



**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA  
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**SAĞLIKLI SÜT ÇOCUKLARINDA FEKAL KALPROTEKTİN  
DÜZEYİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Şule BEKTAŞ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Hüseyin Tufan KUTLU**

**İSTANBUL, 2020**



**T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA  
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**SAĞLIKLI SÜT ÇOCUKLARINDA FEKAL KALPROTEKTİN  
DÜZEYİ**

**TIPTA UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Şule BEKTAŞ**

**TEZ DANIŞMANI**

**Prof. Dr. Hüseyin Tufan KUTLU**

**İSTANBUL, 2020**

## ÖNSÖZ

Tez çalışmamı destekleyen Türk Pediatri Kurumu'na ve kurumun yönetim kurulu başkanı Sayın Prof. Dr. Z. Mehmet VURAL'a, çalışmamın yürütülmesi sırasında birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. H. Tufan KUTLU'ya,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım ve desteklerini her zaman hissettiğim Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın tüm saygıdeğer öğretim üyelerine,

Uzmanlık eğitimime katkılarının yanında başım her sıkıştığında kapısını rahatlıkla çalabildiğim sayın hocalarım; Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR, Doç. Dr. A. Çiğdem AKTUĞLU ZEYBEK, Doç. Dr. Ertuğrul KIYKIM'a,

Çalışma örneklerinin toplanması ve saklanması sürecinde bana destek olan; Sosyal Pediatri Bilim Dalı çalışanlarına, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları İmmunoloji Laboratuvar Sorumlusu Nihan BURTECENE'ye,

Çalışmamın konusunun belirlenme aşamasından çalışma örneklerinin incelenmesine kadar tüm süreçte katkıda bulunan Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Bekir Sami KOCAZEYBEK ve uzmanlık öğrencisi Dr. Doğukan ÖZBEY'e,

Çalışmamın istatistik incelemelerini yapan Dr. Zehra Betül PİRDAL'a,

Uzmanlık eğitim sürecinin tüm zorluklarını paylaştığım ve beraber çalışmaktan keyif aldığım eşkıdemlerim başta olmak üzere tüm asistan arkadaşlarıma,

Desteklerini her zaman hissettiğim arkadaşlarım Dr. Esra KARABIYIK, Dr. Duygu ÜLGER, Fatih BAŞAK ve E. Pelin KARABOĞA'ya,

Tıp fakültesinden uzmanlığa uzanan bu uzun eğitim sürecinde attığım her adımda yanımda olan canım aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunuyorum.

Uzmanlık eğitimim süresince klinik araştırma ve çalışma projelerine dahil olmam için yüreklendiren, yakın zamanda kaybettiğimiz hocamız Prof. Dr. Ahmet Tayyar ARVAS'ı saygıyla anıyorum ve bana kattıkları için teşekkür ediyorum.

Dr. Şule BEKTAŞ  
İstanbul-2020

# İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
TABLolar LİSTESİ.....	III
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	IV
KISALTMALAR.....	V
ÖZET.....	VII
SUMMARY.....	VIII
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. KALPROTEKTİN.....	2
2.1.1 Kalprotektin Tanımı.....	2
2.1.2 Kalprotektin Yapısı.....	2
2.1.3 Kalprotektin Dağılımı.....	4
2.1.4 Kalprotektin Fizyolojik Rolü.....	5
2.1.5 Enfeksiyon ve Enflamasyonda Kalprotektinin Rolü.....	6
2.1.6 Pediatrik Hasta Grubunda Klinik Belirteç Olarak Fekal Kalprotektin.....	9
2.1.7 Fekal Kalprotektinin Ölçümü.....	14
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	15
3.1. Araştırmanın Amacı ve Tipi.....	15
3.2. Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Evreni.....	15
3.3. Çalışmaya Kabul Edilme Kriterleri.....	15
3.4. Verilerin Toplanması ve Çalışmanın Yapılması.....	16
3.5. Anket Bilgileri.....	17
3.6. Dışkı Örneğinin Alınması ve Saklanması.....	18
3.7. Dışkı Örneklerinden Fekal Kalprotektin Çalışılması.....	18
3.7.1. Dışkı Örneklerinin Çalışmaya Hazırlanması.....	19
3.7.2. Kalprotektin Kitinin Çalışmaya Hazırlanması ve Çalışma Prosedürü.....	19
3.7.3. Fekal Kalprotektin Sonuçlarının Yorumlanması ve Hesaplanması.....	20
3.8. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi.....	21
3.10. Etik Kurul Onayı.....	22
3.11. Mali Destek.....	22
4. BULGULAR.....	23
5. TARTIŞMA.....	32
6. SONUÇ.....	38
KAYNAKLAR.....	39
EKLER.....	46
EK-1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu.....	46
EK-2. Etik Kurul Onayı.....	48
EK-3. Çalışmada Kullanılan Anket Formu.....	50
EK-4. Özgeçmiş.....	51

## TABLÖLAR LİSTESİ

<b>TABLO 1. S100A8/A9 Bulunduran Hücreler.....</b>	<b>4</b>
<b>TABLO 2. Kalprotektin Temel Özellikleri.....</b>	<b>6</b>
<b>TABLO 3. Kantitatif Fekal Kalprotektin ELISA Kit Özellikleri.....</b>	<b>18</b>
<b>TABLO 4. Çalışma Grubunun Demografik Özelliklerinin Dağılımı.....</b>	<b>24</b>
<b>TABLO 5. Yaş Gruplarına Göre Fekal Kalprotektin Düzeyi.....</b>	<b>26</b>
<b>TABLO 6. Gruplar Arasında Fekal Kalprotektin Düzeyi Karşılaştırması.....</b>	<b>27</b>
<b>TABLO 7. Doğum Haftasına Göre Fekal Kalprotektin Düzeyi İlişkisi .....</b>	<b>27</b>
<b>TABLO 8. Ek Besin Öncesi Beslenme Şeklinin Fekal Kalprotektin Düzeyi ile İlişkisi... </b>	<b>29</b>
<b>TABLO 9. Ek Besine Geçen Çocuklarda Anne Sütü Alımının Fekal Kalprotektin Düzeyi ile İlişkisi.....</b>	<b>29</b>
<b>TABLO 10. İnfantil Kolik ve Fekal Kalprotektin Düzeyi İlişkisi.....</b>	<b>29</b>
<b>TABLO 11. Gastroözofageal Reflü (GÖR) ve Fekal Kalprotektin Düzeyi İlişkisi .....</b>	<b>30</b>
<b>TABLO 12. Geçirilmiş Enfeksiyon Öyküsü ve Fekal Kalprotektin Düzeyine İlişkisi.....</b>	<b>30</b>
<b>TABLO 13. Antibiyotik Kullanım Öyküsünün Fekal Kalprotektin Düzeyi ile İlişkisi ...</b>	<b>31</b>
<b>TABLO 14. Parasetamol/ NSAİD Kullanım Öyküsünün Fekal Kalprotektin Düzeyi ile İlişkisi .....</b>	<b>31</b>

## ŞEKİLLER LİSTESİ

ŞEKİL 1. S100A8/A9 PROTEİNİ HETERODİMER YAPISI .....	2
ŞEKİL 2. A-HELİKS YAPI VE KALSİYUM BAĞLANMA BÖLGELERİ .....	3
ŞEKİL 3. ÖRNEK TOPLAMA TÜPÜ .....	19
ŞEKİL 4. BİRİNCİ PLAKA STANDART EĞRİ GRAFİĞİ.....	20
ŞEKİL 5. İKİNCİ PLAKA STANDART EĞRİ GRAFİĞİ .....	21
ŞEKİL 6. ÇALIŞMA GRUBU CİNSİYET DAĞILIMI.....	23
ŞEKİL 7. YAŞA GÖRE FK KARŞILAŞTIRMASI .....	24
ŞEKİL 8. YAŞ GRUPLARINA GÖRE ÇOCUKLARIN DAĞILIM GRAFİĞİ .....	25
ŞEKİL 9. YAŞ GRUPLARINDA FEKAL KALPROTEKTİN DÜZEYLERİ .....	26
ŞEKİL 10. ÇALIŞMA GRUBUNUN BESLENME ŞEKİLLERİNE GÖRE DAĞILIMI.....	28
ŞEKİL 11. TAMAMLAYICI BESLENMEDE ANNE SÜTÜNE DEVAM ORANI .....	28

## KISALTMALAR

°C	: Santigrat
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
AGE	: Akut Gastroenterit
Ca <sup>+2</sup>	: Kalsiyum
CH	: Crohn Hastalığı
CRP	: C-Reaktif Protein
ÇH	: Çölyak Hastalığı
DAMP	: Hasara Bağlı Moleküler Kalıplar
EBH	: Enflamatuvar Bağırsak Hastalığı
ELISA	: Enzim Bağlı İmmunosorbent Deney
ERK	: Hücre Dışı Sinyalle Düzenlenen Kinaz
FGF	: Fibroblast Büyüme Faktörü
FK	: Fekal Kalprotektin
g	: Gram
GH	: Gestasyon haftası
GÖR	: Gastroözofageal Reflü
GÖRH	: Gastroözofageal Reflü Hastalığı
GİS	: Gastrointestinal Sistem
IL-1α	: İnterlökin 1α
IL-1β	: İnterlökin 1β
İBS	: İrritabl Bağırsak Sendromu
İLS	: İşaretli Lökosit Sintigrafisi
İSPA	: İnek Sütü Proteini Alerjisi
İYE	: İdrar Yolu Enfeksiyonu
JAK	: Janus Kinaz
JNK	: c-Jun N-terminal kinaz
KF	: Kistik Fibrozis
kg	: Kilogram
L	: Litre
LPS	: Lipopolisakkarid



mg	: Miligram
mL	: Mililitre
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
MRP14	: Miyeloid İlişkili Protein 14
MRP8	: Miyeloid İlişkili Protein 8
NADPH	: Nikotinamid Adenindinükleotit Fosfat
NEK	: Nekrotizan Enterokolit
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
NSAİ	: Non-Steroidal Antienflamatuvar
RA	: Romatoid Artrit
RAGE	: İlerlemiş Glikolizasyon Son Ürünü Reseptörü
ROS	: Reaktif Oksijen Radikali
SDS	: Standart Deviasyon Skoru
SGA	: Gestasyon Haftasına Göre Düşük Doğum Ağırlığı
STAT	: Transkripsiyonun Sinyal İletici ve Aktivatörü
TLR4	: Toll-Benzeri Reseptör-4
TNF- $\alpha$	: Tümör Nekrozis Faktör- $\alpha$
ÜK	: Ülseratif Kolit
ÜSYE	: Üst Solunum Yolu Enfeksiyonu
Zn <sup>+2</sup>	: Çinko

## ÖZET

**GİRİŞ:** Fekal kalprotektin; gastrointestinal sistemde enflamasyonu göstermede kullanılan belirteçtir. Erişkin yaş grubunda referans aralığı belirlenmiş olan fekal kalprotektin düzeyi, pediatrik yaş grubunda özellikle süt çocukluğu döneminde değişkenlik göstermektedir. Referans aralığı süt çocuklarında belirlenememiş olan fekal kalprotektin yanlış tanı ve yönlendirmelere sebep olmaktadır.

**AMAÇ:** Çalışmamızda, sağlam çocuk izlemi dahilinde takip ettiğimiz sağlıklı süt çocuklarının fekal kalprotektin düzeylerinin yaş ile korelasyonunun gösterilmesi amaçlandı.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** Çalışmamıza; bebek ve çocuk izlem programına uygun poliklinik ziyaretlerinde bulunan, 1-24 ay yaş aralığında 151 çocuk dahil edildi. Çalışmaya dahil edilen çocukların ebeveynlerine; yaş, cinsiyet, doğum haftası, doğum kilosu, Roma 4 kriterlerine göre kolik varlığı, gastroözofageal reflü varlığı, numune alındığı esnada beslenme şekli, boy ve kilo sorgulandığı anket uygulandı. Dışkı örnekleri analize kadar -80 °C'de muhafaza edildi. Fekal kalprotektin kantitatif ölçümü için EDI™ Kantitatif Fekal Kalprotektin ELISA kiti kullanıldı.

**BULGULAR:** Çalışmaya dahil edilen 1-24 ay yaş aralığında 151 çocuğun fekal kalprotektin değerleri normal dağılıma uymamakta olup, 0,00 µg/g ile 364,15 µg/g arasında değişmektedir. Fekal kalprotektin ortanca değeri 9,32 µg/g olarak bulundu. Yaş gruplarına göre fekal kalprotektin düzeyi; 1-3 ay, 4-6 ay, 7-9 ay, 10-12 ay, 13-18 ay, 19-24 ay arasında değerlendirildiğinde yaş ile fekal kalprotektin düzeyi arasında negatif korelasyon saptandı. Cinsiyet, beslenme şekli, gestasyon haftası, yaşa göre boy ve kilo Z skorları, kolik ve reflü öyküsü gibi faktörlerin fekal kalprotektin düzeyine etkisi gösterilmedi.

**SONUÇ:** Çalışmamızda; sağlıklı süt çocuklarında fekal kalprotektin düzeyi yaş ile negatif korelasyon göstermektedir. Fekal kalprotektin düzeyinin; cinsiyet, beslenme şekli, gestasyon haftası, kolik ve reflü öyküsünden etkilenmediği gösterilmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Fekal kalprotektin, süt çocuğu

## SUMMARY

**BACKGROUND:** Fecal calprotectin is a biomarker that is excreted in stool during inflammatory process of gastrointestinal system. Fecal Calprotectin levels show negative correlation with age and there is a conflicting data concerning reference values in infancy. The aim of our study was to determine the concentrations of fecal calprotectin in healthy infants aged between 1–24 months.

**METHOD:** This study population consisted of 151 healthy infants aged between 1-24 months. The parents of children were fulfilled a questionnaire regarding several clinical features and sociodemographic factors. Stool samples collected were frozen and stored at -80 °C until analysis. Fecal calprotectin concentration analyzed using a commercial EDI™ Quantitative Fecal Calprotectin ELISA kit.

**RESULT:** Fecal calprotectin values of 151 infants between 1-24 months were unevenly distributed. The overall median fecal calprotectin value was 9,32 µg/g and range between 0,00 µg/g and 364,15 µg/g. The children were divided into six age groups: 1-3 months, 4-6 months, 7-9 months, 10-12 months, 13-18 months and 19-24 months. There was negative correlation between age and fecal calprotectin levels in all age groups. No statistically significant difference was found between gender, mood of feeding, length and weight for age Z-scores, gestational week, history of infantile colic and reflux and fecal calprotectin.

**CONCLUSION:** In this study; fecal calprotectin levels varied with age and showed negative correlation with age. The clinical features such as gender, mood of feeding, gestational week, history of infantile colic and reflux did not appear to affect fecal calprotectin in healthy infants.

**Keywords:** Fecal Calprotectin, infancy

# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kalprotektin; enflamasyon, enfeksiyon ve malignitede artan sitozolik proteindir. Kalprotektin düzeyi plazma, sinovyal sıvı, idrar ve dışkıda ölçülebilir. Gastrointestinal sistemde (GİS) farklı etyolojiye sahip enflamatuvar hastalıklar; mukozal geçirgenliği artırarak, granülosit ve monositlerin bağırsak lümenine göçünü indükleyerek yüksek miktarda kalprotektin salınımına sebep olur.

İntestinal enflamasyonun arttığı bilinen; Crohn hastalığı (CH), ülseratif kolit (ÜK), kistik fibrozis (KF), kolorektal kanserler, inek sütü proteini alerjisi (İSPA) ve daha birçok hastalıkta yüksek fekal kalprotektin (FK) düzeyi görülebilmektedir. Fekal kalprotektin, invaziv olmayan yöntemlerle ölçülmesi ve konsantrasyonunun enflamasyonun histolojik evresi ile korelasyon göstermesi nedeniyle de önemli bir belirteçtir.

Erişkin yaş grubunda referans aralığı belirlenmiş olan FK düzeyi, pediatrik yaş grubunda özellikle süt çocukluğu döneminde değişkenlik göstermektedir. Yaş küçüldükçe FK düzeyinin referans aralığının artması süt çocukluğu döneminde yanlış tanı ve yönlendirmelere sebep olmaktadır. Özellikle yaşamın ilk ayında FK düzeyi yüksek saptanmaktadır. Bu durum; gastrointestinal sistemin gelişimsel sürecinde, immatüriteye bağlı epitelyal geçirgenliğin artışı ve patojen mikroorganizmalara karşı artmış enflamasyon ile açıklanmaktadır.

Süt çocukluğu döneminde yaş ile negatif korelasyon gösteren FK düzeyi, 4 yaşından sonra yaş grupları arasında farklılık göstermemekte ve erişkin referans aralığı ile uyumlu bulunmaktadır. Süt çocukluğu döneminde yaş ile negatif korelasyon bildiren çalışmalara ek olarak anne sütü ile beslenenlerde, kolik yakınması olanlarda FK düzeyinin yüksek olduğunu gösteren çalışmalar da yayınlanmıştır. Bu yaş grubunda daha yüksek olması beklenen FK düzeyi yanlış tanı ve yönlendirmelere sebep olmaktadır.

Bu çalışmanın amacı; kliniğimizde sağlam çocuk izlemi dahilinde takip ettiğimiz sağlıklı süt çocuklarının FK düzeylerini tespit ederek yaş ile korelasyonunun gösterilmesidir. Yaş faktörünün yanında sağlıklı süt çocuklarının beslenmesi, eşlik eden kolik ve reflü yakınmalarının FK düzeyine etkisinin olup olmadığını göstermek ikincil olarak amaçlandı.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. KALPROTEKTİN

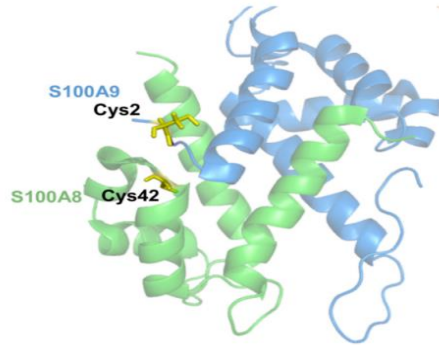
#### 2.1.1 Kalprotektin Tanımı

Kalprotektin; enflamasyon, enfeksiyon ve malignitede artan sitozolik bir proteindir. İmmünomodülatör, antimikrobiyal ve antiproliferatif özellikleri olan bu protein özellikle nötrofiller olmak üzere monositler, makrofajlar ve lenfositlerde bulunmaktadır [1-3].

