



УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА

Јелена Р. Цековић Ђорђевић

**КЛИНИЧКИ ЗНАЧАЈ ОДРЕЂИВАЊА
КОНЦЕНТРАЦИЈЕ ФЕКАЛНОГ КАЛПРОТЕКТИНА
КОД ПРЕВРЕМЕНО РОЂЕНЕ ДЕЦЕ**

докторска дисертација

Крагујевац, 2024.



UNIVERZITET U KRAGUJEVCU
FAKULTET MEDICINSKIH NAUKA

Jelena R. Ceković Đorđević

**KLINIČKI ZNAČAJ ODREĐIVANJA KONCENTRACIJE
FEKALNOG KALPROTEKTINA KOD PREVREMENO
ROĐENE DECE**

doktorska disertacija

Kragujevac, 2024.



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

Jelena R. Ceković Đorđević

**CLINICAL SIGNIFICANCE OF FECAL CALPROTECTIN
CONCENTRATION DETERMINATION IN
PREMATURE CHILDREN**

Doctoral Dissertation

Kragujevac, 2024

Идентификациона страница докторске дисертације

Аутор
Име и презиме: Јелена Цековић Ђорђевић
Датум и место рођења: 25.04.1986., Крагујевац
Садашње запослење: Лекар специјалиста педијатрије запослена у Универзитетском Клиничком центру Крагујевац; Фацилитатор за ужу научну област Педијатрија на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу
Доктроска дисертација
Наслов: Клинички значај одређивања концентрације фекалног калпротектина код превремено рођене деце
Број страница: 104
Број слика: 15
Број библиографских података: 213
Установа и место где је рад израђен: Универзитетски клинички центар Крагујевац
Научна област (УДК): Медицина (61)
Ментор: проф. др Александра Симовић , ванредни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Педијатрија
Оцена и одбрана
Датум пријаве теме: 23.07.2020.
Број одлуке и датум прихватања докторске дисертације: IV-03-830/6, 18.11.2020.
Комисија за оцену научне заснованости теме и испуњености услова кандидата: <ol style="list-style-type: none">1. Проф. др Биљана Вулетић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Педијатрија, председник;2. Проф. др Зоран Игрутиновић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Педијатрија, члан;3. Проф. др Милош Јешић, редовни професор Факултета медицинских наука Универзитета у Крагујевцу за ужу научну област Педијатрија-неонатологија, члан;
Комисија за оцену и одбрану докторске дисертације:
Датум одбране докторске дисертације:

Identifikaciona stranica doktorske disertacije

Autor	
Ime i prezime: Jelena Ceković Đorđević	
Datum i mesto rođenja: 25.04.1986., Kragujevac	
Sadašnje zaposlenje: Lekar specijalista pedijatrije zaposlena u Univerzitetskom Kliničkom centru Kragujevac; Facilitator za užu naučnu oblast Pedijatrija na Fakultetu medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu	
Doktorska disertacija	
Naslov: Klinički značaj određivanja koncentracije fekalnog kalprotektina kod prevremeno rođene dece	
Broj stranica: 104	
Broj slika: 15	
Broj bibliografskih podataka: 213	
Ustanova i mesto gde je rad izrađen: Fakultet medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu	
Naučna oblast (UDK): Medicina (61)	
Mentor: prof. dr Aleksandra Simović , vanredni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Pedijatrija	
Oцена i odbrana	
Datum prijave teme: 23.07.2020.	
Broj odluke i datum prihvatanja doktorske disertacije: IV-03-830/6, 18.11.2020	
Komisija za ocenu naučne zasnovanosti teme i ispunjenosti uslova kandidata: <ol style="list-style-type: none">1. Prof. dr Biljana Vuletić, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Pedijatrija, predsednik;2. Prof. dr Zoran Igrutinović, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Pedijatrija, član;3. Prof. dr Miloš Ješić, redovni profesor Fakulteta medicinskih nauka Univerziteta u Kragujevcu za užu naučnu oblast Pedijatrija-neonatologija, član;	
Komisija za ocenu i odbranu doktorske disertacije:	
Datum odbrane doktorske disertacije:	

Doctoral dissertation identification page

Author
Name and surname: Jelena Ceković Đorđević
Date and place of birth: 25.04.1986., Kragujevac
Current employment: Doctor specialist in pediatrics employed at the University Clinical Center Kragujevac; Facilitator for the narrow scientific field of Pediatrics at the Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
Doctoral Dissertation
Title: Clinical significance of determination of fecal calprotectin concentration in premature children
Number of pages: 104
Number of images: 15
Number of bibliographic data: 213
Institution and the place of work: Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac
Naučna oblast (UDK): Medicine (61)
Mentor: prof. dr Aleksandra Simović , associate professor of the Faculty of Medical Sciences of the University of Kragujevac for the narrower scientific field of Pediatrics
Assessment and defense
Date of application of the topic: 23.07.2020.
Decision number and date of acceptance of the doctoral dissertation: IV-03-830/6, 18.11.2020
Commission for evaluation of the scientific merit of the topic and the eligibility of the candidate: <ol style="list-style-type: none">1. Prof. dr Biljana Vuletić, Full professor of Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, for the narrow scientific field of Pediatrics, president;2. Prof. dr Zoran Igrutinović, Full professor of Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, for the narrow scientific field of Pediatrics, member;3. Prof. dr Miloš Ješić, Full professor of Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, for the narrow scientific field of Pediatrics-neonatology, member;
Committee for evaluation and defense of doctoral dissertation:
Date of defense of doctoral dissertation:

ЗАХВАЛНИЦА

Захваљујем се свом ментору: проф. др Александри Симовић, на изузетној стручној помоћи, саветима, стрпљењу и разумевању које је за мене имала као и привилегији да будем њен докторанд. Неизмерно стручно знање, посвећеност мом докторату, несебично дељење искуства и вођење кроз све фазе истраживања били су незаменљиви. Желела бих да се захвалим и свим члановима комисије: проф. др Биљани Вулетић, проф. др Зорану Игрутиновићу и проф. др Милошу Јашићу, на залагању, сарадњи, идејама и сугестијама током целокупне реализације ове докторске дисертације. На крају, захвалност дугујем својој породици на неизмерној подршци и разумевању, а посебно свом супругу Александру Ђорђевићу и на статистичкој обради података, као и на помоћи око техничког уређивања рада.

САЖЕТАК

Увод: Иако се сматра да фекални калпротектин (ФКП) може бити користан маркер за идентификацију неонаталне ентеропатије, постоје извесна ограничења у његовој дијагностичкој ефикасности, која произлазе из варијабилности у методологији његове екстракције, перформанси комплета за његово одређивање или утицаја перинаталних фактора на његово излучивање.

Материјал и методе: У току израде докторске дисертације анализирано је 143/207 превремено рођена детета, (просечне гестацијске старости $32,44 \pm 2,34$ недеље) и 64/207 терминске новорођенчади, (просечне гестацијске старости $39,141 \pm 1,09$ недеља), без цревних и других урођених аномалија. ФКП је детектован из прве спонтане столице, анализирани на апарату Alegria, применом методе ензимског имуносорбентног теста (ЕЛИСА).

Резултати: Вредности ФКП-а позитивно су корелирале са женским полом, интраутерусним застојем у расту, хемодинамски значајним дуктус артериозусом, интолеранцијом ентералне исхране, постнаталном употребом антибиотика широког спектра и вредностима бикарбоната. Иако демографске карактеристике испитаника (гестацијска старост, телесна тежина, Аргаг скор, тип порођаја и исхране) нису значајно утицали на његове вредности, код превремено рођене деце са телесном тежином <1500 грама детектоване су највеће вредности ФКП-а. Двонедељна суплементација пробиотиком (*Lactobacillus rhamnosus* GG, уз додатак цинка и витамина Д3) довела је до сигнификантног смањења ФКП-а, али не и учесталости некротизирајућег ентероколитиса (НЕК-а).

Закључак: Мерење ФКП-а у првој недељи живота, код превремено рођене деце може помоћи у раном откривању интолеранције ентералне исхране или цревног дистреса, док рани пораст Ц-реактивног протеина ≥ 51.55 mg/L, са сензитивношћу 75% и специфичношћу 97% може да предвиди акутни НЕК. Пораст ФКП-а у трећој недељи живота ≥ 38.9 $\mu\text{g/g}$ са сензитивношћу 85,7% и специфичношћу 57,8% указује на прогресију цревног дистреса и развој НЕК-а.

Кључне речи: превремено рођено дете, гастроинтестинални тракт, дијагностички маркери, фекални калпротектин, некротизирајући ентероколитис.

ABSTRACT

Introduction: Despite fecal calprotectin (FCP) being considered a valuable marker for neonatal enteropathy identification, its diagnostic efficiency is constrained by methodological variability in extraction, kit performance, and the impact of perinatal factors on its excretion.

Material and methods: Within the doctoral dissertation, 143 out of 207 premature infants (C.B. gestational age 32.44 ± 2.34 weeks) and 64 out of 207 full-term infants (C.B. gestational age 39.141 ± 1.09 weeks), excluding those with intestinal or congenital anomalies, were analyzed. FCP was detected in their first spontaneous stool using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method on the Alegria apparatus.

Results: FCP levels exhibited positive correlations with female sex, intrauterine growth retardation, significant ductus arteriosus, enteral feeding intolerance, broad-spectrum antibiotic use postnatally, and bicarbonate values. While demographic characteristics (gestational age, body weight, Apgar score, delivery type, and nutrition) showed no significant impact on FCP values, the highest FCP levels were observed in premature infants weighing <1500 grams. Two weeks of probiotic supplementation (*Lactobacillus rhamnosus* GG, supplemented with zinc and vitamin D3) notably reduced FCP levels but not the incidence of necrotizing enterocolitis (NEC).

Conclusion: Early measurement of FCP in the first week of life among premature infants can aid in early detection of enteral nutrition intolerance or intestinal distress. An early rise in C-reactive protein ≥ 51.55 mg/L, with 75% sensitivity and 97% specificity, can predict acute NEC. Moreover, an FCP increase in the third week of life ≥ 38.9 $\mu\text{g/g}$, with 85.7% sensitivity and 57.8% specificity, indicates the progression of intestinal distress and NEC development.

Key words: Premature infants, Gastrointestinal tract, Diagnostic markers, Fecal calprotectin, Necrotizing enterocolitis

Садржај

1. УВОД.....	1
1.1. Фекални калпротектин (ФКП)	1
1.1.1. Примена фекалног калпротектина као скрининг теста код деце и одраслих	2
1.1.1.1. Улога фекалног калпротектина у разликовању болести од функционалних поремећаја црева	3
1.1.1.2. Улога фекалног калпротектина у дијагнози ванцревних инфламаторних болести	6
1.1.2. Прогностички значај фекалног калпротектина код деце и одраслих	10
1.1.3. Референтне вредности фекалног калпротектина по добним групама	12
1.1.4. Примена фекалног калпротектина као скрининг теста у неонатологији	14
1.2 Некротични ентероколитис (НЕК)	15
1.2.1 Инциденца / преваленца	16
1.2.2 Етиологија/ ризикофактори	16
1.2.3 Патофизиолошки механизми	19
1.2.4 Дијагноза	20
1.2.4.1 Диференцијална дијагноза	21
1.2.5 Компликације.....	23
1.2.6 Терапија.....	24
1.2.6.1 Улога пребиотика у превенцији некротичног ентероколитиса	25
1.2.6.2 Улога пробиотика у превенцији некротичног ентероколитиса	26
2. ЦИЉ И ХИПОТЕЗЕ.....	28
2.1 Основни циљеви студије	28
2.2 Хипотезе испитивања.....	28
3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ	29
3.1 Посматране групе испитаника	29
3.2. Анализиране варијабле	30
3.3 Снага студије и величина узорка	32
3.4 Ограничења студије	32
3.5 Статистичка обрада података.....	32
4. РЕЗУЛТАТИ.....	33
4.1 Клиничке карактеристике посматраних испитаника	33
4.2 Заступљеност најчешћих пренаталних фактора.....	35
4.3 Заступљеност најчешћих пери/постнаталних фактора.....	38

4.4 Перцентилна расподела фекалног калпротектина у посматраним групама и значајност разлике	40
4.5 Корелација демографских карактеристика испитаника са нивоом фекалног калпротектина	43
4.6. Утицај гестацијске старости и телесне масе на ФКП	46
4.6.1 Дистрибуција меконијалног фекалног калпротектина према гестацијској старости.....	48
4.6.2 Дистрибуција фекалног калпротектина према порођајној телесној маси.....	48
4.7 Биохемијски статус новорођенчета и фекални калпротектин	49
4.7.1 Ц-реактивни протеин (ЦРП).....	50
4.7.2 Бикарбонати.....	52
4.7.3 Други фекални калпротектин.....	53
4.8 Корелација фекалног калпротектина са клиничким карактеристикама новорођеног детета.....	55
4.8.1 Улога фекалног калпротектина и Ц-реактивног протеина као раног индикатора некротичног ентероколитиса	62
5. ДИСКУСИЈА	64
5.1. Утицај пренаталних (феталних) и перинаталних фактора на излучивање фекалног калпротектина	64
5.1.1 Утицај гестацијске старости и телесне масе на вредности фекалног калпротектина.....	67
5.2. Утицај постнаталних фактора на излучивање фекалног калпротектина	69
5.2.1 Хемодинамски значајан дуктус артериозус и фекални калпротектин	72
5.2.2. Утицај типа исхране (природна/вештачка) на фекални калпротектин.....	72
5.2.2.1 Нетолеранција ентералне исхране.....	74
5.2.3. Ентерална дисбиоза и фекални калпротектин	76
5.2.4. Утицај биолошки активних супстанци на излучивање фекалног калпротектина	77
5.2.4.1 Утицај ране примене пробиотика на интестиналну инфламацију	78
5.2.5. Предиктивни значај фекалног калпротектина и Ц-реактивног протеина у раној дијагнози некротичног ентероколитиса	80
6. ЗАКЉУЧАК.....	83
7. ЛИТЕРАТУРА.....	86
8.0 ПРИЛОГ	105
8.1 Скраћенице.....	105
8.2 Биографски подаци аутора	107
9.3 Презентовани и објављени радови	107

1. УВОД

1.1. Фекални калпротектин (ФКП)

Фекални калпротектин (ФКП) је протеински комплекс од 36,5 *kDa* који служи за везивање калцијума и цинка и припада „породици“ протеина *S-100* који чине око 60% растворљивих цитосолних протеина у неутрофилима (Jeong, 2019). Такође је присутан у моноцитима, макрофагима и епителним ћелијама дигестивног тракта (Lisowska-Mujak et al., 2015; Lopez et al., 2017; MacQueen et al., 2018; Jeong 2019). Регулише инфламаторне процесе и има антимикуробна и антипролиферативна својства (Jeong, 2019; MacQueen et al., 2018). Калпротектин се ослобађа након запаљенског процеса у цревима и може се детектовати у фецесу и плазми, при чему је његова концентрација у столици око шест пута већа од плазме (Albanna et al., 2014; Lisowska-Mujak et al., 2015; Lopez et al., 2017; Lee et al., 2017).

С обзиром да се ФКП углавном излучује из неутрофила, који насељавају лумен дигестивног тракта, све више се испитује његова потенцијална улога као неинвазивног дијагностичког скрининг теста инфламације или утицаја стресогених фактора, на дигестивни тракт новорођенчета (респираторни дистрес синдром, перинатална асфиксија, полицитемија, сепса и слично) (MacQueen et al., 2018; Lopez et al., 2017). Такође, све већи значај придаје му се и као раном неинвазивном маркеру некротичног ентероколитиса (НЕК), у субпопулацији превремено рођене деце (Shenoy et al., 2014; Ho et al., 2019).

Патомеханизам НЕК-а карактерише развој упале са значајним учешћем неутрофила, као резултат незрелог одговора ентероцита на бактеријску стимулацију и започињање ентералне исхране (Albanna et al., 2014; Shenoy et al., 2014; Ho et al., 2019). Неки аутори верују да овај параметар нема улогу у дијагнози НЕК-а, посебно у раним фазама (MacQueen et al., 2018; Ho et al., 2019). Наиме, пораст ФКПа није увек претходио клиничким знацима НЕК-а и у многим случајевима појављивао се касније него радиографски докази. С друге стране, значајна корелација овог параметра са акутним НЕК-ом је важна информација за неонатологе, јер је од користи за проспективну процену НЕК-а (Shenoy et al., 2014; Ho et al., 2019). Повећање нивоа ФКП-а, током серијских мерења код новорођенчади са суспектним НЕК-ом може омогућити рану дијагнозу и помоћи у предвиђању исхода (Lisowska-Mujak et al., 2015; Ho et al., 2019). У том оквиру, постоји научни интерес да се побољша разумевање фактора који утичу на излучивање ФКП-а у првим данима живота, што је био и основни циљ ове студије.

Изгледа да би ФКП могао бити користан маркер у идентификацији неонаталне ентеропатије, али постоје извесна ограничења у његовој дијагностичкој ефикасности. Она потичу од варијабилности у методологији његове екстракције, перформанси комплета (китова, од енглеске речи *kits*) за његово одређивање, гестацијске/постнаталне старости, начина завршетка порођаја, типа исхране, примене неких лекова (индометацин, ибупрофен, антибиотици) или биолошки активних супстанци (пребиотици/пробиотици, цинк, витамин *D3*).

Тренутно предложене неонаталне граничне вредности су веће, у односу на адултну и дечју популацију, а већина аутора не налази значајну разлику у нивоу ФКП-а, у односу на гестацијску и постнаталну старост, или тежину при рођењу (MacQueen et al., 2018;

Lisowska-Mujak *et al.*, 2015). Ипак, Park и сарадници (2019) уочавају сигнификантно смањење концентрације ФКП-а после друге недеље живота, док Costa и сарадници (2020) пријављују утицај исхране, на његове вредности.

Важна област интересовања у превенцији неонаталних болести је утицај пробиотика и других биолошки активних супстанци на смањење интестиналне инфламације. Сматра се да је кључни механизма пробиотика потенцијал за промену цревног микробиома (Albanna *et al.*, 2014; Shenoy *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2017). Један од циљева ове студије би управо био процена ефеката пробиотика *Lactobacillus rhamnosus GG* на излучивање ФКП-а, када се он даје превремено рођеној деци заједно са другим биолошки активним супстанцама (цинк и D3 витамин), у физиолошки релевантним дозама. Многа истраживања последњих деценија процењивала су ефикасност пробиотика, при чему су коришћени различити пробиотици или различите комбинације пробиотичких бактерија, као и комбинације пробиотика са другим биолошки активним супстанцама (Albanna *et al.*, 2014; Shenoy *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2017). Упркос извесном напретку на животињским моделима, било је недоследних резултата приликом употребе пробиотика, у клиничким испитивањима. Ове недоследности су делимично последица променљивих крајњих тачака, примењене дозе, врсте пробиотика, трајања примене, разлика у типу исхране и евалуације различитих старосних група новорођенчади. Упркос овим проблемима, постоје убедљиви докази о користи (Albanna *et al.*, 2014; Shenoy *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2017), нарочито када се пробиотици дају превремено рођеној деци на антимикуробној терапији, (на смањење учесталости НЕК-а, касне сепсе, механичком вентилацијом условљене пнеумоније, мултирезистенције на антибиотску терапију и резултирајуће смртности).

Ипак, и даље постоји значајан недостатак података о ефектима употребе пробиотика и других биолошки активних супстанци у неонаталној популацији, а посебно код веома незреле деце. На важна питања тек треба одговорити, укључујући који пробиотички сојеви су најбољи, које дозе треба користити, када треба започети или прекинути давање пробиотика и да ли их треба давати са или без хране? Док се не одговори на нека од ових кључних питања, остаје неопходно да се наставе истраживања о могућем напретку у лечењу, или превенцији НЕК-а код превремено рођене деце.

1.1.1. Примена фекалног калпротектина као скрининг теста код деце и одраслих

Имајући у виду број инфламаторних болести, које директно или индиректно утичу на гастроинтестинални тракт, заједно са значајним преклапањем са функционалним поремећајима интестиналног тракта, очигледно је да су потребни кориснији, али притом и неинвазивни дијагностички тестови, који би били од помоћи у постављању дијагнозе. Ови тестови би требало да буду од користи у праћењу појединачних пацијената, у смислу праћења активности инфламаторне болести црева (ИБЦ) и самог одговора на лечење, као и да рано упозоре на релапс болести, што је изузетно корисна информација за клиничаре (Røseth *et al.*, 1992).

ФКП, као скрининг тест испунио је неколико од ових карактеристика, а његова употреба заснива се на "цурењу" цитоплазматског протеина мононуклеарне ћелије - калпротектина, дуж цревног тракта, који се затим може квантификовати у фецесу. Овај тест се код деце и одраслих користи за разликовање пацијената који показују симптоме синдрома иритабилних црева, од пацијената са инфламаторном болешћу црева (Кронова болест и Улцерозни колитис), са већим успехом од техника које се тренутно користе.

1.1.1.1. Улога фекалног калпротектина у разликовању болести од функционалних поремећаја црева

Симптоми болести могу бити важан показатељ упале и активности ИБЦ-а, али су субјективни и на њих могу утицати друге неинфламаторне карактеристике, као што су интестинална структура или малапсорпција жучних соли (*Konikoff & Denson, 2006*). Индекси активности, као што су индекс активности Кронове болести и *Harvey Bradshaw* индекс користе комбинацију симптома, налаза и лабораторијских параметара за утврђивање активности болести. Ови индекси (*Husebye et al., 2001*) су ригорозно развијени и потврђени у клиничким испитивањима, али су гломазни за употребу у свакодневној клиничкој пракси и још увек се у великој мери ослањају на субјективне симптоме пацијената. Серолошки и хематолошки параметри се широко користе за процену активности болести, али ови системски маркери имају ниску осетљивост и специфичност за интестиналну инфламацију и слабо корелирају са симптомима и индексима активности болести. Студије (*Rugtveit & Fagerhol, 2002; Costa et al., 2003; Campeotto et al., 2004*) засноване на снимцима као што су магнетна резонанца и скенер, баријумски клистири и ентероклизма могу бити корисне у локализацији цревне упале, али ове студије су често скупе, имају субоптималну осетљивост и/или специфичност, а могу бити и инвазивне, или изложити пацијента јонизујућем зрачењу.

Тренутни златни стандард за процену упале црева је ендоскопски преглед са биопсијом слузнице. Ова техника омогућава визуелни преглед интестиналног тракта, а биопсијом слузнице се могу добити узорци за хистолошки преглед (*Park et al., 2019*). Овом процедуром се може утврдити локализација, обим и тежина болести, али је инвазивна, не може се прегледати цео гастроинтестинални тракт, захтева вештог оператера и непријатан је припремни режим. Бежична капсуларна ендоскопија је сада омогућила визуализацију целог танког црева. Међутим и ово је донекле инвазивна метода, ограничена је ценом и немогућношћу добијања узорака ткива.

