



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

0-12 AY ARASI SAĞLAM ÇOCUKLARDA FEKAL KALPROTEKTİN DÜZEYİ VE ETKİLEYEN FAKTÖRLER

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Burcu Sena GÜNAYDIN ŞAHİN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Emine Gülbin GÖKÇAY

İSTANBUL

2019

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, destek ve yardımlarını gördüğüm, başta Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Mübeccel DEMİRKOL olmak üzere İTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın tüm saygıdeğer öğretim üyelerine,

Tez çalışmamın yürütülmesinde yol gösterici olan, yoğun çalışma temposu içerisinde bana değerli vaktini ayıran, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Emine Gülbin GÖKÇAY'a,

Tez çalışmamın konusunun belirlenme aşamasında, çalışma örneklerimin analizinde yardımcı olan ve tüm çalışmam boyunca bana destek veren Eser Element ve Pediatrik Gastroenteroloji Laboratuvarı sorumlusu Sayın Prof. Dr. Tülin Ayşe ÖZDEN'e ve Nurşen TORUŞ'a,

Tez çalışmam süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, tezimin her aşamasında bana yol gösteren Dr. Öğr. Üyesi Gonca KESKİNDEMİRCİ'ye,

Çalışma örneklerinin toplanması aşamasında bana sabırla destek olan Güzin ÇELİKER BULAMACI ve Gamze GÜZEL başta olmak üzere tüm Sosyal Pediatri Çocuk Sağlığı İzlem Polikliniği çalışanlarına,

Bu yoğun ve zorlu süreçte hep yanımda olan, birlikte çalışmaktan her zaman keyif aldığım Dr. Ceyda ÖNEY, Dr. Neslihan ÖZHAN, Dr. Süeda SİDAR İŞ olmak üzere tüm asistan ve hemşire arkadaşlarıma, sevgili uzmanlarıma,

Beni her zaman destekleyen, zorluklarla karşılaştığım her dönemde yanımda olan, hayatımı her şekilde kolaylaştıran, beni sevgi ile büyütüp yetiştiren değerli ailem; canım annem, babam ve kardeşime,

Zorlu tıp fakültesi öğrencilik yıllarımdan itibaren yanımda olan, her zaman desteğini, güvenini hissettiğim, bilgisine sabrına hayran olduğum sevgi dolu eşim Dr. Yener ŞAHİN'e,

Sonsuz teşekkürler.

Dr. Burcu Sena GÜNAYDIN ŞAHİN

İstanbul 2019

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ÖNSÖZ	i
İÇİNDEKİLER	ii
TABLO LİSTESİ	iv
ŞEKİL LİSTESİ	v
KISALTMALAR	vi
ÖZET	1
SUMMARY	2
1. GİRİŞ ve AMAÇ	3
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Kalprotektin	5
2.1.1. Tanım	5
2.1.2. Yapısı	6
2.1.3. Biyolojik Fonksiyonları	8
2.1.4. Enfeksiyon ve İnflamasyonda Kalprotektinin Rolü	11
2.1.5. Pediatrik Yaş Grubunda Fekal Kalprotektin ve İlişkili Hastalıklar	12
2.1.6. Kalprotektin Ölçümü	16
3. MATERYAL ve METOD	17
3.1. Çalışma Grubunun Oluşturulması ve Tanımlar	17
3.2. Antropometrik Ölçümler	18
3.3. Çocuk Sağlığı İzlem Polikliniği	20
3.4. Metod	21
3.4.1. Dışkı Örneğinin Alınması ve Saklanması	21
3.4.2. Kalprotektin Kitinin Çalışmaya Hazırlanması	21
3.4.3. Dışkı Örneklerinin Çalışmaya Hazırlanması	22
3.4.4. Örnekte Kalprotektin Analizi	23
3.5. İstatistiksel Analiz	24

3.6. Etik Kurul Onayı	25
3.7. Mali Destek	25
4. BULGULAR	26
5. TARTIŞMA.....	39
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	47
7. KAYNAKLAR.....	48
8. ÖZGEÇMİŞ	60
9. EKLER	61
Etik Kurul Kararı.....	61
Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	62
Değerlendirme Formu	66

TABLO LİSTESİ

Sayfa No

Tablo 1: Kalprotektinin Temel Özellikleri	8
Tablo 2: Kalprotektinin Biyolojik Fonksiyonları	10
Tablo 3: Fekal Kalprotektin Düzeyi Yüksek Saptanan Hastalıklar	13
Tablo 4: <i>IDK® Calprotectin ELISA</i> Kit İçeriği	22
Tablo 5: Kalprotektin Çalışma Prosedürü.....	23
Tablo 6: Bebeklerin Demografik Özelliklerinin Dağılımı	27
Tablo 7: Araştırmadaki Bebeklerin Antropometrik Özellikleri.....	27
Tablo 8: Araştırmadaki Bebeklerin Fekal Kalprotektin Düzeyi	29
Tablo 9: Farklı Yaş Gruplarında Sağlıklı Bebeklerin Fekal Kalprotektin ($\mu\text{g/g}$) Düzeyleri	30
Tablo 10: Yaş Grupları Arası Fekal Kalprotektin Düzeyleri Karşılaştırılması	31
Tablo 11: Yaş, Doğum Haftası, Doğum Ağırlığı, Boy SDS, Tartı SDS ile Fekal Kalprotektin Arasındaki İlişkilerin Değerlendirilmesi	32
Tablo 12: Cinsiyet, Doğum Şekli, Probiyotik Kullanımı ve Kalprotektin ($\mu\text{g/g}$) İlişkisi	32
Tablo 13: Yaş Gruplarında Doğum Şekli ve Kalprotektin Düzeyi İlişkisi.....	34
Tablo 14: İlk 6 Ayda Beslenme Şekli ve Kalprotektin İlişkisi	35
Tablo 15: Yaş Gruplarında Beslenme Şekli ve Kalprotektin ($\mu\text{g/g}$) İlişkisi.....	36
Tablo 16: 31-180 Gün Arası Bebeklerde Doğum Şekli ve Beslenme Şeklinin Kalprotektin İle İlişkisi	37
Tablo 17: Bebeklerdeki (1-13 Hafta Arası) Kolik Ve Kalprotektin İlişkisi	37
Tablo 18: Yaş Gruplarına Göre Fekal Kalprotektin Düzeyleri ve Persentilleri.....	38

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa No

Şekil 1: Çinko ve Kalsiyum İyonları ile Bağlı S100A8 / S100A9 Proteini (Kalprotektin) X-Işını Kristal Yapısı	5
Şekil 2: Araştırma Örnekleminin Oluşturulması.....	19
Şekil 3: Kalprotektin Değerlerini Hesaplamak İçin Kullanılan Eğri	24
Şekil 4: Çalışma Grubunun Cinsiyet Dağılımı.....	26
Şekil 5: Örnek Alındığı Esnada Tüm Bebeklerin Beslenme Biçimleri.....	28
Şekil 6: Kalprotektin ($\mu\text{g/g}$) Değerlerinin Dağılımı	28
Şekil 7: Tüm Grupta Fekal Kalprotektin ($\mu\text{g/g}$) Düzeyi Dağılımı	29
Şekil 8: Yaş Gruplarında Fekal Kalprotektin ($\mu\text{g/g}$) Düzeyleri	30
Şekil 9: Yaş ile Fekal Kalprotektin Düzeyinin İlişkisi.....	31
Şekil 10: Tüm Grup Doğum Şekline Göre Kalprotektin Düzeyi	33
Şekil 11: Yaş Gruplarına Göre Doğum Şekli ve Kalprotektin ($\mu\text{g/g}$) Düzeyleri İlişkisi	33
Şekil 12: 0-6 Ay Bebeklerde Beslenme Şekline Göre Kalprotektin Düzeyi.....	35

KISALTMALAR

C°	: Santigrat
Ca²⁺	: Kalsiyum
cm	: Santimetre
CRP	: C-Reaktif Protein
DAMPs	: Hasar İlişkili Moleküller
ELISA	: Enzim Bağlı İmmünosorbent Deneyi
ESH	: Sedimentasyon
g	: Gram
GAG	: Glikozaminoglikan
GALT	: Sindirim Sistemi İle İlişkili Lenfoid Doku
HIV	: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
IBH	: İnflamatuvar Bağırsak Hastalığı
IBS	: İrritabl Bağırsak Sendromu
kDa	: Kilo Dalton
L	: Litre
Maks	: Maksimum
mg	: Miligram
Min	: Minimum
mL	: Mililitre
MMP	: Matriks Metalloproteinaz
µg	: Mikrogram
µL	: Mikrolitre
NEK	: Nekrotizan Enterokolit
ng	: Nanogram
nm	: Nanometre
NSD	: Normal Spontan Doğum
RAGE	: İleri Glikasyon Son Ürünleri Reseptörü
S/C	: Sezaryen
SDS	: Standart Deviasyon Skoru
SS	: Standart Sapma
TLR4	: Toll-benzeri Reseptör 4

ÖZET

GİRİŞ: Fekal kalprotektin; büyük çocuklarda ve erişkinlerde inflamatuvar bağırsak hastalıkları başta olmak üzere, intestinal inflamasyonun görüldüğü hastalıkların tanı ve takibinde kullanıma girmiş bir laboratuvar tetkikidir. Basit, ucuz ve non-invaziv bir tetkik olması, çocuk yaş grubunda kullanımını yaygınlaştırmıştır. Yapılan çalışmalarda; sağlıklı bebeklerde fekal kalprotektin değerlerinin büyük çocuklara ve erişkinlere göre yüksek olduğu gösterilmiştir. Fakat dört yaşın altında geçerli referans değerlerinin olmaması nedeniyle kullanımı sınırlıdır.

AMAÇ: Çalışmamızda 0-12 ay arası sağlıklı bebeklerde fekal kalprotektin düzeylerini ve etkileyen faktörleri belirlemek amaçlandı.

MATERYAL VE METOD: Çalışma; İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Sağlığı İzlem Polikliniği'ne, 1 Haziran 2018-30 Ekim 2018 tarihleri arasında izlem amacıyla başvuran; 0-12 ay arası 84 sağlıklı bebek ile yapılmış; tanımlayıcı, kesitsel bir araştırmadır. Aileler ile yapılan görüşmelerde anket uygulanarak ve yapılan dosya incelemeleri ile klinik ve sosyodemografik veriler kaydedildi. Dışkıda kalprotektin değerleri, *IDK® Calprotectin* kiti kullanılarak ELISA yöntemi ile ölçüldü.

BULGULAR: 0-12 ay arası 84 sağlıklı bebeğin fekal kalprotektin değerleri normal dağılıma uymamaktadır ve 10 ile 2078 µg/g arasında değişmektedir. Ortanca değer 313 µg/g olarak bulundu. Çalışmamıza katılan sağlıklı bebekler üç yaş grubuna ayrılarak fekal kalprotektin düzeyleri incelendi; 0-30 gün arası ortanca değer 589,5 µg/g, 31-180 gün arası ortanca değer 304 µg/g, 181-365 gün arası ortanca değer 147,5 µg/g saptandı. 0-180 gün arası bebeklerde, sadece anne sütü ile beslenen bebeklerin (ortanca değeri: 499,5 µg/g) fekal kalprotektin düzeyleri; anne sütü ve formül süt ile beslenen bebeklere (ortanca değeri: 249 µg/g) göre anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0.030$). Doğum haftası, probiyotik kullanımı, demir profilaksisi ve rotavirüs aşılması ile fekal kalprotektin arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı. 31-180 gün arası yaş grubunda, sezaryen ile doğan bebeklerin, spontan vajinal yol ile doğanlara göre fekal kalprotektin düzeyi istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu ($p=0.033$). Fekal kalprotektin değerleri %95 persentile dayanarak; tüm grup için 1581,75 µg/g, 0-30 gün arası bebekler için 1481,15 µg/g, 31-180 gün arası bebekler için 1817,3 µg/g ve 181-365 gün arası bebekler için 802 µg/g olarak belirlendi.

SONUÇ: 0-12 ay arası sağlıklı bebeklerde fekal kalprotektin düzeyleri, yaş ile negatif korelasyon göstermekteydi ve sağlıklı erişkinlerde ve çocuklarda gözlenen normal düzeylerden daha yüksekti. Çalışmamız; yaşamın ilk aylarında sağlıklı bebeklerde saptanan yüksek fekal kalprotektinin düzeylerinin; yaş, beslenme şekli ve doğum şeklinden etkilenebildiğini göstermiştir.

SUMMARY

INTRODUCTION: Fecal calprotectin; is a laboratory examination that has been used in diagnosis and follow-up of diseases with intestinal inflammation, especially inflammatory bowel diseases in older children and adults. The fact that fecal calprotectin is a simple, inexpensive and non-invasive examination has expanded its use in the pediatric age group. In the studies; fecal calprotectin values in healthy infants were shown to be higher than those of older children and adults. But under the age of four; its use is limited due to lack of valid reference values.

OBJECTIVE: The aim of this study was to determine the levels of fecal calprotectin and the influencing factors in healthy infants between 0-12 months.

METHODS: This descriptive and cross-sectional study was carried out with 84 healthy infants aged 0-12 months who were admitted to Istanbul University, Istanbul Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Child Health Outpatient Clinic. Clinical data and sociodemographic data were recorded in the interviews with the families and with the help of a questionnaire and file reviews. Calprotectin values in the stool were measured by ELISA using the *IDK® Calprotectin* kit.

RESULTS: Fecal calprotectin values of 84 healthy infants between 0-12 months were unevenly distributed and range between 10 and 2078 $\mu\text{g/g}$. The median value of all participants was 313 $\mu\text{g} / \text{g}$. Fecal calprotectin levels were evaluated by dividing healthy infants into three age groups; the median fecal calprotectin value was 589.5 $\mu\text{g/g}$ in 0-30 days group, 304 $\mu\text{g/g}$ in 31-180 days group and 147.5 $\mu\text{g/g}$ in 181-365 days group. Infants between 0-180 days; the median faecal calprotectin concentration was significantly higher in breast fed infants (median: 499,5 $\mu\text{g/g}$) than in mixed-fed ones (median: 249 $\mu\text{g/g}$) ($p=0.030$). No statistically significant relationship was found between gestational age, probiotic use, iron prophylaxis and rotavirus vaccination and fecal calprotectin. Fecal calprotectin level was found to be significantly higher in infants born by cesarean section compared to spontaneous vaginal delivery in the age group of 31-180 days ($p=0.033$). Fecal calprotectin values were determined based on 95% percentile; 1581.75 $\mu\text{g/g}$ for the whole group, 1481.15 $\mu\text{g/g}$ for infants between 0-30 days, 1817.3 $\mu\text{g/g}$ for infants between 31-180 days and 802 $\mu\text{g/g}$ for infants between 181-365 days.

CONCLUSION: Fecal calprotectin levels in healthy infants between 0-12 months were negatively correlated with age and were higher than those observed in healthy adults and children. Our study showed that high fecal calprotectin levels detected in healthy infants in the first months of life can be affected by age, feeding mode, and mode of delivery.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Fekal kalprotektin başlıca nötrofillerde olmak üzere monosit ve makrofajlarda bulunan, nötrofil aktivasyon veya ölümü sırasında düzeyi artan kalsiyum bağlayıcı bir proteindir. Bağırsak sisteminde farklı etyolojiye sahip inflamatuvar hastalıklar, mukozal geçirgenliği artırarak granülosit ve monositlerin bağırsak lümenine göçünü indüklerler. Bu hücrelerin aktivasyonu ve ölümü ile çok miktarda kalprotektin salınımı gerçekleşir.

Fekal kalprotektinin immünmodülatör ve antiproliferatif etkinliği dışında, antimikrobiyal ve antifungal özellikleri olduğu bilinmektedir. Plazmada ve diğer vücut sıvılarında bulunmakla beraber, dışkıdaki konsantrasyonu kana göre altı kat daha fazladır.

Yüksek kalprotektin düzeyi, intestinal inflamasyonun arttığı bilinen; Crohn hastalığı, ülseratif kolit, kistik fibrozis, romatoid artrit, bakteriyel enfeksiyonlar, kolorektal kanserler, inek sütü proteini alerjisi ve daha birçok hastalıkta görülebilmektedir. Bu hastalıkların tanı ve takibinde fekal kalprotektin; ucuz, non-invaziv, yüksek özgüllüğü ve duyarlılığı olan bir yöntemdir.

Yapılan çalışmalarda erişkinlerde ve büyük çocuklarda fekal kalprotektin referans aralığı tanımlanmıştır. Fekal kalprotektin, tanı ve ilişkili hastalık takibinde kullanıma girmiş bir laboratuvar tetkikidir. Buna karşın, kötü sağlık koşulları olan ve bağırsak enfeksiyonu sıklığı artmış olan gelişmekte olan ülkelerde normal kalprotektin düzeyleri değişkenlik gösterebilmektedir. Erken çocukluk döneminde sağlıklı bireylerde kalprotektin düzeylerinin yüksek olduğu bilinmektedir; ancak özellikle dört yaş altı fekal kalprotektin düzeyi referans aralığı ve etkileyen faktörler iyi tanımlanmamıştır.

Sağlıklı bebekler ve çocuklarda fekal kalprotektin düzeyleri; yaş, beslenme şekli, doğum şekli gibi faktörlerden etkilenebilmektedir. Probiyotik kullanımı, kolik varlığı ve demir replasmanı intestinal mikrobiyotayı değiştirebilir ve bu durum fekal kalprotektin düzeylerinde değişikliğe neden olabilir. Bunun yanı sıra fekal kalprotektin ile ölçülen artmış intestinal inflamasyonun; atopik dermatit, inek sütü proteini alerjisi gibi alerjik

hastalıklar ile ilişkili olabileceği; fekal kalprotektinin hastalık şiddetinin ve tedavi yanıtının değerdendirilmesinde yararlı olabileceği dűřünülmektedir.

Çalışmamızda; 0-12 ay arası sağlıklı çocuklarda fekal kalprotektin düzeylerini ve etkileyen faktörleri belirlemek amaçlandı.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. KALPROTEKTİN

2.1.1. Tanım

Kalprotektin; başlıca nötrofillerde olmak üzere monosit ve makrofajlarda bulunan, nötrofil aktivasyon veya ölümü sırasında düzeyi artan kalsiyum ve çinko bağlayıcı bir proteindir (1-5).

Kalprotektin ilk kez 1980 yılında Fagerhol tarafından nötrofil granüositlerin sitoplazmasında bulunan bir protein olarak tanımlanmış, inflamasyonun ümit verici bir belirteci olarak kabul edilen protein, Fagerhol ve ark. tarafından L1 protein olarak adlandırılmıştır (6). Steinbakk ve ark. tarafından 1990 yılında antimikrobiyal aktivitesi gösterilen kalsiyum bağlayıcı protein kalprotektin adını almıştır (7).

Literatürde; L1 proteini (6), S100A8 ve S100A9 protein kompleksi (8), 27E10 antijen (9), kistik fibroz antijeni (10), miyeloid ilişkili protein 8 ve 14 (MRP8/14) (11), kalgranulin A/B (12) olarak adlandırılmıştır (13-15).



Şekil 1: Çinko ve Kalsiyum İyonları ile Bağlı S100A8 / S100A9 Proteini (Kalprotektin) X-Işını Kristal Yapısı (16)

2.1.2. Yapısı

Kalprotektin; S100 (S100 A8 / A9) protein ailesine mensup, her biri iki kalsiyum bağlayan bölge içeren bir hafif (MRP8) ve iki ağır polipeptid zincirden (MRP14) oluşan, molekül ağırlığı 36.5 kDa olan, heterodimer yapıda bir proteindir (17). MRP8 ve MRP14 polipeptid zincirler 11 ve 14 kDa'lık moleküler ağırlığa sahiptir ve sırasıyla 93 ve 114 amino asitten oluşur (11,18). Hafif zincir (MRP8), MRP8 /14'ün aktif alt ünitesidir. MRP14, MRP8'in erken bozulmasını önleyen düzenleyici alt birim olarak işlev görür (19). Çeşitli zincirlemeler ile kalsiyum ve çinko varlığında heterodimerik, homodimerik, trimerik veya tetramerik kompleks olabilen bir monomer olarak tanımlanabilir (20). Tetramer kalprotektinin yapısı Şekil 1'de gösterilmiştir.

S100 protein ailesinin elemanları ilk olarak sığır beyin dokusundan izole edilmiş ve %100 amonyum sülfat çözeltisi içinde çözünür olduğu için S100 proteini olarak adlandırılmıştır (21). S100 protein ailesi, çeşitli hücre tiplerinden eksprese edilir ve ortak olarak, işlevlerini aktive eden bir ikincil haberci olan kalsiyum iyonunu bağlayıcı proteinlerdir (22,23).

