemektedir. Serum alerjene özgü IgE tahlilleri yaygın olarak kullanılmaktadır. İlk olarak 1978’de Halliwell ve Kunkle tarafından köpeklerde kullanıldığı rapor edilmiştir (DeBoer ve Hillier, 2001).

Tüm alerjene özgü IgE testlerinin temel prensibi aynıdır. Her durumda serumun alerjen ekstraktı ile reaksiyona sokulur. Bağlanmayan antikorlar yıkanır, daha sonra alerjene bağlı IgE, reaktif ile tespit edilir. Kullanılan reaktif önceden bir enzim veya radyoizotop ile birleştirilmiştir. Bağlanan IgE'ye özgü reaktif miktarı daha sonra kolorimetrik, florometrik veya radyometrik yöntemle ölçülür. Oluşturulan sinyal miktarı, IgE'ye özgü reaktif miktarı ile orantılıdır. IgE'ye özgü reaktif ise alerjene özgü IgE miktarı ile orantılıdır. Alerjene özgü IgE serolojik testlerinin asla tamamen hassas veya tamamen spesifik olmadığını hatırlamak önemlidir. Pozitif bir testin her zaman alerjinin klinik belirtileri ile ilişkili olmadığını belirtmek önemlidir, bu nedenle sonuçlar her zaman klinik durum ışığında yorumlanmalıdır (Marsella, 2013).

İntradermal deri testi sonuçları ve seroloji testi arasındaki tutarsızlık, alerjenik ekstraktların değişkenliği ve bir testin dolaşan IgE'yi ve diğeri kutanöz IgE'yi ölçmesi gibi çeşitli faktörlerden kaynaklanabilir. Seroloji ve deri testi sonuçları arasındaki zayıf korelasyon göz önünde bulundurulduğunda dikkate alınmalıdır (Marsella, 2013).

Serolojik alerji testlerinin, intradermal testlere göre avantajları; Hastada risk oluşturmaz (sedasyona gerek yoktur, anafilaktik reaksiyon riski yoktur). Kolaylık (hasta tıraş edilmez ve klinikte tutmaya gerek yok). Sonuçların önceki veya mevcut ilaç tedavisinden etkilenme olasılığı düşüktür. Yaygın dermatit veya dermatografisi olan hastalarda kullanılabilir (Marsella, 2013).

Dermatologlar arasında bireysel tercihler olmasına rağmen, doğrudan etkilenen organı test ettiği için intradermal deri testi bazıları için tercih edilen test olmaya devam etmektedir. Bu özellikle kutanöz IgE'nin dolaşan IgE ile korelasyon göstermemesi durumunda önemli görünmektedir. İntradermal deri testi, çoğu durumda, seroloji testi için panele dahil olanlardan daha fazla alerjen testi yapılmasına

izin verir. Deri testi mümkün olmadığında seroloji testi yeterli olabilir (Marsella, 2013).



Tablo 2.2. Alerjene özgü IgE'yi tespit etmede kullanılan testlerin karşılaştırılması (Griffin, 2014).

INTRADERMAL TEST	<i>in vitro</i> SERUM TEST
Alerjenlerin intradermal enjeksiyona yanıtıdır.	Laboratuvar şartlarında spesifik alerjenlere karşı serum IgE'sini (IgG4) tespit eder.
Pozitif test sonucu her araştırmacı tarafından objektif olarak belirlenir.	Pozitiflik negatiflik ara değerler laboratuvarın kontrol değerlerine göre belirlenir.
Genellikle daha fazla ürün (80 öge) test edebilirsiniz.	Test genellikle 30-40 alerjene bakar.
Steroidler ve antihistaminikler test sonucunu etkiler.	Test sonuçları yüksek doz steroidlere daha az duyarlıdır.
Daha iyi değerlendirmek için deneyimli olmak etkilidir.	Laboratuvar tarafından değerlendirilir.
Test solüsyonlarının depolaması ve bakımı.	Sadece serum numunesi gereklidir.
Hayvan sedasyona alınır ve test yapılacak bölge tıraş edilir.	Sedasyon ve tıraş gerektirmez.
Çok nadir fakat test sırasında anafilaksi riski vardır.	Anafilaksi riski yoktur.
Anlık sonuç verir.	Sonuçların çıkması 1-2 hafta sürer.

Histopatolojik inceleme

Akut AD lezyonlarında eozinofilik ekzositoz ile spongiotik dermatit bildirilmiştir. Ayrıca lenfositik ekzositozu olan yüzeysel perivasküler dermatit tablosu gözlemlenebilir. Köpeklerde, lezyonlu atopik derisinde epidermiste artan sayıda CD4 + ve CD8 + T hücreleri bulunur. Epidermal Langerhans hücre sayıları lezyonlarda lezyonel olmayan atopik örneklerle göre anlamlı olarak daha yüksektir. Ayrıca, sağlam ve degranüle olmuş eozinofiller, atopik köpeklerin lezyonlu derisinin stratum corneumunun altında görülebilir. IgE ve dendritik hücreler, lezyonel veya non-lezyonel atopik deri epidermis ve dermisinde görülür, ancak normal deri örneklerinde görülmez. CD1c + antijen sunan hücrelerinin, alerjene maruz kaldıktan sonra atopik

deride birikmesi ve alerjenin epikutanöz yakalanmasında önemli rol oynadığı doğrulanmıştır (Marsella, 2013).

2.1.6. Sağaltım

Köpek atopik dermatitinde tedavi multimodal olmalı ve her hasta için kişiselleştirilmelidir. Terapötik ajan seçilirken avantajları ve dezavantajları ile hastanın deri durumu ve deri üzerine etkisi, sahiplerinin bütçelerine ve kullanım düzeylerine uygunluğu göz önünde bulundurulmalıdır. Tek bir ilacın her hasta ve sahibine uygun olacağı yaklaşımdan kaçınılmalıdır (Paterson, 2019a).

Glukokortikoidler

Oral glukokortikoidler doğru hastalarda uygun şekilde kullanıldıklarında yararlı olabilirler (Paterson, 2019a). Etkilerinin hızlı olması ile özellikle akut durumlar için idealdir (Koch, 2015), kısa sürede cilt lezyonlarını ve kaşıntıyı kontrol edebilirler (Paterson, 2019a). Antienflamatuar yanıtlarının spesifik olmaması ve yan etkilerinin fazla olması nedeniyle uzun süreli kullanımları uygun değildir. Maliyet açısından ucuz bir tedavi şeklidir ve uzun süreli kullanımı gerektiren durumlarda en güvenli doz ayarlanmalı, adrenal supresyonu en aza indirmek için enjekteable formülasyonlarından kaçınılmalıdır (Koch, 2015). Köpek atopik dermatit tedavisinde en çok tercih edilen iki glukokortikoid; prednizolon ve metilprednizolondur.

Topikal glukokortikoidler, kutanöz atrofi ve kalsinozis kutis gibi potansiyel olumsuz etkileri önlemek için özellikle akut olgularda, günde bir ile iki kez kısa süreli kullanım için en uygundur. Betametazon valerat ve mometazon furoat krem yaygın olarak kullanılan topikal glukokortikoidler arasında yer almaktadır (Koch, 2015).

Hem topikal hem de sistemik glukokortikoidlerin günlük kullanımı iyatrojenik hiperadrenokortikizme yol açabilir. Oral glukokortikoid kullanımı enfeksiyona karşı duyarlılaşmayı artırır. Köpekler de demodikoz geliştirebilir. Topikal ilaçların ciltte aşırı kullanımı epidermal, yağ bezi ve saç folikülü atrofisine, ayrıca yara iyileşmesinde

gecikmeye ve foliküler keratoza neden olur. Şiddetli vakalarda kalsinozis kutis de oluşabilir (Paterson, 2019a).

Kalsinörin İnhibitörleri

Siklosporin, köpek atopik dermatit tedavisinde yıllardır kullanılan lisanlı bir ilaçtır. Tolypocladium infantum mantarının salgısından izole edilen bir polipeptittir. Güçlü ve geniş antienflamatuar etkileri vardır. Bağışıklık tepkilerini başlatan hücreler (Langerhans hücreleri, lenfositler) ile efektör hücrelerin (eozinofiller, mast hücreleri) aktivasyonunu inhibe ederler. Hem kapsül hem de sıvı formülasyonu bulunmaktadır. Glukokortikoidlere göre maliyeti daha yüksek bir tedavi seçeneğidir. Fakat köpekler tarafından iyi tolere edilir ve oldukça etkilidir (Paterson, 2019a). AD'li köpeklerde cilt lezyonlarını ve kaşıntıyı azaltmada prednizolon kadar etkili olduğu gösterilmiştir (Olivry ve ark., 2015). Oral siklosporin, uzun süreli tedavisi için günde 5 mg/kg onaylanmıştır ve bu dozda yan etkiler nadir görülür. Klinik iyileşme 4 ile 6 hafta sürebilir; bu nedenle, akut durumların tedavisi için uygun değildir. (Koch, 2015). Uzun süreli kullanımlar için güvenlidir. Yan etkileri nadirdir, en çok gastrointestinal reaksiyonlar görülebilir (Paterson, 2019a).

Başka bir kalsinörin inhibitörü olan takrolimus, iyi bir etkinliğe sahiptir (Koch, 2015). Takrolimus ilk olarak Japonya Tsukuba'da bulunan bir toprak mikrobu olan Streptomyces tsukuba'nın fermentasyon suyundan elde edilmiştir (Gupta ve ark., 2002). Takrolimus, başlangıçta transplant reddini önlemek için oral bir ilaç olarak geliştirilmiştir (Noguchi ve ark, 2017).

Takrolimusun, hücre içi FK506 bağlayıcı proteine bağlandığı ve kalsinörin aktivitesini baskıladığı düşünülmektedir (Yamashita ve ark., 2010, Noguchi ve ark, 2017). Takrolimus T yardımcı hücrelerin aktivitesini inhibe etmekte ve IL-2, -3, -4 gibi proinflamatuar sitokinlerin üretimini engelleyerek antienflamatuar etki göstermektedir. Atopik dermatitli hastaların etkilenen derisinden alınan epidermal hücre süspansiyonlarındaki dendritik hücre sayılarının, langerhans hücrelerinin yüzdesini azalttığı ve yüksek afiniteli IgE reseptörlerinin ekspresyonunu aşağı regüle ettiği gösterilmiştir (Bekersky ve ark., 2001). Takrolimusun bu özellikleri, AD'yi

tedavi etmek için topikal kalsinörin inhibitörlerinin birincil antiinflamatuvar ajan olarak kullanımına yol açmıştır (Noguchi ve ark, 2017).

Hayvan modellerinde takrolimus krem, alerjik kontakt dermatit, akut tahriş edici dermatit ve gecikmiş tip aşırı duyarlılığın inflamatuvar cilt reaksiyonlarını inhibe ettiği öne sürülmüştür (Bekersky ve ark., 2001).

Prostaglandin E1 Analogu

Misoprostol, prostaglandin E1 analogudur. Çeşitli PGE analoglarının, birden fazla antienflamatuar özelliğe sahip oldukları düşünülmektedir. Misoprostol, inflamasyonda interleukin-1 (IL-1) ve tümör nekroz faktörü alfa (TNF α) üretimini azaltır. Misoprostol, mukozal mast hücreleri ve periferik kan bazofilleri tarafından histamin salınımını inhibe eder. Aynı zamanda PGE'nin, aktiveleştirilmiş nötrofiller tarafından lökotrien (LT $_4$) üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir. Misoprostol ve diğer PGE analogları, mast hücreleri, bazofiller, nötrofiller, eozinofiller, lenfositler ve monosit-makrofajların aktivasyonunu azaltır (Olivry ve ark., 1997).

Fosfodiesteraz İnhibitörü

Pentoksifilin köpeklerde, bağışıklık aracılı dermatolojik durumları tedavi etmek, iyileşmeyi arttırmak, iltihabı azaltmak ve iyileştirilmiş mikrodolaşımın faydalı olabileceği diğer durumlar için kullanılmaktadır. Pentoksifilin mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. İlacın eritrosit fosfodiesterazı inhibe ederek eritrosit esnekliğini arttırdığı, plazma fibrinojeni azaltarak ve fibrinolitik aktiviteyi artırarak kan viskozitesini azalttığı düşünülmektedir. Pentoksifilin, sitokin mediatörlerinin fosfodiesteraz inhibisyonu yoluyla olumsuz endotoksik etkilerini azalttığı düşünülmektedir (Plumb, 2008).

Antihistaminikler

IgE moleküllerinin mast hücrelerinin yüzeylerine çapraz bağlanmasından sonra bu hücreler tarafından histamin salınır. Antihistaminikler, histamin

reseptörlerinde ters agonistler olarak işlev görür, reseptörün negatif konformasyonunu stabilize eder ve sinyal iletimini durdurur. Antihistamin farmakoterapisinin atopik dermatiti olan köpekler için yararlı olduğu bildirilmiştir. Antihistaminiklerin köpek atopik dermatit üzerinde tutarlı ancak hafif bir etkisi olduğu düşünülmektedir. Atopik dermatitli köpeklerde nadiren tek tedavi olarak uygundur, ancak çoğunlukla diğer tedavi seçenekleriyle birlikte destekleyici olarak kullanılabilirler. Önce daha güçlü anti-enflamatuvar ilaçlarla tedavi edilen köpeklerde remisyonu korumak için de yararlı olabilirler. Antihistaminiklerin etkinliği glukokortikoidler ve siklosporin ile karşılaştırılmaz, bu nedenle ciddi akut durumların tedavisinde tek başlarına yeterli değildir. (Eichenseer ve ark., 2013).

Janus Kinaz İnhibitörü

Bir Janus Kinaz inhibitörü olan oklakitinib maleat, alerjik inflamasyon ve kaşıntıya neden olan özellikle IL-31 ve diğer sitokinleri seçici olarak inhibe eden tedavi şeklidir. 12 aylıktan büyük köpeklerde alerjik dermatit veya atopik dermatit tedavisi için önerilmektedir. Pruritusu 24 saat içinde kontrol altına almaktadır. Glukokortikoid ve siklosporin ile karşılaştırılabilir etkinliktedir. Hem akut parlamaların tedavisinde hem de uzun süreli tedavi de kullanımı uygundur. Oklakitinib, ciddi enfeksiyonları olan köpeklerde kontrendikedir. Enfeksiyonlara, demodikoza veya neoplastik oluşumlara duyarlılığı artırabilir. En yaygın yan etkileri gastrointestinal belirtilerdir (Koch, 2015).

Lokivetmab

Lokivetmab, oklakitinib gibi IL-31'i de hedef alarak hücre dışı hareket eder. Ancak oklakitinibin aksine, hücre reseptörüne bağlanmadan önce IL-31'i hedefleyerek ve nötralize eder. Diğer sitokinler üzerinde doğrudan bir etkisi yoktur ve bu nedenle, gelişmiş bir güvenlik profiline sahip oklakitinibden daha güvenli kabul edilir. Köpek atopik dermatitinde kaşıntı ve inflamasyonu azaltmada üç aylık tedavide siklosporin kadar etkili olmuştur. Genellikle 24 saat içinde etkisi görülür. Uzun süreli kullanımda etkileri henüz bilinmemektedir (Forsythe ve Jackson, 2020).

Antimikrobiyal Tedavi

Enfeksiyon kontrol altına alınmazsa, alerji yönetimi tamamen başarısız olacaktır. İlaç direncinin gelişme riskinden dolayı, topikal antimikrobiyalleri ve dar spektrumlu antibiyotikleri tercih ederek antibiyotik kullanımı en aza indirilmelidir. Daha hafif ve lokalize olan bakteriyel ve maya enfeksiyonlarında, merhem, krem, jel, sprey, şampuan formlarında antibiyotik ve/veya antifungal içeren topikal antimikrobiyallerle tedavi edilebilir. Daha ciddi veya genel vakalarda sistemik antimikrobiyaller gerekli olabilir. Tedavi başarısızlıklarını ve nüksleri en aza indirmek ve direnci önlemeye yardımcı olmak için uygun süre ve uygun dozlar önemlidir (Koch, 2015).

İlaçlı Banyo

Tahriş edici olmayan şampuanlar ve nemlendiriciler, akut ve kronik hastalıklarda kaşıntı ve enfeksiyonların şiddetini azaltmak ve kontrol altına almada yardımcı olabilir. Bununla birlikte, lipit, yulaf ezmesi, pramoksin, antihistaminik veya glukokortikoid içeren şampuan veya kremlerin faydasını gösteren kanıtlar halen daha tartışmalıdır (Koch, 2015).