Јасно је да ендоскопске технике, услед наведених ограничења спречавају честу процену активности болести. Због тога је било потребно да се пронађе једноставан, брз, довољно осетљив, специфичан, јефтин и пре свега неинвазиван маркер, за откривање и праћење цревне инфламације. Новије студије указују да би фекални калпротектин могао имати све ове карактеристике (*Costa et al., 2020*).

Røseth и сарадници (1992) су развили прву методу изоловања и квантификације калпротектина у столицу, применом ЕЛИСА (од енгл. „*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*“), користећи зеџа антитела на ФКП. Од тада је побољшан, комерцијално доступан и валидиран ЕЛИСА тест, где се могу анализирати мањи узорци столице (0,1 g), који се екстрахују са 5 ml пуфера, у затвореној епрувети.

Овај тест је показао веома добру корелацију ($r = 0,87$), у односу на тродневно излучивање Индијумом-означених гранулоцита. Новији тест мери концентрацију калпротектина у микрограмима по граму, уместо у милиграмима по литру, као у оригиналном тесту. Подаци добијени новом методом могу се екстраполовати употребом конверзионог фактора. Калпротектин је изузетно стабилан протеин у присуству калцијума и отпоран је на протеолитичку разградњу у столицу. Узорци калпротектина у свежој столицу су подједнако поуздани као узорци сакупљени током 24 сата, с веома високом међусобном корелацијом ($r = 0,90$). Препоручује се да се колектује 20 g столице у нестерилном контејнеру и да се пошаље преко ноћи у комерцијалну лабораторију.

Извршено је неколико истраживања која су испитивала интра- и интер-есејну варијабилност новијих и старијих тестова за мерење калпротектина, и утврђено је да су

оне прихватљиви, са интраесејном варијабилношћу мањом од 5% и интересејном варијабилношћу од 10% до 40%. Међутим, *Husebye* и сарадници (2001) су показали да одређени испитаници могу имати нестабилне концентрације калпротектина, које имају већу дневну варијабилност и прелазе препоручене граничне вредности, што отежава интерпретацију појединачног мерења калпротектина, нарочито у случајевима тешког пролива.

Снажна позитивна корелација између концентрације ФКП-а и фекалног излучивања неутрофила пронађена је код пацијената са ИБЦ, подржавајући хипотезу да је повећање ФКП првенствено резултат повећане миграције неутрофила у лумен црева, преко инфламиране слузнице. Докази да су концентрације ФКП повишене и у другим стањима које карактерише интестинална упала, као што су бактеријски гастроентеритис и нестероидна ентеропатија, подржавају ову хипотезу. Концентрације ФКП такође корелирају са мерењима цревне пермеабилности (излучивање етилен-диамин тетра сирћетне киселине-*Cr-EDTA* обележене хромом-51 и однос лактулозе/*L-rhamnose*), што је примарни дефект у Кроновој болести (енгл. *Crohn's disease*) танког црева.

ФКП се показао осетљивијим маркером од праћења баријума у танком цреву, приликом идентификације пацијената са органском болешћу црева, а ФКП добро корелира и са вредностима белих крвних зрнаца у серуму код деце са ИБЦ (*Tibble et al.*, 1999).

Концентрације ФКП-а су у складу и са ендоскопском и хистолошком проценом активности болести, код одраслих и деце са ИБЦ. Ово су првобитно објавили *Roseth* и сарадници, који су показали је код одраслих особа са активним улцерозним колитисом (УК), мерено ендоскопским и хистолошким системима градијације постојала веће концентрације ФКП од одраслих са благо активним (или неактивним) УК и одраслих са нормалном колоноскопијом. *Vunn* и сарадници (2001) су имали сличне резултате код деце са ИБЦ, показујући блиску корелацију концентрације ФКП са ендоскопским и хистолошким резултатима упале. ФКП је предвиђао озбиљност колоректалне инфламације код одраслих, са порастом нивоа ФКП-а који је снажно корелирао са напредовањем хистолошког степена колоректалне инфламације. Такође се показало, да концентрације калпротектина у фецесу корелирају са активношћу болести, упркос ресекцији црева.

Costa и сарадници (2003) су прегледали пацијенте са Кроновом болешћу, који су били подвргнути ресекцијама црева; од 12 пацијената 8 их је имало доказе о рецидиву, који укључује анастомозу. Свих 8 пацијената је имало повишене концентрације фекалног калпротектина, док су 4 пацијента без рецидива болести имала нормалне нивое ФКП-а. Иако нема података о концентрацији ФКП код улцерација на ивицама шавова, у одсуству рецидива ИБЦ-а, локална упала на месту улцерације може довести до повишених концентрација фекалног калпротектина, у одсуству активне ИБЦ. Ове студије подржавају закључак да концентрација ФКП-а одражава неутрофилну интестиналну инфламацију, на нивоу ткива.

Као што је већ поменуто, блага упала цревног тракта може бити последица инфекције, алергије на храну или уноса нестероидних антиинфламаторних лекова. Најчешћа алергија на храну код млађе деце је алергија на протеине крављег млека, тј. реакција преосетљивости на протеин крављег млека, са најчешћом клиничком манифестацијом у виду алергијског колитиса. *Lendvai-Emmert* и сарадници (2022) су проспективно посматрали ефекте елиминационе дијете са млечним производима користећи објективне параметре и упитнике. Студија је спроведена у Мађарској и обухватила је децу узраста од 1 до 18 година, која су имала клиничке знаке могуће алергије на протеине крављег млека. Узорци столице су анализирани коришћењем брзог теста ФКП (*Kvantum Blue*

fCAL, *Buhlmann Laboratories*, Швајцарска) у време постављања дијагнозе и након 3 месеца елиминационе дијете. Пацијенти су подељени у две подгрупе према смерницама за исхрану, на основу резултата упитника. У студији је учествовало укупно 47 пацијената (42,55% женског пола, просечне старости $7,36 \pm 4,22$ године). Разлика у нивоима ФКП-а није била значајна од почетне вредности до вредности након тромесечне елиминационе дијете (73,98 (71,12) $\mu\text{g/g}$ и 68,11 (74,4) $\mu\text{g/g}$, респективно, $p = 0,331$). После три месеца нивоа ФКП-а је значајно умањењ код пацијената који су се придржавали строге дијете (84,06 (79,48) $\mu\text{g/g}$ и 41,11 (34,24) $\mu\text{g/g}$, респективно, $p = 0,001$). Аутори сугеришу да ФКП може бити објективан маркер у потврђивању дијагнозе алергија на протеине крављег млека, при чему се значајно побољшање клиничких симптома и нивоа ФКП-а може очекивати само након стриктног поштовања елиминационе дијете.

Концентрације ФКП-а су повишене код деце са инфламаторном болешћу црева, у односу на здраве испитанике (*Husebye et al.*, 2001; *Rugtveit & Fagerhol*, 2002; *Costa et al.*, 2003; *Campeotto et al.*, 2004), док пацијенти са функционалним болестима црева (функционални поремећај без хистолошки идентификоване интестиналне инфламације) имају сличне концентрације ФКП-а, онима код здравих, контролних испитаника (*Tibble et al.*, 1999). Ипак, извесни аутори код одојчади са инфантилним коликама пријављују повишене вредности ФКП-а. Етиологија инфантилних колика остаје непозната, иако је могуће да су укључени поремећај гастро-интестиналног микробиома, повећана цревна пермеабилност и хронична упала, као и фактори повезани са понашањем родитеља, укључујући прекомерну или недовољну стимулацију дигестивног тракта. Инфантилне колике често представљају изазов за здравствене раднике када треба да искључе органску болест црева код одојчади. У студији *Sommermeier* и срадника (2022) ниво калпротектина није био под утицајем пола, типа исхране (природна/вештачка), гестацијске старости или тежине при рођењу. Међутим, код новорођене деце рођене царским резом пронађене су значајно више вредности фекалног калпротектина. Фекални калпротектин $\geq 100 \mu\text{g/g}$ фецеса корелирао је са инфантилним коликама, док су вредности $< 100 \mu\text{g/g}$ указивале на одсуство колика. Комбиновање података о фекалном калпротектину са информацијама о типу порођаја омогућило је ауторима да утврде какав је статус код вагинално рођене новорођенчади са фекалним калпротектином $\geq 100 \mu\text{g/g}$ фецеса, са тачношћу од 97,8%. Како повишени нивои ФКП код новорођене деце рођене царским резом могу бити узроковани инфламацијом црева, али и поремећеном микробиотом црева, која се уобичајено налази код ове новорођенчади, тачност дијагностиковања колика код новорођенчади рођене царским резом са нивоима калпротектина $\geq 100 \mu\text{g/g}$ је нажалост била мање прецизна (сензитивност 76,5%).

Чини се да ФКП данас има боље позитивне и негативне предиктивне вредности код деце, у односу на одрасле, али су потребне веће студије, да би се разјаснили ови налази. Важна ствар је, међутим, да је објављено мало студија које указују на то да је ФКП лош маркер. Нејасно је да ли ово представља потенцијалну пристрасност приликом објављивања, или једноставно снагу збирних података. Стога ФКП не треба сматрати маркером органске болести црева, него маркером неутрофилне интестиналне инфламације. Многа уобичајена органска цревна обољења, као што су целијакија, дивертикулоза и колоректални карцином, нису једнолично окарактерисана значајним неутрофилним инфилтратима, а успешно откривање ових поремећаја ФКП-ом је недоследно.

Коришћење ФКП-а као неспецифичног теста, за све органске цревне болести довешће до ниже осетљивости и угрозиће његову корисност као скрининг теста. Негативан ФКП тест због тога не треба тумачити као апсолутно поуздан показатељ „здравља“ црева, већ само као показатељ одсуства значајне неутрофилне инфламације. Дакле, ФКП може бити од највеће помоћи у разликовању пацијената са функционалним поремећајима црева, од

оних са ИБЦ, као и у разликовању клиничких знакова ИБЦ-а узрокованих активирањем саме болести, од неинфламаторних компликација ИБЦ-а. ФКП такође, може бити од помоћи у обезбеђивању објективних доказа о терапијском одговору пацијената са ИБЦ, уместо ослањања лекара на клиничке знаке и симптоме, што је тренутна пракса. Иако је потребно више студија да би се у потпуности дефинисала улога ФКП-а, адекватно научно засноване студије и све веће клиничко искуство указују на проширену улогу ФКП-а, у дијагнози и лечењу ИБЦ-а (*Husebye, 2001*).

1.1.1.2 Улога фекалног калпротектина у дијагнози ванцревних инфламаторних болести

За ФКП се данас може рећи да је веома осетљив маркер за утврђивање запаљења интестиналног тракта. Међутим, његова клиничка употребљивост може се уочити и код екстраинтестиналних болести. Недавни докази сугеришу везу између упале црева и дерматолошких, реуматских и неуролошких болести (*Saviano et al., 2022*).

Кожа и интестинална мукоза су баријере које деле многе сличности, јер су обе у контакту са окружењем и први су „браник“ против патогена. Обе су насељене имуним ћелијама и колонизоване микробима. Повезаност црева и коже, или веза црева-мозак-кожа су критичне за одржавање општег здравља. Поред тога, све више се истражује улога цревне микробиоте у корелацији са функцијом мозга или неуролошким поремећајима. Неуравнотежен састав цревне микробиоте примећен је код ових болести, са прекомерном експресијом проинфламаторних бактерија, што може допринети појави цревне упале. Слично томе, цревни микробиом је кључни фактор у развоју аутоимуних и реуматолошких болести, због свог учешћа у имунолошкој хомеостази (*Gracey et al., 2020; Liu et al., 2023*).

Анкилозирајући спондилитис (АС) је хронична реуматска болест коју карактерише упала и анкилоза зглобова кичме и периферних зглобова, али такође утиче на очи, уринарни тракт, црева и срце. Постоји блиска веза између спондилоартропатије (СПА) и ИБЦ. Код обе болести, поремећај регулације имуног система, дисбиоза црева и генетски фактори (ХЛА Б27) играју важну улогу у развоју и патогенези ове болести (*Gracey et al., 2020*). Штавише, ИБЦ може бити повезан са сакроилеитисом, артритисом и увеитисом. Приближно 50% пацијената са СПА има микроскопске лезије црева на колоноскопији, а запаљење црева је обично повезано са тежим аксијалним обољењем. Интересантна хипотеза је да присуство запаљења црева са ХЛА Б12 позитивношћу омогућава контакт између бактеријског антигена и имуног система, што доводи до могуће реакције „унакрсне мимикрије“ између зглобова, костију, хрскавице и бактерија, што доприноси развоју АС.

Многе студије су пронашле везу између ФКП и СПА. Једна од првих студија која је показала да је 70% испитаника са АС имало повишене нивое ФКП-а, веће од 50 µg/g, уочила је да је 30% испитаника имало ФКП вредности веће од 200 µg/g. Штавише, нивои ФКП су били значајно повезани са бројем оболелих зглобова, повећањем старости пацијената и трајањем болести. С друге стране, сви пацијенти су имали низак или нормалан ниво серумског калпротектина (*Klingberg et al., 2012*). *Kang* и сарадници (2020) су извршили студију на 190 пацијената са аксиланим анкилозирајућим спондилитисом (ахСПА) и открили да су нивои ФКП повезани са активношћу болести. Конкретно, високи нивои ФКП-а су били више повезани са упалом периферних зглобова, него са упалом кичменог стуба (*Bubová et al., 2019*). Надаље, *Gazim* и сарадници (2022) су мерили нивое ФКП-а код серије пацијената са предњим увеитисом и АС или са АС и увеитисом друге етиологије да би утврдили да ли је предњи увеитис са АС имао веће

вредности коефицијента корелације, у поређењу са другим групама. У овом истраживању која је спроведена на 28 пацијената са АС откривено је да пацијенти са АС и увеитисом имају више нивое ФКП, у поређењу са пацијентима са увеитисом, што их је довело до закључка да вредности ФКП-а могу бити од користи у разликовању увеитиса повезаног са спондилартритисом, од увеитиса друге етиологије. Ово потврђује блиску везу између АС и колитиса.

Студија *Gazim* и сарадника (2022) упоређивала је пацијенте са аксијалним ахСпА и АС са контролном групом испитаника. Код пацијентата са АС јавиле су се више вредности калпротектина, у поређењу са оним са не-аксијалним анкилозирајућим спондилитисом, а у обе групе вредности ФКП-а су биле више него у контролној групи. Аутори ове студије су утврдили да су *Saccharomyces cerevisiae* антитела (ASCA) IgA и/или IgG класе, још један биомаркер који се може користити у дијагностици ИБЦ-а, посебно код Кронове болести (*Gazim et al.*, 2022). Нивои IgG и IgA ASCA антитела су се прближавали ка нормалним вредностима у све три групе, без значајних разлика међу групама. Ова студија је показала да веће вредности калпротектина указују на већу активност болести и погоршање физичких функција, тј. ФКП може бити маркер озбиљности болести. Још један интересантан рад испитује учесталост интестиналне инфламације употребом калпротектина код пацијената са АС, у односу на пацијене са реуматоидним артритисом (РА) или са незапаљенским реуматским болестима. Укупно је учествовало 194 пацијента у овој студији. АС група је имала значајно више вредности калпротектина, у односу на РА групу, иако нивои калпротектина у овој студији нису корелирали са активношћу болести, код пацијената са АС (*Olofsson et al.*, 2019; *Kang et al.*, 2020; *Gazim et al.*, 2022). Систематски преглед и мета-анализа објављени 2020. године анализирали су улогу калпротектина у АС и закључили да су нивои калпротектина повишени код пацијената са АС и у серуму и у столици (*Ercalik et al.*, 2021). Недавна студија *Ma* и сарадника (2020) испитивала је клиничку корисност калпротектина, код пацијената са диференцираним и недиференцираним АС. Студија је обухватила укупно 52 пацијента са диференцираним СпА и 33 пацијента са недиференцираним СпА који су поређени са 50 одговарајућих контролних испитаника. Средња вредност калпротектина била је значајно већа код пацијената са диференцираним СпА, у односу на недиференцирани СпА и контролну групу ($p < 0,001$). Ови подаци потврђују улогу калпротектина као неинванзивног биомаркера инфламације црева, код пацијената са АС (*Ma et al.*, 2020).

Behçetova болест (ББ) је системски инфламаторни васкулитис непознате етиологије. Карактеришу је понављајуће улцерације у устима и гениталном подручју, лезије на кожи и упала ока. Код неких пацијената примећено је захватање васкуларног, неуролошког и гастроинтестиналног (ГИ) система. У свом раду, *Özseker* и сарадници (2016) су анализирали корисност ФКП-а у откривању инфламације црева код пацијената са ББ. Њихова студија је укључила 30 испитаника са ББ и 25 здравих волонтера, као контролну групу. ФКП је био једини статистички значајно повећан маркер инфламације, код пацијената са ББ, у поређењу са контролном групом. Нису пронађене статистички значајне разлике у другим маркерима инфламације, као што је нпр. Ц-реактивни протеин (ЦРП). Испитаници са ББ, илеитисом и улкусима у терминалном илеуму показали су значајно веће нивое ФКП-а, у поређењу са групом без цревних болести (*Emad et al.*, 2022). Друга студија потврђује ове резултате и сугерише да је ФКП корисно средство за дијагностиковање гастроинтестиналне инфламације, код пацијената са ББ. ФКП, али не и серумски калпротектин, показао се и као корисно неинванзивно средство за процену активности болести. Осим тога, у мултиваријантној анализи, ФКП-скрининг тест је био једини значајан предиктор ремисије, код пацијената са ББ (*Özseker et al.*, 2016).

Псоријаза је честа, хронична и упална кожна болест која има јаку генетску предиспозицију и аутоимуноу патогенезу. Промене на кожи јављају се на коленима, лактовима, трупцу или скалпу и карактеришу их црвене, сврбеће и љускаве плаже (Esatoglu et al., 2018; Rendon & Schäkel, 2019). Упала се не ограничава само на псоријатичну кожу, већ може укључивати различите органске системе. Стога се претпоставља да је псоријаза системски ентитет, а не једноставна дерматолошка болест (Sikora et al., 2021). Пацијенти са псоријазом имају повећану пропустљивост цревног зида, што доводи до повећане концентрације метаболита у крви, (који потичу од цревне микробиоте), а то доводи до системске упале. Нова терапијска стратегија заснована на овим механизмима, покушава да модулира цревну баријеру и смањи упалу црева (Madland et al., 2006). Мало је студија које су истраживале ниво ФКП-а код пацијената са псоријазом. Студија (Haidmayer et al., 2020) је проучавала ефекте краткотрајног оралног третмана уљем фоке код 40 пацијената са псоријатичним артритисом (ПсА) због његовог антиинфламаторног својства. Познато је да многи пацијенти са ПсА имају знакове упале црева, што може имати улогу у развоју ове болести (Haidmayer et al., 2020). Код 40 пацијената са ПсА 9 (21%) пацијената је имало повишене вредности ФКП-а, што указује на могућу упалу црева или асимптоматски колитис. Осим тога, у поређењу са ЦРП-ом, ФКП је једини маркер који је снажно корелирао са бројем оболелих зглобова, у склопу ове болести ($p < 0,05$) (Haidmayer et al., 2020).

Недавно је објављена мала пилот студија на 10 пацијената о утицају пробиотских сојева на активност болести и пропустљивост црева, код псоријатичног артритиса. Испитивали су ФКП, као маркер цревне упале, фекални зонулин и алфа-1 антитрипсин, као маркере пропустљивости црева. Открили су високе нивое ФКП-а код 6 (60%) пацијената и високе нивое фекалног зонулина код 10 (100%), док су абнормано високи нивои алфа 1-антитрипсина нађени код 6 (60%) пацијената. Интересантно је да је примећено значајно смањење нивоа фекалног зонулина, четири недеље након терапије пробиотицима, док није примећена статистички значајна разлика у нивоу алфа 1-антитрипсина, (иако је примећен тренд смањења након терапије). То указује на благотворан утицај узимања пробиотика на пропустљивост црева. Нивои ФКП-а су се смањили код преко 30% пацијената, што такође указује на значајно смањење запаљења црева. Оба ова ефекта могу утицати на активност болести (Seo et al., 2018).

Атопијски дерматитис (АД) је хронична инфламаторна болест који погађа преко 20% деце. У развоју АД су укључени различити фактори као што су неравнотежа микробиоте црева, дисфункција кожне баријере, дисрегулација имуног система и други фактори, из околине. Дисбиоза и последична интестинална инфламација играју кључну улогу у развоју алергијских болести. Због тога су у последњих неколико година бројни аутори покушали да процене улогу ФКП-а, као маркера интестиналне инфламације код деце са АД. Seo и сарадници (Seo et al., 2018) су проучавали 65-оро деце са АД. У 32,3% испитаника вредности ФКП-а су биле изнад 50 $\mu\text{g/g}$ фецеса, али нису нашли значајне разлике у старости, полу, индексу телесне масе (БМИ) и порођајној тежини испитаника. Интересантно је да су деца са вишим вредностима ФКП-а имала тежи облик АД, веће нивое еозинофила у крви и IgE антитела (Seo et al., 2018). Orivuori и сарадници (2015) су у својој студији показали да деца са високом вредношћу ФКП-а, у узрасту од 2 месеца имају повећан ризик од каснијег развоја АД. Тај ризик може бити последица неравнотеже микробиоте црева у раном детињству, што доводи до повећане интестиналне инфламације која утиче на имуни систем и промовише развој АД.

Више од једне студије је указало да је ФКП маркер системске упале, а не само цревног запаљења, пошто ФКП показује варијације у присуству плућних егзацербација и употребе антибиотика, код пацијената са цистичном фиброзом (ЦФ). Још једна ствар

коју треба размотрити је повезаност запаљења црева са функцијом панкреаса код ЦФ (*Lazzarotto et al.*, 2023). Наиме, неколико студија извештава о повезаности инсуфицијенције панкреаса са запаљењем црева коришћењем панкреасног маркера еластазе, као параметра. Међутим, друге студије оспоравају ово запажање, пошто је ниво ФКП био сличан, у посматраним групама. Према аустралијским смерницама за терапијску примену замене ензима панкреаса код ЦФ, запаљење црева постоји зато што инсуфицијенција панкреаса може повећати пропусност црева. Отежано лучење ензима у дуоденум утиче на степен упале, коју детектује еластаза панкреаса, а слично се понаша и ФКП (*Lazzarotto et al.*, 2023).

