

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

**ÇÖLYAK TANILI ÇOCUKLARDA SERUM NGAL VE ZONULİN  
DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ VE BU BELİRTEÇLERİN  
GLUTENSİZ DİYETE UYUM İLE İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. NURAN ÖZÇİFTÇİ ERTUĞRAL**

**DANIŞMAN  
DR. ÖĞR. ÜYESİ HALİL KOCAMAZ**

**DENİZLİ - 2019**

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

**ÇÖLYAK TANILI ÇOCUKLARDA SERUM NGAL VE ZONULİN  
DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ VE BU BELİRTEÇLERİN  
GLUTENSİZ DİYETE UYUM İLE İLİŞKİSİNİN İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. NURAN ÖZÇİFTÇİ ERTUĞRAL**

**DANIŞMAN  
DR. ÖĞR. ÜYESİ HALİL KOCAMAZ**

Bu çalışma Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin 12.06.2019 tarih ve 2019TIPF012 nolu kararı ile desteklenmiştir.

**DENİZLİ – 2019**

## TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince ve tezimin tüm aşamalarında bilgi ve deneyimiyle katkı sağlayıp bana yol gösteren, destek veren tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Halil Kocamaz'a,

Tez sürecim boyunca bana yardımcı olan başta Dr. Öğr. Üyesi Esin Avcı Çiçek olmak üzere tüm Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve çalışanlarına, Katkılarını esirgemeyen Dr. Öğr. Üyesi Hande Şenol'a,

Uzmanlık eğitimim boyunca kıymetli bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım, mesleki ve şahsi gelişimime katkıda bulunan tüm saygıdeğer hocalarıma,

Eğitim yıllarımızı birbirimize destek olarak geçirdiğimiz, pek çok deneyim paylaştığımız sevgili asistan arkadaşlarım başta olmak üzere tüm Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı çalışanlarına,

Hayatım boyunca benim yanımda olan, hiçbir fedakarlıktan kaçınmayarak beni destekleyen çok sevgili anneme, babama, dedelerime ve bugünleri gördüklerini hissettiğim anneannem ve babaanneme,

Hayatıma anlam katarak beni yüreklendiren, her zaman yanımda olduğunu bildiğim çok kıymetli eşim Koray Ertuğral'a sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Nuran Özçiftçi Ertuğral

Denizli, 2019

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
ONAY SAYFASI .....	I
TEŞEKKÜR .....	II
İÇİNDEKİLER .....	III
SİMGELER VE KISALTMALAR .....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ .....	VII
TABLolar DİZİNİ .....	VIII
ÖZET .....	IX
İNGİLİZCE ÖZET .....	XI
GİRİŞ .....	1
1.GENEL BİLGİLER .....	3
1.1.ÇÖLYAK HASTALIĞI .....	3
1.1.1.Tarihçe.....	3
1.1.2. Epidemiyoloji.....	3
1.1.3. Genetik.....	4
1.1.4. Patogenez.....	5
1.1.5.Klinik.....	7
1.1.5.1. Tipik (Klasik) Çölyak Hastalığı.....	8
1.1.5.2. Atipik Çölyak Hastalığı.....	8
1.1.5.3. Sessiz Çölyak Hastalığı.....	8
1.1.5.4. Potansiyel Çölyak Hastalığı.....	8
1.1.5.5. Latent Çölyak Hastalığı.....	9
1.1.6. Çölyak Hastalığına Eşlik Eden Hastalıklar.....	9
1.1.7. Tanı.....	10
1.1.7.1. Serolojik İncelemeler.....	10
1.1.7.2. Genotipik incelemeler.....	12

1.1.7.3. <i>Histopatolojik Bulgular</i> .....	12
1.1.8. <i>Tedavi</i> .....	13
1.1.9. <i>Prognoz ve Komplikasyonlar</i> .....	14
1.2. <i>ZONULİN (PREHAPTOGLOBİN-2)</i> .....	15
1.3. <i>NÖTROFİL JELATİNAZ İLİŞKİLİ LİPOKALİN (NGAL)</i> .....	17
2. <i>GEREÇ VE YÖNTEM</i> .....	18
2.1. <i>Hasta Gruplarının Oluşturulması</i> .....	18
2.2. <i>Serum Örneklerinin Çalışılması</i> .....	19
2.3. <i>İstatistiksel Değerlendirme</i> .....	19
3. <i>BULGULAR</i> .....	20
4. <i>TARTIŞMA</i> .....	29
5. <i>SONUÇLAR</i> .....	36
6. <i>KAYNAKLAR</i> .....	37
7. <i>EKLER</i>	

## SİMGELER VE KISALTMALAR

**AGA:** Anti-gliadin antikor

**ARA:** Anti-retikülin antikor

**CV:** Coefficient of Variation

**CXCR3:** Kemokin reseptörü tip3

**ÇH:** Çölyak Hastalığı

**DGP:** Deamide Gliadin Peptid

**DM:** Diyabetes mellitus

**DPP IV:** Dipeptidil peptidaz IV

**DTG:** Doku Transglutaminaz antikor

**EGFR:** Epidermal büyüme faktörü reseptörü

**ELISA:** Enzim bağlı immünoabsorban yöntemi

**EMA:** Endomisyum antikor

**ESPGHAN:** Avrupa Pediatrik Gastroenteroloji Hepatoloji ve Beslenme Topluluğu

**GD:** Glutensiz diyet

**GİS:** Gastrointestinal sistem

**HLA:** İnsan lökosit antijeni

**IFN:** İnterferon

**IgA:** İmmünglobulin A

**IgG:** İmmünglobulin G

**IL-4:** İnterlokın 4

**IL-5:** İnterlokın 5

**IL-6:** İnterlokin 6

**IL-10:** İnterlokin 10

**IL-15:** İnterlokin 15

**IL-17:** İnterlokin 17

**IL-22:** İnterlokin 22

**İBH:** İnflamatuvar barsak hastalığı

**İEL:** İnterapitelyal Lenfosit

**MHC:** Major Histocompatibility Complex

**mg:** Miligram

**NGAL:** Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin

**NK:** Doğal öldürücü hücre

**NKG2D-MICA:** Natural killer-activating receptor-Major histocompatibility-class I chain-related gene A

**PAR2:** Proteinaz ile aktive olan reseptör 2

**TGF-β:** Transforme Edici Büyüme Faktör Beta

**Th 1:** Yardımcı T hücre 1

**Th 2:** Yardımcı T hücre 2

**TNF-α:** Tümör Nekroz Faktör alfa

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 1</b> Çölyak hastalığı gelişmesi için gerekli olan faktörler.....	5
<b>Şekil 2</b> Çölyak hastalığı patogenezi .....	7
<b>Şekil 3</b> Çölyak hastalığında buz dağı modeli .....	9
<b>Şekil 4</b> Gliadin tarafından uyarılan zonulin salınım mekanizması.....	16
<b>Şekil 5</b> Hasta ve kontrol grubunun serum NGAL düzeyleri arasındaki ilişki.....	23
<b>Şekil 6</b> Hasta ve kontrol grubunun serum zonulin düzeyleri arasındaki ilişki.....	25
<b>Şekil 7</b> GDA-ÇH ve GDB-ÇH serum zonulin düzeyleri arasındaki ilişki.....	26
<b>Şekil 8</b> GDA-ÇH ve GDB-ÇH serum NGAL düzeyleri arasındaki ilişki.....	27
<b>Şekil 9</b> Hasta grubunda serum NGAL ve DTG IgA düzeyleri arasındaki ilişki.....	28
<b>Şekil 10</b> Hasta grubunda serum zonulin ve DTG IgA düzeyleri arasındaki ilişki.....	28



## TABLÖLAR DİZİNİ

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1</b> Çölyak hastalığı prevalansının arttığı hastalık ve sendromlar.....	10
<b>Tablo 2</b> Çölyak hastalığında antikor testlerinin duyarlılık ve özgüllüğü .....	11
<b>Tablo 3</b> Çölyak hastalığında histolojik sınıflandırma .....	12
<b>Tablo 4</b> Çölyak Hastalığında skorlama sistemi .....	13
<b>Tablo 5</b> Hasta ve kontrol grubunun demografik ve antropometrik özellikleri.....	20
<b>Tablo 6</b> Hasta ve kontrol grubunda malnütrisyon ve bodurluk oranları....	21
<b>Tablo 7</b> Çölyak hastalarının histopatolojik evrelendirmesi.....	22
<b>Tablo 8</b> Çölyak hastalarının diyetle uyum skorlaması.....	23
<b>Tablo 9</b> Serum NGAL ve serum zonulin biyobelirteçlerinin düzeyleri.....	24
<b>Tablo 10</b> Serum NGAL ve serum zonulin düzeylerinin cinsiyetler ile ilişkisi.....	25
<b>Tablo 11</b> GDA-ÇH ve GDB-ÇH'lerin serum NGAL ve zonulin seviyeleri.....	26

## ÖZET

### **Çölyak tanılı çocuklarda serum NGAL ve zonulin düzeylerinin belirlenmesi ve bu belirteçlerin glutensiz diyetle uyum ile ilişkisinin incelenmesi**

Dr. Nuran ÖZÇİFTÇİ ERTUĞRAL

Çölyak hastalığı (ÇH), immün sistemin aracılık ettiği, diyetle gluten proteini alınmasıyla ortaya çıkan kronik bir enteropatidir. Glutensiz diyetin (GD) ömür boyu yapılması klinik ve histopatolojik düzelmeye sağlar. NGAL, farklı dokulardan fizyolojik miktarlarda salgılanarak birlikte özellikle intestinal inflamasyonda enterosit ve nötrofillerden salınımı artıran bir akut faz glikoproteinidir. Zonulin, gluten alımı ile tetiklenerek enterositler arasındaki sıkı bağlantıların açılmasından ve böylece bağırsak geçirgenliğinin artmasından sorumlu bir proteindir. Çalışmamızda çölyak hastası çocuklarda serum NGAL ve zonulin düzeylerini tespit ederek bu belirteçlerin glutensiz diyetle uyum ve dolaylı olarak histopatolojik evre ile ilişkisini araştırmayı hedefledik. Çalışmaya toplam 70 çölyak hastası çocuk alındı. Hastalar; tarafımızca takipli en az 1 yıldır glutensiz diyet altındaki çölyak hastaları (GDA-ÇH) (n:35) ve yeni tanı alıp glutensiz diyet başlanmamış çölyak hastaları (GDB-ÇH) (n:35) olmak üzere 2 gruba ayrıldı. Kontrol grubu olarak kronik hastalığı olmayan yaş ve cinsiyeti hastalar ile uyumlu sağlıklı çocuklar (n:70) dahil edildi. Glutensiz diyetle uyumları diyet skorlaması ve DTG IgA ile belirlendi. NGAL ve zonulin, katılımcıların serumlarından ELISA yöntemi ile analiz edildi. Serum NGAL, ÇH'lerde (130,6±138,9 ng/ml) kontrol grubuna (22,7±28,3 ng/ml) göre anlamlı derecede yüksek saptandı (p<0,0001). Benzer şekilde serum zonulin, ÇH'lerde (14±3,2 ng/ml) kontrol grubuna (9,1±4,3 ng/ml) kıyasla anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0,0001). Glutensiz diyetle uyum skoru ve DTG IgA antikoru titresi ile serum NGAL ve zonulin seviyelerinin anlamlı ilişkisi saptanmadı (p>0,05). Ayrıca, hasta grubunun histopatolojik evresi ile bu belirteçler arasında da anlamlı fark görülmedi. Çalışmamız literatürde, çölyaklı çocuk hastaların kontrol grubuyla karşılaştırılarak serum NGAL ve serum zonulin düzeyinin incelendiği ilk çalışmadır. Bulgularımız NGAL'in çölyak hastalığında inflamasyonun önemli bir bileşeni olduğunu kanıtlar niteliktedir. Çölyak hastalarında serum NGAL ve zonulinin biyobelirteç olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Bu belirteçlerin glutensiz diyetle uyum ve

patolojik tutulum şiddeti ile ilişkisini değerlendirmek için daha geniş serilerin katıldığı klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

**Anahtar kelimeler:** çocuk, çölyak, gluten, NGAL, zonulin

## SUMMARY

### **Determination of serum NGAL and zonulin levels in children with celiac disease and the relationship between these markers and compliance with gluten-free diet**

Dr. Nuran ÖZÇİFTÇİ ERTUĞRAL

Celiac disease (CD) is a chronic enteropathy mediated by the immune system that occurs when dietary gluten protein is removed. Adherence to gluten free diet (GFD) for a lifetime provides clinical and histopathological improvement. NGAL is an acute phase glycoprotein which is released from enterocytes and neutrophils especially in intestinal inflammation, although it is released from different tissues in physiological amounts. Zonulin is a protein that is responsible for the opening of tight connections between enterocytes by triggering gluten uptake, thereby increasing intestinal permeability. In this study, we aimed to investigate serum NGAL and zonulin levels in children with celiac disease and to investigate the relationship of these markers with gluten-free diet and indirectly with histopathological stage. A total of 70 children with celiac disease were included in the study. Patients celiac patients with gluten free diet (GDA-CD) (n: 35) and newly diagnosed celiac patients (GDB-CD) (n: 35) who were newly diagnosed and had not started a gluten-free diet. Healthy children (n: 70) who were compatible with age and sex patients without chronic disease were included as the control group. Compliance with gluten-free diet was determined by diet scoring and DTG IgA. NGAL and zonulin were analyzed by ELISA from the sera of the participants. Serum NGAL was significantly higher in CD ( $130.6 \pm 138.9$  ng/ml) than in the control group ( $22.7 \pm 28.3$  ng/ml) ( $p < 0.0001$ ). Similarly, serum zonulin was significantly higher in CD ( $14 \pm 3.2$  ng/ml) than in the control group ( $9.1 \pm 4.3$  ng/ml) ( $p < 0.0001$ ). Gluten-free diet compliance score and DTG IgA antibody titer were not significantly associated with serum NGAL and zonulin levels ( $p > 0.05$ ). In addition, there was no significant difference between these markers and the histopathological stage of the patient group. Our study is the first study in the literature to compare serum NGAL and serum zonulin levels in children with celiac disease compared with the control group. Our findings prove that NGAL is an important component of inflammation in celiac disease. We suggest that

serum NGAL and zonulin may be used as a biomarker in celiac patients. In order to evaluate the association of these markers with gluten-free diet compliance and the severity of pathological involvement, larger series of clinical studies are needed.

**Key words:** child, celiac, gluten, NGAL, zonulin

## GİRİŞ

Çölyak hastalığı, genetik yatkınlığı olan kişilerde diyetteki gluten proteinine duyarlılık nedeniyle gelişen kronik otoimmün bir enteropatidir. Glutene duyarlı enteropati olarak da bilinir (1). Tahıl tüketim alışkanlıklarına göre toplumlar arası görülme sıklığı değişmekle birlikte Avrupa ülkeleri ve Amerika Birleşik Devletleri'nde 5-10/1000, ülkemizde yaklaşık 1/100 sıklıkta görülür (2-4).

Buğday, arpa, çavdar gibi tahıllarının suda çözünmeyen protein kısmı olan gluten proteininin duyarlı kişilerde ince bağırsak mukozası ile etkileşimi sonucu tetiklenen immünolojik reaksiyonlar, çölyak hastalığının patogeneğinde önemli bir role sahiptir. Hastalığın klasik bulguları kronik ishal, kusma, karın ağrısı, karın şişkinliği, büyüme gelişme geriliğidir (5). Bazı hastalarda puberte gecikmesi, dermatitis herpetiformis, dental enamel hipoplazi, demir eksikliği anemisi, epilepsi gibi gastrointestinal sistem dışı belirtiler ile ortaya çıkabilir (6).

Serolojik testler çölyak hastalığının taramasında kullanılmaktadır. Yanlış negatif sonuçları önlemek için çölyak taraması sadece gluten içeren diyet altında yapılmalıdır. Doku transglutaminaz (DTG) IgA antikoru hızlı sonuç vermesi, ucuz olması ve güvenilirliğinin yüksek olması nedeniyle çölyak taraması için birinci basamak test olarak kullanılır. Çölyak hastalığı tanısında altın standart yöntem ise ince bağırsak biyopsisidir (7). Yamalı tutulum olabileceğinden bulbus ve distal duodenumdan çoklu örnek alınmalıdır. Histopatolojik olarak çölyak hastalığı ince bağırsağın mukozasını etkiler. Enterositlerde villöz atrofi, kriptlerde mitotik indeks artışı ve intraepitelyal lenfosit yoğunluğunda artış görülür (3). Hasarlı enterositler arasındaki sıkı bağlantıların gevşemesi, mukozal bariyer geçirgenliğini artırır. Sindirim ve emilim için gerekli epitel yüzey alanı azalır (3).

Çölyak hastalığının günümüzde tek tedavisi ömür boyu sürecek glutensiz diyettir (8). Glutensiz beslenme alışkanlığının kazanılması hastalığın prognozu açısından önemlidir. Glutensiz diyete başlandıktan 1-2 hafta sonra yakınmalar düzelmeye başlarken, tanı anında pozitif saptanan çölyaka özgü antikoru 6 ay-1 yıl arasında normal düzeye iner. İnce bağırsak mukozası histolojisinin düzelleme süresi 6 ayı bulabilir (9). Uzun süre tanı almayan veya glutensiz diyete uymayan hastalarda

görülen en önemli komplikasyonlar; inflamatuvar bağırsak hastalıkları, otoimmün hastalıklar, osteoporoz ve intestinal T hücreli lenfoma gibi malignitelerin ortaya çıkmasıdır (10).