S100A8/A9 ve S100A12 gibi proinflamatuvar etkileri olan S100 proteinlerinin üç boyutlu yapısı, kalsiyum konsantrasyonu ile modüle edilir (24,25). Kalsiyumun bağlanması, diğer proteinlerin bağlanmasına izin veren konformasyonel değişiklikleri uyarır (26). Her bir S100 monomeri; her iki ucunda bağlantı bölgesi ile ayrılmış hidrofobik alanları olan, iki sarmal-ilmik-sarmal EF-el yapısına sahip kalsiyum bağlanma alanlarından oluşur (16,27). Kalsiyum iyonu (Ca^{2+}), üremeden apoptoza kadar birçok hücre fonksiyonunun kontrolünden sorumlu ikincil haberci moleküldür (28). Hücre içi kalsiyum konsantrasyonundaki değişiklikler ile çeşitli hücre fonksiyonları düzenlenir (29). Kalsiyum bağlayıcı proteinler; sinyal transdüksiyonu, hücre farklılaşması ve döngüsünün kontrolü için anahtar moleküllerdir (16,29).

Kalsiyum, MRP8 ve MRP14 tarafından farklı protein komplekslerinin (dimer, trimer ve tetramer) oluşumunda önemli bir rol oynar (30-32). Kalprotektin, 6 kalsiyum iyonunu bağlayabilir ve bu bağlanma kazein kinaz gibi hedef proteinlerle etkileşime girmesine izin veren hidrofobik yüzeylerin açığa çıkmasına yol açar (33). Kalsiyum, kalprotektinin sitozolden plazma membranına translokasyonunu düzenler. Daha yüksek konsantrasyonlarda, insan kalprotektininin agregasyonunu indükler (34).

Kalprotektinin çinko bağlama kapasitesi S100 ailesindeki diğer proteinlerden daha yüksektir (33). Kalprotektin, kalsiyumun bağlanmasından etkilenmeyen çinko bağlama alanları içerir. Hem MRP8 hem de MRP14 polipeptid zincirleri, kalprotektinin antibakteriyel aktivitesine dahil olan histidin bazlı çinko bağlama dizileri (His-X-X-X-His motifi) içerir (14,35). Kalsiyum gibi çinko da tetramer oluşumunu indükler. Hücre dışı S100A8 / A9'un, bakteriyel büyüme için gerekli olan Zn^{2+} iyonlarının şelasyonu, antimikrobiyal aktivite sergilediği gösterilmiştir. Kalprotektin çinkoya bağlanarak, çinko konsantrasyonunu azaltabilir. Böylece kalprotektin çinko bağımlı enzimlerin çoğunu inhibe eder. Çinko bağımlı enzimlerden oluşan bir aile olan matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), anjiyogenez ve yara iyileşmesi gibi birçok normal biyolojik süreçte, aynı zamanda inflamasyon, kanser ve doku tahribatı gibi patolojik süreçlerde önemlidir. Sonuç olarak, kalprotektin bu enzimleri inhibe ederek, vücuttaki birçok önemli süreci düzenleyebilir (36).

Bugüne kadar insanlarda yirmi beş doku ve hücre spesifik S100 proteini tanımlanmıştır (37). S100 protein ailesi hücre içi transdüksiyonun karmaşık mekanizmalarında yer alır. Protein fosforilasyonu, transkripsiyonu, hücre farklılaşması, hücre döngüsü regülasyonu, hücre büyümesi ve proliferasyonu, hücre motilitesi, inflamatuvar ve immün yanıt regülasyonu gibi çeşitli süreçlerin düzenlenmesinde rol alır (23). S100 proteinlerini kodlayan genler 1. Kromozom 1q21 bölgesinde epidermal farklılaşma kompleksinin içinde bulunurlar (13,23). Kalprotektinin temel özellikleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Tablo 1: Kalprotektinin Temel Özellikleri (14)

Terminoloji	Kalprotektin, L1 proteini, S100A8 ve S100A9 protein kompleksi, 27E10 antijeni, kistik fibroz antijeni, makrofaj inhibitör faktör ilişkili protein, miyeloid ilişkili protein 8 ve 14 (MRP8/14), kalgranulin A/B
Moleküler ağırlık	36.5 kDa
Yapısı	Bir hafif (MRP8) ve iki ağır polipeptid zincirden (MRP14) oluşan her biri iki kalsiyum bağlayan bölge içeren heterodimer protein
Yapısal ilişki	S100 protein ailesi
Dağılım	Nötrofil, monosit, makrofaj, kemik iliği hücreleri, yassı epitel, bazı mukozal epitel hücreleri, mikrovasküler endotelial hücreler, fibroblastlar
Fonksiyonları	İmmünoregülatör fonksiyon Antimikrobiyal etkinlik (bakteriostatik, fungostatik) Hücre içi sinyal iletimi Antiproliferatif Kemotaktik faktör

2.1.3. *Biyolojik Fonksiyonları*

İnflamatuvar bir yanıt sırasında, nötrofiller ve monositler, inflamasyon bölgesine ilk gelen bağışıklık hücreleri arasındadır. İnflamasyon sırasında nötrofil ve monositlerin iltihap bölgesine göçü; selektin, integrin ve bunların ligandları gibi klasik adezyon molekülleri dışında; kemokinler, kemokin reseptörleri ve hasar ilişkili molekülleri (DAMPs) gerektirir. Kalsiyum ve çinko bağlama kapasitesinin biyolojik aktivitesi için çok önemli olduğu bilinmektedir. S100 ailesine mensup kalsiyum ve çinko bağlayıcı kalprotektin (S100A8 / A9), S100A12 ile birlikte immün sistemde proinflamatuvar role sahiptir. Nötrofil ve monositlerin iltihap bölgesine göçünü indükleyen kalprotektin endotelial hücre sıkı bağlantısının bozulmasını tetikler (38). Kalprotektin; lökositlerin inflamasyon bölgesine transendotelial göçü esnasında mediyatör görevi üstlenmektedir.

Kalprotektin, hücre homeostazında rol alması ve JNK, ERK1/2, p38, JAK/STAT gibi sinyal iletim yollarında sinyal molekülü olarak görev alması nedeniyle hasar ilişkili moleküllerin (DAMPs) bir parçasıdır (39,40). Hücrel stres gelişen durumlarda hasar gören veya aktive olan hücrelerden kalprotektin salınımı artar.

S100A8 ve S100A9'un hem hücre içi hem de hücre dışı birçok biyolojik fonksiyonu bulunmaktadır (41,42). Kalprotektin; inflamatuvar süreçlerin düzenlenmesinde, bağışıklık yanıtında ve yara onarımında önemli bir rol oynar. Çinkoyu bağlar ve ayırır, böylece çinko bağımlı enzimleri ve mikrobiyal büyümeyi inhibe eder. Kalprotektinin diğer S100 proteinleri gibi metal iyonlarına olan yüksek afinitesi ve kalsiyum bağlama kapasitesi; miyeloid hücrelerde hücre içi fonksiyonlarda ana rolü oynar (41). Kalsiyum üzerinden hücre içi haberleşme, farklılaşma ve hücre bölünmesinde görevlidir. Kalprotektinin Ca^{2+} bağımlı sinyal yolları tarafından düzenlenen mikrotübüller ile etkileşimi fagosit göçü için kritik öneme sahiptir (32).

Kalprotektin, çeşitli hücre tipleri, normal fibroblastlar ve farklı tümör hücreleri üzerinde büyüme inhibe edici ve hücre ölümünü indükleyici etkilere sahiptir. Bu özellikler, inflamatuvar süreçlerde kalprotektinin; fibroblastların ve inflamasyona dahil olan diğer hücrelerin hayatta kalması veya çoğalması üzerindeki düzenleyici rolünü ortaya koymaktadır. Kalprotektinin apoptozu tetiklediği ve kemotaktik aktiviteleri olduğu gösterilmiştir (34). Kalprotektinin uzun süre yüksek konsantrasyonda bulunmasının sitotoksik olabileceği ve kronik inflamasyonda doku onarımında lokal gecikmeye neden olabileceği öne sürülmüştür (16).

İnflamasyonun iyi bir göstergesi olan kalprotektin iltihaplı lezyonlarda, hücre dışı alanda, nötrofil göçünün eşlik ettiği durumlarda ve sistemik birçok klinik durumda; plazma (43), sinoviyal sıvı (44), idrar (45), beyin omurilik sıvısı (46), tükürük (47) ve gaitada (48) gösterilmiştir (5). Kalprotektinin hücre dışı alana pasif salınımı; hücre nekrozu, hücrel hasar yoluyla indüklenir. Miyeloid hücrelerden kalprotektinin aktif salınımı ise, çoğunlukla akut veya kronik lokal inflamatuvar süreçler sırasında indüklenir.

Farklı inflamatuvar hastalıklarda artmış hücre dışı kalprotektin (S100A8 / A9) seviyeleri mevcuttur. Bu, kalprotektinin inflamasyon için güvenilebilir bir belirteç olarak kullanılabileceğini gösterir. Kalprotektin nötrofillerden veya monositlerden pasif veya aktif olarak salındıktan sonra, fonksiyonlarını reseptörlere bağlanma yoluyla uygular. Ekstrasellüler kalprotektin, glikozaminoglikanlara (GAG'lar), ileri glikasyon son ürünleri reseptörüne (RAGE) ve toll-benzeri reseptör 4'e (TLR4) bağlanma yoluyla endotelial hücreler, fagositler ve lenfositler üzerinde pro-inflamatuvar etkiler sergiler (16).

Tablo 2: Kalprotektinin Biyolojik Fonksiyonları

• İmmünoregülatör fonksiyon
• İmmünoglobulin sentezinin inhibisyonu
• Antimikrobiyal etkinlik
• Fungostatik aktivite
• Kemotaktik faktör
• Hücre içi sinyal iletimi
• Apoptoza neden olan aktivite
• Büyüme engelleyici etki
• Çeşitli tümör hücrelerine sitotoksik etkiler

Kalprotektinin biyolojik işlevleri Tablo 2'de verilmiştir. Kalprotektin serbest bırakılmış hücre dışı formunda, TLR4 ve RAGE reseptörleri ile etkileşime girerek inflamasyonun kritik bir modülatörü haline gelir. Kalprotektinin (S100A8 / A9), inflamatuvar hastalıkların tanı, tedavi ve izleminde değerli bir biyobelirteç olarak kullanımını sağlar (41).

2.1.4. Enfeksiyon ve İnflamasyonda Kalprotektinin Rolü

Fekal kalprotektin immünmodülatör, antimikrobiyal ve antiproliferatif işlevlere sahip, kalsiyum bağlayıcı, nötrofilik sitozolik bir proteindir (Tablo 2). Nötrofiller başta olmak üzere monosit, makrofaj ve epitelyal hücrelerde bulunan kalprotektin, insan nötrofil sitoplazmasındaki proteinlerin yaklaşık % 60' ını oluşturur (49). Her nötrofil hücresi, hücre başına 5 ila 25 pikogram kalprotektin içerir (6,50). Monositlerde, kalprotektin toplam protein içeriğinin yaklaşık % 1.6'sını oluşturur (51). Nötrofillerin aktivasyonu veya monositlerin endotelial adezyonu sonucunda, nötrofillerden mikrotübüle bağlı sistem ile hücre dışına verilir. Sadece aktive edilmiş monositler ve makrofajlardan değil, aynı zamanda genellikle aktivasyonun bir sonucu olarak kemik iliği hücreleri, yassı epitel, bazı mukozal epitel hücreleri, mikrovasküler endotelial hücreler, fibroblastlar tarafından üretilebilir (13,14,52).

Kalprotektin; antibakteriyel (13,53,54), apoptozu uyarıcı (14) ve kemotaktik aktiviteye (55) sahiptir. Hücrel stres gelişen durumlarda hasar gören veya aktive olan hücrelerden kalprotektin salınımı artar. Antimikrobiyal, kemotaktik ve apoptoz indükleyici özellikleri ile endotelin inflamatuvar ve trombojenik cevabında, lökosit ve endotel hücre etkileşiminde ve hücre adezyonunda görev alır (16).

Kalprotektin plazma, sinovyal sıvı, beyin omurilik sıvısı, oral sıvılar, idrar ve dışkı gibi vücut sıvılarında ölçülebilmektedir. Artmış plazma düzeyi enfeksiyöz ve inflamatuvar hastalıkların bulgusudur. Kalprotektin, plazmada ve diğer vücut sıvılarında ölçülebilmekle beraber dışkıda, kandaki düzeyine göre 6 kat daha yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır (48). Bağırsak sisteminde farklı etyolojiye sahip inflamatuvar hastalıklar, granülosit ve monositlerin bağırsak lümenine göçünü indükleyen artan mukozal geçirgenliğe neden olurlar. Bu hücrelerin aktivasyonu ve ölümü, dışkıda çok miktarda kalprotektin atılımına neden olur. Bu nedenle, dışkıdaki kalprotektin seviyesi, mide ve bağırsak mukozasından geçen nötrofil miktarıyla orantılıdır (56).

Günümüzde intestinal inflamasyonu göstermek ve izlemek için tek ve basit bir yöntem bildirilmemektedir. Eritrosit sedimentasyon hızı (ESH), C-reaktif protein (CRP) gibi akut faz reaktanları sıklıkla kullanılan laboratuvar parametreleri olmasına karşın, intestinal inflamasyonla giden hastalıkların aktivitesi ile ilişkileri zayıf olarak değerlendirilmiştir (57). Endoskopi, gastrointestinal sistem hastalıklarının teşhisi için

altın standart yöntem olarak kabul edilmektedir. Gastrointestinal sistemin direkt incelenmesinin yanında, biyopsi materyali alınmasına ve histopatolojik tanı konulmasına olanak sağlar. Ancak endoskopi invaziv, sağlık kaynakları ve iş gücü gerektiren ve komplikasyonlara neden olabilen bir işlemdir. Bu nedenle basit, ucuz, girişimsel olmayan testlerin kullanımına ihtiyaç vardır (58).

İntestinal inflamasyonu göstermede kalprotektinin yanı sıra; eozinofilik katyonik protein (ECP), elastaz, esteraz, myeloperoksidaz, lizozim, laktoferrin gibi lökosit kaynaklı proteinler kullanılabilir (59). Fekal kalprotektin, gastrointestinal kanalın herhangi bir bölümünde oluşan inflamasyon varlığında yükselmektedir. Gastrointestinal sistemin belirli bir bölgesine ve hastalığa spesifik değildir. Çocuklarda intestinal inflamasyonun saptanması ve izlenmesinde kullanılabilecek basit, ucuz, duyarlı ve özgül bir belirteçtir. İntestinal mukozal inflamasyonun görüldüğü organik hastalıklarda ve fonksiyonel bağırsak hastalıklarından ayırt etmede kullanılmaktadır (60-63).

2.1.5. *Pediyatrik Yaş Grubunda Fekal Kalprotektin ve İlişkili Hastalıklar*

Fekal kalprotektin düzeyi sağlıklı çocuklarda yaşa göre farklılık göstermektedir (5,64,65). Yenidoğan ve bebeklik döneminde, kalprotektin düzeyleri, çocuk ve yetişkinler için oluşturulan referans değerlerle karşılaştırıldığında, hem term hem de preterm doğmuş bebeklerde anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (66,67). Yaşamın ilk aylarında sağlıklı bebeklerde yüksek kalprotektin düzeyinin, yüksek bağırsak geçirgenliği, bağırsak florasının oluşumu ve antijenlere yanıtı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (67,68).

Yapılan çalışmalarda, sağlıklı yenidoğan ve bebeklerde saptanan yüksek fekal kalprotektin düzeylerini etkileyen faktörler araştırılmıştır. Postnatal yaş, beslenme ve doğum şekli dahil olmak üzere birçok faktör, bağırsak mukozasının fonksiyonel bütünlüğünün olgunlaşma sürecinde rol oynar ve bağırsak geçirgenliğinde değişikliğe neden olarak fekal kalprotektin düzeylerini etkilemektedir. (69,70).

Yaşamın ilk üç ayında karşımıza çıkan nedeni tam olarak aydınlatılamamış sorunlardan biri olan infantil kolik tanılı bebeklerde, fekal kalprotektin düzeylerinin ölçümü ile intestinal inflamasyon varlığı araştırılmaktadır. Kolik, sağlıklı bir bebekte

açıklanamayan şiddetli ağlama olarak tanımlanır (71). Wessel tarafından ilk olarak 1954'te infantil kolik tanımlama kriterleri belirlenmiştir (72). Haftada en az üç gün boyunca, günde üç saatten fazla ağlayan, 3 aydan küçük sağlıklı bebekler kolik kriterlerini karşılamaktadırlar. Kolik, tüm bebeklerin % 8 ila % 33'ünü etkiler (73); ebeveynin tükenmesine ve doğum sonrası depresyona yol açabilir (74,75). Rhoads ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; intestinal inflamasyon ve değişen kolon florasının kolik için patofizyolojik bir mekanizma sağlayıp sağlamayacağı araştırılmış ve nötrofil infiltrasyonu belirteci olarak fekal kalprotektin düzeyleri değerlendirilmiştir. Fekal kalprotektin düzeyleri, sağlıklı bebeklere kıyasla kolikli bebeklerde iki kat daha yüksek saptanmıştır (71).

Yüksek kalprotektin düzeyi, intestinal inflamasyonun arttığı bilinen; Crohn hastalığı (76), ülseratif kolit (48,77), kistik fibrozis (78,79), çölyak hastalığı (80), juvenil idiyopatik artrit, ishaller (81), bakteriyel enfeksiyonlar (82), kolorektal kanserler, inek sütü proteini alerjisi (83), nonsteroid anti-inflamatuvar enteropatisinde (84) görülebilmektedir (Tablo 3). Organik patolojileri fonksiyonel bozukluklardan ayırt etmede oldukça yararlı bir tetkik olarak, hastalıkların tanı, tedaviye yanıt ve takibinde fekal kalprotektin; ucuz, non-invaziv bir yöntem olarak bildirilmektedir (85).

Tablo 3: Fekal Kalprotektin Düzeyi Yüksek Saptanan Hastalıklar

• İnflamatuvar bağırsak hastalıkları (76,86,87)
• Enfeksiyöz bağırsak hastalıkları (81)
• Nekrotizan enterokolit (88)
• Çölyak hastalığı (80)
• İntestinal kistik fibrozis (89,90)
• İnek sütü protein alerjisi (83)
• Kolorektal karsinom (54)
• HIV enfeksiyonu (91)
• Juvenil idiyopatik artrit (92)
• Nonsteroid anti-inflamatuvar ilaç kullanımı enteropatisi (84)
• Kronik pankreatit (93)
• Siroz (94)

İntestinal inflamasyonun görüldüğü hastalıklarda fekal kalprotektin düzeyi yükselmektedir (48,95). Gastrointestinal inflamasyonu olan kişilerde, fekal kalprotektindeki artışın gastrointestinal mukozadaki artan lökosit sayısına ve nötrofillerin lümene artmış göçüne bağlı olduğu düşünülmektedir. Fekal kalprotektin; organik patolojileri fonksiyonel bozukluklardan ayırt etmede oldukça yararlı bir tetkik olup inflamatuvar bağırsak hastalıklarında belirgin olarak yükselmekte ve bu hastalıklarının tanı, tedavi ve takibinde kullanılmaktadır (96,97). Manz ve arkadaşlarının çalışmasında; abdominal rahatsızlığı olan hastalarda, fekal kalprotektinin, yaştan bağımsız olarak, gastrointestinal sistemin klinik olarak anlamlı bulgularını tanımlamak için yararlı, invaziv olmayan bir belirteç olduğu gösterilmiştir (98).