Паркинсонова болест (ПБ) и мултисистемска атрофија (МСА) су неуродегенеративни поремећаји код којих долази до накупљања нерастворљивог алфа-синуклеина, протеина у нервном систему, неуронима оболелих од ПБ или у глиалним ћелијама оболелих од МСА. Констипација је врло чест гастроинтестинални симптом код ових пацијената, а патолошки алфа-синуклеин је пронађен у ентеричком нервном систему, у оба поремећаја (*Devos et al.*, 2013; *Schwartz et al.*, 2018). Такозвана осовина црева и мозга (од енг. "*gut-brain axis*") се састоји од двосмерне комуникације између централног и ентеричког нервног система, повезујући емоционалне и когнитивне центре мозга са периферним цревним функцијама. Недавни напредак у истраживању је описао важност цревне микробиоте у утицају на ове интеракције, посебно у ПБ. Значајна интестинална упала повезана с порастом прозапаљенских цитокина пронађена је у колоноскопским биопсијама пацијената с ПБ (*Schwartz et al.*, 2018). Узрочно-последична веза између црева и ПБ-а није чврсто успостављена, али цревна дисбиоза с неравнотежом цревне флоре је честа код ПБ-а. Осим тога, Ресиста-ПД студија *Devos* и сарадника (2013) је показала да су код ПБ-пацијената с порастом преваленце прозапаљенских бактерија откривене повишене вредности ФКП -а. Осим тога, епидемиолошки подаци указују на повезаност између ИБЦ и ПБ-а. *Hor* и сарадници (2022) су објавили занимљив рад који наглашава повећане вредности ФКП-а код пацијената с ПБ-ом и МСА, у поређењу с контролном групом испитаника. Вредности ФКП-а су биле више код пацијената са МСА и пацијената старијих од 65 година. Ти подаци подупиру присутност цревне упале у овим неуролошким поремећајима. Истовремено, нису пронађене корелације између ФКП вредности и пола или трајања ПБ-а (*Hor et al.*, 2022).

У студији типа случај-контрола, *Schwartz* и сарадници (2018) су испитивали нивое ФКП и лактоферина, као маркера интестиналне упале и алфа-1-антитрипсина и зонулина, као маркер пропусности црева код пацијената са ПД и здравих особа. Сви ови маркери су били значајно повишени код пацијената са ПД, али ни један од четири фекална маркера није корелирао са тежином болести (*Orivuori et al.*, 2015). *Sturgeon* и сарадници (2016) су реализовали слично истраживање у којем су анализирали вредности ФКП-а и зонулина код пацијената са ПБ. Проценили су да ФКП и зонулин могу бити корисни алати у дијагностиковању и праћењу ПБ, што је уобичајено код пацијената са инфламаторним болестима. Средња вредност ФКП-а је била значајно виша код оболелих од ПБ, у односу на контролну групу: 54,5 наспрам 9,7 ng/mL ($p < 0,0001$). Фекална вредност зонулина (изражена у ng/mL) била је виша код оболелих од ПБ и у односу на контролну групу, али без достизања статистички значајне разлике (*Costa et al.*, 2003). *Dumitrescu* и сарадници (2021) су анализирали серумске и фекалне маркере интестиналне упале и пропусност црева код 22 пацијента са ПБ и 16 здравих особа. Уочили су значајно више вредности калпротектина у серуму и фецесу код пацијената са ПБ.

Алцхајмерова болест је уобичајени неуродегенеративни поремећај, који се карактерише накупљањем ванћелијских агрегата амилоидних (А β) плакова у кортикалним и

лимбичким подручјима људског мозга. Интестинална упала код пацијената са Алцхајмеровом болешћу доводи до повећања калпротектина, што може допринети формирању амилоидних фибрила у цревима и централном нервном систему. Калпротектин се састоји од две различите подјединице S100A8 и S100A9, које су способне да формирају амилоидне олигомере и фибриле врло сличне β -синуклеину и А β . *Leblhuber* и сарадници (2015) су анализирали нивое ФКП-а код 22 пацијента са Алцхајмеровом болешћу и открили да он корелира са нивоом ароматичних аминокиселина у серуму. Приметили су да 73% пацијената има висок ниво ФКП и да концентрације инверзно корелирају са серумским нивоима триптофана, тирозина и фенилаланина ($p < 0.05$) (45). Осим тога, *Horvath* и сарадници (2016) су открили висок ниво подјединице S100A9 у цереброспиналној течности пацијената са Алцхајмеровом болешћу. С друге стране, *Stolzenberg* и сарадници (2017) су открили висок ниво β -синуклеина у инфламираној интестиналној мукози, са снажним привлачењем леукоцита (неутрофила и моноцита), као параметра имунолошког одговора. Могућу улогу "пропусног црева" у патогенези Алцхајмерове болести постулирали су *A Kohler* и сарадници (2016). Присуство дисбиозе код неких пацијената може довести до повећане пропустљивости црева са транслокацијом бактерија, чиме се повећава упала и накупљање А β . Недавна студија такође је поставила хипотезу о могућем утицају хеликобактер пилори инфекције на промену pH вредности у желуцу, што утиче на састав микробиоте црева и промовише дисбиозу, са повећањем броја проинфламаторних бактерија, као што су Протеобактерије и Ентеробактерије (*A Kohler et al.*, 2016).

Може се закључити да је ФКП клинички користан не само у интестиналним, већ и у неинтестиналним болестима, чиме се истиче улога и повезаност људског црева с другим телесним системима (мозак, кожа, плућа, зглобови итд.). ФКП је једноставан маркер, брзо се изводи и може се понављати без ризика. Одређивање ФКП-а може се спровести и код пацијената који се првенствено не јављају због гастроинтестиналних симптома. Такође, ФКП има добру корелацију с активношћу и трајањем неких дерматолошких, неуролошких и реуматолошких болести, па се црево може сматрати "огледалом" других болести.

1.1.2. Прогностички значај фекалног калпротектина код деце и одраслих

ФКП је обећавајући маркер неутрофилне интестиналне инфламације. Код пацијената са дијагностикованом ИБЦ ФКП добро корелира са хистолошком инфламацијом на колоноскопији и успешно предвиђа релапсе болести (*Lohmuller et al.*, 1990; *Sandborn* 1994). Такође, има одличну негативну предиктивну вредност у искључивању ИБЦ-а, код недијагностикованих пацијената са субјективним тегобама. Његова позитивна предиктивна вредност је нешто нижа, али генерално и даље боља од тренутно коришћених лабораторијских маркера упале.

Унапређени ЕЛИСА тест користи поликлонска антитела која препознају 6 епитопа калпротектина, чиме се смањује ризик од лажно негативних резултата. Још важније, нижи ниво осетљивости теста омогућава тачно мерење вредности код особа са нормалном или инфламираном слузницом, што потенцијално омогућава сензитивно и неинвазивно детектовање опоравка слезнице, или евентуалног релапса. Анализа карактеристичне криве опоравка је показала да праг од 150 $\mu\text{g/g}$ фецеса разликује инфламаторну болест црева од синдрома иритабилног црева са осетљивошћу од 100% и специфичношћу од 97% (*Husebye et al.*, 2001).

Од увођења ФКП-а, спроведено је више студија које су се фокусирале на његову употребу за дијагностиковање ИБЦ и разликовање од иритабилног колона. Подаци из ових студија су комбиновани у неколико мета-анализа (табела 2). *Van Rhee Nan* и сарадници (2010) су израчунали да би, на основу њихових података скрининг за ИБЦ, мерењем ФКП-а резултирао смањењем броја одраслих особа које захтевају колоноскопију за 67%. Од 33 одрасле особе које би се упутиле на ендоскопију, три не би имале ИБЦ, али би могле имати патологију гастроинтестиналног тракта (ГИТ-а), за коју би испитивање било дијагностичко. Код деце и адолесцената, од 100 пацијената, њих 65 би захтевало ендоскопију, при чему би деветоро имало негативан налаз на ИБЦ. Дијагноза би се одложила код 6% одраслих и 8% деце и адолесцената, због лажно негативног резултата теста. Иако су неке студије показале да је ФКП мање осетљив код деце (*Van Rheenen et al.*, 2010; *Henderson et al.*, 2014), ово није универзални налаз. Већина истраживања код деце спроведена је у болничком окружењу. Студија у примарној здравственој заштити је показала осетљивост од 99% и специфичност од 87% (*Holtman et al.*, 2016), вероватно због већег броја пацијената са функционалним болестима црева. Како деца узрасно имају повећане концентрације фекалног калпротектина, показано је да је употреба већег референтног прага повезана са бољим перформансама теста. У мета-анализи *Von Roon-a* и сарадника (2007) употреба референтног прага од 50 $\mu\text{g/g}$ показала је осетљивост и специфичност од 83% и 85%, док је подизање прага на 100 $\mu\text{g/g}$ повећало осетљивост и специфичност на 98% и 97%.

Табела 2. Прикупљене осетљивости и специфичности за фекални калпротектин у дијагностици инфламаторне болести црева (преузето и модификовано из (*Gisbert & McNicholl*, 2009))

Пацијент	Студија	Болест	Осетљивост у %	Специфичност у %	Референца
1267	9	ИБЦ	95	91	<i>Von Roon</i> и сар. (2007)
754	14	ИБЦ	80	76	<i>Gisbert</i> и <i>McNicoll</i> (2009)
		Кронова болсет	83	85	
		Улцерозни колитис	72	74	
670 (одрасли)	6	ИБЦ	93	96	<i>van Rheenan</i> и сар. (2007)
371 (деца)	7		92	76	

Још увек није постигнут консензус око оптималног референтног ранга који треба користити код одраслих, када се ФКП користи у овом контексту. Многе лабораторије и лекари сматрају да је референтни ранг већи од 50 $\mu\text{g/g}$ патолошки, јер је то горња граница референтног опсега коју предлажу произвођачи тестова. Више студија је истраживало исходе пацијената са маргиналним повишењем ФКП-а. Једна студија која је укључила 433 пацијента са концентрацијом ФКП између 50 и 100 $\mu\text{g/g}$, показала је да је 10 (2,3%) пацијената имало ИБЦ. Код ових пацијената поновљено мерење калпротектина је имало тенденцију да покаже даљи пораст вредности ФКП-а. Преосталих 423 пацијента је праћено у просеку 3,6 година и код њих се није развила ниједна ИБЦ. У узорку од 70 пацијената са клинички сумњивом ИБЦ-а, али негативним налазима на ендоскопији, ниједан пацијент са ФКП вредностима испод 100 $\mu\text{g/g}$ није имао патолошки процес на ендоскопији танког црева, у поређењу са 43% (15/35) пацијената са калпротектином изнад 100 $\mu\text{g/g}$. ФКП у распону од 100 до 200 $\mu\text{g/g}$ показао је негативну предиктивну вредност од 97,5% за значајну луминалну патологију, у студији која је обухватила 161 пацијента. Коначна дијагноза ИБЦ-а постављена је код четири особе (2,5%) након просечног праћења од 172,4 недеље (Ayling *et al.*, 2018).

Ови подаци указују да би могло бити прикладно подићи референтни ранг изнад 50 $\mu\text{g/g}$, када се ФКП користи за разликовање ИБЦ-а од иритабилног цревног синдрома. Ипак, када се ФКП тест користи као скрининг, посебно у оквиру примарне здравствене заштите, ниска референтна граница може бити од користи, балансирајући тиме осетљивост и специфичност. Код пацијената са инцијалном вредношћу калпротектина, у опсегу од 50-200 $\mu\text{g/g}$ фецеса потребно је додатно узорковање (након искључивања потенцијалних узрока повишења, као што је инфламација услед цревне инфекције). Ово може бити од користи, јер пацијенти са ИБЦ-ом чешће имају стално повишене или растуће вредности калпротектина. Упалу црева треба озбиљније размотрити тек код пацијената код којих је концентрација ФКП-а у фецесу изнад 200 $\mu\text{g/g}$ (Poullis *et al.*, 2004).

Када се ФКП користи код пацијената са претходно непознатим симптомима, ФКП има високу негативну предиктивну вредност за искључење значајне интестиналне патологије. Због своје високе осетљивости за ИБЦ, високе вредности ФКП-а су значајне и обично указује на потребу за ендоскопијом. У том контексту, ФКП је веома користан неинванзивни дијагностички алат и показао се као исплатив (Waugh *et al.*, 2013).

1.1.3. Референтне вредности фекалног калпротектина по добним групама

Концентрације ФКП-а пријављене код здравих особа (Røseth *et al.*, 1992; Husebye *et al.*, 2001; Konikoff *et al.*, 2006) уобичајено варирају у распону од 2 до 262 $\mu\text{g/g}$ фецеса. У оригиналној студији Roseth и сарадника (1992) просечна концентрација ФКП-а у столицу код здравих, одраслих испитаника износила је 2 $\mu\text{g/g}$ фецеса, а предложена гранична вредност за позитиван ФКП тест износила је 10 $\mu\text{g/g}$. Са новијим ФКП тестом, предложена горња референтна вредност је промењена на 50 $\mu\text{g/g}$. Husebye и сарадници (2001) су утврдили значајну корелацију између новог и старог ФКП-теста, када су узорци столице анализирани применом обе методе. Недавно је доказано да се концентрације калпротектина повећавају са годинама, код здравих, одраслих особа (Konikoff *et al.*, 2006).

Референтне вредности за децу су сличне онима у адултној популацији, тј. граничне вредности варирају у распону од 2 до 176 $\mu\text{g/g}$ фецеса (*Costa et al.*, 2003). Занимљиво је да одојчад, у првој години живота имају значајно веће концентрације калпротектина (и до 10 пута), у поређењу са здравом децом или одраслим особама. Постоје опречни подаци о улози исхране, коју она може да игра у повишеним концентрацијама калпротектина код одојчади, о чему ће бити више речи касније. *Rugtveit* и сарадници (2002) су открили да је концентрација ФКП уочљиво нижа код деце на природној исхрани, у односу на децу храњену адаптираном млечном формулом, док *Campeotto* и сарадници (2004) не налазе значајну разлику, међу овим групама. Иако ово питање заслужује даље проучавање, важно је да се истакне да су обе групе испитаника имале изразито веће концентрације фекалног калпротектина, у поређењу са старијом децом и одраслима.

Мерење фекалних маркера: ФКП-а, лактоферина и тумор маркера *M2-пируват киназе (M2-PK)* показало се корисним, у дијагностиковању и праћењу различитих гастроинтестиналних поремећаја, код деце и одраслих. Међутим, врло је мало студија које су у обзир узеле референтне вредности ФКП, по добним групама. У раду истраживача *Joshi* и сарадника (2010) фекални узорци су узети од 132 здраве особе, а анализа ФКП, лактоферина и тумор маркера *M2-PK* извршена је употребом комерцијално доступног ензимског имуносорбентног теста. Код здравих особа, средња вредност (медијана) ФКП-а у узрасту од 2-9 година износила је 34 $\mu\text{g/g}$; од 10-59 година, 22 $\mu\text{g/g}$ и >60 година, 27 $\mu\text{g/g}$; за лактоферин у узрасту од 2-9 година, 2,2 $\mu\text{g/g}$; >10 година 0,5 $\mu\text{g/g}$; а за тумор маркер *M2-PK*, код свих испитаника вредност је била <1 U/mL. Значајне разлике међу узрасним групама, за различите маркере данас су резултирале следећим узрасно-специфичним референтним опсезима: за ФКП - 2-9 година, <166 $\mu\text{g/g}$, 10-59 година, <51 $\mu\text{g/g}$ и >60 година, <112 $\mu\text{g/g}$; за лактоферин, 2-9 година, <29 $\mu\text{g/g}$ и >10 година, <4,6 $\mu\text{g/g}$.

Дошло се до закључака да код здравих особа постоје варијације у нивоу фекалних инфламаторних маркера: ФКП-а и лактоферина, у зависности од узраста. За оба маркера, код деце узраста 2-9 година уочене су значајно веће концентрације, него код испитаника старијих од 10 година. Код ФКП-а, али не и код лактоферина, код особа старијих од 60 година забележена је већа концентрација, у односу на оне старости 10-59 година. Са друге стране, није било узрасно-специфичних промена у концентрацији фекалног тумор маркера *M2-PK*, код здравих особа. Познавање узрасно-специфичних референтних опсега код здравих особа важно је за адекватно тумачење напредовања или излечења гастроинтестиналних болести.

Друга студија, извршена од стране *Ayling* и *Kok*-а (2018) је указала да ФКП показује повећање при горњим границама старости (*Husebye et al.*, 2001; *Poullis et al.*, 2004), па је повећање референтног опсега на 112 $\mu\text{g/g}$ фецеса предложено за одрасле особе старије од 65 година (*Joshi et al.*, 2010). Разлози за повећања ФКП-а код старијих особа укључују промене у исхрани и начину живота (*Poullis et al.*, 2004), као и специфичне старосне промене у инфламаторним ћелијама гастроинтестиналне слузнице и промене у ћелијском и хуморалном имунитету (*Dunlop et al.*, 2004).

На основу претходно дискутованог, може се рећи да су концентрације ФКП-а у столици здраве новорођенчади много веће, него код здравих одраслих особа (Табела 1). Концентрације ФКП-а код превремено рођене деце су се показале сличним, оним код терминске новорођенчади (*Kapel et al.*, 2010). Постоји неколико могућих објашњења за повећане вредности ФКП-а, код новорођене деце. Једна од хипотеза је да због незрелости црева постоји повећано трансмукозно пропуштање (*Walker*, 1979), што би доводило до излучивања калпротектина у столицу, уместо акумулирања у слузокожи интестиналног

тракта. Други могући фактори укључују имунолошку стимулацију цревне слузнице интралуминалним антигенима и колонизацију гастроинтестиналног тракта бактеријама (*Cummins et al.*, 1994).

Табела 1. Концентрације ФКП у столици у новорођенчади и деце (преузето и модификовано из (*Ayling & Kok*, 2018))

Пацијенти	Године старости	ФКП ($\mu\text{g/g}$) (Опсег)	Медијана	Референце
20	6 недеља	269 (31 - 2100)		<i>Rugtveit</i> и <i>Fagerhol</i> , (2002)
20	3 месеца	264 (48 - 2130)		
22	6 месеци	79 (9 - 405)		
20	12 месеци	67 (38 - 900)		
16	3-18 дана	235 (172 - 2880)		<i>Nissen</i> и сар. (2004)
69	3-7 дана	167 (22 - 860)		<i>Campeotto</i> и сар. (2004)
71	7 дана	245 (22 - 860)		<i>Baldassarre</i> и сар. (2007)
71	12 дана	250 (80 - 425)		
71	30 дана	255 (100 - 425)		

Из табеле 1 се може уочити да су аутори испитивали концентрације фекалног калпротекина код деце различитог узраста, што може отежати тумачење добијених резултата, али је опште прихваћен став да се након 4-те године живота користе граничне вредности сличне оним у адултној популацији (*Fagerberg et al.*, 2003). Код деце млађе од 4 године, предложен је референтни ранг од $275 \mu\text{g/g}$ (*Ezri & Nydegger*, 2011). Међутим, студија ФКП узорка узетих од 724 детета предлаже горњи референтни ранг од $77 \mu\text{g/g}$ фецеса, за децу млађу од 4 године, у поређењу са $62 \mu\text{g/g}$ код оних који су старији од 4 године, или $61 \mu\text{g/g}$ за одрасле здраве особе (*Davidson & Lock*, 2017). Праг од $50 \mu\text{g/g}$ се показао одговарајућим за употребу у трудноћи, јер се показало да трудноћа нема значајног утицаја на вредности ФКП-а (*Bálint et al.*, 2017; *Julsgaard et al.*, 2017).

1.1.4. Примена фекалног калпротекина као скрининг теста у неонатологији

Нова сазнања о молекуларним и биохемијским путевима у НЕК-у и другим неонаталним болестима довела су до откривања нових биомаркера, као потенцијално корисних параметара у клиничкој пракси (*Waugh et al.*, 2013). ФКП се данас успешно користи код деце за откривање упале интестиналног тракта (*Josefsson et al.*, 2007; *Mussap et al.*, 2013;

Emad et al., 2022), али још увек постоје извесна ограничења у његовој дијагностичкој ефикасности у неонаталној популацији.

Калпротектин је хетеродимер формиран од два цитосолна протеина S100A8 и S100A9, који везују калцијум. То је мултифункционални протеин који се углавном експримије неутрофилима и ослобађа се екстрацелуларно, од стране активираних или оштећених ћелија, посредујући широк спектар физиолошких и патолошких одговора. Калпротектин се ослобађа током упалне активације у цревима и као резултат трансепителне миграције мијелоидних ћелија, лако се детектује у фецесу (*Berstad et al.*, 2000; *Bunn et al.*, 2001; *Josefsson et al.*, 2007; *Mussap et al.*, 2013). Стога, би се он могао користити као неинванзивни маркер за НЕК, при чему би могао бити посебно користан у раном предвиђању болести, уколико се открију било какви субклинички упални процеси на интестиналном тракту новорођанчета (*Josefsson et al.*, 2007).

Високе вредности ФКП-а и велика међуиндивидуална варијација у концентрацији калпротектина код новорођенчади могу ометати његову употребу за предвиђање, односно рано откривање НЕК-а, посебно када се користи једно (појединачно) мерење (*Bunn et al.*, 2001; *Carroll et al.*, 2003; *Thuijls et al.*, 2010; *Nissen et al.*, 2010; *Aydemir et al.*, 2012). До сада је публикован мали број студија који је користио серијско мерење ФКП-а, код новорођене деце са повећаним ризиком за НЕК.

Аутори *van Zoonen* и сарадници (2019) испитивали су предности серијског мерења ФКП-а, за индивидуално рано откривање субклиничких упалних процеса на интестиналном тракту, где пораст ФКП-а може претходити првим симптомима НЕК-а. Циљ њихове студије био је да се утврди да ли серијска мерења концентрације калпротектина, код новорођенчади са високим ризиком да ће развити НЕК имају предност у односу на појединачно мерење калпротектина у фецесу. Нажалост, ови аутори закључују да широке интраиндивидуалне варијације ФКП-а онемогућавају серијску употребу ФКП у раном откривању или предвиђању НЕК-а, код новорођенчади са високим ризиком. Иста студија потврђује претходно утврђене високе концентрације ФКП-а код новорођенчади, током првих недеља живота (*Campeotto et al.*, 2004; *Josefsson et al.*, 2007; *Yang et al.*, 2008; *Rougé et al.*, 2010). Овако висока концентрација ФКП-а може одражавати повећану миграцију неутрофила преко епитела црева у лумен, као резултат веће пропустљивости цревне баријере током неонаталног периода (*Campeotto et al.*, 2004; *Rougé et al.*, 2010; *Kapel et al.*, 2010). Средња вредност (медијана) ФКП од 332 µg/g [опсег: <40-8230] била је виша од концентрација које су извештавали други аутори, приликом одређивања вредности ФКП код „здраве“ претерминске новорођенчади, током првих недеља живота (98-253 µg/g) (*Lisowska-Mujak et al.*, 2015; *Røseth et al.*, 1992; *Yang et al.*, 2008; *Rougé et al.*, 2010; *Kapel et al.*, 2010). Високе вредности ФКП-а у овој студији могу се објаснити другачијом осетљивошћу лабораторијског теста, у односу на лабораторијске тестове осталих студија.

1.2 Некротични ентероколитис (НЕК)

НЕК је озбиљно стање које се јавља најчешће код новорођенчади и то најчешће оне рођене пре термина, због чега се назива и неонатални некротични ентероколитис. Ово стање карактерише упала и оштећење црева, што може довести до изумирања цревног ткива (*Hsueh et al.*, 2003). Прве информације о НЕК-у вероватно датирају из 1823. године када је *Charles Billard* користио израз "гангренозни ентероколитис" или "малигни ентеритис" како би описао некрозу и упалу цревног тракта код новорођеног детета. Након тога, објављена је вест о 25 пацијената с "гангренозним ентероколитисом" 1850.