Zonulin, aktif çölyak hastalığında artan ve bağırsak geçirgenliğini değiştiren bir sinyal proteindir (11). Zonulinin ayrıca makromoleküller ve intestinal lümen arasındaki ilişkiden sorumlu sıkı bağlantıların (tight junction) düzenlenmesinde rolü vardır. Glutenle beslenen kişilerde, zonulin salınımını arttığı için hücreler arası boşluk açılarak bağırsak lümeni daha geçirgen hale gelir. Çölyak hastalarında zonulin salımı ve mukozal geçirgenlik arasında doğrusal bir ilişki olduğu görülmüştür (12).

Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL) düşük molekül ağırlıklı bir akut faz glikoproteinidir. Bağışıklık sistemini düzenleyici fonksiyonlara sahiptir ve nötrofil aktivasyonunu yansıtır (13). Bu proteinin sekresyonu, hücre hasar ve inflamasyona yanıt olarak çeşitli akut ve kronik hastalıklarda artar (14). İnflame kolon epitelinden NGAL sentez ve salgılanmasının arttığı gösterilmiştir. Erişkin ve çocuklarda bağırsak inflamasyonunu değerlendirmek için önemli bir belirteç gibi görünmektedir (15).

Çölyak hastalığı olan çocuklarda serum NGAL ve zonulin düzeylerinin glutensiz diyetle uyum ve hastalığın histopatolojik evresi ile ilişkisini araştırmayı amaçladık. Bu sayede hastalığın tanı ve takibinde yol gösterici, güvenilir ve invaziv olmayan yeni belirteçler bulmayı hedefledik.

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1 ÇÖLYAK HASTALIĞI

Çölyak hastalığı (ÇH), genetik olarak duyarlı bireylerde gluten alınması ile tetiklenen immün aracılı sistemik bir hastalıktır. Gluten duyarlı enteropati, çölyak sendromu, çölyak sprue gibi isimlerle de tanımlanır (16).

#### 1.1.1 Tarihçe

Çölyak hastalığının tıbbi tanımı milattan sonra ilk yüzyılda Kapadokya'lı Aretaeus tarafından 'koiliakos' olarak yapılmıştır (17). Sprue ismi 18. yüzyılda verilmiş ve bu hastalarda aftöz ağız ülseri prevalansının yüksek olmasından dolayı "aftöz hastalık" anlamına gelen Hollandaca spruw kelimesinden türemiştir. Samuel Gee 1888'de yayınladığı "Çölyak Hastalığı Üzerine" adlı makalesinde hastalığın tedavisinin diyet yoluyla olabileceğini söylemiştir. Hollandalı çocuk doktoru Willem Karel Dicke 1947'de bazı tahıllar ile çölyak hastalığı arasındaki bağlantıyı kurmuştur. Van de Kamer ve arkadaşları bu hastalarda glutenin bağırsak hasarına neden olduğunu göstermiştir. Çölyaklı hastalardaki karakteristik bağırsak lezyonu 1954'te Paulley tarafından tanımlanırken Howell ve arkadaşları, 1986'da çölyak hastalığının spesifik HLA-DQ2 haplotipleri ile ilişkili olduğunu gözlemlemiştir. Takip eden yıllarda spesifik enzimler ile serolojik tanı testleri geliştirilmiştir (18). Bu hastalarda diyetten glutenin çıkarılması sağlanarak hastaların semptomlarının gerilediği ve histopatolojik bulgularının düzeldiği görülmüştür (19).

#### 1.1.2 Epidemiyoloji

Hastalığın prevalansı son 50 yılda önemli ölçüde artmıştır. Yeni vakaların sayısında, kısmen daha iyi tanı araçlarının olması ve hastalığın yüksek risk altında olduğu düşünülen kişilerin kapsamlı şekilde taranması nedeniyle önemli bir artış gerçekleşmiştir. Beslenme alışkanlıklarına göre ÇH prevalansı toplumlar arasında



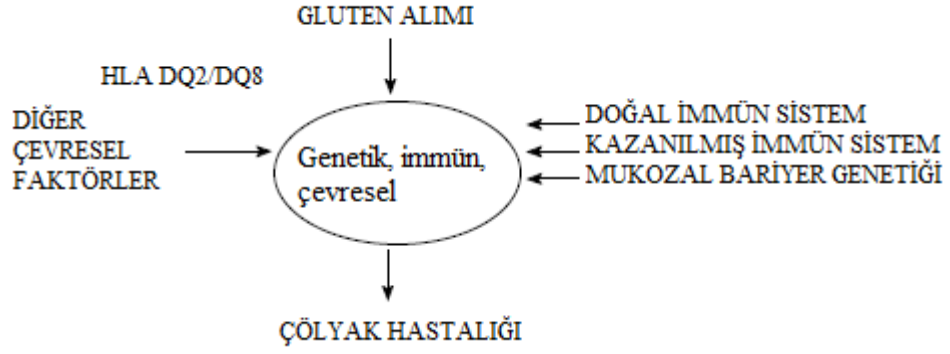
farklılıklar gösterir (20). Batı ülkelerinde prevalans, histolojik olarak % 0,6 civarında ve genel popülasyonun serolojik taramasında % 1 civarındadır (1,21,22).

İskandinav ülkeleri, İrlanda ve İngiltere yaklaşık % 1,0-1,5 oranında daha yüksek bir prevalans gösterme eğilimindedir (23). Orta Doğu'da ÇH yaygınlığı Avrupa ülkelerine benzerdir (3,24). Amerika Birleşik Devletleri'nde genel popülasyonun % 0,5-1,0'ini etkilediği düşünülmektedir (16). Orta Afrika ve Güneydoğu Asya (Çin ve Japonya dahil) toplumları nadiren etkilenir (25,26). Batı tarzı diyet alışkanlığından ziyade pirinç gibi gıdaların tüketilmesi bunun bir nedeni olabilir (18). ÇH prevalansı, diyetlerinde çok düşük ve çok yüksek gluten alımı olan popülasyonlar hariç, küresel olarak yaklaşık % 1'dir (27). Cinsiyetler arasında büyük bir fark olmamakla birlikte kızlarda erkeklerden 1,5:1 oranında hafif yüksek görülür (18). Hastalığın ülkemizde görülme oranı yaklaşık 1/100'dür (4,28).

### **1.1.3 Genetik**

Çölyak hastalığının monozigot ikizlerde %70, kardeşlerde %30 ve hastaların birinci derece akrabalarında %8-18 oranında görülmesi hastalığın oluşumunda genetik faktörlerin rol oynadığını göstermektedir (18,26,29).

“Human Leukocyte Antigen” (HLA) sınıf II molekülü DQ2, sağlıklı toplumda %30 sıklıkta saptanırken, çölyak hastası kişilerin %90'ından fazlasında bulunur (30). DQ2,  $\alpha 1^*0501$  (DQ2.5) veya daha az yaygın olarak  $\alpha 1^*0201$  (DQ2.2) ile birlikte  $\beta 1^*02$  ile oluşan bir glikozile transmembran heterodimeridir (31,32). Kromozom 6p üzerindeki "Major Histocompatibility Complex"inin (MHC) HLA sınıf II bölgesi içinde kodlanır. DQ2 için homozigot olan kişiler çölyak hastalığı geliştirmek için heterozigotlardan daha büyük risk altındadır (31). DQ2-negatif çölyak hastalarında HLA-DQ8 olarak bilinen ( $DQ\alpha 1^*0301/DQ\beta 1^*0302$ ) heterodimer bulunur. HLA-DQ2 veya DQ8 taşıyıcılığı hastalık gelişimi için gereklidir, ancak tek başına yeterli değildir. Gluten içeren diyet ile birlikte mukozal bariyeri, adaptif ve doğal immün sistemi etkileyen diğer genetik faktörlerin bir kombinasyonu hastalık gelişim olasılığını etkilemektedir (Şekil 1). HLA lokusu, ÇH ile ilişkili en önemli ve baskın gen olmakla birlikte katkısı bulunduğu bilinen HLA olmayan genler de tanımlanmış ve çölyak hastalığı risk artışı ile ilişkilendirilmiştir (33,34).



**Şekil 1.** Çölyak hastalığı gelişmesi için gerekli olan faktörler (3)

#### 1.1.4 Patogenez

Çölyak hastalığının patogenezinde gliadine ve ilişkili prolaminlere cevap olarak gelişen hem humoral hem de hücre aracılı immün yanıtlar yer alır (35). Buğday proteini, çözünürlük özelliklerine bağlı olarak 4 genel gruba ayrılabilen depo formlarda bulunur: prolaminler (etanolda çözünür), gluteninler (seyreltik asit veya alkali çözeltilerde kısmen çözünür), globulinler (% 10 NaCl'de çözünür) ve albuminler (suda çözünür). Gluten terimi hem prolaminleri hem de gluteninleri kapsar (18). Buğdayın prolaminleri gliadin olarak bilinmektedir. Genetik farklılıklarına rağmen, yulaf, arpa, buğday ve çavdardan gelen prolaminler ortak soyları nedeniyle immünolojik çapraz reaktiviteye sahiptir.

Glutene maruziyet, aktif çölyak hastalığında intestinal epitelde ekspresyonu artan bir sinyal proteini olan zonulinin (prehaptoglobin-2) lamina propriadan salınımını artırır (9). İntestinal hücrenin gliadin ile stimülasyonu sonrası zonulin, intrasellüler aktin filamanlarının protein kinaz C aracılı polimerizasyonunu indükler ve bu filamanlar polimerizasyon sonrası sıkı bağlantı proteinleri (tight junction) ile bağlanarak epitelyal geçirgenliği artırır (31,36). Zonulin, ÇH patogenezinde anahtar rol oynamaktadır.

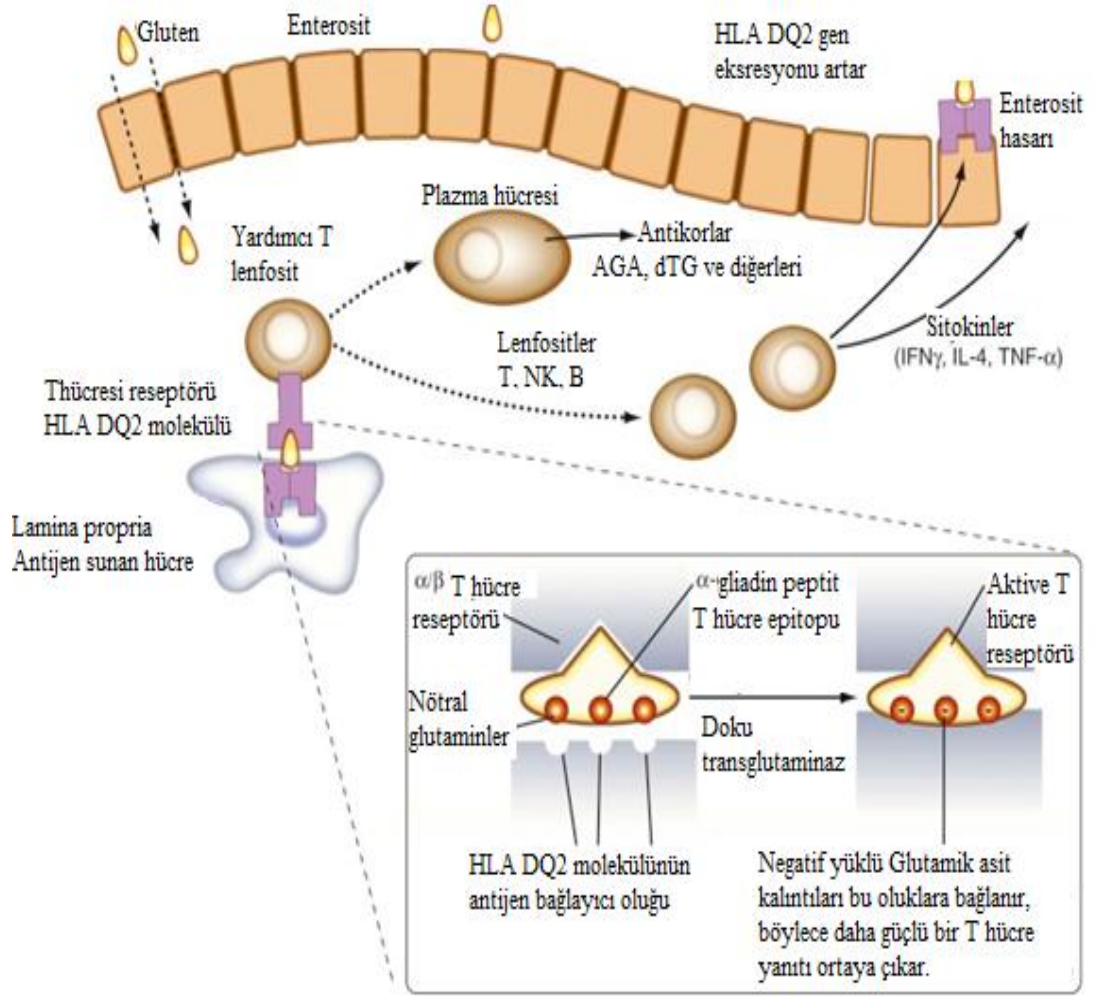
Gluten ince bağırsak mukozası tarafından lamina propria içine emilir. Gluten emildikten sonra, lamina propriada HLA-DQ2/HLA-DQ8 eksprese eden antijen sunan hücreler (dendridik hücreler) gliadin peptid antijenlerini CD4+ T lenfositlere

sunar (30,37). Doku transglutaminaz (DTG) enflamasyona yanıt olarak salgılanan intrasellüler bir enzim olup, gliadin peptidlerinin amid grubunu çıkararak nötr glutaminlerden asidik, negatif yüklü glutamik asit (deamide edilmiş gliadin) üretir. Deamidasyon, bu moleküllerin HLA DQ2/DQ8'e bağlanmalarını artırarak daha güçlü T-lenfosit reaksiyonu ortaya çıkarır (36).

İmmünolojik yanıt CD4+ T hücrelerinin inflamatuvar cevabı aktive etmesi ile başlar (18). İnterferon (IFN)  $\gamma$ , interlökin (IL) -4, IL-5, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$ , TGF- $\beta$  gibi pro inflamatuvar sitokinler salgılanır (26). Yardımcı T hücre 1 (Th1) sitokinleri, CD8 + T hücreleri ve doğal öldürücü (NK) T hücrelerini uyararak sitotoksitesinin arttırılmasını sağlar (38,39). Bu da Fas / Fas ligand (FasL) sistemi veya interlökin 15 (IL-15) ile indüklenen perforin / granzim ve doğal öldürücü aktive edici reseptör "natural killer-activating receptor-major histocompatibility-class I chain-related gene A" (NKG2D-MICA) sinyal yolağı yoluyla apoptotik enterosit ölümüne neden olur (40).

Yardımcı T hücre 2 (Th2) sitokinleri B lenfositlerini aktive ederek anti-gliadin ve anti-doku transglutaminaz gibi antikorları sentezleyen plazma hücrelerine farklılaşmasını sağlar. Bu sitokinler sadece enterosit hasarını değil, aynı zamanda enterositlerin luminal yüzeyinde anormal HLA sınıf II hücre yüzeyi antijenlerinin ekspresyonunu da tetikler ve bu hücreler tarafından ilave doğrudan antijen sunumu sağlanır (35).

Hem adaptif hem de doğal immün yanıtlar hastalığın patolojik lezyonu olan villus atrofisi ve kript hiperplazisi oluşması için gereklidir. Çölyak hastalığının patogenezi Şekil 2'de gösterilmiştir.



**Şekil 2.** Çölyak hastalığı patogenezi (18)

### 1.1.5 Klinik

Çölyak hastalarında oldukça değişken klinik özellikler görülür. Yaşamın ilk 2 yılı içerisindeki çocuklarda kronik ishal, kusma, karın ağrısı, iştahsızlık gibi gastrointestinal sistem semptomları daha yaygındır (41). Daha büyük çocuklarda demir tedavisine cevap vermeyen demir eksikliği anemisi, aftöz stomatit, dermatitis herpetiformis, boy kısalığı, amenore, puberte gecikmesi, artrit, osteoporoz, periferik nöropati ve epilepsi gibi ekstraintestinal sistem semptomları gelişebilir (42,43).

Bu hastalık tipik semptomları ile tanı konulan hastaların su hattı üzerinde temsil edildiği, asemptomatik olduğundan teşhis edilemeyen vakaların su hattı altında olduğu bir buzdağı modeli olarak örneklendirilir (44,45). ÇH'de buz dağı modeli

Şekil 3'de gösterilmiştir. Çölyak hastalığı klinik olarak; tipik (klasik) ÇH, atipik ÇH, sessiz ÇH, potansiyel ÇH, latent ÇH olarak sınıflanır.

#### ***1.1.5.1 Tipik (Klasik) Çölyak Hastalığı***

Yaşamın 6-24. aylarında, diyete glutenin girmesiyle ortaya çıkan, tipik olarak büyüme-gelişme geriliği, kronik ishal, karın şişliği, karın ağrısı, kusma, iştahsızlık gibi gastrointestinal sistem (GİS) bulguları ile karakterizedir (46).

Tüketilen gluten miktarı, anne sütü ile beslenme süresi ve kişinin immünolojik yanıtı klinik tabloların farklılığında etkili olmaktadır. Bu hastaların serolojik tanı testleri pozitif ve intestinal mukozalarında tipik histopatolojik değişiklikler görülür (47).

#### ***1.1.5.2 Atipik Çölyak Hastalığı***

Genellikle daha büyük çocuklarda görülen boy kısalığı, puberte gecikmesi, tedaviye dirençli demir eksikliği anemisi, aftöz stomatit, diş mine tabaka bozukluğu, dermatitis herpetiformis, osteoporoz, artrit, açıklanamayan transaminaz yüksekliği ve nörolojik bozukluklar gibi çeşitli ekstraintestinal belirtiler ile karakterizedir (48).