Kutanöz Bariyerin Geliştirilmesi

Esansiyel yağ asitleri, proenflamatuar eikosanoid üretimini azaltmak, enflamatuar hücre aktivasyonunu ve sitokin salgılanmasını engellemek, lipit metabolizmasında bozulmaları düzeltmek amacıyla uzun yıllardır kullanılmaktadır. Bu sayede stratum corneum'un normalleştirilmesine katkı sağlamaktadır (Saridomichelakis ve Olivry, 2016).

Atopik dermatitli köpeklerde deri ve tüy kalitesini iyileştirmek ve kaşıntıyı azaltmak için EFA'lar ek tedavi seçenekleri arasındadır. Oral EFA'lar, tahriş edici olmayan ve nemlendirici şampuanlar, spreyle, EFA veya seramid kompleksleri gibi lipit içeren diğer topikaller, epidermal bariyeri korumak veya iyileştirmek için yardımcı tedavi olarak faydalı olabilir (Koch, 2015).

İmmunoterapi

Köpek atopik dermatit teşhisi konulduğunda mümkün olduğunca erken alerjene özgü immünoterapi (ASIT) girişiminde bulunulmalı. ASIT, spesifik etkisi ve güvenliği nedeniyle köpeklerde atopik dermatitin uzun süreli yönetimi için tercih edilmektedir. Yavaş etkili (12 ay) olması nedeniyle akut durumlarda etkili değildir. Çevresel maruziyetle ilişkili alerjenlerin dikkatli seçimi ve her hastanın ihtiyacına göre doz ve programın ayarlanmasına dikkat edilmesi durumunda tedavinin olumsuz etkileri en aza indirilerek daha yüksek başarı elde edilebilir (Koch, 2015).

Subkutan alerjene özgü immünoterapide alerjen enjeksiyonlarının dozu ve sıklığı tedavi aşamalarında gelişen yanıtı göre ayarlanmalıdır. Bu ayarlama deneyim, sabır ve iyi bir hasta sahibi iletişimi gerektirir. Bunlar olmadan optimal bir sonuca ulaşma şansı zayıftır (Mueller, 2014). Spesifik alerjenlere karşı bağışıklık yanıtını değiştiren tek tedavidir. Subkutan enjekte edilebilir immünoterapi (SCIT) yıllardır kullanılmaktadır ve başarı oranı kabul edilebilir düzeydedir. Özellikle büyük köpeklerde nispeten ucuzdur ve uzun vadeli uygulamada olumsuz etkileri yoktur (Forsythe ve Jackson, 2020).

Dilaltı immünoterapisi (SLIT), alerjenlerin ağız boşluğuna uygulandığı ve oral mukoza boyunca emildiği alerjene özgü immünoterapi formudur. SLIT, insanlarda alerjik hastalıkların yönetimi için güvenli ve etkili bir tedavi olarak kabul edilmektedir. Köpeklerde de kullanılmaya başlanmış ve etkisi gözlenmiştir. Genellikle SCIT'ten daha pahalıdır. Köpeğin dilinin altına alerjenleri içeren gliserinli çözelti spreyle uygulanır. Farklı protokoller mevcuttur ancak konsantrasyon miktarı yavaş yavaş arttırılır. Başarı oranı %50-60 ile SCIT'dekine benzer görülmektedir (Forsythe ve Jackson, 2020).

İntralenfatik immünoterapi, insanlarda polen kaynaklı rinit ve konjonktivit için güvenli ve etkili bir tedavi yöntemi olduğu düşünülmektedir. Derialtı immünoterapide birçok enjeksiyon uygulanması ve tedavinin uzun sürmesi, dilaltı immünoterapide ise uygulamanın sık olması gibi durumlara kıyasla lenf düğümlerine yapılan immünoterapide daha hızlı ve uzun süreli iyileşme için sadece birkaç enjeksiyon

yeterli görülmüştür. Doğrudan lenf düğümlerine uygulanır ve pratikte ağrısız olduğu bildirilmiştir. Az sayıda AD'li köpekle yapılan iki çalışmada güvenli olduğu ve bazılarında uzun süreli rahatlama sağladığı görülmüştür (Paterson, 2019b).

2.1.7. Korunma

Evde yaşayan köpeklerde ev tozu akarlarına karşı alerji görülmesi giderek artmıştır. Ev tozu akarları halılarda, koltuklarda ve hayvanın yatağında bulunabilir. Aynı zamanda açık bekletilen mamaların ev tozu akarlarıyla kontamine olmasında söz konusudur. Çevresel akarlardan kurtulmak için en etkili mücadele yöntemi iç ortam bağıl nemin %50'nin altında tutulmasıdır. Klimalar bu konuda etkili olabilir. Halılar, perdeler ve diğer kumaşlar nemi koruyabilir ve akar üretimi için ideal bir yaşam alanı sağlayabilir. Bu yüzden sık sık temizlenmelidir. Özellikle nemli iklim bölgelerinde halılar kaldırılmalı, perdeler ise değiştirilmelidir. Köpeklerin yumuşak oyuncakları veya yatakları yıkanmalıdır ve dondurucuda 24 saat bekletmekte akarları öldürmede etkili bir yöntemdir. İlginçtir ki evcil hayvanlarda pire kontrolü için kullanılan ürünlerin ev tozu akarı alerjen seviyelerinde düşüşe neden olduğu bildirilmiştir. Ilıman iklimlerde kış bitiminde havalar ısınmaya başladığında açık havada mantar sporlarının sayısında artma görülür. Kapı pencereleri kapalı tutarak ve yine aynı şekilde içmekan bağıl nemini %50'nin altında tutarak koruyuculuk sağlayabiliriz. Canlı içmekan bitkilerinin potansiyel bir küf kaynağı olduğu unutulmamalıdır ve evden çıkarılmalıdır. Temizlikte hepa filtreli süpürge kullanılabilir. Buharlı temizliyeciler kullanılabilir fakat su kalıntısı bırakmamasına dikkat edilmelidir. Kıyafetlerin yıkanması akarların ölümüne neden olabilir. Özellikle 60 derecede yıkamak etkilidir. Fakat sıcak ve soğuk su akarlarının ölmeme ihtimali de unutulmamalıdır. Alerjik hastalarda açık alanda en fazla karşılaşılan alerjenler polenler ve mantar sporlarıdır. Açık hava alerjenlerinden kaçınmak oldukça zor olduğu için alerjenlerin kıllara tutunduğunu düşünerek banyo önerilebilir (Morris, 2014).

2.2. Atopik Dermatitte Kemokinler ve Sitokinler

Sitokinler ve kemokinler atopik dermatitin patogenezinde önemli bir rol oynamaktadır. Atopik dermatitte lezyonların akut döneminde T yardımcı 2 (Th2)

hücreleri, kronik döneminde ise Th1 ve Th17 hücreleri ağırlıklı olarak rol almaktadır (Birtekoçak ve ark., 2016).

2.2.1. Timus Aktivasyonu ile Düzenlenen Kemokin (TARC)

Atopik dermatit, aynı zamanda T hücresi aracılı inflamatuvar bir deri hastalığıdır. AD'de immünolojik ve inflamatuvar süreçlerin düzenlenmesinde çeşitli hücreler, inflamatuvar mediatörler ve sitokinler rol oynamaktadır. AD'de, patolojik lezyonlara doğru inflamatuvar hücre infiltrasyonunu hızlandıran TARC, MDC ve CTACK gibi kemotaktik faktörler aracılık etmektedir. İnflamatuvar hücrelerin inflamasyon bölgelerine sızması, kemokin ailesinin lökosit kemoatraktan aktivitesi sergileyen çeşitli üyelerinin lokal üretimine bağlıdır (Oshio ve ark., 2009). TARC, timusta yapısal olarak eksprese edilen ve dendritik hücreler (DC), endotelyal hücreler, keratinositler (KC), bronşiyal epitel hücreleri ve fibroblastlar tarafından üretilen CC kemokin grubunun bir üyesidir. Ağırlıklı olarak Th2 lenfositlerinde, bazofillerde ve doğal öldürücü hücrelerde eksprese edilen CCR4 için bir ligandır. AD'nin akut fazında özellikle Th2 hücrelerinin baskın olduğu düşünülmektedir buna bağlı olarak patogenezinde TARC'ın önemli bir yeri vardır (Kakinuma ve ark., 2001; Saeki ve Tamaki, 2006).

2.2.2. Timik Stromal Lenfopoietin (TSLP)

Alerjik reaksiyonların efektör hücreleri olarak mast hücreleri AD'de deri lezyonlarının gelişiminde rol oynamaktadır. Mast hücreleri, kronik cilt iltihabı ile ilgili çok sayıda sitokin salgılar. Bir interlökin 7 benzeri sitokin olan timik stromal lenfopoietinin (TSLP), esas olarak dendritik hücre aracılı Th2 inflamatuvar yanıtları tetiklediği bilinmektedir. Bununla birlikte, aktif olan mast hücreleri yüksek düzeyde TSLP salgılayarak alerjik inflamasyonu tetiklemektedirler. TSLP, akut ve kronik AD'li hastaların deri lezyonlarında yüksek oranda eksprese edilmektedir (Han ve ark., 2014).

2.3. Zeolit (Klinoptilolite)

Doğal klinoptilolite zeolit, mikro gözenekli, iyon ve kristal su ile doldurulmuş bir tuf taşıdır. 0,4 nanometrelik kristal kafes kanallarına sahip bir alüminyum silikattır. Klinoptilolite zeolitlerinin temel yapısı, yaklaşık 4 Ångström boyutunda (1 Ångström = 1010 m = 0,1 nm) içinde boşluklar olan kristal bir kafestir. Şimdiye kadar doğal zeolitlerde (klinoptilolitlerde) en az 34 mineral tespit edilmiştir. Yalnızca klinoptilolite zeolit, insan ve hayvanların tedavisi için uygundur. Tolere edilebilir dozlarda verildiğinde uzun vadede insanlarda ve hayvanlarda hiçbir zararlı etkisi bulunmamıştır (Hecht, 2011).

Zeolitler, sindirim sisteminin morfolojisi, işlevi ve mikrobiyal florası üzerine doğrudan olumlu etkilemektedir. Metabolik olarak önemli iyonların verilmesi, beslenme durumunun iyileştirilmesi, bağışıklığın güçlendirilmesi, gıdaların ve içme suyunun toksinlerden arındırılması dahil olmak üzere hayvan sağlığında çok çeşitli yararlar sağlamaktadır. Bu uygulamalar için ağırlıklı olarak doğal zeolit olan klinoptilolit kullanılır. Kümes hayvanlarının diyetine klinoptilolit eklenmesi, bağırsığın morfolojisini (örneğin, daha yüksek bir villus yüksekliğine neden oldu) ve bağırsaktaki fizyolojik mikrobiyal floranın bileşimini iyileştirmektedir. Bağırsaklarda mukozal hasarını azaltıp, bakteriyel lipopolisakaritlere karşı inflamatuvar yanıtı arttırdığı tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak organizmanın antioksidan kapasitesini, vücuttaki ve yumurtadaki omega-3 doymamış yağ asidi içeriğini de arttırmıştır. Çinko içeren klinoptilolit ayrıca tavuklarda Salmonella pullorum enfeksiyonuna karşı koruyucu etkiler göstermiştir. Çiftlik hayvanlarının (kümes hayvanları, sığırlar) beslenme ve içme sularından nitratlar ve mikotoksinler (aflatoksin, okratoksin) klinoptilolit kullanımı ile önemli ölçüde uzaklaştırılabilir. Zeolitlerin evcil hayvanlarda gözlemlenen sindirim sistemi üzerindeki olumlu etkileri, insan tıbbında da öngörülebilir. Klinoptilolite bazlı bir ilaç, gastroözofageal reflü hastalığı ve nonsteroid antiinflamatuvar ilaç tedavisi ile ilişkili klinik semptom ve bulguların şiddetini azaltmıştır. Klinoptilolit bu mide koruyucu etkisi muhtemelen hidrojen iyonlarına ve biyolojik olarak aktif aminlere ve nitratlara bağlanmasından kaynaklanmaktadır (Bacakova ve ark., 2018).

Zeolitler bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Silika, silikatlar ve alüminosilikatlar, süperantijenlere benzer şekilde spesifik olmayan immünostimülatörler olarak hareket etmektedir. Süperantijenler, T hücre popülasyonunun nispeten büyük bir kısmını (%5-20) aktive etme yeteneğine sahip, bakteriyel ve viral kaynaklı, immün sistemi uyarıcı ve hastalığa neden olan proteinlerin bir sınıfıdır. Aktivasyon, antijen sunan hücrelerin yüzeyindeki T hücre kompleksi, majör histokompatibilite kompleks (MHC) sınıf II molekülleri ile SAG'nin eşzamanlı etkileşimini gerektirir. Sınıf II MHC antijen sunan hücrelere ait olan proinflamatuvar makrofajlar, fibrinojen silikat partikülü tarafından aktive edilmektedir (Ueki ve ark., 1994).

Adsorpsiyon kapasiteleri nedeniyle zeolitler güçlü bir hemostatik olarak da kullanılabilir. Zeolitler, açık gözenekli içlerindeki boşluklarda ekzotermik olarak büyük hacimlerde su tutabilir. Aynı zamanda, zeolitler kanama durumlarında kanda pıhtılaşma faktörlerini ve trombositleri arttırmaktadır. Buna göre, zeolit bazlı hemostat, insan ve koyunlardan alınan kana eklendiğinde kan pıhtılaşmasını hızlandırmış ve pıhtı oluşum süresini kısaltmıştır (Pourshahrestani ve ark., 2016).

2.4. Fare Modelleri

Atopik dermatitte fare modellerinin kullanılması patogenezin daha iyi anlaşılması için yol gösterici niteliktedir (Jin ve ark., 2009). Farelerde alerjik dermatit modeli üç gruba ayrılabilir.

Spontan modeller

8 haftadan büyük NC/Nga farelerinde normal koşullarda klinik olarak yüz, kulaklar, burun, boyun ve sırt derisinde çeşitli derecelerde dermatit gözlenmiştir. Geleneksel NC/Nga farelerinde spontane olarak şekillenen dermatitin insan AD'sine benzer klinik ve histolojik özelliklere sahip olduğu görülmüş ve muhtemelen bazı çevresel faktörler tarafından tetiklendiği gösterilmiştir (Matsuda ve ark., 1997).

Transgenik modeller

Atopik dermatit (AD) insidansı ile bağlantılı olan filaggrini (FLG) kodlayan gende bir işlev kaybı mutasyonu sonucu oluşan bariyer anormalliği, AD'nin patogeneğinde önemli bir faktör olarak bildirilmiştir. Bariyer işlevinde genetik bir kusura (FLG) sahip fareler, AD modeli sağlamaktadır. Flaky tail (Flg (ft)) fareler, filaggrin eksikliği olan ve filaggrinin AD üzerindeki rolünü araştırmak için tanıtılmıştır. Bu fareler, deride artan toplam IgE ve Th17 ekspresyonu ile uyumlu egzamatöz deri lezyonu göstermiştir. Flg (ft) farelerde akar alerjeninin uygulanması, önceden bariyer bozulması olmaksızın hem klinik belirtileri hem de laboratuvar bulgularını önemli ölçüde arttırdığı görülmüştür (Moriaga ve Kabashima, 2011).

İndüklenmiş modeller

Daha kolay erişilebilen laboratuvar hayvanlarını kullanarak basit ve tekrarlanabilir bir hayvan modeli olarak geliştirilmiştir. Hapten ile maruz bırakılmış farelerde antijen spesifik IgE antikorı üretilmiş, aynı zamanda ani tip aşırı duyarlılık reaksiyonu gözlenmiştir. Bu basit ve tekrarlanabilir model, AD'nin tedavisi için potansiyel olarak terapötik ajanların değerlendirilmesinde önemli görülmüştür (Shiohara ve ark, 2004).