године (*Obladen, 2009*). Почетком 20-ог века публиковано је више радова о перитонитису с илеалном перфорацијом, због нечега што се тада називало "инфективни ентеритис". *Schmidt* и *Quaiser* су 1953. године сковали израз "неонатални НЕК" (*Schmidt & Quaiser, 1953*), међутим, клиничко и радиолошко значење НЕК-а како се данас користи први пут је описано код 21-ог новорођенчета, од стране *Berndon* из *New York Babies* болнице 1964. године (*Berdon et al., 1964*).

Некротични ентероколитис обично се јавља у првим недељама живота, посебно код недоношчади рођене пре 32-ге недеље трудноће. Тачан узрок НЕК-а није познат, али верује се да комбинација фактора као што су недовољна прокрвљеност црева, слаба функција црева, неразвијеност имунолошког система и колонизација црева патогеним бактеријама могу играти улогу у његовом развоју.

Симптоми НЕК-а могу варирати, али често укључују отежану ентералну исхрану, повраћање, надутост трбуха, пролив (понекад с крвљу) и општом слабошћу. Ако се сумња на НЕК, обично се спроводе дијагностички поступци као што су нативни рендгенски снимак абдомена, ултразвук и лабораторијске анализе, како би се потврдила дијагноза.

1.2.1 Инциденца / преваленца

Процењује се да се НЕК јавља код отприлике једног од 10 недоношчади са порођајном тежином мањом од 1000 g. Доводи до значајног морбидитета и морталитета, посебно код екстремно рано рођене новорођенчади. Преваленција НЕК-а варира међу јединицама интензивне неге новорођенчади (ЈИНН). У извештају *NICHD Neonatal Research Network*, НЕК је имао средњу преваленцију од 7% код новорођенчади са порођајном тежином мањом од 1500 g, која је порасла на 15% код новорођенчади тежине мање од 750 g, при чему је 50% њих имало хируршку интервенцију (*Guillet et al., 2006*). Резултати студија тврде да у укупним трошковима ЈИНН-а, трошкови лечење НЕК-а сваке године учествује са око 20%. Преживели пацијенти са НЕК-ом којима је потребна хируршка интервенција често бораве у ЈИНН дуже од 90 дана и спадају у групу оних који често остају дуже од 6 месеци (*Gephart et al., 2012*). Иако 90% новорођене деце која развију НЕК су недоношчад и деца рођена у термину или близу термина такође могу развити ту болест. Модерна технологија и напредак у клиничкој нези су побољшали преживљавање недоношчади, али преваленција НЕК-а се није смањила. Процењује се да ће скоро 12% новорођенчади рођених с мање од 1500 g развити НЕК; од њих отприлике 30% неће преживети (*Neu et al., 2008*).

Све у свему, НЕК доводи до значајног морбидитета (*Lin et al., 2006; Grave et al., 2007; Yee et al., 2012*), а стопе морталитета се крећу од 5 до 24% (*Holman et al., 2006*). У ретким случајевима, НЕК се може јавити код предтерминске новорођенчади или оне рођене у термину трудноће, код којих се НЕК јавља раније, у првим данима живота. Ова новорођенчад могу имати асфиксију, урођену срчану ману, полицитемију, фето-феталну трансфузију или основно хируршко обољење (нпр. *Hirschprung*-ова болест), што указује на другачији механизам повреде црева.

1.2.2 Етиологија/ ризикофактори

Постављена је хипотеза да постоји различит образац осјетљивости новорођенчади између оних превремено рођених и оних рођених у термину. Новорођенчад рођена после 35-те недеље гестације које развију НЕК имају већу вероватноћу да су имала низак АС, перинаталну асфиксију, сепсу или конгениталне дефекте (посебно срчане или

гастроинтестиналне аномалије) које доводе до мезентеричне исхемије. Иако НЕК претежно погађа недоношчад, отприлике 10% случајева се открива код новорођене деце рођене након 36-те недеље гестације. Посебно превремено рођене бебе близу термина порођаја имају већу вероватноћу да развију НЕК, ако имају и друге могуће ризико факторе, попут интраутерусног застоја у расту, полицитемије, хипогликемије, сепсе, трансфузије крви, пласирања умбиликалног катетра, гестацијског дијабетеса и ако су рођене од мајки са хориоамнионитисом. *Stout* и сарадници (2008) су спровели ретроспективну студију случајева и контрола у више центара унутар једног система болница код новорођенчади која су развила НЕК у првој недељи живота, при чему су већина била терминска или предтерминска новорођенчад. Рани почетак сепсе, изложеност лековима и респираторном дистресу су били повезани са НЕК-ом, а они који су развили НЕК су значајно ређе примали мајчино млеко и вероватно су били храњени само формулом.

Претпоставља се да је НЕК резултат реперфузионе повреде која покреће запаљенски каскадни одговор, са резултујућим оштећењем крвних судова и слузнице црева у подручјима крвне дистрибуције. Због тога се свако стање код мајке које покреће такав догађај може сматрати фактором ризика. Могући фактори ризика присутни током пренаталног периода укључују употребу дрога од стране мајке (посебно кокаин) (*Ghidini et al.*, 2001), хипертензивну болест мајке укључујући трудноћом изазвану хипертензију (*Bashiri et al.*, 2003), матерналне инфекције (*Ogunyemi et al.*, 2003) и проблеми везани за проток крви кроз постељицу, који могу резултирати новорођенчетом са застојем у расту (*Bashiri et al.*, 2003). Постељица ограничава квалитет и количину исхране за развијање фетуса, што доводи до ограниченог раста новорођенчета и може довести до метаболичких компликација ако се комбинује са другим факторима ризика (*Bashiri et al.*, 2003).

Матернална хипертензија може довести до болести постељице, али није јасно какав утицај има на НЕК. У једној проспективној студији пресека ($n = 211$), *Bashiri* и сарадници (2003) су открили да матернални хипертензивни поремећаји независно предвиђају НЕК, код новорођене деце рођене са мање од 1500 g. Уобичајени третман матерналне хипертензије је магнезијум-сулфат, али *Ghidini* и сарадници (2001) нису пронашли смањење ризика од НЕК-а када је магнезијум-сулфат примењиван током порођаја, код мајки са хипертензивним поремећајима. Да ли комбинација матерналне хипертензивне болести са другим факторима ризика може повећати вероватноћу развоја НЕК-а код новорођенчета остаје непознато, али се чини вероватним.

У студији случајева и контрола у одељењу интензивне неге новорођенчади која је обухватила раздобље од 8,5 година ($n = 237$), *Desfrere* и сарадници (2005) су открили везу између позитивног статуса мајке на хумани вирус имунодефицијенције (ХИВ) и НЕК-а. Мајке које су биле позитивне на ХИВ имале су 6,6 пута већу вероватноћу да њихова деца развију НЕК, у поређењу са мајкама које нису биле позитивне на ХИВ. Ова веза претходно није била пријављена и треба је анализирати. Упркос ограничењима студије, аутори препоручују пажљиво праћење на присуство НЕК-а, код превремено рођене деце чије су мајке ХИВ-позитивне.

Употреба дрога код мајки је фактор ризика код терминске новорођенчади, али није јасно да ли доводи до НЕК-а и код превремено рођене деце (*Hand et al.*, 2001). У епидемиолошкој студији, деца рођена у термину која су развила НЕК су највероватније била изложена пренаталним или интрапарталним ризицико-факторима као што су инфекција или изложеност дрогама, али превремено рођена деца нису показала већу инциденцу НЕК-а када су изложена сличним ризицима. *Hand* и сарадници (2001) нису пронашли разлику у инциденци НЕК-а између превремено рођене деце изложене

кокаину у материци и оне која нису била изложена. С друге стране, *Stout* и сарадници (2008) су анализирали новорођенчад која су развила НЕК у првој недељи живота (већином рођене у термину или близу термина) и открили су да су они чешће били позитивни на меконијалном тесту који открива изложеност илегалним дрогама ($p < 0,05$).

Интрапартални фактори ризика који могу допринети НЕК-у су повезани са компромитацијом хипоксично-исхемичног типа или изложеношћу патогеним бактеријама, мада су потребна даља истраживања. Високи базни дефицити у крви артерија пупчаника показало се да доприноси развоју НЕК-а код новорођенчади са интраутерусним застојем у расту ($p < 0,01$) (*Manogura et al.*, 2008). Постоје изазови у недостатку комуникације између тима који се брине о мајци и тима који се брине о новорођенчету. Недостатак доступних записа о матерналним факторима ризика током боравка новорођенчета у ЈИНН-у може ометати способност особља да разуме интрапарталне факторе који могу наставити да утичу на даљи клинички ток новорођенчета. Приступ и преглед мајчинских записа су од суштинске важности како би се обезбедила најсигурнија и најадекватнија нега новорођенчета и утврдио ризик од НЕК-а.

Интрапартални фактори ризика могу укључивати срчани застој мајке, пролапс пупчане врпце, превремено одлубљивање постељице и хориоамнионитис. Такође се може посумњати на матерналне инфекције које се развијају током интрапарталног периода. Хистолошки, хориоамнионитис са васкулопатијом је био повезан са 2,5 пута већим ризиком од НЕК-а ($OR\ 2,6$, $P = 0,02$) у једној студији (*Ogunyemi et al.*, 2003). Будући да је пријављен висок однос изгледа у овој студији, важно је да се постељица прегледа хистопатолошки, након превременог порођаја.

Догађаји од клиничког значаја, који повећавају ризик од НЕК-а су реанимација при порођају, изложеност механичкој вентилацији у првим данима живота, превремено одлубљивање постељице или пролапс пупчане врпце и знаци интраутерусног застоја у расту (*Kamaji et al.*, 2008).

Хемодинамски значајан *ductus arteriosus* (хзДА) такође представља значајан перинаталан фактор ризика за развој НЕК-а. 4,23,24 Индометацин се до скоро користио за медицинско затварање хзДА, али се данас предност даје Ибупрофену, као бољем избору за смањење ризика од НЕК-а (*Bertino et al.*, 2009). У мета-анализи 15 студија ($n = 865$) поређени су ефекти Ибупрофена и Индометацина на затварање хзДА, при чему је ризик од НЕК-а смањен употребом Ибупрофена (смањење ризика $[RR] = 0,68$, 95% интервал поверења $[CI]: 0,47-0,99$) (*Ohlsson et al.*, 2010). Један центар је готово потпуно елиминисао НЕК у својој ЈИНН током петогодишњег периода. Користили су стандардизовани протокол исхране, који је захтевао да се исхрана одложи током давања Индометацина за затварање хемодинамски значајног ДА или када је дете било септично.

Gregory (2008) је испитивао присуство клиничких предиктора за НЕК код превремено рођене новорођенчади ($n = 247$), користећи дизајн студије случајева и контрола у једном центру, како би развио клинички профил новорођенчета са ризиком од НЕК-а. Новорођенчад која су захтевала механичку вентилацију током неонаталног периода имала су 13 пута већи ризик од развоја НЕК-а. Такође, имала су 6,4 пута већи ризик од развоја НЕК-а, ако нису примала обогаћено мајчино млијеко и 28,6 пута већи ризик, ако су захтевала респираторну подршку и нису примала обогаћено мајчино млеко. Додатни ризици који су примећени укључивали су употребу маске за вентилацију ($p < 0,002$), интубацију ендотрахеалним тубусом у порођајној сали ($p < 0,001$), хемодинамску подршку ($p < 0,0001$), хипотензивни епизоду ($p < 0,0001$), хипотермичну епизоду ($p < 0,002$) и примање обогаћеног мајчиног млека ($p = 0,054$). *Gregory* (2008) је описао

новорођенче са највећим ризиком од развоја НЕК-а као оно које је рођено са тежином од 500 до 1500 g, пре 28-е недеље гестације, које је захтевало реанимацију у порођајној сали, показивало физиолошку нестабилност током раног неонаталног периода и било храњено (мајчиним млеком или формулом).

У секундарној анализи података из базе података *Kids Inpatient Data*, Carter и Holditch-Davis (2008), су идентификовали бројне инфекције у неонаталном периоду и пролонгирану респираторну потпору, као предикторе НЕК-а код превремено рођене деце. Истраживачи су такође открили да су афроамеричка деца чешће дијагностикована са НЕК-ом, у односу на децу других раса. Антибиотска терапија, у раном клиничком току спречава бактеријску колонизацију потенцијално корисним микробима и предиспонира колонизацију резистентних бактеријских сојева на антибиотике, које су честе у јединици неонаталне интензивне неге (Claud & Walker, 2008).

Неподношење исхране и каснији развој НЕК-а могу бити резултат контаминираних ентералних хранилица (Mehall et al., 2002). У једној студији (n = 125), код новорођенчади су ентералне хранилице постављене током једне недеље, а када су уклоњене, биле су подвргнуте микробиолошком испитивању и установљено је да је 57% хранилица било контаминирано. Новорођенчад која су била третирана антагонистима хистаминских рецептора типа 2 (H2) имала су већу вероватноћу да имају контаминирану хранилицу (p < 0,05). H2 антагонисти смањују киселост желуца и подстичу раст бактерија. Када је адаптирана млечна формула давана преко контаминираних хранилица, забрињавајућих 75% новорођенчади је имало проблеме са подношењем исхране, а код четири новорођенчета је дошло до хируршки третираног НЕК-а. Идентификован је исти узрочник, (*Enterobacter* или *Klebsiella*) у контаминираним хранилицама (Mehall et al., 2002).

Прекомерне трансфузије код новорођенчади представљају, такође висок ризик за појаву НЕК-а (Josephson et al., 2010). НЕК након трансфузије је вероватнији код новорођенчади која су имала пун ентерални унос, у периоду од 24 сата пре трансфузије, посебно ако се ради о бовинском производу. Од новорођенчади која су развила трећи стадијум НЕК-а по Bell-у, њих 38% је примило трансфузију 48 сати пре постављања дијагнозе НЕК-а. Новорођенче са највећим ризиком за развој трансфузијски повезаног НЕК-а је веома предодређено и има историју неке од горе поменутих акутних болести.

Код новорођенчади рођене у термину и касне предтерминске новорођенчади, примена крвних деривата је такође повезана са НЕК-ом. Ексангвино трансфузије, примењене у циљу смањења високог нивоа индиректног билирубина код новорођенчади са хемолитичком болешћу изазваном Rh и АВО инкомпатибилношћу су повезиване са НЕК-ом, посебно код деце рођене у термину. Високе дозе интравенског имуноглобулина су такође повећавале ризик од НЕК-а, код касне предтерминске и терминске новорођенчади (OR = 31,66; 95% CI: 3,25–308,57). Тромбоцитопенија се јавља код НЕК-а, али може истовремено бити и показатељ озбиљности болести. Новорођенчад са фаталним исходом НЕК-а су имала сигнификантно чешће врло низак број тромбоцита (p < 0,05) (Tepas III et al., 2006).

1.2.3 Патофизиолошки механизми

Патофизиолошки механизми НЕК-а су комплексни и још увек недовољно разумљиви. Фактори који се сматрају важним претечама у патофизиологији "класичног" НЕК-а су интестинална исхемија и смањен доток крви у црева. Незрела црева код превремено рођене деце су посебно подложна исхемијској повреди, због недовољно развијене васкулатуре. Наиме, функција баријере, регулација циркулације, покретљивост, варење

и апсорпција, као и имунолошке одбране су незрели код недоношчади. Поред тога, равнотежа између ефекторног и толерирајућег имунолошког одговора није у потпуности развијена (*Van Belkum et al.*, 2020).

Инфламаторна реакција: Чини се да је класичан НЕК повезан са прекомерним инфламаторним одговорима, при чему су нивои цитокина и хемокина у серуму, посебно IL-8, значајно повишени (*Benkoe et al.*, 2014). Након интестиналне исхемије, покреће се инфламаторна каскада која доводи до ослобађања различитих проинфламаторних медијатора. Ова инфламаторна реакција доприноси оштећењу ткива и додатно нарушава проток крви. Поремећај баријерне функције црева-исхемија и инфламација, нарушавају интегритет слузокоже црева, омогућавајући продор бактерија и токсина кроз цревни зид. Ова „руптура“ у цревној баријери доводи до инвазије бактерија и накнадне инфекције. Неравнотежа, уобичајено здравог микробиолошког екосистема гастроинтестиналног тракта, назива се „дисбиоза“ и сматра се да доприноси патогенези НЕК-а (*Terrin et al.*, 2017). Недавна истраживања, коришћењем техника које се не ослањају на копрокултуру су испитивала микробиом црева, пре појаве НЕК-а. Чини се да долази до промене микроорганизама, са повећањем филума Протеобактерија и смањењем филума *Firmicutes* (*Benkoe et al.*, 2014). Високо спекулативна хипотеза сугерише да претерани инфламаторни одговор домаћина изазива поменути промену микроорганизама и може барем делимично бити одговоран за покретање патогенезе НЕК-а. Даља истраживања су потребна како би се испитала ова хипотеза и њени могући механизми.

Бактеријска колонизација: Код НЕК-а долази до абнормалне бактеријске колонизације црева. Штетне бактерије, као што су Ешерихија коли и Клебсијела врсте, се умножавају и ослобађају токсине, што погоршава инфламаторну реакцију и оштећење ткива.

Незрео имунски систем: Незрео имунски систем недоношчади доприноси њиховој повећаној осетљивости на НЕК. Њихов имунолошки одговор често је недовољан да контролише инвазију патогена и реши инфламацију. Други фактори који су повишени, а потенцијално могу бити коришћени као биомаркери за НЕК, укључују кладин 3 (протеин чврстог споја), интестинални протеин који веже масне киселине који се производи од стране епителних ћелија, као и фекални калпротектин који је продукт инфламаторних ћелија (*Van Belkum et al.*, 2020). S100 A8/A9 протеин и аполипопротеин-СII показали су високу осетљивост (100% и 96,4%, редом) и специфичност (90% и 95%, редом) у студијама које су разматрале НЕК као циљано стање. Висока осетљивост и специфичност пријављене су за интерлеукин-10 (100% и 90%), интерлеукин-1 рецептор антагонист (100% и 91,7%) и модификовани албумин исхемије (94,7% и 92%) када су тестирани за предвиђање преласка из дефинитивног у напредни НЕК (*Terrin et al.*, 2017).

1.2.4 Дијагноза

Клиничка слика онога што се назива НЕК може бити веома променљива, са знаковима и симптомима који су неодвојиви од сепсе. Присуство *pneumatosis intestinalis*-а и/или гаса у вени порте, као и директна визуализација некротичног црева током хируршког захвата, јасно разликује НЕК од фулминантне сепсе. Дијагностиковање НЕК-а обично укључује комбинацију клиничке процене, нативних радиолошких снимака абдомена и лабораторијских тестова. Ево неких уобичајених дијагностичких метода које се данас користе:

- Клиничка процена: историја болести, клинички знаци и налази физикалног прегледа, попут надутости стомака, интолеранција ентералне исхране, кржаве столице, смањен цревни рад, летаргија и нестабилност температуре.

- Рендгенски снимак абдомена: присуства ваздуха у зиду црева или *pneumatosis intestinalis* (гас у зиду црева) и дилатација цревних вијуга (метеоризам). Ови налази могу указивати на присуство и озбиљност стања.
- Ултразвук абдомена: може се користити за процену функције црева ради откривања знакова НЕК-а. Може помоћи у откривању промена протока крви у захваћеним подручјима и процени обима оштећења ткива. Ултразвук абдомена се од недавно користи за дијагнозу НЕК-а, а неки аутори га препоручују, делимично због његове осетљивости за откривање пнеуматозе црева (Kim, 2019). Међутим, још увек постоје подељена мишљења о осетљивости и специфичности ове технике, с обзиром на то да је потребно да се упореди са "златним стандардом" који вероватно и не постоји, осим ако се не ради о интестиналној некрози која се види током хируршког захвата или обдукције. Иако ова техника показује обећавајуће резултате, рутинска употреба можда још увек није препоручљива без проспективних, добро дизајнираних и валидираних студија (Kim, 2019).
- Крвни тестови: Лабораторијски тестови се обављају ради процене општег здравља детета и откривања знакова инфекције или дисфункције органа. Крвни тестови могу укључивати комплетну крвну слику, ниво Ц-реактивног протеина (ЦРП), крвне културе и анализу електролита.

Важно је напоменути да је дијагноза НЕК-а често изазовна, и здравствени тим ће узети у обзир комбинацију клиничких налаза, снимака и лабораторијских резултата, како би поставио тачну дијагнозу. Тежина НЕК-а се често класификује према фазама (нпр. по *Bell*-овим критеријумима) како би се водили приликом одлучивања о лечењу и исправно проценила прогноза. На пример, *Bell*-ови критеријуми који су развијени крајем 1970-их година укључују 3 различита стадијума болести. Стадијум 1. описује интолеранцију ентералне исхране, надутост стомака, респираторну нестабилност и неколико других неспецифичних знакова, који се јављају код већине недоношчади врло мале телесне масе у ЈИНН. Стадијум 2 се ослања на клиничке знаке и радиографске критеријуме који можда нису веома специфични, али се често тумаче као НЕК. На пример, извештаји о абдоминалној радиографији наводе да постоји локализовани "пенасти" изглед, који може или не мора бити у складу са клиничким симптомима или другим лабораторијским вредностима. Знак „сапунице“ може бити погрешно протумачен као столица у нормалном цреву, пре свега у колону. Препоручује се да се уради контролни снимак 6 сати касније, како би се пратиле промене у позицији столице. Ако се овај радиографски налаз одржава на поновљеним снимцима, узетим у року од 24-48 сати од првог снимка и ако се то поклапа са клиничким знацима, као што су надутост стомака и пораст инфламаторних маркера, вероватно се ради о НЕК-у (Neu, 2020).

1.2.4.1 Диференцијална дијагноза

Прегледајући литературу, може се сматрати да је НЕК јединствени, хомогени ентитет, али постаје јасно да је НЕК заправо неколико различитих болести или ендотипова (Neu et al., 2020). Боље разумевање ових разлика је кључно за нашу способност да рано дијагностикујемо ове ентитете, развојем одговарајућих предиктивних и дијагностичких биомаркера за сваку појединачну болест. Осим побољшане дијагностике, могу се побољшати и индивидуализоване стратегије превенције и лечења. Да бисмо напредовали у разумевању, терапији и превенцији ентитета које називамо НЕК, треба сажети неке заједничке карактеристике, као и карактеристике које разликују ове ентитете. Треба

нагласити да многе од често коришћених база података које су доступне за процену НЕК-а имају своје недостатке и ове слабости треба препознати, када се спроводе ретроспективне евалуације помоћу ових скупова података.