İnflamatuvar bağırsak hastalıkları; öncelikle gastrointestinal sistemi etkileyen, spesifik klinik ve patolojik özelliklere sahip, multisistemik tutulum gösteren, etyolojisi iyi bilinmeyen bir hastalık grubudur (99). Granülosit ve monositlerin bağırsak lümenine göçünü indükleyen intestinal mukoza hasarına ve artan mukozal geçirgenliğe neden olurlar. İnflamatuvar bağırsak hastalığı olan hastaların fekal kalprotektin düzeyleri, sağlıklı bireylerden veya fonksiyonel bozukluklar ve diğer gastrointestinal hastalıklara sahip olanlardan çok daha yüksektir (100). Fekal kalprotektin klinik uygulamada kullanıldığında, bunun İBH için hastalığa özgü bir belirteç değil, mukozal hasarın bir belirteci olduğunu anlamak önemlidir (101). Fekal kalprotektin testi, pediatrik hastalarda inflamatuvar bağırsak hastalığı tanısını desteklemek veya inflamatuvar bağırsak hastalığı aktivasyonunu doğrulamak için kullanılabilir (102). Kostakis ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptıkları derlemede, fekal kalprotektinin inflamatuvar bağırsak hastalığı tanısında sensitivitesinin yüksek oluşu nedeniyle pozitif bir sonucun inflamatuvar bağırsak hastalığı tanısı veya relapsı şüphesini doğrular nitelikte olduğu; ancak negatif test sonucunun bu hastalıkları dışlamayacağı vurgulanmıştır (96). Tibble ve arkadaşlarının çalışmasında; fekal kalprotektinin, inflamatuvar bağırsak hastalığı tanısı ile takip edilen hastalarda, hastalık aktivasyonunu belirlemede kullanılabilecek bir belirteç olduğu gösterilmiştir (103).

İndiyum-111 etiketli nötrofilik granülositlerin fekal atılımı, inflamatuvar bağırsak hastalığı aktivitesinin altın standart göstergesidir; ancak bu yöntemin karmaşıklığı, yüksek maliyeti ve hastaların iyonize edici ışınlamaya maruz kalması kullanımını sınırlamıştır. Fekal kalprotektin bu hastalarda bağırsak lümenine nötrofil göçü ile

inflamasyonu yansıttığından; indium-111 tekniğine basit, ucuz bir alternatif olarak kullanılabilirliğini düşündürmektedir (104).

Fekal kalprotektin, küçük çocukların ciddi inatçı ishallerinin immün ve inflamatuvar nedenlerini ayırt etmede yardımcı olan bir intestinal inflamatuvar belirteç olarak kullanılabilir (81). Enfeksiyöz ishallerde, irritabl bağırsak sendromunda (IBS) görülenden daha yüksek fekal kalprotektin konsantrasyonları mevcuttur. Fekal kalprotektin seviyeleri bakteri kaynaklı ishaller sırasında artar ve hastalığın klinik şiddeti ile orantılıdır. Fekal kalprotektinin; pediatrik yaş grubu ishallerinin ayrıcı tanısında ve klinik şiddetini belirlemede fayda sağlayabileceği gösterilmiştir (105).

Nekrotizan enterokolit (NEK) esas olarak preterm bebekleri etkileyen yenidoğanlarda yaygın görülen ciddi bir gastrointestinal hastalıktır (88). Nekrotizan enterokolitin klinik özelliklerine sahip olan hastaların, tanı sırasındaki fekal kalprotektin düzeylerinin yüksek olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda fekal kalprotektin konsantrasyonları; NEK tanısında, ciddiyetinin belirlenmesinde ve öngörülmesinde incelenmiştir (106-109). NEK tanılı hastalarda yüksek fekal kalprotektin düzeyleri bildirilmiş olup hastalığı öngörmede seri fekal kalprotektin ölçümlerinin etkinliği gösterilememiştir (88). Bununla birlikte, yaşamın ilk aylarında sağlıklı term ve preterm bebeklerde yüksek kalprotektin konsantrasyonları ve bireyler arası geniş varyasyonlar olması nedeniyle bu yaş grubunda fekal kalprotektinin NEK tanısında bir belirteç olarak kullanılması tartışmalıdır (88,110).

Çölyak hastalığında artmış fekal kalprotektin düzeyi non-invaziv yardımcı tanı yöntemi olarak ve hastalık takibinde kullanılabilir. Çölyak hastalığını gastrointestinal sistemin fonksiyonel hastalıklarından ayırmada ve fekal kalprotektin konsantrasyonu ile histopatolojik bulguların şiddeti arasındaki ilişkiyi göstermede kullanılabilir. Tedavi edilmeyen çölyak hastalarında, artan fekal kalprotektin konsantrasyonunun glutensiz diyet tedavisi ile normale döndüğü görülmektedir. Fekal kalprotektinin, çölyak hastalarının diyetle uyumunu ve bunun göstergesi olan gastrointestinal inflamasyonun azalmasını göstermede bir belirteç olarak kullanılabilir (80,111).

Kistik fibrozisli hastalarda; intestinal inflamasyonun varlığını göstermede fekal kalprotektin spesifik olmamakla birlikte, inflamasyonun olduğu durumlarda artabilen bir belirteçtir (79). Yapılan bir çalışmada; fekal kalprotektin düzeyleri kistik fibrozis

tanılı hastalarda sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında yüksek bulunmuş ve probiyotik kullanımı ile fekal kalprotektin düzeylerinde düşme gözlenmiştir. Bu veriler kistik fibrozisli çocuklarda; intestinal mikrofloranın, intestinal inflamasyonda önemli bir rol oynadığını göstermektedir (78).

Orivuori ve arkadaşlarının yaptıkları prospektif çalışmada; doğum sonrası ikinci ayda yüksek fekal kalprotektin düzeylerinin, 6 yaşına kadar atopik dermatit, astım ve bronşiolit gibi alerjik hastalıkları geliştirmeyi öngörmeye önemi gösterilmiştir (112). Beşer ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptıkları çalışmada, fekal kalprotektin düzeyleri, inek sütü protein alerjisi tanısı konan bebeklerde sağlıklı bebeklere göre yüksek bulunmuştur. Diyetten inek sütü proteini çıkarıldıktan sonra bakılan fekal kalprotektin düzeylerinde belirgin azalma görülmüştür (83).

2.1.6. Kalprotektin Ölçümü

Dışkıda kalprotektinin proteolitik bozulmaya karşı dirençli olduğu ve 7 gün boyunca oda sıcaklığında muhafaza edilebildiği gösterilmiştir (48). Kalprotektin dışkıda homojen dağılmaktadır; ancak özellikle inflamatuvar bağırsak hastalığı tanılı hastalarda kalprotektin düzeylerinin günden güne anlamlı değişkenlik gösterdiği gözlemlenmiştir. Kalprotektin konsantrasyonunun diüurnal ritim gösterdiği ve bu nedenle günün ilk dışkı örneğinde düzeyinin ölçülmesinin daha uygun olduğu öne sürülmektedir (113,114). Yapılan bir çalışmada inflamatuvar bağırsak hastalığı tedavisi ve yönetiminde; günden güne fekal kalprotektin düzeyinin anlamlı değişkenlik göstermesi nedeniyle birden fazla kalprotektin ölçümünün gerekliliği gösterilmiştir (115).

3. MATERYAL VE METOD

3.1. ÇALIŞMA GRUBUNUN OLUŞTURULMASI VE TANIMLAR

Bu tanımlayıcı, kesitsel, epidemiyolojik çalışmaya; İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Sosyal Pediatri Bilim Dalı Çocuk Sağlığı İzlem Polikliniği'ne 1 Haziran 2018-30 Ekim 2018 tarihleri arasında izlem amacıyla başvuran 0-12 ay arası sağlıklı bebekler dahil edildi. Türkiye Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı tarafından oluşturulan bebek ve çocuk izlem programına uygun planlanan poliklinik ziyaretlerinde; çalışmamıza katılmaya onam veren aileler ile yapılan yüz yüze görüşmelerden ve yapılan dosya incelemelerinden bebeklerin klinik ve sosyodemografik verileri kaydedildi (116). Aileler ile yapılan görüşmelerde anket uygulanarak; yaş, cinsiyet, doğum haftası, doğum kilosu, doğum şekli, probiyotik kullanımı, demir ilacı kullanımı, modifiye Wessel kriterlerine göre kolik varlığı, rotavirus aşılması ve örnek alındığı esnada beslenme şekli, boy ve kilo kaydedildi. Beslenme şekli 0-180 gün arası bebeklerde sadece anne sütü, sadece formül süt ve miks (anne sütü ve formül süt) beslenme olarak sınıflandırıldı. Öykü ve fizik muayene ile çalışmaya dahil edilme kriterlerine uyan sağlıklı bebeklere ileri tetkik yapılmadı.

Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

- 0-12 ay arası olmak
- Gebelik yaşının 37 hafta ve üzerinde olması
- Doğum ağırlığının 2500 gram üzerinde olması
- Yaşa göre boy ve yaşıya göre tartı standart deviasyon skorunun (z skoru/SDS) +2 SS ile -2 SS arasında olması
- Kronik hastalık olmaması
- Genetik ve metabolik hastalık tanısı olmaması
- Majör konjenital anomali olmaması
- Enfeksiyon bulgu ve belirtileri olmaması (üst ve alt solunum yolu enfeksiyonu)

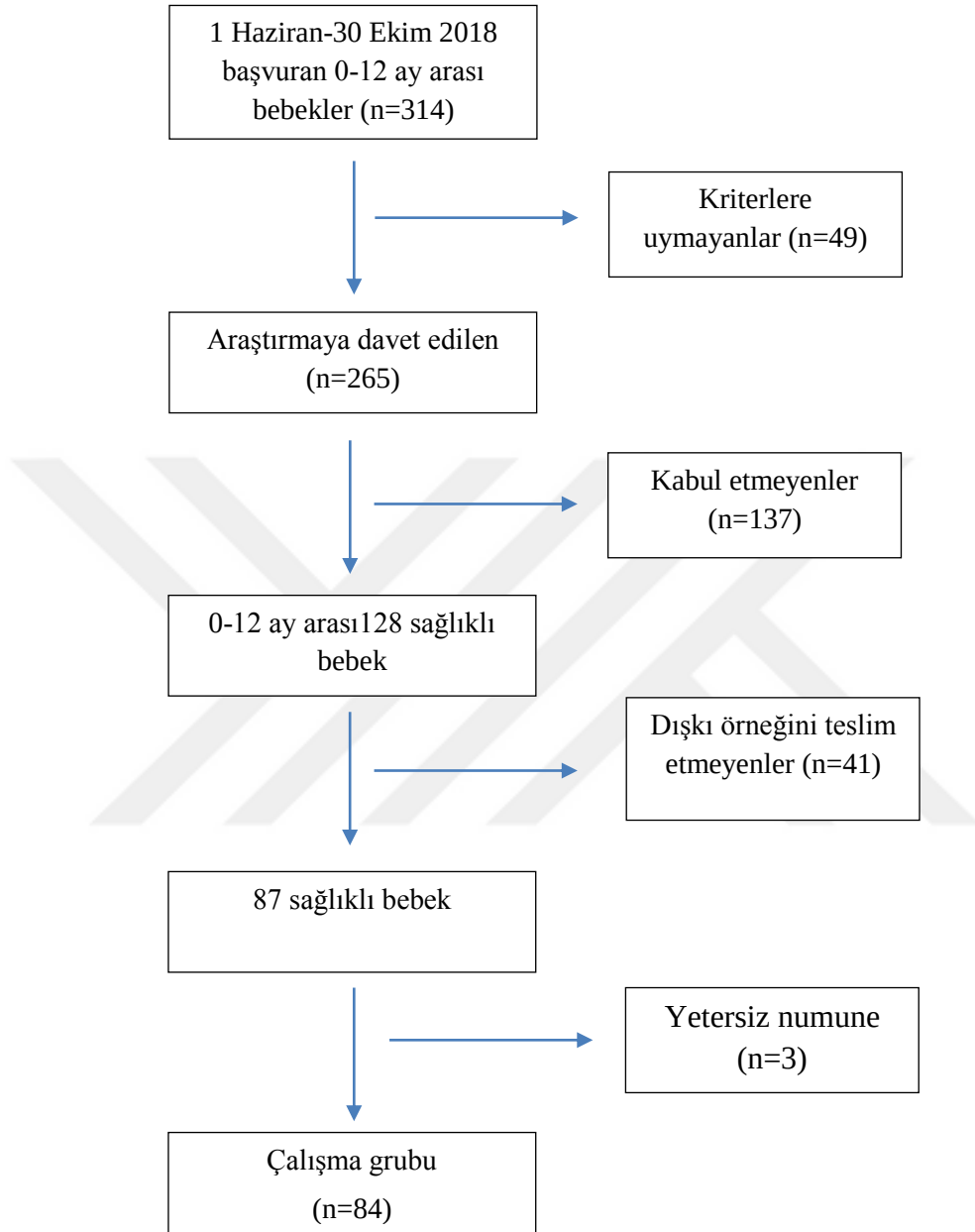
- Gastrointestinal hastalık bulgu ve belirtileri olmaması (ishal, kusma, hematokezya, ateş)
- Solunum sistemi ve/veya cilde ait alerji semptomlarının olmaması (egzama, öksürük, nefes darlığı, hışıltı)
- Son iki hafta içerisinde steroid, nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçlar, gastrik asit inhibitörleri, antibiyotik kullanımı olmaması
- Gastro-özofajiyal reflü belirtileri (kusma, devamlı öksürük) olmaması

İnfantil kolik, Wessel tarafından 1954 yılında; üç hafta süreyle günde üç saatten uzun ve haftada en az üç gün süren ağlama atakları olarak tanımlanmıştır (72). Bununla birlikte, ebeveynlerin üç haftalık süre boyunca ağlama süresini değerlendirmesi ve belgelemesinin pratik olmaması nedeniyle modifiye Wessel kriterleri kullanılmaktadır (117-119). Çalışmamızda infantil kolik için kullanılan modifiye Wessel kriterleri; bebeğin herhangi bir haftada en az üç gün boyunca, günde üç saatten uzun ağlaması olarak tanımlanır (117). Örnek alındığı esnada en az bir hafta süre ile uygun dozda probiyotik kullanımı mevcutsa, olgunun probiyotik aldığı kabul edildi.

1 Haziran 2018-30 Ekim 2018 tarihleri arasında Çocuk Sağlığı İzlem Polikliniği'ne 0-12 ay arası 314 bebek başvurdu. Çalışmaya dahil edilme kriterlerine uyan 265 sağlıklı bebeğin ebeveyni ayrıntılı bilgilendirme sonrası araştırmaya katılmaya davet edildi. 128 bebeğin ebeveyni araştırmaya katılmayı kabul etti ve ebeveynlerden aydınlatılmış onam alındı. 87 sağlıklı bebekten dışkı örneği alındı; üç bebekten alınan dışkı örneğinin yetersiz olması nedeniyle 84 bebekten alınan dışkı örneğinde kalprotektin çalışıldı (Şekil 2).

3.2. ANTROPOMETRİK ÖLÇÜMLER

Bebeklerin ağırlık ve yatar pozisyonunda boy ölçümleri araştırma ekibinin deneyimli bir üyesi tarafından standart teknikler kullanılarak kaydedildi. Ağırlık ölçümü, bebek tamamen soyularak ve bezi çıkarılarak yapılmaktadır. Yaşa göre boy ve yaşa göre tartı z-skorumları (standart deviasyon skoru) Neyzi ve arkadaşlarının Türk çocuklarında yaptıkları çalışmadan elde edilen veriler referans alınarak hesaplanmıştır (120).



Şekil 2: Araştırma Örnekleminin Oluşturulması

3.3. ÇOCUK SAĞLIĞI İZLEM POLİKLİNİĞİ

Çalışmanın yürütüldüğü Çocuk Sağlığı 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. İzlem sıklığı bebeğe göre değişebilmektedir. Çocuk sağlığı izleminde; büyüme ve gelişmeyi değerlendirme, riskli durumları ve sorunları belirleme, hastalıkların tanı ve tedavisi, hastalıklardan korunma, taramaları gerçekleştirme, aşılama, aileleri bilgilendirme ve onlara kılavuzluk etme esastır. Sağlıklı bebek ve çocukların yanı sıra özel bakım gereksinimi ve kronik hastalığı olan çocuklarında çocuk sağlığı izlemi yapılmaktadır (121).

Poliklinik bünyesinde tez danışmanı öğretim üyesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları uzmanı, asistan hekimler, hemşireler ve çocuk gelişim uzmanı tarafından bebek ve çocuk izlemi yapılmaktadır. Boy, kilo, baş çevresinin düzenli aralıklarla ölçümü ve Olcay Neyzi Standartları kız ve erkek çocuk büyüme eğrileri kullanılarak büyüme değerlendirilmesi yapılmaktadır (120). Öykü, gözlem, fizik muayene ve uygun gelişimsel tarama testleri ile gelişimin değerlendirilmesi, riskli durumların belirlenmesi ve önlemlerin alınması amaçlanmıştır. Ulusal aşılama programına uygun aşılama yapılmasının yanı sıra program dışındaki aşılar ile ilgili ailelere bilgi verilmektedir ve uygulanmaktadır (122,123). Aşılanmamış çocuklara ve özel durumlarda aşılama şeması düzenlenerek bağışıklama yapılmaktadır. Emzirme danışmanlığı verilerek, anne sütü ile beslenmenin yaygınlaştırılması ve ailelerin emzirme konusunda duyarlılığının artırılması hedeflenmektedir. Poliklinik ziyaretlerinde emzirme gözlenir ve değerlendirilir, emzirme tekniği ile ilgili önerilerde bulunulur, emzirme sürecinde karşılaşılabilecek sorunlar belirlenerek çözümler üretilir ve emzirmenin sürdürülmesi desteklenir. Bebeğin gelişim basamaklarına uygun tamamlayıcı beslenme; sağlık çalışanı tarafından anlatılmakta, ailelere besin seçimi ve besinlerin hazırlanmasında yol gösterici olması amacıyla hazırlanmış eğitim föyleri verilmektedir. Hayatın ilk haftasından itibaren beslenme tarzı ne olursa olsun tüm bebeklere en az bir yaşına kadar, tercihen iki yaşına kadar 400 ünite/gün D vitamini kullanımı ve zamanında doğmuş tüm bebeklere 4. aydan itibaren demir desteği önerilmektedir (116,124).

Çocuk sağlığı izleminde; hastalık tanı ve tedavisinin yanı sıra riskli durumların belirlenmesi, hastalıklardan korunma ve belirti vermeden önce sağlık sorununun

saptanması amaçlanır. Bu doğrultuda gözlem, fizik muayene ve laboratuvar tetkikleri ile taramalar yapılmaktadır.

Çocuk sağlığı izleminde; kazalardan korunma, tuvalet eğitimi, ağız diş sağlığı, uyku sorunları, uygun oyuncak seçimi ile ilgili ebeveynler bilgilendirilmekte ve danışmanlık verilmektedir.

Ulusal aşı programında olmayan rotavirus (Rotarix, Rotateq), konjuge meningokok (Nimenrix, Menectra, Menveo), inaktif influenza, ikinci doz su çiçeği aşısı konusunda izlemde olan ailelere bilgi verilmekte ve kabul edilirse polikliniğimizde uygulanmaktadır.

3.4. METOD

3.4.1. Dışkı Örneğinin Alınması ve Saklanması

Çalışmaya katılmaya onam veren ailelere polipropilen dışkı kabı verildi ve dışkı örneği toplama hakkında ayrıntılı açıklama yapıldı. Bezden doğrudan polipropilen dışkı kabına alınan taze dışkı örneği aynı gün içerisinde İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Gastroenteroloji Eser Element Laboratuvarı'na teslim edildi. Üretici firmanın talimatları doğrultusunda analiz edilene kadar dışkı örnekleri -40 C°'de muhafaza edildi.

3.4.2. Kalprotektin Kitinin Çalışmaya Hazırlanması

Fekal kalprotektin kantitatif ölçümü için *IDK® Calprotectin ELISA* kiti (K 6927- Stubenwald-Alee 8a D-64625 Bensheim) kullanıldı. Bu kit sadece in vitro diagnostik amaç ile kullanılan ELİSA kitidir. Analize kadar kit 2-8 C°'de saklandı. Kitin içeriği Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4: *IDK® Calprotectin ELISA* Kit İçeriği

Etiket	İçerik	Miktar
PLATE	Mikrotitre plaka	12x8 kuyucuk
WASHBUF	Yıkama özeltisi	2x100 ml
CONJ	Kullanıma hazır konjugat	1x15 ml
STD	Kullanıma hazır standartlar (ng/ml) (0, 13, 52, 210, 840)	1x5 adet
CTRL1	Kullanıma hazır kontrol	1x1 adet
CTRL2	Kullanıma hazır kontrol	1x1 adet
SAMPLEBUF	Kullanıma hazır örnek dilüsyon çözeltisi	1x100 ml
SUB	Kullanıma hazır substrat (tetrametilbenzidin)	1x15 ml
STOP	Kullanıma hazır sonlandırma çözeltisi	1x15 ml
IDK Extract®	Ekstraksiyon özeltisi 2.5x	1x100 ml

Kitin çalışmaya hazırlanması:

1. Yıkama özeltisinin hazırlanması: 100 ml yıkama solüsyonu 900 ml distile suya eklenerek 1:10 oranında olacak şekilde sulandırıldı.
2. Ekstraksiyon özeltisinin hazırlanması: 100 ml IDK Extract® solüsyonu, 150 ml distile suya eklenerek 1:2.5 oranında olacak şekilde sulandırıldı.