Hayvan modelleri atopik dermatitin etiyopatogenezi üzerine yapılan araştırmalar için yararlı olmaktadır. Hayvan modelleri ile yapılan çalışmalar, immünolojik değişikliklerin (Th2 bağışıklık tepkileri ve artan serum IgE seviyeleri) deri lezyonları ile ilişkili olduğunu göstermektedir. NC/Nga farelerinin kendiliğinden AD benzeri lezyonlar geliştirmesi AD çalışmaları için bir yarar sağlasada, kolay bulunmaması ve pahalı olması yararlılığını sınırlamaktadır. Daha kolay bulunan, basit ve tekrarlanabilir hayvan modelleri geliştirilmiştir. İndüklenmiş modeller, AD'nin tedavisi için terapötik ajanların değerlendirilmesinde önemli görülmüştür. Bu modellerin üretilirliği ve kulak kalınlığının ölçülmesiyle nicel değerlendirme sağlaması tedavi denemelerinde diğer modellere göre daha avantajlı olduğunu göstermektedir. AD benzeri lezyonların kısa sürede şekillenmesi ise bir başka avantaj olarak düşünülmektedir. Hapten veya fare türünün değiştirilmesi ile AD'nin klinik

belirtilerindeki heterojenliği yansıtan çeşitli kronik inflamasyon türleri indüklenebilir. Dolayısıyla, AD'nin klinik belirtilerindeki değışkenlik, farklı haptenler ve fare türleri kullanılarak yeniden üretilebilmektedir (Shiohara ve ark, 2004).

Farelerde güçlü bir hapten olan 2,4-dinitroflorobenzene, alerjik kontakt dermatitte CD8 + sitotoksik T hücrelerinin aracılık ettiğini ve CD4 + T hücreleri tarafından aşağı doğru düzenlendiği gösterilmiştir (Bonville ve ark., 2007). Farelerde, aseton içinde çözdürölmüş %0.15 konsantrasyonda 2,4-dinitroflurobenzenin tekrarlanan topikal uygulamasının, nötrofil ve eozinofillerde belirgin infiltrasyona ve epidermin hipertrofisi dahil olmak üzere deride egzematöz değışiklikleri indüklediğini ve kalıcı kaşınmaya neden olduğu bildirilmiştir (Yamashita ve ark., 2010). DNFB uygulanmasından bir veya iki hafta sonra duyarlı hale getirilmiş farelerde IFN γ , TNF- α , IL-2 gibi Th1 sitokinlerinin yükselmesinin sonucu bir Th1 yanıtı görölmektedir (Yuanyuan ve Lin-Feng, 2013).

Farelerde 2,4-dinitroflorobenzen ile oluşturulan atopik dermatit (AD) modelinde klinoptilolite ile takrolimusun atopik dermatit lezyonları üzerindeki etkinliklerinin ortaya konması amaçlanmıştır. Bu amaçla klinoptilolit ve takrolimusun etkileri klinik, biyokimyasal, histopatolojik ve immunohistokimyasal olarak incelenecektir. Yapılan bu fare modeli çalışmanın atopik dermatitisin daha iyi anlaşılması başta Veteriner Hekimliği bilimine olmak üzere Beşerî Hekimlikte de yol gösterici olması amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvan Materyali

Araştırma için kullanılacak CD1 türü dişi fareler, Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Deneysel Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Çalışma süresince Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanlar Etik Kurulu esaslarına uyuldu. 24 haftalık, 32 adet dişi CD1 fare deney gününe kadar standart barınma kafeslerinde tutuldu. Her bir kafeste 8 fare bulunduruldu. Farelere deney boyunca ad-libitum standart pelet yem ve içme suyu verildi. Deney boyunca içme suları günlük değiştirildi ve standart kafes temizliği yapıldı. Fareler 21 C° oda sıcaklığında, havalandırması olan, 12 saat aydınlık-karanlık sikluslar olan odalarda barındırıldı.

Çalışma öncesi Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu Başkanlığı'nın 17.02.2021 Tarih ve 727 karar sayılı etik kurul onayı alındı.

3.2. Grupların Oluşturulması

32 adet dişi CD1 fare rastgele seçilerek dört gruba ayrıldı. Kontrol Grubu (n=8): Kontrol Grubu (3:1) oranında aseton ve zeytinyağı uygulanan fareler,

DNFB Grubu (n=8): 2,4-dinitroflorobenzen (DNFB) ile AD benzeri lezyon oluşturulan fareler,

Takrolimus Grubu (n=8): 2,4-dinitroflorobenzen ile AD benzeri lezyon oluşturulan + topikal takrolimus tedavisi uygulanan fareler,

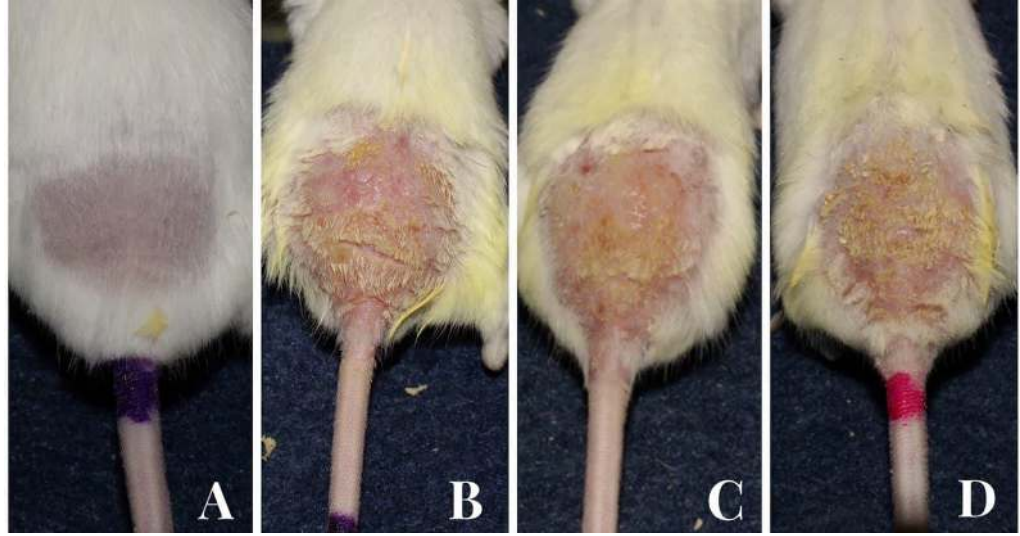
Klinoptilolite Grubu (n=8): 2,4-dinitroflorobenzen ile AD benzeri lezyon oluşturulan + topikal klinoptilolite uygulanan fareler.

3.3. Farelerin Hazırlanması ve Atopik Dermatit Benzeri Lezyonların Oluşturulması

Bütün gruptaki farelerin lumbal bölgeleri tıraşlanarak oluşabilecek mikrotravmaların düzelmesi için bir gün fareler bekletildi. Atopik dermatit benzeri lezyonlar oluşturmak için, dermatit oluşumunda 2,4-dinitroflorobenzen (DNFB) (Sigma, D1529) kullanıldı. DNFB, aseton ve zeytinyağı (3:1) karışımı içinde çözdürüldü. Sensitasyon için farelerin (DNFB, Takrolimus, Klinoptilolite grubu) tıraş edilmiş lumbal bölgelerine 5 hafta boyunca haftada 2 kez olmak üzere 100 µL %0,15 DNFB uygulandı (Kitamura ve ark, 2018). Farelerin lumbal bölgelerinde 5 haftanın sonunda deri lezyonları şekillendi (Şekil 3.1). Farelere 6-9. haftalar arası inflamasyonu korumak için haftada 1 kez 100 µL %0,15 DNFB uygulanmasına devam edildi (Sozmen ve ark., 2016).

Kontrol grubundaki farelere 9 hafta süresince 3:1 aseton zeytinyağı çözeltisi haftada 1 kez olmak üzere 100 µL lumbal bölgelere uygulandı. DNFB grubu farelerin tıraş edilmiş lumbal bölgelerine 5 hafta boyunca haftada 2 kez olmak üzere 100 µL %0,15 DNFB uygulandı. Farelere 6-9. haftalar arası inflamasyonu korumak için haftada 1 kez 100 µL %0,15 DNFB uygulanmasına devam edildi. Takrolimus grubundaki farelere, 6-9. haftalar arası topikal takrolimus (tacrolin %0,1 pomad) günde 1 kez ince bir tabaka halinde lumbal bölgelerine uygulandı. Klinoptilolite grubundaki farelere, 6-9. haftalar arası topikal klinoptilolite (froximun toxaprevent pudra) günde 1 kez lumbal bölgelerine uygulandı.

Farelerin bireysel takibinin yapılması için kuyruk kökleri ve ortaları pembe, mavi, kırmızı, yeşil ve mor kalemler ile boyandı.



Şekil 3.1. Gruplarda 5. haftanın sonunda oluşan atopik dermatit benzeri lezyonlar. A: kontrol grubu, B: DNFB grubu, C: Takrolimus grubu, D: Klinoptilolite grubu.

3.4. Klinik Skorlanması

Fare atopik dermatit modelinde her bir fare için klinik değerlendirme ve deri lezyonlarında hasar derecelendirmesi yapıldı. Buna göre; lezyonlar haftada iki kez eritem, ödem, sıyrık, likenifikasyon, sızıntı/kabuk ve kuruluk bulguları açısından her bir bulgunun derecesi 0 (yok), 1 (hafif), 2 (orta) ve 3 (şiddetli) olarak değerlendirildi. Her farenin 5 semptomundan alınan toplam puan o farenin puanı olarak sayıldı. (Kim ve ark., 2013).

3.5. Kan Örneğinin Alınması ve Serum TARC Düzeyinin Belirlenmesi

Çalışmanın sonunda ksilazin-ketamin yöntemi ile anesteziye alınan farelerden intrakardiyal olarak enjektör (30 gauge) ile toplamda 1 ml kan eppendorf tüplere alındıktan sonra dekapitasyon yapılarak sakrifiye edildi (Şekil 3.2.) Kan alındıktan 30 dk sonra örnekler 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildi ve çıkarılan serum örnekleri -80°C de analiz yapılana kadar saklandı (Birtekoçak ve ark., 2016). Kan serumundan fare TARC ELISA (BTLAB-E2514Mo-96T) test kiti ile Serum Timus Aktivasyonu ile Düzenlenen Kemokin (TARC) düzeyleri belirlendi.



Şekil 3.2. Farelerden intrakardiyal kan alınması

3.6. Histopatolojik, Histokimyasal ve İmmunohistokimyasal İnceleme

Gruplardaki tüm hayvanlardan alınan deri örneklerinde histopatolojik olarak epidermal kalınlık, dermal yangı ve dermal fibrozis düzeyleri ile histokimyasal olarak mast hücre sayımları yapıldı. Ayrıca immunohistokimyasal olarak TSLP pozitifliği değerlendirildi.

Histopatolojik ve immunohistokimyasal inceleme için hayvanların lezyonların bulunduğu lumbal bölgelerinden 2x2 cm²'lik alan epidermis+dermisi içerecek şekilde eksize edildi (Şekil 3.3). Deri örnekleri ışık mikroskopunda değerlendirilmek üzere tamponlanmış %10'luk formoldehit içine koyuldu ve incelenmek üzere Burdur Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim dalına gönderildi. Gruplardan alınan deri biyopsileri 24 saat tespit edilip, dereceli alkol serilerinden geçirildikten sonra rutin histolojik takip prosedürlerini takiben parafin bloklara (Paraplast Plus, Sigma: P3683) gömüldü. Parafin bloklardan mikrotom (Leica RM 2155) yardımı ile 4 µm kalınlığındaki kesitler histopatolojik boyama için lam (Menzel Gläser) üzerine alındı. Kesitler ksilollerde (Xylene-Merck Millipore:108661) deparafinize, alkol serilerinde de dehidre edildi. Kesitler histopatolojik analizler için Hematoksilen & Eozin (H&E) ile boyandı.

Histopatolojik incelemede epidermis kalınlığı ile dermal yangı düzeyleri değerlendirildi. Epidermal kalınlık düzeyi, 100x büyütme ile rastgele seçilen bir alandan 3 farklı ölçüm yapıp ortalaması alınarak belirlendi. Dermal yangı için bir 200x büyütme alanındaki yangı hücreleri (mononükleer hücreler) sayılarak 0-3 arası skora yapıldı. Buna göre 0; yangı yok, 1; hafif yangı, 2; orta dereceli yangı, 3; şiddetli yangı şeklinde skora yapıldı. Son olarak fibrozis açısından da bir 200x büyütme alanında 0; fibrozis yok, 1; hafif fibrozis, 2; orta dereceli fibrozis ve 3; şiddetli fibrozis şeklinde skora yapıldı. Mast hücrelerinin ortaya konulması amacıyla Toluidine Blue boyaması yapıldı. Bu amaçla rutin takip prosedürlerinden geçirilen kesitler üzerine Toluidine Blue solüsyonu damlatılarak 10 dakika beklendi ve ardından kesitler akarsuda yıkandı. Bunun ardından kurutulmaya bırakılan kesitler entellan ile kapatıldı. Toluidin blue ile boyanan preparatlardan rastgele seçilen 200x büyütme alanlarında mast hücresi sayımı yapıldı.

İmmunohistokimyasal analizler için ImmPRESS® Excel Amplified Polymer Staining Kit (Vector Lab, Anti-Rabbit IgG, Peroxidase, MP-7601) kullanıldı. Bu amaçla parafin bloklardan mikrotom (Leica RM 2155) yardımı ile 4 µm kalınlığındaki kesitler (3-aminopropyl) triethoxysilane ile hazırlanmış lizinli lamalar üzerine alınıp, öncelikle etüvde 70 °C’de yarım saat bekletilmeyi takiben ksilollerde (Xylene- Merck Millipore:108661) deparafinize, alkol serilerinde de dehidre edildikten sonra antigen retrieval işlemine geçildi. Antigen retrieval için sitrat buffer (ph:6) solüsyonuna alınan lamalar otoklavda 120 derecede 15 dakika bekletildi. Bu işlemten sonra kesitler 20-30 dakika soğumaya bırakıldı. Fosfat tamponlu salin (PBS) solüsyonunda 5 dakika yıkandıktan sonra endojen peroksidaz aktivitesinin bloke edilmesi için kesitlere BLOXALL® solüsyonu damlatılarak 15 dakika beklendi. İnkubasyon bitince kesitler tekrar PBS solüsyonuyla 5 dakika yıkamaya alınıp devamında nonspesifik bağlanmaları engellemek amacıyla %2,5’lik normal at serumu 20 dakika boyunca uygulandı. Bu aşamadan sonra yıkama yapılmadan antikor sulandırıcı ile (Large Volume UltrAb Diluent Plus Thermo Scientific: TA-125-UDX) 1:1000 oranında sulandırılan anti-TSLP primer antikoru (Novus TSLP antibody, NB110-55234) ile dokular +4 °C’de bir gece inkube edildi. Primer antikor inkubasyonundan sonra PBS ile 5 dakika yıkanan kesitler üzerine Amplifier antibody 15 dakika, ardından da

Impress Polymer Reagent 30 dakika boyunca uygulandı. Ardından immun reaksiyonun gösterilmesi için DAB (ImmPACT EqV Reagent) kullanıldı. DAB solüsyonunu kesitlere dökmeyi takiben ışık mikroskobu altında kontrollü olarak ve tüm kesitlere eşit süre tutulacak şekilde beklendi. Mayer's hematoksilenle (Merck, 109249) 20 saniye zıt boyama yapılan kesitler kurutmaya bırakılarak entellan ile mikroskop altında incelendi. Pozitif kontrol olarak TSLP için fare dalak ve karaciğer dokusu kullanıldı. Negatif kontrolde protein bloklama işleminden sonra primer antikor yerine PBS kullanılıp dokular bir gece bu solüsyon ile inkube edildi.

Histopatolojik, histokimyasal ve immunohistokimyasal kesitlerin fotoğraflarının alınması için Olympus BX51 model mikroskop (Olympus Optical, Tokyo, Japonya) üzerine uyarlanmış bir Olympus DP70 kamera (Olympus, Tokyo, Japonya) kullanıldı. Her bir kesit için farklı büyütmelerde çok sayıda resim alındı. Makroskobik fotoğraflar Samsung NX300 (Samsung, Güney Kore) model fotoğraf makinesi ve 18-55 milimetre lens ile 50 milimetre odak uzaklığında çekildi.

İmunohistokimyasal olarak anti-TSLP ile boyalı kesitler boyanma yoğunluğunun değerlendirilmesi için Quantitative Pathology & Bioimage Analysis (QuPath versiyon 0.2.3) programı kullanıldı. Bu amaçla her bir kesit için 100x mikroskobik büyütme alanında eşit büyüklükte alanlar seçilerek standart program ayarları ile DAB pozitif hücre sayıları belirlendi.