За спонтане интестиналне перфорације (СИП) се сматрало да су облик НЕК-а (*Aldana-Valenzuela & Mannino, 1989*), које су почеле да се препознају као одвојени ентитети пре отприлике 40 година (*Zamir et al., 1988*). Главни фактор који их разликује је то што се СИП најчешће јавља као изолована перфорација терминалног илеума, смештена антимезентерично, при чему преостало црево изгледа угрубо нормално (*Pumberger et al., 2002*). Иако патофизиологија СИП-а још увек није добро схваћена и препозната, јасно је да се ради о различитој болести, у односу на НЕК (*Vongbhavit & Underwood, 2017*). Код СИП-а, перфорација има минималну околну некрозу или инфилтрацију неутрофила. Просечно, појава СИП-а обично се јавља раније, у односу на класични облик НЕК-а. Иако употреба појединачних лекова не повећава ризик, комбинована употреба нестероидних антиинфламаторних лекова, попут Индометацина и Ибупрофена, као и постнатална примена кортикостероида, показала се као значајан фактор повећања ризика (*Paquette et al., 2006*). *Pneumatosis intestinalis* и гас у вени порте обично не претходе СИП-у, као што се често виђа код класичног облика НЕК-а. Постоје неки предлози да одређени биомаркери, попут нивоа интер-алфа инхибитор протеина у крви, могу значајно бити смањени код НЕК-а, у поређењу са СИП-ом. Како НЕК тако и СИП може карактерисати присуство надутости трбуха и слободног ваздуха, у трбушној шупљини. Често се третирају на сличан начин, уз постављање перитонеалних дренажа (*Eicher et al., 2012*). Постоји нејасноћа, да ли је црево прошло кроз значајну некрозу, као код НЕК-а у поређењу са једноставном перфорацијом, код СИП-а. Ово можда никада неће бити потпуно разјашњено без дефинитивне лапаротомије. Стога је вероватно да ће доћи до контаминације наших скупова података између НЕК-а и СИП-а, и често се све ове цревне повреде пријављују као НЕК. Колико ово ствара проблеме у анализама ових скупова података у опсервационим студијама није јасно.

Исхемија црева може бити резултат неколико урођених срчаних мана и треба је разликовати од класичног НЕК-а. Ово стање ниског протока крви јавља се код новорођенчади рођене у термину, али може се јавити и код недоношчади (*McElhinney et al., 2000; Ostlie et al., 2003*). Код исхемијске некрозе црева услед срчане болести, најчешће је захваћен колон. Синдром хипоплазије левог срца, трункус артериозус, опструкција аортног лука и аортопулмонални прозор пријављени су у већини случајева кардиогене исхемијске некрозе црева (*Spinner et al., 2020*). Предложено је се да се ова болест класификује као засебни ентитет и да се не дијагностикује као "НЕК". Прикладнији дијагностички назив био би "кардиогена исхемијска некроза црева".

Синдром Ентероколитиса Изазваног Протеинском Храном (СЕИПХ) је проблем који се најчешће јавља ван неонаталног периода, током одојачког периода, али се може се јавити и у неонаталном периоду. Манифестује се у првим месецима живота повраћањем, дијарејом, присуством крви у столицама или летаргијом у року од 1-4 недеље након првог излагања антителима. (*Miceli Sopo et al., 2019*). Испитивање на алергију на протеине крављег млека и чак дојење (ако је мајка изложена одређеним протеинима) могу изазвати рецидив. СЕИПХ је болест која није посредована путем ИгЕ антитела и још увек је слабо дефинисана, посебно код новорођенчади. Дијагностички биомаркери за СЕИПХ који би могли помоћи у диференцирању ове болести од НЕК-а још увек нису доступни, али недавни случајеви указују на могућност недовољног пријављивања ове болести, код новорођенчади (*Lenfestey et al., 2018*). Важно је разликовати СЕИПХ од НЕК-а, јер је лечење различито: код СЕИПХ-а, уклањање штетних антигена и симптоматска подршка

могу бити довољни, док је код НЕК-а лечење свеобухватније, уз употребу антибиотика, суздржавање од исхране и обезбеђивање парентералне исхране отприлике недељу дана.

Пацијенти са *Hirschsprung*-овом болешћу могу развити инфламаторни ентероколитис, стање које доводи до значајног морбидитета и морталитета (*Gosain et al.*, 2017). Клинички симптоми ове болести укључују повраћање, крварење из ректума, водене столице и абдоминалну дистензију, што понекад отежава разликовање од класичног НЕК-а. Цревна опструкција услед волвулуса, инвагинације и меконијалног илеуса, у склопу цистичне фиброзе такође могу имитирати клиничке знаке НЕК-а, укључујући радиографске карактеристике, као што је интестинална пнеуматоза и треба их имати на уму при диференцијалној дијагнози НЕК-а.

НЕК може бити брзо прогресивна болест, која се често развија од првих симптома до потпуно развијене болести и смртног исхода, у року од 24-48 сати. Из тог разлога је важно дијагностификовати је у најранијим фазама. Иако постоји одређена корист у погледу класификације тежине болести, *Bell*-ови критеријуми који су развијени касних 1970-их могу бити зававајући. Аутор *Neu* (2020) сматра да је тај систем класификације застарио. Информативније је користити појмове "медицински НЕК" за стање са јасно дефинисаним клиничким симптомима и радиолошким знацима (нпр. присуство гаса у вени порте и јасна интестинална пнеуматоза) и "хируршки НЕК" за дефинитивну интестиналну некрозу, која се виђа током хируршког захвата или аутопсије. Међутим, дијагностиковање цревне некрозе, пре развоја перфорације је веома тешко. Према страним ауторима, стопа смртности остаје висока и креће се од 18 до 40%, а може досећи 95-100% у случајевима обимне цревне некрозе.

1.2.5 Компликације

У поређењу са општим компликацијама прематуритета, новорођена деца која имају НЕК имају удружене гастроинтестиналне проблеме, успорен раст и што је још важније, лошије неуроразвојне исходе. Потреба за продуженом хоспитализацијом, понављаним хируршким интервенцијама и брижљивим праћењем и лечењем дугорочних компликација значајно повећава трошкове лечења ове болести (*Gordon & Swanson*, 2014). Компликације које се могу јавити у вези са НЕК-ом су различите. Готово свако четврто новорођенче које је имало НЕК пати од синдрома кратког црева. Ова компликација се јавља чак и код деце која нису подвргнута хируршком третману. Такође, анализирајући дугорочне резултате лечења, може се приметити да је најчешћа компликација синдром кратког црева. Код недоношчади која су примала конзервативну терапију, упркос нормалној дужини црева, капацитет апсорпције у областима које су биле захваћене инфламаторним процесом остаје низак. Поред тога, неуролошки поремећаји остају главни проблем код преживеле деце са НЕК-ом. Они се манифестују поремећајем вида, слуха, кашњењем у психомоторном развоју итд. Таква деца имају потешкоће у адаптацији, у друштвеном окружењу.

Морталитет и стопа оболевања су високи код превремено рођене деце која су патила од НЕК-а. Преживљавање новорођенчади која развијају НЕК зависи од њихове гестацијске старости, тежине при рођењу, обима и озбиљности акутне болести, присуства или одсуства перфорације црева, дужине захваћеног црева и других краткорочних и дугорочних компликација, као што је интравентрикуларно крварење који може независно повећати стопе тренутне или латентне смртности. Недавне студије које су се бавиле смртношћу и неким дугорочним и краткорочним исходима су сумиране у наставку. Већина њих су ретроспективне студије на великом броју испитаника и користе податке из различитих неонаталних мрежа, укључујући променљиву популацију

пацијената, најчешће, (не само новорођенчад са тежином мањом од 1000g). Важан аспект је да је синдром СИП-а сада препознат као засебан ентитет/или искључен и посебно анализиран. Смртност НЕК-а код недоношчади остаје висока и још је већи код хируршког НЕК. Посебно интересантно је да, упркос смањењу учесталости хируршког НЕК-а са повећањем телесне тежине при рођењу, смртност код хируршког НЕК-а се смањује за 5%, за сваких 100g повећања телесне тежине при рођењу (*Battaglia et al., 2020*). Смртност код хируршког НЕК-а достиже плато од око 30% чак и код новорођенчади са телесном тежином изнад 750g (*Battaglia et al., 2020*). *Hull* и сарадници (*Hull et al., 2014*) су се трудили да успоставе национални референтни оквир за смртност код хируршког НЕК-а, на основу тежине при рођењу. Користећи базу података *Vermont Oxford Network (VON)*, за америчке центре показали су варијацију у смртности у зависности од хируршког приступа, при чему је смртност износила 50% код новорођене деце код које је извршена примарна перитонеална дренажа (ППД), затим ППД са накнадном експлоративном лапаротомијом (са смртношћу од 34%), док је лапаротомија имала смртност од 31% (*Hull et al., 2014*). Овај ефекат је вероватније резултат мање болести популације него што се може приписати ППД-у као средству лечења, самом по себи. *Stey* и сарадници (*Stey et al., 2015*) су дошли до идентичних резултата користећи базу података Калифорније са упаривањем пацијената према склоности (*Stey et al., 2015*), док су *Tashiro* и сарадници добили већу стопу преживљавања код новорођене деце која су лечена ППД-ом, у поређењу са ППД + експлораторна лапаротомија или само експлораторном лапаротомијом код новорођене деце из базе података *Kids Inpatient Database (KID)* (*Tashiro et al., 2017*). Може се закључити да лечење деце са НЕК-ом представља сложен проблем са високом стопом смртности. Многа контроверзна питања у вези са патогenezом, дијагнозом и хируршком тактиком остају отворена и захтевају решење.

1.2.6 Терапија

Терапија НЕК-а зависи од стадијума болести и може бити конзервативна или оперативна. У случајевима без некрозе и перфорације, примењује се конзервативна терапија. То подразумева престанак исхране и прелазак на потпуну парентералну исхрану, уз постављање назогастричне сонде ради декомпресије. *Stenger* и сарадници (2011) помињу употребу инхибитора инфламаторних цитокина када се појаве знаци НЕК-а, иако ова пракса можда није широко доступна у свим земљама. Други потенцијални третмани укључују фактор раста епитела (ЕГФ), хепаринску терапију, интерлеукин-10, еритропоетин, колонизујући стимулирајући фактор (Г-ЦСФ) и пробиотице. Студије на животињама су показале позитиван ефекат примене имуноглобулина А, Л-аргинина, нитроглицерина, као извора азот монооксида и пентоксифилина, као инхибитора фактора раста некрозе тумора. Опсежна примена антибиотика је неопходна у терапији НЕК-а. Преферирају се цефалоспорини треће генерације у комбинацији са аминокликозидима. Алтернатива су имипенемс у комбинацији са метронидазолом. Међутим, неконтролисана употреба антибиотика је показала неефикасност терапије. Антибиотици би требало да делују не само против бактерија присутних у НЕК-у, већ и против нозокомијалне флоре. Јасан критеријум за извођење хируршког третмана представља једно од најтежих питања. Скоро сви хирурзи се слажу да перфорација или некроза црева представљају индикацију за хирургију. Идеално, операција би требало да се изврши након јасног ограничења зона некрозе, али пре развоја перфорације.

У лечењу НЕК-а код новорођенчади најчешће се користе две методе: ресекција некротичних делова црева са ентеростомом или примарном анастомозом. Постоји активна дискусија међу присталицама ових метода. Недавно су неки аутори дискутовали

о примарној перитонеалној дренажи, путем лапароцентезе. Перитонеална дренажа је описана као третман некротизирајућег ентероколитиса 1977. године. На почетку, таква операција је предложена ради стабилизације стања пацијената са тешким обликом болести, како би се у будућности извршила лапаротомија. Касније је перитонеална дренажа изведена као засебан третман. Тренутно не постоје јасни критеријуми за извођење лапаротомије након перитонеалне дренаже, нити за спровођење само дренаже (Stenger et al., 2011).

1.2.6.1 Улога пребиотика у превенцији некротичног ентероколитиса

Пребиотици, како су дефинисали Gibson и Roberfroid (1995), су недигестибилне компоненте хране које селективно стимулишу раст и/или активност одређених корисних бактерија у колону, побољшавајући тиме здравље домаћина. Пребиотици, попут комплексних олигосахарида који се налазе у мајчином млеку, могу да подстакну раст бифидобактерија и лактобацила у колону, посебно код искључиво дојене деце. Када ове корисне бактерије ферментирају пребиотике, производе кратколанчане масне киселине, попут бутирата, које пружају исхрану ћелијама црева и играју кључну улогу у одржавању интегритета цревног зида.

Студије су показале да суплементација пребиотицима може довести до значајних промена у саставу цревне микробиоте, са повећањем бифидобактерија и смањењем штетних бактерија као што су *Clostridia* врсте. Код животињских модела НЕК-а, суплементација пребиотицима олигофруктозом доводи до повећања бифидобактерија, смањења *Clostridia* врста и смањења интестиналних лезија (Thompson & Bizzarro, 2008).

Код новорођене деце рођене у термину, неколико студија је процењивало ефикасност и безбедност суплементације пребиотицима. Ове студије су показале да суплементација пребиотицима доводи до повећања броја колонија бифидобактерија, мекших и чешћих столица, као и различитих краткотрајних бенефита, укључујући смањење регургитације и атопијског дерматитиса. Мета-анализа ових студија је показала значајно смањење *pH* вредности столице и благо побољшање добијања на тежини код новорођене деце која су добијала пребиотску суплементацију. Иако је суплементација пребиотицима углавном добро подношена, једна студија је пријавила чешћу појаву дијареје, раздражљивости и екцема код новорођене деце која су примала пребиотике. Међутим, дугорочне здравствене користи рутинске суплементације пребиотицима у адаптираним млечним формулама за новорођену децу још увек се истражују, а потребне су веће студије на неонаталној популацији како би се измерили дугорочни здравствени бенефити.

Код недоношчади, доступни су ограничени клинички подаци о безбедности и ефикасности суплементације пребиотицима. Неколико студија је показало да суплементација пребиотицима повећава број бифидобактерија и лактобацила у столицама, али не утиче на добијање на тежини. Међутим, тренутни докази су недовољни да би се рутински препоручила суплементација пребиотицима у формули за недоношчад.

Израз "синбиотици" се односи на производ који садржи и пробиотике и пребиотике. Студије на животињама су показале да суплементација синбиотицима може имати заштитни ефекат на црева модулацијом оксидативног стреса и антиоксидантних одговора. Код недоношчади, суплементација синбиотицима која садржи лактобациле, бифидобактерије и пребиотике је показала повећану колонизацију бифидобактеријама. Међутим, потребни су додатни подаци како би се донели закључци о употреби синбиотика код недоношчади.

Укратко, пребиотици су показали потенцијал у селективном стимулисању раста корисних бактерија у цревима и побољшању здравља домаћина. Иако је суплементација

пробиотицима показала краткотрајне бенефите код новорођене деце рођене у термину, неопходно је извршити додатна истраживања како би се идентификовали њихови дугорочни ефекти. Код превремено рођене деце, тренутни докази су недовољни да би се препоручила рутинска суплементација пробиотицима, и потребне су додатне студије како би се проценила њихова безбедност и ефикасност. Употреба синбиотика, комбинација пробиотика и пребиотика, такође захтева више истраживања пре доношења коначних закључака (*Stenger et al.*, 2011).

1.2.6.2 Улога пробиотика у превенцији некротичног ентероколитиса

Улога пробиотика у превенцији НЕК се истражује путем великог броја претклиничких студија, које пружају све већи увид у механизме подршке пробиотика здрављу црева и потенцијалног смањења НЕК-а (*Stenger et al.*, 2011). Недавно су објављене бројне мета-анализе и систематски прегледи који сумирају велики број случајних контролисаних испитивања (СКТ) и не-СКТ студија, али се скоро у свим тим мета-анализама и систематским прегледима експериментална група конструисала након комбиновања различитих сојева пробиотика, коришћених у оригиналним испитивањима (*Patel & Underwood*, 2018). Показано је да профилактичко додавање пробиотика значајно смањује појаву дефинитивног НЕК-а (≥ 2 . стадијум НЕК-а), укупну смртност, касне сепсе (КС) и време успостављања потпуне ентералне исхране (120-150 ml/kg/дан) код превремено рођене деце са тежином при рођењу <1500 г (веома ниска тежина при рођењу) (*AlFaleh & Anabrees*, 2014; *Yang et al.*, 2014; *Lau & Chamberlain*, 2015). Нажалост, будући да су ефекти пробиотика претежно зависни од специфичног соја, резултати мета-анализа који комбинују податке из различитих сојева не могу се поуздано користити за извођење истраживања и не пружају клиничарима значајан одговор: који специфични пробиотички производ има доказану ефикасност (*Costeloe et al.*, 2016; *Ofek Shlomai et al.*, 2013). Ефикасност се може процењивати само на нивоу соја, а само мали број таквих мета-анализа је спроведен (*Athalye-Jape et al.*, 2016; *Athalye-Jape et al.*, 2018). Систематски преглед и мета-анализа у вези са употребом *Lactobacillus reuteri* ДСМ 17938 као пробиотичког суплемента за превремено рођену децу су показали повољне ефекте примене *L. реутери* ДСМ 17938 на толеранцију исхране, са значајним смањењем времена до потпуне ентералне исхране (средња разлика је 1,34 дана; 95% интервал поверења CI: -1,81 до -0,86) и на дужину боравка у болници (смањење за 10,77 дана; 95% интервал поверења CI: -13,67 до -7,86). Није пронађена значајна разлика у стопи ≥ 2 -ог стадијума НЕК-а (RR 0,69, 95% ЦИ 0,47-1,01) и укупној смртности (релативни ризик: 0,79; 95% CI: 0,57-1,09), и није забележено ниједно нежељено дејство (*Athalye-Jape et al.*, 2016) Систематске прегледи СКТ и не-СКТ (пре вс. после рутинске употребе) показују да профилактичка суплементација пробиотицима значајно смањује стадијум ≥ 2 НЕК-а, укупну смртност, сепсу касног почетка, и време до успостављања потпуне ентералне исхране (120-150 mL/kg/дан) код недоношчади са веома ниском телесном масом при рођењу (телесна маса при рођењу <1500 g) (*Athalye-Jape et al.*, 2018). При том, нису пријављена нежељена дејства (*Athalye-Jape et al.*, 2018). Недавно објављена мрежна мета-анализа је спровела упоредну анализу 25 различитих третмана, у односу на заједнички плацебо (*Van den Akker et al.*, 2018). Поменути мрежна мета-анализа обухватила је 51 СКТ студију са укупно укључено више од 11.000 превремено рођене деце, међутим многи од различитих пробиотичких третмана су оцењивани само у једној или две студије. При томе су само пет сојева проучавани у најмање 4 СКТ студије. Следећи третмани су показали смањење инциденције НЕК-а (у најмање 2 студије): *B. lactis Bb-12* или *B94* (на основу 5 студија, 828 укључене недоношчади); *L. reuteri ATCC 55730* или *DSM 17938* (на основу 4 студије, 1459 укључене недоношчади); *LGG* (на основу 6 студија, 1507 укључене недоношчади); комбинација *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. longum* и *L.*

acidophilus (на основу 2 студије, 247 укључене недоношчади); и комбинација *B. infantis* Bb-02, *B. lactis* Bb-12 и *S. thermophilus* TH-4 (на основу 2 студије, 1244 укључене недоношчади); као и комбинација *B. longum* 35624 и LGG (на основу 2 студије, 285 укључене недоношчади) (Van den Akker et al., 2018).

Упркос великим напорима да се прикаже преглед свих објављених доказа о употреби пробиотика код превремено рођене деце на нивоу соја, није било могуће јасно идентификовати оптимални сој или комбинацију, дозу, време почетка и трајање третмана (Van den Akker et al., 2018).

2. ЦИЉ И ХИПОТЕЗЕ

2.1 Основни циљеви студије

Циљеви који су постављени за ову докторске дисертације су:

1. Одредити референтни ранг за ФКП у субпопулацији терминске и претерминске новорођенчади, без знакова гастроинтестиналних обољења.
2. Утврдити перинаталне факторе, који могу утицати на излучивање калпротектина у меконијалној столици.
3. Испитати да ли у субпопулацији превремено рођене деце, храњене искључиво специјално адаптираном млечном формулом, суплементација пробиотиком има протективни утицај.

2.2 Хипотезе испитивања

Полазне хипотезе ове студије су следећи:

1. Демографске карактеристике испитаника (пол, гестацијска старост, тежина при рођењу, начин завршетка порођаја и постнатална старост) неће значајније утицати на меконијалне вредности калпротектина.
2. Болести мајке и пре/постнатална примена антибиотика неће значајније утицати на фекалне концентрације калпротектина, док ће перинатална асфиксија, интолеранција ентералне исхране и инфламација/инфекција представљати ризикофакторе за пораст вредности ФКП-а.
3. Превремено рођена деца на суплементацији пробиотиком имаће мање вредности ФКП-а и бољу толеранцију ентералне исхране, у односу на испитанике који су примали плацебо.

3. МАТЕРИЈАЛ И МЕТОДЕ

У Центру за неонатологију, Клинике за педијатрију и породилишту Гинеколошко-акушерске клинике, Универзитетског клиничког центра у Крагујевцу (УКЦ) проспективно су прикупљани подаци, у временском интервалу од јануара 2018. до јануара 2021. године, а затим је извршена ретроспективно-опсервациона („case-control”) анализа. Испитаници су селектовани по принципу случајног узорка. Ова студија је спроведена уз одобрење Етичког одбора на Факултету медицинских наука у Крагујевцу (бр. 01-8450) и Универзитетског клиничког центра у Крагујевцу (бр. 01/19/1973).

Искључујући критеријуми су били: смртни исход у прва 24 сата; гестациска старост < 24 недеље и > 42 г.н.; постнатална старост ≥ 5 дана у моменту првог колектовања столице, конгениталне аномалије од клиничког значаја (урођене срчане мане; дијафрагмална хернија, атрезација или малротација црева, гастрошиза и др.); хромозомске аберације; урођене метаболичке болести;

3.1 Посматране групе испитаника

Испитивање је обухватило новорођенчад оба пола, гестациске старости од 26 до 41 гестациске недеље;

1. Група превремено рођене или претерминске новорођенчади (тзв. испитивана група) обухватила је новорођену децу узраста < 5 дана, гестациске старости ≤ 36 б/7 гестациских недеља (г.н.); без придружених гастроинтестиналних или других урођених аномалија; урођених метаболичких или других генетских болести, изузев оних стања или болести, везаних за само превремено рођење; сва превремено рођена деца су храњена искључиво специјално адаптираном млечним формулом за превремено рођену децу.

Испитивана група превремено рођене деце подељена је у подгрупе, према:

- гестациској старости (≤ 28 г.н.; од 28 1/7 до 32 г.н.; 32 до 34 б/7 г.н. и од 35 до 36 б/7 г.н.) и
- придруженим болестима (респираторни дистрес синдром, перинатална асфиксија, перзистентна фетална циркулација, анемија, полицитемија и слично), или стањима (интраутерусни застој у расту, интолеранција ентералне исхране, синдром инфламаторног одговора, примена антибиотика, пробиотика и друге терапије).

2. Контролну групу су чинила здрава терминска новорођенчад, рођена од навршене 37-ме до 41 г.н., из уредне, контролисане трудноће, храњена млеком властите мајке, узраста до 5 дана.