Kitin içerisindeki diğer bileşenler kullanıma hazır olarak bulunmaktaydı.

3.4.3. Dışkı Örneklerinin alışmaya Hazırlanması

Toplanan dışkı örneklerinin çalışmaya hazırlanması için yavaşça özölmelerini sağlamak amacıyla -40 C°den -20 C° saklama dolabına transferi gerçekleştirildi. Analiz gününden bir gece önce 2-8 C°de saklanan dışkı örnekleri çalışma öncesi oda sıcaklığında tutularak çalışmaya hazır hale getirildi.

1. Dışkı sayısına uygun hazırlanan boş dışkı örnek tüplerine, 1.5 ml 1:25 oranında sulandırılarak hazırlanan oda sıcaklığındaki ekstraksiyon çözeltisinden eklendi.
2. Kapağın tüp içerisine uzanan çubuk kısmında dışkı ile örtülmesi gereken 15 mg hacmindeki çentikler, numune alındıktan sonra ekstraksiyon çözeltisi ile karışmak üzere tekrar tüpe yerleştirildi. Çentiklerde dışkı örneği kalmayana kadar tüp iyice karıştırıldı.
3. Sedimentin dibe çökmesi için 10 dakika beklendi.
4. 960 µl kullanıma hazır örnek dilüsyon çözeltisi konulmuş tüplere, dışkı örnek tüpünün üst fazından 40 µl eklenerek (1:25 dilüsyon) 1:2500 dilüsyonluk dışkı örneği elde edildi.

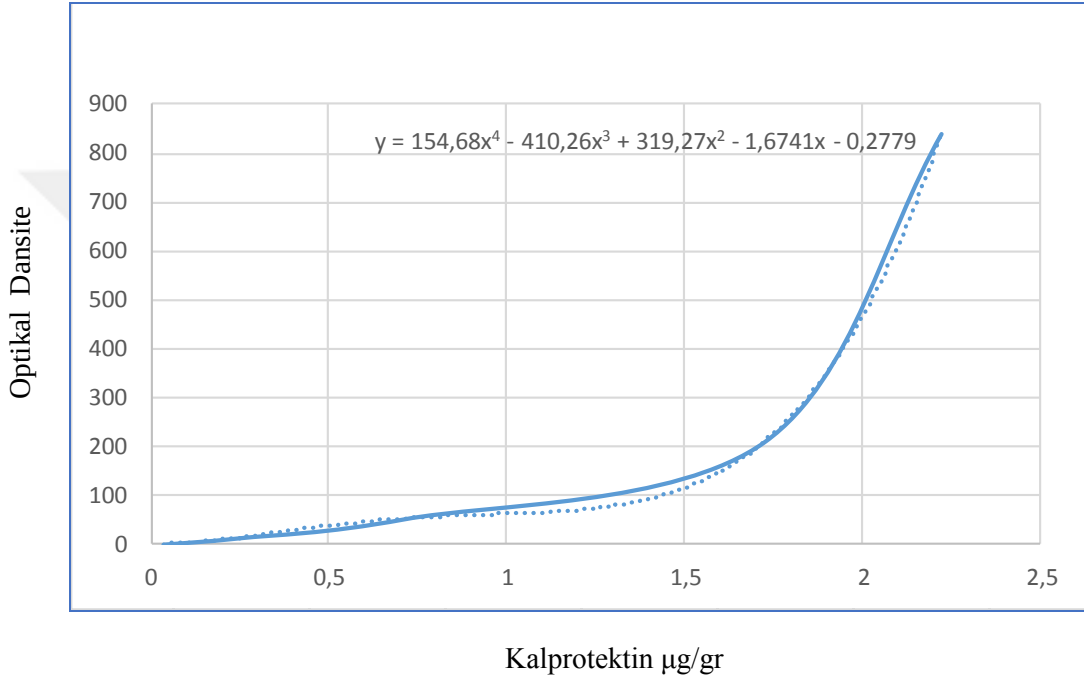
3.4.4. Örnekte Kalprotektin Analizi

Dışkı örneklerinde kalprotektin analiz yöntemi aşamaları Tablo 5'te yer almaktadır.

Tablo 5: Kalprotektin Çalışma Prosedürü

1. Tüm reaktifler ve numuneler oda sıcaklığına getirildi.
2. 0, 13, 52, 210, 840 ng/ml konsantrasyonda olan beş standart, iki adet farklı konsantrasyonda olan kontrol ve 1:2500 dilüsyonluk hazırlanmış dışkı örneklerinden 100'er µl plakanın kuyucuklarına kondu. Üzeri kapatılan plaka oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi.
3. Kuyucukların içeriği atıldıktan sonra 250 µl yıkama solüsyonu ile beş defa el ile yıkandı. Son yıkama aşamasından sonra emici kağıt yardımıyla kuyucuklar kurutuldu.
4. Her bir kuyucuğa 100 µl konjugat solüsyonu eklendi ve plakanın üzeri kapatılarak oda sıcaklığında 30 dakika bekletildi.
5. Kuyucukların içeriği atıldıktan sonra 250 µl yıkama solüsyonu ile beş defa el ile yıkandı. Son yıkama aşamasından sonra emici kağıt yardımıyla kuyucuklar kurutuldu.
6. Her bir kuyucuğa 100 µl substrat solüsyonu eklendi ve mavi renk oluşumu gözlemlendi. Üzeri kapatılan plaka 10-20 dakika oda sıcaklığında bekletildi.
7. Her bir kuyucuğa 100 µl sonlandırma çözeltisi eklendi ve sarı renk oluşumu gözlemlendi.
8. ELISA (<i>µQuant</i> , <i>Bio-Tek Instruments</i>) okuyucusunda 450 nm'ye karşı 620 nm'de optikal dansite değerleri okundu.

Optikal dansite için lineer ordinat, konsantrasyon için logaritmik apsis kullanıldı (Şekil 3). Sonuçlar $\mu\text{g/g}$ dışkı şeklinde verildi. Çalışmaya dahil 0-12 ay arası 84 bebek; 0-30 gün, 31-180 gün ve 181-365 gün olarak yaş gruplarına ayrılarak fekal kalprotektin düzeyleri incelendi.



Şekil 3: Kalprotektin Değerlerini Hesaplamak İçin Kullanılan Eğri

3.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistikler olarak sayı (n), yüzde, ortalama, standart sapma, ortanca, minimum, maksimum ve persentil değerleri kullanılmıştır. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Simirnov testi ile değerlendirilmiş olup parametrik test koşulları karşılanamadığından non-parametrik testler kullanılmıştır. Nicel verilerin analizinde; ikili grup karşılaştırmalarında Mann-Whitney-U testi, ikiden fazla grup karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Korelasyonlar Spearman korelasyon analizi ile test edilmiştir.

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

Analizler *Epi Info Version 3.5.4* kullanılarak gerçekleştirilmiş ve istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak $p < 0,05$ kabul edilmiştir.

3.6. ETİK KURUL ONAYI

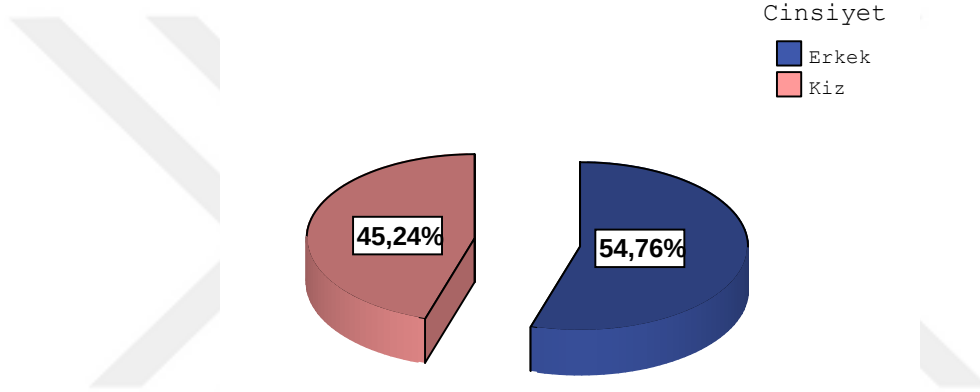
Çalışma, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu tarafından 09.11.2018 (Dosya No: 2018/719) tarihinde onay alınmış olup, tüm katılımcıların aileleri çalışma hakkında bilgilendirildi ve ailelerden imzalı bilgilendirilmiş onam formu alındı.

3.7. MALİ DESTEK

Çalışmanın giderleri araştırmacı tarafından karşılanmıştır.

4. BULGULAR

Bu tanımlayıcı, kesitsel, epidemiyolojik çalışma; 1 Haziran 2018-30 Ekim 2018 tarihleri arasında İstanbul Tıp Fakültesi Sosyal Pediatri Bilim Dalı Çocuk Sağlığı İzlem Polikliniği'ne başvuran %45,2'si (n=38) kız, %54,8'i (n=46) erkek toplam 84 sağlıklı bebek ile yapıldı (Şekil 4).



Şekil 4: Çalışma Grubunun Cinsiyet Dağılımı

Çalışmaya katılan sağlıklı bebeklerin yaşları 1 ile 362 gün arasında değişmekte olup, ortalama $80,49 \pm 90,24$ gün olarak saptandı. Doğum haftası 37 ile 41 hafta arasında değişmekte olup, ortalama $38,57 \pm 1,16$ hafta, doğum ağırlığı 2520 ile 4260 g arasında değişmekte olup, ortalama $3309,88 \pm 418,35$ gr olarak bulundu. Sağlıklı 84 bebeğin %36,9'u (n=31) normal spontan doğum ile, %63,1'i (n=53) sezaryen doğum ile dünyaya gelmişti (Tablo 6).

Tablo 6: Bebeklerin Demografik Özelliklerinin Dağılımı

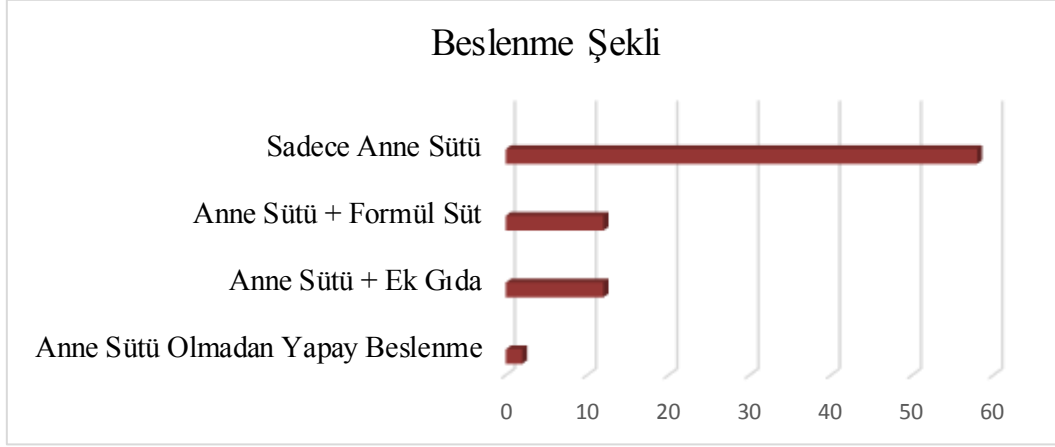
Yaş (gün)	<i>Min-Maks (Ortanca)</i>	1-362 (37)
	<i>Ort±Ss</i>	80,49±90,24
Cinsiyet	Kız (%)	38 (45,2)
	Erkek (%)	46 (54,8)
Doğum Haftası	<i>Min-Maks (Ortanca)</i>	37-41 (39)
	<i>Ort±Ss</i>	38,57±1,16
Doğum Ağırlığı (g)	<i>Min-Maks (Ortanca)</i>	2520-4260 (3320)
	<i>Ort±Ss</i>	3309,88±418,35
Doğum Şekli	Normal Spontan Doğum (%)	31 (36,9)
	Sezaryen (%)	53(63,1)

Çalışmaya katılan sağlıklı bebeklerin örnek alındığı esnada yaşa göre boy standart deviasyon skorları (SDS) -1.77 ile +1.75 arasında değişmekte olup, ortalama +0,05±0,90 olarak; yaşa göre ağırlık standart deviasyon skorları -1.79 ile +1.81 arasında değişmekte olup, ortalama +0,22±0,96 olarak saptandı (Tablo 7).

Tablo 7: Araştırmadaki Bebeklerin Antropometrik Özellikleri

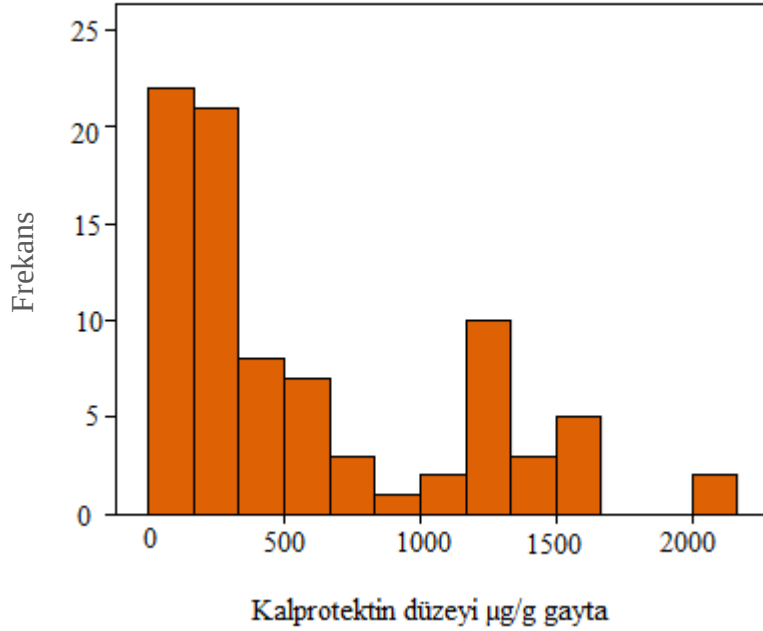
Boy SDS	<i>Min-Maks (Ortanca)</i>	-1,77-+1,75 (+0,13)
	<i>Ort±Ss</i>	+0,05±0,90
Ağırlık SDS	<i>Min-Maks (Ortanca)</i>	-1,79-+1,81 (+0,16)
	<i>Ort±Ss</i>	+0,22±0,96

Bebeklerin örnek alındığı esnada beslenme şekli incelendiğinde; %69'unun (n=58) sadece anne sütü ile, %14,3'ünün (n=12) anne sütü ve formül süt ile, %14,3'ünün (n=12) anne sütü ve ek besin ile, % 2,4'ünün (n=2) anne sütü olmadan yapay beslenme ile beslendikleri saptandı (Şekil 5). Çalışma grubundaki 0-180 gün arası bebekler değerlendirildiğinde sadece formül süt ile beslenen bebek görülmezken, 181-365 gün arası yalnızca iki bebek anne sütü almıyordu.



Şekil 5: Örnek Alındığı Esnada Tüm Bebeklerin Beslenme Biçimleri

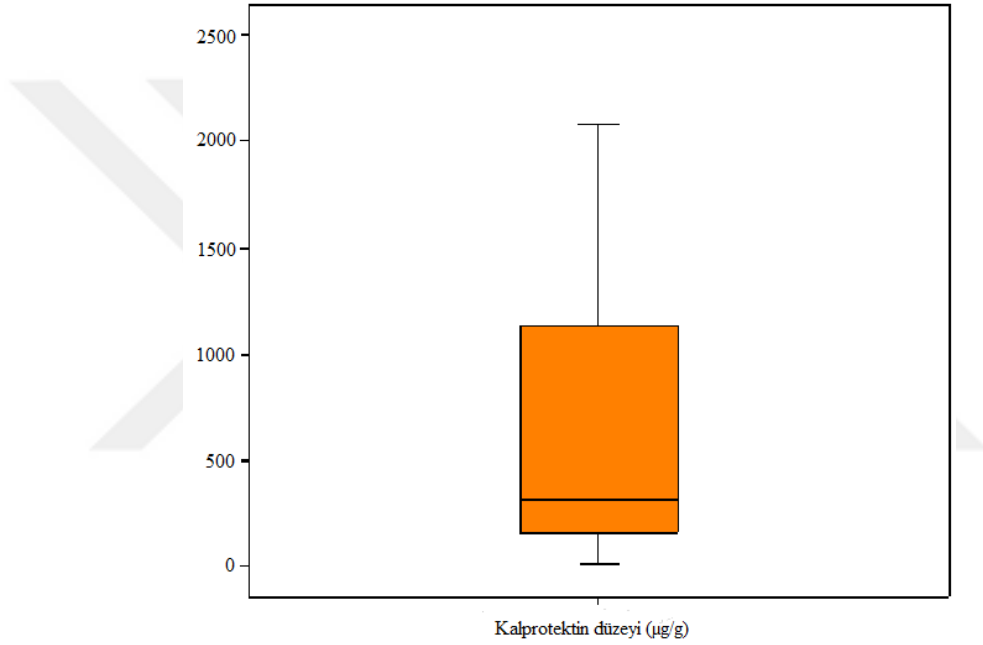
Çalışmaya katılan 0-365 gün arası 84 sağlıklı bebeğin fekal kalprotektin değerleri normal dağılıma uymamakta olup (Şekil 6), 10 ile 2078 $\mu\text{g/g}$ arasında değişmektedir. Fekal kalprotektin ortanca değer 313 $\mu\text{g/g}$ olarak bulunmuştur (Tablo 8). Tüm grup fekal kalprotektin ($\mu\text{g/g}$) değerleri dağılımı Şekil 7’de gösterilmiştir.



Şekil 6: Kalprotektin ($\mu\text{g/g}$) Değerlerinin Dağılımı

Tablo 8: Araştırmadaki Bebeklerin Fekal Kalprotektin Düzeyi

		Kalprotektin (µg/g)			
Yaş	N	Ortalama±SS	Ortanca	Min.	Maks.
0-12 ay	84	577,77±536,45	313	10	2078

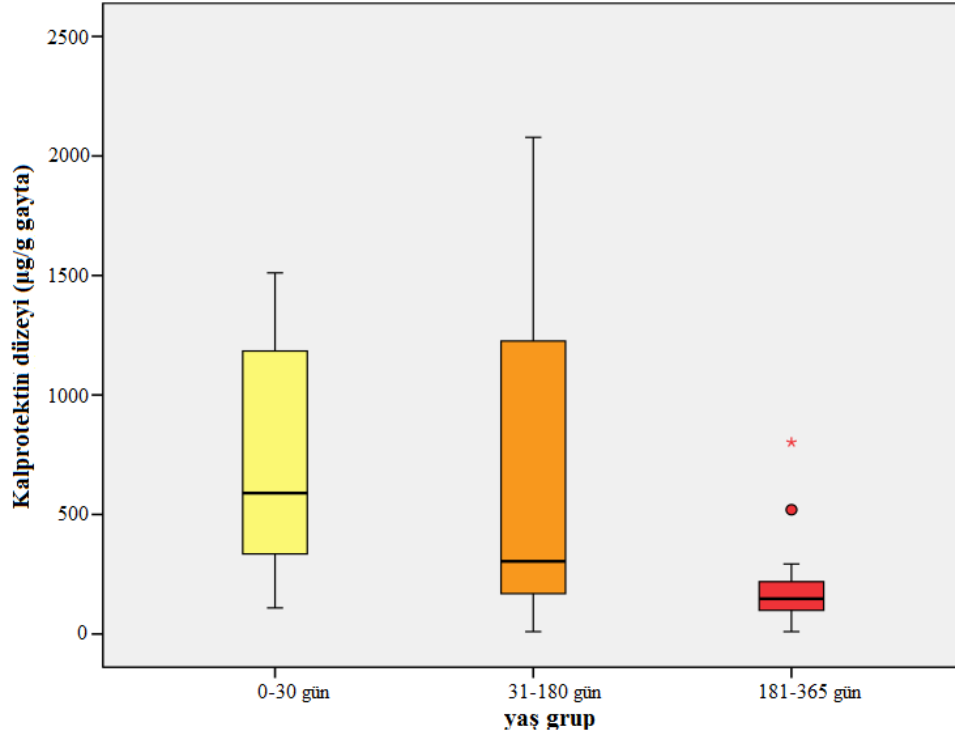
**Şekil 7:** Tüm Grupta Fekal Kalprotektin (µg/g) Düzeyi Dağılımı

Çalışmaya katılan sağlıklı bebekler üç yaş grubuna ayrılarak fekal kalprotektin düzeyleri incelendi. 0-30 gün arası bebeklerin kalprotektin düzeyleri 109 ile 1511 µg/g arasında değişmekte olup ortanca değer 589,5 µg/g olarak, 31-180 gün arası bebeklerinki ise 10 ile 2078 µg/g arasında değişmekte olup ortanca değer 304 µg/g olarak, 181-365 gün arası bebeklerin 10 ile 802 µg/g arasında değişmekte olup ortanca değer 147,5 µg/g olarak saptandı (Tablo 9). Yaş gruplarında fekal kalprotektin (µg/g) düzeyleri Şekil 8’de gösterilmiştir.