İlk kez 1980 yılında Fagerhol ve ark. [4] tarafından nötrofil, makrofaj ve yassı epitel hücrelerin sitoplazmasında bulunan bir protein olarak tanımlanan kalprotektin, L1 protein olarak adlandırılmıştır. Sonrasında yapılan çalışmalarda; S100A8 ve S100A9 protein kompleksi, miyeloid ilişkili protein 8 ve 14 (MRP8/14) [5], KF antijeni [6], 27E10 antijeni [3], Calgranulin A/B [7] olarak adlandırılmıştır. [3,8] Steinbakk ve ark. [9] tarafından 1990 yılında antimikrobiyal aktivitesi gösterilen kalsiyum bağlayan bu protein kalprotektin adını almıştır.

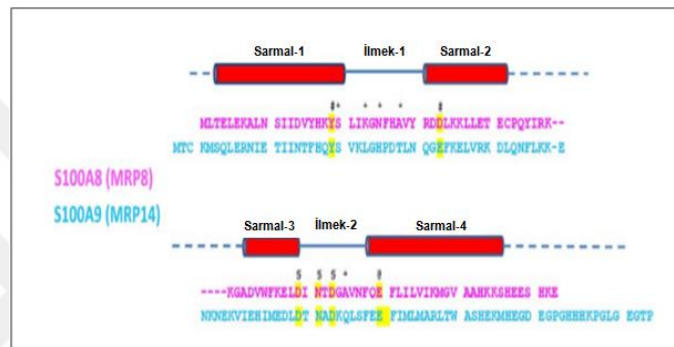
#### 2.1.2 Kalprotektin Yapısı

Kalprotektin; molekül ağırlığı 36.5 kDa olan [9], S100 (S100A8/A9) protein ailesinin heterodimer yapıda bir üyesidir [10]. (Şekil 1) S100A8 ve S100A9; miyeloid hücreden köken aldığı için sırasıyla MRP8 ve 14 [1,11] kalsiyum bağlayan özelliği nedeniyle Calgranulin A ve Calgranulin B olarak da adlandırılmıştır [12].



Şekil 1. S100A8/A9 Proteini Heterodimer Yapısı [10]

S100 proteinlerini kodlayan genler 1. kromozom 1q21 bölgesinde epidermal farklılaşma kompleksinin içinde bulunurlar [13]. Bu ailenin S100 olarak adlandırılmasının sebebi, %100 doygun amonyum sülfat solüsyonunda çözünür olmasıdır [12]. S100 proteinleri kalsiyum bağlayıcı EF-el motifine sahip olup protein fosforilasyonu, immün yanıtın düzenlenmesi, hücre farklılaşması, hücre iskeleti hareketi gibi çeşitli fonksiyonlarda önemli rol oynar [1]. EF- el motifi; sarmal-ilmek-sarmal yapısal alanı içeren, yüksek oranda kalsiyum bağlayıcı özelliği olan protein ailesidir. (Şekil 2) Bu motife sahip S100 protein ailesinin 20’den fazla üyesi tanımlanmıştır [12,14]. S100A8/A9 ve S100A12 oksidatif ortamda pro-enflamatuar rol oynar [15].



Şekil 2. α-Heliks Yapı ve Kalsiyum Bağlanma Bölgeleri [14]

S100A8 ve A9 yapısında bulunan hafif (MRP8) ve ağır (MRP14) polipeptid zincirin her biri kalsiyum ( $Ca^{+2}$ ) ve çinko ( $Zn^{+2}$ ) bağlayan alanlar içermektedir. Kalsiyum bağlanmasıyla heterodimer yapıda olan kalprotektin tetramerize olarak heterotetramer haline dönüşür. Hem MRP8 hem de MRP14 polipeptid zincirleri, kalprotektinin antibakteriyel aktivitesinde rol alan histidin bazlı çinko bağlama dizileri (His-X-X-X-His motifi) içerir. Kalsiyum dışında çinko bağlayıcı alanlar da içeren kalprotektinin çinko bağlama kapasitesi kalsiyum bağlanmasından etkilenmez ve bu kapasite S100 ailesindeki diğer proteinlerden daha yüksektir [3,12].

Kalprotektinin kalsiyum iyonunu bağlaması ile kazein kinaz gibi hedef proteinlerle etkileşime girmesine izin veren hidrofobik yüzeyler açığa çıkar. Farklı hücre tiplerinde kalprotektinin sitostatik aktivitesi bu etkileşim ile açıklanır [16]. Bakteriyel büyüme için gerekli olan  $Zn^{+2}$  iyonlarının şelasyonu, antimikrobiyal aktivite sergilediği gösterilmiştir. Kalprotektinin çinko ile bağlanmasıyla çinko konsantrasyonu azalır, çinko bağımlı enzimlerin çoğu inhibe olur. Çinko bağımlı enzimlerden oluşan matriks metalloproteinazlar (MMP’ler),

anjyogenez ve yara iyileşmesi gibi birçok normal biyolojik süreçte, aynı zamanda enflamasyon, kanser ve doku tahribatı gibi patolojik süreçlerde önemli rol oynar. Sonuç olarak kalprotektin bu enzimleri inhibe ederek, vücuttaki birçok önemli süreci düzenleyebilir [14,16,17].

### 2.1.3 Kalprotektin Dağılımı

Kalprotektin esas olarak nötrofiller olmak üzere monositler ve makrofajlarda bulunmaktadır [3]. Bu hücrelerin fonksiyonlarında önemli rol oynayan kalprotektin nötrofil sitozolik proteinlerinin %40'ını oluşturur [14]. Yapılan çalışmalarda, kalprotektinin sadece nötrofil veya mononükleer fagositlerin alt gruplarında değil keratinize olmayan skuamöz epitel, böbrek tübülünde de olduğu gösterilmiştir [3,18].

Kalprotektin enflamasyon sırasında uyarılan fagositlerden ekstrasellüler olarak salgılanır, doku hasarı veya hücre ölümü ile açığa çıkar. Kalprotektinin çözünür formu plazmada (sağlıklı insanlarda referans değeri <2 mg/l), idrarda, vücut sıvılarında, intestinal sıvı ve feçesde bulunur [3]. Enflamasyonun olduğu bölgede, hücre dışı alanda, nötrofil göçünün eşlik ettiği durumlarda; sinoviyal sıvıda [19], idrarda [20], beyin omurilik sıvısında [21], tükürükte [10,22] gösterilmiştir [23].

**Tablo 1. S100A8/A9 Bulunduran Hücreler [15]**

• Nötrofil
• Monosit / Makrofaj
• Dendritik hücre
• Osteoklast
• Mikroglia
• Trombosit
• Mikrovasküler endotelial hücre
• Keratinosit
• Kondrosit

#### 2.1.4 Kalprotektin Fizyolojik Rolü

Enflamatuvar yanıt sırasında, nötrofiller ve monositler enflamasyon bölgesine ilk gelen bağışıklık hücreleridir. Enflamasyon sırasında nötrofil ve monositlerin iltihap bölgesine göçü; adezyon (selektin, integrin) ve aktivasyon (kemokinler, kemokin reseptörleri ve alarmin) molekülleri ile uyarılmaktadır [12].

Hücre hasarı sonucunda ortama salınan aktivasyon moleküllerinden olan alarminler, hasara bağı moleküler kalıplar [Damage associated molecular pattern (DAMP)] olarak da adlandırılmıştır. DAMP'lar normal fizyolojik koşullarda hücre ya da ekstraselüler matriks içinde yerleşen, hücresel stres veya hasar koşullarında enflamasyonu başlatan endojen faktörlerdir [24,25]. Kalprotektin; hücre homeostazında rol alması ve JNK, ERK1/2, p38, JAK/STAT gibi sinyal iletim yollarında sinyal molekülü olarak görev alması nedeniyle fonksiyonel olarak enflamasyonu başlatan DAMP grubuna aittir. Etkilerini RAGE (receptor for advanced glycationend-products= ilerlemiş glikolizasyon son ürünü reseptörü) ve TLR4 (Toll- benzeri reseptör- 4) aracılığıyla gerçekleştirmektedir [12,24,25].

Enflamatuvar süreçlerin düzenlenmesinde, bağışıklık yanıtında ve yara onarımında kalprotektin önemli bir rol oynar. Çinkoyu bağlar ve ayırır, böylece  $Zn^{+2}$  bağımlı enzimleri ve mikrobiyal büyümeyi inhibe eder. Kalprotektin, diğer S100 proteinleri gibi metal iyonlarına olan yüksek afinitesi ve kalsiyum bağlama kapasitesi sayesinde miyeloid hücrelerde hücre içi fonksiyonlarda ana rol oynar [26].

Kalprotektinin  $Ca^{+2}$  bağımlı sinyal yolları tarafından düzenlenen mikrotübüller ile etkileşimi fagosit göçü için kritik öneme sahiptir. Kalsiyum üzerinden hücre içi haberleşme, farklılaşma ve hücre bölünmesinde görevlidir [25]. Çeşitli hücre tipleri, fibroblastlar ve farklı tümör hücreleri üzerinde büyüme inhibe edici ve hücre ölümünü indükleyici etkilere sahiptir. Tüm bu özellikleri ile kalprotektin; fibroblastların ve enflamasyona dahil olan diğer hücrelerin üzerinde düzenleyici role sahiptir [27].



**Tablo 2. Kalprotektin Temel Özellikleri**

<b>Adlandırma</b>	Kalprotektin, L1 proteini, S100A8 ve S100A9 protein kompleksi, kistik fibroz antijeni, makrofaj inhibitör faktör ilişkili protein/miyeloid ilişkili protein 8 ve 14 (MRP8/14), 27E10 antijen, Calgranulin A/B
<b>Yapısal ilişki</b>	S100 protein ailesi
<b>Yapısı</b>	Bir hafif ve iki ağır polipeptid zincirden oluşan EF- el motifinde heterodimer protein
<b>Moleküler ağırlık</b>	36.5 kDa
<b>Dağılım</b>	Nötrofil, monosit, makrofaj, yassı epitel hücreleri, mikrovasküler endotel hücreler
<b>Fonksiyon</b>	İmmün yanıtın düzenlenmesi Antimikrobiyal etkinlik Hücre içi sinyal iletimi Kemotaktik faktör

### **2.1.5 Enfeksiyon ve Enflamasyonda Kalprotektinin Rolü**

Hücre hasarı veya patojen varlığına yanıt olarak enflamasyon bölgesine ilk gelen nötrofiller, enflamasyonda anahtar rol oynar. Nötrofillerin aktivasyonu veya monositlerin endotel adezyonu sonucunda kalprotektin; kalsiyuma bağlanarak fonksiyonel formu olan heterotetramer yapıya dönüştüğü hücre dışı alana verilir [10]. Kalprotektin sentezinde protein kinaz (PK) aktivasyonu ikinci alternatif yolu oluşturur. Hem kalsiyum bağlanması hem de PK aktivasyonu, endotel uyarılması sonucunda oluşan sinyallerle mümkündür [28]. Kalprotektin, sadece aktive edilmiş monositler ve nötrofillerden değil, aynı zamanda kemik iliği hücreleri, yassı epitel, bazı mukozalepitel hücreleri, mikrovasküler endotel hücreler, fibroblastlar tarafından da sentezlenebilir [3,25].

Nötrofiller, patojen varlığında doğal immün yanıtın bir parçası olarak süperoksit, hidrojen peroksit ve hipoklorik asit gibi oksidatif ürünleri sentezler. Antimikrobiyal özelliklerini; nikotinamid adenin dinükleotit fosfat- oksidaz (NADPH oksidaz) tarafından reaktif oksijen radikallerini (ROS) sentezlenmesi ve sitotoksik maddeleri salgılaması ile gösterir. Oksidatif ürünlerin sentezlenmesi ve bunun sonucunda proteoliz reaksiyonlarının gerçekleşmesi kalprotektinin biyolojik fonksiyonlarını gerçekleştirmede önemlidir [10,25].

Esas olarak hücre dışı alanda kalsiyum ile bağlanarak heterotetramer yapıya dönüşen kalprotektin, aktive olan nötrofil sitozolünde kalsiyum konsantrasyonunun artması ile tetramerize olabilir. Heterotetramer yapıya dönüşen kalprotektin mikrotübüller (vimentin, aktin, keratin) ile etkileşerek fagosit göçüne katkıda bulunur. Lökositlerle beraber tümör hücreleri üzerindeki kemotaktik aktivitesi de metastaz ile ilişkilendirilmiştir [1,25]. Bakteriyel ve fungal enfeksiyonlarda mikrobiyal büyüme için gerekli çinko ve manganezi bağlayarak antimikrobiyal özellik gösterir [25,26,29].

Hücrel stres veya hasar koşullarında doğal immun sistem hücrelerinden salgılanan DAMP'lar, sitokin ve kemokinler gibi sinyal molekülleri olarak tanınır. Kalprotektin, bu gruba ait olup enflamasyonda etkilerini RAGE ve TLR4 aracılığıyla gerçekleştirmektedir. RAGE, doğrudan sinyal iletimine aracılık eder ve hücre yüzeyinde çoklu kalprotektin bağlayıcı kompleks olarak işlev görür [25,29-33]. Yara iyileşmesi, tümör hücrelerinin çoğalması, sistemik amiloidoz ve enflamasyonda RAGE önemli rol alır [34,35]. Klasik olarak bilinen sitokinlerden IL-1 $\alpha$  (interlökin 1 $\alpha$ ), IL-1 $\beta$  (interlökin 1 $\beta$ ) ve FGF (fibroblast büyüme faktörü) ile fonksiyonel benzerlikleri yanında etki gösterdikleri reseptörler de aynı aileye aittir. Endotele tutunan kalprotektin proenflamatuvar sitokinlerin salgılanmasını uyarır, endotel geçirgenliğini artırır ve nötrofil ekstrasvazasyonuna katkıda bulunur [24,25,31]. Endotel hücrelerinde anti-apoptotik gen ekspresyonunu inhibe ettiği ve p53, bak, bax gibi pro-enflamatuvar genlerin ekspresyonunu indüklediği gösterilmiştir [32].

Sonuç olarak enflamatuvar sürecin birçok basamağında fonksiyonu olan ve bu süreci göstermede biyobelirteç olarak kullanılan kalprotektin; enflamatuvar hastalıkların patogenezinde önemli bir rol alır. Kalprotektin, enflamatuvar bağırsak hastalığı (EBH), KF, romatoid artrit, kardiyovasküler hastalıklar ve kronik obstrüktif akciğer hastalığı gibi çeşitli enflamatuvar hastalığın patogenezinde giderek artan öneme sahiptir. Enflamatuvar alanda artmış kalprotektin vaskülit ve endotel hasarına bağlı diğer enflamatuvar hastalıkların patogenezinde de rol alır [10, 25].

Bakteriyel enfeksiyonlarda endotoksin (LPS) etkisi ile mononükleer hücrelerden kalprotektinin ekstrasellüler alana salgılandığı ve Tümör Nekrozis Faktör- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) sekresyonu üzerinde LPS ile yarışmalı etkisi olduğu gösterilmiştir [25]. Bir çalışmada sepsis sonrasında kaybedilen hastalarda FK düzeyinin yüksek, iyileşen hastalarda düşük olduğu

gösterilmiş olup kalprotektin sentezini inhibe eden yeni ajanların geliştirilmesi ve sepsiste kullanımı gündeme gelmiştir [25,36].

Artrit gruplarında serum S100A8/A9 düzeyinin hastalık aktivitesi ile korele olduğu bununla beraber sinovyal sıvıda serumdan 20 kat yüksek olduğu gösterilmiştir [25,28]. Romatoid artrit ve Psöriatik artritte serum kalprotektin düzeyinin hastalık aktivitesi ve eklem hasarını göstermede C-reaktif protein (CRP), sedimantasyon gibi klasik enflamatuvar biyobelirteçlere göre daha anlamlı olduğu gösterilmiştir [37,38]. Normal epidermiste eksprese edilen kalprotektinin psöriazis, liken planus, lupus eritematosus ve diğer enflamatuvar deri hastalıklarında ekspresyonu artar. Psöriaziste artmış epidermal kalprotektin ekspresyonu hastalık aktivitesi ile ilişkilendirilmiştir [30, 39-41].

S100 protein ailesi ekspresyonu ve fonksiyonundaki değişiklikler, tümör gelişiminde önemli rol oynar. S100 proteinlerinin kodlandığı 1q21 kromozomundaki genlerin düzenlemesindeki değişiklikler sıklıkla epitelyal kanserlerin (örn; akciğer, meme, özofagus, kolorektal, karaciğer) patogenezinde rol alır. Genom seviyesindeki bulgulara ek olarak S100A8 ve S100A9 reseptör sayısındaki artış meme, akciğer, mide, kolorektal, pankreas ve prostat kanserinde, azalma ise özofagus kanserinde tespit edilmiştir [42].

Kistik fibrozis; başta solunum sistemi ve GİS olmak üzere birçok sistemi etkileyen, kalıtsal bir hastalıktır. Kistik fibrozis antijeni olarak da adlandırılan kalprotektin KF hastalarında serumda yüksek olup hastalığın patogenezindeki rolü tam olarak belirlenememiştir [34,43]. Kronik akciğer hastalığında pulmoner enflamasyona bağlı olarak balgamda kalprotektin yüksek saptanmaktadır. Bu nedenle KF hastalığında yüksek kalprotektin düzeyinin; immun yanıtı bağlı olması beklendiği için pulmoner etkilenmeyi gösteren belirteç olarak değerlendirilip değerlendirilmeyeceği henüz net olarak belirlenememiştir [44-46].

Dışkıda kalprotektin plazma konsantrasyonunun yaklaşık 6 katıdır [47]. İntestinal enflamasyonun arttığı bilinen CH, ÜK, çölyak hastalığı (ÇH), ishaller, bakteriyel enfeksiyonlar, kolorektal kanserler, İSPA, nonsteroid anti-enflamatuvar enteropatisinde FK düzeyi yüksek saptanmaktadır. Normal intestinal mukozada gastrointestinal enflamasyonu olan kişilerde, FK'deki artışın gastrointestinal mukozadaki artan lökosit sayısına ve nötrofillerin lümenine artmış göçüne bağlı olduğu düşünülmektedir [48].

Normal intestinal mukozada düşük proliferasyon aktivitesi gösteren makrofajlar ileum ve kolonda enflamasyonun olduğu bölgelerde yoğun olarak bulunur. Enflamasyon sırasında vasküler geçirgenliğin artışı ile enflamasyon bölgesine göç eden makrofajlar kalprotektin salgılamasını uyarır. Kalprotektin; EBH'da antimikrobiyal etkisi ile mikroorganizmalara karşı savunma, kazein kinaz inhibisyonu yaparak epitelyal displastik süreçlerin kontrolünde önemli rol alır [49].