#### ***1.1.5.3 Sessiz Çölyak Hastalığı***

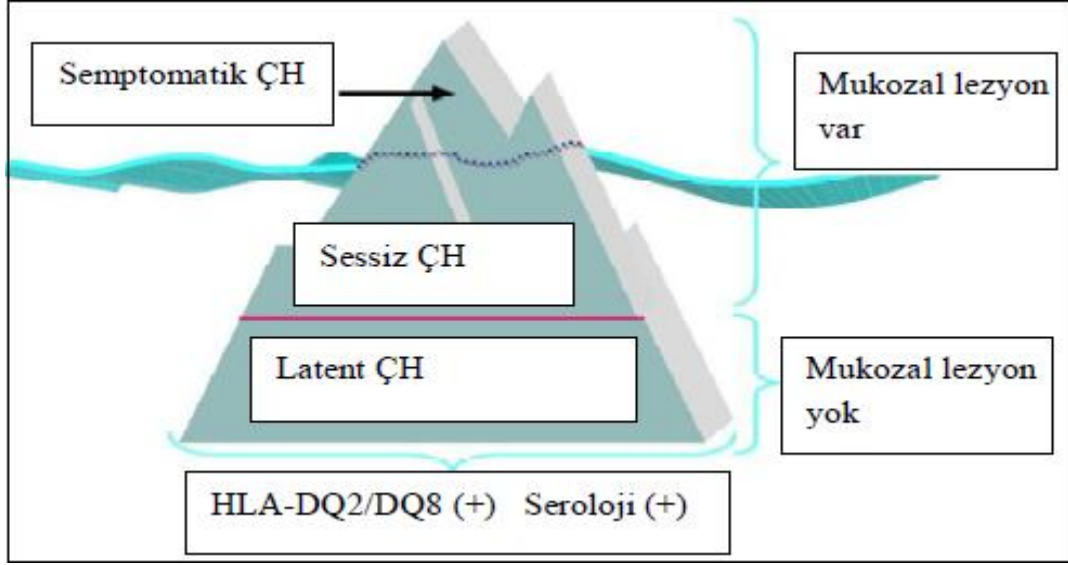
Çölyak hastalarının birinci derece akrabalarının ve hastalık açısından riskli grupların taramaları sırasında sık olduğu bildirilmiştir. Herhangi bir yakınması ve klinik belirtisi olmayan bir çocukta ÇH'ye özgü antikorların ve ince bağırsak biyopsi bulgularının saptanmasıdır (31).

#### ***1.1.5.4 Potansiyel Çölyak Hastalığı***

Bu tanımlama, çölyak spesifik serum antikorları pozitif, ancak duodenal mukozal bulguları normal olan hastalar için kullanılır (49). Bununla birlikte, HLA DQ2/HLA DQ8 gibi ÇH ile uyumlu doku gruplarına sahip oldukları için hastalar klasik çölyak hastalığı gelişme riski altındadır ve izleme tabii tutulmalıdır (50).

### 1.1.5.5 Latent Çölyak Hastalığı

Çölyak hastalığı ile uyumlu HLA grubuna sahip, hayatlarının bir döneminde gluten duyarlı enteropatisi gelişip glutensiz diyetle tedavi edilen ve diyet sonrası bağırsak histolojisi normale dönen (enteropatisi olmayan) kişilerdir (51). ÇH antikorları pozitif ya da negatif olabilir.



Şekil 3. Çölyak hastalığında buz dağı modeli (45)

### 1.1.6 Çölyak Hastalığına Eşlik Eden Hastalıklar

Spesifik antikorlar kullanılarak tarama programlarının tespit ettiği çölyak hastalığının prevalansı otoimmün hastalıklarda, IgA eksikliğinde ve bazı genetik sendromlarda (Down, Turner, Williams sendromu) genel popülasyona kıyasla büyük ölçüde arttığı bilinmektedir (52,53). Down sendromu, ÇH ile birliktelik gösteren bir çok genetik sendromlardan en çok araştırılanıdır. Down sendromunda ÇH sıklığı %5-12 arasındadır (54,55). Tip 1 Diyabetes Mellituslu (DM) çocuklarda ÇH sıklığı %5-10 oranında görülürken otoimmün tiroititli hastalarda çölyak hastalığı riski, genel popülasyona göre yaklaşık 6-7 kat daha yüksektir (56-60). Çölyak hastalığı prevalansının arttığı hastalık ve sendromlar Tablo 1'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Çölyak hastalığı prevalansının arttığı hastalık ve sendromlar

	<b>Etkilenen grup yüzdesi (%)</b>
<b>Tip 1 DM</b>	5-10
<b>Otoimmün tiroidit</b>	2-7
<b>Down sendromu</b>	5-12
<b>Turner sendromu</b>	4-8
<b>Williams sendromu</b>	8
<b>Selektif IgA eksikliği</b>	8

DM: Diyabetes mellitus

### **1.1.7 Tanı**

Çölyak hastalığının tanısı klinik bulgulara eşlik eden serolojik testlerin pozitifliğinin ve intestinal biyopsi bulgularının görülmesiyle konur. ÇH tanısı için Avrupa Pediatrik Gastroenteroloji Hepatoloji ve Beslenme Topluluğu'nun (ESPGHAN) 2012'de yeniden gözden geçirilen tanı kriterleri kullanılmaktadır (61). Tanısal testlerin seçimi ve değerlendirilmesi aşamasında IgA eksikliği de akılda tutulmalıdır. Serum total IgA düzeylerine bakılarak IgA eksikliğinin dışlanması gereklidir.

Çölyak hastalığı tanısında altın standart yöntem ince bağırsak biyopsisidir (10). Biyopsi, hasta gluten içeren diyet alırken yapılmalı ve yamalı tutulum görülebileceğinden bulbus ve distal duodenumdan çoklu örnekler alınmalıdır (61). Çölyak hastalığında görülen biyopsi bulguları, otoimmün enteropati, besin alerjisi, çeşitli viral ve paraziter enfeksiyonlarda da mevcut olabileceğinden ÇH'yi destekler ancak patognomonik değildir (62).

#### **1.1.7.1 Serolojik İncelemeler**

Çölyak hastalığının tanısı için ilk aşamada serolojik testler kullanılmaktadır (61). Bu testler tarama amaçlı kullanılan en değerli yöntemlerdir (47,63). Yanlış negatif sonuçları engellemek için ÇH taraması sadece gluten içeren diyet altında yapılmalıdır.

Çölyak hastalığı tanısında en yüksek özgüllüğü olan test anti-endomisyum antikor (EMA) testidir ancak maliyetinin yüksek olması ve eğitimli laboratuvar elemanlarına gereksinim duyması nedeniyle ilk aşamada tercih edilmez (64).

Doku transglutaminaz antikorları hızlı, kolay, ucuz ve güvenilirliğinin yüksek olması nedeniyle taramada kullanılması önerilen ilk testtir (65). En hassas antikorlar IgA sınıfındadır. IgG antikorları IgA eksikliği durumlarında kullanılır (63,66). Doku transglutaminaz titresi villüs atrofisinin şiddeti ile korelasyon gösterir (67). Çölyak hastalığının tespitinde iki yaşından küçük çocuklarda hem DTG IgA hem de EMA testleri büyük çocuklara kıyasla daha az duyarlıdır. Bir damla kanda DTG antikoru olarak bakılan hızlı test kitleri biraz daha düşük hassasiyete ve özgüllüğe sahiptir, bu nedenle hızlı testin pozitif sonuçları olan veya hızlı testin negatif sonuçları olan ancak çölyak hastalığı şüphesi güçlü olanlarda laboratuvar bazlı bir test önerilmektedir (61). Anti-gliadin antikorları (AGA) IgA veya IgG standart (birinci nesil) antikor testleri oldukça az güvenilirdir ve önerilmemektedir (5). Deamide gliadin peptid antikorları (DGP) ikinci nesil bir anti-gliadin antikor testidir. Özellikle küçük çocuklar için faydalı olabileceğine dair bazı yayınlar mevcut olsa da DGP IgG'nin bu yaş grubu için DTG'den daha duyarlı olup olmadığına dair kanıtlar çelişkili olduğundan 2 yaş altı çocuklarda birden fazla çölyak spesifik antikorun (Örn. DGP IgG ve DTG IgA) bakılması önerilir (68-71). Anti-retikülin antikorları daha düşük duyarlılığa sahip olduğundan artık yaygın olarak kullanılmamaktadır. Çölyak hastalığının tanısında kullanılan antikorların duyarlılık ve özgüllük oranları Tablo 2'de gösterilmiştir.

**Tablo 2.** Çölyak hastalığında antikor testlerinin duyarlılık ve özgüllüğü

	<b>Duyarlılık (%)</b>	<b>Özgüllük (%)</b>
<b>Doku transglutaminaz IgA</b>	90-100	95-100
<b>Anti-endomisyum antikoru IgA</b>	93-100	98-100
<b>Deamide gliadin peptid IgA</b>	80-91	91-95
<b>Deamide gliadin peptid IgG</b>	88-95	86-98
<b>Anti-gliadin antikoru IgA</b>	52-100	72-100
<b>Anti-gliadin antikoru IgG</b>	83-100	47-94



### 1.1.7.2 Genotipik incelemeler

Hastalığın genetik temeli, 6. kromozomun kısa kolunda kodlanan HLA DR3-DQ2 ve/veya DR4-DQ8 gen lokusu ile belirgin şekilde yakın ilişki gösterir (29). Genel popülasyonda yaklaşık yüzde 40 oranında HLA DR3-DQ2 ve/veya DR4-DQ8 pozitifliği görülürken ÇH bireylerin yüzde 99'undan fazlası bu genlere sahiptir (72). HLA-DQ2 veya DQ8 genotipinin varlığı hastalık gelişimi için tek başına yeterli değildir, çevresel faktörlere ek olarak HLA lokuslarındaki diğer genlerin de katılması gerekir (3). Kuvvetli klinik şüphe olan durumlarda, serolojik testleri negatif veya ince barsak biyopsisinde hafif infiltratif değişiklikler gösteren bireylerde HLA tiplendirmesi kullanılabilir (16).

### 1.1.7.3 Histopatolojik Bulgular

Çölyak hastalığı tanısında altın standart yöntem proksimal ince bağırsak biyopsisidir (61,73). Biyopsinin hasta gluten içeren diyet alırken yapılması önerilir (74,75). Çölyak hastalığının histolojik özellikleri modifiye Marsh (Marsh-Oberhuber) sınıflaması kullanılarak tanımlanır (Tablo 3), (76,77). Preinfiltratif Evre (tip 0)'de, mukoza histolojik olarak normaldir. İnfiltratif Evre (tip 1)'de 100 enterosit başına 40'ın üzerinde intraepitelyal lenfosit artışı (intraepitelyal lenfositoz) mevcuttur. Hiperplastik Evre (tip 2)'de İEL artışına kript hiperplazisi eşlik eder, villus atrofisi görülmez. Destruktif Evre (tip 3)'de yukarıdaki bulgulara farklı derecelerde villöz atrofi (tip 3a'da hafif, 3b'de orta, 3c'de tam) eklenmiştir.

**Tablo 3.** Çölyak hastalığında histolojik sınıflandırma (10)

Modifiye Marsh (Oberhuber)	Histolojik kriterler		
	İntraepitelyal lenfosit artışı*	Kript hiperplazisi	Villus atrofisi
<b>Tip 0</b>	Yok	Yok	Yok
<b>Tip 1</b>	Var	Yok	Yok
<b>Tip 2</b>	Var	Var	Yok
<b>Tip 3a</b>	Var	Var	Var (parsiyel)

**Tablo 3.** "Devam" Çölyak hastalığında histolojik sınıflandırma (10)

Modifiye Marsh (Oberhuber)	Histolojik kriterler		
	İntraepitelyal lenfosit artışı*	Kript hiperplazisi	Villus atrofi
Tip 3b	Var	Var	Var (subtotal)
Tip 3c	Var	Var	Var (total)

\* Her 100 enterosite karşılık >40 intraepitelyal lenfosit

ÇH tanısı için semptomların, serolojik antikor testlerinin, HLA doku gruplarının ve biyopsi bulgularının olduğu bir skorlama sistemi ESPGHAN rehberinde önerilmiştir (Tablo 4), (61). ÇH tanısı için skorlama sisteminden 4 puan alması gereklidir.

**Tablo 4.** Çölyak Hastalığında skorlama sistemi (61)

	Puan
<b>Klinik bulgular</b> Malabsorbsiyon sendromu Diğer ÇH ile ilişkili bulgular veya tip-1 diyabet varlığı veya birinci derece akrabalarda hastalık varlığı Asemptomatik	2 1 0
<b>Serum antikorları</b> EMA pozitifliği veya DTG'nin yüksek pozitifliği (> üst limitin 10 katı) DTG'nin düşük pozitifliği veya deamide gliadin peptid antikorları pozitifliği Serum antikorlarının bakılmamış olması Çölyığa özgül antikorların negatif olması	2 1 0 -1
<b>HLA</b> HLA-DQ2 veya HLA-DQ8 heterodimerlerinin varlığı HLA testlerinin bakılmamış olması veya yalnızca bir allelde DQ2 (sadece HLA-DQB1*0202) varlığı HLA-DQ2 ve DQ8 yokluğu	1 0 -1
<b>Histoloji</b> Marsh 3b veya 3c Marsh 2 veya 3a veya Marsh 0-1 ile birlikte intestinal DTG antikorlarının varlığı Marsh 0-1 veya biyopsi yapılmamış olması	2 1 0

DTG: Doku Transglutaminaz antikor, EMA: endomisyum antikor

### 1.1.8 Tedavi

Günümüzde çölyak hastalığı için tek tedavi, glutensiz bir diyetle yaşam boyu sıkı sıkıya bağlı kalmaktır (61). Gluten içeren tahıllar (buğday, çavdar, arpa, bulgur,

kuskus) diyetten çıkarılmalıdır. Pirinç, mısır ve karabuğday (arap darısı), süpürge darısı, kinoa unu gluten içermez ve tüketilebilir. Yulafın bu hastaların çoğu için güvenli olduğuna dair kanıtlar olsa da, hasat, öğütme ve nakliye sırasında yulafın glutenle kontamine olma olasılığı konusunda endişeler vardır.

Codex Alimentarius Rehberi'nde <20 ppm (1 kg üründe 20 mg glutene eşdeğer) içeren gıdalar glutensiz gıda maddesi olarak tanımlanır (26). Bununla birlikte, gluten tespiti için analitik yöntemler tatmin edici bir hassasiyet derecesine ulaşmış olmasına rağmen, çölyak hastaları tarafından tolere edilebilen günlük gluten miktarı hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulmaktadır. Günümüzde içeriğinde sıfır gluten olan ürünlerle sıkı bir glutensiz diyet önerilmektedir.

Glutensiz diyet başlandıktan sonra 1-2 haftada klinik bulgular düzelmeye başlarken, 6 ay-1 yıl arasında tanı anında pozitif olan özgün antikorlar negatifleşir ve mukozal histolojinin düzelmesi 6 ayı bulur (78,79). Tanı alan hastalarda glutensiz diyetin yanı sıra eksikliği saptanan vitamin ve diğer besin öğeleri destekleyici tedavi olarak eklenmelidir (1). Çocukluk çağında glutensiz diyetle uyum oranının %45-81 arasında değişmektedir (80,81). ÇH danışmanlığında deneyimli uzman hekim ile birlikte diyetisyenin aileyi ve çocuğu diyet kısıtlaması konusunda eğitmesi önemlidir. Düzenli ziyaretlerle bu çocukların semptomları ve glutensiz diyetle bağlılık dereceleri sorgulanmalı, fizik muayenede büyüme gelişmeleri izlenmelidir (82).

### **1.1.9 Prognoz ve Komplikasyonlar**

Glutensiz diyetle sıkı bir şekilde uyulması hastalığın prognozu açısından önemlidir. Tedavi edilmeyen çölyaklı çocuklarda görülen en önemli komplikasyonlar osteoporoz, otoimmün hastalıklar, intestinal T hücreli lenfoma gibi malinitelerdir (3). Ülseratif jejunoileit, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve gastrointestinal sistemin herhangi bir yerinde adenokarsinom gelişme riski de artmıştır. Komplikasyonlar genellikle erişkin yaşlarda ortaya çıkar. Akut çölyak krizi nadirdir, çoğunlukla hastalar hızlı ve aralıksız glutene maruz kaldıklarında ortaya çıkar. Şiddetli ishal, elektrolit anormallikleri ve metabolik asidoz ile karakterizedir. Çölyak hastalığı erken teşhis edilirse ve hastalar ömür boyu glutensiz diyetle bağlı kalırlarsa prognozu iyi seyirlidir (83).