Tablo 9: Farklı Yaş Gruplarında Sağlıklı Bebeklerin Fekal Kalprotektin ($\mu\text{g/g}$) Düzeyleri

Kalprotektin ($\mu\text{g/g}$)						
Yaş (gün)	N	Ortalama $\pm$ SS	Ortanca	Min.	Maks.	<i>p</i>
0-30	22	753,18 $\pm$ 447,26	589,5	109	1511	<0,001*
31-180	48	604,94 $\pm$ 592,29	304	10	2078	
181-365	14	209,00 $\pm$ 211,25	147,5	10	802	

Kruskal Wallis Test

* $p < 0.05$ **Şekil 8:** Yaş Gruplarında Fekal Kalprotektin ($\mu\text{g/g}$) Düzeyleri

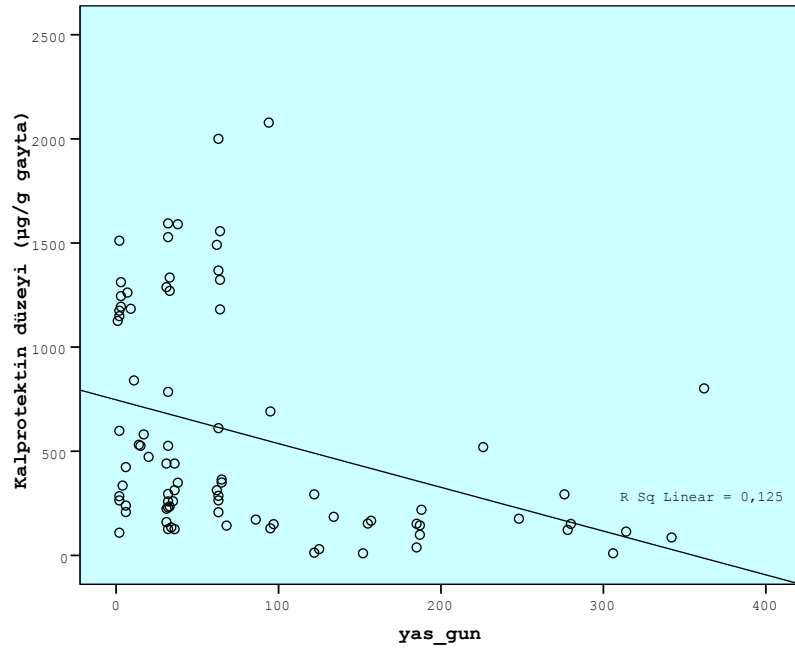
Üç yaş grubu arasında fekal kalprotektin düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (Tablo 9). Gruplar arası karşılaştırmada (Tablo 10); 0-30 gün arası bebekler ile 181-365 gün arası bebeklerin ($p < 0,001$), 31-180 gün arası bebekler ile 181-365 gün arası bebeklerin ($p = 0,003$) fekal kalprotektin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. 0-30 gün arası bebekler ile 31-180 gün arası bebeklerin fekal kalprotektin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p = 0,108$).

Tablo 10: Yaş Grupları Arası Fekal Kalprotektin Düzeyleri Karşılaştırılması

Yaş		<i>p</i>
0-30 gün	31-180 gün	0,108
31-180 gün	181-365 gün	0.003*
0-30 gün	181-365 gün	<0,001*

Mann Whitney U Test * $p < 0.05$

Çalışmamızda, fekal kalprotektin düzeyleri yaş ilerledikçe düşüş eğilimi göstermektedir (Şekil 9). Tüm çalışma grubu değerlendirildiğinde, yaş ile kalprotektin düzeyi arasında anlamlı negatif (ters yönde) korelasyon saptandı (Spearman's $R = -0.449$, $p < 0,001$). Bebeklerin dışkı örneği alındığı esnada boy ve kilo ölçümleri ile kalprotektin düzeyi arasında negatif korelasyon saptandı (sırasıyla Spearman's $\rho = -0.432$, $p < 0,001$; Spearman's $\rho = -0,399$, $p < 0,001$). Yaş, boy ve kilo arttıkça kalprotektin düzeyi azalmaktadır (Tablo 11). Kalprotektin düzeyi ile doğum ağırlığı (Spearman's $\rho = 0,094$, $p = 0,393$) veya doğum haftası (Spearman's $\rho = -0,034$, $p = 0,756$) arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı.

**Şekil 9:** Yaş ile Fekal Kalprotektin Düzeyinin İlişkisi

Tablo 11: Yaş, Doğum Haftası, Doğum Ağırlığı, Boy SDS, Tartı SDS ile Fekal Kalprotektin Arasındaki İlişkilerin Değerlendirilmesi

		Yaş (gün)	Doğum haftası	Doğum Ağırlığı	Boy SDS	Tartı SDS
Kalprotektin düzeyi (µg/g)	R* (Korelasyon katsayısı)	-0,449	-0,034	0,094	-0,079	0,032
	p	<0,001	0,756	0,393	0,478	0,772
	N	84	84	84	84	84

*Spearman's Korelasyonu

Erkek (ortanca=278,5 µg/g) ve kız (ortanca=331 µg/g) bebeklerin fekal kalprotektin düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı (p=0,234). Cinsiyet, doğum şekli, probiyotik kullanımı ve fekal kalprotektin düzeyi ilişkisi Tablo 12'de verilmiştir. Fekal kalprotektin değerleri normal dağılıma uymamaktadır. Standart sapma değerlerinin çok büyük olması; kalprotektin değerlerinin bireyler arası geniş varyasyon gösterdiğini düşündürmüştür.

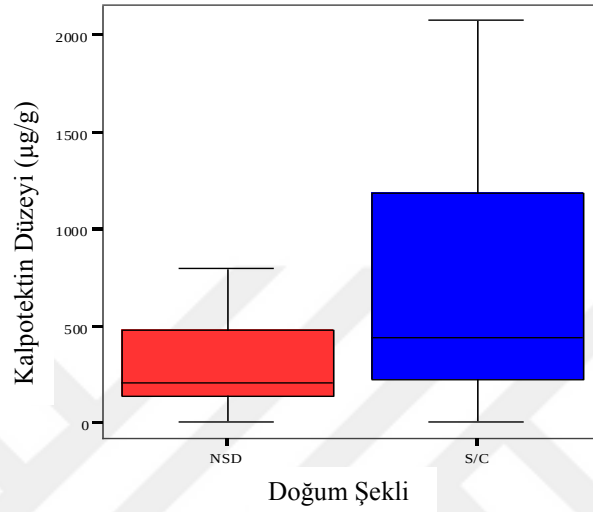
Tablo 12: Cinsiyet, Doğum Şekli, Probiyotik Kullanımı ve Kalprotektin (µg/g) İlişkisi

			Kalprotektin (µg/g)		p
N			Ortalama±SS	Ortanca	
Cinsiyet	Kız	38	634,7±537,4	331	0,234
	Erkek	46	530,72±536,96	278,5	
Doğum Şekli	NSD	31	404,9±443,1	404,9	0,016*
	S/C	53	678,8±563,7	678,85	
Probiyotik Kullanımı	Var	10	674,7 ±42,0	314	0,950
	Yok	74	564,7±507,8	313	

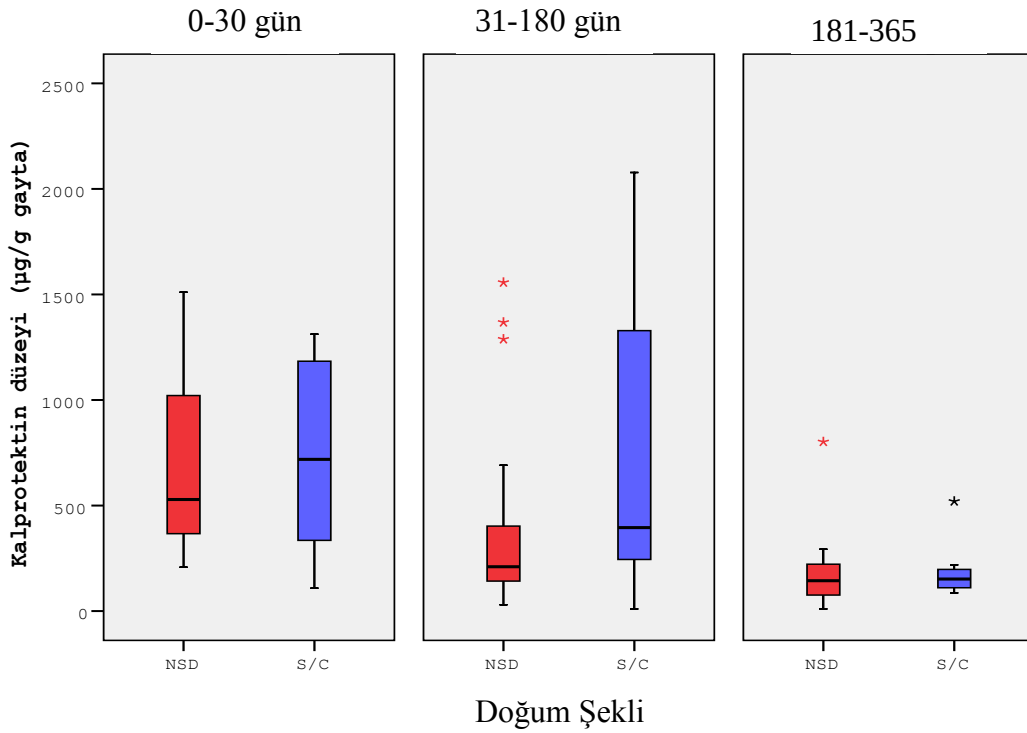
Mann Whitney U Test

*p<0.05

Doğum şekli incelendiğinde; normal spontan doğum ile dünyaya gelen bebeklerin kalprotektin ortanca değeri 208 $\mu\text{g/g}$, sezaryen ile doğan bebeklerin kalprotektin ortanca değeri 441 $\mu\text{g/g}$ saptandı. İki grup arasında fark istatistiksel olarak anlamlı idi (Tablo 12). Tüm grup doğum şekline göre kalprotektin düzeyi Şekil 10’da gösterilmiştir.



Şekil 10: Tüm Grup Doğum Şekline Göre Kalprotektin Düzeyi



Şekil 11: Yaş Gruplarına Göre Doğum Şekli ve Kalprotektin ($\mu\text{g/g}$) Düzeyleri İlişkisi

Doğum şeklinin kalprotektin düzeyine etkisi yaş gruplarına göre incelendiğinde (Şekil 11); bebek sayısının en yüksek olduğu 31-180 gün arası yaş grubunda, sezaryen ile doğan bebeklerin spontan vajinal yol ile doğanlara göre fekal kalprotektin düzeyi istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu (Tablo 13).

Tablo 13: Yaş Gruplarında Doğum Şekli ve Kalprotektin Düzeyi İlişkisi

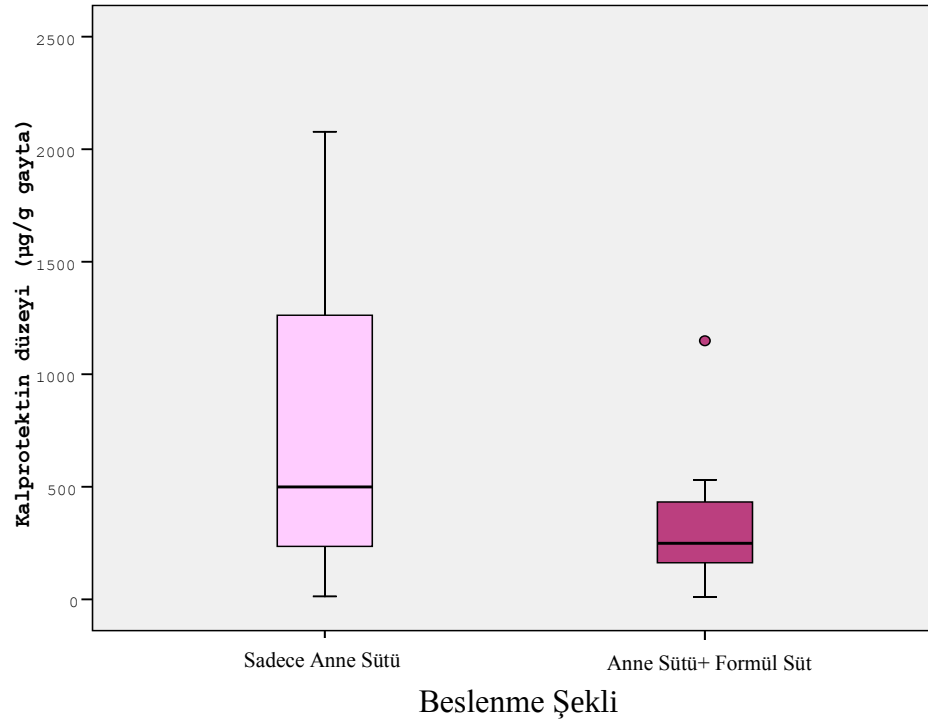
Kalprotektin düzeyi (µg/g)						
Yaş		N	Ortalama	SS	Ortanca	p
0-30 gün	NSD	4	694,00	565,24	528,5	0,798
	S/C	18	766,33	435,57	719	
31-180 gün	NSD	20	411,30	454,17	210	0,033*
	S/C	28	743,25	646,46	395,5	
181-365 gün	NSD	7	221,71	271,73	144	0,655
	S/C	7	196,29	149,90	152	
Mann Whitney U Test * $p<0.05$						

Beslenme şekli ve kalprotektin değeri altı ay altı bebeklerde değerlendirildiğinde; 0-180 gün arası bebeklerin % 82,8'i (n=58) sadece anne sütü ile beslenirken, % 17,2'si (n=12) anne sütü ve formül süt ile besleniyordu. 0-180 gün arası sadece anne sütü ile beslenen bebeklerin kalprotektin ortanca değeri 499,5 µg/g, anne sütü ve formül süt ile beslenen bebeklerin kalprotektin ortanca değeri 249 µg/g olarak saptandı (Şekil 12). Sadece anne sütü ile beslenen bebeklerin fekal kalprotektin düzeyleri anne sütü ve formül süt ile beslenenlere göre yüksekti ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi (Tablo 14) ($p=0.030$).

Tablo 14: İlk 6 Ayda Beslenme Şekli ve Kalprotektin İlişkisi

Kalprotektin (µg/g)						
Beslenme Şekli (0-180 gün)	N	Ortalama± SS	Ortanca	5.persentil	95.persentil	p
Sadece Anne Sütü	58	571,45±716,97	499,5	105,05	1614,3	0,030*
Anne Sütü+ Formül Süt	12	335,25±295,12	249	10	1149	

Mann Whitney U Test * $p < 0.05$

**Şekil 12:** 0-6 Ay Bebeklerde Beslenme Şekline Göre Kalprotektin Düzeyi

Beslenme şeklinin kalprotektin düzeyine etkisi yaş gruplarında incelendiğinde (Tablo 15); sadece anne sütü ile beslenen bebeklerin %31'i 0-30 gün yaş grubunda iken, %69'u 31-180 gün yaş grubunda idi. Anne sütü ve formül süt ile beslenen bebeklerin %33'ü 0-30 gün yaş grubunda iken, %67'si 31-180 gün yaş grubunda idi. 0-30 gün yaş

grubunda sadece anne sütü ile beslenen bebeklerin kalprotektin ortalanca değeri 719 µg/g, 31-180 yaş grubunda sadece anne sütü ile beslenen bebeklerin kalprotektin ortalanca değeri 349,50 µg/g saptandı. 0-30 gün yaş grubunda anne sütü ve formül süt ile beslenen bebeklerin kalprotektin ortalanca değeri 477,50 µg/g, 31-180 gün yaş grubunda anne sütü ve formül süt ile beslenen bebeklerin kalprotektin ortalanca değeri 198 µg/g saptandı.

Tablo 15: Yaş Gruplarında Beslenme Şekli ve Kalprotektin (µg/g) İlişkisi

Beslenme Şekli	Yaş	N	Kalprotektin (µg/g)			p
			Ortalama	SS	Ortanca	
Sadece Anne Sütü	0-30 gün	18	790,39	460,00	719,00	0,373
	31-180 gün	40	683,93	617,60	349,50	
Anne Sütü+ Formül Süt	0-30 gün	4	585,75	394,40	477,50	0,042*
	31-180 gün	8	210,00	128,14	198,00	

Mann Whitney U Test

* $p < 0.05$

31-180 gün arası normal spontan yol ile doğan bebeklerin %90'ı, sezaryen doğan bebeklerin % 78,6'sı sadece anne sütü ile besleniyordu. İki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmadı ($p=0,44$). Bu yaş grubunda normal spontan yol ile doğan bebeklerde; beslenme şekli ve fekal kalprotektin düzeyleri incelendiğinde, sadece anne sütü alan bebekler ve anne sütü ve formül süt alan bebekler arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı. Aynı yaş grubunda sezaryen ile doğan bebekler arasında; sadece anne sütü ile beslenen bebeklerin fekal kalprotektin düzeyleri anne sütü ve formül süt ile beslenenlere göre yüksekti ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi (Tablo 16).

Tablo 16: 31-180 Gün Arası Bebeklerde Doğum Şekli ve Beslenme Şeklinin Kalprotektin İle İlişkisi

			Kalprotektin (µg/g)		
			N	Ortanca	p
31-180 gün (n=48)	Normal Spontan Doğum	Sadece Anne Sütü	18	247,50	0,314
		Anne sütü + Formül Süt	2	139,50	
	Sezaryen	Sadece Anne Sütü	22	698	0,022*
		Anne sütü + Formül Süt	6	241	

Mann Whitney U Test * $p < 0.05$

Kolik: modifiye Wessel kriterlerine göre 1 ve 13 hafta arası 22 bebekte saptandı. Herhangi bir haftada en az üç gün boyunca günde üç saatten uzun ağlayan 22 bebek ve ağlamayan 21 bebek incelendiğinde kalprotektin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (Tablo 17).

Tablo 17: Bebeklerdeki (1-13 Hafta Arası) Kolik Ve Kalprotektin İlişkisi (n=43)

		Kalprotektin (µg/g)		
Kolik (1-13 hafta)	N	Ortalama±SS	Ortanca	p
Yok	21	611,52±481,24	441	0,697
Var	22	746,86±598,30	486	

Mann Whitney U Test

Demir profilaksisi, 4-12 ay arası 21 bebekte değerlendirildiğinde %33,3 (n=7) bebeğin düzenli demir profilaksisi aldığı belirlendi. Bebek sayısı azlığı nedeniyle istatistiksel olarak değerlendirme yapılmadı. Rotavirüs aşısı örnek alındığı esnada 14 bebeğe uygulanmıştı; 6 bebeğe tek doz, 8 bebeğe iki doz oral rotavirüs aşısı uygulanmıştı. Tek doz rotavirüs aşısı uygulanan bebeklerin kalprotektin ortalama değeri 142 µg/g, iki doz rotavirüs aşısı uygulanan bebeklerin kalprotektin ortalama değeri 159 µg/g saptandı. Rotavirüs aşısı uygulanan ve uygulanmayan grup arasında fekal kalprotektin düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Çalışmaya katılan bebeklerde %95 percentile dayanarak fekal kalprotektin değerleri belirlendi (Tablo 18). Bu değerler; tüm grup için 1581,75 $\mu\text{g/g}$, 0-30 gün arası bebekler için 1481,15 $\mu\text{g/g}$, 31-180 gün arası bebekler için 1817,3 $\mu\text{g/g}$ ve 181-365 gün arası bebekler için 802 $\mu\text{g/g}$ olarak belirlendi.