Kalprotektin, GİS'de enflamasyonu göstermede yararlı bir belirteç olmasının yanında feçeste ölçümü mukozal hasarı patolojik olarak değerlendirmede kullanılabilen invaziv olmayan bir parametredir. Farklı hastalık gruplarında enflamasyonu göstermede duyarlı bir test olan serum kalprotektin düzeyinin diğer klinik bulgulardan etkilenebileceği unutulmamalıdır. Örneğin; nötropenik hastalarda serumda yanlış negatif sonuç verebileceği düşünülmeli, bu nedenle diğer enflamatuvar belirteçlerle birlikte kullanılmalıdır [3].

### **2.1.6 Pediatrik Hasta Grubunda Klinik Belirteç Olarak Fekal Kalprotektin**

Gastrointestinal sistemde enflamasyonu göstermek için dışkıda bulunan belirteçler; hem endoskopi gibi invaziv yöntemlere ihtiyaç duyulmaması hem de serumda bakılan belirteçler gibi farklı klinik durumlardan etkilenmemesi nedeniyle giderek önem kazanmıştır. Bu belirteçlerden kalprotektin, intestinal mukozaya lökosit göçü ile orantılı olarak artması ile hem enflamasyonu hem de hastalık aktivitesini göstermede erişkin ve çocuklarda öne çıkmaktadır [50,51].

Erişkinlerde işaretli lökosit sintigrafi (İLS) yöntemi ile gösterilen intestinal enflamasyonun, FK ile korele olduğu gösterilmiştir [52]. Roseth ve ark. [53]; 29 EBH tanılı hasta ve 9 sağlıklı kontrol grubu ile yaptığı çalışmada günlük FK ekskresyonu veya 1 günlük spot dışkı kalprotektin düzeyi ile 3 günlük İLS'de bulunan lökosit ekskresyonu arasında korelasyon olduğunu gösterdi. Tibble ve ark. [54] Crohn tanılı hastalarda 4 günlük İLS bulguları ile tek dışkı örneğindeki FK düzeyinin korele olduğu gösterdi.

Fekal kalprotektin; kalsiyuma bağlanarak tetramerize olduğunda yüksek ısı direncine sahip olur, oda sıcaklığında 1 haftaya kadar stabil kalabilir. Bu özelliği ile bağırsak enflamasyonunu göstermede kullanılan diğer belirteçlerle (laktoferrin, nötrofil elastaz, lökosit esteraz) kıyaslandığında termo-stabil olması ile üstünlük sağlar [55,56]. Heterotetramer

yapıya dönüşen kalprotektin aynı zamanda proteolitik tepkimelere ve kolondaki bakterilerin sebep olduğu proteolize karşı dirençli hale gelir [51].

Fekal kalprotektin düzeyi, yenidoğan ve süt çocukluğu döneminde çocuk ve yetişkinler için oluşturulan referans değerlerle karşılaştırıldığında anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur [51,55]. Fekal kalprotektin düzeyinin erişkinlerde ve 4-17 yaş grubundaki çocuklarda eşik değeri 50  $\mu\text{g/g}$  (50 mg/kg) olarak belirlenmiştir [23]. Dört yaş altında referans aralığı belirlenmemiş olan FK'nin; yenidoğan, süt çocukluğu ve çocukluk dönemindeki referans aralığını belirlemeye, düzeyini etkileyen faktörleri göstermeye yönelik yapılan birçok çalışma mevcuttur. Postnatal yaş, beslenme, doğum şekli ve ilaç kullanımı dahil olmak üzere bu faktörlerin FK düzeyine etkisi araştırılmıştır. Tüm bu çalışmaların ortak sonucu olarak yenidoğan döneminde term ve preterm doğum öyküsü olanlarda FK düzeyinin yüksek olduğu, yaşla birlikte giderek düştüğü gösterilmiştir [55,57].

Yaşamın ilk haftalarında yüksek FK; bağırsak mukozasının fonksiyonel bütünlüğünün tamamlanmamış olması, immun sistemin olgunlaşmamış olması, artmış bağırsak geçirgenliği ile açıklanmaktadır. Artmış mukozal geçirgenliğe bağlı bağırsak lümenine nötrofil göçü, mikrobiyal floranın olgunlaşmamış olması ile artan FK, gelişim sürecinin tamamlanması ve yaş ile giderek düşer [23,58,59].

Bağırsak mukozasının ve immun sistemin olgunlaşma sürecinde bağırsak florasının gelişim süreci önemli rol aldığı için yenidoğan ve süt çocukluğu döneminde beslenme tiplerinin FK düzeyi ile ilişkisini gösteren çalışmalar yapılmıştır. Anne sütü ile beslenen süt çocuklarında yüksek FK saptandığını gösteren çalışmalar olmakla birlikte, formül mama veya karışık beslenme tipi olanlarda FK düzeylerinde farklılık olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur [59-62]. İntestinal sistemde enflamasyonu gösteren FK'nin yüksek olması, anne sütünün kanıtlanmış çoğu faydalı özelliği ile örtüşmemektedir. Bu nedenle anne sütü ile beslenenlerde güçlü immun sistem yanıtının göstergesi olarak arttığı düşünülmektedir. Beslenme tipi ile FK düzeyleri arasında anlamlı fark olmadığını saptayan çalışmalar bulunduğundan; mukozal düzeydeki mekanizmaları aydınlatmak adına daha çok immünolojik çalışmaya ihtiyaç vardır [59].

Süt çocukluğu döneminde özellikle yaşamın ilk üç ayında en sık rastlanan sorunlardan biri olan infantil kolik tanılı bebeklerde, FK düzeylerinin ölçümü ile intestinal enflamasyon

varlığı araştırılmaktadır. Nedeni tam olarak aydınlatılamamış olan infantil kolik; ilk olarak Wessel ve ark. [63] tarafından 1954'te tanımlanmıştır. Wessel kriterlerine göre; ilk haftalarda başlayan en az 3 haftadır süren, günde 3 saatten uzun ve haftada 3 günden fazla ataklar halinde belirli bir neden olmaksızın, öğleden sonra veya akşam saatlerinde görülen aşırı ağlama olarak tanımlanmıştır. 2016 yılında belirlenen Roma 4 kriterlerine göre ise; yaşamın ilk 5 ayında büyüme geriliği olmayan bebeklerde, belirgin bir neden olmadan başlayan ve biten, huzursuzluk/ağlama ile birlikte görülen, bir haftadan daha uzun süren, haftada en az 3 gün, günde en az 3 saat devam eden irritabilite nöbetleri infantil kolik olarak tanımlanmaktadır [64].

Rhoads ve ark. [65] yaptığı çalışmada; FK düzeyleri, sağlıklı bebeklere kıyasla kolikli bebeklerde iki kat daha yüksek saptanmıştır. Asgarshirazi ve ark. [59] yaptığı çalışmada ise kolikli bebekler ve sağlıklı bebeklerin FK düzeyi arasında fark saptanmamıştır. Sıklığı %8 ile %33 arasında değişen kolik etyolojisinde önemli faktörlerinden birisi mikrobiyal floradaki dengesizlik olarak düşünülmektedir. Bağırsak florasındaki değişikliğin gastrointestinal ve immünolojik olgunlaşma sürecine etkisi ile adolesanlardaki irritabl barsak sendromunda (İBS) olduğu gibi süt çocuklarında minimal intestinal enflamasyona sebep olduğu iddia edilmektedir [65].

Nekrotizan enterokolit (NEK); özellikle preterm bebekleri etkileyen, yenidoğan döneminde morbidite ve mortalitesi yüksek, ciddi bir GİS hastalığıdır. Hastalığa spesifik tanı testi olmayıp, hastalar belirlenen klinik kriterlere göre tanı alır. Nekrotizan enterokolit tanısı alan hastaların tanı sırasındaki fekal kalprotektin düzeylerinin aynı özelliklere sahip sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek olduğu gösterilmiştir [66]. Nekrotizan enterokolit tanısı alan hastalarda, hastalığı öngörmede seri fekal kalprotektin ölçümlerinin etkinliği gösterilememiştir. Yaşamın ilk aylarında sağlıklı term ve preterm bebeklerde yüksek FK konsantrasyonları ve bireyler arası geniş varyasyonlar olması nedeniyle FK'nin NEK tanısında bir belirteç olarak kullanılması tartışmalıdır [66,67].

İntestinal enflamasyonun arttığı bilinen CH, ÜK, ÇH, ishaller, bakteriyel enfeksiyonlar, kolorektal kanserler, İSPA, nonsteroid anti-enflamatuvar enteropatisinde FK düzeyi yüksek saptanmaktadır. Fekal kalprotektin, hastalığa spesifik olmayıp GİS'e ait hastalıkları ayırt etmede kullanımı kısıtlıdır. Klinik bulguların tanıda yetersiz olduğu durumlarda organik GİS hastalıklarını fonksiyonel hastalıklarından ayırmada, FK yardımcı

olup üst basamakta daha pahalı ve invaziv tanı yöntemlerine başvurmadan önce tarama testi olarak kullanılabilir [48,56,68].

Kronik GİS semptomları, çocuklarda hastane başvuru sebeplerinin önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Enflamatuvar bağırsak hastalıklarının erken evresinde ve diğer organik GİS hastalıklarında şikayetler subjektif olup, patognomonik bulguları yoktur. Tanıda tetkikleri olabildiğince sınırlı tutmak gereken fonksiyonel GİS hastalıklarını, erken tanının prognozda önemli olduğu organik hastalıklardan ayırt etmek çoğunlukla zordur [69]. Fekal kalprotektin birinci basamakta organik GİS hastalıklarını fonksiyonel hastalıklarda ayırmak için kullanılacak önemli bir tanı testidir, EBH'yı fonksiyonel GİS hastalıklarından ayırmada %89 sensitivite, %79 spesifiteye sahiptir [65].

Crohn hastalığı ve ÜK öncelikle GİS'i etkileyen, multisistemik tutulum gösteren, etyolojisi tam olarak bilinmeyen enflamatuvar bağırsak hastalıklarıdır. Yapılan çalışmalar EBH'da kolon mukozasında FK konsantrasyonunun yüksek olduğu ve hastalık patogeneğinde önemli rol aldığını göstermektedir. Pediatrik hasta grubunda optimal referans aralığı henüz tam belirlenmemiş olan FK düzeyi, tanı ve hastalık aktivasyonunda destekleyici parametre olarak kullanılmaktadır [47]. Enflamatuvar bağırsak hastalığı grubunda başvuru şikayetleri genellikle hastalığa spesifik olmayıp tanı, prognoz, tedavi yanıtının değerlendirilmesinde altın standart tek bir test veya muayene bulgusu yoktur. Fizik muayene bulguları, laboratuvar incelemeleri, radyolojik değerlendirmeler, endoskopi ile elde edilen histoloji bulguları ile tanı koyulur, prognoz belirlenir ve tedavi yanıtı değerlendirilir. Laboratuvar incelemelerinin farklı klinik bulgulardan etkilenmesi, mukozadan histolojik bulguların elde edilmesinin invaziv yöntemlerle mümkün olması ile kolay elde edilebilen, invaziv olmayan parametrelerden FK düzeyi giderek önem kazanmıştır. İntestinal enflamasyonu ve derecesini göstermede duyarlı olan bu termostabil molekülün GİS maligniteleri, polip, enfeksiyonda da artabileceği ve hastalığa spesifik olmadığı unutulmamalıdır [50].

EBH'da aktif hastalık döneminde glukokortikoid kullanımı sırasında FK düzeyindeki azalma ile klinik düzelme paralellik gösterir. Klinik düzelme olmadığında veya mukozal enflamasyonun devam ettiği sessiz hastalık dönemi öngörmede FK düzeyinde azalma olmaması beklenir. Buna ek olarak enflamasyonu baskılamada kullanılan biyolojik ajan tedavilerinin (TNF- $\alpha$  antagonist) takibinde FK düzeyinin giderek düştüğü ve hastaların 1/3'ünde 2 hafta içinde normal aralığa geldiği gösterilmiştir [70].

Gastroözofageal reflü; sağlıklı süt çocuklarında mide içeriğinin istemsiz olarak özofagusa kaçışı olarak tanımlanır. Sağlıklı bebek, çocuk ve erişkinlerde kısa aralıklarla (<3 dakika) olan, postprandial dönemde hiçbir semptomla, özofageal hasara veya komplikasyona yol açmayan fizyolojik bir durumdur. Hastalarda gastrointestinal sistem bulgularından retrosternal yanma, regürjitasyon, kusma ve/veya solunum bulguları, büyüme geriliği gibi bulgu ve belirtilere yol açarsa gastroözofageal reflü hastalığı (GÖRH) olarak tanımlanır. Çocukluk çağında ve özellikle süt çocukluğu döneminde semptomların ifade edilememesi, yaşa bağlı semptomların farklılık göstermesi tanıda en önemli engeldir. Gastroözofageal reflü tanısı için altın standart tek bir test olmayıp, rutin görüntüleme veya pH metre çalışması gibi testlerin yapılması önerilmemektedir. Hastalar ayrıntılı öykü, fizik muayene bulguları ile tanı alır ve tedavi yanıtına göre değerlendirilir. Klinik bulgular doğrultusunda tanı alıp yaşam tarzı değişikliği veya medikal tedavi ile izleme alınan hastaların takibinde; eşlik edebilecek komplikasyonların değerlendirilmesi, tedaviye yanıt alınmadığında ayırıcı tanıda bulunan hastalıkların dışlanması amacıyla görüntüleme, pH metre, endoskopi gibi testlerin yapılması önerilmektedir. Gastroözofageal reflü tanısı olan çocuklarda artmış FK olduğunu gösteren çalışmalar olsa da klinik kullanımına yönelik daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır [59,71].

Çölyak hastalığında artmış FK düzeyi hastalık tanı ve takibinde invaziv olmayan yardımcı test olarak kullanılabilir. Çölyak hastalığını GİS'in fonksiyonel hastalıklarından ayırmada yardımcı olan FK düzeyinin hastalığın histopatolojik evresi ile de korele olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur [72]. Hastalığın glutensiz diyet ile izleminde FK düzeyi diyete uyumun ve hastalık aktivasyonunun önemli bir göstergesi olarak kullanılabilir [73].

Gastrointestinal sistemin malign hastalıklarında, özellikle kolorektal kanserlerde FK düzeyinin artar. Gastrik ve kolorektal kanserlere ek olarak kolon adenomu, polip varlığında yüksek saptanan FK düzeyi, tümör veya polip rezeksiyonu sonrasında normal referans aralığına düşmektedir. Yapılan çalışmalarda FK düzeyi ile tümör evresi arasında ilişki olmadığı gösterilmiştir. Tarama testi olarak kullanılan dışkıda gizli kan ile karşılaştırıldığında; kolorektal adenom ve polip varlığında da yüksek saptanabilen FK'nin sensitivitesinin daha yüksek spesifitesinin daha düşük olduğu gösterilmiştir [74].



### 2.1.7 Fekal Kalprotektinin Ölçümü

Fekal kalprotektin kalsiyuma bağlanarak tetramerize olduğunda yüksek ısı direncine sahip olur, oda sıcaklığında 7 güne kadar stabil kalabilir. Heterotetramer yapıya dönüşen kalprotektin aynı zamanda proteolitik tepkimelere karşı dirençli hale gelir. Bu nedenle dışkı örnekleri evde toplanabilir ve sonrasında laboratuvara ulaştırılabilir. Enzim bağlı immunosorbent deney (ELISA =Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile çalışılan FK için 5 gram dışkı örneği alınması önerilmekle beraber 0,1 gram dışkı örneği ile de güvenilir sonuçlar alınması mümkündür [55,56,75]. Dışkıda homojen dağılan kalprotektin, EBH tanılı hastalarda günden güne anlamlı değişkenlik göstermektedir. Fekal kalprotektin konsantrasyonunun diüurnal ritim gösterdiğini ve düzeyinin günün ilk dışkı örneğinde ölçülmesinin daha uygun olduğunu öne süren çalışmalar mevcuttur [76].

## 3. GEREÇ VE YÖNTEM

### 3.1. Araştırmanın Amacı ve Tipi

Bu çalışma; sağlıklı süt çocuklarının FK düzeylerini tespit ederek yaş ile korelasyonunu göstermek ve beslenme, eşlik eden kolik ve reflü yakınmaları ile FK düzeyi ilişkisinin araştırılması amacıyla yapılmış kesitsel-analitik tipte bir çalışmadır.

### 3.2. Araştırmanın Yapıldığı Yer ve Evreni

Çalışmaya; İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sağlam Çocuk İzlem polikliniğinde takipli, 1-24 ay arası yaş grubunda, 35 gestasyon haftasının (GH) üzerinde doğum öyküsü olan, hastalık öyküsü olmayan, son 2 haftalık süreçte antibiyotik, steroid veya nonsteroid anti-enflamatuvar ilaç kullanımı olmayan 200 çocuğun dahil edilmesi planlandı.

1 Aralık 2018-31 Mayıs 2019 tarihleri arasında Sosyal Pediatri Bilim Dalı Sağlam Çocuk İzlem Polikliniği'ne, Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı tarafından oluşturulan bebek ve çocuk izlem programına uygun poliklinik ziyaretlerinde bulunan ebeveynler ayrıntılı bilgilendirme sonrası araştırmaya katılmaya davet edildi. Çalışmamıza katılmayı 158 bebeğin ebeveyni kabul etti ve ebeveynlerden aydınlatılmış onam alındı. 158 sağlıklı çocuktan dışkı örneği alındı; 5 çocuğun 32 GH altında doğum öyküsü olması, 1 çocukta hipotiroidi nedeniyle tiroksin kullanımı olması, 1 çocuğun hemanjiom tedavisi için sirolimus kullanım öyküsü olması nedeniyle 7 çocuğa ait numune değerlendirmeye alınmadı. 151 çocukta alınan dışkı örneğinde kalprotektin çalışıldı.

### 3.3. Çalışmaya Kabul Edilme Kriterleri

Çalışmaya; İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sağlam Çocuk İzlem polikliniğinde, bebek ve çocuk izlem programına uygun planlanan takiplerine gelen, 1-24 ay arası yaş grubunda olan çocuklar alındı. Bu yaş grubunda; kronik hastalığı olan, son 2 haftalık süreçte antibiyotik, steroid veya nonsteroid anti-enflamatuvar ilaç kullanım öyküsü olan çocuklar çalışmaya dahil edilmedi.

Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri:

- 1-24 ay arası olmak
- Gestasyon haftasının 35 hafta ve üzerinde olması
- Kronik hastalık olmaması
- Majör konjenital anomali olmaması
- Son 2 haftalık süreçte antibiyotik, steroid veya nonsteroid anti-enflamatuvar ilaç kullanım öyküsü olmaması

### **3.4. Verilerin Toplanması ve Çalışmanın Yapılması**

Çalışmanın yürütüldüğü Sağlam Çocuk İzlem Polikliniği'nde; doğumdan başlayarak düzenli olarak Sağlık Bakanlığı Çocuk İzlem Programı'na, çocuğa, ailesine, büyüme gelişme basamakları ve aşılama programına uygun izlem planı oluşturulmaktadır. Çocuk sağlığı izlemi; büyüme ve gelişmeyi değerlendirme, riskli durumları belirleme, hastalıkların tanı ve tedavisi, hastalıklardan korunma, taramaları gerçekleştirme, aşılama, aileleri bilgilendirme ve onlara kılavuzluk etme esasına dayanır. Boy, kilo, baş çevresinin düzenli aralıklarla ölçümü ve Prof. Dr. Olcay Neyzi ve arkadaşları tarafından oluşturulan Türk çocukları kız ve erkek çocuk büyüme eğrileri kullanılarak büyüme değerlendirilmesi yapılmaktadır [77-79].

Çalışmamıza katılan çocukların klinik ve sosyodemografik bilgileri, yapılan yüz yüze görüşmelerden ve dosya incelemelerinden kaydedildi. Ailelere yaş, cinsiyet, doğum haftası, doğum kilosu, Roma 4 kriterlerine göre kolik varlığı, GÖR varlığı, numune alındığı esnada beslenme şekli, boy ve kilo, son 1 ay içinde geçirilmiş enfeksiyon öyküsünün sorgulandığı anket uygulandı. Çalışmaya dahil edilme kriterlerine uyan sağlıklı çocuklara ileri tetkik yapılmadı.

Bebeklerin ağırlık ve yatar pozisyonda boy ölçümleri standart teknikler kullanılarak kaydedildi. Ağırlık ölçümü, bebek tamamen soyularak ve bezi çıkarılarak yapıldı. Yaşa göre boy ve yaşa göre tartı z-skorları (standart deviasyon skoru) Neyzi ve ark. [77] Türk çocuklarında yaptıkları çalışmadan elde edilen veriler referans alınarak hesaplandı.

Beslenme şekli 1-6 ay arası bebeklerde sadece anne sütü (doğal beslenme), sadece formül mama (yapay beslenme) ve anne sütü ve formül mama (karışık beslenme) olarak sınıflandırıldı. Ek gıdaya geçen bebekler tamamlayıcı beslenme grubuna dahil edildi.

İnfanıl kolik; Roma 4 kriterlerine göre yaşamın ilk 5 ayında büyüme geriliği olmayan bebeklerde, belirgin bir neden olmadan başlayan ve biten, huzursuzluk/ağlama ile birlikte görülen, bir haftadan daha uzun süren, haftada en az 3 gün, günde en az 3 saat devam eden irritabilite nöbetleri olarak tanımlanmaktadır [64]. Çalışmamızda 1 ve 5 ay yaş aralığında Roma 4 kriterlerine uyan bebekler kolikli olarak kabul edildi.

Gastroözofageal reflü; sağlıklı süt çocuklarında mide içeriğinin istemsiz olarak özofagusa kaçıışı olarak tanımlanır. Hastalarda GİS bulgularından retrosternal yanma, regürjitasyon, kusma ve/veya solunum bulguları, büyüme geriliği gibi bulgu ve belirtilere yol açarsa GÖRH olarak tanımlanır. Gastroözofageal reflü tanısı için altın standart tek bir test olmayıp, rutin görüntüleme veya pH metre çalışması gibi testlerin yapılması önerilmemektedir. Hastalar ayrıntılı öykü, fizik muayene bulguları ile tanı alır ve tedavi yanıtına göre değerlendirilir. Klinik bulgular doğrultusunda tanı alıp, yaşam tarzı değişikliği önerilen veya medikal tedavi verilen hastaların izleminde; eşlik edebilecek komplikasyonların değerlendirilmesi, tedaviye yanıt alınmadığında ayırıcı tanıda bulunan hastalıkların dışlanması amacıyla görüntüleme, pH metre, endoskopi gib testlerin yapılması önerilmektedir [71]. Çalışmamızda klinik bulgular doğrultusunda GÖR tanısı ile yaşam tarzı değişiklikleri önerilen ve en az 1 ay süre ile kullanılan anti-asit tedavisine yanıt alınan çocuklar GÖR tanılı olarak kabul edildi.

### **3.5. Anket Bilgileri**

Çalışmamıza katılmaya onam veren aileler ile yapılan görüşmelerden ve dosya incelemelerinden bebeklerin klinik ve sosyodemografik verileri kaydedildi. Aileler ile yapılan görüşmelerde anket uygulanarak; ad ve soyad, cinsiyet, doğum tarihi, gestasyon haftası, doğum tartısı, numunenin alındığı zamana ait tartı ve boy, boya göre tartı, beslenme durumu (anne sütü ve/veya formula mama), kolik veya GÖR öyküsü, antibiyotik/NSAİ ilaç kullanımı, atopi öyküsü kaydedildi.

### 3.6. Dışkı Örneğinin Alınması ve Saklanması

Çalışmamıza katılmaya onam veren ailelere polipropilen dışkı kabı verilerek dışkı örneği toplama hakkında ayrıntılı açıklama yapıldı. Bezden doğrudan polipropilen dışkı kabına alınan taze dışkı örneği aynı gün içerisinde İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları İmmunoloji Laboratuvarına teslim edildi. Fekal kalprotektin kitinin temin edildiği firmadan alınan talimatlar doğrultusunda, dışkı örnekleri analiz edilene kadar -80 °C’de muhafaza edildi.

### 3.7. Dışkı Örneklerinden Fekal Kalprotektin Çalışması

Fekal kalprotektin kantitatif ölçümü için EDI™ Kantitatif Fekal Kalprotektin ELISA kiti (KT 849 ve KT 843) kullanıldı. Bu kit sadece in-vitro tanisal amaç ile kullanılan enzim bağlı immunosorbent deney (ELISA =Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) kitidir. Kit analize kadar 2-8 °C’de saklandı.

**Tablo 3. Kantitatif Fekal Kalprotektin ELISA Kit Özellikleri**

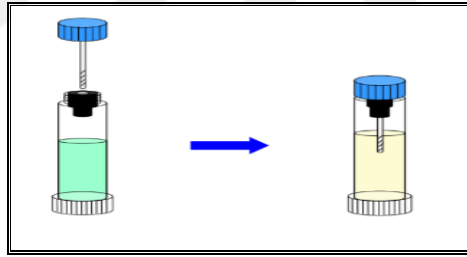
Katalog numarası	KT-849
Testin adı	Kalprotektin (S100A8/S100A9)
Çalışma tipi	Sandviç ELISA
Çalışma metodu	Kolorimetrik
Kitin test sayısı	96 test
Duyarlılık	2.5ng/ml
Dinamik aralık	0-2000 µg/mL
Çalışma süresi	2 saat
Numune türü	Dışkı
Numune volümü	50 µL
Numune saklanma sıcaklığı	2-8 °C

### 3.7.1. Dışkı Örneklerinin Çalışmaya Hazırlanması

Dışkı örneklerinin çalışmaya hazırlanması için çözümlerini sağlamak amacıyla -80°C'den 2-8°C'ye saklama dolabına transferi gerçekleştirildi. Analiz gününden bir gün önce çözülmek üzere 2-8°C'de bırakılan dışkı örnekleri çalışma öncesi oda sıcaklığında tutularak çalışmaya hazır hale getirildi.

### 3.7.2. Kalprotektin Kitinin Çalışmaya Hazırlanması ve Çalışma Prosedürü

1. Tüm numuneler ve kit oda sıcaklığına getirildi.
2. Dışkı örnek toplama tüpünün mavi kapağı çıkarıldı, vorteksenerek numuneler alındı. Dışkı örnek toplama tüpüne (epitope diagnostics, ABD) alınan örneklerden süspansiyon hazırlandı. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda uygun miktarda dışkı örneği ile süspansiyon işlemi yapıldı. Süspansiyon hazırlanmasının ardından çalışılmak üzere hazır hale getirildi.



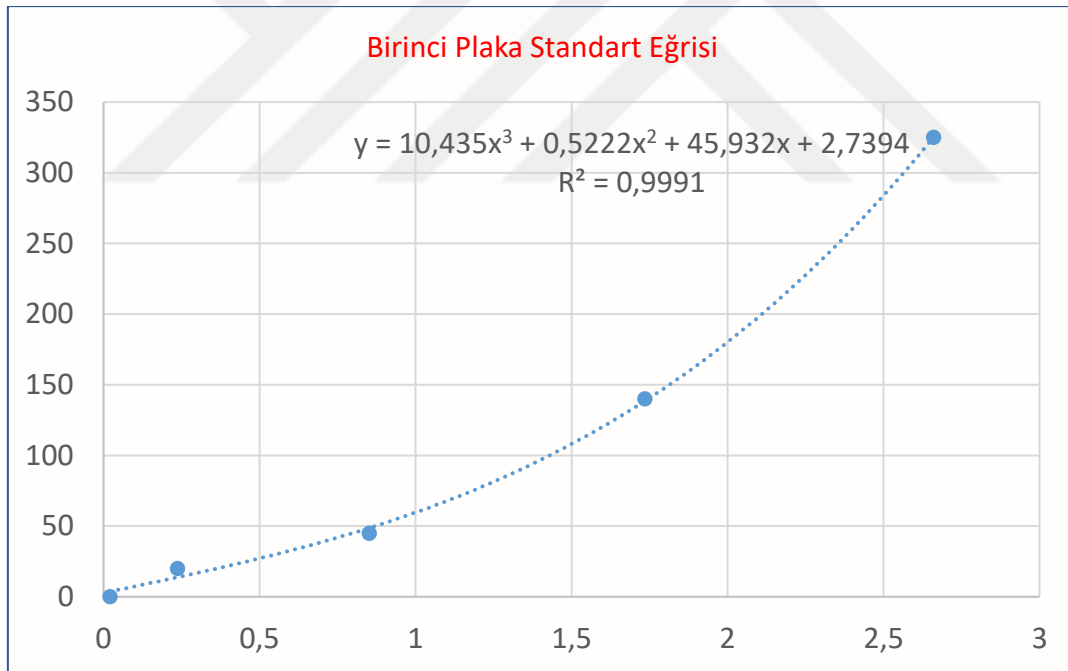
Şekil 3. Örnek toplama tüpü

3. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda 870 mL distile suyun içerisine 30mL konsantre yıkama solüsyonu (Katalog No. 10010) eklenerek gerekli yıkama aşamalarında kullanılmak üzere hazır hale getirildi.
4. Her kuyucuğa 50 µL Assay Buffer (Katalog No. 30485) eklendi.
5. Standartlar, pozitif ve negatif kontroller 2'şer kuyucuğa 50 µL eklendi.
6. Süspansiyon edilmiş örnekler kuyucuğa 50 µL eklendi, plakalar ışıktan korunmak için folyo ile kaplandı, çalkalama platformu ile 1 saat (400-450 rpm) inkübe edildi.
7. Kuyucuklar 350 µL yıkama solüsyonu ile beş defa plaka yıkayıcıda yıkandı.
8. Yıkama yapıldıktan sonra 12mL antikor sulandırıcı (Katalog No. 30458) içine 0.6 mL konsantre antikor eklendi ve antikor solüsyonu kullanıma hazır hale getirildi.
9. Her bir kuyucuğa taze olarak hazırlanmış 100 µL antikor eklendi.

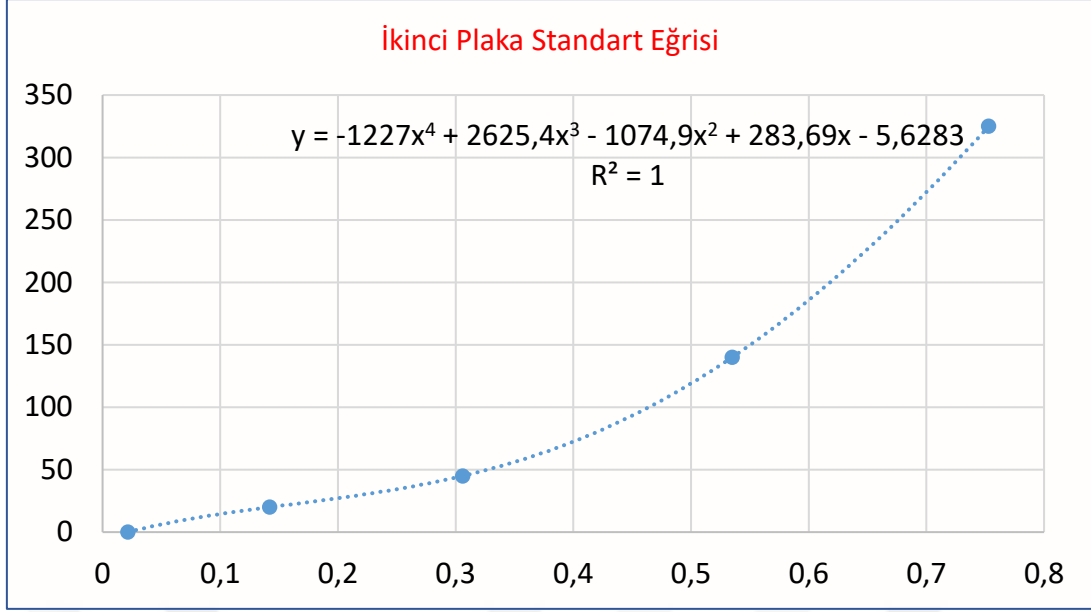
10. Plakalar ışıktan korunmak için folyo ile kaplandı, çalkalama platformu ile 45 dakika (400-450 rpm) inkübe edildi.
11. Kuyucuklar 350 µL yıkama solüsyonu ile beş defa plaka yıkayıcıda yıkandı.
12. Her bir kuyucuğa 100 µL HRP solüsyonu eklendi, folyo ile ışıktan korunarak oda sıcaklığında 12 dk inkübe edildi.
13. Her bir kuyucuğa 100 µL stop solution (sonlandırma çözeltisi) eklendi ve ardından 450 nm'de (Referans aralığı: 620-650 nm) absorbansları okundu.

### 3.7.3. Fekal Kalprotektin Sonuçlarının Yorumlanması ve Hesaplanması

İki ayrı plakada aynı teknik ile çalışılan örneklerin sonuçları Biotek-ELx800 Absorbans Okuyucu markalı ELİSA cihazında okutuldu. Cihazın programında standart eğrisi çizildi. Bu eğri üzerinden örneklerin absorbanslarına karşılık konsantrasyon değerleri alındı.



Şekil 4. Birinci plaka standart eğri grafiği



**Şekil 5.** İkinci plaka standart eğri grafiği

### 3.8. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi

İstatistiksel analizler IBM SPSS 21 paket programı ile yapıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğunun incelenmesinde Kolmogorov Smirnov ve Shapiro-Wilk testi kullanıldı. Normal dağılım göstermeyen değişkenlerin analizinde ikili karşılaştırmalarda Mann-Whitney U, çoklu karşılaştırmalarda Kruskal Wallis testi kullanıldı. Sonuçlar ortanca (minimum-maksimum) olarak verildi. Değişkenlerin birbiri ile ilişkisini belirlemek için Spearman korelasyon yapıldı.  $p < 0,05$  anlamlı olarak kabul edildi.

Korelasyon ilişkileri aşağıdaki kriterlere göre değerlendirilmiştir:	
R= 0,00-0,25	Çok Zayıf
0,26-0,49	Zayıf
0,50-0,69	Orta
0,70-0,89	Yüksek
0,90-1,00	Çok Yüksek



### **3.10. Etik Kurul Onayı**

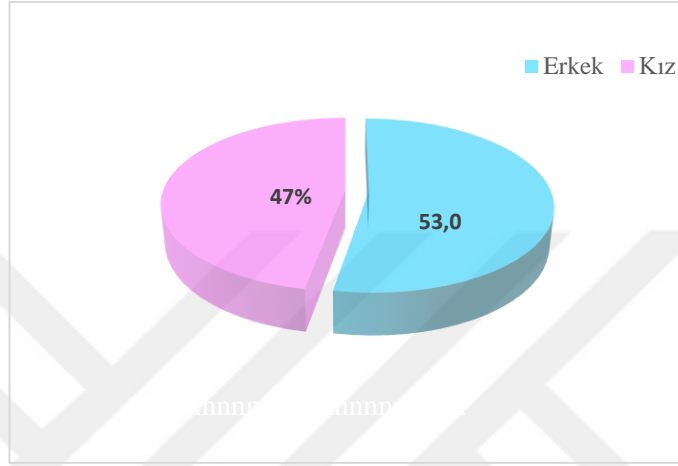
Çalışmamız, İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu tarafından 06.11.2018 tarihinde onayı alınarak, 1 Aralık 2018-31 Mayıs 2019 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Hastanesi'nde yürütüldü.

### **3.11. Mali Destek**

Çalışmanın giderleri Türk Pediatri Kurumu tarafından karşılanmıştır. Çalışma sırasında gaita örneklerinde FK düzeyi çalıştırılmasıyla ilgili hastaya veya sosyal güvenlik kurumuna herhangi bir ödeme yaptırılması, fatura yollanması ve hastaların herhangi bir masraf yapması söz konusu olmamıştır.

## 4. BULGULAR

Çalışmamıza; 1 Aralık 2018-31 Mayıs 2019 tarihleri arasında İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sağlam Çocuk İzlem polikliniğine başvuran %47'si (n=71) kız, %53'ü (n=80) erkek toplam 151 sağlıklı çocuk dahil edildi.