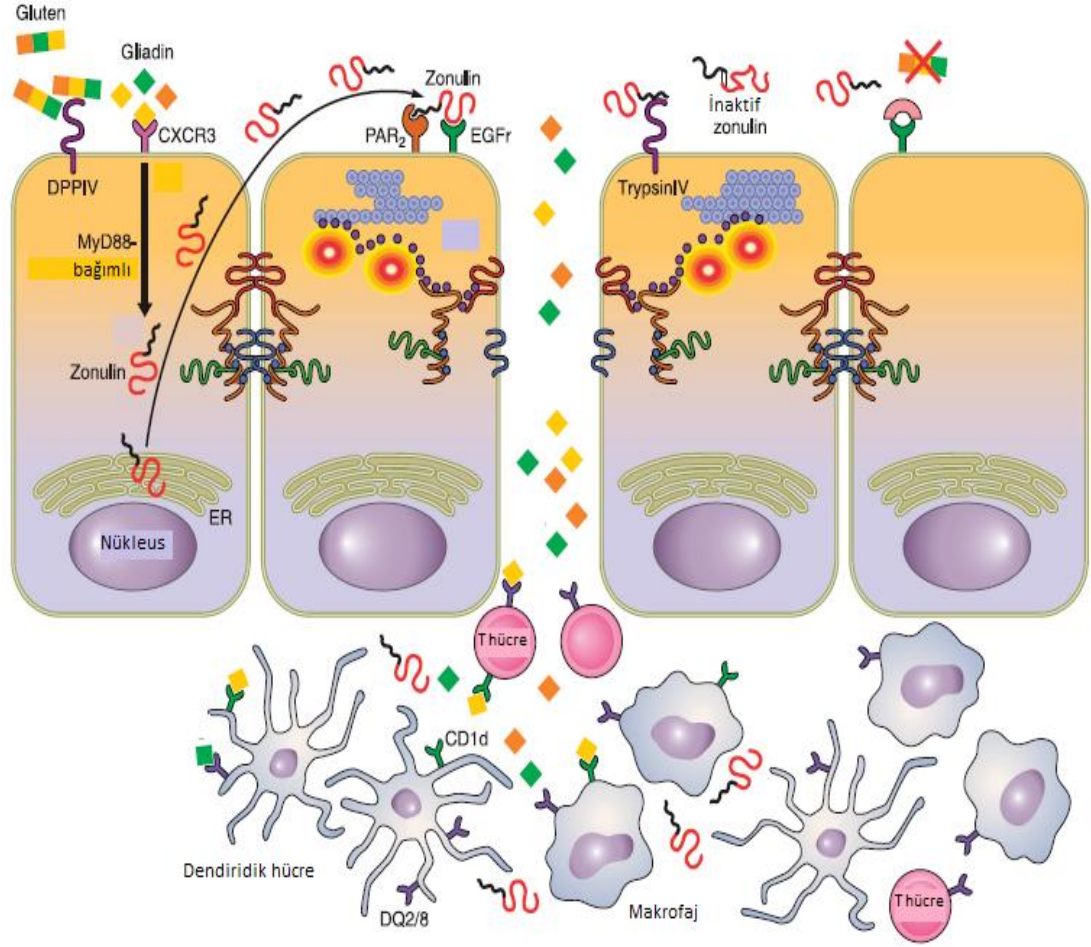
## 1.2 ZONULİN (PREHAPTOGLOBİN-2)

Zonulin (prehaptoglobin-2), lamina propriadan salınan ve bağırsak geçirgenliğini değiştiren bir sinyal proteindir (12). Temel olarak intestinal epitelde eksprese olmakla birlikte beyin ve kalp dokusundan da sentezlendiği gösterilmiştir (12,84).

Zonulinin enterositler arası sıkı bağlantıların (tight junction) düzenlenmesinde kilit rolü vardır (85,86). Ayrıca mikroorganizma kolonizasyonuna karşı bağışıklık sistemini stimule etmektedir (11,12).

Diyetle gluten alınması sonrası intestinal lümende CXCR3 aracılı sindirim enzimleriyle spesifik gliadin türevi peptitler üretilir. Bu gliadin peptitler MyD88 proteini bağımlı zonulin salınımına ve ardından zonulin ile birlikte EGFR'nin PAR2 tarafından transaktivasyonu ile ince bağırsak sıkı bağlantısının ayrılmasına yol açar (87). Bağırsak geçirgenliğinin artırılması ile gliadin lamina propriaya girer, burada HLA-DQ molekülleri tarafından sunulur (12). Bu da gliadine karşı periferik immün yanıtta belirgin bir artışa neden olur. Ayrıca, gliadin yüklü dendritik hücreler, ince bağırsaktan mezenterik ve/veya pankreas lenf düğümlerine göçmekte ve burada gliadin türevli antiijenleri sunmaktadır. Bu sayede hedef organda inflamasyona neden olur.

Glutensiz diyet uygulanması, zonulin yolunun ve dolayısıyla bağırsak hücrelerini hedef alan otoimmün işlevlerin aktifleşmesini önler. Şekil 4'te zonulin salınım mekanizması görülmektedir.



**Şekil 4** . Gliadin tarafından uyarılan zonulin salınım mekanizması (12)

Çeşitli çalışmalarda paraselüler bağırsak geçirgenliğinin önemli bir fizyolojik aracı olan zonulin ekspresyonunun aktif çölyak hastalarında arttığı vurgulanmıştır (41,88). Vorobjova ve ark. (89)'nın çalışmasında çölyak hastası çocuklar kontrol grubu ile karşılaştırılmış, çölyak hastalarında normal ince bağırsak mukozalı kişilere kıyasla dolaşımdaki zonulin düzeyi daha yüksek saptanmıştır. Özellikle ince barsak mukozasında Marsh tip 3c atrofisi olan hastalar önemli ölçüde etkilenmiştir. Duerksen ve ark. (90)'nın yayınında 22 tane ÇH'li erişkin hastaya biyopsi yapılarak, Marsh tip 3 lezyonu olanlarda zonulin salınımı ile mukozal geçirgenlik değişimi arasında doğrusal bir ilişki görülmüştür.

Şimdiye dek yapılan yayınlardan yola çıkarak çölyaklı hastalarda intestinal inflamasyonunu değerlendirmek ve glutensiz diyetle uyumu göstermek için güvenilir bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği ön görülmektedir.

### 1.3 NÖTROFİL JELATİNAZ İLİŞKİLİ LİPOKALİN (NGAL)

Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (lipokalin 2, siderokalin), dokularda ve plazmada bulunan düşük molekül ağırlıklı, immüno-regülatör fonksiyonlara sahip bir akut faz glikoproteindir (91-93). Fizyolojik koşullarda nötrofiller, makrofajlar, epitel hücreleri, düz kas hücreleri, enterositler, hepatositler, adipositler ve nöronlar tarafından çok düşük miktarlarda salınarak, idrar ve dışkı yoluyla atılır (14,94). Bu proteinin sekresyonu, hücre hasar ve inflamasyona yanıt olarak çeşitli akut ve kronik hastalıklarda artar (13,95,96). NGAL molekülünün ayrıca bakteriyostatik etkisi de vardır (97,98). Sağlıklı insanlarda NGAL sentezi çok düşük miktarlardadır (99).

Bugüne kadar, farklı hastalıklarda NGAL'in bir biyogösterge olarak tanı ve takipteki rolünü inceleyen çok sayıda araştırma yapılmıştır. Yeşil ve ark. (15)'nin İBH'li (43 Crohn hastalığı ve 49 ülseratif kolit) 92 erişkin hastada yaptığı çalışmada ELISA (enzim bağlı immünoabsorban yöntemi) kullanılarak ölçülen Serum NGAL düzeyleri inflamatuvar barsak hastalığı (İBH) grubunda sağlıklı kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. Serum NGAL seviyelerinin yaygın kolon tutulumu olanlarda daha yüksek olduğu görülmüş, bu artış hastalık aktivite indeksi ile ilişkili bulunmuştur. Janas ve ark. (99) Crohn hastalığı ve ülseratif koliti olan toplam 36 çocuk hasta incelemiş, İBH'lerde serum NGAL düzeyini, inflamatuvar olmayan barsak hastası kontrol grubuna göre daha yüksek saptamışlardır.

Önemli potansiyele sahip NGAL, erişkin ve çocuklarda bağırsak inflamasyonunu değerlendirmek için değerli bir biyolojik moleküldür. Yeni yapılacak çalışmalar ışığında erken bir biyobelirteç olarak zamanla klinik kullanımdaki yerini alacaktır.

## 2. GEREÇ VE YÖNTEM

### 2.1 Hasta Gruplarının Oluşturulması

Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Gastroenteroloji Bilim Dalı'nda ESPGHAN 2012 tanı kriterlerine göre tanı konulan 2-18 yaş arasında 70 çölyak hastası çalışmaya dahil edildi. Hastalar; en az 1 yıldır glutensiz diyet altındaki çölyak hastaları (GDA-ÇH) (n:35) ve yeni tanı alıp glutensiz diyet başlanmamış çölyak hastaları (GDB-ÇH) (n:35) olmak üzere 2 gruba ayrıldı.

Serum örneklerinde doku transglutaminaz IgA antikoru titresi 20 IU/L üzerinde olanlar pozitif kabul edildi. Serolojik testlerinde pozitiflik görülen hastalardan gastrointestinal sistem endoskopisi ile duodenum biyopsisi alındı. Marsh-Oberhuber kriterleri kullanılarak histopatolojik olarak evrelendirildi.

Hastaların glutensiz diyete bağlılıkları diyete uyum skoru (Bkz. EK-1) ve DTG IgA antikoru ile belirlendi. Diyet skorunda; glutensiz diyete uymayanlar (0-1 puan), kısmen glutensiz diyet yapanlar (2 puan), sıkı bir şekilde diyete uyum gösterenler (3-4 puan) şeklinde sınıflandırıldı (100). Ayrıca hastaların DTG IgA düzeyi  $\leq 20$ , 21-100, 101-150, 151-200 IU/L olarak 4 sınıfa ayrılarak incelendi. Çölyak tanısı alıp glutensiz diyet başlanan hastaların takibinde DTG IgA  $\leq 20$  IU/L saptananlar glutensiz diyete bağlı olarak değerlendirildi.

Kontrol grubu olarak sağlam çocuk polikliniğine diğer nedenlerle başvuran, kronik hastalığı olmayan yaş ve cinsiyete göre uyumlu 70 vaka alındı. Bu olguların doku transglutaminaz IgA antikoru  $< 20$  IU/L idi.

Selektif IgA eksikliği, akut veya kronik organ yetmezliği, otoimmün veya otoinflamatuvar hastalığı, besin alerjisi, otizm tanısı ve genetik sendromu olan vakalar çalışma dışı bırakıldı.

Hastaların boy, vücut ağırlığı, üst orta kol çevresi, triseps cilt kıvrım kalınlığı gibi antropometrik ölçümleri kaydedildi. Üst orta kol çevresi elastik olmayan mezür ile, triceps cilt kıvrım kalınlığı kaliper de denilen harpenden kısıncı ile ölçüldü. Vücut kitle indeksi (VKİ), yaşa göre ağırlık (YGA), yaşa göre boy (YGB), boya göre ağırlık (BGA) standart deviasyon skorları (SDS, Z skoru) WHO anthro (v3.2.2 , World Health Organization, Geneva 2011) ve WHO AnthroPlus (v1.0.4, World Health Organization, Geneva 2009) programları kullanılarak belirlendi.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) sınıflaması standart deviasyon skoruna dayalı bir sınıflama olup -2 SDS ve +2 SDS arası normal olarak değerlendirildi. Vücut kitle indeksi z skoru -2'nin altında olanlar malnütrisyon, yaşa göre boy z skoru -2'nin altında olanlar bodur kabul edildi.

## **2.2 Serum Örneklerinin Çalışılması**

Polikliniğimizde takipli çölyak hastalarının ve kontrol vakalarının rutin tetkikleri sırasında, yeni tanı alan hastaların glutensiz diyete başlamadan önce serum örnekleri alınarak santrifüj edildikten sonra çalışma anına kadar -80°C'de ependorf tüplerinde saklandı. Çalışma günü oda sıcaklığına getirilen serum örneklerinden enzim bağlı immünoabsorban yöntemi (ELISA) ile NGAL ve zonulin düzeyleri analiz edildi. Zonulin, ölçüm aralığı 0,25-70 ng/ml ve duyarlılığı 0,223 ng/ml olan Shanghai Sunred Biological Technology Co., Ltd (Shanghai, China) kiti kullanılarak çalışıldı. NGAL, ölçüm aralığı 0,156-10 ng/ml ve duyarlılığı 0,065 pg/ml olan Wuhan USCN Business Co., Ltd (China) kiti kullanılarak çalışıldı. Ölçüm içi ve ölçümler arası varyasyon katsayısı (CV) sırası ile <8 ve <10 idi.

## **2.3 İstatistiksel Değerlendirme**

Veriler Statistical Package for Social Sciences (SPSS) 25.0 (IBM SPSS Statistics 25 software (Armonk, NY: IBM Corp.)) paket programıyla analiz edildi. Sürekli değişkenler ortalama  $\pm$  standart sapma, ortanca (en küçük - en büyük değerler) ve kategorik değişkenler sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov Smirnov ve Shapiro-Wilk testleri ile incelendi. Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup farklılıklarının karşılaştırılmasında İki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi kullanıldı. Parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıklarının karşılaştırılmasında Mann Whitney U testi kullanıldı. Sayısal değişkenler arasındaki ilişkilerin incelenmesinde ise Spearman korelasyon analizi kullanıldı. Tüm analizlerde  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



### 3. BULGULAR

Çalışmaya en az 1 yıldır glutensiz diyet altında izlenen (GDA-ÇH) 35 çölyak hastası ile tarafımızca yeni tanı alıp henüz glutensiz diyet başlanmamış (GDB-ÇH) 35 ÇH olmak üzere toplam 70 hasta dahil edildi. Hastalar ile yaş ve cinsiyet uyumlu olarak 70 kontrol vakası seçildi. Çalışmaya alınan 70 çölyak hastasının 51'i (%72,9) kız, 19'u (%27,1) erkek idi. Takipli ÇH'lerin 22'si (%62,9), yeni tanı alan ÇH'lerin 29'u (%82,9) kız, takipli ÇH'lerin 13'ü (%37,1), yeni tanılarının 6'sı (%17,1) erkek idi. Hastaların ortalama yaşı  $8,7 \pm 4,4$  yıl, kontrol grubunun  $9 \pm 4,5$  yılı. Hasta grubunun ortalama vücut ağırlığı  $26,9 \pm 15,5$  kg, ortalama boy uzunluğu  $124,2 \pm 23,2$  cm saptandı. Vücut ağırlığı (VA), boy ve VKİ ortalamalarına göre her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. Hasta ve kontrol grupları VA SDS, boy SDS, VKİ SDS, YGB SDS, üst orta kol çevresi ve triseps cilt kıvrım kalınlığı ortalamalarına göre karşılaştırıldığında her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı. Çalışmaya alınan hasta ve kontrol grubunun demografik ve antropometrik özellikleri Tablo 5'te gösterilmiştir.

**Tablo 5.** Hasta ve kontrol grubunun demografik ve antropometrik özellikleri

	<b>Hasta grubu (n=70)</b> (GDA-ÇH)+(GDB-ÇH)	<b>Kontrol grubu (n=70)</b>	<b>p</b>
<b>Cinsiyet n (%)</b> Kız Erkek	51 (%72,9) 19 (%27,1)	51 (%72,9) 19 (%27,1)	1,00
<b>Yaş (yıl)</b> (ortalama $\pm$ SDS) ortanca (aralık)	$8,7 \pm 4,4$ 8,3 (2-17,9)	$9 \pm 4,5$ 8,4 (2-17,8)	0,68
<b>Vücut Ağırlığı (kg)</b> (ortalama $\pm$ SDS) ortanca (aralık)	$26,9 \pm 15,5$ 21,8 (9,5-85,1)	$32,3 \pm 17,3$ 24 (10,3-73)	0,05
<b>Vücut Ağırlığı (SDS)</b> (ortalama $\pm$ SDS) ortanca (aralık)	$-1,2 \pm 1,1$ -1,4 (-3,5-1,6)	$-0,2 \pm 1,1$ -0,2 (-2,3-2,8)	<0,0001
<b>Boy (cm)</b> (ortalama $\pm$ SDS) ortanca (aralık)	$124,2 \pm 23,2$ 124,5 (81-179)	$131 \pm 24,5$ 128 (88,5-179)	0,11

**Tablo 5.** "Devam" Hasta ve kontrol grubunun demografik ve antropometrik özellikleri

	<b>Hasta grubu (n=70)</b> (GDA-ÇH)+(GDB-ÇH)	<b>Kontrol grubu (n=70)</b>	<b>p</b>
<b>Boy (SDS)</b> (ortalama ± SDS) ortanca (aralık)	-1 ± 1,2 -1,1 (-4,8-1,9)	-0,07 ± 0,8 -0,1 (-2-3,1)	<0,0001
<b>VKİ (kg/m<sup>2</sup>)</b> (ortalama ± SDS) ortanca (aralık)	16 ± 3,2 15,2 (11,4-26,5)	17,3 ± 3,8 16 (11,1-27,8)	0,05
<b>VKİ (SDS)</b> (ortalama ± SDS) ortanca (aralık)	-1 ± 1,3 -1 (-4,6-1,4)	-0,4 ± 1,3 -0,4 (-3,9-3)	0,008
<b>YGB (SDS)</b> (ortalama ± SDS) ortanca (aralık)	-1,4 ± 1,2 -1,5 (-4,8-2,4)	-0,4 ± 0,9 -0,5 (-2,5-2,8)	<0,0001
<b>Triceps cilt kıvrım kalınlığı (mm)</b> (ortalama ± SDS) ortanca (aralık)	12 ± 4,3 11 (6-24)	15,2 ± 4,7 14,7 (8-30)	<0,0001
<b>Üst orta kol çevresi (cm)</b> (ortalama ± SDS) ortanca (aralık)	17,9 ± 3,8 17 (10-28)	20,3 ± 3,9 20 (14-29)	<0,0001

VKİ: Vücut kitle indeksi, YGB: Yaşa göre boy, SDS: Standart deviasyon skoru, GDA-ÇH: En az 1 yıldır glutensiz diyet altında izlenen çölyak hastaları, GDB-ÇH: Yeni tanı alıp henüz glutensiz diyet başlanmamış çölyak hastaları

Çölyak hastalarında malnütrisyon oranı %20, bodur oranı %35,7 olup kontrol grubuna göre anlamlı derecede fazla olduğu Tablo 6'da gösterilmiştir.

**Tablo 6.** Hasta ve kontrol grubunda malnütrisyon ve bodurluk oranları

	<b>Hasta (n=70)</b>	<b>Kontrol (n=70)</b>	<b>p</b>
<b>Malnütrisyon</b>	14 (%20)	9 (%12,8)	0,03
<b>Bodurluk</b>	25 (%35,7)	2 (%2,9)	<0,0001

Gastrointestinal sistem histopatolojik olarak değerlendirildiğinde bütün hastaların %15,7'sinde Marsh tip 2, %84,3'ünde Marsh tip 3 lezyon olduğu görüldü, tip 1 lezyonu olan hasta yoktu (Tablo 7). En sık görülen histopatolojik tip Marsh 3b %38,6 olarak bulundu. Histopatolojik sınıflama ile serum NGAL ve serum zonulin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi (sırasıyla p=0,59, p=0,25).