3.7. İstatistiksel Değerlendirme

Tüm gruplardaki farelerin klinik skorlarının değerlendirilmesi İBM SPSS programı ile Repeated Anova testi kullanılarak istatistiksel değerlendirilmesi yapıldı. Serum TARC, histopatolojik, histokimyasal ve immunohistokimyasal bulguların gruplar arasında karşılaştırması için Minitab™ 16.1.1 programıyla One Way Anova ve Tukey testiyle istatistiksel değerlendirilmesi yapıldı.

4. BULGULAR

Araştırmaya kontrol grubu (n=8), DNFB grubu (n=8), takrolimus grubu (n=8) ve klinoptilolite grubu (n=8) olmak üzere toplam 32 adet CD1 dişi fare dahil edildi.

4.1. Farelerin Klinik Değerlendirilmesi

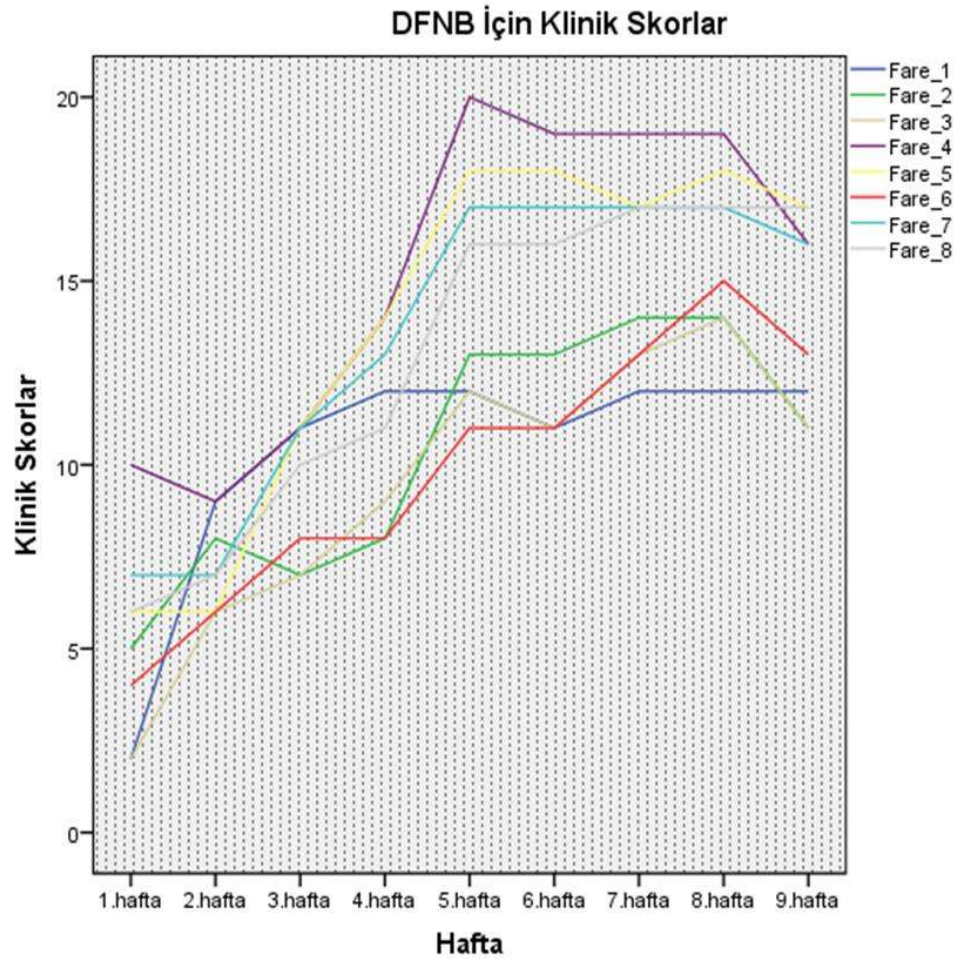
Çalışma süresince tüm gruplardaki farelerin hiçbirinde kilo kaybı ve agresif davranma gibi durumlar izlenmedi. Kontrol grubundaki farelerin tümü çalışma boyunca semptomsuz ve klinik olarak sağlıklıydı. DNFB, takrolimus ve klinoptilolite grubundaki farelerde atopik dermatit benzeri lezyonlar görüldü.

Kontrol grubundaki farelerin derilerinde 9 haftalık çalışma süresince klinik bulguları yönünden hiçbir lezyona rastlanmadı. Fare atopik dermatit modelinde klinik değerlendirme ve deri lezyonlarında hasar derecelendirmesi yapıldı. Buna göre; lezyonlar haftada iki kez eritem, ödem, sıyrık, likenifikasyon, sızıntı/kabuk ve kuruluk bulguları açısından her bir bulgunun derecesi 0 (yok), 1 (hafif), 2 (orta) ve 3 (şiddetli) olarak değerlendirildi. Her farenin 5 semptomundan alınan toplam puan o farenin puanı olarak sayıldı. Klinik olarak farelerin lumbal bölgelerinde genel olarak kaşınmaya bağlı sıyrık, likenifikasyon ve kabuklanma görüldü (Tablo 4.1)

Tablo 4.1. Gruplardaki farelerin haftalık ortalama klinik skorlaması

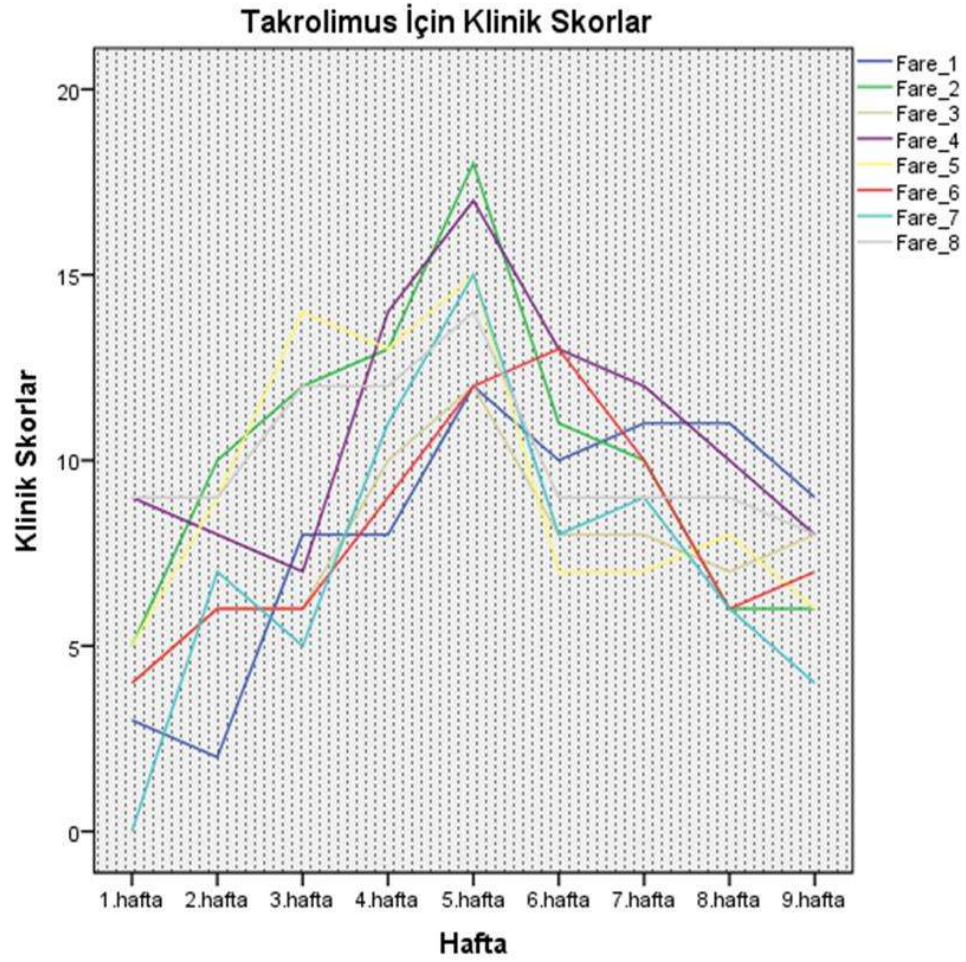
Grup	1.hafta	2.hafta	3.hafta	4.hafta	5.hafta	6.hafta	7.hafta	8.hafta	9.hafta
Kontrol	0	0	0	0	0	0	0	0	0
DNFB (ort±std hata)	5,25±0,97	7,25±0,73	9,50±0,74	11,12±0,6 0	14,87±0,7 5	14,50±9,8 7	14,50±0,8 2	15,25±0,5 8	14,12±0,6 4
Takrolim us (ort±std hata)	4,87±0,97	7,12±0,73	8,75±0,74	11,25±0,6 0	14,37±0,7 5	9,87±0,82	9,50±0,58	7,87±0,61	7,00±0,64
Klinoptilo lite (ort±std hata)	4,37±0,97	7,25±0,73	9,00±0,74	10,75±0,6 0	15,00±0,7 5	9,37±0,82	7,62±0,58	7,00±0,61	6,50±0,64

DNFB grubundaki farelerde çalışma bölgesinde ilk hafta ödem ve eritem ortaya çıkarken ikinci haftadan itibaren kaşıntı, kaşıntıya bağlı sıyrık, sonraki haftalarda ise likenifikasyon ve kabuklanma öne çıkan klinik bulguları. 5. Hafta kabuklanma 3 farede şiddetlenmiştir. 5. haftanın sonunda grubun ortalama klinik skorlaması $14,87 \pm 0,75$ iken 6. haftadan itibaren DNFB uygulama dozunun azaltılmasıyla birlikte grubun ortalama klinik skorlamasında belirgin bir artış veya azalış gözlenmedi (Tablo 4.1, Şekil 4.1). Grup içi yapılan istatistiksel değerlendirmede 5. Hafta ile 9. Haftanın klinik skorlanması arasında anlamlı bir fark gözlenmedi ($p > 0,05$).



Şekil 4.1. DNFB uygulanan gruptaki farelerin klinik skorlaması

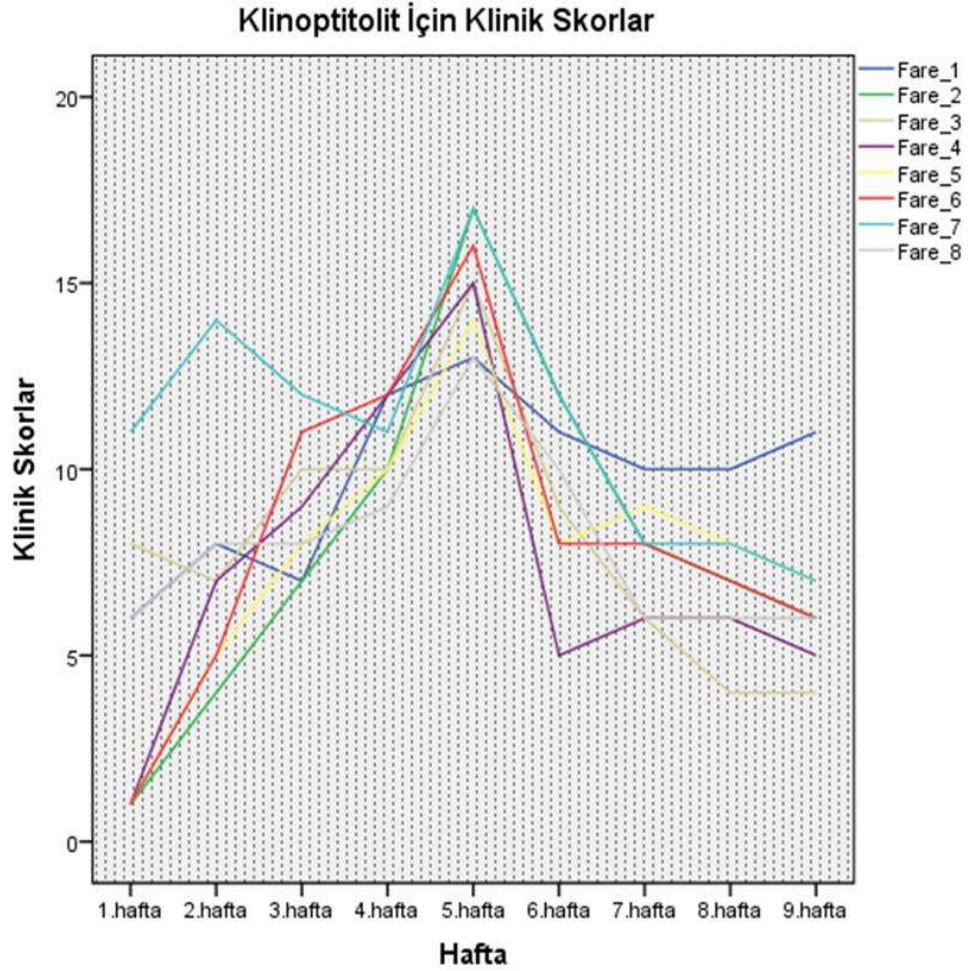
Takrolimus grubundaki farelerde çalışma bölgesinde ilk hafta eritem ortaya çıkarken sadece 2 farede ödem vardı. İkinci haftadan itibaren kaşıntı, kaşıntıya bağlı sıyrık, sonraki haftalarda ise likenifikasyon ve kabuklanma öne çıkan klinik bulgulardı (Tablo 4.1, Şekil 4.2). 5. Haftada 8 farede kabuk oluşmakla birlikte 2 farede kabuk oluşumu daha şiddetliydi. 5. haftanın sonunda grubun ortalama klinik skorlaması $15,00 \pm 0,75$ iken 6. haftadan itibaren DNFB uygulama dozunun azaltılması ve tedavinin başlamasıyla birlikte haftalık ortalama klinik skorunda belirgin bir azalış görüldü. 9. haftanın sonunda grubun ortalama klinik skoru $7,00 \pm 0,64$ ölçüldü ($p < 0,001$). Yapılan istatistiksel değerlendirmede 5. hafta ile takip eden tedavi haftaları değerleri arasındaki farkın önemli olduğu görüldü ($p < 0,001$). Ancak tedavi haftalarının ortalama klinik skorlamasında 7-8. haftalar arası fark hariç ($p < 0,05$), diğer haftalar arasındaki yapılan istatistiksel değerlendirmede farkın anlamlı olmadığı tespit edildi ($p > 0,05$).



Şekil 4.2. Takrolimus uygulanan gruptaki farelerin klinik skorlaması

Kliptilolite grubundaki farelerde çalışma bölgesinde ilk hafta eritem ortaya çıkarken sadece 3 farede ödem vardı. İkinci haftadan itibaren kaşıntı, kaşıntıya bağlı sıyrık, sonraki haftalarda ise likenifikasyon ve kabuklanma öne çıkan klinik bulguları (Tablo 4.1, Şekil 4.3). 5. Haftada kabuk oluşumu 8 farede gözlenirken 2 farede daha şiddetliydi. 5. haftanın sonunda grubun ortalama klinik skorlaması $14,37 \pm 0,75$ iken 6. haftadan itibaren DNFB uygulama dozunun azaltılması ve tedavinin başlamasıyla birlikte haftalık ortalama klinik skorunda belirgin bir azalış görüldü. 9. haftanın sonunda grubun ortalama klinik skoru $6,50 \pm 0,64$ ölçüldü ($p < 0,05$). Yapılan istatistiksel değerlendirmede 5. hafta ile takip eden tedavi haftaları değerleri arasındaki farkın önemli olduğu görüldü ($p < 0,001$). Ancak tedavi haftalarının ortalama klinik

skorlamasında 6-9. haftalar arası fark hariç ($p<0,05$), diğer haftalar arasındaki yapılan istatistiksel değerlendirmede farkın anlamlı olmadığı tespit edildi ($p>0,05$).