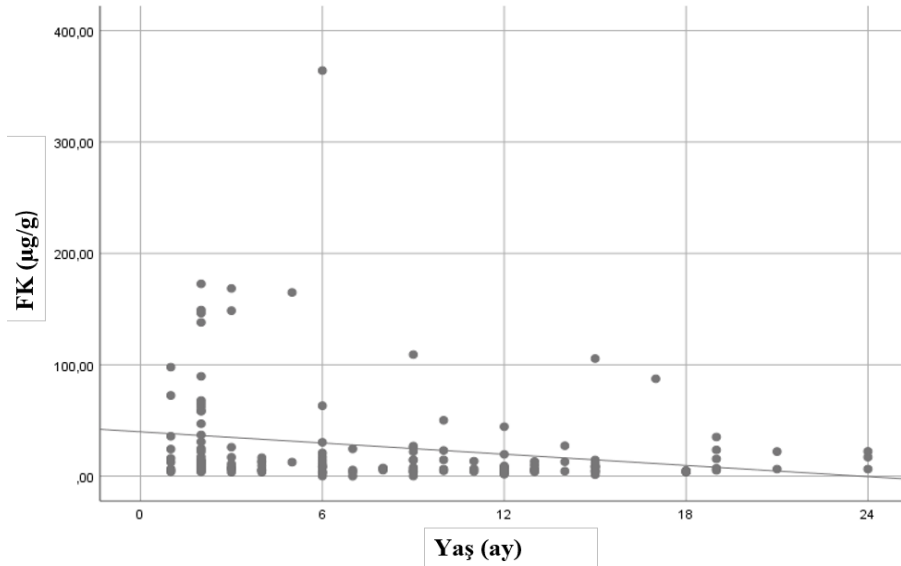
Şekil 6. Çalışma grubu cinsiyet dağılımı

Çalışmaya dahil edilen çocukların yaşları 1 ile 24 ay arasında değişmekte olup, ortalama  $8,4 \pm 6,1$  ay olarak saptandı. Doğum haftası; 35 ile 41 hafta arasında değişmekte olup, ortalama 38-2/7 hafta, doğum ağırlığı; 1830 g ile 4180 g arasında değişmekte olup, ortalama  $3146,2 \pm 483,6$  g olarak bulundu. Örnek alındığı sırada çalışma grubunda bulunan çocukların yaşa göre boy standart deviasyon skorları (SDS) -3,07 ile +3,02 arasında değişmekte olup, ortalama  $+0,04 \pm 1,1$  olarak; yaşa göre ağırlık standart deviasyon skorları (-4,12) ile (+2,81) arasında değişmekte olup, ortalama  $-0,22 \pm 1,1$  olarak bulundu.

**Tablo 4. Çalışma Grubunun Demografik Özelliklerinin Dağılımı**

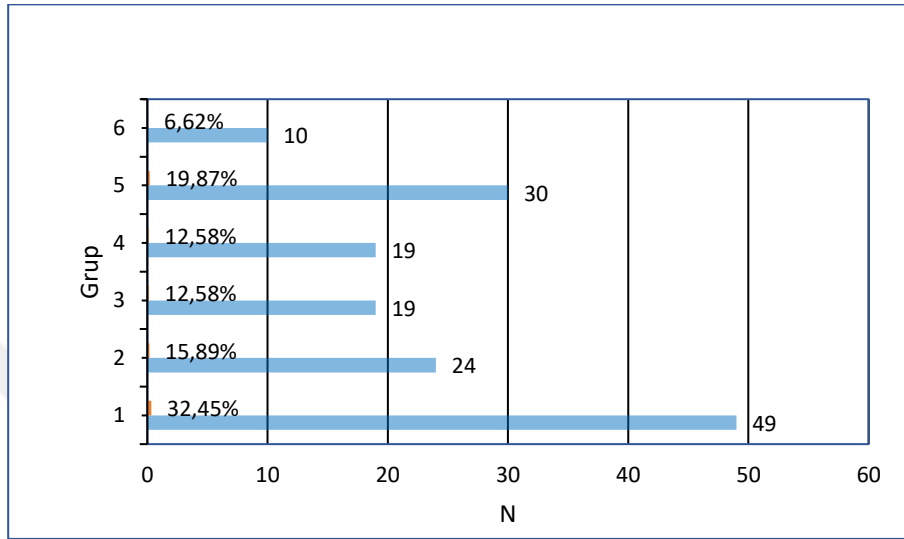
	Ortalama (Mean)	Standart Deviasyon	Min.-Maks.	Ortanca (Median)
Yaş (ay)	8,4	6,1	1-24	7
Doğum tartısı (g)	3146,2	483,6	1830-4180	3190
Doğum haftası	38-2/7	1+2	35-41	38+2
Kilo (SDS)	-0,23	1,1	(-4,12)- (2,81)	-0,34
Boy (SDS)	0,04	1,1	(-3,07)- (3,02)	-0,02

Çalışmaya dahil edilen çocukların FK değerleri normal dağılıma uymamakta olup, 0,00 µg/g ile 364,15 µg/g arasında değişmektedir. Fekal kalprotektin ortalama değer 25,79 µg/g, ortanca değer 9,32 µg/g olarak bulunmuştur. Erkek (ortanca 9,38µg/g, 0-172,67µg/g) ve kız (ortanca 9,16 µg/g, 0,12-364,15 µg/g) çocuklarda FK düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0,719). Bir yaş altındaki çocukların (n=100) FK ortanca değeri 12,6 µg/g (0-364,1 µg/g), 12-24 ay yaş aralığındaki çocukların (n=51) FK ortanca değeri 7,1 µg/g (1,3-105 µg/g) saptandı (p=0,003).



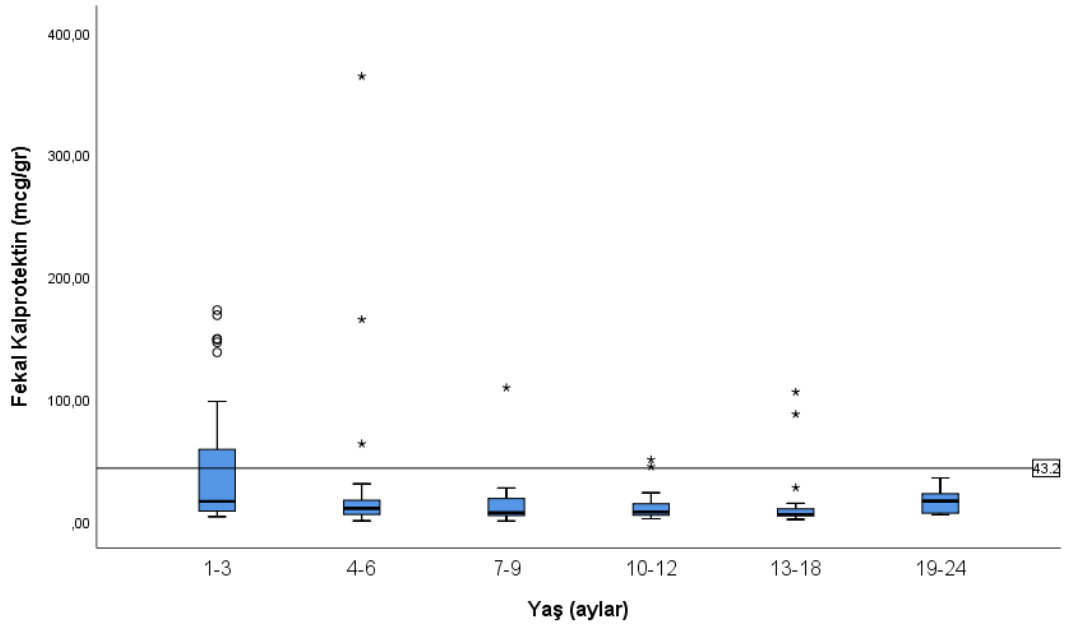
**Şekil 7. Yaşa göre FK karşılaştırması (r =-0,303 p<0,001)**

Çalışma grubu yaşa göre 1-3 ay, 4-6 ay, 7-9 ay, 10-12 ay, 13-18 ay, 19-24 ay aralığında 6 gruba ayrılarak FK düzeyleri incelendi. Çalışma grupları grup 1 (1-3 ay), grup 2 (4-6 ay), grup 3 (7-9 ay), grup 4 (10-12 ay), grup 5 (13-18 ay), grup 6 (19-24 ay) olarak adlandırıldı. Yaş gruplarına göre çocukların dağılımı Şekil 8’de gösterilmiştir.



Şekil 8. Yaş gruplarına göre çocukların dağılım grafiği

Yaş gruplarına göre FK düzeyleri; 1-3 ay arası çocuklar 3,52  $\mu\text{g/g}$  ile 172,67  $\mu\text{g/g}$  arasında değişmekte olup ortanca değer 16,02  $\mu\text{g/g}$  olarak, 4-6 ay arası çocukların 0,12  $\mu\text{g/g}$  ile 364,15  $\mu\text{g/g}$  arasında değişmekte olup ortanca değer 10,33  $\mu\text{g/g}$  olarak, 7-9 ay arası çocukların 0,00  $\mu\text{g/g}$  ile 109,15  $\mu\text{g/g}$  arasında değişmekte olup ortanca değer 6,77  $\mu\text{g/g}$  olarak, 10-12 ay arası çocukların 1,76  $\mu\text{g/g}$  ile 50,18  $\mu\text{g/g}$  arasında değişmekte olup ortanca değer 7,34  $\mu\text{g/g}$  olarak, 13-18 ay arası çocukların 1,30  $\mu\text{g/g}$  ile 105,57  $\mu\text{g/g}$  arasında değişmekte olup ortanca değer 5,39  $\mu\text{g/g}$  olarak, 19-24 ay arası bebeklerin 5,20  $\mu\text{g/g}$  ile 35,16  $\mu\text{g/g}$  arasında değişmekte olup ortanca değer 16,28  $\mu\text{g/g}$  olarak saptandı. Yaş gruplarında FK ( $\mu\text{g/g}$ ) düzeyleri ortalama ve ortanca değerleri Tablo 5’te gösterilmiştir.



**Şekil 9.** Yaş gruplarında fekal kalprotektin ( $\mu\text{g/g}$ ) düzeyleri

Yaş grupları arasında yaş ilerledikçe FK düşme eğilimi göstermektedir. Tüm yaş grupları değerlendirildiğinde yaş ile FK düzeyi arasında negatif korelasyon saptandı (Kruskal Wallis  $r = -0,303$ ,  $p < 0,001$ ). Gruplar arası karşılaştırmada; grup 1 ile grup 2 arasında ( $p = 0,039$ ), grup 1 ile grup 3 arasında ( $p = 0,005$ ), grup 1 ile grup 4 arasında ( $p = 0,004$ ), grup 1 ile grup 5 arasında ( $p = 0,00$ ), grup 5 ile grup 6 arasında ( $p = 0,041$ ) FK düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı.

**Tablo 5.** Yaş Gruplarına Göre Fekal Kalprotektin ( $\mu\text{g/g}$ ) düzeyi

Gruplar	Yaş Aralığı	N	Ortalama	Min.-Maks.	Ortanca	p değeri
Grup 1	1 - 3 ay	49	40,76	3,52 - 172,76	16,02	P<0,001
Grup 2	4 - 6 ay	24	33,60	0,12 - 364,15	10,33	
Grup 3	7 - 9 ay	19	15,42	0,00 - 109,15	6,77	
Grup 4	10 - 12 ay	19	12,51	1,76 - 50,18	7,34	
Grup 5	13 - 18 ay	30	13,32	1,30 - 105,57	5,39	
Grup 6	19 - 24 ay	10	16,07	5,20 - 35,16	16,28	

Kruskal Wallis Test  $p < 0,05$

**Tablo 6. Gruplar Arasında Fekal Kalprotektin Düzeyi Karşılaştırması**

Gruplar	p değeri
Grup 1 - Grup 2	0,039
Grup 1 - Grup 3	0,005
Grup 1 - Grup 4	0,004
Grup 1 - Grup 5	0,000
Grup 5 - Grup 6	0,041

Çocuklar antenatal öykülerine göre gruplandırıldığında; 35 GH ve 36-6/7 GH doğanlar geç preterm, 37 GH ve üzerinde doğanlar term olarak adlandırıldı. Yapılan çalışmalar doğrultusunda doğum haftasının yaşamın ilk aylarında FK düzeyine etkisi olabileceği için 1-3 ay yaş aralığındaki çocukların GH'nın FK düzeyine etkisi değerlendirildi. Geç preterm doğum öyküsü olan çocukların FK ortanca değeri 14,9 µg/g ve term doğum öyküsü olan çocukların FK ortanca değeri 16 µg/g saptandı, GH'nın FK düzeyine etkisi istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p>0,05).

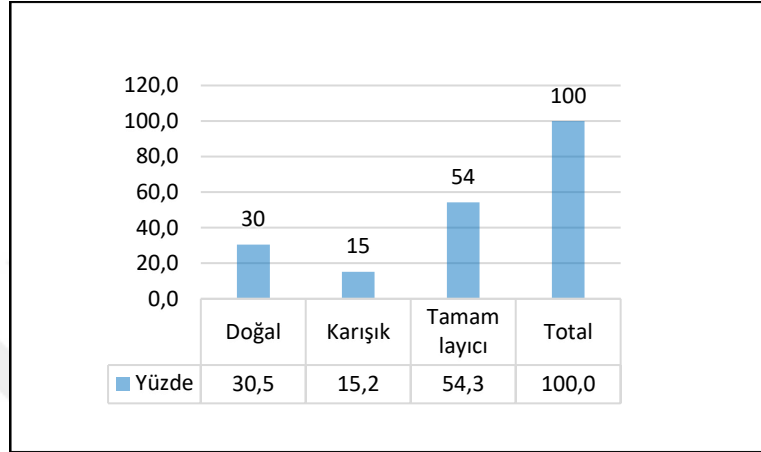
**Tablo 7. Doğum Haftasına Göre Fekal Kalprotekti Düzeyi İlişkisi (1. Grup)**

	N	Median	Min.–Maks.	p değeri
Geç preterm	8	14,9	3,5-138,1	p>0,05
Term	41	16	3,9-172,6	

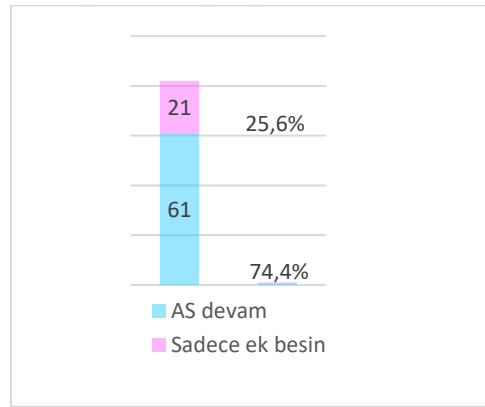
Mann-Whitney U testi \*p<0,05

Çalışmaya katılan çocukların antropometrik ölçümleri büyüme eğrilerine göre değerlendirildiğinde; yaşa göre tartı standart sapma skoru (SDS) -2,00 altında 5 çocuk, yaşa göre boy SDS -2,00 altında 1 çocuk, yaşa göre tartı ve boy SDS -2,00 altında 1 çocuk mevcuttu. Büyüme geriliği olan 7 çocukta bilinen kronik hastalık olmayıp, 2'sinde SGA doğum öyküsü mevcuttu. Yaşa göre boy ve kilo Z skorları ile FK düzeyi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Sırasıyla p değeri; 0,096, 0,374).

Beslenme şekilleri değerlendirildiğinde; çocukların %30,5'inin (n=46) sadece anne sütü ile, %15,2'sinin (n=23) anne sütü ve formül mama ile beslendiği saptandı. Grubun %54,3'ü (n=82) ek besine geçtiği için tamamlayıcı beslenme grubuna dahil edildi. Tamamlayıcı beslenme grubuna dahil edilen çocukların %25,6 (n=21) sadece ek besin, %74,4'ü (n=61) ek besin ve anne sütü almaktaydı.



Şekil 10. Çalışma grubunun beslenme şekillerine göre dağılımı



Şekil 11. Tamamlayıcı beslenmede anne sütüne devam oranı

Sadece anne sütü ile beslenen çocukların FK düzeyleri, yapay veya karışık beslenme grubuna dahil olan çocukların FK düzeyleri ile karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark bulunmadı (p= 0,949). Tamamlayıcı beslenmede anne sütüne devam edip etmemelerine göre FK düzeyleri karşılaştırıldığında arada anlamlı fark bulunmadı (p= 0,606).

**Tablo 8. Ek Besin Öncesi Beslenme Şeklinin FK ( $\mu\text{g/g}$ ) Düzeyi ile İlişkisi**

Beslenme Şekli	N	Ortanca	Min.	Maks.	p değeri
Doğal	46	12,76	2,43	364,15	p>0,05
Karışık	23	13,47	0	168,53	

**Tablo 9. Ek Besine Geçen Çocuklarda Anne Sütü Alımının FK ( $\mu\text{g/g}$ ) Düzeyi ile İlişkisi**

Tamamlayıcı Beslenmede Anne Sütü Alımı	N	Ortanca	Min.	Maks.	p değeri
Evet	61	7,14	0,12	109,15	p>0,05
Hayır	21	9,3	3,61	44,43	

İlk 5 aylık yaş aralığında olup Roma 4 kriterlerine göre 28 çocukta kolik saptandı. Bu yaş aralığında kolik öyküsü olan çocuklar ve olmayanların FK düzeyleri arasında anlamlı fark bulunmadı ( $p= 0,309$ ).

**Tablo 10. İnfantil Kolik ve Fekal Kalprotektin ( $\mu\text{g/g}$ ) Düzeyi İlişkisi**

Kolik Öyküsü	N	Ortanca	Min.	Maks.	p değeri
Var	28	11,81	3,57	168,53	p>0,05
Yok	31	14,41	3,52	172,67	

Klinik bulgular doğrultusunda GER tanısı alan 11 hastanın FK düzeyleri GER öyküsü olmayan çocuk ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmadı ( $p= 0,321$ ).



**Tablo 11. Gastroözofageal Reflü ve Fekal Kalprotektin ( $\mu\text{g/g}$ ) Düzeyi İlişkisi**

GÖR Öyküsü	N	Ortanca	Min.	Maks.	p değeri
Var	11	13,47	3,89	164,94	p>0,05
Yok	140	9,06	0	364,15	

Çalışma grubuna son 2 hafta içinde geçirilmiş enfeksiyon öyküsü veya akut enfeksiyon bulgusu olan çocuklar dahil edilmedi. İki haftalık süre öncesinde enfeksiyon ve/veya antibiyotik kullanım öyküsünün FK düzeyi ile ilişkisi değerlendirildi. Son 1 ay içerisinde geçirilmiş enfeksiyon öyküsü olan çocuklar 10'u üst solunum yolu enfeksiyonu (ÜSYE), 6'sı akut bronşiyolit, 3'ü akut gastroenterit (AGE), 2'si pnömoni, 2'si idrar yolu enfeksiyonu (İYE), 1'i akut otitis media olmak üzere toplam sayıları 24 idi. Bu çocukların FK düzeyleri enfeksiyon öyküsü olmayanlarla karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,955$ ).