**Tablo 7.** Çölyak hastalarının histopatolojik evrelendirmesi

<b>Marsh-Oberhuber Sınıflaması</b>	<b>Hastalar (GDA-ÇH)+(GDB-ÇH) n=70 (%)</b>	<b>GDA-ÇH n=35 (%)</b>	<b>GDB-ÇH n=35 (%)</b>
<b>Tip 2</b>	11 (%15,7)	6 (%17,1)	5 (%14,3)
<b>Tip 3a</b>	12 (%17,1)	8 (%22,9)	4 (%11,4)
<b>Tip 3b</b>	27 (%38,6)	11 (%31,4)	16 (%45,7)
<b>Tip 3c</b>	20 (%28,6)	10 (%28,61)	10 (%28,6)

GDA-ÇH: En az 1 yıldır glutensiz diyet altında izlenen çölyak hastaları, GDB-ÇH: Yeni tanı alıp henüz glutensiz diyet başlanmamış çölyak hastaları

En az 1 yıldır glutensiz diyet yapmakta olan hastalar diyete uyum skorlaması ile değerlendirildi. Diyet skoru glutensiz diyete uymayanlar (0-1 puan), kısmen glutensiz diyet yapanlar (2 puan), sıkı bir şekilde diyete uyum gösterenler (3-4 puan) olarak sınıflandırıldı. Hasta grubumuzda 2 puan alan hasta yoktu. Çölyak hastaları arasında katı bir glutensiz diyet yapanların oranının %80 olduğu görüldü (Tablo 8). Diyete uyum skoru ile serum NGAL ve serum zonulin seviyesi arasında anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla p=0,98, p=0,72).

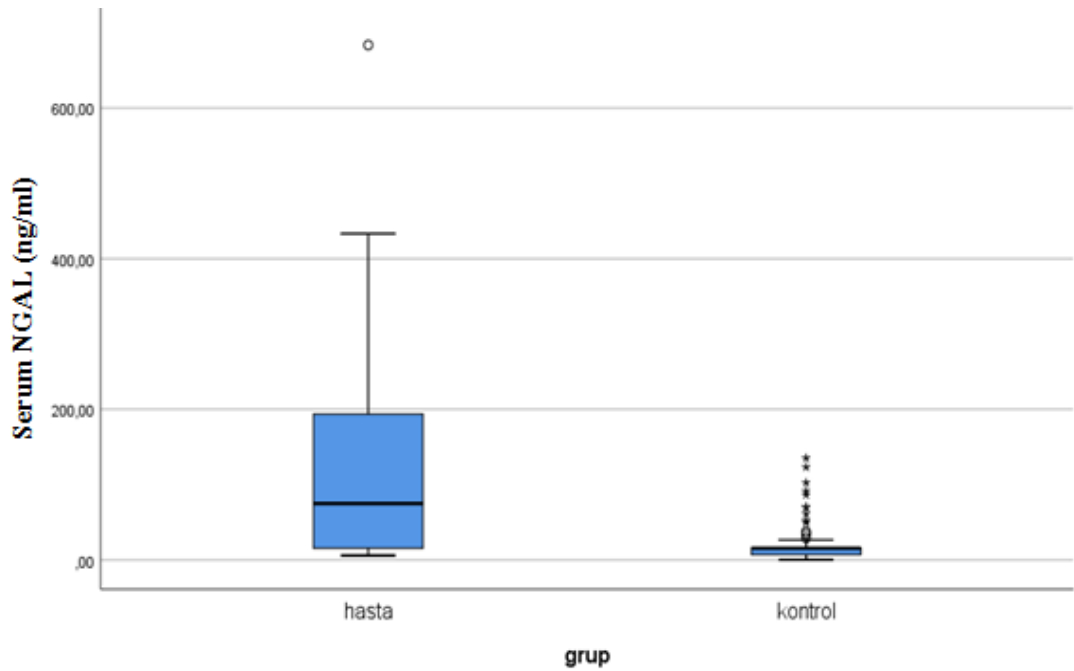
Diyete uyum skorunda sıkı bir glutensiz diyet yaptığını söyleyen 28 kişinin 24'ünde DTG IgA<20 IU/L, glutensiz diyete uymadığını belirten 7 hastanın DTG IgA'sı >20 IU/L idi.

**Tablo 8.** Çölyak hastalarının diyet uyum skorlaması

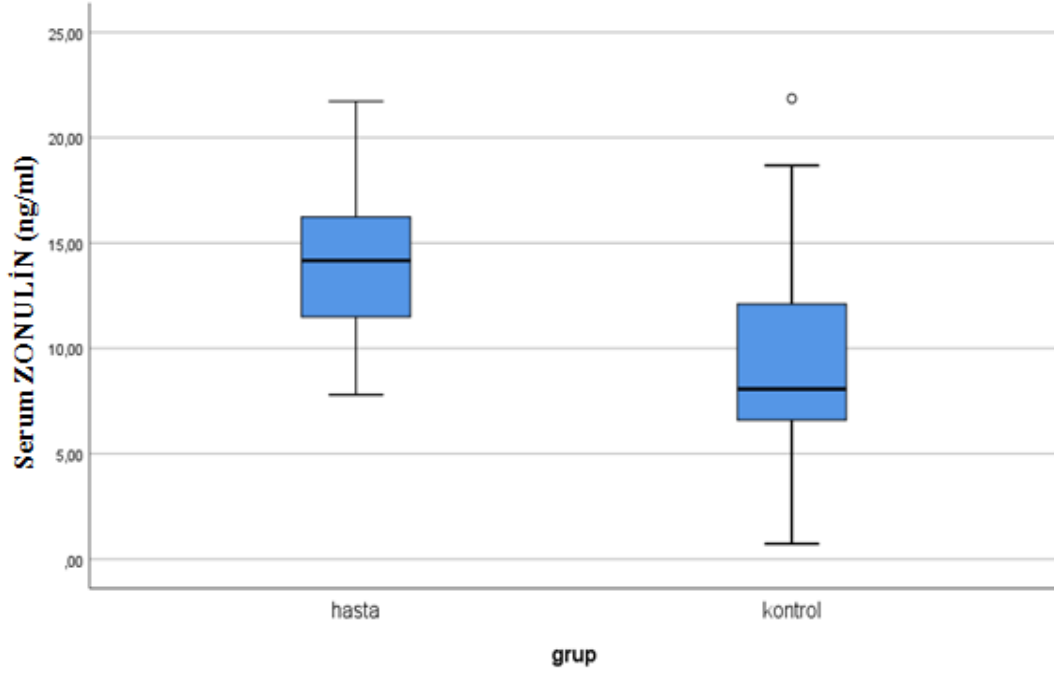
GDA-ÇH (n=35)	n (%)
Glutensiz diyet uyumayanlar (0-1 puan)	7 (%20)
Glutensiz diyet sıkı şekilde bağlı olanlar (3-4 puan)	28 (%80)

GDA-ÇH: En az 1 yıldır glutensiz diyet altında izlenen çölyak hastaları

Çalışmamızda çölyak hastalarında serum NGAL düzeyi kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p<0,0001$ ), (Şekil 5). Benzer şekilde çölyak hastalarında serum zonulin düzeyleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p<0,0001$ ), (Şekil 6). Tablo 9'da NGAL ve zonulin serum düzeyleri verilmiştir.



**Şekil 5.** Hasta ve kontrol grubunun serum NGAL düzeyleri arasındaki ilişki ( $p<0,0001$ )



**Şekil 6.** Hasta ve kontrol grubunun serum zonulin düzeyleri arasındaki ilişki ( $p < 0,0001$ )

**Tablo 9.** Serum NGAL ve serum zonulin biyobelirteçlerinin düzeyleri

	<b>Serum NGAL (ng/ml)</b> (ortalama $\pm$ SDS) ortanca (aralık)	<b>Serum zonulin (ng/ml)</b> (ortalama $\pm$ SDS) ortanca (aralık)	<b>p</b>
<b>Çölyak hastaları</b> (GDA-ÇH)+(GDB-ÇH) (n=70)	130,6 $\pm$ 138,9 75 (6-683,6)	14 $\pm$ 3,2 14,1 (7,8-21,7)	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Kontrol grubu</b> (n=70)	22,7 $\pm$ 28,3 15,6 (0,2-135,2)	9,1 $\pm$ 4,3 8 (0,7-21,8)	<b>&lt;0,0001</b>

NGAL: Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin, SDS: Standart deviasyon skoru, GDA-ÇH: En az 1 yıldır glutensiz diyet altında izlenen çölyak hastaları, GDB-ÇH: Yeni tanı alıp henüz glutensiz diyet başlanmamış çölyak hastaları

Serum zonulin düzeyi hasta ve kontrol gruplarında cinsiyetler arası anlamlı farklılık göstermedi ( $p>0,05$ ). Serum NGAL seviyesinde hasta grubunda kız ve erkekler arasında anlamlı fark izlenirken ( $p=0,02$ ) kontrol grubunda cinsiyetler arası anlamlı fark izlenmedi (Tablo 10).

**Tablo 10.** Serum NGAL ve serum zonulin düzeylerinin cinsiyetler ile ilişkisi

		Serum NGAL (ng/ml) (ortalama $\pm$ SDS)	P	Serum zonulin (ng/ml) (ortalama $\pm$ SDS)	P
<b>Çölyak hastaları</b> (n=70)	<b>Kız</b>	109,8 $\pm$ 126,6	<0,05	14,3 $\pm$ 3,3	>0,05
	<b>Erkek</b>	186,5 $\pm$ 157,9		13,2 $\pm$ 3	
<b>Kontrol grubu</b> (n=70)	<b>Kız</b>	23,8 $\pm$ 30	>0,05	9,1 $\pm$ 3,9	>0,05
	<b>Erkek</b>	19,8 $\pm$ 23,4		9,2 $\pm$ 5,5	

NGAL: Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin, SDS: Standart deviasyon skoru

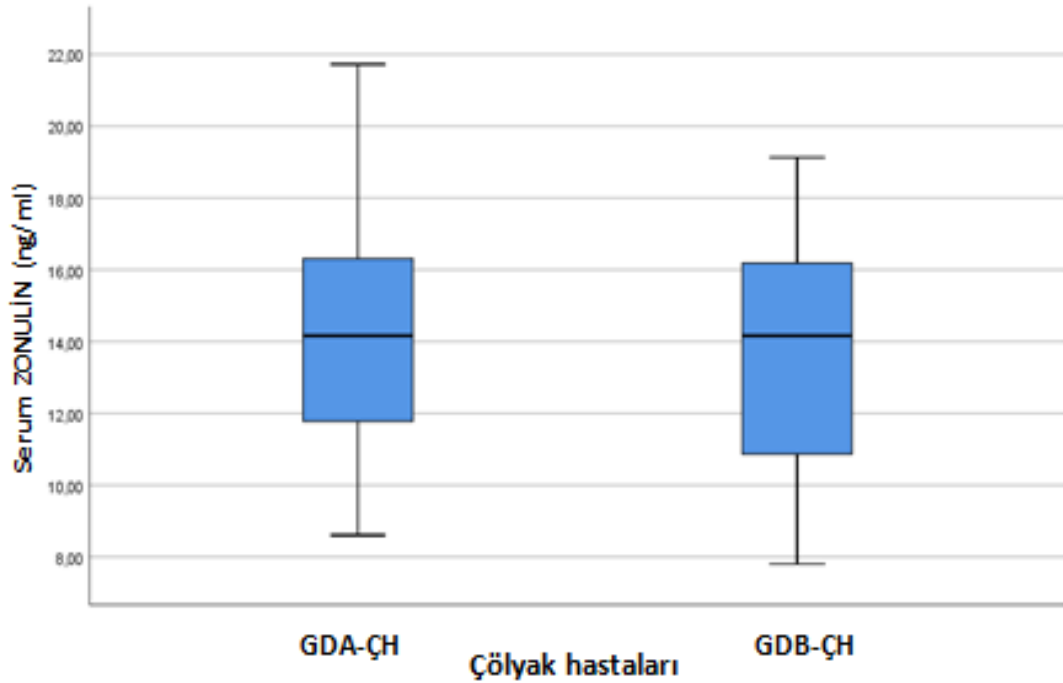
Hasta grubunda serum NGAL ve zonulin düzeyleri arasında istatistiksel anlamlı ilişki bulunamadı ( $p=0,891$ ;  $r=0,017$ ), (Tablo 11). GDA-ÇH ve GDB-ÇH serum zonulin düzeyleri arasındaki ilişki Şekil 7'de , serum NGAL düzeyleri arasındaki Şekil 8'de verilmiştir.

Kontrol grubunda serum NGAL ve zonulin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ( $p=0,136$ ;  $r=0,180$ ).

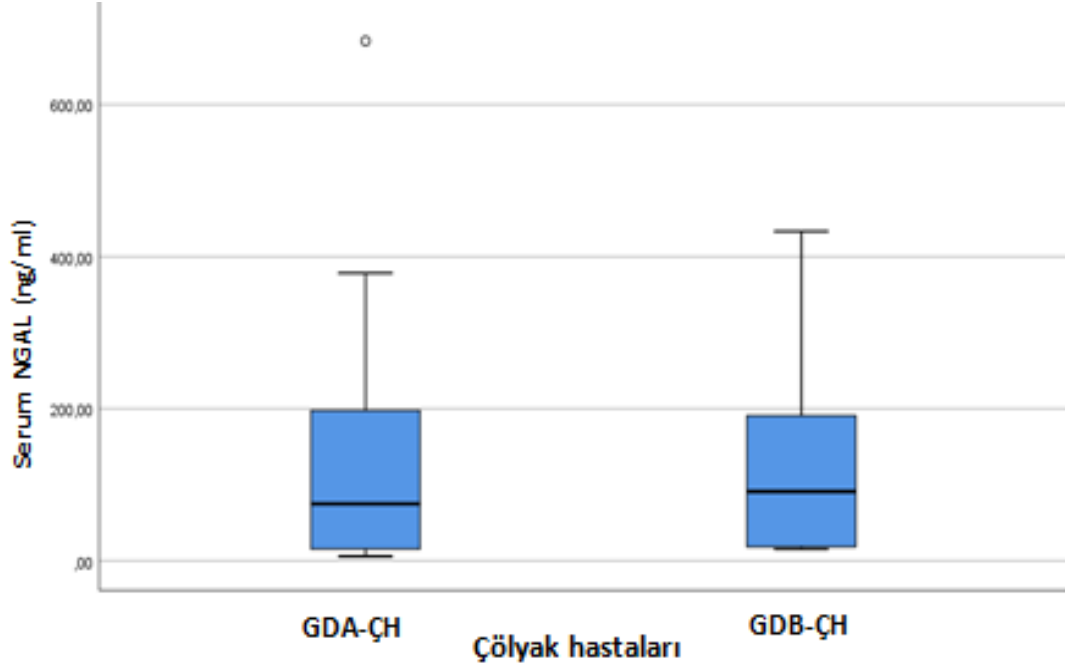
**Tablo 11.** GDA-ÇH ve GDB-ÇH'lerin serum NGAL ve zonulin seviyeleri

	<b>Serum NGAL (ng/ml)</b> (ortalama $\pm$ SDS) ortanca (aralık)	<b>Serum zonulin (ng/ml)</b> (ortalama $\pm$ SDS) ortanca (aralık)	<b>p</b>
<b>GDA-ÇH (n=35)</b>	129,4 $\pm$ 148,3 75 (6-683,6)	14,3 $\pm$ 3 14,1 (8,6-21,7)	>0,05
<b>GDB-ÇH (n=35)</b>	131,8 $\pm$ 131,1 91,2 (15,6-433,1)	13,6 $\pm$ 3,4 14,1 (7,8-19,1)	>0,05

GDA-ÇH: En az 1 yıldır glutensiz diyet altında izlenen çölyak hastaları, GDB-ÇH: Yeni tanı alıp henüz glutensiz diyet başlanmamış çölyak hastaları, NGAL: Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin, SDS: Standart deviasyon skoru



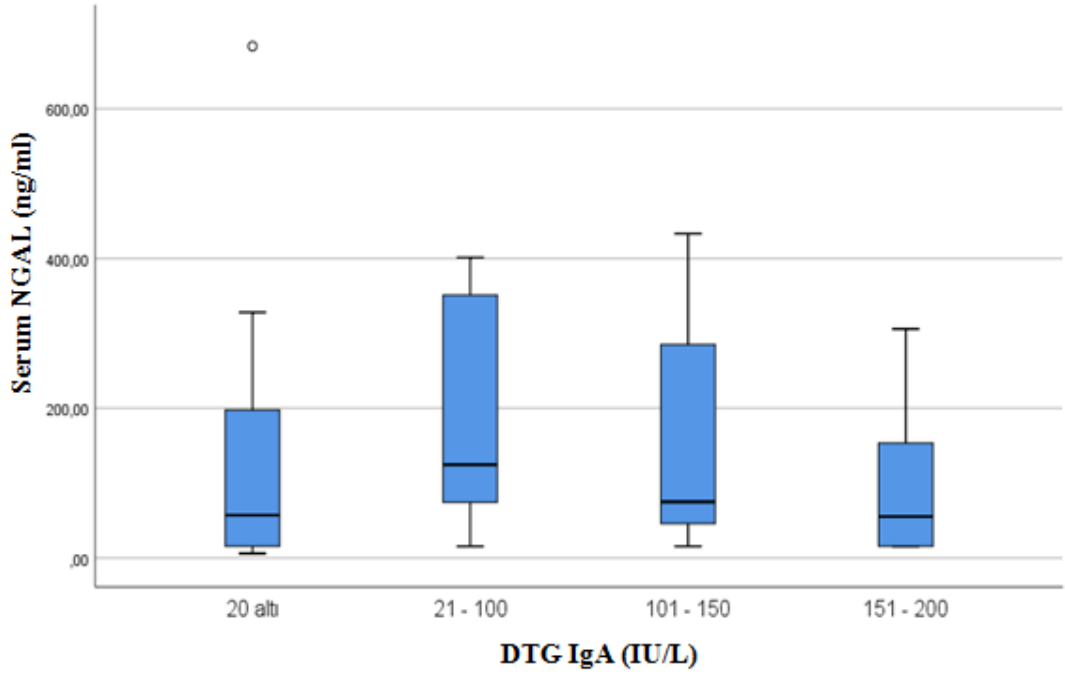
**Şekil 7.** GDA-ÇH ve GDB-ÇH serum zonulin düzeyleri arasındaki ilişki (p>0,05)