Şekil 4.3. Klinoptitolite uygulanan gruptaki farelerin klinik skorlaması

Fareler kontrol grubu hariç diğer gruptaki farelere ilk 5 hafta boyunca DNFB uygulanarak atopik dermatit benzeri lezyon oluşturuldu. Kontrol grubundaki farelere 9 hafta boyunca uygulanan ve atopi benzeri lezyon oluşumunda rolü olmadığı düşünülen taşıt madde uygulandı. Kontrol grubundaki farelerin 9 hafta süresince klinik skorlamalarının 0 veya 0'a yakın değerlerde olduğu görüldü. Kontrol grubunun DNFB, takrolimus ve klinoptitolite grupları ile grupların ortalama klinik skorlaması karşılaştırıldığında ilk hafta farkın önemli ($p<0,01$) bulunmasına karşın daha sonraki

haftalarda bu farkın daha da büyüdüğü ve istatistiksel anlamda oldukça önemli görüldü ($p>0,001$). DNFB grubundaki farelerin ortalama klinik skorları takrolimus ve klinoptilolite gruplarının ortalama klinik skor değerleri ile karşılaştırıldığında; ilk 5 hafta boyunca gruplar arası bir farkın oluşmadığı ($p>0,05$), 6. haftadaki farkın önemli olduğu ($p<0,01$), 7. ve sonraki haftalardaki farkın ise oldukça önemli olduğu görüldü ($p<0,001$). Takrolimus ve klinoptilolite gruplarının ortalama klinik skor değerlerine bakıldığında ilk 5 hafta boyunca paralel bir seyir izlediği görüldü. Tedavinin başladığı 6.haftadan itibaren bu paralelliğin benzer şekilde seyrettiği tespit edildi. Ancak gruplar arası yapılan istatistiksel değerlendirmede 7. haftadaki farkın önemli bulunmasına karşın ($p<0,05$) geri kalan tüm haftalar arasındaki farkın istatistiki olarak önemli olmadığı bulundu ($p>0,05$).

4.2. Serum Timus Aktivasyonu ile Düzenlenen Kemokin (TARC) Düzeyleri

Çalışmanın sonunda (9.haftanın bitimi) tedavi grupları olan takrolimus ve klinoptilolite gruplarında ortalama serum TARC düzeyleri sırasıyla $252,1\pm13,5$ ng/L ve $249,9 \pm 14,4$ ng/L olarak ölçüldü. Bu değerler kontrol grubu ortalama serum TARC ($265,9\pm15,9$) seviyesine göre düşük, DNFB grubu ortalama serum TARC seviyelerine ($230,3\pm10,0$) göre yüksek bulundu. Yapılan gruplar arası istatistiksel değerlendirmede ise serum TARC seviyeleri açısından anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0,05$) (Tablo 4.3).

Tablo 4.2. Gruplardaki farelerin serum TARC düzeyleri (ng/L)

	Kontrol	DNFB	Takrolimus	Klinoptilolite	P değeri
Serum TARC (ort±std hata) (min-max)	$265,9\pm15,9$ 225-357	$230,3\pm10,0$ 191-275	$252,1\pm13,5$ 211-320	$249,9 \pm 14,4$ 201-320	$p>0,05$

4.3. Histopatolojik, Histokimyasal ve İmmunohistokimyasal Bulgular

Çalışmanın sonunda hayvanların biyopsi örneklerinde histopatolojik olarak epidermal kalınlık, dermal yangı ve fibrozis düzeyleri değerlendirildi.

Epidermal kalınlık düzeyleri açısından yapılan değerlendirmelerde kontrol grubuna ($18,75 \pm 0,52$) göre DNFB grubunda belirgin bir artış gözlemlendi ($p < 0,001$). Takrolimus ($107,25 \pm 6,470$) ve klinoptilolite gruplarında ($83,25 \pm 4,95$) da DNFB ($179,00 \pm 9,02$) grubuna göre anlamlı derecede daha düşük epidermal kalınlık düzeyleri elde edildi ($p < 0,001$). Ayrıca klinoptilolite grubunda takrolimus grubuna göre epidermal kalınlık düzeyinin anlamlı derecede düşük olduğu dikkati çekti ($p < 0,001$) (Tablo 4.3, Şekil 4.4).

Dermal yangı açısından yapılan değerlendirmede kontrol grubuna ($0,00 \pm 0,00$) göre DNFB grubunun ($2,75 \pm 0,25$) anlamlı derecede yüksek bulundu ($p < 0,001$). Takrolimus grubunun ($2,25 \pm 0,25$) dermal yangı değeri DNFB grubuna göre düşük bulunurken, klinoptilolite grubunda ($1,75 \pm 0,25$) ise DNFB grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu tespit edildi ($p < 0,001$). Takrolimus ve klinoptilolite grupları arasında dermal yangı açısından anlamlı bir farklılık gözlenmezken, takrolimus ve klinoptilolite gruplarının kontrol grubuna göre belirgin bir yangı varlığı tespit edildi ($p < 0,001$) (Tablo 4.3, Şekil 4.4).

Dermal fibrozis açısından yapılan değerlendirmede DNFB ($2,50 \pm 0,26$), takrolimus ($2,37 \pm 0,37$) ve klinoptilolite ($2,00 \pm 0,18$) gruplarında kontrol ($0,00 \pm 0,00$) grubuna göre anlamlı derecede bir artış görüldü ($p < 0,001$). DNFB, takrolimus ve klinoptilolite gruplarının kendileri arasında ise herhangi bir farklılık görülmedi (Tablo 4.3, Şekil 4.4).

Toluidine Blue ile boyalı kesitler üzerinde yapılan sayımlarda mast hücrelerinin kontrol grubuna ($7,88 \pm 1,32$) göre DNFB grubunda ($25,75 \pm 3,10$) anlamlı bir artış gösterdiği dikkati çekti ($p < 0,001$). Bununla beraber takrolimus ($26,13 \pm 2,99$) ve klinoptilolite ($24,13 \pm 3,40$) grupları ile DNFB grubu arasında anlamlı bir farklılık

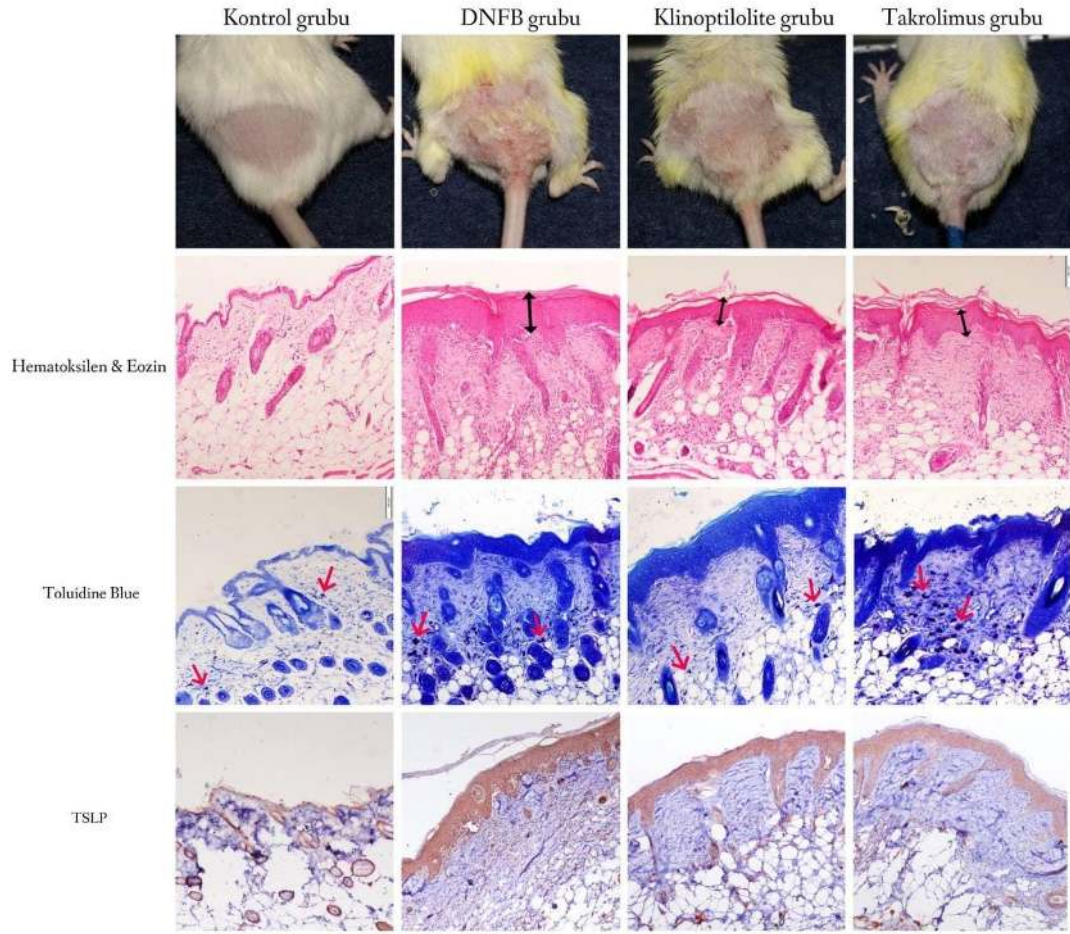
görülmezken ($p>0,05$), kontrol grubuna kıyasla anlamlı derecede bir artış gözlemlendi ($p<0,001$) (Tablo 4.3, Şekil 4.4).

Tablo 4.3. Gruplardaki farelerin histopatolojik ve immunohistokimyasal bulguları

Grup	Epidermal Kalınlık (μm)	Dermal Yangı	Dermal Fibrozis	Mast Hücre Sayısı	TSLP Pozitifliği
Kontrol (ort$\pm$std hata)	18,75 $\pm$ 0,52 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	0,00 $\pm$ 0,00 ^a	7,88 $\pm$ 1,32 ^a	77,80 $\pm$ 14,40 ^b
DNFB (ort$\pm$std hata)	179,00 $\pm$ 9,0 ^{2b}	2,75 $\pm$ 0,25 ^{0c}	2,50 $\pm$ 0,26 ^{0b}	25,75 $\pm$ 3,1 ^{0b}	291,6 $\pm$ 45,60 ^a
Takrolimus (ort$\pm$std hata)	107,25 $\pm$ 6,4 ^{7d}	2,25 $\pm$ 0,25 ^b ^c	2,37 $\pm$ 0,37 ^b	26,13 $\pm$ 2,9 ^{9b}	124,9 $\pm$ 46,30 ^b
Klinoptilolite (ort$\pm$std hata)	83,25 $\pm$ 4,95 ^c	1,75 $\pm$ 0,25 ^b	2,00 $\pm$ 0,18 ^b	24,13 $\pm$ 3,4 ^{0b}	132,40 $\pm$ 42,2 ^{0b}

^{a,b,c}: Aynı satırda farklı harfi taşıyan ortalamalar arası istatistiki fark anlamlıdır.

İmmunohistokimyasal olarak anti-TSLP ile boyalı kesitlerden elde edilen pozitif hücre sayıları üzerinden yapılan istatistiksel analizler sonucunda DNFB grubunda (291,6 $\pm$ 45,6) kontrol grubuna (77,80 $\pm$ 14,4) kıyasla anlamlı derecede pozitif hücre artışı belirlendi ($p<0,01$). Takrolimus (124,90 $\pm$ 46,30) ve klinoptilolite (132,4 $\pm$ 42,2) gruplarının her ikisinde de TSLP pozitifliğinin kontrol grubuna göre yüksek bulunsa da aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olmadığı, DNFB grubuna göre ise anlamlı derecede düşük olduğu görüldü ($p<0,01$). Takrolimus ve klinoptilolite grupları arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede gruplar arası farkın önemli olmadığı tespit edildi (Tablo 4.3, Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Gruplar arasında dermal lezyonların karşılaştırmalı görünüşleri. Kontrol grubunda makroskopik olarak normal dermal görünüm. DNFB grubunda makroskopik olarak şiddetli atopik dermatit benzeri dermal görünüm. Takrolimus ve klinoptilolite gruplarında makroskopik olarak azalmış şiddette atopik dermatit benzeri dermal görünüm. Epidermal kalınlık düzeyinde DNFB grubunda belirgin ölçüde artış, takrolimus ve klinoptilolite gruplarında epidermal kalınlık düzeylerinde azalma, 100x, H&E. Mast hücrelerinde kontrol grubuna kıyasla DNFB, takrolimus ve klinoptilolite gruplarında artış, 100x, Toluidine Blue. İmmunohistokimyasal olarak kontrol grubunda düşük TSLP pozitifliği, DNFB grubunda yüksek düzeyde pozitiflik, takrolimus ve klinoptilolite gruplarında azalmış TSLP pozitifliği, 100x, DAB.

5. TARTIŞMA

Atopik dermatit, klinik olarak deride eritem, likenifikasyon, aşırı kutanöz duyarlılık ve yoğun kaşıntı ile seyreden, kronik ve tekrarlayan inflamatuvar bir deri hastalığıdır (Leung ve Bieber, 2003). İmmünolojik anormallikler dahil olmak üzere çeşitli faktörler AD'nin patogeneze ve gelişimine katkıda bulunmaktadır (Choi ve ark., 2013b).

Atopik dermatitte spontan klinik semptomlar kaşıntı, eritem, kanama, pullanma, kuruluk ve alopesi ile başlamaktadır (Shiohara ve ark., 2004). Hapten kaynaklı dermatitisin şiddeti, kaşıntı ve kızarıklık ile birlikte hafif ve geçici bir cilt iltihabından ciddi ve uzun süreli eksüdatlı dermatite kadar büyük ölçüde değişebileceği bildirilmiştir. Dermatitin şiddetini, haptenlerin konsantrasyonlarının ve maruz kalma koşullarının etkilediği bildirilmiştir. (Bonneville ve ark., 2007). Hapten kaynaklı atopik dermatit benzeri lezyon oluşturulan farelerin ortalama klinik skorlaması eritem/hemoraji, ödem, eksskorasyon/erozyon ve kuruluk/kabuklanma yönünden değerlendirilmiştir. DNFB grubunun, uygulanmayan gruba göre ortalama klinik skorunun yüksek olduğu bildirilmiştir (Kim ve ark., 2013). DNFB uygulanarak fareler üzerinde yapılan başka bir çalışmada DNFB uygulanan grupta uygulanmayan gruba göre ortalama klinik skoru yüksek bildirilmiş ayrıca DNFB grubundaki farelerin sırt derisinde şiddetli eritem, erozyon ve kuruluk rapor edilmiştir (Tang, 2020). DNCB uygulanarak yapılan atopik dermatit benzeri lezyon oluşturulan farelerin eritem, kuruluk, ödem, sıyrık oluşumuna bakılarak yapılan dermatit skorlanmasında DNCB uygulanmayan kontrol grubu farelerde klinik skorları 0'a yakın, tedavi gruplarının ise DNCB uygulanan farelere göre düşük düzeyde olduğu bildirilmiştir (Choi ve ark., 2013b). DNCB ile yapılan bir başka çalışmada atopik dermatit benzeri lezyon oluşturulan grupta dermatit skorundaki yüksekliğin anlamlı olduğu rapor edilmiştir (Choi ve ark., 2020). Bu çalışmada değerlendirilen eritem, ödem, sıyrık, likenifikasyon, sızıntı/kabuk ve kuruluk klinik skorlar diğer araştırmacıların klinik skor parametreleri ile benzerdi. Bizim çalışmamızda da diğer araştırmacılara paralel olarak sadece taşıt madde uygulanıp atopik dermatit benzeri lezyon oluşturulmayan farelerin ortalama klinik skorunun 0'a yakın olduğu tespit edildi. DNFB uygulanan ve atopik dermatit benzeri lezyon oluşturulan grubun ortalama klinik skorları, kontrol ve

diğer gruplara kıyasla yüksek bulundu. Bu sonuçlar ışığında çalışmamızın sonuçları diğer araştırmacıların bulguları ile paralel seyrettiği belirlenmiştir. Farelerde oluşan dermatitisin klinik lezyonlarının DNFB'nin tekrarlayan topikal uygulamaları sonucu, derinin ekzematöz değişikliklerin indüklendiği ve kaşınmaya neden olan epidermisin hipertrofisiyle birlikte nötrofil ve eozinofil infiltrasyonu sonucu gelişen yangısel süreçten kaynaklandığı kanısına varıldı.