**Tablo 12. Geçirilmiş Enfeksiyon Öyküsü ve Fekal Kalprotektin düzeyi ile İlişkisi**

Geçirilmiş Enfeksiyon	N	Ortanca	Min.	Maks.	p değeri
Var	24	8,86	3,47	149,69	p>0,05
Yok	127	9,31	0	364,15	

Çalışma grubuna son 2 hafta içinde ilaç kullanım öyküsü olanlar dahil edilmemiş olup son 1 ay içinde antibiyotik veya parasetamol, NSAİD kullanım öyküsü olanlar sorgulandı. Antibiyotik kullanım öyküsü olan 23 çocuk mevcut olup; ÜSYE, bronşiyolit, İYE, pnömoni, akut otitis media, impetigo nedeniyle antibiyotik kullanımları mevcuttu. Antibiyotik kullanımının FK düzeyi ile ilişkisi karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,60$ ). Analjezik veya anti-piretik olarak parasetamol ve/veya ibuprofen kullanım öyküsü olan 19 çocuk olup, FK düzeyi ile ilişkisi karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı ( $p=0,15$ ).

**Tablo 13. Antibiyotik Kullanım Öyküsünün Fekal Kalprotektin ( $\mu\text{g/g}$ ) Düzeyi ile İlişkisi**

Antibiyotik kullanım öyküsü	N	Ortanca	Min.	Maks.	p değeri
Var	23	7,58	3,47	149,69	p<0,05
Yok	128	9,63	0	364,15	

**Tablo 14. Parasetamol/ NSAİD Kullanım Öyküsünün FK ( $\mu\text{g/g}$ ) düzeyi ile ilişkisi**

Parasetamol/ NSAİD kullanım öyküsü	N	Median	Min.	Maks.	p değeri
Var	19	6,28	2,43	148,56	p<0,05
Yok	132	9,7	0	364,15	

## 5. TARTIŞMA

Sağlıklı süt çocuklarında FK düzeyinin yaş ile korelasyonunu göstermeyi amaçladığımız çalışmamıza 1-24 ay yaş aralığında olan 151 çocuk dahil edildi. Dışkı örneklerinin çalışıldığı kitin eşik değeri üretici firma tarafından 43,2 µg/g (120 ng/ml) olarak belirlendi. Çalışma grubundaki tüm çocukların ortalama FK değeri 25,79 µg/g, ortanca FK değeri 9,32 µg/g saptandı. Yaş aralığı 1-12 ay arasında olan çocukların ortalama FK değeri 32,20 µg/g (0-364,1), 12-24 ay arasında olan çocukların ortalama FK değeri 15,38 µg/g (1,3-105) saptandı. Li ve ark. [55] çalışmasında; 1-18 ay yaş aralığındaki sağlıklı çocukların (n=288) FK düzeyinin ortanca değeri 174,3 µg/g saptanmıştır. Yaş gruplarına göre FK ortanca değeri; 1-3 ay arasında 375,2 µg/g, 3-6 ay arasında 217,9 µg/g, 6-9 ay arasında 127,7 µg/g, 9-12 ay arasında 96,1 µg/g, 12-18 ay arasında 104,2 µg/g bulunmuştur. Fekal kalprotektin düzeyinin yaş ile düşme eğiliminde olduğu gösterilmiştir. Akut gastroenterit tanılı hastalarda viral ve bakteriyel etkenlerin ayırımında FK'nin non-invaziv parametre olarak kullanılabilirliğini göstermeyi amaçlayan Sykora ve ark. [80] çalışmasında; 1-36 ay yaş aralığındaki sağlıklı kontrol grubundaki çocukların (n=41) FK ortanca değeri 26,5 µg/g saptanmıştır. Sağlıklı kontrol grubunda yaş aralıklarına göre FK ortanca değeri; 1-12 ay aralığında 57 µg/g (26,5-87,2), 12-36 ay aralığında 18,1 µg/g (7,8-22,7) olup istatistiksel olarak anlamlı fark gösterilmiştir. Olafsdottir ve ark. [81] çalışmasında; 2-10 hafta arası sağlıklı bebeklerde (n=27) ortalama FK değeri 277±109 µg/g, sağlıklı 1-13 yaş arası çocuklarda (n=24) ortalama FK değeri 40±28 µg/g, EBH tanılı çocuklarda ortalama FK değeri 293±218 µg/g olarak saptanmıştır. Sağlıklı bir yaş altındaki bebeklerde FK düzeyinin bir yaşından büyük sağlıklı çocukların FK düzeyinden yüksek, enflamatuvar bağırsak hastalığı tanısı almış çocukların FK düzeyleri ile benzer olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar ile karşılaştırıldığında; çalışmamıza dahil edilen sağlıklı çocukların FK düzeyleri aynı yaş aralığındaki çocuklardan daha düşük bulundu. Sykora ve ark. [80] çalışması ile benzer olarak, çalışma grubumuzdaki çocuklardan; yaşı 12 ay altında olanların FK düzeyi ile 12 ay ve üzerinde olanların FK düzeyi arasında anlamlı fark saptandı. Literatürde aynı yaş aralığında olan sağlıklı süt çocuklarının FK düzeyi farklılık göstermektedir, FK düzeyinin yaş ile negatif korelasyon göstermesi ise tüm çalışmalarda ortak sonuç olarak değerlendirilmektedir.

Çalışmamızda FK düzeyleri, yaş aralıklarına göre 6 gruba ayrılarak incelendi. Yaş gruplarına göre bakıldığında FK ortanca değeri; 1-3 ay arasındaki 1. Grupta 16,02 µg/g

(n=49, 3,52-172,67 µg/g), 4-6 ay arasındaki 2. grupta 10,33 µg/g (n=24, 0,12-364,15 µg/g), 7-9 ay arasındaki 3. grupta 6,77 µg/g (n=19, 0,00-109,15 µg/g), 10-12 ay arasındaki 4. Grupta 7,34 µg/g (n=19, 1,76-50,18 µg/g), 13-18 ay arasındaki 5. grupta 5,39 µg/g (n=30, 1,30-105,57 µg/g), 19-24 ay arasındaki 6. grupta 16,28 µg/g (n=10, 5,20-35,16 µg/g) olarak saptandı. Yapılan çalışmalarla uyumlu olarak; çalışmamızda tüm yaş grupları değerlendirildiğinde yaş ile FK düzeyi arasında negatif korelasyon saptandı (p<0,001). Gruplar arası karşılaştırmada; grup 1 ile grup 2 arasında (p= 0,039), grup 1 ile grup 3 arasında (p= 0,005), grup 1 ile grup 4 arasında (p= 0,004), grup 1 ile grup 5 arasında (p= 0,00), grup 5 ile grup 6 arasında (p= 0,041) FK düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Grupların ortanca değeri birbirine yakın olmakla beraber en yüksek ve düşük değerlere bakıldığında grup 1’de daha belirgin olmak üzere birbirine uzak uç değerler mevcuttu. Gruplar arasında en büyük yaş aralığında olan 6. grubun ortanca değeri 1. grup ile aynı saptandı ancak bu gruptaki çocuklarda eşik değer üzerinde FK düzeyi saptanmadı.

Tüm gruplarda eşik değerin üzerinde FK düzeyi olan 11’i kız 12’si erkek 23 çocuk mevcuttu. Bunlardan 15 çocuk 1-3 ay, 3 çocuk 4-6 ay, 1 çocuk 7-9 ay, 2 çocuk 10-12 ay, 2 çocuk 13-18 ay yaş aralığındaydı. Eşik değerin üzerinde ölçülen en yüksek FK düzeyi 364,15 µg/g olarak saptandı. Fekal kalprotektin düzeyi yüksek saptanan grupta 22 çocuk anne sütü almakta idi, 1 çocuğun SGA doğum öyküsü ve büyüme geriliği ve 1 çocuğun GER nedeniyle izlemi mevcuttu. Yaş grupları arasında benzerlik nedeniyle Li ve ark. [55] çalışması ile kıyaslandığında çalışma grubumuzda; FK düzeyi daha düşüktü ancak çalışma ile aynı olarak gruplar arasında yaş ile FK düzeyi düşme eğiliminde idi.

Yaşamın ilk 3 ayında, özellikle yenidoğan dönemi olmak üzere yüksek FK düzeyinin artmış bağırsak geçirgenliği ve bunun sonucu olarak bağırsak lümenine artmış granülosit göçü ile ilişkili olduğu gösterilmiştir [51]. Baldassare ve ark. [82] çalışmasında; term yenidoğanların FK düzeyinin yaşamın ilk ayında günler arasında farklılık göstermediği, 6 hafta ve 6 ay arasında düşme eğiliminde olduğu gösterilmiştir. Çalışmamız; eşik değer üzerinde FK düzeyi olan 23 çocuktan 18’inin 1-6 ay aralığında saptanması ile literatürde yapılan çalışmalarla uyumluluk göstermektedir. Bağırsak geçirgenliği yenidoğan döneminde erişkin yaş grubuna kıyasla önemli ölçüde yüksektir. Kalprotektinin bakterisidal, fungusidal, immunomodülatör özellikler gibi birçok biyolojik aktiviteye sahip olması ile, yaşamın ilk haftalarında sağlıklı bebeklerde bağırsakların fizyolojik adaptasyon sürecine katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Yenidoğan döneminde yapılan çalışmalarda; FK düzeyinin

referans aralığının üzerinde olduğu ancak en yüksek ve en düşük değerleri incelendiğinde, yüksek değerlerin yanında normal değerlerinde olduğu görülmektedir. Literatürde bireyler arasında farklılık olarak yorumlanan bu durumun dışkı örneğinin alınması ve laboratuvara ulaştırılması sürecindeki teknik hatalara bağlı olup olmadığını Olafsdottir ve ark. [81] araştırmıştır. Bu çalışmada; bebek bezinde emilen suyun, dışkı gramı başına artmışkalprotektin konsantrasyonu ile sonuçlanabileceği ve bireyler arasındaki farklılığı açıklayabileceği düşünülmüş, sonuç olarak FK düzeyini en fazla %30 konsantrasyonunda etkilediği gösterilmiştir.

Nissen ve ark. [83] çalışmasında; postnatal yaşı aynı olan term ve preterm yenidoğanların FK düzeyi arasında fark saptanmamıştır. Van Elburg ve ark. [84] çalışmasında; laktuloz/mannitol testi ile bağırsak geçirgenliğinin preterm yenidoğanlarda term yenidoğanlardan daha yüksek olduğu gösterilmiş ancak yaşamın ilk 72 saatinden sonra artmış geçirgenliğin term yenidoğanlarla aynı olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalar doğrultusunda yenidoğan döneminde FK'nin referans aralığını belirlemeye yönelik term ve preterm doğum öyküsü olan bebeklerde çalışmalar yapılmıştır. Preterm bebekleri etkileyen, yenidoğan döneminde morbidite ve mortalitesi yüksek bir GİS hastalığı olan NEK'te non-invaziv belirteç olarak FK'nin kullanımının etkinliğini araştıran çalışmalar yapılmıştır. Josefsson ve ark. [85] çalışmasında; NEK tanısı ile izlenen bebeklerin FK düzeyinin NEK şüphesi olanlardan daha yüksek olduğu gösterilmiştir, eşik değer 2000 µg/g olarak belirlenmiştir. Campeotto ve ark. [86] çalışmasında; preterm doğum öyküsü olan bebeklerde (n=52) FK düzeyinin ortanca değeri 160 µg/g (<15-650) bulunmuştur, eşik değer 636 µg/g olarak belirlenmiştir. Carroll ve ark. [66] çalışmasında; NEK tanısı alan hastaların tanı sırasındaki FK düzeylerinin aynı özelliklere sahip sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek olduğu gösterilmiştir. Çalışmanın kontrol grubunda FK sonuçları geniş varyasyon göstermekte olup NEK'te belirteç olarak FK'nin kullanılması ve yenidoğan döneminde eşik değeri belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu yorumu yapılmıştır. Yang ve ark. [87] çalışmasında; çok düşük doğum ağırlıklı bebeklerin doğum haftası ile FK düzeyi arasında korelasyon saptanmamıştır. Fekal kalprotektinin seri ölçümlerle değerlendirildiği bu çalışmada; GİS'de enflamasyon sürecinin şiddetini belirtmek ve tedaviye yanıtı izlemek için FK'nin kullanılabileceği gösterilmiştir. NEK tanısında eşik değer olarak >350 µg/g önerilmiştir.

Çalışmamıza preterm doğum öyküsü olan ve yenidoğan dönemindeki bebekler dahil edilmemiştir. Doğum haftasının FK düzeyi ile ilişkisi 1-3 ay yaş aralığındaki bebekler

arasında incelendiğinde; literatürdeki çalışmalar ile uyumlu olarak geç preterm (35- 36-6/7 GH) ve term (37-41 GH) bebekler arasında fark bulunmamıştır. Yaşamın ilk aylarında FK düzeyini etkileyen faktörlerin araştırıldığı çalışmalarda; bağırsak geçirgenliğinde artış, intestinal immun sistemin matürasyon süreci ve mikroflora bileşimindeki farklılıklara bağlı olarak FK düzeyinin yenidoğan döneminde daha yüksek olduğu gösterilmiştir. Bağırsak kolonizasyonu yaşamın ilk haftalarında oluşur. Bağırsak florası tarafından üretilen formil-metiyonil-lösil-fenilalanin gibi kemotaktik ajanların granülosit transepitelyal göçünü uyararak kalprotektin düzeyinin dışkıda artmasının sebeplerinden biri olduğu bildirilmektedir. Lümen içinde artan granülositler bağırsak florasını ve oral tolerans gelişimini etkilemektedir [81]. Kapel ve ark. [51] çalışmasında; intestinal bakteriyel kolonizasyonu geciktiren perinatal faktörlerin (örneğin; antibiyotik tedavisi) FK düzeyi ile negatif korelasyon gösterirken, bağırsak bakteri kolonizasyonunu desteklediği bilinen faktörlerin (örneğin; postnatal yaş) FK ile pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Mohan ve ark. [88] çalışmasında; FK ve intestinal mikrobiyota arasındaki ilişkiyi gösterebilmişken ve probiyotik takviyesinin, diyet ve bakteriyel antijenlere karşı gelişen enflamatuvar yanıtların zayıflamasına sebep olabileceğini öne sürmüştür. Björkström ve ark. [89] çalışmasında; mikrobiyota ve FK düzeyi arasında ilişki gösterilmemiştir.

Mikrobiyota ve floranın gelişim sürecinde diğer önemli faktörlerden biri de beslenmedir. Asgarshirazi ve ark. [59] çalışmasında; sağlıklı term doğum öyküsü olan çocuklardan (n=60) 1 ve 6 aylıkken alınan dışkı örneklerinden çalışılan FK düzeyinin 6. ayda anlamlı olarak düştüğü gösterilmiştir. Beslenme şekline göre gruplandırılarak incelendiğinde FK ortanca değeri; anne sütü ile beslenen grupta (n=28) 1. ayda 312 µg/g, 6. ayda 210,5 µg/g, yapay veya karışık beslenme grubunda olan çocuklarda ile beslenen grupta (n=32) 1. ayda 110 µg/g, 6. ayda 93,5 µg/g saptanmıştır. Anne sütü alan çocuklarda FK düzeyi istatistiksel olarak anlamlı yüksek saptanmıştır. Bu durum, artmış enflamasyon lehine değil anne sütü ile beslenmede intestinal immun yanıtın daha etkili olması lehine yorumlanmıştır. Oswari ve ark. [61] çalışmasında; Rosti ve ark. [74] çalışmasında; anne sütü ile beslenme ve formül mama ile beslenmede FK düzeyleri arasında fark saptanmamıştır. Campeotto ve ark. [57] çalışmasında; beslenmenin şeklinin FK düzeyi üzerinde etkisi gösterilememiştir. Yaşamın ilk gününde mekonyumda FK düzeyinin yüksek olduğunu gösteren çalışmalar göz önünde bulundurularak; intrauterin dönemde bağırsaklarda yüksek FK bulunduğu, floradaki farklılık ve immun sistem immatüritesinin beslenmeden bağımsız olarak artmış FK düzeyine sebep olduğu yorumu yapılmıştır [81,82]. Çalışma grubumuzu beslenme şekillerine göre

ayırduğumuzda; sadece anne sütü ile beslenen çocukların FK düzeyleri, yapay veya karışık beslenme grubuna dahil olan çocukların FK düzeyleri ile karşılaştırıldığında arada anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,949$ ). 6. aydan sonra tamamlayıcı beslenmede anne sütüne devam edip etmemelerine göre FK düzeyleri karşılaştırıldığında arada anlamlı fark bulunmadı ( $p= 0,606$ ).

Çalışmamızda 1-5 ay yaş aralığında, Roma 4 kriterlerine göre 28 çocukta kolik saptandı. Bu yaş aralığında kolik öyküsü olan çocuklar ve olmayanların FK düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı. Rhoads ve ark. [65] çalışmasında; yaşları 6 ile 10 ay arasında değişen, süt çocuklarından koliği olanların ( $n=19$ ) FK düzeyi  $413\pm71$   $\mu\text{g/g}$ , kontrol grubunun ( $n=17$ ) FK düzeyi  $197\pm46$   $\mu\text{g/g}$  saptanmıştır. Kolikli süt çocuklarının FK düzeyi; kontrol grubundan yaklaşık 2 kat yüksek ve EBH aktif döneminde olan çocuklarla benzer saptanmıştır. Bu durum; kolikli bebeklerde artmış GİS enflamasyonuna, florada mikrobiyal çeşitliliğin daha az olmasına bağlı düşünülmüştür. Kolikli bebeklerde artmış GİS enflamasyonunun olduğu, kolik tanısının adolesan yaş grubunun İBS gibi değerlendirilebileceği yorumu yapılmıştır. Asgarshirazi ve ark. [59] çalışmasında; ise kolik öyküsü olanların FK düzeyinin kontrol grubu ile arasında anlamlı fark saptanmamıştır. Aynı çalışmada GÖRH olan çocukların FK düzeyinin kontrol grubundan yüksek olduğu gösterilmiştir. Gastroözofageal reflü hastalığında FK'nin belirteç olarak kullanımına yönelik çalışmalar sınırlıdır. Çalışmamızda klinik bulgular doğrultusunda GER tanısı alan 11 hastanın FK düzeyleri GER öyküsü olmayan çocuklar ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı fark bulunmamıştır. Yine bu yaş grubunda intestinal enflamasyonun arttığı bilinen bir diğer hastalık olan İSPA'da, FK'in kullanılabilirliğinin incelendiği Beşer ve ark. [68] çalışmasında; İSPA tanısı alan hastaların FK düzeyi kontrol grubundan yüksek saptanmıştır. İnek sütü proteini alerjisi alt gruplarına göre incelendiğinde; IgE aracılıklı besin alerjisi olan hastaların kontrol grubundan yüksek FK düzeyi saptanmış ancak istatistiksel olarak anlamlı değerlendirilmemiştir. IgE ilişkili olmayan besin alerjileri grubunda FK düzeyininin daha yüksek olmasının ön planda GİS tutulumuna bağlı olduğu düşünülmüştür. Her iki grupta da tedavi öncesi ve sonrası FK düzeyi arasında anlamlı fark saptanmıştır. Bu sonuçlar; FK'in tedavinin takibi ve rekürrenste anlamlı bir parametre olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Li ve ark. [55] çalışmasında; antropometrik ölçümlere göre yaşa göre boy ve tartı standart deviasyonlarının bağırsak geçirgenliğine etkisi araştırılmıştır. Büyüme geriliği olan çocuklarda artmış bağırsak geçirgenline bağlı yüksek kalprotektin düzeyi saptanabileceği

gösterilse de bireyler arasındaki varyasyonla ilişkili yüksekliğin göz ardı edilmemesi gerektiği düşünülmüştür. Liu ve ark. [90] çalışmasında; kırsal bölgede olan çocukların kentli çocuklara göre daha yüksek kalprotektin düzeyi olduğu gösterilmiş, bu farklılık yaşa göre ağırlık ve boy Z skorlarının düşüklüğü ile açıklanmıştır. Kalprotektinin büyümeye negatif etki gösterebileceğinin öne sürüldüğü bu çalışma anne sütü ile beslenen çocuklarda yüksek kalprotektin düzeyini gösteren çalışmalarla çelişmektedir. Çalışmamızda yaşa göre boy ve kilo Z skorları ile FK düzeyi arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Yine diğer çalışmalarla korele olarak, FK düzeyi ve cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı. [23,55,59,80]

Erişkin yaş grubunda FK referans değeri belirlenmiştir. Ton ve ark. [91] çalışmasında; sağlıklı erişkinler için FK eşik değeri 50 µg/g olarak belirlenmiştir. Roseth ve ark. [53] çalışmasında; erişkinlerde günlük tek dışkı örneğinde indiyum-111 (In-111) İLS ile ölçülen kalprotektin ekskresyonunun 3 günlük ortalama ekskresyonu ile korele olduğu gösterilmiştir. Tibble ve ark. [54] çalışmasında; CH tanılı erişkin hastalarda 4 günlük İLS bulguları ile tek dışkı örneğindeki FK ölçümünün korele olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalar doğrultusunda intestinal enflamasyonda lümen nütrofil göçünü göstermede FK ölçümünün önemli bir belirteç olduğu gösterilmiştir.