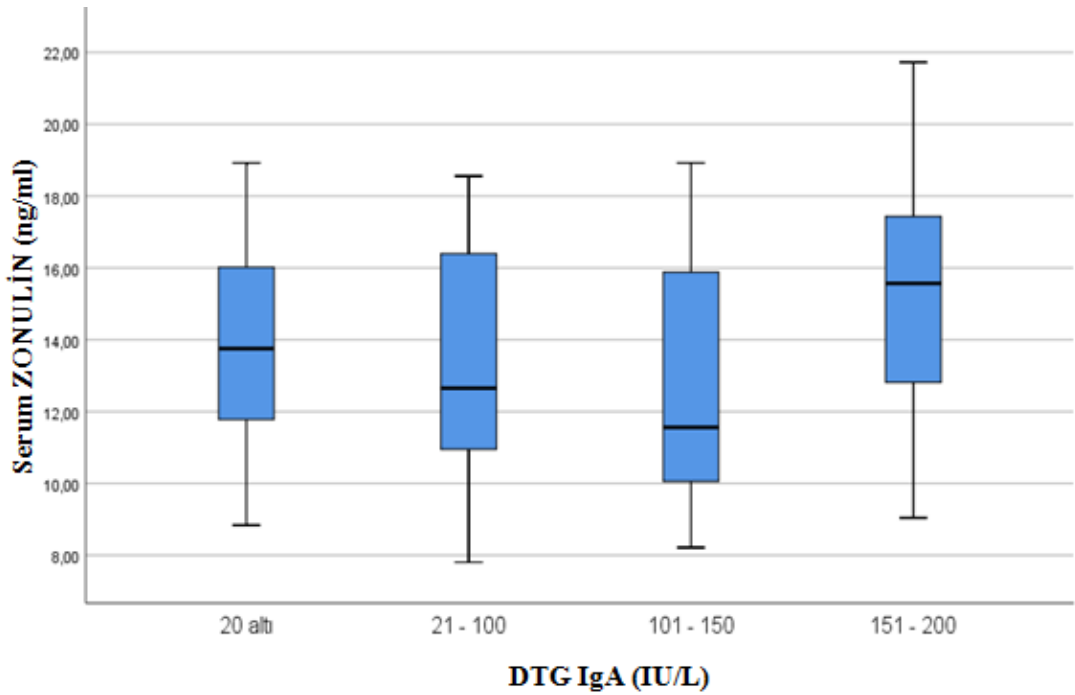
**Şekil 8.** GDA-ÇH ve GDB-ÇH serum NGAL düzeyleri arasındaki ilişki ( $p>0,05$ )

Hastaların DTG IgA düzeyi  $\leq 20$ , 21-100, 101-150, 151-200 IU/L olarak 4 sınıfa ayrılarak incelendi. Çölyak hastalarında DTG IgA ortalama değeri  $85,2 \pm 71,9$  (2,4-193,2) IU/L olup, DTG IgA düzeyi ile serum NGAL ve zonulin seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı ( $p>0,05$ ). Hasta grubunda serum NGAL ve DTG IgA düzeyleri arasındaki ilişki Şekil 9'da verilmiştir. Hasta grubunda serum zonulin ve DTG IgA arasındaki ilişki Şekil 10'da gösterilmiştir.





**Şekil 9.** Hasta grubunda serum NGAL ve DTG IgA düzeyleri arasındaki ilişki ( $p>0,05$ )



**Şekil 10.** Hasta grubunda serum zonulin ve DTG IgA düzeyleri arasındaki ilişki ( $p>0,05$ )

#### 4. TARTIŞMA

Çölyak hastalığı, genetik olarak yatkın bireylerde gluten proteinine duyarlılıktan kaynaklanan immün aracılı sistemik bir hastalıktır. Bu kronik hastalık dünyanın birçok yerinde genel popülasyonun yaklaşık yüzde 0,5 ila 1'ini etkilemektedir.

Klinikte diyetle glutenin girmesiyle ortaya çıkan kronik ishal, karın şişliği, malabsorbsiyona bağlı kilo kaybı, malnütrisyon ve boy kısalığı gibi klasik semptomlarla giden tipik çölyak hastalığı ile gastrointestinal sistem dışı farklı doku ve organların etkilenmesiyle bulgu veren atipik çölyak hastalığı görülmektedir.

Hastalığın patogeneğinde glutenin diyet yoluyla alınması tetikleyici rol oynar. Böylece proksimal ince bağırsakta immün aracılı inflamasyon meydana gelir. Enfeksiyona erken yakalanma veya antibiyotiğe maruz kalmanın ÇH geliştirme olasılığını artırdığı, disbiyotik mikrobiyotanın da hastalığın patogeneğinde rol oynadığı düşünülmektedir (101,102). Çölyak hastalığı patogeneğinin genetiği HLA DQ2/DQ8 haplotipleri ile kuvvetli şekilde ilişkilidir. Hastaların %90'ından fazlası HLA DR3-DQ2 veya HLA DR4-DQ8 pozitifdir. Genetik ve çevresel faktörlerin etkisiyle ince bağırsak mukozasında villus kaybı ve kript hiperplazisi ile karakterizedir.

Glutensiz diyet, günümüzde çölyak hastalığı için mevcut tek etkili ve güvenli tedavi yöntemidir. Gluten, katkı maddesi ve dengeleyici olarak çoğu gıda maddesinde bulunur. Gluten içeriği 20 ppm'den az olan ürünler glutensiz besin tanımına girer (103). Farklı çalışmalarda mukozal hasara neden olan gliadin alım eşiği günlük 10-100 mg olduğu tespit edilse de hastalığın semptomlarında belirgin iyileşme sağlayıp komplikasyonlarını azalttığından dolayı çölyak hastaları için gluten içeriğinin sıfır olduğu sıkı bir glutensiz diyet önerilmektedir (104-106).

Glutene maruz kalma süresi; tip 1 diyabetes mellitus, bağı dokusu hastalıkları, Hashimoto tiroiditi gibi otoimmün bozukluklar için risk oluşturmaktadır (107). Çocuklarda çölyak hastalığının erken teşhisi ve tedavisi; emilim bozukluğu, büyüme geriliği, kemik mineral yoğunluğunun azalması gibi komplikasyonların önlenmesinde son derece önemlidir (108).

Glutensiz bir diyetle verilen cevabın hızı hastalar arasında değişkendir. Hastaların yarısından fazlasında iki hafta içinde gözle görülür bir klinik iyileşme fark

edilir. İntestinal dokunun gliadine maruz kalmasını önleyen bu diyet aynı zamanda ince bağırsak enflamasyonunu giderir (109). Histolojik düzelme diyete başladıktan yaklaşık 9 ila 12 ay sonra görülür.

Hastalar için psikolojik ve sosyal yüke neden olabileceği için diyete bağlı kalmak kolay değildir ve ciddi yaşam tarzı değişikliği gerektirir.

Zonulin, epitel bariyer fonksiyonlarının düzenlenmesinde görev alan 47 kDa ağırlığında bir proteindir. İntestinal epitel hücreleri arasındaki geçirgenliği düzenleyen endojen bir modülatördür (88).

Gluten peptidleri (gliadin), intestinal lümende kendi hedef bağırsak reseptörü olan kemokin reseptörü CXCR3'e bağlanarak zonulin sinyalini aktive eder. Bağırsak epitelinde zonulin sentezi ve salınımı artar. Zonulin, enterositler arası sıkı bağlantıları açarak gliadinlerin lamina propria'ya girmesine izin verir (110). Daha sonra bu gliadinler makrofajlar ve diğer immün hücrelerle etkileşime girerek proinflamatuvar sitokin salınımını tetikler (111). Gliadin ile birlikte enterik patojen bakteriler de zonulin salınımını uyarır.

Zonulin ile ilgili literatürde deneysel hayvan modeli çalışmalarıyla, farklı hasta gruplarında yapılmış insan çalışmaları mevcuttur. Bir deneysel hayvan modeli çalışmasında (115), zonulin bağımlı bağırsak bariyer fonksiyon kaybının güçlü çevresel uyaranlar tarafından tetiklendiği belirtilerek hem gluten maruziyetinin hem de mikrobiyotaya dengesinin bozulmasının zonulin salınımını arttırdığı gösterilmiştir.

Singh ve ark. (112)'nin yetişkinlerde yaptığı bir çalışmada kabızlık dominant İBH, ishal dominant İBH, çölyak hastaları ve sağlıklı kontrol grubunu karşılaştırmış, ortanca serum zonulin düzeyi sağlıklı grupta düşük, ÇH'de yüksek ( $p>0,05$ ) bulmuştur. Kabızlık dominant İBH ve ishal dominant İBH'de sağlıklı gruba kıyasla zonulin düzeyinde anlamlı fark tespit edilmiş, serumdan bakılabilen zonulinin intestinal geçirgenliği göstermek için bir belirteç olarak kullanılabileceğinden bahsedilmiştir. Çölyak hastalarının intestinal biyopsi örneklerinin incelendiği bir çalışmada (113), aktif çölyak hastalarında intestinal geçirgenlik artışının remisyondaki ÇH ve çölyak olmayan kontrollere göre daha fazla olduğu belirlenmiştir. Gastrointestinal sistem semptomları olan otizm spektrum bozukluğu tanılı hastalarda yapılan bir çalışmada (114), zonulin kodlayan genlerde artış tespit edilmiştir.

Literatürde Vorobjova ve ark. (89)'nın çalışması çölyak hastası çocuklarda serum zonulin seviyelerinin incelendiği tek yayındır. Vorobjova ve ark. (89) yaptığı bu çalışmada, çölyak hastaları (n:23) ile ÇH ve tip 1 DM (n:15)'lerin oluşturduğu hasta grubunu normal bağırsak mukozasına sahip olan kontrol grubu ile (n:40) karşılaştırmış olup ÇH'lerde kontrol grubuna göre serum zonulin düzeyini anlamlı şekilde yüksek saptamıştır. Fonksiyonel bağırsak hastalığı nedeniyle endoskopi yapılan kişiler buradaki kontrol grubunu oluşturmuş. Aynı zamanda bu çalışma histopatolojik olarak çölyak hastalarının verileri karşılaştırmış Marsh tip3a ile tip3c arasında serum zonulin seviyesinde anlamlı fark bulunmuştur (p=0,01). Bu da çölyak hastalarının ince bağırsak mukozasındaki atrofik değişikliklerin ciddiyeti ile dolaşımdaki zonulin düzeyinin anlamlı şekilde ilişkili olduğunu göstermiştir.

Çalışmamızda, ÇH patogeneğinde paraselüler geçirgenliği düzenleyerek en büyük role sahip olan zonulinin serum düzeyini otoimmün veya kronik bir başka hastalığı olmayan çölyaklı çocuklarda incelemeyi amaçladık. Biz çalışmamızda hasta grubu olarak izole çölyak hastalarını (n:70), kontrol grubu olarak herhangi bir gastrointestinal yakınması olmayan ve DTG IgA negatif sağlıklı çocukları aldık. Araştırmamızda çölyak hastalarında serum zonulin düzeylerini (14±3,2 ng/ml), sağlıklı kontrol grubuna (9,1±4,3 ng/ml) göre anlamlı olarak yüksek bulduk (p=0,0001). Çalışmamız, literatürde çocuklarda bu kadar geniş hasta grubuyla yapılan, izole çölyak hastalarında serum zonulin seviyelerinin sağlıklı kontrollerle karşılaştırılarak incelendiği tek çalışma olma özelliğindedir.

Duerksen ve ark. (90) yaptıkları çalışmada en az 1 yıldır glutensiz diyet yapan erişkin ve çocuk toplam 22 çölyak hastasını incelemiştir. Marsh tip 3 lezyonu olan altı hastada DTG düzeyi ve bağırsak geçirgenliğinin arttığı, zonulin düzeyi ile intestinal geçirgenlik arasında korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Ancak çölyak hastalarının histolojisiyle serum zonulin seviyesinde anlamlı fark çıkmamıştır.

Çalışmamızda çölyak hastalarının intestinal mukoza histopatolojik evresi ile zonulin ilişkisi değerlendirildiğinde; Marsh tipleri ile serum zonulin düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p>0,05).

Farklı çalışmalarda hastalarının %18 ila %46,7'sinin katı bir glutensiz diyeti takip edemediği, diyetle uyum oranının değişken olduğu gözlenmiştir (81,116,117). Bizim çalışmamızda diyetle uyum skoruna göre %80 olan GD'e uyum oranının DTG

IgA düzeyi göz önüne alındığında %68,5 olduğu görüldü. Bunun en önemli sebebi çocuk hastalarda diyet kısıtlaması takibinin erişkinlere göre kısmen daha zor olmasıdır. Aynı zamanda glutensiz ürünlerin pahalılığı da bu ürünlere erişimde güçlük yaratmaktadır. Glutensiz diyete uyum ile serum zonulin düzeyinde anlamlı korelasyon bulunmadı ( $p>0,05$ ). Serum zonulin ile DTG IgA seviyeleri karşılaştırıldığında da anlamlı bir fark görülmedi ( $p>0,05$ ). Bu konuyla ilgili daha fazla hasta grubuyla yapılacak klinik çalışmalara ihtiyaç olduğu görüşündeyiz.

Günden güne zonulin yolağının mekanizması daha iyi anlaşıldıkça çölyak hastalığının şiddetini değiştirebilecek ve uzun vadeli sonuçların iyileşmesine yol açabilecek potansiyel yeni tedavi seçenekleri gündeme gelmektedir. Zonulin antagonisti bir sentetik peptid olan larazotid asetat tarafından gliadinin inhibe edilebileceği üzerinde incelemeler devam etmektedir ve faz II çalışmaları 500 hastada güvenlik kaygısı yaşanmadığını bildirmiştir (118).

Zonulin, çölyak hastalığı fizyopatolojisinde major modülatör olduğundan, klinikte rutin kullanılabilen bir biyobelirteç olması ve hastalığın patolojik ciddiyeti ve GD ile ilişkisinin gösterilebilmesi için çocuklarda geniş hasta katılımının olduğu çalışmalara gereksinim vardır.

NGAL, fizyolojik olarak nötrofiller, epitel hücreleri, hepatositler gibi farklı hücre tiplerinden sentezlenen bir glikoproteindir. Güçlü bakteriyostatik etkisinin olduğu da gösterilmiştir. Kemotaksi, çoğalma, apoptoz ve farklılaşma gibi çeşitli hücrel reaksiyonları modüle ettiğinden bahsedilmiştir (96).

Birçok inflamatuvar sitokinle (IL-17, IL-22, TNF) indüklenebilen bu molekülün sentezi iskemi ve inflamasyon gibi durumlarda arttığı için şimdiye kadar böbrek hastalıkları, nörolojik hastalıklar, neoplaziler, metabolik sendrom gibi birçok hastalıkta tanısal bir biyobelirteç olarak araştırılmıştır (95,98).

Deneyisel hayvan modellerinde yapılan bir çalışmada (121), kolit gelişimi ile kolon epitel hücrelerinde NGAL ekspresyonunda artış gözlenmiştir.

Literatürdeki bir çalışmada (119), plazma NGAL düzeylerinin kolorektal kanser grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu bulunmuştur ( $p<0,05$ ). Kanser grubunda plazma NGAL düzeylerinin, tümör çapı ve metastatik lenf nodu sayısı ile pozitif ilişkili olduğu belirtilmiştir. Plazma NGAL seviyesinin kolorektal kanser tanısında ve bu hastalarda lenf nodu metastazını tahmin etmede

potansiyel bir biyobelirteç olarak kullanılabilmesi ön görülmüştür. Bir vaka kontrol çalışması (120), NGAL serum konsantrasyonunun kolorektal kanserli hastalarda daha yüksek olduğunu ve NGAL düzeylerinin özellikle büyük tümörleri olan hastalarda yükseldiğini bildirmiştir.

Sistemik ve bağırsak nötrofil aktivitesi, aktif ülseratif kolitte önemli ölçüde artıp, doku hasarına neden olduğundan; olgun nötrofillerden salınan NGAL, bu alanda biyobelirteç olarak araştırılmıştır (122). Crohn hastalarında yapılmış bir çalışmada (123), NGAL ile kovalent bağlanan matrix metalloproteinaz (MMP-9) kompleksinin medyan değeri aktif Crohn hastalarında sağlıklı gruba kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunmuş, tedavi sonrası iyileşmiş hastalarda NGAL-MMP-9 kompleksi düzeyi önemli ölçüde azalmıştır. Buna dayanarak enflamatuvar bağırsak hastalığında mukozal iyileşmeyi değerlendirmek için bu kompleksin kullanılabilmesinden bahsedilmiştir.

Diğer bir çalışmada (124), NGAL'in Crohn hastalığında yara iyileşmesinde rol oynadığı öne sürülen ve metaplastik hücrelerden köken alan ülserle ilişkili hücre soyunda, tüm pilorik metaplazi kısımlarında yüksek oranda ekspresye edildiği gösterilmiştir. Ayrıca rejeneratif bağırsak kriptlerinde NGAL ekspresyonu saptanmıştır. Bu tablo, NGAL'in doku yenileme sürecinde önemli olduğunu gözler önüne sermiştir.