Atopik dermatit, aynı zamanda T hücresi aracılı inflamatuvar bir deri hastalığıdır. AD'de immünolojik ve inflamatuvar süreçlerin düzenlenmesinde çeşitli hücreler, inflamatuvar mediatörler ve sitokinler rol oynamaktadır. AD'de, patolojik lezyonlara doğru inflamatuvar hücre infiltrasyonunu hızlandıran TARC, MDC ve CTACK gibi kemotaktik faktörler aracılık etmektedir. İnflamatuvar hücrelerin inflamasyon bölgelerine sızması, kemokin ailesinin lökosit kemoatraktan aktivitesi sergileyen çeşitli üyelerinin lokal üretimine bağlıdır (Oshio ve ark., 2009). TARC, timusta yapısal olarak eksprese edilen ve dendritik hücreler (DC), endotelial hücreler, keratinositler (KC), bronşiyal epitel hücreleri ve fibroblastlar tarafından üretilen CC kemokin grubunun bir üyesidir. Ağırlıklı olarak Th2 lenfositlerinde, bazofillerde ve doğal öldürücü hücrelerde eksprese edilen CCR4 için bir ligandır. AD'nin akut fazında özellikle Th2 hücrelerinin baskın olduğu düşünülmektedir buna bağlı olarak patogenezinde TARC'ın önemli bir yeri vardır (Kakinuma ve ark., 2001; Saeki ve Tamaki, 2006). İnsan AD için bir fare modeli olan NC/Nga farelerinde yapılan bir çalışmada, TARC'ın lezyonlu derinin bazal epidermisinde yüksek oranda eksprese edildiği, buna karşın lezyonlu olmayan deride eksprese edilmediği gösterilmiştir (Saeki ve Tamaki, 2006). Yüksek serum TARC seviyeleri, AD hastalarında hastalık şiddeti ile ilişkilidir (Kabashima-Kubo ve ark., 2012). TARC, özellikle orta ila şiddetli vakalar olmak üzere, AD'nin teşhisi ve AD'nin hastalık aktivitesinin değerlendirilmesi için yararlı bir laboratuvar belirteci olabilir (Saeki ve Tamaki, 2006). Atopik dermatitli süt çocuklarında yapılan bir çalışmada atopik dermatitli çocukların sağlıklı çocuklara göre serum TARC düzeyleri anlamlı derecede yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada serum TARC düzeyinin cinsiyet, anne sütü alma ve doğum şekli, ailede atopi öyküsünün bulunması açısından anlamlı bulunmadığı bildirilmiştir (Birtokocak ve ark., 2016). İnsanlarda yapılan başka bir çalışmada AD hastalarının serum TARC

seviyeleri, sağlıklı grup ile kıyaslandığında anlamlı bir şekilde yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, AD'li hastaların serum TARC seviyeleri, ciddi hastalık bulguları gösteren grupta, orta veya hafif şiddetteki hastalara göre arttığı tespit edilmiştir. Ek olarak AD'li insanların TARC düzeyleri tedavinin etkinliğine paralel olarak klinik semptomlarda da iyileşme rapor edilmiştir (Kakinuma ve ark.,2001). Atopik dermatitli köpeklerde yapılan bir çalışmada, serum TARC konsantrasyonlarının, AD'li köpeklerde sağlıklı köpeklere göre önemli ölçüde daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca serum TARC konsantrasyonlarının, AD'li köpeklerde, klinik skorlarının düşmesi ile de korele olduğu tespit edilmiştir (Asahina ve ark., 2020). Ev tozu akarı özütüyle yapılan bir çalışmada ev tozu akarı özütü uygulanan grupta, uygulanmayan gruba kıyasla serum TARC seviyesi daha yüksek bulunmuştur (Chiba ve ark., 2012). DNCB uygulanarak atopi benzeri dermatit oluşturulan farklı çalışmalarda DNCB uygulanan grupların ortalama serum TARC seviyeleri, uygulanmayan kontrol gruplarına göre yüksek olduğu ifade edilmiştir (Choi ve ark., 2013a; Choi ve ark., 2013b; Choi ve ark., 2020). Doku TARC seviyesine bakılarak yapılan çalışmalarda serum TARC seviyelerine paralellik gösteren sonuçlar bildirilmiştir. Bu çalışmalarda atopik dermatit benzeri lezyon oluşturulan gruplarda lezyon oluşturulmayan gruplara kıyasla önemli ölçüde yüksek bulunduğu rapor edilmiştir (Lim ve ark., 2018; Ngo ve ark., 2020). Bizim yaptığımız çalışmada ise DNFB uygulanarak atopik dermatit benzeri lezyon oluşturulan grubun kontrol grubuna göre serum TARC seviyesinin düşük olduğu görülürken, ayrıca tedavi uygulanan gruplarında kontrol grubunun seviyesinden yüksek olduğu tespit edildi. Diğer araştırmacıların ortaya koyduğu serum TARC seviyelerinin sonuçları bizim çalışmamızla paralellik göstermediği tespit edildi. AD'nin akut aşamasında Th2 hücreleri tarafından salınan TARC'ın doku ve serum seviyelerinde artışa neden olabileceği bilinmesine rağmen yapılan bu çalışmada klinik ve histopatolojik değerlendirmeler doğrultusunda yangısel sürecin geliştiği ancak bunun serum TARC düzeylerine yansımadığı tespit edildi.

Atopik dermatitin histopatolojik ve immunohistokimyasal bulguları yangı varlığı ve şiddetinin ortaya konması ile tedavi etkinliğinin değerlendirmesi açısından önem arz eder. Bu amaçla bizim çalışmamızda epidermal kalınlık, mast hücresi sayımı, dermal yangı ve dermal fibrozisin değerlendirilmesi yapıldı. Atopik dermatitte, deri

biyopsisinin akut, subakut veya kronik dermatit durumlarını ortaya çıkarabileceğinden dolayı hastalığı direkt tanımlayan histopatolojik bulgular bildirilmemiştir. Ancak kronik aşamada, iyileşen veya iyileşmiş lezyonlarda yoğun kollajen varlığı rapor edilmiştir. Ayrıca dermal fibrozisin kronik aşamada AD'nin göze çarpan bir bulgusu olduğu da ifade edilmiştir (Lee ve ark., 2019). Akut AD lezyonlarının histopatolojik bulgularında eozinofillerde artış ile eozinofillerin dermal infiltrasyonu görülürken, kronik AD lezyonlarında ise kollajen miktarında artış ve dermal kalınlaşmanın ön plana çıkabileceği rapor edilmiştir. Ek olarak mast hücrelerinin sayısında da artış görülmekte, ancak nötrofil birikiminin sınırlı olabileceği ileri sürülmüştür (Jin ve ark., 2009). Fareler üzerinde DNFB uygulanarak oluşturulan AD'de hem epidermisin hem de dermisin kalınlaşmasına neden olduğu ve ayrıca nötrofil, eozinofil, lenfosit ve mast hücre birikmesi gibi güçlü inflamatuvar değişikliklerin varlığı bildirilmiştir (Inagaki ve ark., 2006). Oxazolone'un tekrarlanan uygulamasıyla alerjik kontakt dermatit oluşturulan farelerle yapılan bir çalışmada, Oxazolone uygulanan grubun uygulanmayan gruba kıyasla epidermal kalınlığının daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Ostrowski ve ark., 2014). Atopik dermatitli 31 insandan alınan punch biyopsisinin histopatolojik değerlendirilmesinde lezyonlu bölgeden alınan atopik dermatit örneklerinin, lezyonel olmayan bölgelere kıyasla doku eozinofil yoğunluğunun yüksek olduğu rapor edilmiştir (Kiehl ve ark., 2001). Ginepiglerde DNCB ile alerjik kontakt dermatit oluşturulan bir çalışmanın sonunda yapılan histopatolojik değerlendirmeye göre DNCB uygulanıp tedavi edilmeyen grubun dermisinde çok fazla nötrofil infiltrasyonu bulunurken, tedavi edilen gruplarda ise nötrofillerin az sayıda olduğu bildirilmiştir (Bhol ve ark., 2004). Deri hasarına neden olan sodyum lauril sülfat ile indüklenen C57BL/6 farelerinde yapılan bir çalışmada, sodyum lauril sülfatın temas ettirilmesi sonucu epidermiste kalınlaşmaya neden olduğu ifade edilmiştir (DaSilva ve ark., 2012). TNBS'nin tekrarlanan topikal uygulaması ile Nc/Nga farelerinde yapılan bir çalışmada, atopik dermatit benzeri lezyonlara sahip gruptaki farelerin epidermisinde yoğun inflamatuvar hücre infiltrasyonu gözlemlendiği belirtilmiştir (Taniguchi ve ark., 2003). Ev tozu akarı özütü ile atopik benzeri dermatit oluşturulan farelerde yapılan bir çalışmada, histopatolojik inceleme sonucunda dermis ve epidermiste önemli bir kalınlaşmanın olduğu belirtilmiştir. Buna ek olarak inflamasyon alanında eozinofil ve mast hücreleri gibi dermal yangı hücrelerinde artış tespit

edilmiştir (Yamamoto ve ark., 2007; Yoou ve ark., 2018). 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA) ile alerjik dermatit oluşturulan ratlarda yapılan bir çalışmanın sonucunda dermal yangıyla karakterize histopatolojik değişikliklerin görüldüğü ifade edilmiştir. Lezyonlu bölgede epidermal keratinositlerin proliferasyonu, dermisin kalınlaşması ve epidermal hiperplaziye bağlı deri kalınlaşması rapor edilmiştir (Antwi ve ark., 2018). Atopik dermatitli köpeklerden alınan deri biyopsilerinde konjesyon, vazodilatasyon ile yaygın mononükleer hücre ve nötrofil infiltrasyonu gibi yangısel değişikliklerin varlığı bildirilmiştir (Olivry ve ark., 2001). AD'li ve sağlıklı köpeklerin deri biyopsilerinin karşılaştırıldığı başka bir çalışmada, AD'li köpeklerin sağlıklı köpeklerin derisine kıyasla mononükleer hücre sayısında büyük bir artış ifade edilirken, eozinofil ve mast hücre sayılarındaki artışın anlamlı olmadığını bildirmişlerdir (Nimmo Wilkie ve ark., 1990). İlaç etkinliğinin değerlendirildiği DNFB ile indüklenmiş murin ve fare modellerinde oluşturulan atopik dermatit olgularında dokunun histopatolojik değerlendirmesinde mast hücre sayısında artış (İnagaki ve ark., 2006; Yamashita ve ark., 2010) ve dermiste fibrozis oluşumu gözlemlendiği ifade edilmiştir (İnagaki ve ark., 2006). Atopik dermatit oluşturulan farelerde yapılan başka bir çalışmada, deri iltihabındaki belirgin azalmaya rağmen, dermal ve hipodermal alanlarda yoğun kollajen birikiminin şekillendiği ve bunun fibrozis ile ilişkili olduğu rapor edilmiştir (Oh ve ark., 2011). Bizim çalışmamızda epidermal kalınlık, dermal yangı, dermal fibrozis ve mast hücre sayısı parametreleri açısından değerlendirildiğinde sadece taşıt madde uygulanıp yangı oluşturulmayan kontrol grubunun DNFB uygulanan diğer gruplara göre düşük değerlerde olduğu tespit edildi. Bununla birlikte tedavinin uygulandığı klinoptilolite ve takrolimus gruplarındaki tedavi yanıtı ile birlikte bu değerlerin DNFB grubuna göre düşük olduğu bulundu. Bu bulgular ışığında DNFB uygulanan gruplarda yangının başarılı bir şekilde oluşturulduğu buna bağlı olarak yangı parametrelerinde artış gözlemlendi. Tedavinin etkinliği ile birlikte yangısel sürecin nispeten sınırlandırıldığı kanısına varıldı.

Timik stromal lenfopoietin (TSLP), hem farelerde hem de insanlarda atopi ve ilgili hastalıkların başlatılması, geliştirilmesi ve ilerlemesinde görev alan bir sitokindir. TSLP, hem farelerde hem de insanlarda deri, akciğer ve bağırsağın bariyer yüzeylerindeki epitel hücreleri tarafından eksprese edilir. TSLP ekspresyonu, AD'li

hastalarda lezyonlu derinin epidermisinde, alerjik olmayan dermatitlere veya sağlıklı derilere göre daha yüksek olduğu ifade edilmiştir (Indra, 2013). Bambu tuzunun atopik dermatit benzeri lezyonlar üzerinde etkinliğinin değerlendirildiği bir çalışmada, DNFB ile indüklenen AD farelerinin doku TSLP yoğunluğunun tedavi edilen gruplara göre yüksek olduğu bildirilmiştir (Yoou ve ark., 2018). Atopik dermatitli insanlarda yapılan bir çalışmada doku TSLP pozitifliğinin lezyonlu deride sağlıklı kontrol derisine kıyasla arttığı bildirilmiştir (Luo ve ark., 2013). Ovalbumin ile atopik dermatit oluşturulan farelerin epidermisinde negatif kontrol grubundaki farelere göre TSLP pozitif hücrelerin daha fazla olduğu rapor edilmiştir (Kim ve ark., 2012). Yaptığımız bu çalışmada doku TSLP pozitifliğinin DNFB'nin uygulanmasıyla birlikte arttığı görülürken, tedavi uygulanan gruplarda ise bu artışın nispeten sınırlı kaldığı tespit edildi. Vardığımız bu sonuçlar doğrultusunda, oluşan yangısel süreçte mast hücre sayısındaki artışa paralel olarak doku TSLP pozitifliğinde artış olduğu kanısına varıldı.

Takrolimus (TCI) merhem topikal kalsinörin inhibitörüdür ve özellikle atopik dermatitin tedavisi için geliştirilen topikal uygulamalardan biridir. TCI'lerin daha seçici bir etki şekli vardır. TCI'ler spesifik olarak AD'nin patogenezinin altında yatan temel immünolojik mekanizmaları hedefler ve öncelikle lezyonlu derideki T hücreleri üzerinde etkili olmaktadır (Yamashita ve ark., 2010; Rustin, 2007). Atopik dermatitli farelerde %0,1'lik takrolimusun, klobetazol propiyonat ve betametazon maleat ile karşılaştırıldığı bir çalışmada, dermatit skoru, kaşınma davranışı, doku kuruluğu ve eozinofil sayısı açısından etkin bulunurken, epidermal kalınlık, mast hücre sayısı ve doku TSLP yoğunluğu açısından nispeten yetersiz olduğu bildirilmiştir (Noguchi ve ark., 2017). Ev tozu akarı özütü ile indüklenen NC/Nga farelerinde atopik dermatit tedavisinde takrolimus merheminin özellikle kaşınma davranışının baskılanmasında, mast hücre ile eozinofillerin infiltrasyonun azaltılmasında ve TARC salınımının baskılanmasında oldukça etkili olduğunu göstermektedir (Oshio ve ark., 2009). DNFB uygulanarak farelerde yapılan atopik dermatitte siklosporin A ve takrolimusun pasif kutanöz anaflaksinin neden olduğu kaşınma davranışının baskılanması ve mast hücre kaynaklı alerjik reaksiyonların supresyonuna katkı sağladığı rapor edilmiştir (Yamashita ve ark., 2010). DNFB ile atopik dermatit oluşturulmuş farelerle yapılan bir çalışmada DNFB'nin oluşturduğu güçlü inflamatuvar değişiklikler (epidermis ve

dermisin kalınlaşması ile eozinofil ve lenfositlerde artış) deksametazon ile belirgin şekilde baskılanabilirken takrolimusun antienflamatuar etkisinin daha az belirgin olduğu ifade edilmiştir (İnagaki ve ark., 2006). Köpekler üzerinde yapılan bir çalışmada takrolimus tedavisinin lokalize hastalığı olan köpeklerin, yaygın hastalığı olan köpeklere göre daha iyi yanıt verdiği bildirilmiştir (Marsella ve ark., 2004).

Doğal klinoptilolite zeolit, mikro gözenekli, iyon ve kristal su ile doldurulmuş bir tuf taşıdır. 0,4 nanometrelik kristal kafes kanallarına sahip bir alüminyum silikattır. Klinoptilolite zeolitlerinin temel yapısı, yaklaşık 4 Ångström boyutunda (1 Ångström = 1010 m = 0,1 nm) içinde boşluklar olan kristal bir kafestir. Şimdiye kadar doğal zeolitlerde (klinoptilolitlerde) en az 34 mineral tespit edilmiştir. Yalnızca klinoptilolite zeolit, insan ve hayvanların tedavisi için uygundur. Tolere edilebilir dozlarda verildiğinde uzun vadede insanlarda ve hayvanlarda hiçbir zararlı etkisi bulunmamıştır (Hecht 2011). Klinoptilolit tozu, antiviral, antibakteriyel, antifungal ve emici özellikler sergilemektedir.