Yaşamın ilk aylarında GİS gelişim sürecinin devam etmesi ve intestinal mukozayı etkileyen faktörler nedeniyle FK düzeyi için yaş gruplarına göre farklı referans değerler oluşturmak gerekmektedir. Fekal kalprotektinin çocuklarda referans aralığını belirlemeye yönelik Fagerberg ve ark. [23] çalışmasında; 4-17 yaş aralığında, süt çocuklarından farklı olarak FK düzeyi ile yaş arasında korelasyon gösterilmemiş ve erişkin yaş grubu ile benzer sonuçlar elde edilmiştir. Erişkin yaş grubunda kullanılan eşik değerin (<50 µg/g) 4-17 yaş aralığında da kullanılabilmesi belirtilmiştir. Buna karşılık Canani ve ark. [93] çalışmasında; 4-17 yaş grubunda sağlıklı çocuklarda FK düzeyi 50 µg/g üzerinde saptanmıştır. Ezri ve ark. [94] çalışmasında; FK eşik değerinin yaşamın ilk bir yılı için 350 µg/g, büyük çocuklar için 275 µg/g ve erişkinler için 50 µg/g olarak belirlenmiştir, fakat eşik değer belirleme yöntemi ile ilgili bilgi verilmemiştir. [68] Tibble ve ark. [54] çalışmasında; İBS'yi enflamatuvar bağırsak hastalıklarından ayırmada FK 30 mg/l (mg/kg) eşik değerinin %100 duyarlılık, %97 özgüllüğe sahip olduğunu göstermiştir. Fekal kalprotektinin bireyler arası geniş varyasyon göstermesi, immun sistem ve flora gelişimini etkileyen genetik ve çevresel faktörler nedeniyle referans değerleri belirlemek için daha fazla sayıda çalışmaya ihtiyaç vardır.



## 6. SONUÇ

Yaşamın ilk aylarında GİS gelişim sürecinin devam etmesi, postnatal adaptasyon süreci, bağırsak mukozasında artmış geçirgenlik, bağırsak florasındaki farklılık nedeniyle FK düzeyi yüksek saptanmaktadır. Bireyler arasında farklılıklar, antenatal dönemde etkili stres faktörleri, beslenmenin intestinal adaptasyon sürecine etkisi ile süt çocukluğu döneminde farklı FK sonuçları elde edilmiştir.

Okul çağındaki ve adolesan yaş grubundaki çocuklarda fonksiyonel GİS hastalıkları ve EBH ayırıcı tanısında kullanılabilen FK birçok avantaja sahiptir. Serumda bakılan belirteçler gibi farklı klinik durumlardan etkilenmemesi ve dışkı örneğinde oda sıcaklığında bir haftaya kadar stabil kalabilmesi diğer belirteçlere en önemli üstünlüğüdür. Klinik bulguların tanıda yetersiz olduğu durumlarda, organik GİS hastalıklarını fonksiyonel hastalıklarından ayırmada FK'nin ön tetkik olarak kullanılarak gereksiz invaziv tanı yöntemlerinin önüne geçmesi sağlanabilir.

Fekal kalprotektinin hastalığa spesifik olmaması gastrointestinal sisteme ait hastalıkların tanısında kullanımı kısıtlamaktadır. Çocuklarda, özellikle yenidoğan ve süt çocukluğu döneminde yaş ile negatif korelasyon göstermesi tüm çalışmaların ortak sonucu olarak görülmektedir. Erişkinden farklı olarak büyümenin dinamik bir süreç olarak devam etmesi, genetik ve çevresel faktörler çocuklarda FK'nin referans aralığının belirlenmesini ve klinik değerlendirmelerde rutin kullanımını kısıtlamaktadır.

Süt çocukluğu döneminde, geniş bir yaş aralığında yaş ile FK düzeyinin negatif korelasyonunu gösterdiğimiz çalışmamızda; yaş gruplarının ortanca değerleri üretici firmanın belirlemiş olduğu eşik değerinin altında saptanmıştır, ancak yaş grupları küçüldükçe en yüksek ve en düşük değerler arasındaki fark açılmakla beraber eşik değer üzerinde FK düzeyi olan çocuk sayısının fazla olduğu görülmüştür. Fekal kalprotektin düzeylerinin; cinsiyet, beslenme şekli, gestasyon haftası, kolik ve reflü öyküsünden etkilenmediği gösterilmiştir. Yaş ile negatif korelasyon gösterdiği saptanan FK'nin özellikle yüksek saptanan çocuklarda tekrarlayan ölçümlerinin yapılmaması kısıtlılıklarımızdan biridir. Fekal kalprotektinin yaşa göre seyrine ek olarak hasta grupta değerlendirilerek yaş gruplarına göre eşik değer belirlenmemesi bir diğer kısıtlılığımızdır.

## KAYNAKLAR

1. Rammes A, Roth J, Goebeler M, Klempt M, Hartmann M, Sorg C. Myeloid related protein (MRP) 8 and MRP14, calcium-binding proteins of the S100 family, are secreted by activated monocytes via a novel, tubulin-dependent pathway. *J Biol Chem* 1997; 272:9496–502
2. Bjerke K, Halstensen TS, Jahnsen F, Pulford K, Brandtzaeg P. Distribution of macrophages and granulocytes expressing L1 protein (calprotectin) in human Peyer's patches compared with normal ileal lamina propria and mesenteric lymph nodes. *Gut* 1993; 34: 1357-63
3. Striz I, Trebichavsky I. Calprotectin- a pleiotropic molecule in acute and chronic inflammation. *Physiological Research* 2004; 53: 245–53
4. Fagerhol MK, Dale I, Andersson T. Release and quantitation of a leukocyte derived protein (L1). *Scand J Haematol* 1980; 24: 393-8
5. Odink K, Cerletti N, Bruggen J et al. Two calcium-binding proteins in infiltrate macrophages of rheumatoid arthritis. *Nature* 1987; 330: 80–2
6. Dorin JR, Novak M, Hill RE et al. A clue to the basic defect in cystic fibrosis from cloning the CF antigen gene. *Nature* 1987; 326: 614-7
7. Wilkinson MM, Busuttil A, Hayward C, Brock DJ, Dorin JR, Van Heyningen V. Expression pattern of two related cystic fibrosis-associated calcium-binding proteins in normal and abnormal tissues. *J Cell Sci* 1988; 91: 221-30
8. Andersson KB, Sletten K, Berntzen HB et al. The leucocyte L1 protein: identity with the cystic fibrosis antigen and the calcium-binding MRP-8 and MRP-14 macrophage components. *Scand J Immunol* 1988; 28: 241-5
9. Steinbakk M, Naess-Andresen CF, Lingaas E, Dale I, Brandtzaeg P, Fagerhol MK. Antimicrobial actions of calcium binding leucocyte L1 protein, calprotectin. *Lancet* 1990; 336: 763–5
10. Hoskin TS, Crowther JM, Cheung J et al. Oxidative cross-linking of calprotectin occurs in vivo, altering its structure and susceptibility to proteolysis. *Redox Biol* 2019; 24: 101202
11. Kerkhoff C, Klempt M, Sorg C. Novel insights into structure and function of MRP8 (S100A8) and MRP14 (S100A9). *Biochim Biophys Acta* 1998; 1448: 200–11
12. Pruenster M, Vogl T, Roth J, Sperandio M. S100A8/A9: from basic science to clinical application. *Pharmacology & therapeutics* 2016; 167: 120-31
13. Schafer BW, Wicki R, Engelkamp D, Mattei MG, Heizmann CW. Isolation of a YAC clone covering a cluster of nine S100 genes on human chromosome 1q21: rationale for a new nomenclature of the S100 calcium-binding protein family. *Genomics* 1995; 25: 638–43

14. Vogl T, Gharibyan AL, Morozova-Roche LA. Pro-inflammatory S100A8 and S100A9 proteins: self-assembly into multifunctional native and amyloid complexes. *Int J Mol Sci* 2012; 13: 2893–917
15. Goyette J, Geczy CL. Inflammation-associated S100 proteins: New mechanisms that regulate function. *Amino Acids* 2011; 41: 821–42
16. Yousefi R, Imani M, Ardestani SK, Saboury AA, Gheibe N, Ranjbar B. Human calprotectin: Effect of calcium and zinc on its secondary and tertiary structures and role of pH in its thermal stability. *Acta Biochemica et Biophysica Sinica* 2007; 39: 795-802
17. Isaksen B, Fagerhol MK. Calprotectin inhibits matrix metalloproteinases by sequestration of zinc. *Mol Pathol* 2001; 54: 289-92
18. Brandtzaeg P, Dale I, Fagerhol MK. Distribution of a formalin- resistant myelomonocytic antigen (L1) in human tissues. II. Normal and aberrant occurrence in various epithelia. *Am J Clin Pathol* 1987; 87: 700-7
19. Berntzen HB, Olmez U, Fagerhol MK, Munthe E. The leukocyte protein L1 in plasma and synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Scand J Rheumatol* 1991; 20: 74-82
20. Holt J, Fagerhol MK, Dale I. Quantitation of a leukocyte protein (L1) in urine. *Acta Paediatr Scand* 1983; 72: 615-6
21. Dunlop O, Bruun JN, Myrvang B, Fagerhol MK. Calprotectin in cerebrospinal fluid of the HIV infected: a diagnostic marker of opportunistic central nervous system infection? *Scand J Infect Dis* 1991; 23: 687-9
22. Cuida M, Brun JG, Tynning T, Jonsson R. Calprotectin levels in oral fluids: the importance of collection site. *Eur J Oral Sci* 1995; 103: 8-10
23. Fagerberg UL, Lööf L, Merzoug RD, Hansson LO, Finkel Y. Fecal calprotectin levels in healthy children studied with an improved assay. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2003; 37: 468-72
24. Schenten V, Plançon S, Jung N et al. Secretion of the Phosphorylated Form of S100A9 from Neutrophils Is Essential for the Proinflammatory Functions of Extracellular S100A8/A9. *Front Immunol* 2018; 9: 447
25. Ehrchen JM, Sunderkotter C, Foell D, Vogl T, Roth J. The endogenous Toll-like receptor 4 agonist S100A8/S100A9 (calprotectin) as innate amplifier of infection, autoimmunity, and cancer. *J Leukoc Biol* 2009; 86: 557–66
26. Olafsdottir I, Nemeth A, Lörinc E, Toth E, Agardh D. Value of fecal calprotectin as a biomarker for juvenile polyps in children investigated with colonoscopy. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2016; 62: 43-6

27. Yousefi R, Ardestani SK, Saboury AA, Karminia A, Zeinali M, Amani M. Investigation on the surface hydrophobicity and aggregation kinetics of human calprotectin in the presence of calcium. *J Biochem and Mol Bio* 2005; 38: 407-13
28. Frosch M, Strey A, Vogl T et al. Myeloid-related proteins 8 and 14 are specifically secreted during interaction of phagocytes and activated endothelium and are useful markers for monitoring disease activity in pauci articular-onset juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 628–37
29. Imani M, Bahrami Y, Jaliani HZ et al. In Solution Cation-Induced Secondary and Tertiary Structure Alterations of Human Calprotectin. *Protein J* 2014; 33: 465–73
30. Nacken W, Roth J, Sorg C, Kerkhoff C. S100A9/S100A8: Myeloid representatives of the S100 protein family as prominent players in innate immunity. *Microsc Res Tech* 2003; 60: 569-80
31. Li X, Qin J. Modulation of Toll-interleukin 1 receptor mediated signaling. *J Mol Med* 2005; 83: 258–66
32. Viemann D, Barczyk K, Vogl T et al. MRP8/MRP14 impairs endothelial integrity and induces a caspase-dependent and -independent cell death program. *Blood* 2007; 109: 2453-60
33. Turovskaya O, Foell D, Sinha P et al. RAGE, carboxylated glycans and S100A8/A9 play essential roles in colitis-associated carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2008; 29: 2035-43
34. Foell D, Frosch M, Sorg C, Roth J. Phagocyte-specific calcium-binding S100 proteins as clinical laboratory markers of inflammation. *Clin Chim Acta* 2004; 344:37–51
35. Schmidt AM, Yan SD, Yan SF, Stern DM. The multiligand receptor RAGE as a progression factor amplifying immune and inflammatory responses. *J Clin Invest* 2001; 108: 949 –55
36. Payen D, Lukaszewicz AC, Belikova I et al. Gene profiling in human blood leucocytes during recovery from septic shock. *Intensive Care Med* 2008; 34:1371–6
37. Kane D, Roth J, Frosch M, Vogl T, Bresnihan B, Fitzgerald O. Increased perivascular synovial membrane expression of myeloid related proteins in psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48:1676–85
38. Hammer HB, Odegard S, Fagerhol MK et al. Calprotectin (a major leucocyte protein) is strongly and independently correlated with joint inflammation and damage in rheumatoid arthritis. *Annals of the Rheumatic Disease* 2007; 66: 1093–7
39. Kunz M, Roth J, Sorg C, Kolde G. Epidermal expression of the calcium binding surface antigen 27E10 in inflammatory skin diseases. *Arch Dermatol Res* 1992; 284: 386–90
40. Gabrielsen TO, Dale I, Brandtzaeg P et al. Epidermal and dermal distribution of a myelomonocytic antigen (L1) shared by epithelial cells in various inflammatory skin diseases. *J Am Acad Dermatol* 1986; 15: 173–9

41. Benoit S, Toksoy A, Ahlmann M et al. Elevated serum levels of calcium-binding S100 proteins A8 and A9 reflect disease activity and abnormal differentiation of keratinocytes in psoriasis. *Br J Dermatol* 2006; 155: 62–6
42. Gebhardt C, Nemeth J, Angel P, Hess J. S100A8 and S100A9 in inflammation and cancer. *Biochem Pharmacol* 2006; 72: 1622–31
43. Golden BE, Clohessy PA, Russell G, Fagerhol MK. Calprotectin as a marker of inflammation in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1996; 74:136–9
44. Roth J, Teigelkamp S, Wilke M, Grun L, Tummler B, Sorg C. Complex pattern of the myelo-monocytic differentiation antigens MRP8 and MRP14 during chronic airway inflammation. *Immunobiology* 1992; 186: 304–14
45. Stockley RA, Dale I, Hill SI, Fagerhol MK. Relationship of Neutrophil Cytoplasmic Protein (L1) To Acute and Chronic Lung Disease. *Scand J Clin Lab Invest* 1984; 44: 629-34
46. Renaud W, Merten M, Figarella C. Increased coexpression of CFTR and S100 calcium binding proteins MRP8 and MRP14 mRNAs in cystic fibrosis human tracheal gland cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1994; 201: 1518–25
47. Vaos G, Kostakis ID, Zavras N, Chatzemichael A. The role of calprotectin in pediatric disease. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 542363
48. Poullis A, Foster R, Mendall MA, Fagerhol MK. Emerging Role Of Calprotectin in Gastroenterology. *Journal Of Gastroenterology and Hepatology*. 2003; 18: 756-62
49. Rugtveit J, Brandtzaeg P, Halstensen TS, Fausa O, Scott H. Increased macrophage subset in inflammatory bowel disease: apparent recruitment from peripheral blood monocytes. *Gut* 1994; 35: 669–74
50. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessarytoys? *Gut* 2006; 55: 426–31
51. Kapel N, Campeotto F, Kalach N, Baldassare M, Butel MJ, Dupont C. Faecal Calprotectin in Term and Preterm Neonates. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2010; 51: 542–7
52. Saverymuttu SH, Peters AM, Crofton ME et al. 111 Indium autologous granulocytes in the detection of inflammatory bowel disease. *Gut* 1985; 26: 955–60
53. Roseth AG, Schmidt PN, Fagerhol MK. Correlation between faecal excretion of Indium-111-labelled granulocytes and calprotectin, a granulocyte marker protein, in patients with inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 50–4
54. Tibble J, Teahon K, Thjodleifsson B et al. A simple method for assessing intestinal inflammation in Crohn's disease. *Gut* 2000; 47: 506–13