Tablo 18: Yaş Gruplarına Göre Fekal Kalprotektin Düzeyleri ve Persentilleri

Kalprotektin ($\mu\text{g/g}$)			
Yaş	5.persentil	Ortanca	95. persentil
0-30 gün	123,85	589,5	1481,15
31-180 gün	20,65	304	1817,3
181-365 gün	10	147,5	802
Tüm Grup	32	313	1581,75

5. TARTIŞMA

Bu tanımlayıcı, kesitsel, epidemiyolojik çalışma ağırlıklı olarak anne sütü ile beslenen 12 aydan küçük sağlıklı çocuklar arasında yürütülmüştür. Literatürde bu yaş grubunda geniş seride yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Çalışmada, 0-12 ay arası 84 sağlıklı bebeğin ortalama fekal kalprotektin değeri 313 $\mu\text{g/g}$ saptandı. Yaşamın ilk aylarında, sindirim sisteminin devam eden gelişim süreci ve intestinal mukozayı etkileyen faktörler nedeniyle kalprotektin düzeyi için yaş gruplarına göre farklı referans değerler oluşturmak gerekmektedir. Çalışmamıza katılan sağlıklı bebekler üç yaş grubuna ayrılarak fekal kalprotektin düzeyleri incelendi; 0-30 gün arası ortalama değer 589,5 $\mu\text{g/g}$, 31-180 gün arası ortalama değer 304 $\mu\text{g/g}$, 181-365 gün arası ortalama değer 147,5 $\mu\text{g/g}$ saptandı. Olafsdottir ve arkadaşlarının çalışmasında; sağlıklı bebeklerde fekal kalprotektin değerleri, bir yaşından büyük sağlıklı çocukların fekal kalprotektin değerlerinden yedi kat daha yüksek ve inflamatuvar bağırsak hastalığı tanısı almış çocukların fekal kalprotektin düzeyleri ile benzer bulunmuştur (77). Yapılan çalışmada ortalama fekal kalprotektin değerleri; 2-10 hafta arası sağlıklı bebeklerde ($n=27$) 277 ± 109 $\mu\text{g/g}$, sağlıklı 1-13 yaş arası çocuklarda ($n=24$) 40 ± 28 $\mu\text{g/g}$ ve IBH tanılı çocuklarda 293 ± 218 $\mu\text{g/g}$ olarak bulunmuştur. Fagerberg ve arkadaşlarının 6-17 yaş arası, kolonoskopi ile intestinal inflamasyonun tespit edildiği 22 çocuk ile yaptıkları çalışmada, fekal kalprotektin ortalama değeri 349 $\mu\text{g/g}$ olarak saptanmıştır (86). Çalışmamızda tüm grup ortalama değeri (313 $\mu\text{g/g}$); inflamatuvar bağırsak hastalığı tanılı çocuklarda yapılan çalışmalarda saptanan fekal kalprotektin değerleri ile benzer bulunmuştur.

Sağlıklı bebeklerde fekal kalprotektin değerlerinin sağlıklı çocuklara ve erişkinlere göre yüksek olduğu bildirilmektedir (65,77). Ton ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptıkları çalışmada; fekal kalprotektin ölçümü için geliştirilmiş ELISA yöntemi ile sağlıklı yetişkinlerde fekal kalprotektin eşik değeri (cut-off) 50 $\mu\text{g/g}$ olarak belirlenmiştir (49). Kostakis ve ark. tarafından yapılan derlemede pediatrik inflamatuvar bağırsak hastalığı tanısında fekal kalprotektin için eşik değer 50 $\mu\text{g/g}$ kabul edilmiştir

(96). Fagerberg ve arkadaşlarının 117 sağlıklı çocuk ile yaptıkları çalışmada yetişkinler için belirlenen 50 µg/g eşik değerinin, 4-17 yaş arası çocuklarda cinsiyetten bağımsız olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (5). Yapılan çalışmalar ile karşılaştırıldığında; çalışmamızda 0-12 ay arası sağlıklı bebeklerin fekal kalprotektin düzeyleri, sağlıklı büyük çocuklar ve erişkinlerden yüksek bulundu.

Çalışmamızda fekal kalprotektin düzeyleri yaş ile anlamlı negatif korelasyon göstermektedir. Rugtveit ve Fagerhol'un 6 hafta-5 yaş arası 115 sağlıklı Norveçli çocuk ile yaptıkları çalışmada; yaş gruplarında fekal kalprotektin değerleri incelenmiş; bir yaş altı grupta, inflamatuvar bağırsak hastalığı tanılı büyük çocuklar ve erişkinlerden yüksek fekal kalprotektin değerleri saptanmıştır (65). Bu çalışmada fekal kalprotektin ortalama değerleri; 6. haftada 269 µg/g, 3. ayda 263.5 µg/g, 6. ayda 79 µg/g ve 1 yaşında 67 µg/g saptanmıştır (65). Ezri ve arkadaşlarının çalışmasında eşik değer; yaşamın ilk bir yılı için 350 µg/g, büyük çocuklar için 275 µg/g ve erişkinler için 50 µg/g olarak önerilmiştir; fakat çalışmada eşik değer belirleme yöntemi ile ilgili bilgi verilmemiştir (64). Hestvik ve arkadaşlarının Ugandalı sağlıklı çocukları dahil ettikleri çalışmada; ortalama fekal kalprotektin değeri; bir yaş altı grupta 249 µg/g, 1-4 yaş arası 75 µg/g, 4-12 yaş arası 28 µg/g bulunmuştur (125). Çalışmamızda saptanan 0-12 ay arası ortalama fekal kalprotektin değeri (313 µg/g) ve fekal kalprotektin düzeyleri ile yaş arasında bulunan negatif korelasyon literatür ile uyumludur.

Çalışmamızda, 0-30 gün arası ortalama fekal kalprotektin düzeyi (589,5 µg/g) diğer yaş grupları ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulundu. Yapılan çalışmalarda; yenidoğan döneminde, kalprotektin düzeyleri, yaşamın ilk yıllarında çocuk ve yetişkinler için oluşturulan referans değerler ile karşılaştırıldığında; hem term, hem de preterm doğmuş bebeklerde anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (66,67,126). Yaşamın ilk aylarında saptanan yüksek fekal kalprotektin düzeylerinin; gastrointestinal sistemin devam eden gelişim süreciyle ilişkili olduğu bildirilmektedir (67,127). Kapel ve ark. tarafından yapılan derlemede; yenidoğanlarda 350 µg/g üzerindeki fekal kalprotektin değerlerinin bir sindirim sistemi hastalığına işaret edebileceği belirtilmiştir (126). Laforgia ve arkadaşlarının 131 yenidoğan ile yaptıkları çalışmada mekonyum incelenmiş ve fekal kalprotektinin mekonyumda bulunduğu ve ortalama değerin 145.2 ± 78.5 µg/g olduğu saptanmıştır (128). Çalışmamız ve diğer çalışmalar değerlendirildiğinde; mekonyumdaki kalprotektin düzeyleri, 0-12 ay

bebeklerin dışkılarında bulunandan düşük, ancak sağlıklı büyük çocukların dışkısında bulunan kalprotektin değerlerinden yüksekti (65,77). Bunun nedeninin yaşamın ilk aylarında oluşan bakteriyel kolonizasyon sonucunda bağırsak florası tarafından üretilen formül-metiyonil-lösil-fenilinin gibi kemotaktik ajanların; granülosit transepitelyal göçünü uyarması; dolayısıyla kalprotektin düzeyinin dışkıda artması olabileceği bildirilmektedir (129). Nissen ve arkadaşlarının çalışmasında; 11 preterm ve 16 term bebekten, doğum sonrası 3. ve 18. günler arasında alınan dışkı örneklerinde fekal kalprotektin incelenmiş; 7-17 yaş inflamatuvar bağırsak hastalığı tanılı 18 hasta ve 1-15 yaş arası 21 sağlıklı çocuğun fekal kalprotektin değerleri ile karşılaştırılmıştır. Çalışmada; üç haftadan küçük preterm ve term bebeklerde fekal kalprotektin düzeyleri, İBH tanılı çocuklar ile benzer saptanmıştır. Ortanca fekal kalprotektin değerleri; preterm bebeklerde 235 µg/g, term bebeklerde 150 µg/g, İBH tanılı çocuklarda 237 µg/g ve sağlıklı kontrollerde 17 µg/g saptanmıştır (66). 0-30 gün arası bebeklerde ortalama fekal kalprotektin değeri çalışmamızda daha yüksek bulundu.

Sağlıklı yenidoğanlarda yüksek kalprotektin düzeyinin, yüksek bağırsak geçirgenliği, bağırsak florasının oluşumu ve besleyici antijenlere yanıt ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (67,68). Gözlenen yüksek kalprotektin düzeyleri, yenidoğan gastrointestinal sisteminin olağan dışı fizyolojisi ile ilişkilendirilmiştir (67,126). Yaşamın ilk haftaları, “kapanma” fenomeni olarak adlandırılan artmış transmukozal geçirgenlik ile karakterizedir (130). Bu dönemde sağlıklı mukozada kalprotektin bakımından zengin lökosit birikimi olmadığından, gözlenen yüksek kalprotektin düzeyleri; bağırsak geçirgenliğinin fazla olması nedeniyle nötrofillerin transepitelyal göçünde meydana gelen artış ile ilişkilidir (131).

Araştırmalarda intestinal mikrobiyota oluşumunun fekal kalprotektin konsantrasyonu üzerine etkileri incelenmiştir (106,132). Kapel ve arkadaşlarına göre intestinal bakteriyel kolonizasyonu geciktiren perinatal faktörler; örneğin antibiyotik tedavileri, fekal kalprotektin seviyeleri ile negatif korelasyon gösterirken; bağırsak bakteri kolonizasyonunu desteklediği bilinen faktörler; örneğin postnatal yaş ile pozitif korelasyon gösterir (126). Mohan ve arkadaşları (133) kalprotektin ve intestinal mikrobiyota arasındaki ilişkiyi gösterebilmişken, Björkström ve arkadaşları (134) bu ilişkiyi gösterememiştir. Mohan ve arkadaşları; *Bifidobacterium lactis Bb12* oral desteği alan grupta plasebo grubuna göre anlamlı derecede düşük fekal kalprotektin düzeyleri

saptamıştır. Bu çalışmada probiyotik takviyesinin, diyet ve bakteriyel antijenlere karşı gelişen inflamatuvar yanıtların zayıflamasında yardımcı olabileceği öne sürülmüştür (133). Çalışmamıza katılan 84 bebeğin 10'unda probiyotik (*Lactobacillus reuteri*) kullanımı mevcuttu. Probiyotik kullanımı ile fekal kalprotektin düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanmadı. Bu durum çalışmamızda probiyotik alan bebek sayısının az olmasından kaynaklanmış olabilir.

Bazı çalışmalara göre doğumdan sonraki aylarda fekal kalprotektin konsantrasyonlarının yüksek olmasının bir diğer nedeni, sublinik fizyolojik inflamasyonun sindirim kanalında mevcut olması ve bu inflamasyonun granülositlerin bağırsak lümenine geçişine yol açmasıdır (104,135,136). Kalprotektin; antibakteriyel, antifungal aktiviteler ve immünomodülasyon özellikleri dahil olmak üzere birçok biyolojik aktivite göstermektedir. Bu proteinin yaşamın ilk haftalarında sağlıklı bebeklerde, bağırsak ekosistemi gibi fizyolojik koşullardaki konak savunması üzerinde yararlı bir etki gösterebileceği ileri sürülmektedir (126).

Diğer çalışmalarda olduğu gibi, çalışmamızda da kalprotektin düzeyi ile doğum haftası arasında anlamlı bir ilişki bulunamadı (67,69,106,137). Yine diğer çalışmalarla korele olarak, cinsiyet ve fekal kalprotektin düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunamadı (5). Çalışmamızda daha önce herhangi bir çalışmada değerlendirilmemiş olan, demir profilaksisi ve rotavirüs aşılması ile fekal kalprotektin arasındaki ilişki değerlendirildi. Anlamlı bir ilişki bulunamadı.

Beslenme şeklinin özellikle mikroflora açısından bağışıklık hücrelerinin bileşimi ve fonksiyonel farklılaşması üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir (138). Bu bilgiden yola çıkarak yaşamın ilk aylarında beslenme şeklinin bağırsak davranışını etkilediği düşünülmektedir. Doğumdan hemen sonra gastrointestinal sistem doğum ortamı ile ilişkili mikroorganizmalar ile kolonize olurken; ilerleyen dönemde beslenme şekli, farklı bakteri türlerinin kolonizasyonunu belirler. Anne sütü ile beslenen bebeklerin bağırsak florası *Bifidobacteria* ve *Lactobacilli* türlerinden zenginken; formül süt ile beslenen bebekler daha çok *Clostridium* ve *Bacteroides* gibi anaerobik bakterilere sahiptir (139). Doğumdan sonra bağışıklık sisteminin olgunlaşmasında önemli role sahip olan intestinal mikrobiyota; normal sindirim sistemi ile ilişkili lenfoid doku (GALT) gelişimini, IgA'nın sentezini ve salgılanmasını ve dengeli bir T yardımcı hücre tepkisini uyarır. İnsan sütü; içerdiği sitokinler, hormonlar, bağışıklık sistemi

uyarıcı faktörler ve büyüme modülatörleri (ghrelin, leptin, insülin benzeri büyüme faktörleri, epidermal büyüme faktörü ve granülosit koloni uyarıcı faktör) ile bağışıklık sisteminin gelişimini düzenler (140-143).

Çalışmamızda 0-6 ay arası 58 bebek sadece anne sütü ile beslenirken, 12 bebek anne sütü ve formül süt ile besleniyordu. Sadece anne sütü ile beslenen bebeklerin kalprotektin ortanca değeri 499,5 $\mu\text{g/g}$, anne sütü ve formül süt ile beslenen bebeklerin kalprotektin ortanca değeri 249 $\mu\text{g/g}$ olarak saptandı. Sadece anne sütü ile beslenen bebeklerin fekal kalprotektin düzeyleri, anne sütü ve formül süt ile beslenenlere göre yüksekti ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı idi. Çalışma grubumuzda altı ay altında sadece formül süt ile beslenen bebek bulunmamaktaydı. Çalışmalarda beslenme şeklinin bebeklerde fekal kalprotektin seviyesine etkisi konusunda tartışmalı sonuçlar bildirilmiştir. Sağlıklı bebeklerde yapılan birçok çalışmada; term bebekler beslenme şekillerine göre karşılaştırıldığında; yalnızca anne sütü ile beslenen bebeklerde, formülle ve karma beslenen bebeklere kıyasla daha yüksek kalprotektin seviyeleri gözlemlenmiştir (136,142). Öte yandan, Campeotto ve arkadaşlarının (67) ve Baldassarre ve arkadaşlarının (132) çalışmalarında, anne sütü ve formül ile beslenen bebekler arasında fekal kalprotektin konsantrasyonları arasında anlamlı fark bulunamamıştır. Savino ve arkadaşlarının çalışmasında; 0-3 ay arası term doğan sağlıklı bebeklerde sadece anne sütü ile beslenen bebeklerin ortanca fekal kalprotektin değeri 555 $\mu\text{g/g}$, sadece formül süt ile beslenen bebeklerin ortanca fekal kalprotektin değeri 206.6 $\mu\text{g/g}$ olarak saptanmıştır (142). Çalışmamızda sadece anne sütü ile beslenen bebeklerin daha yüksek kalprotektin düzeylerine sahip olması, emzirmenin bebekler üzerinde; kalprotektin gibi immün mediatörler aracılığıyla; koruyucu bir rol oynadığını düşündürmektedir. Bebeklerde; beslenme şekli ve fekal kalprotektin düzeyleri arasındaki ilişkinin temelini oluşturan mekanizmayı daha iyi anlayabilmek için ileri immünolojik araştırmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda; normal spontan doğum ile dünyaya gelen bebeklerin kalprotektin ortanca değeri 208 $\mu\text{g/g}$, sezaryen ile doğan bebeklerin kalprotektin ortanca değeri 441 $\mu\text{g/g}$ saptandı. İki grup arasında fark istatistiksel olarak anlamlı idi. Yaş gruplarına göre incelendiğinde; bebek sayısının en yüksek olduğu 1-6 ay arası yaş grubunda; sezaryen ile doğan bebeklerin fekal kalprotektin düzeyi, spontan vajinal yol ile doğanlara göre istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulundu. Birçok çalışmada doğum şekli term

yenidoğanlarda fekal kalprotektin düzeyini etkilemezken (67,144); Yoo Mi Lee ve arkadaşlarının 2017 yılında 133 sağlıklı çocuk ile yaptıkları çalışmada fekal kalprotektin düzeyleri; vajinal yol ile doğan çocuklarda, sezaryen ile doğanlara kıyasla yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada vajinal yol ile doğum sonucu maternal mikrobiyom ile erken temas sağlandığı ve bu durumun bağırsak olgunlaşması üzerinde rol oynadığı düşünülmüştür (145). Josefsson ve arkadaşlarının çalışmasında; sezaryen ile doğan preterm bebeklerde, fekal kalprotektin düzeyleri anlamlı yüksek bulunmuştur (106). Çalışmada antibiyotik tedavisi alan grupta fekal kalprotektin düzeyleri anlamlı düşük bulunmuş ve fekal kalprotektin konsantrasyonunun intestinal bakteriyel kolonizasyondan etkilendiği düşünülmüştür. Prospektif bir çalışmada; 64 sağlıklı bebeğin doğum sonrası belli günlerde gastrointestinal sistem florası, dışkı kültürleri ile incelenmiş; normal spontan doğum ile dünyaya gelen bebeklerin dışkıları erken dönemde *Bifidobacterium* ve *Lactobacillus* benzeri bakteriler ile kolonize olurken, sezaryen ile doğan bebeklerde normal bakteriyel kolonizasyonunun geciktiği gösterilmiştir (146). Yaşamın ilk aylarında beslenme şekli gibi çeşitli faktörler fekal kalprotektin düzeylerini etkileyebildiği için, doğum şeklinin fekal kalprotektin ile ilişkisinin temelindeki mekanizmanın aydınlatılması gerekmektedir. Bu nedenle daha büyük örneklemeler ile yapılacak prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda modifiye Wessel kriterlerine (117) göre, infantil koliği olan bebekler ile olmayan bebekler arasında fekal kalprotektin düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmadı. Olafsdottir ve arkadaşlarının çalışmasında Wessel kriterlerine göre infantil koliği olan 76 bebek ve 2-10 hafta arası koliği olmayan 27 bebek fekal kalprotektin düzeyleri karşılaştırılmış ve anlamlı fark bulunamamıştır (77).

Orivuori ve arkadaşları; doğum sonrası ikinci ayda saptanan yüksek fekal kalprotektin düzeylerinin, bebeklerin altı yaşına kadar atopik dermatit, astım ve bronşiolit gibi alerjik hastalıkları geliştirmeyi öngörmeye önemini göstermiştir (112). Bu bilgiden yola çıkarak belirlenen eşik değerin üstünde fekal kalprotektin değerlerine sahip bebeklerin izlemi önem taşımaktadır.

Çalışmamızda % 95 persentile dayanarak fekal kalprotektin değerleri tüm grup için 1581,75 µg/g, 0-30 gün arası bebekler için 1481,15 µg/g, 31-180 gün arası bebekler için 1817,3 µg/g ve 181-365 gün arası bebekler için 802 µg/g olarak belirlendi. Oord ve arkadaşlarının çalışmasında; 1 ay-4 yaş arası 75 sağlıklı Danimarkalı bebekte fekal

düzeyleri yaş gruplarına ayrılarak incelenmiştir. Eşik değer % 97.5 percentile dayanarak; 1-6 ay arası 538 µg/g, 6 ay-3 yaş arası 214 µg/g olarak saptanmıştır (147). Çalışmamızda 0 - 1 yaş grubu için daha yüksek bir referans değeri belirlendi. Bu durum, Oord ve arkadaşlarının çalışmasında; 12 ay altı bebek sayısının (n=22) az olması, beslenme şeklinin ve 0-30 gün arası yüksek kalprotektin değerlerine sahip yenidoğanların değerlendirilmemiş olması ile açıklanabilir. Roca ve arkadaşlarının İspanyol çocuklar ile yaptıkları çalışmada; 0-1 yaş arası % 95 percentile dayanarak fekal kalprotektin eşik değeri 910 µg/g olarak belirlenmiştir (144). Fekal kalprotektin konsantrasyonunun bireyler arası geniş varyasyon göstermesi, bebek sayısının görece yüksek olması ve anne sütü ile beslenme oranının yüksek olması nedeniyle çalışmamızda belirlenen eşik değerler diğer çalışmalara kıyasla yüksek saptanmış olabilir. Bağırsak inflamasyonu ve mikrobiyota; yaşanan bölgenin karakteristik özelliklerinden, beslenme alışkanlıklardan, hijyen koşullarından ve halk sağlığı uygulamalarından etkilenebilir. Bu nedenle; çalışmalardaki farklılıklar genetik ve çevresel faktörlerden de kaynaklanabilir.