Thorsvik ve ark. (125)'nin aktif Crohn hastası erişkinlerde yaptığı bir çalışmada, kontrol grubuna kıyasla hastalarda terminal ileum paneth hücrelerinde ve enteroendokrin hücrelerinde NGAL ekspresyonunun anlamlı derecede arttığı gösterilmiştir. Erişkin hastalarda yapılan bir başka çalışmada ülseratif kolit ve Crohn hastalarında sağlıklı gruba göre kolon biyopsilerinde en çok upregüle olan genlerden birisinin NGAL kodlayan gen olan LCN2 olduğu, aktif inflamasyon sırasında mukozal granüositlerden NGAL ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Ayrıca serum NGAL seviyesi ile C-reaktif protein düzeyi arasında korelasyon bulunmuştur. Aynı çalışmada sağlıklı kontrollere göre Crohn hastalarının serum NGAL düzeyinin anlamlı ölçüde arttığı, ülseratif kolitli hastalarda fark olmadığı görülmüştür (126). Bir başka yayında serum NGAL seviyesi erişkin İBH'lerde sağlıklı kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek saptanmış ( $p < 0,0001$ ), İBH için umut verici bir biyobelirteç olduğundan bahsedilmiştir (96).

Türkiye'de Yeşil ve ark. (15)'nin yetişkin İBH hastalarında yaptığı çalışmada hastalarda serum NGAL düzeyi (ortanca 171 (57–312) ng/mL), sağlıklı gruba (ortanca 107 (45–234) ng/mL) göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p<0,0001$ ). İnflamatuvar barsak hastalığı olan 36 çocuk hastada serum NGAL düzeyi, sağlıklı ve alerjik, inflamatuvar olmayan barsak hastalığı olan çocuklardan daha yüksek saptanmış, serum NGAL düzeylerinin yaş, cinsiyet, hastalık aktivitesi ve inflamasyon indeksleri ile korele olmadığı rapor edilmiştir (99).

Literatürde çölyak hastası çocuklarda bu konu ile ilgili yapılmış tek çalışmada, glutensiz diyet yapan 127 hasta, glutensiz diyetle uymayan 120 hasta olmak üzere ÇH'li çocuklar 2 gruba ayrılarak incelendiğinde; diyet yapanlarda serum NGAL düzeyi  $41,9\pm 13,5$  ng/mL, yapmayanlarda  $51,4\pm 17,5$  ng/mL ölçülmüş, glutensiz diyetle uyum ile serum NGAL seviyesi arasında anlamlı farklılık izlenmemiştir (127).

Bahsedilen çalışmalara dayanarak inflamatuvar bir belirteç olan serum NGAL düzeyinin çölyak hastalarında kontrol grubuna göre artabileceğini düşündük. Bizim çalışmamız literatürde serum NGAL düzeyinin çölyak hastalarında sağlıklı kontrol grubuyla karşılaştırarak incelendiği ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır. Çalışmamızda, çölyak hastalarında kontrol grubuna kıyasla serum NGAL düzeylerini anlamlı olarak yüksek saptadık. Ayrıca bu biyobelirtecin hastalığın takibinde kullanılabilme potansiyeli olduğu ön görüşüyle glutensiz diyet ve histopatolojik bulgular ile ilişkisini inceledik. Literatürle benzer şekilde glutensiz diyetle uyum ile NGAL düzeyi arasında anlamlı bir fark bulmadık. Çölyak hastalarının histopatolojik evresi ile serum NGAL düzeylerini karşılaştırdık fakat istatistiksel olarak anlamlı fark tespit etmedik. Hasta sayısının az olması ve gruplar arası dağılımın farklı olmasının bunun nedeni olabileceğini düşündük.

Ek olarak çalışmamızda literatürden farklı olarak; serum NGAL ve zonulinin birbiri ile ilişkisini hasta ve kontrol grubunda ayrı ayrı değerlendirdik. Zonulin ve NGAL'in birbiriyle istatistiksel olarak anlamlı bir ilişkisi olmadığını gösterdik.

Çalışmamızda bazı kısıtlayıcı faktörler bulunmaktadır.

Biz çalışmamızda serumdan ELISA yöntemiyle NGAL ve zonulin düzeyini saptadık; biyopsi materyallerinde NGAL ve zonulin ekspresyonunu inceleyemedik. Ayrıca NGAL ile diğer akut faz reaktanlarının ilişkisine bakamadık.

Çölyak hastalığına yatkınlık yaratan HLA DQ2/DQ8 haplotipleri ile serum NGAL ve zonulin ilişkisi çalışma maliyetini arttıracığından incelenemedi.

Çalışma grubunu daraltmamak için çölyak hastaları sınıflandırılmadan tüm çölyak tipleri çalışmaya alındı. Bundan dolayı, serum NGAL ve zonulin düzeyi ile çölyak tipleri arasındaki ilişkiye bakılmadı.

Hastaların histopatolojik evresi ile serum NGAL ve serum zonulin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir sonuç bulunmamasının nedeni Marsh sınıfları arasında hasta sayısının eşit dağılmaması olabileceği düşünüldü.

Glutensiz diyetle bağlılık derecesi ile bu belirteçlerin anlamlı ilişkisinin saptanmamasının bir nedeni; intestinal mukozanın histolojisinin glutensiz diyetle düzelme zamanının uzun olması ve bu zamanın hastalar arasında farklılık göstermesine bağlandı. Ayrıca diyetle tam uyum gösteren ve göstermeyen hastalar arasında sayısal olarak eşitlik sağlanamaması da bir diğer neden olarak söylenebilir.

Sonuç olarak çalışmamız literatürde çocuk yaş grubu çölyak hastalarında serum NGAL ve serum zonulin düzeylerini kontrol grubu ile kıyaslayarak inceleyen ilk klinik çalışma olma özelliğini taşımaktadır. Çölyak hastalığı tanısında serum NGAL ve zonulinin biyobelirteç olarak kullanılabilmesi kanaatindeyiz.

Tetkik sonuçlarını etkileyebileceğinden bu değerlendirme yapılırken çölyak hastalığına eşlik edebilecek diğer kronik hastalıkların dışlanmasına dikkat edilmelidir. Bu belirteçlerin hastalığın histopatolojik evresiyle ilişkisini ve hastaların takibinde glutensiz diyetle uyumunu irdelemek için gelecekte daha geniş hasta popülasyonu ile yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.



## 5.SONUÇLAR

Bu çalışma, çölyak hastası çocuklarda serum NGAL ve zonulin düzeyleri belirlenerek hastalığın tanısında ve takibinde kullanılabilecek potansiyel yeni biyobelirteçler bulunması amacıyla yapılmıştır.

1. Çalışmamızda kontrol grubuna göre ÇH'lerde VA SDS, boy SDS, VKİ SDS anlamlı derecede düşük saptandı ( $p<0,05$ ).
2. ÇH'lerde malnütre ve bodur kişi sayısı kontrollere kıyasla anlamlı olarak fazla idi ( $p<0,05$ ).
3. Çölyak tanılı çocukların üst orta kol çevresi ve triceps cilt kıvrım kalınlığı ölçümlerinde kontrol vakalara göre anlamlı fark tespit edildi ( $p<0,0001$ ).
4. Çölyak hastası çocuklarda serum NGAL seviyesi sağlıklı kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı olarak yüksek saptandı ( $p<0,0001$ ).
5. Serum NGAL seviyesinin hasta grubunda erkeklerde kızlara kıyasla anlamlı olarak yüksek olduğu ( $p<0,05$ ) görülürken, kontrol grubunda cinsiyetler arası anlamlı fark izlenmedi ( $p>0,05$ ).
6. Çölyak hastası çocuklarda serum zonulin düzeyi, sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede fazlaydı ( $p<0,0001$ ).
7. Serum zonulin seviyesinde cinsiyetler arası anlamlı farklılık yoktu ( $p>0,05$ ).
8. Hastaların intestinal biyopsi histopatolojik evresiyle serum NGAL ve serum zonulin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmedi (sırasıyla  $p=0,59$ ,  $p=0,25$ ).
9. Glutensiz diyete uyum skoru ile serum NGAL ve zonulin düzeylerinde anlamlı fark yoktu ( $p>0,05$ ).
10. Çölyak hastalığına özgü DTG IgA antikor düzeyi ile NGAL ve zonulin arasında anlamlı bir ilişkinin olmadığı izlendi ( $p>0,05$ ).
11. Hasta grubunda serum NGAL ve zonulin düzeylerinin birbiri ile istatistiksel olarak anlamlı ilişkisi tespit edilmedi ( $p=0,891$ ;  $r=0,017$ ).
12. Kontrol vakalarında serum NGAL ve zonulin düzeyleri arasında anlamlı fark yoktu ( $p=0,136$ ;  $r=0,180$ ).

## 6.KAYNAKLAR

1. Al-Toma A, Volta U, Auricchio R, Castillejo G, Sanders DS, Cellier C, et al. European Society for the Study of Coeliac Disease (ESsCD) guideline for coeliac disease and other gluten-related disorders. *United European Gastroenterol J*. 2019;7(5):583-6.
2. Işıkay S, Kocamaz H. Prevalence of celiac disease in children with idiopathic epilepsy in southeast Turkey. *Pediatr Neurol*. 2014;50(5):479-81.
3. Gujral N, Freeman HJ, Thomson AB. Celiac disease: prevalence, diagnosis, pathogenesis and treatment. *World J Gastroenterol*. 2012; 18(42):6036-59.
4. Dalgic B, Sari S, Basturk B, Ensari A, Egritas O, Bukulmez A, et al. Turkish Celiac Disease Study Group. Prevalence of celiac disease in Turkish school children. *Am J Gastroenterol*. 2011;106:1512-17.
5. Hill ID, Fasano A, Guandalini S, Hoffenberg E, Levy J, Reilly N, et al. NASPGHAN Clinical Report on the Diagnosis and Treatment of Gluten-related Disorders. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2016;63(1):156-65.
6. Hill ID, Dirks MH, Liptak GS, Colletti RB, Fasano A, Guandalini S et al. Guideline for the diagnosis and treatment of celiac disease in children: recommendations of the North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2005;40(1):1-19.
7. Bishop J, Reed P, Austin P, Hurst M, Ameratunga R, Craigie A, et al. Prospective Evaluation of the ESPGHAN Guidelines for Diagnosis of Celiac Disease in New Zealand Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2018;67(6):749-54.
8. Riznik P, De Leo L, Dolinsek J, Gyimesi J, Klemenak M, Koletzko B, et al. Diagnostic Delays in Children with Coeliac Disease in the Central European Region. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2019;69(4):443-48.
9. Lionetti E, Catassi C. New Clues in Celiac Disease Epidemiology, Pathogenesis, Clinical Manifestations, and Treatment. *Int Rev Immunol* 2011;30:219-31.

10. Rubio-Tapia A, Hill ID, Kelly CP, Calderwood AH, Murray JA; American College of Gastroenterology. ACG clinical guidelines: diagnosis and management of celiac disease. *Am J Gastroenterol*. 2013;108(5):656-76.
11. Fasano A, Not T, Wang W, Uzzau S, Berti I, Tommasini A, et al. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *Lancet* 2000;355:1518-9.
12. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev*. 2011;91:151-75.
13. Otto GP, Hurtado-Oliveros J, Chung HY, Knoll K, Neumann T, Müller HJ, et al. Plasma Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Is Primarily Related to Inflammation during Sepsis: A Translational Approach. *PLoS One*. 2015;10(4):e0124429.
14. Schmidt-Ott KM, Mori K, Li JY, Kalandadze A, Cohen DJ, Devarajan P, et al. Dual action of neutrophil gelatinase associated lipocalin. *J Am Soc Nephrol*. 2007;18(2):407-13.
15. Yesil A, Gönen C, Senates E, Paker N, Gökden Y, Koçhan K, et al. Relationship between neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) levels and inflammatory bowel disease type and activity. *Dig Dis Sci*. 2013;58(9):2587-93.
16. Garnier-Lengliné H, Cerf-Bensussan N, Ruemmele FM. Celiac Disease in children. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*. 2015;39(5):544-51.
17. Turner GD, Dunne MR, Ryan AW. Celiac Disease: Background and Historical Context. *Methods Mol Biol*. 2015;1326:3-14.
18. Kelly CP. Celiac Disease. In: Feldman M, Friedman LS, Brandt LJ, eds. *Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. 10th Ed. Philadelphia: Elsevier Saunders 2016:1849-1872.
19. Katz KD, Rashtak S, Lahr BD, Melton LJ 3rd, Krause PK, Maggi K, et al. Screening for celiac disease in a North American population: sequential serology and gastrointestinal symptoms. *Am J Gastroenterol*. 2011;106(7):1333-9.

20. Catassi C, Gatti S, Fasano A. The new epidemiology of celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2014;59:S7-9.
21. Mustalahti K, Catassi C, Reunanen A, Fabiani E, Heier M, McMillan S, et al. The prevalence of celiac disease in Europe: results of a centralized, international mass screening project. *Ann Med.* 2010;42(8):587-95.
22. Singh P, Arora A, Strand TA, Leffler DA, Catassi C, Green PH, et al. Global Prevalence of Celiac Disease: Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol.* 2018;16(6):823-36.
23. Altobelli E, Paduano R, Petrocelli R, Di Orio F. Burden of celiac disease in Europe: a review of its childhood and adulthood prevalence and incidence as of September 2014. *Ann Ig.* 2014;26(6):485-98.
24. Laass MW, Schmitz R, Uhlig HH, Zimmer KP, Thamm M, Koletzko S. The prevalence of celiac disease in children and adolescents in Germany. *Dtsch Arztebl Int.* 2015;112(33-34):553-60.
25. Cummins AG, Roberts-Thomson IC. Prevalence of celiac disease in the Asia-Pacific region. *J Gastroenterol Hepatol.* 2009;24:1347-51.
26. Shamir R. Disorders of Malabsorption. In: Kliegman RM, St Geme JW, Blum NJ, Shah SS, Tasker RC, Wilson KM, eds. *Nelson Textbook of Pediatrics.* 21th Ed. Philadelphia: Elsevier Saunders 2020: 1987-2009.
27. Leonard MM, Sapone A, Catassi C, Fasano A. Celiac Disease and Nonceliac Gluten Sensitivity: A Review. *JAMA.* 2017;318(7):647-56.
28. Ertekin V, Selimoğlu MA, Kardaş F, Aktaş E. Prevalence of celiac disease in Turkish children. *J Clin Gastroenterol.* 2005;39:689-91.
29. Liu E, Lee HS, Aronsson CA, Hagopian WA, Koletzko S, Rewers MJ, et al. Risk of pediatric celiac disease according to HLA haplotype and country. *N Engl J Med.* 2014;371(1):42-9.

30. Heap GA, van Heel DA. Genetics and pathogenesis of coeliac disease. *Semin Immunol.* 2009;21(6):346-54.
31. Troncone R, Auricchio S. Celiac Disease. In: Wyllie R, Hyams JS, Kay M, eds. *Pediatric Gastrointestinal and Liver Disease.* 5th Ed. Philadelphia: Elsevier Saunders 2016:395-404.
32. Fallang LE, Bergseng E, Hotta K, Berg-Larsen A, Kim CY, Sollid LM. Differences in the risk of celiac disease associated with HLA-DQ2.5 or HLA-DQ2.2 are related to sustained gluten antigen presentation. *Nat Immunol.* 2009;10(10):1096-101.
33. Romanos J, van Diemen CC, Nolte IM, Trynka G, Zhernakova A, Fu J, et al. Analysis of HLA and non-HLA alleles can identify individuals at high risk for celiac disease. *Gastroenterology.* 2009;137(3):834-40.
34. Trynka G, Hunt KA, Bockett NA, Romanos J, Mistry V, Szperl A, et al. Dense genotyping identifies and localizes multiple common and rare variant association signals in celiac disease. *Nat Genet.* 2011;43(12):1193-201.
35. Lebowitz B, Sanders DS, Green PHR. Coeliac disease. *Lancet* 2018;391:70-81.
36. Schumann M, Siegmund B, Schulzke JD, Fromm M. Celiac disease: role of the epithelial barrier. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2017;3:150–62.
37. Broughton SE, Petersen J, Theodossis A, Scally SW, Loh KL, Thompson A, et al. Biased T cell receptor usage directed against human leukocyte antigen DQ8-restricted gliadin peptides is associated with celiac disease. *Immunity.* 2012;37(4):611-21.
38. Abadie V, Discepolo V, Jabri B. Intraepithelial lymphocytes in celiac disease immunopathology. *Semin Immunopathol.* 2012;34:551–66.
39. Mazzarella G, Stefanile R, Camarca A, Giliberti P, Cosentini E, Marano C, et al. Gliadin activates HLA class I-restricted CD8+ T cells in celiac disease intestinal mucosa and induces the enterocyte apoptosis. *Gastroenterology.* 2008;134(4):1017-27.