По принципу случајног узорка, издвојено је 56 превремено рођене новорођенчади, којима је орално давано 7 пробиотских BebiCol® капи (*Lactobacillus rhamnosus* GG 10 милијарди cfu + цинк и D3 витамин). Суплементација је започињана одмах након одређене иницијалне ФКП вредности, у првој недељи хоспитализације и вршена је у трајању од најмање 14 дана. Збирни ефекат био-активних супстанци на запаљење црева мерен је одређивањем ФКП-а, пре и након суплементације. Код превремено рођене деце која нису била на суплементацији био-активним супстанцама, ФКП је одређиван у првој и крајем треће недеље живота, ради поређења вредности поменутог био-маркера.

Концентрација ФКП-а анализирана је код свих испитаника из прве, меконијалне столице, (до 10 сати ујутру). Свежа столица је колектована у стерилну посуду за копрокултуру и одмах одношена у централну лабораторију УКЦ Крагујевац, где је вршена квантитативна анализа на тестовима Алегриа уређаја (24 Алегриа® траке са опсегом од 0 - 1000 µg/g фецеса), извођењем ЕЛИСА теста. Истовремено, колектована је и крв за лабораторијску обраду, где су анализирани следеће варијабле: комплетна крвна слика (ККС), уреа, кратинин, ЦРП, прокалцитонин (ПЦТ), гасне анализе, јонограм, гликемија и хемокултура.

За утврђивање вредности ККС из капиларне крви коришћен је апарат *Nihon Kohden Celltae E* или *Beckman Coulter*. Процена односа између незрелих (несементираних) и зрелих неутрофила (познатог као под енглеским термином *I/T ratio*) вршена је на основу размаза периферне крви, обојене *Giemsa* и *May Gruenwald* бојама, под микроскопом *Nihon Eclipse E 400*. Имуно-турбидиметријски тест на апарату АУ 400 коришћен је за одређивање нивоа уреје, креатинина и ЦРП. Прокалцитонин је одрђиван електро-хеми-луминесцентним имуно тестом на апарату *Cobas e 411*; *pH*, *BE*, *HCO₃*, лактати, гликемија, натријум (*Na⁺*), калијум (*K⁺*), јонизовани калцијум (*Ca⁺⁺*) и гликемија одређивани су из капиларне артеријализоване крви, апаратом *GEM Premier 3000*. Хемокултура је рутински узимана при пријему у одељење интензивне неге и терапије новорођеног детета (ОИИ); У микробиолошкој лабораторији УКЦ Крагујевац затим је вршена анализа узорака култивисањем на хранљивој подлози, сложеном техником бојења по Граму.

3.2. Анализиране варијабле

Независне варијабле:

- пол (М/Ж)
- телесна маса при рођењу (ПТМ) испитаника, изражена у грамима;
- гестацијска старост (ГС), изражена у недељама (процењивана у <12h по рођењу, на основу морфолошких и неуролошких критеријума, по *Dubowitz* и сарадницима (1970) и *Ballard* и сарадницима (1979));
- начин порођаја (вагинални, царски рез);
- антенатална примена лекова (стероиди-*Dexamethason*, антибиотици, антихипертензиви, прогестерон и сл.);
- интраутерусни застој раста, (дефинисан као ПТМ испод десетог перцентила за ГС);
- Силверман скор при пријему (клиничка процена респираторног дистреса по *Silverman* и *Andersen*, (1956));

Збуњујуће варијабле:

- постнатална старост, (у моменту колектовања столице -изражена у данима);
- тип ентералне исхране (млеко властите мајке, прематурна адаптирана формула, са или без додатка делимичне парентералне исхране);
- запремина ентералног оброка (изражена у мл/кг/ дан);
- постнатална примена лекова (антибиотици, пробиотици, антациди);
- примена инотропа (ДА/НЕ);

- пратеће болести труднице (гестацијски *dijabetes melitus* (ДМГ), превремено прснуће плодних овојака (ПРОМ), инфекције, хипертензија);
- боја плодове воде (бистра, замућена или меконијална);
- примена механичке вентилације (ДА/НЕ);
- фатални исход (ДА/НЕ, узраст у данима када је настао фатални исход: првих 7 дана рани, после 7 дана касни морталитет).

Зависне варијабле:

- Фекални калпротектин (под референтним рангом, у лабораторији КЦ „Крагујевац“ за одрасле се сматрају вредности $\leq 50\mu\text{g/g}$ столице);
- АС у 5. мин (клиничка процена виталности новорођеног детета вршена према скали *Apgar* (1953));
- Коморбидитет од клиничког значаја:
- *Конатална сенса* (позитивна хемокултура или леукопенија $<5000 \times 10$ на 9/л леукоцита; леукоцитоза $>30000 \times 10$ на 9/л леукоцита, до 4-ог дана живота или $>20000 \times 10$ на 9/л леукоцита после 4-ог дана живота; тромбоцитопенија $<150000 \times 10$ на 9/л тромбоцита; ЦРП $> 20\text{mg/l}$; ПЦТ $>0,5\text{ng/ml}$ после 4-ог дана живота);
- *Некротизирајући ентероколитис* (класификован према клиничко-радиографским знацима по Беллу у три стадијума, гас у вени порте и др.);
- Болест хијалиних мембрана или идиопатски РДС (радиографски степенуван према критеријумима *Paetzel M*);
- *Перинатална асфиксија* (ПА): анамнезни подаци о феталној асфиксији (меконијална плодова вода/измењена срчана радња на кардиотокографу) и/или гинеколошко-опстетричким компликацијама (неправилно усађена постељица, превремена абрупција плаценте, пролапс пупчника, руптура утеруса, акушерске интервенције праћене извесним степеном трауме и др.);
- Кардиореспираторна и неуролошка депресија дефинисана *АСом* <4 у 1 мин. и <7 у 5 мин. после рођења; метаболичка ацидоза, (дефинисана као ниво лактата $>3,7$ ммол/л у првих 1-12 сати по рођењу); респираторни дистрес; конвулзије $<48\text{x}$, хипотонија или кома; хипотензија и/или олигурија; мултиорганска инсуфицијенција (3 или више органа).
- *Полицитемија* (периферни венски хематокрит $>0,65\%$);
- ПРОМ ≥ 18 сати;
- Лоша толеранција ентералне исхране (дефинисана као прекид ентералне исхране сваког дана током недељу дана, од дана када су добијени фекални узорци. Након клиничке процене лекара, ентерална исхрану ће бити прекинута уколико је постојао значајан остатак желудачног аспирата, абдоминална дистензија и/или крв у столицама. Када је ентерална исхрана прекидана због примене ибупрофен (за затварање дуктус артериозуса) или постекстубационо НЕЋЕ се сматрати догађајима лоше толеранције ентералне исхране);
- Биохемија (ККС, ЦРП, ПЦТ, гликемија, уреа, креатинин, Na^+ , K^+ , јонизовани Ca^{++} , pO_2 , pCO_2 , рН, БЕ, HCO_3 , лактати);

3.3 Снага студије и величина узорка

На основу недавно објављене студије (*Costa et al.*, 2020) одабрана је величина узорка у којој су одређиване вредности ФКП-а код превремено рођене деце са и без интолеранције ентeралне исхране. Коришћењем рачунарског програма G* power 3.1.9., уз почетне параметри за снагу студије од 80% и вероватноћа грешке првог типа (α) од 0,05 за двосмерно тестирање хипотезе одређена је величина узорка за студију. На темељу параметара које смо навели, т-тестом је израчунато да је минимална величина узорка потребна у испитиваној групи 61 испитаник, што укупно износи 122 испитаника.

3.4 Ограничења студије

Недостатак комплетних пренаталних анамнезних података, (транспорт превремено рођене деце вршен је из 12 удаљених породилица), понекад је отежавао анализу и интерпретацију добијених резултата. Постоји могућност да су неки додатни фактори, који нису узети у обзир, или нису контролисани током ове студије могли утицати на добијене резултате, као на пример: лоша пренатална нега или социоекономски статус мајке, непријављено узимање лекова током трудноће, лоше навике мајке или исхрана итд. Затим утицај неговатеља на учесталост пресвлачења новорођене деце (могућност мешања фецеса и урина) и други здравствени услови који су могли имати утицаја на исходе. Иако су током студије уочене статистички значајне разлике у вредностима ФКП-а за поједине посматране варијабле, величина ефекта је понекад била мала. То значи, да иако је постојала статистички значајна разлика у вредностима ФКП-а, та разлика је понекад имала ограничену клиничку релевантност. Серијско (понављано) детектовање калпротектина у столицу понекад је неопходно за дијагностиковање НЕК-а, па је једнократно узорковање фецеса представљало једно од најважнијих ограничења ове студије, уз поменуте велике интер- и интра- индивидуалне варијације, у вредностима ФКП-а. Такође, можда су и саме перформансе коришћеног комплета (24 Алегриа® тест траке са распоном од 0-1000 μ g/g фецеса) могле бити узрок неуобичајено ниских вредности фекалног калпротектина, како оних просечних, тако и оних код превремено рођене деце са НЕК-ом.

3.5 Статистичка обрада података

За анализу основних клиничких карактеристика испитаника коришћена је дескриптивна статистика-аритметичка средина, стандардна девијација и проценти. За приказивање средњих вредности биохемијских маркера и варијабли, чија расподела није била нормална коришћена је дескриптивна статистика-медијана, кватили и проценти. За поређење средњих вредности варијабли две популације примењен је *Mann-Whitney* тест, а за поређење средњих вредности варијабли више популација *Kruskal-Wallis* тест. Spearmanov коефицијент корелације коришћен је за анализу корелације између два нумеричка обележја, док је за процену утицаја једне или више варијабли на једну бинарну варијаблу примењена униваријантна и мултиваријантна бинарна логистичка регресија. Да ли је нека нумеричка варијабла погодна да буде маркер биће испитивано помоћу *ROC* кривих.

4. РЕЗУЛТАТИ

4.1 Клиничке карактеристике посматраних испитаника

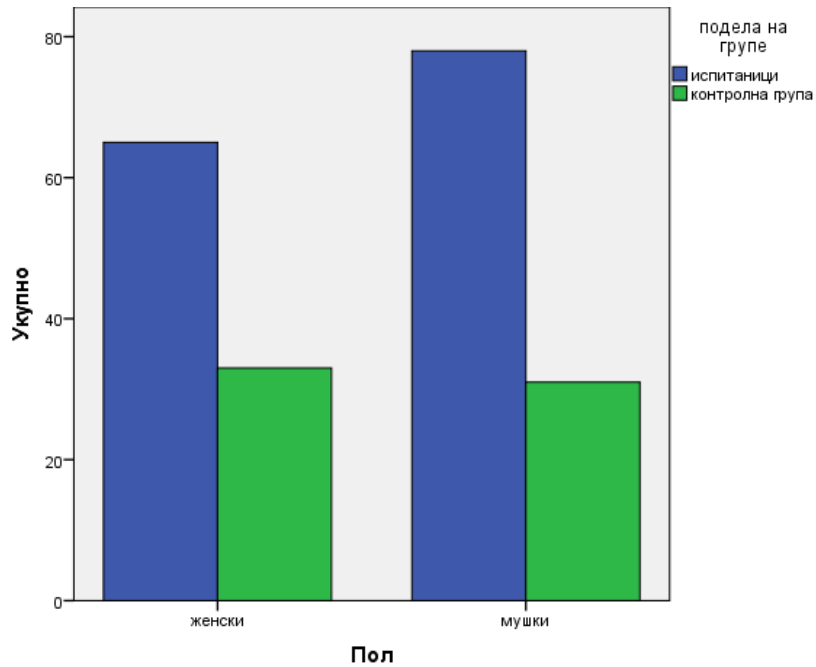
Током трогодишње студије анализирано је 207 испитаника, који су били сврстани у две основне групе:

4. **Група претерминске новорођенчади** (143/207 или 69% испитаника) тзв. испитаници имала је следеће демографске карактеристике:
 - 78/143 или 54.5% испитаника било је женског и 65/143 или 45.5% мушког пола (Слика 1);
 - просечне гестацијске старости (ГС) $32,44 \pm 2,34$ недеље;
 - просечног узраста (тј. постнаталне старости у моменту узорковања меконијалне столице) $2,664 \pm 0,963$ дана;
 - просечне ПТМ $1815,35 \pm 434,63$ грама;
 - просечног АСа (АС) у 5-ом минути $6,839 \pm 1,66$; медијана 7;
 - порођај је код 63/143 испитаника (44,1%) завршен вагиналним путем, док је код 80/143 испитаника (55,9%) завршен „царским резом“;
 - примену механичке вентилације захтевало је 57/143 или 39,9%, а
 - примену инотропа 12/143 или 8,4% испитаника;
 - исход је био фаталан код 4/143 или 2,8% испитаника.

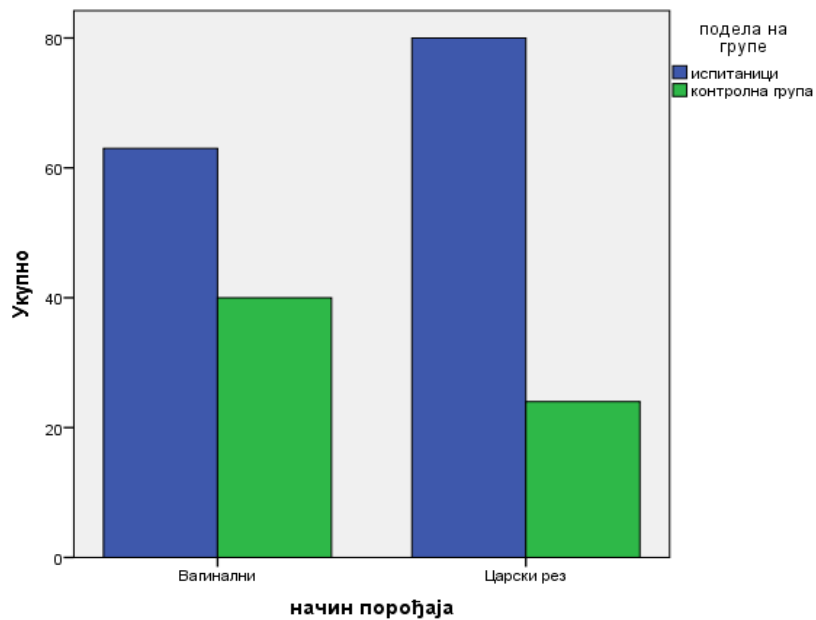
5. **Група терминске новорођенчади** (64/207 или 31% испитаника) тзв. контролна група имала је следеће демографске карактеристике:
 - 31/64 или 51.6% испитаника било је мушког и 33/64 или 48.4% женског пола (Слика 2);
 - просечна ГС износила је $39,141 \pm 1,09$ недеља;
 - просечног узраста, (тј. постнаталне старости, у моменту узорковања меконијалне столице) $2,125 \pm 0,934$ дана;
 - просечна ПТМ износила је $3390 \pm 418,94$ грама;
 - просечан АС у 5-ом минути био је $9,063 \pm 0,68$; медијана 9;
 - порођај је завршен вагиналним путем код 40/64 или 62,5% испитаника и „царским резом“ код 24/64 или 37,5% испитаника;
 - сви испитаници су били без клинички манифестних обољења.

Посматране групе се нису међусобно значајно разликовале по полу ($p=0,254$; Слика 1; Табела 3) и узрасту ($p=0,225$), док су ГС, ПТМ, АС, начин завршетка порођаја, примена реанимације, инотропа и конвенционалне механичке вентилације (МВ), као и трајање вентилаторне потпоре били групно зависни (Табела 3). „Царски рез“, као начин завршетка порођаја био је чешће заступљен код претерминске, у односу на терминску новорођенчад (Слика 2; $p=0,01$), док су средње вредности ГС, ПТМ и АСа у 5-ом мин. у групи претерминске новорођенчади биле сигнификанто мање, у односу на терминску новорођенчад ($p<0,001$). Сходно томе, ови испитаници су сигнификантно чешће захтевали кардиопулмоналну потпору, уз нешто чешћу смртност која није резултирала

статистичком значајношћу, због недовољног броја испитаника. Основне клиничке карактеристике испитаника, у посматраним групама приказане су у Табели 3.



Слика 1. Расподела према полу у посматраним групама



Слика 2. Расподела према начину порођаја у оквиру разматраних група

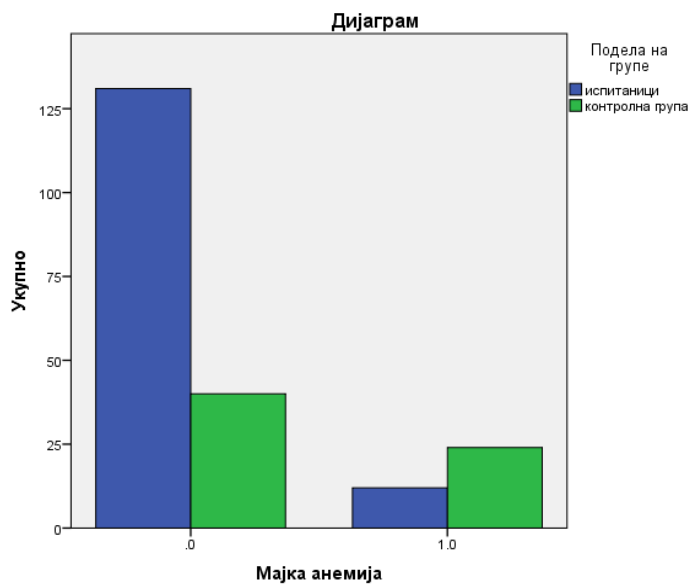
Табела 3. Основне клиничке карактеристике испитаника у посматраним групама

Клиничке карактеристике (n=207)	Претерминска новорођенчад	Терминска новорођенчад	р вредност
Мушки пол (%)	65/143 (45,5%)	31/64 (48,43%)	p=0,254*
Женски пол (%)	78/143 (54,5%)	33/64 (51,56%)	
ГС, у недељама (x±СД)	32,44±2,34	39,1±1,09	p<0,001**
ПТМ, у грамима (x±СД)	1822,343±416,10	3390±418,94	p<0,001**
АС у 5. мин. (x±СД)	6,83±1,66	9,06±0,68	p<0,001**
Вагинални порођај (%)	63/143 (44%)	40/64 (62,5%)	p=0,010*
„Царски рез“ (%)	80/143 (56%)	24/64 (37,5%)	
Примена инотропа	12/131 (8,4%)	0/64 (0)	p=0,010*
Примена реанимације (%)	70/143 (48%)	0/64 (0)	p<0,001**
Примена МВ (%)	57/143 (39,8%)	0/64 (0)	p<0,001**
Бр. дана МВ (x±СД)	3,472±5,83	0/64 (0)	p<0,001**
Умрли (%)	4/143 (2,79%)	0/64 (0)	p=0,225*

* hi - квадрат тест; ** t тест; ГС-гестациска старост; г.н.-гестациска недеља; ТМ-телесна маса; АС-апгар скор; О2-оксигена терапија; МВ-конвенционална механичка вентилација.

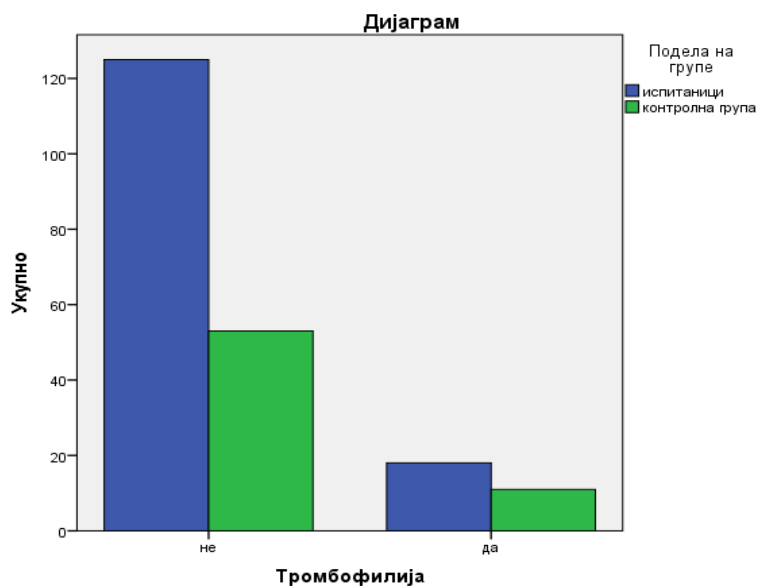
4.2 Заступљеност најчешћих пренаталних фактора

- **Хипертензију** индуковану трудноћом је имало 14,7% мајки претерминске новорођенчади (тзв. испитаници) и 9,4% мајки терминске новорођенчади (тзв. контролна група), тј. статистички разлика није била значајна (хи-квадрат - $\chi^2=1,208$; p=0,202; Табела 2).
- У групи претерминске новорођенчади, 8,39% мајки је имало **анемију**, док је у групи терминске новорођенчади тај проценат износио 37,5%, што је резултирало статистички значајном разликом ($\chi^2=26,075$; p =0,000; погледајте Табелу 2; Графикон 3).



Слика 3. Расподела претерминске и терминске новорођенчади на основу болести мајке -анемије

- У групи испитаника, 1,5% мајки је имало **уринарну инфекцију**, док ниједна мајка у контролној групи није имала ову инфекцију, међутим ова разлика није статистички значајна ($\chi^2=2,245$; $p=0,309$; види Табелу 2).
- У групи испитаника, **тромбофилију** је имало 12,58% мајки, док је у контролној групи тај проценат износио 17,8%, али ова разлика није статистички значајна ($\chi^2=0,777$; $p=0,250$; погледајте Слику 4).



Слика 4. Расподела претерминске и терминске новорођенчади на основу болести мајке - тромбофилије

- У групи испитаника, **дијабетес** је забележен код 4,19% мајки, док је у контролној групи тај проценат био 10,94%, али ова разлика није била статистички значајна ($\chi^2=3,414$; $p=0,066$).

- **Хепатитис Ц** је имао присуство код 0,6% мајки у групи испитаника, док ниједна мајка у контролној групи није имала ову болест, али ова разлика није била статистички значајна ($\chi^2=3,414$; $p=0,066$).
- **Хипотиреоза** је била присутна код 3,49% мајки у групи испитаника и код 6,25% мајки у контролној групи, међутим ова разлика није била статистички значајна ($\chi^2=0,806$; $p=0,289$).
- **COVID** је био присутан код 2,09% мајки у групи испитаника, док ниједна мајка у контролној групи није имала ову болест, али ова разлика није била статистички значајна ($\chi^2=1,362$; $p=0,328$).
- **Зелена плодова вода** је имала присуство код 2,09% мајки у групи испитаника, док ниједна мајка у контролној групи није имала овај симптом, међутим ова разлика није била статистички значајна ($\chi^2=1,362$; $p=0,328$).
- **Интраутерини застој у расту (ИУЗР)** је био присутан код 7,00% мајки у групи испитаника и код 4,7% мајки у контролној групи, али ова разлика није била статистички значајна ($\chi^2=0,399$; $p=0,387$).
- **Превремена руптура плодових овојака (ПРОМ)** је имала присуство код 2,79% мајки у групи испитаника, док ниједна мајка у контролној групи није имала ову компликацију, међутим ова разлика није била статистички значајна ($\chi^2=1,362$; $p=0,225$).