Fare, rat ve köpeklerin çeşitli tümör tiplerinde yapılan model bir çalışmada, klinoptilolitenin diyetle alınması sonucunda genel sağlık durumunda iyileşmeye, yaşam süresinin uzamasına ve tümör boyutunun küçülmesine katkı sağladığı belirtilmiştir (Pavelic ve ark. 2001). Parsiyel hepatektomi uygulanan sıçanlarda klinoptilolitein oral uygulamasının lipid peroksidasyonunu azalttığı ve karaciğer fonksiyonlarının normalleşmesine katkı sağladığı rapor edilmiştir. (Sarıbeyoglu ve ark., 2011). Fareler üzerinde yapılan yaşlanmayla ilişkili nörodejenerasyon oluşturulan hayvan modellerinde diyetteki zeolitin mitokondriyal reaktif oksijen türleri üretimini azalttığı, hipokampusta süperoksit dismutaz aktivitesi arttırdığı ve fare beyinde amiloid seviyelerini düşürdüğü araştırmacılar tarafından bildirilmiştir (Montinaro ve ark., 2013). Yara iyileşmesi üzerinde yapılan 5 farklı tedavi materyalinin değerlendirildiği bir çalışmada, klinoptilolitein yara iyileşmesine anlamlı derece katkı sağladığı bildirilmiştir. Mikroskobik olarak yara bölgesinde inflamasyonu düşürdüğü ve kollajen oluşumu ve fibroblast proliferasyonunu arttırdığı rapor edilmiştir. (Uraloglu ve ark., 2012). Ratlarda mastektomi yapılan bir çalışmada lokal klinoptilolite uygulamasıyla yara bölgesinin histopatolojik değerlendirilmesinde fibrin birikimi, konjesyon, lökosit, fibroblast, lenfosit ve makrofaj değerleri açısından fark

olsada istatistiksel olarak önem arz etmediği ancak sero-emici özelliği bakımından seroma oluşumunu azalttığı araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Aksoy ve ark., 2019). Diyabetli ratlarda inflamutuar hücre sayısı, fibroblast, kollajen yoğunluğu ve yara büyüklüğünün değerlendirilerek yara iyileşmesi üzerine yapılan bir çalışmada klinoptilolite uygulanan grubun makroskopik gözlemler ve histopatolojik bulgulara göre etkili bir tedavi seçeneği olabileceği bildirilmiştir (Gökçe ve ark., 2018). Ratlar üzerinde diyetle farklı dozlarda klinoptilolite katılımıyla yapılan bir çalışmada, %6 oranında klinotilolite katılımının kollajen yoğunluğunu ve epidermal kalınlığı arttırdığı rapor edilmiştir (Demirel ve ark., 2015). Yara tedavisinde kullanılmak üzere antimikrobiyel pansuman materyali olarak jelatin bazlı klinoptilolite ve gümüş içeren preparatların yara bölgesindeki *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* üremesini azaltarak yara iyileşmesine katkı sağlayabileceği araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir (Hubner ve ark., 2020).

Takrolimus, öncelikle etkilenen derideki T hücreleri üzerinde etki ederek T hücre aktivasyonunu önlediği ve proinflamatuvar sitokinlerin salınımını baskıladığı düşünülmektedir. Sitozolik FK506 bağlayıcı proteine-12 bağlanarak kalsinörin enziminin aktivitesini inhibe eden bir kompleks oluşturduğu ve T hücresi aktivasyonunu bloke ettiği ileri sürülmektedir. Takrolimus spesifik olarak AD'nin patogenezinde yer alan bağışıklık hücrelerini etkileyerek, mast hücrelerinde, eozinofillerde ve bazofillerde sitokin üretimini ve salınımını bloke eder, antijen sunan dendritik hücreler tarafından T hücre aktivasyonunu inhibe eder ve inflamatuvar dendritik epidermal hücrelerin sayısını azaltır (Rustin, 2007). Klinoptilolitin bir kafes olarak hareket ettiği ve molekülün çeşitli iyon ve bileşikler hapsetmesine olanak sağladığı düşünülmektedir. Klinoptilolitin MHC sınıf II, makrofaj ve diğer mononükleer fagositik hücreleri aktive ederek sitokinler üzerinde etkisi olduğu ileri sürülmektedir. Klinoptilolite, IL-1 ve TNF-alfa faktör gibi proinflamatuvar sitokinler ve aktivatör protein 1, nükleer faktör beta gibi transkripsiyon faktörlerinin salınımına neden olarak T hücre miktarında artışa neden olmaktadır. Sitokin etkinliğinin, granülasyon dokusu oluşumunu hızlandırarak yara iyileşmesinde etkili olduğu bildirilmiştir (Tunk, 2011). Tacrolimus ve klinoptilolite uygulanarak yapılan tedavinin başladığı 6.hafta itibariyle eritem, ödem, likenifikasyon, sıyrık, kuruluk ve

kabuklanma dahil olmak üzere DNFB'nin neden olduğu atopik benzeri dermatitin klinik bulguların şiddetini her iki ilacında önemli ölçüde azalttığı tespit edildi. Klinik iyileşme bakımından tedavi grupları değerlendirildiğinde klinoptilolite grubunun ortalama klinik skorunun takrolimus grubuna göre tedaviye başlanan ilk haftadan itibaren daha düşük bulunmasına rağmen istatistiki farkın önemli olmadığı tespit edildi. Histopatolojik ve immunohistokimyasal değerlendirmede klinoptilolite uygulanan grubun epidermal kalınlık azaltılması açısından takrolimus uygulanan gruba göre belirgin derecede etkin olduğu değerlendirilmiştir. Dermal yangı, dermal fibrozis ve mast hücresi bakımından klinoptilolite uygulanan grubun takrolimus grubuna göre daha düşük bulunmasına karşın tedavi etkinliği açısından bu farkın istatistiki olarak önem arz etmediği görülmüştür. TSLP yoğunluğu açısından takrolimus uygulanan grup klinoptilolite uygulanan gruba göre düşük bulundu ancak bu farkın istatistiki olarak önem arz etmediği görülmüştür. Serum TARC seviyeleri değerlendirildiğinde takrolimus ve klinoptilolite uygulanan grupların birbirine çok yakın bulunmakla birlikte, DNFB uygulanan gruptan yüksek kontrol grubundan da düşük olması sebebiyle bu tedavi uygulamalarının serum TARC seviyelerine etkmediği düşünöldü.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Köpeklerde görülen dermatolojik rahatsızlıklar, hayvanın ve sahibinin yaşam kalitesini etkilemekte ve refah seviyesinde düşüslere neden olmaktadır. Tek ve kesin bir tedavinin olmamasının nedeni olarak, karmaşık ve hala tam aydınlatılamamış patogenezi düşünülebilir. Kaşınmanın azaltılması, AD hastalarının yaşam kalitesini iyileştirmek için en etkili terapötik stratejidir. Uzun yıllar boyunca AD'nin tedavisinde lokal veya sistemik kortikosteroidler hakim olmuştur. Bu steroidler, AD'nin iltihaplanmasını azaltmada etkili oldukları için hala ilk tedavi seçeneği olarak akla gelmektedir. Ancak bu steroidlerin yan etkileri sıklıkla gözlenmektedir. Bu nedenle, AD için yeni ve etkili tedavilerin geliştirilmesine büyük ihtiyaç vardır.

Bu çalışmada, farelerde oluşturulan atopik dermatit modelinde, tedavide uzun süredir kullanılan takrolimus krem ile klinoptilolitin etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Lokal bazı klinik ve histopatolojik parametrelerin iyileşmesine açısından katkı sağladığı görülmekle birlikte takrolimus ile kıyas edildiğinde ise bazı parametrelerin düzeltilmesi açısından da daha iyi olduğu gözlemlenmiştir. Oluşturulan bu fare modelinin gerek insan ve gerekse de veteriner hekimliğimizin önemli problemi olan köpek AD'sine ve tedavisine de katkı sağlayabileceği düşünülmüştür. Sonuç olarak klinoptilolitin lokal lezyonları olan atopik dermatit tedavisinde güvenli bir alternatif olabileceği kanısına varılmıştır. Klinoptilolitin atopik dermatitin tedavisinde etkinliğinin desteklenmesi bakımından, daha çok sayıda ve kapsamlı çalışmalara gereksinim vardır. AD'nin tedavisinde klinoptilolitin terapötik potansiyelinin ve moleküler mekanizmasını aydınlatmak için daha ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

- Aksoy SÖ, Tunk CO, Sevinç Aİ, Durak M (2019).** Effects of locally applied clinoptilolite (Froximun) on seroma formation in a rat mastectomy and axillary lymph node dissection model. *DEU Tıp Fakültesi Dergisi*, **33(2)**, 139-142.
- Antwi AO, Obiri DD, Osafo N, Essel LB, Forkuo AD, Atobiga C (2018).** Stigmasterol Alleviates Cutaneous Allergic Responses in Rodents. *BioMed Research International*, 1-13.
- Asahina R, Ueda K, Oshima Y, Kanei T, Kato M, Furue M, Tsukui T, Nagata M, Maeda S (2020).** Serum canine thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) concentrations correlate with disease severity and therapeutic responses in dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol.*, **31**, 446–e118.
- Bacakova L, Vandrovcova M, Kopova I, Jirka I (2018).** Applications of zeolites in biotechnology and medicine – a review. *Biomater Sci.*, **6(5)**, 974-989.
- Bekersky I, Fitzsimmons W, Tanase A, Maher RM, Hodosh E, Lawrence I (2001).** Nonclinical and early clinical development of tacrolimus ointment for the treatment of atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol.*, **44**, 17-27.
- Bhol KC, Alroy J, Schechter PJ (2004).** Anti-inflammatory effect of topical nanocrystalline silver cream on allergic contact dermatitis in a guinea pig model. *Clin Exp Dermatol.*, **29**, 282-287.
- Birtekocak F, Uysal P, Büyüköztürk Karul A (2016).** Sütçocuklarında atopik dermatit ağırlığı ile serum TSLP ve TARC düzeyleri arasındaki ilişki. *İzmir Dr. Behçet Uz Çocuk Hast. Dergisi.*, **6(1)**, 28-36.
- Bond R (2014).** *The role of fungal agents in atopic dermatitis*. In: Noli C.(Eds), *Veterinary Allergy*. Wiley Blackwell. West Sussex, p: 58-64.
- Bonneville M, Chavagnac C, Vocanson M, Rozieres A, Benetiere J, Pernet I (2007).** Skin Contact Irritation Conditions the Development and Severity of Allergic Contact Dermatitis. *J Invest Dermatol.*, **127**, 1430–1435.

Chiba T, Takeuchi S, Esaki H, Yamamura K, Kurihara Y, Moroi Y, Furue M (2012). Topical application of PPAR α (but not b/d or c) suppresses atopic dermatitis in NC/Nga mice. *Allergy*, **67**, 936-942.

Choi JH, Han EH, Park BH, Kim HG, Hwang YP, Chung YC, Lee YC, Jeong HG (2012). Platycodi radix suppresses development of atopic dermatitis-like skin lesions. *Environ Toxicol Pharmacol.*, **33**, 446–452.

Choi JH, Jin SW, Lee GH, Cho SM, Jeong HG (2020). *Orostachys japonicus* ethanol extract inhibits 2,4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice and TNF- α /IFN- γ -induced TARC expression in HaCaT cells. *Toxicol Res.*, **36**, 99-108.

Choi JH, Jin SW, Park BH, Kim HG, Khanal T, Han HJ, Hwang YP, Choi JM, Chung YC, Hwang SK, Jeong TC, Jeong HG (2013b). Cultivated ginseng inhibits 2,4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice and TNF- α /IFN- γ -induced TARC activation in HaCaT cells. *Food Chem Toxicol.*, **56**, 195–203.

Choi JH, Kim HG, Jin SW, Han EH, Khanal T, Do MT, Hwang YP, Choi JM, Chun SS, Chung YC, Jeong TC, Jeong HG (2013a). Topical application of *Pleurotus eryngii* extracts inhibits 2,4-dinitrochlorobenzene-induced atopic dermatitis in NC/Nga mice by the regulation of Th1/Th2 balance. *Food Chem Toxicol.*, **53**, 38–45.

Craig JM (2016). Atopic dermatitis and the intestinal microbiota in humans and dogs. *Vet Med Sci.*, **23(2)**, 99-105.

DaSilva SC, Sahu RP, Konger RL, Perkins SM, Kaplan MH, Travers JB (2012). Increased skin barrier disruption by sodium lauryl sulfate in mice expressing a constitutively active STAT6 in T cells. *Arch Dermatol Res.*, **304**, 65–71.

DeBoer DJ (2014). *Introduction: canine atopic dermatitis as an evolving, multicentric disease.* In: Noli C. (Eds), *Veterinary Allergy*. Wiley Blackwell. West Sussex. p: 5-7.

DeBoer DJ, Hillier A (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVI): laboratory evaluation of dogs with atopic dermatitis with serum-based “allergy” tests. *Vet Immunol Immunopathol.*, **81**, 277-287.

Demirel Senturk D, Demirel R, Ketani MA, Balci K (2015). Effects on Performance, Skin and Liver Histology of Different Clinoptilolite Levels in Rat Diets. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, **3(3)**, 133-141.

Eichenseer M, Johansen C, Mueller RS (2013). Efficacy of dimetinden and hydroxyzine/chlorpheniramine in atopic dogs: a randomised, controlled, double-blinded trial. *Vet Rec.*, **173(17)**, 1-5.

Favrot C (2014). *Clinical signs of canine atopic dermatitis.* In: Noli C. (Eds), *Veterinary Allergy.* Wiley Blackwell. West Sussex. p:65-69.

Favrot C, Steffant J, Seewaldt W, Picco F (2010). A prospective study on the clinical features of chronic canine atopic dermatitis and its diagnosis. *Vet Dermatol.*, **21(1)**, 23-31.

Forsythe P, Jackson H (2020). New therapies for canine atopic dermatitis. *In Practice*, **42(2)**, 82-90.

Gedon NKY, Mueller RS (2018). Atopic dermatitis in cats and dogs: a difficult disease for animals and owners. *Clin Transl Allergy .*, **8(41)**, 1-12.

Gokce S, Tureyen A, Gokcimen A (2018). Effect of hypericum perforatum, clinoptilolite and hydrocolloid dressing on wound healing in diabetic rats. *Wound Medicine*, **22**, 14-22.

Gonzales AJ, Humphrey WR, Messamore JE, Fleck TJ, Fici GJ, Shelly JA, Teel JF, Bammert GF, Dunham SA, Fuller TE, McCall RB (2013). Interleukin-31: its role in canine pruritus and naturally occurring canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol.*, **24(1)**, 48-53.

Griffin CE (2014). *Diagnosis of canine atopic dermatitis.* In: Noli C. (Eds), *Veterinary Allergy.* Wiley Blackwell. West Sussex, p :70-77.

Griffin CE, DeBoer DJ (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XIV): clinical manifestations of canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol.*, **81(3-4)**, 255-269.

Gupta AK, Adamiak A, Chow M (2002). Tacrolimus: a review of its use for the management of dermatoses. *J Eur Acad Dermatol Venereol.*, **16**, 100–114.

Halliwell R (2006). Revised nomenclature for veterinary allergy. *Vet Immunol Immunopathol.*, **114(3-4)**, 207-208.

Han NR, Moon PD, Kim HM, Jeong HJ (2014). Tryptanthrin ameliorates atopic dermatitis through down-regulation of TSLP. *Arch Biochem Biophys.*, **542**, 14-20.

Hecht K (2011). Clinoptilolite Zeolite as Sanogenetic Important for Human Health. *Archive of the issues*, **1**, 1-14.

Hensel P, Santoro D, Favrot C, Hill P, Griffin C (2015). Canine atopic dermatitis: detailed guidelines for diagnosis and allergen identification. *BMC Vet Res.*, **11 (196)**, 1-13.

Hubner P, Donati N, Menezes Quines LK, Tessaro IC (2020). Gelatin-based film containing clinoptilolite-Ag for application as wound dressing. *Materials Science & Engineering C.*, **107**, 1-15.

Inagaki N, Shiraishi N, Igeta K, Itoh T, Chikumoto T, Nagao M, Kim JF, Nagai H (2006). Inhibition of scratching behavior associated with allergic dermatitis in mice by tacrolimus, but not by dexamethasone. *Eur J Pharmacol.*, **546(1-3)**, 189–196.

Indra AK (2013). Epidermal TSLP: a trigger factor for pathogenesis of atopic dermatitis. *Expert Rev Proteomics.*, **10(4)**, 309–311.

Jin H, He R, Oyoshi M, Geha RS (2009). Animal Models of Atopic Dermatitis. *J Invest Dermatol.*, **129(1)**, 31-40.