55. Li F, Ma J, Geng S, Wang J et al. Fecal Calprotectin Concentrations in Healthy Children Aged 1-18 Months. *PLOS ONE* 2015;10: e0119574
56. Bonnin Tomas A, Vila Vidal M, Rosell CA. Fecal calprotectin as a biomarker to distinguish between organic and functional gastrointestinal disease. *Rev Esp Enferm Dig* 2007; 99: 689–93
57. Campeotto F, Butel MJ, Kalach N et al. High faecal calprotectin concentrations in newborn infants *Archives of Disease in Childhood. Fetal and Neonatal Edition* 2004; 89: 353-5
58. Roseth AG, Fagerhol MK, Aadland E, Schjonsby H. Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces A methodologic study. *Scand J Gastroenterol* 1992; 27: 793-8
59. Asgarshirazi M, Shariat M, Nayeri F, Dalili H, Abdollahi A. Comparison of Fecal Calprotectin in Exclusively Breastfed and Formula or Mixed Fed Infants in the First Six Months of Life. *Acta Med Iran* 2017; 55: 53-8
60. Li F, Ma J, Geng S, Wang J, Ren F, Sheng X. Comparison of the different kinds of feeding on the level of fecal calprotectin. *Early Hum Dev* 2014; 90: 471-5
61. Oswari H, Prayitno L, Dwipoerwantoro PG et al. Comparison of stool microbiota compositions, stool alpha1-antitrypsin and calprotectin concentrations, and diarrhoeal morbidity of Indonesian infants fed breast milk or probiotic/prebiotic-supplemented formula. *J Paediatr Child Health* 2013; 49: 1032-9
62. Dorosco SM, Mackenzie T, Connor I. Fecal calprotectin concentrations are higher in exclusively breastfed infants compared to those who are mixed-fed. *Breastfeed Med* 2008; 3:117-9
63. Wessel MA, Cobb JC, Jackson EB et al. Paroxysmal fussing in infancy, sometimes called colic. *Pediatrics* 1954; 14: 421
64. Benninga MA, Faure C, Hyman PE et al. Childhood Functional Gastrointestinal Disorders: Neonate/Toddler. *Gastroenterology* 2016
65. Rhoads JM, Fatheree NY, Norori J et al. Altered fecal microflora and increased fecal calprotectin in infants with colic. *J Pediatr* 2009; 155: 823-8
66. Carroll D, Anthony C, Richard S, Pamela C. Faecal calprotectin concentrations and diagnosis of necrotising enterocolitis. *Lancet*. 2003; 361: 310–1
67. Van Zoonen AGJF, Hulzebos CV, Muller Kobold AC, Kooi EMW, Bos AF, Hulscher JBF. Serial fecal calprotectin in the prediction of necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *J Pediatr Surg* 2018; 1: 30308-7
68. Beşer ÖF, Sancak S, Erkan T, Kutlu T, Çokuğraş H, Çokuğraş FÇ. Can Fecal Calprotectin Level Be Used as a Markers of Inflammation in the Diagnosis and Follow-Up of Cow's Milk Protein Allergy? *Allergy Asthma Immunol Res* 2014; 6:33-8

69. Ramra R, Garcia A, Mosen D, Waiwaiole L, Smith N. Utility of Fecal Calprotectin in Evaluation of Chronic Gastrointestinal Symptoms in Primary Care. *Clinical Pediatrics* 2018; 57:1058–63
70. Kolho KL, Raivio T, Lindahl H, Savilahti E. Fecal calprotectin remains high during glucocorticoid therapy in children with inflammatory bowel disease. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* 2006; 41:6 720–5
71. Rosen R, Vandenplas Y, Singendonk M, et al. Pediatric Gastroesophageal Reflux Clinical Practice Guidelines: Joint Recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN) and the European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN). *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018
72. Balamtekin N, Demir M, Baysoy G et al. Fecal calprotectin concentration is increased in children with celiac diseases: relation with histopathological findings. *Turkish Journal of Gastroenterology* 2012; 23: 503-8
73. Ertekin V, Selimoglu MA, Turgut A, Bakan N. Fecal calprotectin concentrations in children with celiac disease. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: 544-6
74. Rosti L, Braga M, Fulcieri C, Sammarco G, Manenti B, Costa E. Formula milk feeding does not increase the release of the inflammatory marker calprotectin, compared to human milk. *Pediatr Med Chir* 2011; 33: 17881
75. Bunn SK, Bisset WM, Main MJ et al. Fecal calprotectin: validation as a noninvasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 33: 14-22
76. Kristensen V, Malmstrøm GH, Skar V, Roseth A, Moum B. Clinical importance of faecal calprotectin variability in inflammatory bowel disease: intra-individual variability and standardisation of sampling procedure. *Scand J Gastroenterol* 2016; 51
77. Neyzi O, Bundak R, Gökçay G et al. Reference values for weight, height, head circumference and body mass index in Turkish children. *J ClinRes Pediatr Endocrinol* 2015; 7: 280–93
78. T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Çocuk ve Ergen Sağlığı Daire Başkanlığı Bebek, Çocuk, Ergen İzlem Protokolleri. <https://dosyaism.saglik.gov.tr/Eklenti/9010,bebek-cocuk-izlemprotokolleripdf.pdf> (Erişim Tarihi:15.12.2018)
79. T.C. Sağlık Bakanlığı, Genişletilmiş Bağışıklama Programı Genelgesi, 2009, Ankara
80. Sykora J, Siala K, Huml M, Varvarovska J, Schwarz J, Pomahacova R. Evaluation of faecal calprotectin as a valuable non-invasive marker in distinguishing gut pathogens in young children with acute gastroenteritis. *Acta Paediatr* 2010; 99: 1389-95

81. Olafsdottir E, Aksnes L, Fluge G, Berstad A. Faecal calprotectin levels in infants with infantile colic, healthy infants, children with inflammatory bowel disease, children with recurrent abdominal pain and healthy children. *Acta Paediatr* 2002; 91: 45–50
82. Baldassarre ME, Altomare MA, Fanelli M et al. Does calprotectin represent a regulatory factor in host defense or a drug target in inflammatory disease? *Endocr Metab Immun Disord Drug Targets* 2007; 7:1–5
83. Nissen AC, Van Gils CE, Van den Neucker A et al. Faecal calprotectin in healthy term and preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2004; 38: 107–8
84. Van Elburg RM, Fetter WP, Bunkers CM et al. Intestinal permeability in relation to birth weight and gestational and postnatal age. *Arch Dis Child Fetal Neonatal* 2003; 88: 52–5
85. Josefsson S, Bunn SK, Domellöf M. Fecal calprotectin in very low birth weight infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007; 44: 407–13
86. Campeotto F, Kalach N, Lapillonne A et al. Time course of faecal calprotectin in preterm newborns during the first month of life. *Acta Paediatr* 2007; 96: 1531–3
87. Yang Q, Smith PB, Goldberg RN et al. Dynamic change of fecal calprotectin in very low birth weight infants during the first month of life. *Neonatology* 2008; 94: 267–71
88. Mohan R, Koebnick C, Schildt J et al. Effects of *Bifidobacterium lactis* Bb12 supplementation on body weight, fecal pH, acetate, lactate, calprotectin, and IgA in preterm infants. *Pediatr Res* 2008; 64: 418–22
89. Bjorkstrom MV, Hall L, Soderlund S et al. Intestinal flora in very low-birth weight infants. *Acta Paediatr* 2009; 98: 1762–7
90. Liu JR, Sheng XY, Hu YQ et al. Fecal calprotectin levels are higher in rural than urban Chinese infants and negatively associated with growth. *BMC Pediatrics* 2012; 12:129
91. Ton H, Brandsnes O, Dale S et al. Improved assay for fecal calprotectin. *Clin Chim Acta* 2000; 292: 41–54
92. Husebye E, Ton H, Johne B. Biological variability of fecal calprotectin concentration in patients referred for colonoscopy without colonic inflammation or neoplasm. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2683–7
93. Canani RB, de Horatio LT, Terrin G et al. Combined use of noninvasive tests is useful in the initial diagnostic approach to a child with suspected inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2006; 42: 9–15
94. Ezri J, Nydegger A. Fecal calprotectin in children: use and interpretation. *Rev Med Suisse* 2011; 7: 69–70



## EKLER

### EK-1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

Kalprotektin; iltihabi bağırsak hastalıklarında dışkıda yüksek konsantrasyonda bulunan proteindir. Fekal kalprotektin (FK), girişimsel olmayan yöntemlerle ölçülmesi ve konsantrasyonunun enflamasyon şiddeti ile korelasyon göstermesi nedeniyle gastrointestinal sistem iltihabını göstermede önemli bir belirteçdir. Erişkin yaş grubunda referans aralığı belirlenmiş olan FK düzeyi, pediatrik yaş grubunda özellikle süt çocukluğu döneminde değişkenlik göstermektedir. Yaş küçüldükçe FK düzeyinin artması süt çocukluğu döneminde yanlış tanı ve yönlendirmelere sebep olmaktadır. Bu çalışma kapsamında sağlam çocuk izlemi dahilinde takip ettiğimiz sağlıklı süt çocuklarının fekalkalprotektin düzeylerini ve yaş ile değişkenlik gösterip göstermediğini tespit etmeyi amaçladık.

Bu çalışmaya katıldığınızda maruz kalacağınız herhangi bir risk veya çalışmaya katılmanın yol açacağı bir rahatsızlık olmayacaktır. Çalışmada, poliklinik kontrolü sırasında hastalardan bir defa gaita örneği alınacak, herhangi bir girişimsel işlem yapılmayacaktır. Alınan gaita örneğinde fekalkalprotektin düzeyine bakılacaktır. Sizin herhangi bir sorumluluğunuz olmayacaktır. Bu çalışmaya katılmak için herhangi bir ücret istenmeyecek, çalışmaya katıldığınız için ek ödeme de yapılmayacaktır. Bağlı bulunduğunuz sosyal güvenlik kurumundan da herhangi bir ücret alınmayacaktır.

Çalışmamıza Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sağlam Çocuk İzlem Polikliniğine başvuran yaklaşık 200 kişi alınması planlanmıştır.

Çalışma süresi 6 ay olarak planlanmıştır.

Araştırmaya katılmak sizin isteğinize bağlıdır. İsteddiğiniz zaman herhangi bir cezaya veya yaptırıma maruz kalmaksızın, hiçbir hak kaybetmeksizin araştırmaya katılmayı reddedebilir veya araştırmadan çekilebilirsiniz.

İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, etik kurul, kurum ve diğer ilgili sağlık otoritelerinin sizin orijinal tıbbi kayıtlarınıza doğrudan erişimleri bulunacaktır. Ancak bu bilgiler gizli tutulacaktır. Yazılı bilgilendirilmiş gönüllü olur formunun imzalanmasıyla siz veya yasal temsilciniz söz konusu erişime izin vermiş olacaksınız. İlgili mevzuat gereğince kimliğinizi ortaya çıkaracak kayıtlar gizli tutulacak, kamuoyuna açıklanmayacak, araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi kimliğiniz gizli kalacaktır.

Araştırma konusuyla ilgili ve sizin araştırmaya devam etme isteğinizi etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde siz ve yasal temsilciniz zamanında bilgilendirileceksiniz. Araştırma hakkında, kendi haklarınız hakkında veya araştırmayla ilgili herhangi bir yan etki hakkında daha fazla bilgi temin edebilmeniz için temasa geçebileceğiniz kişi, Dr. Şule BEKTAŞ'tır. Kişinin 05352615363 numaralı telefonundan kendisine ulaşabilirsiniz.

'Bilgilendirilmiş gönüllü olur formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabileceğimi biliyorum. '

'Söz konusu araştırmaya, hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.'

'Elde edilen bilgi ve materyallerin gelecekte başka araştırmalarda kullanılmasını kabul ediyorum.'

Yasal temsilcisinin ;

Adı Soyadı:

Tarih:

İmza:

Araştırmacının ;

Adı Soyadı:

Tarih:

İmza:

## EK-2. Etik Kurul Onayı

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: A-31	Tarih: 06 KASIM 2018
	Prof.Dr. Hüseyin Tufan KUTLU'nun danışmanlığında Uzm.Öğr.Dr. Şule BEKTAŞ'ın sorumluluğunda Prof. Dr. Bekir KOCAZEYBEK'in yardımcılığında yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş, gerçekleştirilmesinde etik sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üyelerinin oy birliği ile karar verilmiştir	
ÇALIŞMA ESASI	İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu	
ETİK KURUL BAŞKANI UNVANI/ADI/SOYADI: Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR		

ETİK KURUL ÜYELERİ									
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Özgür KASAPÇOPUR (Başkan)	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	I.Ü.C. - Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mehmet Faik ÖZÇELİK (Başkan Yard.)	Genel Cerrahi	I.Ü.C. - Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Muhlis Cem AR (Raportör)	İç Hastalıkları Hematoloji	I.Ü.C. - Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Zeki ÖNGEN	Kardiyoloji	I.Ü.C. - Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mahmut Reha BAYAR	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	I.Ü.C. - Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Öner SÜZER	Tıbbi Farmakoloji	I.Ü.C. - Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Nurten Uzun ADATEPE	Nöroloji	I.Ü.C. - Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Hakkı Oktay SEYMEN	Fizyoloji	I.Ü.C. - Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Oktay DEMİRKIRAN	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	I.Ü.C. - Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Gülten DİNÇ	Tıp Tarihi ve Etik	I.Ü.C. - Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Suphi VEHİD	Halk Sağlığı	İstanbul Bilim Üniversitesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	Mazeretli
Doç.Dr.Zeynep Hande TURNA	İç Hastalıkları Medikal Onkoloji	I.Ü.C. - Cerrahpaşa Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Mutlu NİYAZOĞLU	İç Hastalıkları End./Metb./Diabet	Haydarpaşa Eğitim Araştırma Hast.	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Avukat Ayfer DİKMEN	Ticaret ve Sağlık Hukuku	Serbest Hukuk Bürosu	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Zümrüt GAMLI	Emekli Öğretmen	Sivil Üye	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

\*Toplantıda bulunma

ETİK KURULUN ADI	İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa-Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu
AÇIK ADRES	Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Dekanlık Binası, 34303 Kocamustafapaşa Fatih İstanbul
TELEFON	+90 (212) 414 32 52; 414 30 00/22300
FAKS	+90 (212) 632 00 40
E-POSTA	<a href="mailto:ctfetik@istanbul.edu.tr">ctfetik@istanbul.edu.tr</a>

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Sağlıklı süt çocuklarında fekalprotektin düzeyi			
	SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Dr.Şule BEKTAŞ			
	SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları			
	KOORDİNATÖRÜN UNVANI/ADVSOYADI	Prof.Dr.Hüseyin Tufan KUTLU			
	KOORDİNATÖRÜN UZMANLIK ALANI	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Çocuk Gastroenterolojisi			
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı			
	ARAŞTIRMA MERKEZİNİN AÇIKADRESİ	Cerrahpaşa Mah. Kocamustafapaşa Cad. No:34/E Fatih/İSTANBUL			
	BAŞVURULAN ETİK KURULUN ADI	İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Klinik Ara tırmalar Etik Kurulu			
	DESTEKLEYİCİ VE AÇIK ADRESİ	Türk Pediatri Kurumu, Meşrutiyet Mahallesi, Rumeli Caddesi, Nişantaşı NurA t. D:35-37, 34363 Şişli/İstanbul			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ VE ADRESİ				
	UZMANLIK TEZİ/AKADEMİK AMAÇLI	UZMANLIK TEZİ <input checked="" type="checkbox"/>	AKADEMİK AMAÇLI <input type="checkbox"/>	YANDAL UZMANLIK TEZ <input type="checkbox"/>	
		DOKTORA TEZİ <input type="checkbox"/>	YÜKSEK LİSANS TEZİ <input type="checkbox"/>		
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	<input type="checkbox"/> Anket çalışması <input type="checkbox"/> Retrospektif (geriye dönük) araştırma <input checked="" type="checkbox"/> Girişimsel (invaziv) olmayan klinik araştırma <input checked="" type="checkbox"/> Rutin tetkik ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyallerle (kan, idrar, gayta, doku, görüntü gibi) yapılan çalışma <input type="checkbox"/> Hemşirelik faaliyetlerinin sınırı içerisinde yapılan araştırma <input type="checkbox"/> Vücut fizyolojisi çalışması <input type="checkbox"/> Antropometrik ölçümlere dayalı çalışma <input type="checkbox"/> Yaşam alışkanlıklarının değerlendirilmesi çalışması DİĞER: <input type="checkbox"/> Diğer ise belirtiniz:			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili		
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/>	Diğer <input type="checkbox"/>
	DİĞER			Açıklama:		

### EK-3. Çalışmada Kullanılan Anket Formu

AD - SOYAD		DOSYA NO	
DOĞUM TARİHİ			
CİNSİYET			
GESTASYON HAFTASI			
DOĞUM TARTISI			
KİLO			
BOY			
BOYA GÖRE TARTI			
ANNE SÜTÜ KULLANIMI			
FORMÜL MAMA KULLANIMI			
EK GIDA (süre)			
KOLİK ÖYKÜSÜ			
GER ÖYKÜSÜ			
ANTİBİYOTİK KULLANIMI			
NSAİD İLAÇ KULLANIMI			
ATOPI ÖYKÜSÜ			

## **EK-4. Özgeçmiş**

### **A. KİŞİSEL BİLGİLER**

Adı soyadı: Şule BEKTAŞ

Doğum tarihi: 28.11.1989

Yabancı dil bilgisi: İngilizce

Görev yeri: İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı

E-posta adresi: sulebks@gmail.com

Telefon: 05352615363

### **B. EĞİTİM BİLGİLERİ**

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi 2008-20014

### **C. İŞ TECRÜBESİNE AİT BİLGİLER**

1. **2014:** Gümüşhane Devlet Hastanesi

2. **2015- :** İstanbul Üniversitesi- Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Uzmanlık Öğrencisi

### **D. KLİNİK ARAŞTIRMALAR, KONGRE/KONFERANS KATILIMI İLE İLGİLİ GENEL BİLGİLER**

1. Deniz AYGÜN, Şule BEKTAŞ, Haluk ÇOKUĞRAŞ, Yıldız CAMCIOĞLU. Iliopsoas Abscess with Septic Arthritis of the Hip Following Trauma: Case Report. Türkiye Klinikleri Journal of Case Reports 2017; 25: 113-5
2. Sahin S, Hopurcuoglu D, Bektas S, Belhan E, Adrovic A, Barut K, Kasapcopur O. Childhood-onset Takayasu arteritis: A 15-year experience from a tertiary referral center. International journal of rheumatic diseases 2019; 22: 132-9
3. Evaluation of long term safety and indications of biologic agents in juvenile rheumatic diseases: a single center experience in Turkey. 24th European Paediatric Rheumatology Congress (PReS), Atina, Yunanistan, 4-17 Eylül 2017
4. Üfürümü Olan Çocuğa Yaklaşım, 3. Genç Peditristler Kongresi, İstanbul, 1-3 Aralık 2017 (Sözlü sunum)
5. Uluslararası Metabolik Hastalıklar ve Beslenme Kongresi, İstanbul, 10-14 Nisan 2019 (Düzenleme kurulu)