Çalışma grubunda, belirlenen eşik değerden yüksek fekal kalprotektin düzeyine sahip yaşları 32, 38, 63, 94 gün olan dört bebek bulunmaktaydı. Bebeklerin izlemlerinde; bir bebek dördüncü ayında akut bronşiolit atağı geçirdi ve yüzde atopik dermatit ile uyumlu lezyonları saptandı. Diğer üç bebeğin herhangi bir şikayeti, fizik muayene bulgusu izlemlerde gelişmedi.

Yapılmış çalışmalarla uyumlu olarak, bu çalışmada fekal kalprotektin düzeylerinin bireyler arası büyük farklılıklar gösterdiği saptanmıştır (66,67,88,106). Bebek bezi tarafından emilen su, dışkı gramı başına daha yüksek bir kalprotektin konsantrasyonu ile sonuçlanabileceğinden, bebek bezinden dışkıların toplanması yöntemi bireyler arası varyasyonları açıklayabilir. Bununla birlikte, bu örnekleme yönteminin, fekal kalprotektin konsantrasyonunu en fazla %30 artırdığı bilinmektedir (77). Bu nedenle, çalışmamızdaki kalprotektin değerlerindeki geniş varyasyonun, çalışma evrenimizdeki bireyler arası değişkenliği gösterdiği ve bezden dışkı örneği alınma yönteminden etkilenmediği düşünüldü.

Yapılan çalışmalarda, aynı bireyde farklı zamanlarda bakılan fekal kalprotektin düzeylerinin büyük farklılık gösterdiği belirlenmiştir (5). Çalışmamızdaki kısıtlılıklardan biri; bebeklerin fekal kalprotektin düzeylerinin seri ölçümler yapılarak

dinamik olarak izlenmemesidir. Kesitsel bir çalışma olması nedeniyle, yüksek fekal kalprotektin düzeyine sahip bebeklerin izlemlerinde kontrol fekal kalprotektin düzeyi ölçümü yapılmaması çalışmanın bir diğer kısıtlılığıdır.

Yaşamın ilk yılında saptanan yüksek fekal kalprotektin düzeyleri ve bireyler arası geniş varyasyon nedeniyle referans değerleri belirlemek için daha fazla sayıda katılım ile yapılacak prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.



6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamızda; 0-12 ay arası sağlıklı bebeklerde fekal kalprotektin düzeyleri, yaş ile negatif korelasyon göstermekteydi ve alanyazındaki sağlıklı erişkinlerde ve çocuklarda bildirilen düzeylerden daha yüksekti. 0-6 ay yaş grubunda fekal kalprotektin düzeyi çok değişkendi. Bu grupta sadece anne sütü ile beslenen bebeklerin fekal kalprotektin düzeyleri anne sütü ve formül süt ile beslenenlere göre anlamlı düzeyde yüksek saptandı. Bu durum; anne sütündeki immün modüle edici faktörlerin bağırsak üzerindeki etkisini temsil edebilir. Çalışmamızda, bebek sayısının en fazla olduğu 1-6 ay grubunda sezaryen ile doğan bebeklerde fekal kalprotektin düzeyleri yüksek bulundu. Beslenme şekli, doğum şekli ve fekal kalprotektin düzeyleri arasındaki ilişkinin temelini oluşturan mekanizmanın aydınlatılması için daha büyük örneklemeler ile yapılacak prospektif çalışmalara ihtiyaç vardır.

Doğum haftası, probiyotik kullanımı ve daha önce herhangi bir çalışmada değerlendirilmemiş olan; demir profilaksisi ve rotavirüs aşılması ile fekal kalprotektin arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunamadı.

Bulgularımız, yaşamın ilk aylarında sağlıklı bebeklerde saptanan yüksek fekal kalprotektinin düzeylerinin; yaştan, beslenme şeklinden ve doğum şeklinden etkilenebildiğini göstermiştir. Yüksek fekal kalprotektin değerlerinin her zaman hastalık ile ilişkili olmayacağını bilmesi, klinisyenlerin fekal kalprotektin düzeylerini etkin değerlendirmelerine katkı sağlayacaktır. Fekal kalprotektin düzeyleri yüksek saptanan bebeklerin ileri yaşlarda ortaya çıkabilecek intestinal inflamasyon ile birlikte giden hastalıklar açısından değerlendirilmesi ve takip edilmesi yararlı olabilir.

Bu çalışmada bulunan fekal kalprotektin eşik değerleri, çocuklarda gastrointestinal hastalıkların tanı ve takibinde fekal kalprotektin ölçümünün önemini araştıran ileri çalışmalarda kullanılabilir. Yaşamın ilk aylarında saptanan yüksek fekal kalprotektin düzeyleri ve bireyler arası geniş varyasyon nedeniyle eşik değer belirlenebilmesi için örneklemi büyük çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Fagerhol MK, Andersson KB, Naess-Andresen CF, Brandtzaeg P, Dale I. Calprotectin (the L1 leukocyte protein). In: Smith VL, Dedman JR (Eds.) Stimulus response coupling: the role of intracellular calcium-binding proteins. CRC Press, Boca Raton, Fla 1990: 187–210.
2. Fagerhol MK. Calprotectin, a faecal marker of organic gastrointestinal abnormality. *Lancet*. 2000; 356: 1783-4.
3. Dale I, Brandtzaeg P, Fagerhol MK, et al. Distribution of a new myelomonocytic antigen (L1) in human peripheral blood leukocytes. Immunofluorescence and immunoperoxidase staining features in comparison with lysozyme and lactoferrin. *Am J Clin Pathol*. 1985; 84: 24-34.
4. Hanai H, Takeuchi K, Iida T, et al. Relationship between fecal calprotectin, intestinal inflammation, and peripheral blood neutrophils in patients with active ulcerative colitis. *Dig Dis Sci*. 2004; 49: 1438 –43.
5. 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: 468-472.
6. Fagerhol MK, Dale I, Andersson I. Release and quantitation of a leukocyte derived protein L1. *Scan J Haematol*. 1980; 24: 393-398.
7. 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: 763–765.
8. Schäfer 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.
9. Zwadlo G, Schlegel R, Sorg C. A monoclonal antibody to a subset of human monocytes found only in the peripheral blood and inflammatory tissues. *J Immunol*. 1986; 137: 512-518.
10. Dorin JR, Novak M, Hill RE, Brock DJ, Secher DS, Heyningen V. A clue to the basic defect in cystic fibrosis from cloning the CF antigen gene. *Nature* 1987; 326: 614-617.

11. Odink K, Cerletti N, Brügggen J, Clerc RG, Tarcsay L, Zwadlo G et al. Two calcium-binding proteins in infiltrate macrophages of rheumatoid arthritis. *Nature*. 1987; 330: 80-2.
12. 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: 221-230.
13. Yui S, Nakatani Y, Mikami M. Calprotectin (S100A8/S100A9), an inflammatory protein complex from neutrophils with a broad apoptosis-inducing activity. *Biol Pharm Bull*. 2003; 26: 753-60.
14. Striz I, Trebichavsky I. Calprotectin—A pleiotropic molecule in acute and chronic inflammation. *Physiological Research*. 2004; 53: 245–253.
15. Vaos G, Kostakis ID, Zavras N, Chatzemichael A. The role of calprotectin in pediatric disease. *Biomed Res Int*. 2013; 2013: 542363.
16. Pruenster M, Vogl T, Roth J, Sperandio M. S100A8/A9: from basic science to clinical application. *Pharmacol Ther*. 2016; 167: 120–31.
17. Andersson KB, Sletten K, Berntzen HB, Dale I, Brandtzaeg P, Jellum E 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.
18. Hunter MJ, Chazin WJ. High level expression and dimer characterization of the S100 EF-hand proteins, migration inhibitory factor-related proteins 8 and 14. *J Biol Chem*. 1998; 273: 12427–12435.
19. Vogl T, Ludwig S, Goebeler M, Strey A, Thorey IS, Reichelt R et al. MRP8 and MRP14 control microtubule reorganization during transendothelial migration of phagocytes. *Blood*. 2004; 104: 4260-4268.
20. Nacken W, Roth J, Sorg C, Kerkhoff C. S100A9/S100A8: myeloid representatives of the S100 protein family as prominent players in innate immunity. *Microscopy Research and Technique*. 2003; 60: 569-580.
21. Moore, B. W. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem. Biophys. Res. Commun*. 1965; 19: 739–744.
22. Dorin JR, Novak M, Hill RE, Brock DJ, Secher DS, Heyningen V. A clue to the basic defect in cystic fibrosis from cloning the CF antigen gene. *Nature*. 1987; 326: 614-617.
23. Schäfer BW, Heizmann CW. The S100 family of EF-hand calcium-binding proteins: functions and pathology. *Trends Biochem Sci*. 1996; 21: 134-140.
24. Ravasi T, Hsu K, Goyette J, Schroder K, Yang Z, Rahimi F, et al. Probing the S100 protein family through genomic and functional analysis. *Genomics*. 2004; 84:10-22.

25. Hofmann MA, Drury S, Fu C. RAGE mediates a novel proinflammatory axis: a central cell surface receptor for S100/calgranulin polypeptides. *Cell*. 1999; 97: 889–901.
26. Lewit-Bentley A, Rety S. EF-hand calcium-binding proteins. *Curr Opin Struct Biol*. 2000; 10: 637-643.
27. Hessian PA, Edgeworth J, Hogg N. MRP-8 and MRP-14, two abundant Ca²⁺ binding proteins of neutrophils and monocytes. *J Leukoc Biol*. 1993; 53:197-204.
28. Donato R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF hand type with intracellular and extracellular functional roles. *Int J Biochem Cell Biol*. 2001; 33: 637-68.
29. Haeseleer F, Palczewski K. Calmodulin and Ca²⁺-binding proteins (CaBPs): variations on a theme. *Adv Exp Med Biol*. 2002; 514: 303–17.
30. Strupat, K, Rogniaux H, Van D. A, Roth J, Vogl T. Calcium- induced noncovalently linked tetramers of MRP8 and MRP14 are confirmed by electrospray ionization-mass analysis. *J. Am. Soc. Mass Spectrom*. 2000; 11: 780–788.
31. Korndörfer IP, Brueckner F, Skerra A. The crystal structure of the human (S100A8/S100A9) 2 heterotetramer, calprotectin, illustrates how conformational changes of interacting alpha-helices can determine specific association of two EF-hand proteins. *J Mol Biol*. 2007; 370: 887–898.
32. Ehrchen JM, Sunderkötter 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: 557–566.
33. 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.
34. 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(4): 407-413.
35. Loomans Hj, Hahn Bl, Li Qq, Phadnis Sh, Sohnle Pg. Histidine-based zinc-binding sequences and the antimicrobial activity of calprotectin. *J Infect Dis*. 1998; 177: 812-814.
36. Isaksen B, Fagerhol MK. Calprotectin inhibits matrix metalloproteinases by sequestration of zinc. *Mol Pathol*. 2001; 54: 289-92.

37. Manolakis AC, Kapsoritakis AN, Tiaka EK, Potamianos SP. Calprotectin, calgranulin C, and other members of the s100 protein family in inflammatory bowel disease. *Dig Dis Sci*. 2011; 56: 1601-1611.
38. Viemann D, Strey A, Janning A, Jurk K, Klimmek K., Vogl T, et al. Myeloid-related proteins 8 and 14 induce a specific inflammatory response in human microvascular endothelial cells. *Blood*. 2005; 105: 2955-2962.
39. Youssef P, Roth J, Frosch M. Expression of myeloid related proteins (MRP) 8 and 14 and the MRP8/14 heterodimer in rheumatoid arthritis synovial membrane. *J Rheumatology*. 1999; 26: 2523-2528.
40. Malemud CJ. Myeloid-Related Protein Activity in Rheumatoid Arthritis. *Int J Inflam*. 2011; 580295.
41. 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: 2893–2917.
42. Sohnle PG, Collins-Lech C, Wiessner JH. The zinc-reversible antimicrobial activity of neutrophil lysates and abscess fluid supernatants. *J Infect Dis*. 1991; 164: 137-42.
43. Sander J, Fagerhol MK, Bakken JS, Dale I. Plasma levels of the leucocyte L1 protein in febrile conditions: relation to aetiology, number of leucocytes in blood, blood sedimentation reaction and C-reactive protein. *Scand J Clin Lab Invest*. 1984; 44: 357-62.
44. 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.
45. Holt J, Fagerhol MK, Dale I. Quantitation of a leukocyte protein (L1) in urine. *Acta Paediatr Scand*. 1983; 72: 615-6.
46. 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: 687-689
47. 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.
48. 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: 793-798.
49. Tøn H. Brandsnes SOS, Dale S, Holtlund J, Skuibina E, Schjønsby H, et al. Improved assay for fecal calprotectin. *Clin Chim Acta*. 2000; 292: 41-54.

50. Fagerhol MK, Nielsen HG, Vetlesen A, Sandvik K, Lyberg T. Increase in plasma calprotectin during long-distance running. *Scand J Clin Lab Invest.* 2005; 65: 211-220.
51. Berntzen HB, Munthe E, Fagerhol MK. The major leukocyte protein L1 as an indicator of inflammatory joint disease. *Scand J Rheumatol Suppl.* 1988; 76: 251-6.
52. McNutt NS. The S100 family of multipurpose calcium-binding proteins. *Journal of Cutaneous Pathology.* 1998; 25: 521–529.
53. Stroncek DF, Shankar RA, Skubitz KM. The subcellular distribution of myeloid-related protein 8 (MRP8) and MRP14 in human neutrophils. *J Transl Med.* 2005; 3: 36.
54. Tibble J, Sigthorsson G, Foster R, Sherwood R, Fagerhol M, Bjarnason I. Faecal calprotectin and faecal occult blood tests in the diagnosis of colorectal carcinoma and adenoma. *Gut.* 2001; 49: 402-8.
55. Ahmad A, Bayley DL, He S, Stockley R. A. Myeloid related protein-8/14 stimulates interleukin-8 production in airway epithelial cells. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology.* 2003; 29: 523–530.
56. Chin AC, Parkos CA. Pathobiology of neutrophil transepithelial migration: implications in mediating epithelial injury. *Annu Rev Pathol.* 2007; 2: 111-143.
57. Mack DR, Langton C, Markowitz J, et al. Laboratory values for children with newly diagnosed inflammatory bowel disease. *Pediatrics.* 2007; 119: 1113-1119.
58. ASGE Standards of Practice Committee. Fisher DA, Maple JT, Ben-Menachem T, Cash BD, Decker GA, Early DS, et al. Complications of colonoscopy. *Gastrointest Endosc.* 2011; 74: 745–752.
59. Canani BR, Rapacciuolo L, Romano MT, et al. Diagnostic value of faecal calprotectin in paediatric gastroenterology clinical practice. *Dig Liver Dis.* 2004; 36: 467–70.
60. Carroccio A, Iacono G, Cottone et al M. Diagnostic accuracy of fecal calprotectin assay in distinguishing organic causes of chronic diarrhea from irritable bowel syndrome: a prospective study in adults and children. *Clinical Chemistry.* 2003; 49: 861-867.
61. Hesham S, El Din E, Monis A. A. et al. The diagnostic value of faecal calprotectin in differentiating inflammatory bowel diseases (IBD) from irritable bowel syndrome (IBS). *Report and Opinion.* 2011; 3: 1-8.
62. Tibble J. A, Sigthorsson G, Foster R, Forgacs I, Bjarnason I. Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from nonorganic intestinal disease. *Gastroenterology.* 2002; 123: 450–460.

63. Sydora MJ, Sydora BC, Fedorak RN. Validation of a point-of-care desk top device to quantitate fecal calprotectin and distinguish inflammatory bowel disease from irritable bowel syndrome. *J Crohns Colitis*. 2012; 6: 207–14.
64. Ezri J, Nydegger A. Pediatrics. Fecal calprotectin in children: use and interpretation. *Rev Med Suisse*. 2011; 7: 69-70.
65. Rugtveit J, Fagerhol MK. Age-dependent variations in fecal calprotectin in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2002; 34: 323–4.
66. 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: 107-108.
67. Campeotto F, Butel MJ, Kalach N, Derrieux S, Aubert-Jacquin C, Barbot L, Francoual C, Dupont C, Kapel N. High faecal calprotectin concentrations in newborn infants. 2004; 89: 353–355.
68. Weaver LT, Laker MF, Nelson R: Intestinal permeability in the newborn. *Arch Dis Child*. 1984; 59: 236–241.
69. 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. 2014; 90: 471-475.
70. Taylor SN, Basile LA, Ebeling M, Wagner CL. Intestinal permeability in preterm infants by feeding type: mother's milk versus formula. *Breastfeed Med*. 2009; 4:11–15.
71. Rhoads JM, Fatheree NY, Norori J, Liu Y, Lucke JF, Tyson JE, Ferris MJ. Altered fecal microflora and increased fecal calprotectin in infants with colic. *J Pediatr*. 2009; 155: 823-828.
72. Wessel MA, Cobb JC, Jackson EB, Harris GS Jr, Detwiller AC. Paroxysmal fussing in infancy, sometimes called colic. *Pediatrics*. 1954; 14: 421-435.
73. Laegeforen, Matheson I. Infantile colic: what will help?. *Tidsskr Nor*. 1995; 115: 2386-9.
74. Sondergaard C, Olsen J, Friis-Hasche E, Dirdal M, Thrane N, Sorensen HT. Psychosocial distress during pregnancy and the risk of infantile colic: a follow-up study. *Acta Paediatr*. 2003; 92: 811-6.
75. Levitzky S, Cooper R. Infant colic syndrome: maternal fantasies of aggression and infanticide. *Clin Pediatr (Phila)*. 2000; 39: 395-400.
76. Bunn SK, Bisset WM, Main MJ, Golden BE. Fecal calprotectin as a measure of disease activity in childhood inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2001; 32: 171-177.

77. 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: 45-5.
78. Bruzzese E, et al. Intestinal inflammation is a frequent feature of cystic fibrosis and is reduced by probiotic administration. *Aliment Pharmacol Ther.* 2004; 20: 813-819.
79. Parisi GF, Papale M, Rotolo N, Aloisio D, Tardino L, Scuderi MG, et al. Severe disease in Cystic Fibrosis and fecal calprotectin levels. *Immunobiology.* 2017; 222: 582-586.
80. 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: 503-508.
81. Kapel N, Roman C, Caldari D, et al. Fecal tumor necrosis factor- α and calprotectin as differential diagnostic markers for severe diarrhea of small infants. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition.* 2005; 41: 396-400.
82. Johne B, Fagerhol MK, Lyberg T, Prydz H, Brandtzaeg P, Naess-Andresen CF, et al. Functional and clinical aspects of the myelomonocyte protein calprotectin. *Mol Pathol.* 1997; 50:113-123.
83. Beşer OF, Sancak S, Erkan T, Kutlu T, Cokuğraş H, Cokuğraş 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: 33-38.
84. Tibble JA, Sigthorsson G, Foster R, Scott D, Fagerhol MK, Roseth A, et al. High prevalence of NSAID enteropathy as shown by a simple faecal test. *Gut.* 1999; 45: 362-6.
85. Tavabie OD, Hughes SA, Loganayagam A. The role of faecal calprotectin in the differentiation of organic from functional bowel disorders. *Br J Gen Pract.* 2014; 64: 595-6.
86. Fagerberg UL, Löf L, Myrdal U, Hansson LO, Finkel Y. Colorectal inflammation is well predicted by fecal calprotectin in children with gastrointestinal symptoms. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2005; 40: 450-455.
87. Bunn SK, Bisset WM, Main MJ. Fecal calprotectin: validation as a noninvasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001; 33: 14-22.
88. 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.