40. Abadie V, Jabri B. IL-15: a central regulator of celiac disease immunopathology. *Immunol Rev.* 2014;260(1):221-34.
41. Fasano A, Catassi C. Current approaches to diagnosis and treatment of celiac disease: an evolving spectrum. *Gastroenterology.* 2001;120(3):636-51.
42. Leffler DA, Green PHR, Fasano A. Extraintestinal manifestations of celiac disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2015;12(10):561-71.
43. Nardecchia S, Auricchio R, Discepolo V, Troncone R. Extra-Intestinal Manifestations of Coeliac Disease in Children: Clinical Features and Mechanisms. *Front Pediatr.* 2019;7:56.
44. Nenna R, Tiberti C, Petrarca L, Lucantoni F, Mennini M, Luparia RP et al. The celiac iceberg. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2013;56(4):416-21.
45. Sayar E. Çocuklarda çölyak hastalığının tanısı ve izleminde iskemi modifiye albumin, total oksidan durum ve total antioksidan kapasitenin değerlendirilmesi (Yan Dal Uzmanlık Tezi). Antalya: Akdeniz Üniversitesi; 2013.
46. Van Kalleveen MW, de Meij T, Plötz FB. Clinical spectrum of paediatric coeliac disease: a 10-year single-centre experience. *Eur J Pediatr.* 2018;177(4):593-602.
47. Husby S, Murray JA. Diagnosing coeliac disease and the potential for serological markers. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014;11(11):655-63.
48. Altamimi E. Celiac Disease in South Jordan. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2017;20(4):222-26.
49. Basso D, Guariso G, Fogar P, Meneghel A, Zambon CF, Navaglia F, et al. Antibodies against synthetic deamidated gliadin peptides for celiac disease diagnosis and follow-up in children. *Clin Chem.* 2009;55(1):150-7.
50. Ludvigsson JF, Leffler DA, Bai JC, Biagi F, Fasano A, Green PH, et al. The Oslo definitions for coeliac disease and related terms. *Gut.* 2013;62(1):43-52.
51. Popp A, Mäki M. Gluten-Induced Extra-Intestinal Manifestations in Potential Celiac Disease-Celiac Trait. *Nutrients.* 2019;11(2):320.

52. Downey L, Houten R, Murch S, Longson D. Recognition, assessment, and management of coeliac disease: summary of updated NICE guidance. *BMJ*. 2015;351:h4513.
53. Fasano A, Berti I, Gerarduzzi T, Not T, Colletti RB, Drago S, et al. Prevalence of celiac disease in at-risk and not-at-risk groups in the United States: a large multicenter study. *Arch Intern Med*. 2003;163(3):286-92.
54. Kocamaz H, Işıkay S. Gastrointestinal findings in children with Down syndrome: Is there an early sign for Celiac disease?. *Arch Clin Exp Med*. 2018;3(3):195-7.
55. Book L, Hart A, Black J, Feolo M, Zone J, Neuhausen SL. Prevalance and clinical characteristics of celiac disease in Down syndrome in a US study. *Am J Med Genet*. 2001;98(1):70-4.
56. Kaukinen K, Lindfors K, Collin P, Koskinen O, Maki M. Coeliac disease diagnostic and therapeutic challenge. *Clin Chem Lab Med*. 2010;48(9):1205-16.
57. Diamanti A, Ferretti F, Guglielmi R, Panetta F, Colistro F, Cappa M, et al. Thyroid autoimmunity in children with coeliac disease: a prospective survey. *Arch Dis Child*. 2011;96(11):1038–41.
58. Størdal K, Bakken IJ, Surén P, Stene LC. Epidemiology of coeliac disease and comorbidity in Norwegian children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2013;57(4):467-71.
59. Holmes GK. Screening for coeliac disease in type 1 diabetes. *Arch Dis Child*. 2002;87(6):495-8.
60. Larizza D, Calcaterra V, De Giacomo C, De Silvestri A, Asti M, Badulli C, et al. Celiac disease in children with autoimmune thyroid disease. *J Pediatr*. 2001;139(5):738-40.
61. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2012;54(1):136-60.

62. Ensari A. Gluten sensitive enteropathy: Controversies in diagnosis and classification. *Arch Pathol Lab Med.* 2010;134(6):826-36.
63. Frulio G, Polimeno A, Palmieri D, Fumi M, Auricchio R, Piccolo E, et al. Evaluating diagnostic accuracy of anti-tissue Transglutaminase IgA antibodies as first screening for Celiac Disease in very young children. *Clin Chim Acta.* 2015;446:237-40.
64. Elli L, Ferretti F, Orlando S, Vecchi M, Monguzzi E, Roncoroni L, et al. Management of celiac disease in daily clinical practice. *Eur J Intern Med.* 2019;61:15-24.
65. Lebowhl B, Green PHR. Antitissue transglutaminase IgA for celiac disease testing. *JAMA.* 2016;315(1):81-2.
66. Fasano A, Araya M, Bhatnagar S, Cameron D, Catassi C, Dirks M, et al. Federation of International Societies of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition consensus report on celiac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008;47(2):214-9.
67. Dahlbom I, Korponay-Szabó IR, Kovács JB, Szalai Z, Mäki M, Hansson T. Prediction of clinical and mucosal severity of coeliac disease and dermatitis herpetiformis by quantification of IgA/IgG serum antibodies to tissue transglutaminase. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010;50(2):140-6.
68. Mubarak A, Gmelig-Meyling FH, Wolters VM, Ten Kate FJ, Houwen RH. Immunoglobulin G antibodies against deamidated-gliadin-peptides outperform anti-endomysium and tissue transglutaminase antibodies in children <2 years age. *APMIS.* 2011;119(12):894-900.
69. Panetta F, Torre G, Colistro F, Ferretti F, Daniele A, Diamanti A. Clinical accuracy of anti-tissue transglutaminase as screening test for celiac disease under 2 years. *Acta Paediatr.* 2011;100(5):728-31.



70. Barbato M, Maiella G, Di Camillo C, Guida S, Valitutti F, Lastrucci G. The anti-deamidated gliadin peptide antibodies unmask celiac disease in small children with chronic diarrhoea. *Dig Liver Dis.* 2011;43(6):465-9.
71. Lammi A, Arikoski P, Simell S, Kinnunen T, Simell V, Paavanen-Huhtala S. Antibodies to deamidated gliadin peptide in diagnosis of celiac disease in children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015;60(5):626-31.
72. Hadithi M, von Blomberg BM, Crusius JB, Bloemena E, Kostense PJ, Meijer JW, et al. Accuracy of serologic tests and HLA-DQ typing for diagnosing celiac disease. *Ann Intern Med.* 2007;147(5):294-302.
73. Ofei S, Boyle B, Ediger T, Hill I. Adherence to Endoscopy Biopsy Guidelines for Celiac Disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2015;61(4):440-4.
74. McCarty TR, O'Brien CR, Gremida A, Ling C, Rustagi T. Efficacy of duodenal bulb biopsy for diagnosis of celiac disease: a systematic review and meta-analysis. *Endosc Int Open.* 2018;6(11):E1369-E1378.
75. Levinson-Castiel R, Hartman C, Morgenstern S, Avitzur Y, Hirsch A, Rosenbach Y, et al. The role of duodenal bulb biopsy in the diagnosis of celiac disease in children. *J Clin Gastroenterol.* 2011;45(1):26-9.
76. Marsh MN, Crowe PT. Morphology of the mucosal lesion in gluten sensitivity. *Baillieres Clin Gastroenterol.* 1995;9(2):273-93.
77. Oberhuber G. Histopathology of celiac disease. *Biomed Pharmacother.* 2000;54(7):368-72.
78. Snyder J, Butzner JD, DeFelice AR, Fasano A, Guandalini S, Liu E, et al. Evidence-Informed Expert Recommendations for the Management of Celiac Disease in Children. *Pediatrics.* 2016;138(3):e20153147.
79. Lee SK, Lo W, Memeo L, Rotterdam H, Green PH. Duodenal histology in patients with celiac disease after treatment with a gluten-free diet. *Gastrointest Endosc.* 2003;57(2):187-91.

80. Fric P, Gabrovská D, Nevoral J. Celiac disease, gluten-free diet, and oats. *Nutr Rev.* 2011;69(2):107-15.
81. Czaja-Bulsa G, Bulsa M. Adherence to Gluten-Free Diet in Children with Celiac Disease. *Nutrients.* 2018;10(10):1424.
82. Husby S, Bai JC. Follow-up of Celiac Disease. *Gastroenterol Clin North Am.* 2019;48(1):127-36.
83. Benelli E, Zin A, Martelossi S. Celiac disease in children. *Minerva Pediatr.* 2019;71(1):39-46.
84. Dschietzig TB, Boschann F, Ruppert J, Armbruster FP, Meinitzer A, Bankovic D, et al. Plasma Zonulin and its Association with Kidney Function, Severity of Heart Failure, and Metabolic Inflammation. *Clin Lab.* 2016;62(12):2443-47.
85. Wang W, Uzzau S, Goldblum SE, Fasano A. Human zonulin, a potential modulator of intestinal of intestinal tight junctions. *J Cell Sci.* 2000;113(24):4435-40.
86. Drago S, El Asmar R, Di Pierro M, Grazia Clemente M, Tripathi A, Sapone A, et al. Gliadin, zonulin and gut permeability: effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. *Scand J Gastroenterol* 2006; 41: 408-19.
87. Lammers KM, Lu R, Brownley J, Lu B, Gerard C, Thomas K, et al. Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3. *Gastroenterology.* 2008;135(1):194-204.
88. Sturgeon C, Fasano A. Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue Barriers.* 2016;4(4):e1251384.
89. Vorobjova T, Raikkerus H, Kadaja L, Talja I, Uibo O, Heilman K, et al. Circulating Zonulin Correlates with Density of Enteroviruses and tolerogenic Dendritic Cells in the Small Bowel Mucosa of Celiac Disease Patients. *Dig Dis Sci.* 2017;62(2):358-71.

90. Duerksen DR, Wilhelm-Boyles C, Veitch R, Kryszak D, Parry DM. A comparison of antibody testing, permeability testing, and zonulin levels with small-bowel biopsy in celiac disease patients on a gluten-free diet. *Dig Dis Sci.* 2010;55(4):1026-31.
91. Schmidt-Ott KM, Mori K, Li JY, Kalandadze A, Cohen DJ, Devarajan P, et al. Dual Action of Neutrophil Gelatinase–Associated Lipocalin. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(2):407-13.
92. Devarajan P. Review: neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a troponin-like biomarker for human acute kidney injury. *Nephrology.* 2010;15(4):419-28.
93. Grzyb J, Latowski D, Strzałka K. Lipocalins - a family portrait. *J Plant Physiol.* 2006;163(9):895-915.
94. Cai L, Rubin J, Han W, Venge P, Xu S. The origin of multiple molecular forms in urine of HNL/NGAL. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5(12):2229-35.
95. Wang Y, Lam KS, Kraegen EW, Sweeney G, Zhang J, Tso AW, et al. Lipocalin-2 is an inflammatory marker closely associated with obesity, insulin resistance, and hyperglycemia in humans. *Clin Chem.* 2007;53(1):34-41.
96. Oikonomou KA, Kapsoritakis AN, Theodoridou C, Karangelis D, Germenis A, Stefanidis I, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in inflammatory bowel disease: association with pathophysiology of inflammation, established markers and disease activity. *J Gastroenterol.* 2012;47(5):519-30.
97. Mori K, Suzuki T, Minamishima S, Igarashi T, Inoue K, Nishimura D, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin regulates gut microbiota of mice. *J Gastroenterol Hepatol.* 2016;31(1):145-54.
98. Xiao X, Yeoh BS, Vijay-Kumar M. Lipocalin 2: An Emerging Player in Iron Homeostasis and Inflammation. *Annu Rev Nutr.* 2017;37:103-30.
99. Janas RM, Ochocińska A, Śnitko R, Dudka D, Kierkuś J, Teisseyre M, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in blood in children with inflammatory bowel disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2014;29(11):1883-89.

100. Biagi F, Bianchi PI, Marchese A, Trotta L, Vattiato C, Balduzzi D, et al. A score that verifies adherence to a gluten-free diet: a cross-sectional, multicentre validation in real clinical life. *Br J Nutr*. 2012;108(10):1884-8.
101. Jiang HY, Zhang X, Zhou YY, Jiang CM, Shi YD. Infection, antibiotic exposure and risk of celiac disease: a systematic review and meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol*. 2019 Nov 16.
102. Viitasalo L, Kurppa K, Ashorn M, Saavalainen P, Huhtala H, Ashorn S, et al. Microbial Biomarkers in Patients with Nonresponsive Celiac Disease. *Dig Dis Sci*. 2018;63(12):3434-41.
103. Food and Drug Administration, HHS. Food labeling: gluten-free labeling of foods. Final rule. *Fed Regist*. 2013;78(150):47154-79.
104. Hischenhuber C, Crevel R, Jarry B, Mäki M, Moneret-Vautrin DA, Romano A, et al. Review article: safe amounts of gluten for patients with wheat allergy or coeliac disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2006;23(5):559-75.
105. Bascuñán KA, Vespa MC, Araya M. Celiac disease: understanding the gluten-free diet. *Eur J Nutr*. 2017;56(2):449-59.
106. Itzlinger A, Branchi F, Elli L, Schumann M. Gluten-Free Diet in Celiac Disease-Forever and for All?. *Nutrients*. 2018;10(11):E1796.
107. Mehtab W, Singh N, Malhotra A, Makharia GK. All that a physician should know about gluten-free diet. *Indian J Gastroenterol*. 2018;37(5):392-401.
108. Newberry C. The Gluten-Free Diet: Use in Digestive Disease Management. *Curr Treat Options Gastroenterol*. 2019: 1-10.
109. Cardoso-Silva D, Delbue D, Itzlinger A, Moerkens R, Withoff S, Branchi F, et al. Intestinal Barrier Function in Gluten-Related Disorders. *Nutrients*. 2019;11(10):E2325.
110. Zhu J, Mulder CJJ, Dieleman LA. Celiac Disease: Against the Grain in Gastroenterology. *J Can Assoc Gastroenterol*. 2019;2(4):161-9.

111. Freire R, Ingano L, Serena G, Cetinbas M, Anselmo A, Sapone A, et al. Human gut derived-organoids provide model to study gluten response and effects of microbiota-derived molecules in celiac disease. *Sci Rep.* 2019;9(1):7029.
112. Singh P, Silvester J, Chen X, Xu H, Sawhney V, Rangan V, et al. Serum zonulin is elevated in IBS and correlates with stool frequency in IBS-D. *United European Gastroenterol J.* 2019;7(5):709-15.
113. Hollon J, Puppa EL, Greenwald B, Goldberg E, Guerrerio A, Fasano A. Effect of gliadin on permeability of intestinal biopsy explants from celiac disease patients and patients with non-celiac gluten sensitivity. *Nutrients.* 2015;7(3):1565-76.
114. Rose DR, Yang H, Serena G, Sturgeon C, Ma B, Careaga M, et al. Differential immune responses and microbiota profiles in children with autism spectrum disorders and co-morbid gastrointestinal symptoms. *Brain Behav Immun.* 2018;70:354-68.
115. Sturgeon C, Lan J, Fasano A. Zonulin transgenic mice show altered gut permeability and increased morbidity/mortality in the DSS colitis model. *Ann N Y Acad Sci.* 2017;1397(1):130-42.
116. Rajpoot P, Sharma A, Harikrishnan S, Baruah BJ, Ahuja V, Makharia GK. Adherence to gluten-free diet and barriers to adherence in patients with celiac disease. *Indian J Gastroenterol.* 2015;34:380–6.
117. Jadresin O, Misak Z, Sanja K, Sonicki Z, Zizić V. Compliance with gluten-free diet in children with coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2008;47:344–8.
118. Valitutti F, Fasano A. Breaking Down Barriers: How Understanding Celiac Disease Pathogenesis Informed the Development of Novel Treatments. *Dig Dis Sci.* 2019;64(7):1748-58.
119. Ozemir IA, Aslan S, Eren T, Bayraktar B, Bilgic C, Isbilen B, et al. The Diagnostic and Prognostic Significance of Serum Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin Levels in Patients with Colorectal Cancer. *Chirurgia (Bucur).* 2016;111(5):414-21.

120. Duvillard L, Ortega-Deballon P, Bourredjem A, Scherrer ML, Manton G, Delhomme JB, et al. A case-control study of pre-operative levels of serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin and other potential inflammatory markers in colorectal cancer. *BMC Cancer*. 2014;14:912.
121. Toyonaga T, Matsuura M, Mori K, Honzawa Y, Minami N, Yamada S, et al. Lipocalin 2 prevents intestinal inflammation by enhancing phagocytic bacterial clearance in macrophages. *Sci Rep*. 2016;6:35014.
122. Muthas D, Reznichenko A, Balendran CA, Böttcher G, Clausen IG, Kärman Mårdh C, et al. Neutrophils in ulcerative colitis: a review of selected biomarkers and their potential therapeutic implications. *Scand J Gastroenterol*. 2017;52(2):125-35.
123. de Bruyn M, Arijs I, De Hertogh G, Ferrante M, Van Assche G, Rutgeerts P, et al. Serum Neutrophil Gelatinase B-associated Lipocalin and Matrix Metalloproteinase-9 Complex as a Surrogate Marker for Mucosal Healing in Patients with Crohn's Disease. *J Crohns Colitis*. 2015;9(12):1079-87.
124. Thorsvik S, van Beelen Granlund A, Svendsen TD, Bakke I, Røyset ES, Flo TH, et al. Ulcer-associated cell lineage expresses genes involved in regeneration and is hallmarked by high neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) levels. *J Pathol*. 2019;248(3):316-25.
125. Thorsvik S, Bakke I, van Beelen Granlund A, Røyset ES, Damås JK, Østvik AE et al. Expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in the gut in Crohn's disease. *Cell Tissue Res*. 2018;374(2):339-48.
126. Østvik AE, Granlund AV, Torp SH, Flatberg A, Beisvåg V, Waldum HL, et al. Expression of Toll-like receptor-3 is enhanced in active inflammatory bowel disease and mediates the excessive release of lipocalin 2. *Clin Exp Immunol*. 2013;173(3):502-11.
127. Janas RM, Rybak A, Wierzbicka-Rucińska A, Socha P, Śnitko R, Szaflarska-Popławska A, et al. Serum Concentrations of Insulin, Ghrelin, Adiponectin, Leptin, Leptin Receptor and Lipocalin-2 in Children with Celiac Disease Who Do and Do Not Adhere to a Gluten-Free Diet. *Gut Liver*. 2016;10(4):587-94.

## 6.EKLER

EK-1

### DİYETE UYUM SKORLAMASI