У Табели 4 приказана је дистрибуција болести мајки и других пренаталних фактора који потенцијално утичу на вредности ФКП-а.

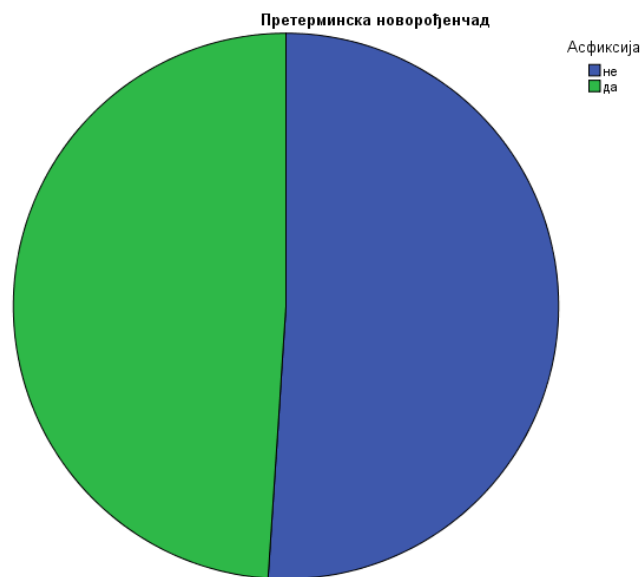
Табела 4. Дистрибуција испитаника према пренаталним факторима

Пренатални ризикофактори	Испитаници		Контрола		р-вредност
	п	%	п	%	
Болести мајке					
Хипертензија	21	14,78	6	9,37	0,202
Анемија	12	8,39	24	37,5	0,000
Уринарна инфекција	1	1,56	0	0	0,309
Тромбофилија	18	12,58	11	17,18	0,250
Дијабетес	6	4,19	7	10,94	0,066
Хепатитис Ц	1	0,6	0	0	0,309
Хипотиреоза	5	3,49	5	6,25	0,289
COVID	3	2,09	0	0	0,328
Зелена плодова вода	3	2,09	0	0	0,328
ИУЗР*	10	7,51	3	4,68	0,387
ПРОМ**	4	2,79	0	0	0,225

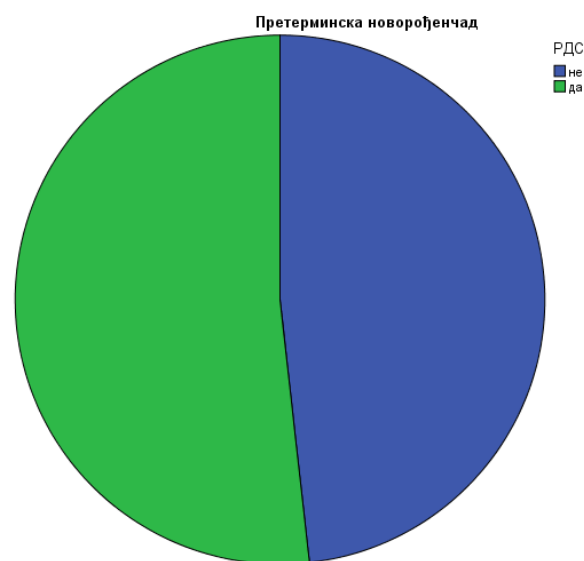
**ИУЗР-интраутерусни застој у расту *ПРОМ- превремена руптура плодових овојака

4.3 Заступљеност најчешћих пери/постнаталних фактора

- **Перинаталну асфиксију** је имало 48,95% деце у групи претерминске новорођенчади, док ниједно дете у групи терминске новорођенчади није имало ову компликацију, што представља статистички значајну разлику ($\chi^2=44,059$; $p=0,000$; види Слика 5).
- **Идиопатски респираторни дистрес синдром (РДС)**, познат и као болест хиалиних мембрана, је имало 51,04% деце у групи испитаника, док ниједно дете у контролној групи није имало ову дијагнозу, што је статистички значајна разлика ($\chi^2=51,459$; $p=0,000$; види Слика 6).

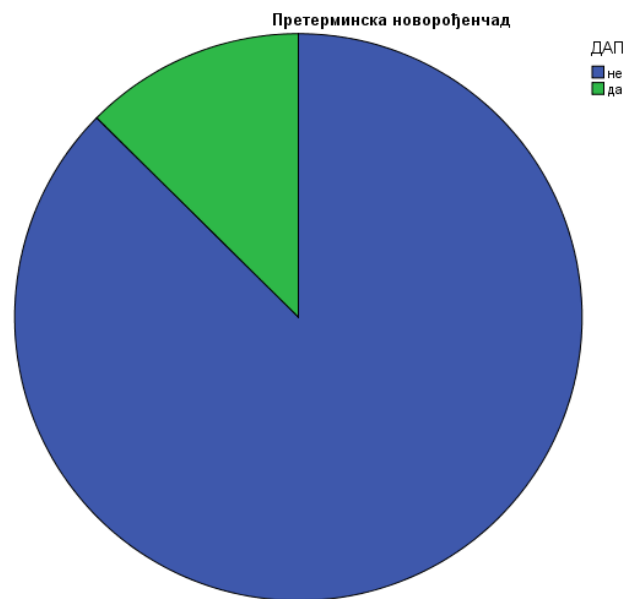


Слика 5. Расподела претерминске новорођенчади на основу учесталости перинаталне асфиксије



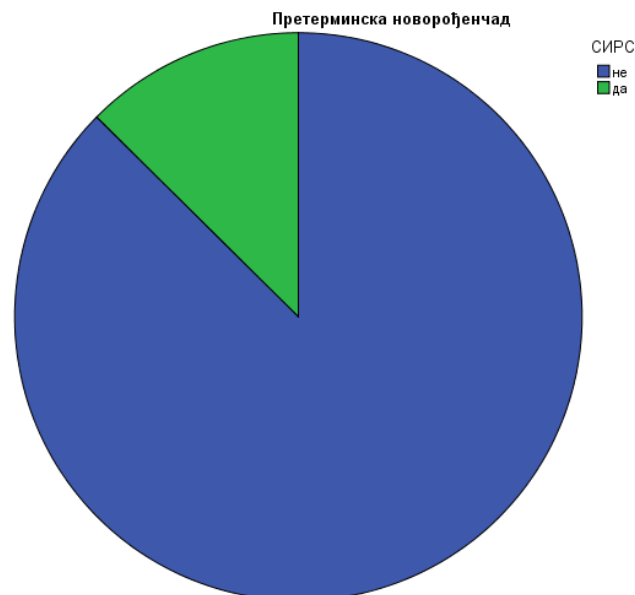
Слика 6. Расподела претерминске новорођенчади на основу учесталости идиопатског респираторног дистрес синдрома (РДС)

- Проходан *ductus arteriosus* (ПДА) је био присутан код 12,58% деце у групи испитаника, док ниједно дете у контролној групи није имало ПДА, што је статистички значајна разлика ($\chi^2=8,823$; $p=0,001$; Слика 7).



Слика 7. Расподела претерминске новорођенчади на основу постнаталне болести - ДАП

- Синдром системског инфламаторног одговора (СИРС) је био присутан код 12,58% деце у групи испитаника, док ниједно дете у контролној групи није имало СИРС, што је статистички значајна разлика ($\chi^2=8,823$; $p=0,001$; види Слика 8).



Слика 8. Расподела претерминске и терминске новорођенчади на основу постнаталне болести - СИРС

- **НЕК** је имало 5,59% деце у групи испитаника, док ниједно дете у контролној групи није имало ову компликацију, али ова разлика није била статистички значајна ($\chi^2=3,724$; $p=0,049$; Табела 5).

Расподела пери/постнаталних ризикофактора, који могу да утичу на ФКП-вредности, у посматраним групама: претерминска-испитаници/терминска новорођенчад-контроле), приказана је у табели 5.

Табела 5. Дистрибуција испитаника према пери/постнаталним факторима

Болести испитаника	Испитаници		Контроле		p-вредност
	n	%	n	%	
РДС	73	51,04	0	0	0,000
Асфиксија	70	48,95	0	0	0,000
ПДА	18	12,58	0	0	0,001
СИРС	18	12,58	0	0	0,001
НЕК	8	5,59	0	0	0,049

4.4 Перцентилна расподела фекалног калпротектина у посматраним групама и значајност разлике

На основу вредности ФКП-а, за карактеристичне тачке перцентиала из табеле 6, може се уочити да је за 80% претерминске новорођенчади вредност ФКП-а била испод 50-ог перцентиала, Табела 7.

На основу вредности ФКП за карактеристичне тачке перцентиала из табеле 7, може се уочити да је 70% терминске новорођенчади имало вредност ФКП-а испод 50-ог перцентиала. Просечно време узорковања прве столице за анализу ФКП-а било је $2,664 \pm 0,963$ дана, након рођења, код претерминске новорођенчади, док је у групи терминске новорођенчади износило $2,125 \pm 0,934$ дана.

Значајност разлике ФКП-а у зависности од посматраних група утврђена је помоћу студент Т теста за средње вредности две групе и Mann-Whitney U тест за разлике у расподели између две независне групе.

Табела 6. Дескриптивна статистика и перцентилна расподела ФКП-а за групу претерминске новорођенчади

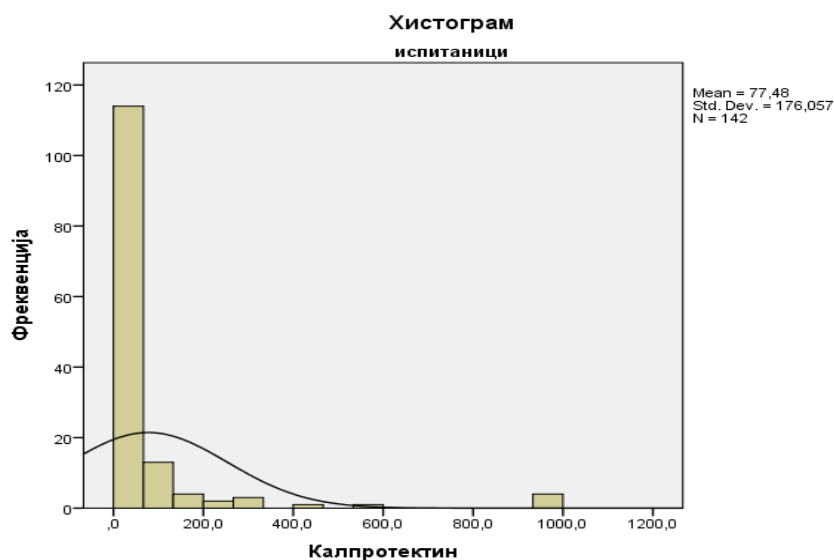
ФКП (меконијални калпротектин)		
Укупно	Валидних	142
	Недостаје	1
Средња вредност		77,476
Медијана		24,350

С.Д:		176,0571
Варијанса		30996.116
Распон		999.9
Минимум		0,1
Максимум		1000.0
Перцентилна расподела ФКП-а за претерминску новорођенчад	10	7,180
	20	10,960
	25	12,575
	30	14,090
	40	17,460
	50	24,350
	60	32,520
	70	45,760
	75	54,225
	80	69,000
90	155,620	

Табела 7. Дескриптивна статистика и перцентилна расподела за контролну групу

ФКП (меконијални калпротектин)		
Укупно	Валидних	64
	Недостаје	0
Средња вредност		85,297
Медијана		41,500
С.Д.		110,3709
Варијанса		12181,730
Распон		510,9
Минимум		0,1
Максимум		511,0
Перцентилна расподела ФКП-а за терминску новорођенчад	10	7,900
	20	13,300
	25	15,275
	30	17,600
	40	31,600
	50	41,500
	60	67,700
	70	84,650
	75	101,550
	80	121,700
90	205,650	

Расподела вредности ФКП-а за групу претерминске новорођенчади приказана је помоћу хистограма на Слици 9.



Слика 9. Хистограм вредности ФКП за групу претерминске новорођенчади

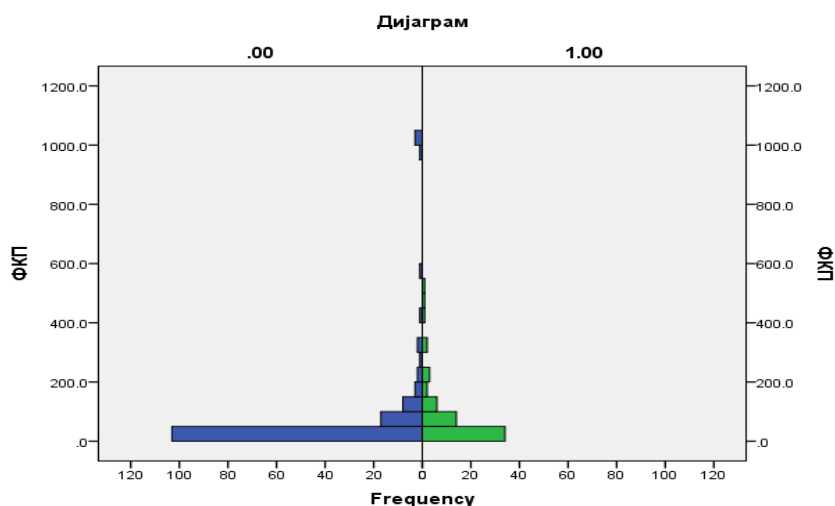
Резултати Студентовог Т теста приказани су у Табели 8 за посматране групе испитаника

Табела 8. Т- тест за независне узорке

		Levene's Тест за једнакост варијанси		t- Тест за једнакост средњих вредности"						
		F	Sig.	t	df	p	Разлика средњих вредности	Std. Error Difference	95% Интервал поузданости разлике	
									Доња	Горња
ФКП	Претпостављена једнакост варијанси	,418	,519	-	204	,744	-7,8208	23,8934	-54,9304	39,2888
	Претпостављена неједнакост варијанси			-	182,885	,699	-7,8208	20,2144	-47,7042	32,0626

На основу утврђених резултата, уочава се да је разлика у просечним вредностима ФКП при порођењу два узорка $-7,8208$. Овај резултат говори да је средња вредност ФКП била за $7,8208$ јединица (μg) већа код терминске новорођенчади у односу на средњу вредност ФКП код претерминске новорођенчади. Ипак, вредност вероватноће $p=0,744$ указује да се посматране групе нису међусобно статистички значајно разликовале по средњим вредностима ФКП-а.

Графички приказ расподеле вредности концентрација ФКП-а за посматране групе дат је на Слици 10.



Слика 10. Расподела вредности ФКП за посматране групе (0 - претерминска новорођенчад; 1 - терминска новорођенчад)

На основу Mann-Whitney U теста ($p=0,017$) може се рећи да не егзистирају значајне разлике у расподели вредности ФКП-а између претерминске и терминске новорођанчади.

Демографске карактеристике пацијената укључених у студију приказане су у Табелама 9 и 10. Табела 9 садржи вредности које су утврђене над скупом свих разматраних случајева, док Табела 10 садржи појединачне утврђене вредности на нивоу посматраних група претерминске и терминске новорођенчади.

4.5 Корелација демографских карактеристика испитаника са нивоом фекалног калпротектина

На нивоу свих разматраних субјеката, средња вредност меконијалног калпротектина (ФКП), детектованог у првих 5 дана живота износила је $71,72 \pm 170,65 \mu\text{g/g}$ код мушких субјеката. Женски субјекти су имали значајно више нивое ФКП са средњом вредношћу од $88,93 \pm 143,92 \mu\text{g/g}$, док тежина при рођењу, гестациска старост, постнатални узраст (дан узорковања столице), тип порођаја и АС у 5-ом минути нису значајно утицали на његове вредности (Табела 9).

Табела 9. Корелација између демографских карактеристика пацијената и ФКП-а.

Посматране варијабле (n = 207)		Средња вредност \pm Стандардна девијација; Медијана (IQR)	p вредност
Пол			0.001*
	Мушки (n=98)	71.72 ± 170.65 ; 21.25 (41.8)	
	Женски (n=109)	88.93 ± 143.92 ; 39.5 (69.7)	
ПТМ (g)		2302.198 ± 846.2006 ; 2060.00 (1360.00)	0.083**
ГС (лунарне недеље)		34.512 ± 3.7141 ; 34.00 (6)	0.052**

Узраст (дан узорковања столице)		2.498 ± 0.984; 2.0 (1)	0.428**
АС у 5-ом мин.		7.527 ± 1.7648; 8 (2)	0.129**
Тип порођаја			0.846*
	Вагинални (n=103)	75.614 ± 153.0886; 29.6 (57.9)	
	Царски рез (n=103)	84.171 ± 164.0889; 28.4 (55.0)	

IQR = интерквартилни распон; *Mann-Whitney U тест; **значај Спирманова корелација

У групи претерминске новорођенчади, средња вредност нивоа ФКП у првих 2,664 ± 0,963 дана износила је 75,010 ± 194,86 µg/g код мушких субјеката. Женски субјекти су имали нешто више нивое ФКП са средњом вредношћу од 80.39 ± 152,25 µg/g, док тежина при рођењу, гестацијска старост, узраст, тип порођаја и АС у 5-ом минути нису значајно утицали на његове вредности (Табела 10; Слика 11).

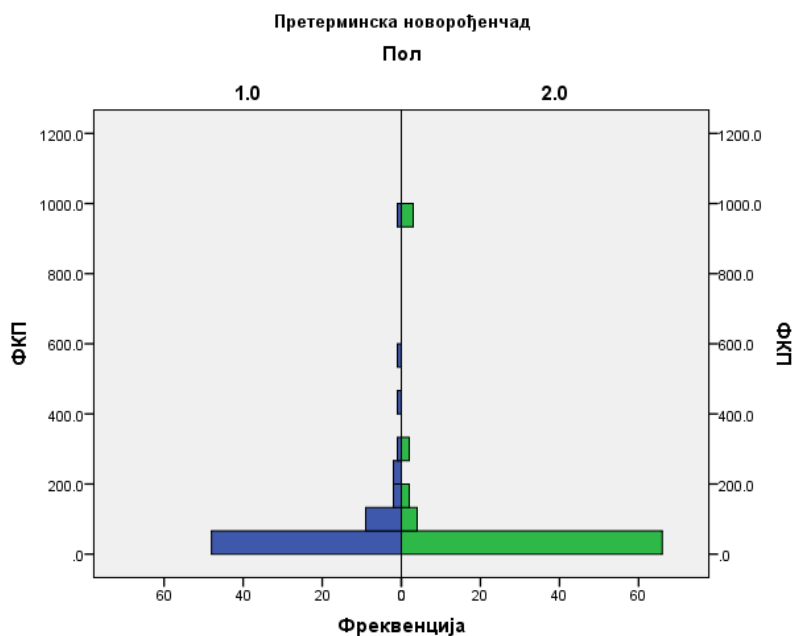
На нивоу разматране групе терминске новорођенчади, средња вредност ФКП-а у првих 2.125±0.934 дана живота износила је 63,55 ± 87,06 µg/g код мушких субјеката. Женски субјекти су имали значајно више нивое ФКП са средњом вредношћу од 105.73 ± 126,44 µg/g, док тежина при рођењу, гестацијска старост, узраст, тип порођаја и АС у 5-ом минути нису значајно утицали на његове вредности (Табела 10; Слика 12).

Табела 10. Корелација између демографских карактеристика пацијената и ФКП-а за претерминску и терминску новорођенчад.

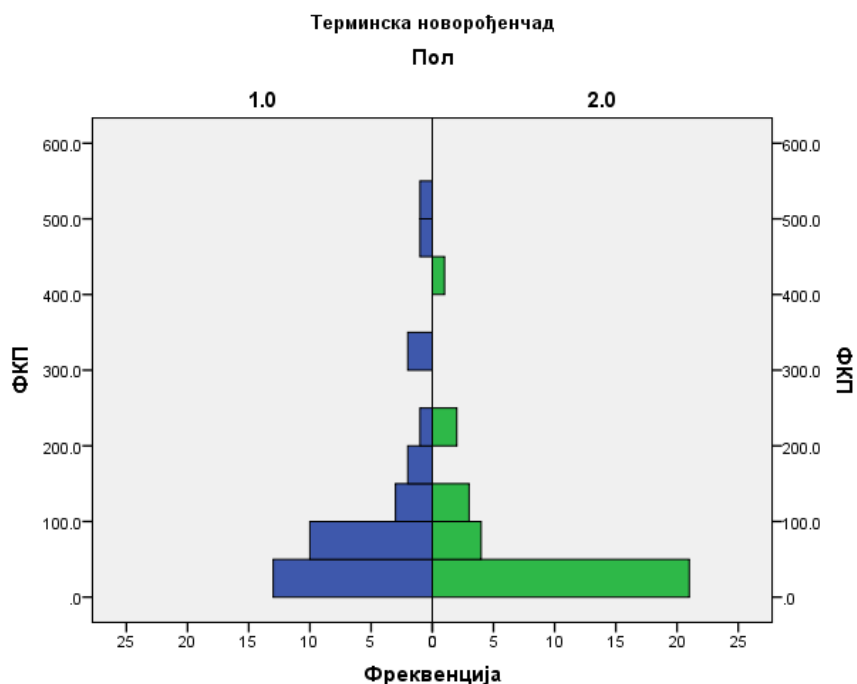
Претерминска новорођанчад				Терминска новорођанчад			
Варијабле (n = 143)		С.В.±С.Д.; Медијана (IQR)	р вредност	Варијабле (n = 64)		С.В.±С.Д.; Медијана (IQR)	р вредност
Пол			0.005*	Пол			0.002*
	Мушки (n=65)	75.010 ± 194.86; 18.10 (40.4)			Мушки (n=33)	63.55±87.06; 31.6 (67.1)	
	Женски (n=78)	80.39 ± 152.25; 30.00 (61,5)			Женски (n=31)	105.73±126.44 ; 66.00 (103.7)	
ПТМ (g)		1822.343±416 .102; 1820.00 (580.00)	0.382**	ПТМ (g)		3390,00±418.9 48; 3450.00 (547.5)	0.127**
ГС (недеље)		32.441±2.345; 33.00 (3)	0.731**	ГС (недеље)		39.141±1.09; 39 (2)	0.442**
Узраст (дан)		2.664±0.963; 3 (1)	0.647**	Узраст (дан)		2.125±0.934; 2 (2)	0.831**

Аргар (5. минут)		6.839±1.664; 7 (2)	0.725**	Аргар (5. минут)		9.063±0.687; 9 (0.8)	0.270**
Тип порођаја			0.601*	Тип порођаја			0.613*
	Вагинални (n=63)	78.627±182.8 51; 25.3 (47.8)			Вагинални (n=40)	70.938±90.02; 39.85 (70.6)	
	Царски рез (n=79)	76.558±171.6 19; 23.4 (41.0)			Царски рез (n=23)	109.229±136.6 32; 61.55 (83.3)	

ПТМ-порођајна телесна маса у грамама; ГС-гестациска старост у лунарним недељама; Узрост-у данима по рођењу (у моменту узорковања прве столице); С.В. -средња вредност; СД-стандардна девијација; р-сигнификантна вероватноћа <0,05; IQR = интерквartilни распон; *Mann–Whitney U тест; **Спирманова корелација



Слика 11. Распореда вредности ФКП на основу пола за претерминску новорођанчад (1 – женски пол; 2 – мушки пол)

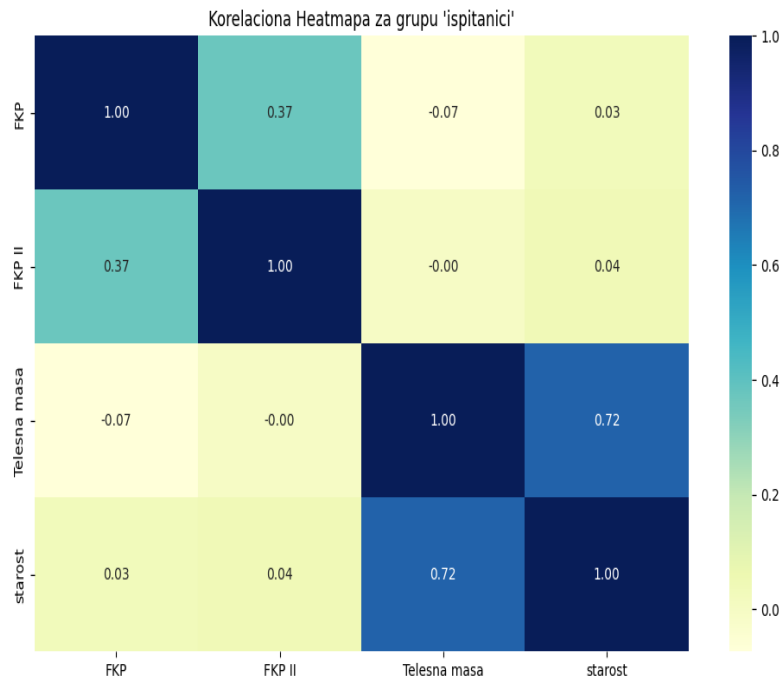


Слика 12. Расподела вредности ФКП на основу пола за терминску новорођанчад (1 – женски пол; 2 мушки пол)

4.6. Утицај гестацијске старости и телесне масе на ФКП

Спирманов коефицијент корелације за разматране променљиве је приказан на наредна два графика, за групе претерминске и терминске новорођенчади (испитаници и контрола).