89. Golden BE, Clohessy PA, Russell G, and Fagerhol MK. Calprotectin as a marker of inflammation in cystic fibrosis. *Arch Dis Child*. 1996; 74: 136–139.
90. Hayward C, Glass S, van Heyningen V, Brock DJ. Serum concentrations of a granulocyte-derived calcium-binding protein in cystic fibrosis patients and heterozygotes. *Clin Chim Acta*. 1987; 170: 45-55.
91. Hestvik E, Ollafstottir E, Tylleskar T, et al. Fecal calprotectin in HIV-infected, HAAR-naïve Ugandan children. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2012; 54: 785-790.
92. Stoll ML, Patel AS, Punaro M. Fecal calprotectin in children with the enthesitis-related arthritis subtype of juvenile idiopathic arthritis. *Journal of Rheumatology*. 2011; 38: 2274–2275.
93. Carroccio A, Rocco P, Rabitti PG, Di Prima L, Forte GB, Cefalù AB, et al. Plasma calprotectin levels in patients suffering from acute pancreatitis. *Dig Dis Sci*. 2006; 51: 1749-1753.
94. Gundling F, Schmidtler F, Hapfelmeier A, Schulte B, Schmidt T, Pehl C, et al. Fecal calprotectin is a useful screening parameter for hepatic encephalopathy and spontaneous bacterial peritonitis in cirrhosis. *Liver Int*. 2011; 31: 1406-1415.
95. Roseth AG, Kristinsson J, Fagerhol MK, Schjonsby H, Aadland E, Nygaard K, et al. Faecal calprotectin: a novel test for the diagnosis of colorectal cancer? *Scand J Gastroenterol* 1993; 28: 1073-6.
96. Kostakis ID, Cholidou KG, Vaiopoulos AG, Vlachos IS, Perrea D, Vaos G. Fecal calprotectin in pediatric inflammatory bowel disease: a systematic review. *Dig Dis Sci*. 2013; 58: 309-19.
97. Konikoff MR, Denson LA. Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2006; 12: 524-34.
98. Manz M, Burri E, Rothen C, Tchanguizi N, Niederberger C, Rossi L, et al. Value of fecal calprotectin in the evaluation of patients with abdominal discomfort: an observational study. *BMC Gastroenterol*. 2012; 12: 5.
99. Neyzi O. *Pediyatri*. 2010, s: 961-963.
100. Sidler MA, Leach ST, Day AS. Fecal S100A12 and fecal calprotectin as noninvasive markers for inflammatory bowel disease in children. *Inflamm Bowel Dis*. 2008;14: 359-66.
101. Burri E, Beglinger C. Faecal calprotectin in the diagnosis of inflammatory bowel disease. *Biochemia Medica*. 2011; 21: 245–253.

102. van Rhee PF, Van de Vijver E, Fidler V. Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis. *BMJ*. 2010; 341: c3369.
103. Tibble JA, Sigthorsson G, Bridger S, Fagerhol MK, Bjarnason I. Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2000; 119: 15–22.
104. 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.
105. Chen CC, Huang JL, Chang CJ, Kong MS. Fecal calprotectin as a correlative marker in clinical severity of infectious diarrhea and usefulness in evaluating bacterial or viral pathogens in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012; 55: 541–547.
106. Josefsson S, Bunn SK, Domellöf M. Fecal calprotectin in very low birth weight infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2007; 44: 407–13.
107. Carroll D, Corfield A, Spicer R, Cairns P. Faecal calprotectin concentrations and diagnosis of necrotising enterocolitis. *Lancet*. 2003; 361: 310–1.
108. Thuijls G, Derikx JP, van Wijck K, et al. Noninvasive markers for early diagnosis and determination of the severity of necrotizing enterocolitis. *Ann Surg*. 2010; 251: 1174–80.
109. Campeotto F, Baldassarre M, Butel MJ, et al. Fecal calprotectin: cutoff values for identifying intestinal distress in preterm infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2009; 48: 507–10.
110. Yang Q, Smith PB, Goldberg RN, Cotten CM. Dynamic change of fecal calprotectin in very low birth weight infants during the first month of life. *Neonatology*. 2008; 94: 267–271.
111. Ertekin V, Selimoglu M. A, Turgut A, Bakan N. Fecal calprotectin concentration in celiac disease. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2010; 44: 544–546.
112. Orivuori L, Mustonen K, de Goffau MC, Hakala S, Paasela M, Roduit C, Dalphin JC, et al. High level of fecal calprotectin at age 2 months as a marker of intestinal inflammation predicts atopic dermatitis and asthma by age 6. *Clin Exp Allergy*. 2015; 45: 928–939.
113. Lasson A, Stotzer PO, Ohman L, Isaksson S, Sapnara M, Strid H, The Intra-individual variability of faecal calprotectin: a prospective study in patients with active ulcerative colitis, *J. Crohns Colitis*. 2015; 9: 26–32.
114. Moum B, Jahnsen J, Bernklev T. Fecal calprotectin variability in Crohn's disease. *Inflamm. Bowel Dis*. 2010; 16: 1091–2.

115. Kristensen V, Malmström GH, Skar V, Røseth 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.
116. 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-izlem-protokolleripdf.pdf> (Erişim Tarihi: 15.12.2018).
117. Wolke D, Bilgin A, Samara M. Systematic Review and Meta-Analysis: Fussing and Crying Durations and Prevalence of Colic in Infants. *J Pediatr.* 2017; 185: 55–61.
118. St. James-Roberts I, Hurry J, Bowyer J. Objective confirmation of crying durations in infants referred for excessive crying. *Arch Dis Child.* 1993; 68: 82–84.
119. Barr RG, Rotman A, Yaremko J, Leduc D, Francoeur TE. The crying of infants with colic: a controlled empirical description. *Pediatrics.* 1992; 90: 14–21.
120. Neyzi O, Bundak R, Gökçay G, et al. Reference values for weight, height, head circumference, and body mass index in Turkish children. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2015; 7: 280–93.
121. Gökçay G, Aksakal MT. Çocuk Sağlığı İzlem İlkeleri. In: Gökçay G, Beyazova U (eds). *İlk Beş Yaşta Çocuk Sağlığı İzlemi* (1st ed). İstanbul Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 2017: 3-13.
122. Koç F, Gökçay G. Çocuklarda Aşı Uygulamaları. In: Gökçay G, Beyazova U (eds). *İlk Beş Yaşta Çocuk Sağlığı İzlemi* (1st ed). İstanbul Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 2017: 473-555.
123. T.C. Sağlık Bakanlığı, Genişletilmiş Bağışıklama Programı Genelgesi, 2009, Ankara.
124. Gökçay G, Beyazova U, editors. *İlk Beş Yaşta Çocuk Sağlığı İzlemi*. İstanbul: İstanbul Nobel Tıp Kitabevi; 2017.
125. Hestvik E, Tumwine JK, Tylleskar T, Grahnquist L, Ndeezi G, Kaddu-Mulindwa DH, et al. Faecal calprotectin concentrations in apparently healthy children aged 0–12 years in urban Kampala, Uganda: a community-based survey. *BMC Pediatr.* 2011; 11: 9.
126. Kapel N, Campeotto F, Kalach N, Baldassare M, Butel MJ, Dupont C. Faecal calprotectin in term and preterm neonates. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2010; 51: 542–7.
127. Rouge C, Butel MJ, Piloquet H, Ferraris L, Legrand A, Vodovar M, et al. Faecal calprotectin excretion in preterm infants during the neonatal period. *PLoS One.* 2010; 5: e11083

128. Laforgia N, Baldassarre ME, Pontrelli G, Indrio F, Altomare MA, et al. Calprotectin levels in meconium. *Acta Paediatr.* 2003; 92: 463–466.
129. Nash S, Stafford J, Madara JL. Effects of polymorphonuclear leucocyte transmigration on the barrier function of cultured intestinal epithelial monolayers. *J Clin Invest* 1987; 80: 1104–3.
130. Walker WA. Gastrointestinal host defence: importance of gut closure in control of macromolecular transport. *Ciba Found Symp.* 1979: 201–19.
131. Berstad A, Arslan G, Folvik G. Relationship between intestinal permeability and calprotectin concentration in gut lavage fluid. *Scand J Gastroenterol.* 2000; 35: 64–9.
132. 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.
133. 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.
134. Bjorkstrom MV, Hall L, Soderlund S, et al. Intestinal flora in very low- birth weight infants. *Acta Paediatr.* 2009; 98: 1762 –7.
135. 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: 1389–1395.
136. Dorosko SM, MacKenzie T, Connor F. Fecal calprotectin concentrations are higher in exclusively breastfed infants compared to those who are mixed-fed. *Breastfeed Med.* 2008; 3: 117–119.
137. Yang Q, Smith PB, Goldberg RN. Dynamic change of fecal calprotectin in very low birth weight infants during the first month of life. *Neonatology.* 2008; 94: 267 –71.
138. Moreau MC, Gaboriau-Routhiau V. Influence of resident intestinal microflora on the development and functions of the gut-associated lymphoid tissue. *Microb Ecol Health Dis.* 2001; 13: 65–86.
139. Martin R, Langa S, Reviriego C, Jiminez E, Marin ML, Xaus J, et al: Human milk is a source of lactic acid bacteria for the infant gut. *J Pediatr.* 2003; 143: 754–758.
140. Wagner CL, Taylor SN, Johnson D: Host factors in amniotic fluid and breast milk that contribute to gut maturation. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2008; 34: 191–204.

141. Helm RM, Golden C, McMahon M, Thampi P, Badger TM, Nagarajan S. Diet regulates the development of gut-associated lymphoid tissue in neonatal piglets. *Neonatology*. 2007; 91: 248–255.
142. Savino F, Liguori SA. Update on breast milk hormones: leptin, ghrelin and adiponectin. *Clin Nutr*. 2008; 27: 42–47.
143. Lonnerdal B. Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *Am J Clin Nutr*. 2000; 77: 1537S–1543S.
144. Roca M, Rodriguez Varela A, Donat E, Cano F, Hervas D, Armisen A, Vaya MJ, Sjölander A, Ribes-Koninckx C. Fecal calprotectin and eosinophil-derived neurotoxin in healthy children between 0 and 12 years. *Journal Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2017; 65: 394-398.
145. Lee YM, Min CY, Choi YJ, Jeong SJ. Delivery and feeding mode affects fecal calprotectin levels in infants < 7 months old. *Early Human Development*. 2017; 108: 45-48.
146. Long SS, Swenson RM. Development of anaerobic fecal flora in healthy newborn infants. *J Pediatr*. 1977; 91: 298-301.
147. Oord T, Hornung N. Fecal calprotectin in healthy children. *Scand J Clin Lab Invest* 2014; 74: 254–8.

8. ÖZGEÇMİŞ

ADI SOYADI: Burcu Sena GÜNAYDIN ŞAHİN

DÜZENLEME TARİHİ	21.02.2019		
T.C. KİMLİK NO	31285698552		
DOĞUM YERİ VE YILI	İstanbul / 1989		
GÖREV YERİ	İstanbul Tıp Fakültesi- Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı		
GÖREV UNVANI	Tıpta Uzmanlık Öğrencisi		
YAZIŞMA ADRESİ	İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Çapa 34390 Fatih-İstanbul		
TEL	0212 414 20 00 / 33284	GSM	0535 629 89 76
E-POSTA	gunaydinburcusena@gmail.com	FAX	0212 533 13 83

EĞİTİM	ÜNİVERSİTE-FAKÜLTE-BÖLÜM/ANABİLİM DALI
2008-2014	Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
2015-	İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

ÖDÜLLER	4. Genç Pediatristler Kongresi En İyi Sözlü Sunum Ödülü, 1. Ödülü (Ebeveynlerin Çocuklarına Yönelik Oyuncak Seçimine İlişkin Tutumları)
----------------	---

9. EKLER

ETİK KURUL KARARI



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU



Sayı : 1544

Tarih : 12.11.2018

Konu: Prof. Dr. Emine Gülbin GÖKÇAY hk.

Sayın Prof. Dr. Emine Gülbin GÖKÇAY

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları

İlgi : Çocuk Sağlığı ve Hast. ABD' nin 06/11/2018 gün ve 311159 sayılı yazısı

Sorumlu araştırmacılığını üstlendiğiniz ve Dr. Burcu Sena GÜNAYDIN' ın yürüteceği 2018/719 dosya numaralı "0-24 ay arası sağlam çocuklarda fekal kalprotektin düzeyi ve etkileyen faktörler" başlıklı çalışma kurulumuzun 25/05/2018 tarih ve 10 sayılı toplantısında görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş.

İlgili değişiklik isteminiz, Değişiklik Bilgi Formu, Çalışmanın adı "0-12 ay Arası Sağlam Çocuklarda Fekal Kalprotektin Düzeyi ve Etkileyen Faktörler" olarak değiştirilmesi hakkında, kurulumuzun 09/11/2018 tarih ve 19 sayılı toplantısında yeniden görüşülerek etik yönden uygun bulunmuş olup, tutanaklar ekte sunulmuştur.

Bilgilerinizi rica ederim.

Prof. Dr. A.Yağz ÜRESİN

İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar

Etik Kurul Başkanı

Eki: İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu Karar Formu

BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

“0-12 ay arası sağlam çocuklarda fekal kalprotektin düzeyi ve etkileyen faktörler” isimli çalışma tek merkezli bir araştırma olup İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Sağlığı ve İzlemi Polikliniği tarafından takipli 0-12 ay arası sağlam çocuklar ile yürütülecektir.

Araştırmanın Amacı ;

Fekal kalprotektin bağırsak inflamasyonu (iltihap) oluştuğunda dışkıda bulunan bir protein belirteçidir. Yüksek kalprotektin düzeyi, intestinal enflamasyonun arttığı bilinen; Crohn hastalığı, ülseratif kolit, kistik fibrozis, romatoid artrit, bakteriyel enfeksiyonlar ve kolorektal kanselerde görülebilmektedir. Fekal kalprotektin; ucuz, non-invaziv, yüksek özgüllüğü ve duyarlılığı olan bir yöntemdir. Yapılan çalışmalarda erişkin ve büyük çocuklarda fekal kalprotektin düzeyi ve referans aralığı tanımlanmış; tanı ve ilişkili hastalık takibinde kullanıma girmiş bir laboratuvar tetkikidir. Erken çocukluk döneminde sağlıklı bireylerde yüksek kalprotektin düzeyleri olduğu bilinmekte ancak dört yaşın altındaki sağlıklı çocuklarda dışkı kalprotektin düzeyi referans aralığı ve etkileyen faktörler iyi tanımlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı 0-12 ay arası sağlam çocuklarda fekal kalprotektin düzeylerini ve bu düzeyi etkileyen faktörleri belirlemektir.

Çalışmamıza 0-12 ay arası sağlam çocukların dışkı örnekleri kalprotektin düzeyi çalışılmak üzere uygun koşullarda toplanacak. Gönüllülerin dışkı örneğini verdiği esnada enfeksiyon ve gastrointestinal hastalık belirti ve bulgularının olması, fekal kalprotektin düzeyinin olması gerekenden yüksek ölçülmesine yol açacaktır. Bu nedenle aktif enfeksiyon belirti ve bulgularının ve son iki hafta içinde ilaç kullanımının olmadığı sağlam çocuklardan dışkı örneği alınacaktır.

Gönüllünün araştırmaya katılımı isteğe bağlıdır ve gönüllü istediği zaman, herhangi bir cezaya veya yaptırıma maruz kalmaksızın, hiçbir hakkını kaybetmeksizin araştırmaya katılmayı reddedebilir veya araştırmadan çekilebilir.

İlgili mevzuat gereğince gönüllünün kimliğini ortaya çıkaracak kayıtlar gizli tutulacak, kamuoyuna açıklanamayacak; araştırma sonuçlarının yayımlanması halinde dahi gönüllünün kimliğinin gizli kalacaktır.

Araştırma konusuyla ilgili ve gönüllünün araştırmaya katılmaya devam etme isteğini etkileyebilecek yeni bilgiler elde edildiğinde gönüllü veya yasal temsilcisi zamanında bilgilendirilecektir.

Gönüllü araştırma hakkında, kendi hakları hakkında veya araştırmayla ilgili daha fazla bilgi temin etmek amacıyla için İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'ndan Dr. Burcu Sena Günaydın Şahin ile günün 24 saati (0212) 414 20 00 -31681/ (0535) 629 89 76 telefon numarası ile iletişime geçebilir.

Bu çalışmada, çalışmaya katılan sağlam çocuklardan dışkı örneği alınırken o anda eşlik eden aktif enfeksiyon olmaması gerekmektedir. Enfeksiyon varlığı durumunda fekal kalprotektin düzeyinde yükseklik saptanıp araştırmada yanlış sonuç alınmasına yol açacağından kontrol dışkı örneği almak gerekebilir ya da araştırmacı tarafından gerek görüldüğünde kişi araştırma dışı bırakılabilir.

Hastaya ve ailesine sorular sorularak bilgi alınacak ayrıca hastanın geçmiş laboratuvar sonuçlarından ve poliklinik dosyalarından alınan veriler kaydedilecektir.

Araştırmaya katılması beklenen tahmini gönüllü sayısı 100 sağlam çocuktur.

Gönüllünün araştırmayı kabul etmemesi durumunda veya herhangi bir nedenle çalışma programından çıkarılması veya çıkması halinde, sağlam çocuk poliklinik takibine, tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkisine herhangi bir zarar gelmeyecektir.

Araştırmamızda 0-12 ay arası sağlam çocuklardan taze dışkı örnekleri ailelere verilen polipropilen dışkı kabına alınarak, en geç 1-2 saat içinde İstanbul Tıp Fakültesi Temel Bilimler Çocuk Gastroenteroloji Eser Element Laboratuvarına teslim edilmesi istenecektir.

Taze dışkı örneği analiz edilene kadar (-40°C) de İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Gastroenteroloji Eser Element Laboratuvarında saklanacaktır.

Fekal kalprotektin düzeyi Calprotectin (Fecal) ELISA Immunodiagnostik AG /Almanya markalı 96 testlik kit temin edilerek üreticinin ELISA basamaklarına uygun olarak monoklonal test yöntemi ile ölçülecektir.

Araştırmaya katılan bireyler araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmeyecek ayrıca kendisine de bir ödeme yapılmayacaktır. Ulaşım masrafı ve sigorta gibi ödenekler yoktur.

Gönüllüden alınacak dışkı numuneleri yalnızca adı geçen '0-12 ay arası sağlam çocuklarda fekal kalprotektin düzeyi ve etkileyen faktörler' isimli çalışmada kullanılacaktır.

Araştırmaya katılan gönüllülerin kimlik bilgileri gizli tutulacaktır.

Biyolojik materyallerin analizleri yurtdışında yapılmayacaktır.

"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."

“0-12 ay arası sağlam çocuklarda fekal kalprotektin düzeyi ve etkileyen faktörler kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (dışkı);

“Sadece yukarıda bahsi geçen araştırmada kullanılmasına izin veriyorum”

İsim/soyadı

İmza

Katılımcının/Hastanın Beyanı

Sayın Dr. Burcu Sena Günaydın Şahin tarafından İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Sosyal Pediatri Bilim Dalı’nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim. Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağına bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı da tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. Burcu Sena Günaydın Şahin’i İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı’nda 0212 4142000 -31681 / (0535) 629 89 76 nolu numaradan arayabileceğimi biliyorum. Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (denek) olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağıdının bir kopyası bana verilecektir.

GÖNÜLLÜ ONAY FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu klinik araştırmaya kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı kabul ediyorum.

Yasal temsilcisinin Adı-soyadı/ İmzası/Tarih/ Adresi (varsa telefon no., faks no,...)

Araştırma ekibinde yer alan ve yetkin bir araştırmacının

Adı-soyadı/ İmzası/ Tarih

Dr. Burcu Sena Günaydın Şahin /

/

DEĞERLENDİRME FORMU

AD SOYAD: PROTOKOL / TC: TEL: DOĞUM TARİHİ/ YAŞ: BAŞVURU TARİHİ: CİNSİYET: GESTASYON HAFTASI: DOĞUM ŞEKLİ: Sezeryan / Normal Spontan Doğum DOĞUM TARTISI: PROBİYOTİK KULLANIMI ÖYKÜSÜ: Var / Yok ALERJİ ÖYKÜSÜ: Var / Yok GAZ SANCISI VARLIĞI: Var / Yok İLK 6 AY BESLENME BİÇİMİ: ☐ Sadece anne sütü ☐ Anne sütü + karışık ☐ Anne sütü + formül süt ☐ Sadece formül süt ☐ Sadece karışık beslenme	BESLENME: • Sadece anne sütü alma süresi: • Toplam anne sütü alma süresi • Örnek toplandığı esnada beslenme biçimi: DEMİR KULLANIMI: Var / Yok ORAL POLİOVİRÜS AŞI UYGULANMA ZAMANI: ROTAVİRÜS AŞI UYGULANMA ZAMANI: BAŞVURU ANINDA: Boy (persantil): Kilo (persantil):
--	---