Kabashima-Kubo R, Nakamura M, Sakabe J, Sugita K, Hino R, Mori T, Kobayashi M, Bito T, Kabashima K, Ogasawara K, Nomura Y, Nomura T,

Akiyama M, Shimizu H, Tokura Y (2012). A group of atopic dermatitis without IgE elevation or barrier impairment shows a high Th1 frequency: Possible immunological state of the intrinsic type. *J Dermatol Sci.*, **67**, 37-43.

Kakinuma T, Nakamura K, Wakugawa M, Mitsui H, Tada Y, Saeki H, Torii H, Asahina A, Onai N, Matsushima K, Tamaki K (2001). Thymus and activation-regulated chemokine in atopic dermatitis: Serum thymus and activation-regulated chemokine level is closely related with disease activity. *J Allergy Clin Immunol.*, **107**(3), 535-541.

Kapun AP, Salobir J, Kalcher GT, Svete N, Kotnik T (2014). Vitamin E supplementation in canine atopic dermatitis: improvement of clinical signs and effects on oxidative stress markers. *Vet Rec.*, **175** (22), 1-5.

Keppel KE, Campbell KL, Zuckerman FA, Greeley EA, Schaeffer DJ, Husmann RJ (2008). Quantitation of canine regulatory T cell populations, serum interleukin-10 and allergen-specific IgE concentrations in healthy control dogs and canine atopic dermatitis patients receiving allergen-specific immunotherapy. *Vet Immunol Immunopathol.*, **123**(3-4), 337-344.

Kiehl P, Falkenberg K, Vogelbruch M, Kapp A (2001). Tissue eosinophilia in acute and chronic atopic dermatitis: a morphometric approach using quantitative image analysis of immunostaining. *Br J Dermatol.*, **145**, 720–729.

Kim HJ, Kim YJ, Kang MJ, Seo JH, Kim HY, Jeong SK, Lee SH, Kim JM, Hong SJ (2012). A novel mouse model of atopic dermatitis with epicutaneous allergen sensitization and the effect of *Lactobacillus rhamnosus*. *Exp Dermatol.*, **21**(9), 672-675.

Kim TH, Kim GD, Ahn HJ, Cho JJ, Park YS, Park CS (2013). The inhibitory effect of naringenin on atopic dermatitis induced by DNFB in NC/Nga mice. *Life Sci.*, **93**(15), 516–524.

Kitamura A, Takata R, Aizawa S, Watanabe H, Wada T (2018). A murine model of atopic dermatitis can be generated by painting the dorsal skin with hapten twice 14 days apart. *Sci Rep.*, **8(1)**, 1-9.

Koch SN (2015). What is New in the Diagnosis and Management of Canine Atopic Dermatitis? *Today's Veterinary Practice*, **May/June**, 95-102.

Lee JH, Shih YT, Wei ML, Sun CK, Chiang BL (2019). Classification of established atopic dermatitis in children with the in vivo imaging methods. *J Biophotonics.*, **12(5)**,

Leung DYM, Bieber T (2003). Atopic dermatitis. *Lancet*, **361**, 151-160.

Lim JM, Lee B, Min JH, Kim EY, Kim JH, Hong SY, Kim JJ, Sohn Y, Jung HS (2018). Effect of peiminine on DNCB-induced atopic dermatitis by inhibiting inflammatory cytokine expression in vivo and iv vitro. *Int Immunopharmacol.*, **56**, 135-142.

Lloyd DH (2014). *The role of bacterial agents in the pathogenesis of canine atopic dermatitis.* In: Noli C. (Eds), *Veterinary Allergy*. Wiley Blackwell. West Sussex, p: 51-57.

Luo Y, Zhou B, Zhao M, Tang J, Lu Q (2014). Promoter demethylation contributes to TSLP overexpression in skin lesions of patients with atopic dermatitis. *Clin Exp Dermatol.*, **39(1)**, 48-53.

Machura E, Rusek-Zychma M, Jachimowicz M, Wrzask M, Mazur B, Kasperska-Zajac A (2012). Serum TARC and CTACK concentrations in children with atopic dermatitis, allergic asthma, and urticaria. *Pediatr Allergy Immunol.*, **23(3)**, 278–284.

Maeda S, Fujiwara S, Omori K, Kawano K, Kurata K, Masuda K, Ohno K, Tsujimoto H (2002). Lesional expression of thymus and activation-regulated chemokine in canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol.*, **88(1-2)**, 79-87.

Maeda S, Tsukui T, Saze K, Masuda K, Ohno K, Tsujimoto H, Iwabuchi S (2005). Production of a monoclonal antibody to canine thymus and activation-regulated

chemokine (TARC) and detection of TARC in lesional skin from dogs with atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol.*, **103(1-2)**, 83-92.

Marsella R (2013). *Hypersensitivity Disorders*. In: Miller WH, Griffin CE, Campbell KL. (Eds), Muller and Kirk's Small Animal Dermatology 7th edition. Elsevier press, St. Louis, Missouri p: 715-844.

Marsella R (2014). The aberrant immune system in atopic dermatitis. In: Noli C. (Eds), Veterinary Allergy. Wiley Blackwell. West Sussex, p: 16-23.

Marsella R, Girolomoni G (2009). Canine Models of Atopic Dermatitis: A Useful Tool with Untapped Potential. *J Invest Dermatol.*, **129(10)**, 2351-2357.

Marsella R, Nichlin CF (2001). Sulphido-leukotriene production from peripheral leukocytes and skin in clinically normal dogs and house dust mite positive atopic dogs. *Vet Dermatol.*, **12**, 3-12.

Marsella R, Olivery T, Carlotti DN, for the International Task Force on Canine Atopic Dermatitis (2011). Current evidence of skin barrier dysfunction in human and canine atopic dermatitis. *Vet Dermatol.*, **22(3)**, 239-248.

Marsella R, Olivry T (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (VII): mediators of cutaneous inflammation. *Vet Immunol Immunopathol.*, **81(3-4)**, 205-213.

Marsella R, Sousa CA, Gonzales AJ, Fadok VA (2012). Current understanding of the pathophysiologic mechanisms of canine atopic dermatitis. *J Am Vet Med Assoc.*, **241(2)**, 194-207.

Matsuda H, Watanabe N, Geba GP, Sperl J, Tsudzuki M, Hiroi J (1997). Development of atopic dermatitis-like skin lesion with IgE hyperproduction in NC/Nga mice. *Int Immunol.*, **9(3)**, 461-466.

Moniaga CS, Kabashima K (2011). Filaggrin in atopic dermatitis: flaky tail mice as a novel model for developing drug targets in atopic dermatitis. *Inflamm Allergy Drug Targets.*, **10(6)**, 477-85.

Montinaro M, Uberti D, Maccarinelli D, Bonini SA, Ferrari-Toninelli G, Memo M (2013). Dietary zeolite supplementation reduces oxidative damage and plaque generation in the brain of an Alzheimer's disease mouse model. *Life Sci.*, **92**, 903–910.

Morris DO (2014). *Allergen avoidance*. In: Noli C. (Eds), *Veterinary Allergy*. Wiley Blackwell. West Sussex, p :78-84.

Mueller RS (2014). *Allergen-specific immunotherapy*. In: Noli C. (Eds), *Veterinary Allergy*. Wiley Blackwell. West Sussex, p :85-89.

Murray C, Ahrens K, Devalaraja M, Dymond M, Fagura M, Hargreaves A, Holt A, Peers I, Price S, Reens J, Riley R, Marsella R (2016) Use of a Canine Model of Atopic Dermatitis to Investigate the Efficacy of a CCR4 Antagonist in Allergen-Induced Skin Inflammation in a Randomized Study. *J Invest Dermatol.*, **136(3)**, 665-671.

Ngo HTT, Fang M, Hwang E, Kim Y, Park B, Seo SA, Do NQ, Nguyen QTN, Yi TH (2020). Inhibitory Effects of *Urtica thunbergiana* Ethanol Extract on Atopic Dermatitis-Induced NC/Nga Mice. *Antioxidants*, **9(3)**, 1-16.

Nimmowilkie JS, Yager JA, Eyre P, Parker WM (1990). Morphometric Analyses of the Skin of Dogs with Atopic Dermatitis and Correlations with Cutaneous and Plasma Histamine and Total Serum IgE. *Vet. Pathol.*, **27**, 179-186.

Nishifuji K (2014). *Skin barrier and its role in the pathophysiology of atopic dermatitis*. In: Noli C. (Eds), *Veterinary Allergy*. Wiley Blackwell. West Sussex, p :42-50.

Noguchi A, Tominaga M, Takahashi N, Matsuda H, Kamata Y, Umehara Y, Ko KC, Suga Y, Ogawa H, Takamori K (2017). Differences in therapeutic effects of topically applied corticosteroids and tacrolimus on atopic dermatitis-like symptoms in NC/Nga mice. *J Dermatol Sci.*, **86(1)**, 54-62.

Nuttall TJ, Knight PA, McAleese SM, Lamb JR, Hill PB (2002). T-helper 1, T-helper 2 and immunosuppressive cytokines in canine atopic dermatitis. *Vet Immunol Immunopathol.*, **87**, 379-384.

Nuttall TJ, Marsella R, Rosenbaum MR, Gonzales AJ, Fadok VA (2019). Update on pathogenesis, diagnosis, and treatment of atopic dermatitis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.*, **254** (11), 1291-1300.

Oh MH, Oh SY, Yu J, Myers AC, Leonard WJ, Liu YJ, Zhu Z, Zheng T (2011). IL-13 Induces Skin Fibrosis in Atopic Dermatitis by Thymic Stromal Lymphopoietin. *J Immunol.*, **186**, 7232-7242.

Olivry T (2010). New diagnostic criteria for canine atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology.*, **21**, 124–127.

Olivry T, DeBoer DJ, Favrot C, Jackson HA, Mueller RS, Nuttall T, Prelaud P, ICADA (2015). Treatment of canine atopic dermatitis: 2015 updated guidelines from the International Committee on Allergic Diseases of Animals. *BMC Vet Res.*, **11**(210), 1-15.

Olivry T, Guaguere E, Heripret D (1997). Treatment of canine atopic dermatitis with misoprostol, a prostaglandin E₁ analogue: an open study. *J Dermatolog Treat.*, **8**, 243-247.

Olivry T, Hill PB (2001). The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XVIII): histopathology of skin lesions. *Vet Immunol Immunopathol.*, **81**, 305-309.

Oshio T, Sasaki Y, Funakoshi-Tago M, Aizu-Yokota E, Sonoda Y, Matsuoka H, Kasahara T (2009). Dermatophagoides farinae extract induces severe atopic dermatitis in NC/Nga mice, which is effectively suppressed by the administration of tacrolimus ointment. *Int Immunopharmacol.*, **9**, 403–411.

Ostrowski A, Nordmeyer D, Mundhenk L, Fluhr JW, Lademann J, Graf C, Rühl E, Gruber AD (2014). AHAPS-functionalized silica nanoparticles do not modulate allergic contact dermatitis in mice. *Nanoscale Res Lett.*, **9**(1), 524.

Paterson S (2019a). Foundation therapy in canine atopic dermatitis. *Companion animal*, **24(7)**, 347-352.

Paterson S (2019b). Supplemantary therapy in canine atopic dermatitis. *Companion animal*, **24(8)**, 400-407.

Pavelic K, Hadzija M, Bedrica L, Pavelic J, Dikic I, Katic M, Kralj M, Bosnar MH, Sanja Kapitanovic S, Poljak-Blazi M, Krizanac S, Stojkovic R, Jurin M, Subotic B, Colic M (2001). Natural zeolite clinoptilolite: new adjuvant in anticancer therapy. *J Mol Med.*, **78**, 708-720.

Pavelic K, Katic M, Sverko V, Marotti T, Bosnjak B, Balog T, Stojkovic R, Radacic M, Colic M, Poljak-Blazi M (2002). Immunostimulatory effect of natural clinoptilolite as a possible mechanism of its antimetastatic ability. *J Cancer Res Clin Oncol.*, **128**, 37-44.

Plumb DC (2008). Plumb's Veterinary Drug Handbook 6th edition. Blackwell. p :714-715.

Pourshahrestani S, Zeimaran E, Djordjevic I, Kadri NA, Towler MR (2016). Inorganic hemostats: The state-of-the-art and recent advances. *Materials Science and Engineering C.*, **58**, 1255–1268.

Prelaud P (2014). *Allergens and environmental influence*. In: Noli C. (Eds), *Veterinary Allergy*. Wiley Blackwell. West Sussex, p :24-31.

Prelaud P, Laprais A (2020). What Can We Learn from Canine Atopic Dermatitis History? *Curr Dermatol Rep.*, **9**, 52-27.

Rustin MHA (2007). The safety of tacrolimus ointment for the treatment of atopic dermatitis: a review. *Br J Dermatol.*, **157(5)**, 861-73.

Saeki H, Tamaki K (2006). Thymus and activation regulated chemokine (TARC)/CCL17 and skin diseases. *J Dermatol Sci.*, **43**, 75-84.

Saribeyoglu K, Aytac E, Pekmezci S, Saygili S, Uzun H, Ozbay G, Aydin S, Seymen HO (2011). Effects of clinoptilolite treatment on oxidative stress after partial hepatectomy in rats. *Asian J Surg.*, **34**, 153-157.

Saridomichelakis MN, Olivry T (2016). An update on the treatment of canine atopic dermatitis. *Vet J.*, **207**, 29-37.

Shimada K, Yoon JS, Yoshihara T, Iwasaki T, Nishifuji K (2009). Increased transepidermal water loss and decreased ceramide content in lesional and non-lesional skin of dogs with atopic dermatitis. *Vet Dermatol.*, **20**, 541-546.

Shiohara T, Hayakawa J, Mizukawa Y (2004). Animal models for atopic dermatitis: are they relevant to human disease? *J Dermatol Sci.*, **36**, 1-9.

Sousa CA, Marsella R (2001). The ACVD task force on atopic dermatitis (II): genetic factors. *Vet Immunol Immunopathol.*, **81**, 153-157.

Sozmen SC, Karaman M, Micili SC (2016). Resveratrol ameliorates 2,4-dinitrofluorobenzene-induced atopic dermatitis-like lesions through effects on the epithelium. *Peerj.*, **4**, 1-19.

Tang L, Li X, Wan L, Wang H, Mai Q, Deng Z, Ding H (2020). Ameliorative effect of orally administered different linoleic acid/ α -linolenic acid ratios in a mouse model of DNFB-induced atopic dermatitis. *J Funct Foods.*, **65**, 1-11.

Taniguchi Y, Kohno K, Inoue S, Koya-Miyata S, Okamoto I, Arai N, Iwaki K, Ikeda M, Kurimoto M (2003). Oral administration of royal jelly inhibits the development of atopic dermatitis-like skin lesions in NC/Nga mice. *Int Immunopharmacol.*, **3(9)**, 1313-1324.

Tunk CO (2011). *Ratlarda Mastektomi Ve Aksiller Disseksiyon Sonrası Klinoptilolit (Froksimun®) Kullanımının Seroma Oluşumuna Etkisi.* T.C. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İzmir/Türkiye.

Ueki A, Yamguchi M, Ueki H, Uatanabe Y, Ohsawa G, Hinugawa H, Hawakami Y, Hyodoh F (1994). Polyclonal human T cell activation by silicate in vitro. *Immunology*, **82**, 332–335

Uraloglu M, Livaoglu M, Agdogan O, Mungan S, Alhan E, Karacal N (2012). An evaluation of five different dressing materials on split-thickness skin graft donor site and full-thickness cutaneous wounds: an experimental study. *Int Wound J.*, **11(1)**, 85-92.

Willemse T (1986). Atopic skin disease: a review and a reconsideration of diagnostic criteria. *J Small Anim Pract.*, **27**, 771-778.

Yamashita H, Ito T, Kato H, Asai S, Tanaka H, Nagai H, Inagaki N (2010). Comparison of the efficacy of tacrolimus and cyclosporine A in a murine model of dinitrofluorobenzene-induced atopic dermatitis. *Eur J Pharmacol.*, **645**, 171–176.

Yoo MS, Nam SY, Yoon KW, Jeong HJ, Kim HM (2018). Bamboo salt suppresses skin inflammation in mice with 2,4-dinitrofluorobenzene-induced atopic dermatitis *Chin J Nat Med.*, **16(2)**, 0097–0104.

Yuanyuan LI, Lin-feng IL (2013). Topical application of a Chinese medicine, Qingpeng ointment, ameliorates 2,4-dinitrofluorobenzene-induced allergic contact dermatitis in BALB/c mice. *Eur J Dermatol.*, **23(6)**, 803-6.