На основу добијених дијаграма представљених на сликама 13 и 14 може се уочити да је корелација између разматраних променљивих: меконијални калпротектин (ФКП) и телесне масе, ФКП и гестацијске старости; ФКП II (детектован у трећој недељи живота) и телесне масе, ФКП II и гестацијске старости слаба, за обе посматране групе.



Слика 13. Корелације за групу претерминску новорођанчад



Слика 14. Корелације за групу терминску новорођанчад

4.6.1 Дистрибуција меконијалног фекалног калпротектина према гестацијској старости

Нема статистички значајне повезаности ГС и ФКП-а у групи претерминске новорођенчади ($\chi^2=2,234$; $p=0,525$; Табела 12). Нема статистички значајне повезаности ГС и ФКП-а у групи терминске новорођенчади ($\chi^2=0,552$; $p=0,759$; Табела 12). Нема статистички значајне повезаности у вредностима ФКП у односу на ГС на нивоу свих разматраних субјеката у посматраним групама ($\chi^2=8,336$; $p=0,139$).

Табела 12. Дистрибуција ФКП према ГС

ГС	Претерминска новорођенчад						
	n	%	ФКП				
			С.в.	С.Д.	е	IQR	р
26-28	10	6,9	160,52	322,12	15,2	146,6	0,525*/0,139**
28-31	36	25,17	90,43	190,97	29,8	43,0	
32-34	66	46,15	58,68	131,21	20,55	35,0	
35-36	30	20,97	74,92	170,47	21,55	51,7	
Укупно	143	100					
ГС	Терминска новорођенчад						
	n	%	ФКП				
			С.в.	С.Д.	е	IQR	р
37-41	59	92,18	88,06	117,37	39,9	91,4	0,759*/0,139**
41-43	5	7,81	67,08	31,55	66,0	60,3	
Укупно	64	100					

С.в. – средња вредност; С.Д. – стандардна девијација; е – медијана; IQR - интерквartilни распон; * Kruskal-Wallis p сигнификантност унутар група; ** Kruskal-Wallis p сигнификантност на нивоу свих субјеката

4.6.2 Дистрибуција фекалног калпротектина према порођајној телесној маси

Забележена је статистички значајна разлика у вредностима ПТМ између претерминске и терминске новорођенчади ($U=28,0$; $p<0,001$) (Табела 13).

Табела 13. Дистрибуција ФКП-а према ПТМ

ПТМ	Претерминска новорођенчад						
	n	%	ФКП				
			С.в.	С.Д.	е	IQR	р
мања од 1500.0	35	24.47	126,67	252,58	34,3	50,6	0,258*/0,015**
1500.0 - 2500.0	107	74.82	61,382	140,37	20,9	40,5	
Више од 3500.0	-	-	-	-	-	-	-
Укупно	143	100					

ПТМ	Терминска новорођенчад						
	n	%	ФКП				
			С.в.	С.Д.	е	IQR	р
мања од 1500.0	-	-	-	-	-	-	0,385*/0,015**
1500.0 - 2500.0	34	51,56	82,242	121,225	41,3	84,8	
Више од 3500.0	30	46,87	91,247	99,96	64,5	92,2	
Укупно	64	100					

С.в. – средња вредност; С.Д. – стандардна девијација; е – медијана; IQR - интерквартилни распон; * χ^2 тест; р - сигнификантност унутар групе; ** Kruskal-Wallis р сигнификантност за све субјекте

Не постоји статистички значајна повезаност ПТМ и вредности ФКП-а у групи претерминске новорођенчади ($\chi^2=130,334$; $p=0,378$). Не постоји статистички значајна веза између ПТМ и ФКП у групи терминске новорођенчади ($\chi^2=125,96$; $p=0,385$) (Графикон испод). Постоји статистички значајна повезаност ПТМ и вредности ФКП на нивоу свих разматраних субјеката ($\chi^2=10,496$; $p=0,015$), када се у обзир не узима подела испитаника на две основне групе (претерминска и терминска новорођенчад), већ се узима у обзир подела на субгрупе према ПТМ: на оне са врло малом тежином при рођењу-до 1500 грама ($126,67\pm 252,59 \mu\text{g/g}$), затим од 1500-2500 грама ($60,88\pm 139,81 \mu\text{g/g}$), од 2500-3500 грама ($82,24\pm 121,22 \mu\text{g/g}$) и од 3500-4500 грама ($91,24\pm 99,96 \mu\text{g/g}$). У субгрупи са веома малом ПТМ уочене су значајно веће вредности ФКП-а, у односу на остале субгрупе испитаника са ПТМ >1500 грама.

4.7 Биохемијски статус новорођенчета и фекални калпротектин

Спирманов коефицијент корелације за разматране променљиве је приказан за групу претерминске новорођенчади. На основу утврђених вредности може се уочити да је корелација између разматраних променљивих и променљивих које представљају концентрацију ФКП слаба (Табела 14 и Табела 16). Уочава се релативно слаба веза, са благом позитивном корелацијом између ФКП и бикарбоната ($\rho = 0,199$; $p=0,017$) одређених из узорка капиларне артеријализоване крви, у групи претерминске новорођенчади (Табела 15).

Резултати дескриптивне статистике за посматрану групу приказани су у табели 4. Просечно време узорковања прве столице за одређивање ФКП вредности било је $2,664 \pm 0,963$ дана након рођења, код претерминске новорођенчади, док је друго узорковање столице, након двонедељне примене пробиотика просечно износило $16,965 \pm 1,436$ дана, по рођењу.

Табела 14. Корелација биохемијских маркера и ФКП-а код претерминске и терминске новорођенчади

Променљиве	Група	Средње вредности \pm СД	Медијана(IQR)	Нормативна вредност*	Spearman ρ / р вредност
ФКП ($\mu\text{g/g}$)	претерминска	77.476 \pm 176.0571	24.35 (41.7)		-
	терминска	85.297 \pm 110.3709	41.5 (86.3)		-

ФКП II ($\mu\text{g/g}$)	претерминска	67.434\pm95.5918	37.5 (56.9)		0.372/0.000
	терминска	/	/		/
Прво узорковање столице (дан)	претерминска	2.664 \pm 0.9637	3 (1)		-0.039/0.647
	терминска	2.125 \pm 0.9344	2 (2)		0.027/0.831
Друго узорковање столице (дан)	претерминска	16.965 \pm 1.436	17 (2)		0.017/0.837
	терминска	/	/		/
ЦРП (mg/L)	претерминска	13.2285 \pm 29.11	2.7 (6.7)	0.0–7.0	-0.072/0.394
	терминска	6.1672 \pm 8.69	3 (6.23)		0.006/0.965
Serum procalcitonin (ng/mL)	претерминска	9.746 \pm 17.365	3.15 (10)	0.5–2.0	-0.003/0.967
	терминска	-	-		-
Bilirubin ukupni	претерминска	198.351 \pm 56.2039	190.7 (75.7)		0.084/0.371
	терминска	159.475 \pm 78.5317	167.5 (106)		-0.095/0.453
Bilirubin direktni	претерминска	11.632 \pm 6.847	10.8 (2.4)		-0.115/0.233
	терминска	8.16 \pm 0.825	8.2 (0.9)		-0.102/0.718
AST	претерминска	61.677 \pm 27.27	58.0 (41.0)		0.065/0.471
	терминска	60.807 \pm 26.92	58.0 (41.0)		0.268/0.044
ALT	претерминска	12.457 \pm 5.891	13.0 (4)		0.040/0.658
	терминска	11.719 \pm 2.568	12.0 (4.0)		0.059/0.663
GGT	претерминска	138.216 \pm 87.236	131.0 (107.0)		0.075/0.406
	терминска	138.218 \pm 90.715	131.0 (107.0)		-0.139/0.312
Urea (mmol/L)	претерминска	4.111 \pm 3.14	3.3 (4.0)	1.1–9.1	0.018/0.839
	терминска	-	-		-
Kreatinin ($\mu\text{mol/L}$)	претерминска	71.798 \pm 18.792	70.0 (23.0)	49.0–106.0	0.014/0.875
	терминска	-	-		-

4.7.1 Ц-реактивни протеин (ЦРП)

Аритметичка средина и стандардна девијација ЦРП-а у групи претерминске новорођенчади износила је 13,2285 \pm 29,11298 mg/l, док је у групи терминске новорођенчади износила 6,1672 \pm 1,08726 mg/l, што је статистички значајна разлика (t=2,648; p=0,009) (Табела 17).

Табела 17. ЦРП вредности

ЦРП	as	sd	min	max	p-вредност
испитаници	13,2285	29,11298	0.2	170,60	p=0,009
контролна група	6,1672	1,08726	0.2	52	

истрибуција испитаника према ЦРП

Забележена је статистички значајна разлика у средњим вредностима ЦРП-а између испитаника у групи претерминске (испитаници) и терминске новорођенчади (АНОВА F =3,612; p=0,009) (Табела 18).

Табела 18. Дистрибуција према ЦРП

ЦРП	Испитаници		Контроле	
	n	%	n	%
Мање од 10	116	81,1	55	85,9
10-30	10	7	7	10,9
30-50	5	3,5	1	1,6
50-70	3	2,1	1	1,6
70-90	2	1,4	-	-
90-110	3	2,1	-	-
110-130	3	2,1	-	-
130-150	-	-	-	-
150-170	-	-	-	-
Више од 170	1	0,7	-	-
Укупно	143	100	64	100

Табела 15. Корелација параметара гасних анализа и ФКП-а код претерминске и терминске новорођенчади

Променљиве	Група	Средње вредности±СД	Медијана(IQR)	Нормативна вредност*	Spearman ρ / p вредност
pH вредност	претерминска	7.296±0.105	7.31 (0.15)	7.30 –7.45	0.046/0.590
	терминска	7.417±0.050	7.41 (0.08)		0.079/0.535
pCO ₂ (kPa)	претерминска	6.599±2.169	6.1 (2.7)	3.5–4.5	0.033/0.694
	терминска	4.866±4.751	4.3 (0.9)		-0.076/0.550
pO ₂ (kPa)	претерминска	6.231±1.99	6.0 (2.2)	8.0–10.0	0.024/0.776
	терминска	6.078±1.24	5.9 (1.5)		-0.076/0.666
Натријум (mmol/L)	претерминска	134.035±4.73	134.0 (5.0)	133.0–146.0	-0.001/0.990
	терминска	131.364±16.85	134.0 (5.75)		0.259/0.039

Калијум (mmol/L)	претерминска	5.69±1.432	5.6 (1.8)	4.6–6.7	-0.118/0.161
	терминска	5.08±0.932	5.0 (0.95)		0.086/0.501
Калцијум (mmol/L)	претерминска	1.1889±0.14871	1.2 (0.21)	1.04–1.52	0.010/0.905
	терминска	1.2020±0.21065	1.17 (0.08)		0.067/0.599
Гликемија (mmol/L)	претерминска	4.813±3.752	3.9 (2.6)	1.5–5.5	0.121/0.152
	терминска	3.611±2.007	3.4 (1.1)		-0.060/0.636
Бикарбонати (mmol/L)	претерминска	22.378±4.03	22.2 (4.3)	22.0–28.0	0.199/0.017
	терминска	20.577±1.97	20.65 (2.5)		-0.082/0.521
Базни акцес (mmol/L)	претерминска	-2.866±4.4714	-3.0 (5.5)	-1.0 до 1.0	0.088/0.299
	терминска	-3.950±2.253	-3.7 (3.1)		-0.049/0.699

Осим бикарбоната, остали параметри у гасним анализама нису показале значајан утицај на ФКП вредности.

4.7.2 Бикарбонати

Аритметичка средина и стандардна девијација бикарбоната у групи претерминске новорођенчади износила је 22,378±4,030 mmol/l, док је у групи терминске новорођенчади износила 20,577±1,978 mg/l, што је статистички значајна разлика (t=3,395; p=0,001) (Табела 19).

Табела 19. Бикарбонати

HCO ₃	as	sd	min	max	p-вредност
испитаници	22,378	4,030	10.3	33,3	p=0,001
контролна група	20,577	1,978	15.6	24.9	

Постоји статистички значајна разлика средњих вредности бикарбоната између претерминске новорођенчади и терминске новорођенчади (АНОВА F =11,524; p=0,01) (Табела 20).

Табела 20. Дистрибуција према вредностима бикарбоната

HCO ₃	Испитаници		Контроле	
	n	%	n	%
Мање од 15	7	4.9	-	-
15-17	3	2.1	3	4.7
19-21	11	7.7	-	-
21-23	29	20.3	9	14.1

23-25	39	27.3	27	42.2
25-27	24	16.8	19	29.7
27-29	14	9.8	6	9.4
29-31	10	7.0	-	-
31-33	2	1.4	-	-
Више од 33	4	2.8	-	-
Укупно	143	100	64	100

Табела 16. Корелација хематолошких параметара и ФКП-а код претерминске и терминске новорођанчади

Променљиве	Група	Средње вредности±СД	Медијана(IQR)	Нормативна вредност*	Spearman ρ / р вредност
Леукоцити (×10 ⁹ /L)	претерминска	15.5668±8.44	13.6 (8.53)	5.0–21.0	0.092/0.277
	терминска	17.453±6.50	16.25 (9.6)		-0.021/0.869
Неутрофили (%)	претерминска	48.855±13.451	49.0 (19.78)	55.0–65.0	0.115/0.179
	терминска	57.961±11.903	59.3 (17.78)		-0.025/0.847
Еритроцити (×10 ¹² /L)	претерминска	4.7585±0.887	4.79 (1.37)	4.22–5.95	-0.092/0.275
	терминска	5.1722±0.648	5.195 (1.17)		-0.075/0.556
Хемоглобин (g/L)	претерминска	174.059±32.4664	176.0 (50.0)	179.0–209.0	-0.128/0.130
	терминска	181.063±19.9872	180.0 (28.8)		0.023/0.854
Хематокрит (L/L)	претерминска	0.5668±0.781	0.51 (0.158)	0.59–0.71	-0.137/0.107
	терминска	0.5339±0.057	0.53 (0.095)		-0.015/0.904
Тромбоцити (×10 ⁹ /L)	претерминска	215.98±111.624	195.00 (124.0)	150.0–350.0	-0.015/0.855
	терминска	255.016±62.1188	261.00 (71.5)		0.007/0.957

*Нормалне лабораторијске вредности за новорођенчад <37 недеља гестације, старости до 7 дана. <https://www.bettersafecare.vic.gov.au/clinicalguidance/neonatal/normal-laboratory-values-for-neonates>.

4.7.3 Други фекални калпротектин

Између прве, меконијалне-ФКП вредности и друге-ФКП II вредности, код претерминске новорођенчади постоји блага позитивна корелација ($\rho=0.372$) која је статистички значајна ($p=0.000$).

Може се уочити да постоји статистички значајна разлика између средњих меконијалних ФКП-вредности (77.476 ± 176.0571) и ФКП II (67.434 ± 95.5918) код претерминске новорођенчади ($t_{\text{ФКП I}} = 5.244$; $p < 0.000$; $t_{\text{ФКП II}} = 8.436$; $p < 0.000$) и да је средња вредност код другог мерења значајно нижа (Табела 21).

Табела 21. Т тест поређења средњих вредности ФКП и ФКПШ

	Вредност теста = 0					
	t	степени слободe	p	Средње вредности	95% интервал поверења	
					Доња граница	Горња граница
ФКП меконијални	5,244	141	,000	77,476	48,268	106,684
ФКП II	8,436	142	,000	67,434	51,631	83,236

Из табеле 22 се могу уочити ниже вредности ФКП II и у случајевима када је пробиотик употребљен и у случајевима када пробиотик није употребљен. У оба случаја, разлика између прве и друге вредности калпротектина је сигнификантна (без пробиотика: $t_{\text{ФКП}}=4,496$, $t_{\text{ФКПШ}}=6,988$, $p=0,000$; са пробиотиком: $t_{\text{ФКП}}=3,230$, $t_{\text{ФКПШ}}=5,531$, $p=0,000$).

Додатно, може се уочити да је група код које није употребљен пробиотик имала сличне средње вредности меконијалног калпротектина-ФКП (медијана 24,35 $\mu\text{g/g}$), у односу на групу у којој је употребљен пробиотик (медијана 25,05 $\mu\text{g/g}$; $p=0,917$); док су средње вредности ФКП II у пробиотској групи биле значајно веће ($p=0,007$).

Табела 22. Дескриптивна статистика за ФКП и ФКП II код претерминске новорођенчади

без употребе пробиотика					
	N	Мин	Максимум	Средња вредност \pm СД	Медијана (IQR)
ФКП	86	,8	1000,0	63,971 \pm 132,0450	24,35 (46,6)
ФКП II	86	,1	429,0	52,052 \pm 70,4147	30,00 (29,7)
употреба пробиотика					
	N	Мин	Максимум	Средња вредност \pm СД	Медијана (IQR)
ФКП	56	,1	1000,0	98,216 \pm 227,5813	25,05 (39,7)
ФКП II	56	,1	739,5	90,527 \pm 122,4768	52,90 (79,9)

Додатно из табеле 2 може се уочити да постоји слаба позитивна корелација између вредности ФКП II и примене пробиотика код претерминске новорођенчади

Табела 23. Спирманова корелација

		ФКП	ФКП II	Пробиотици
Spearman's rho	ФКП	1.000	.372**	.009
	ФКП II			.227**
	Пробиотици			1.000

НЕК је имало 14,28% ($n=8$) деце у групи код које је коришћен пробиотик и ниједно дете у групи у којој није коришћен пробиотик, што је статистички значајна разлика ($\chi^2=13,165$; $p=0,000$; Табела 5).

4.8 Корелација фекалног калпротектина са клиничким карактеристикама новорођеног детета

Статистичке анализе су обављене ради утврђивања корелације ФКП са клиничким карактеристикама новорођенчета. Непрекидне варијабле представљене су помоћу медијана вредности и IQR. Поређења ФКП са клиничким карактеристикама су изведена *Mann–Whitney U* тестом. *Spearman*-ов коефицијент корелације ранга коришћен је за корелацију ФКП и континуалних варијабли. Сматра се да је вредност p мања од 0,05 статистички значајна.

Значајно веће ФКП вредности имали су испитаници са хемодинамски значајним дуктус артериозусом ($p = 0,040$), ИУЗР (0,043) и постнаталном употребом антибиотика широког спектра ($p = 0,043$). Значајно виши ниво ФКП-а (медијан 35,4; IQR 67,2 $\mu\text{g/g}$) откривен је и код испитаника са интолеранцијом ентералне исхране тј. повраћањем, у поређењу са групом испитаника без интолеранције ентералног храњења (медијан 20,6; IQR 32,4 $\mu\text{g/g}$; $p = 0,042$).

Болести мајке, пренатална употреба антибиотика, кортикостероида и друга пренатална терапија нису значајније утицале на вредности ФКП-а. Такође, постнатална старост и друге клиничке карактеристике испитаника: РДС, употреба конвенционалне механичке вентилације или инотропа, комплетна крвна слика, биохемијаки статус (Ц-реактивни протеин, прокалцитонин, уреа, креатинин) и позитивна хемокултура нису значајно утицали на његове вредности (Табела 24, 25, 26, 27, 28 и 29).

Табела 24. Корелација пре/перинаталних карактеристика новорођенчета и ФКП-а код претерминске новорођенчади

Променљиве		N (%)	Медијана (IQR)	p вредност
Асфиксија	да	70 (49,0)	20,3 (32,9)	0,138*
	не	73 (51,0)	30,0 (56,7)	
ИУЗР	да	10 (7,0)	26,7 (45,4)	0.043*
	не	133 (93,0)	15,5 (9,2)	
Позитивна хемокултура	да	8 (5,6)	21,85 (33,1)	0,805*
	не	132 (92,3)	24,35 (45,7)	
ПРОМ	да	24 (16,8)	16,85 (27,2)	0,083*
	не	119 (83,2)	26,7 (47,6)	
Пренатални прогестерон	да	30 (20,9)	29,8 (73,0)	0,261*
	не	112 (78,32)	21,55 (40,2)	
Пренатални дексаметазон	да	32 (22,3)	25,65 (28,2)	0,788*
	не	109 (76,2)	20,9 (44,8)	
Метилдопа (мајка)	да	23 (16,1)	23,4 (38,6)	0,949*
	не	120 (83,9)	28,4 (44,1)	
Анемија (мајка)	да	12 (8,4)	28,35 (44,7)	0,618*
	не	131 (91,6)	22,2 (40,8)	
Тромбофилија (мајка)	да	18 (12,5)	25,05 (35,7)	0,622*
	не	125 (87,4)	23,4 (47,8)	

РДС-Респираторни дистрес синдром; ПРОМ-Превремено прснуће плодних овојака; ИУЗР-Интраутерусни застој раста; * *Mann–Whitney U* тест; ** *Спирманова* корелација.

Табела 25. Корелација постнаталних карактеристика новорођенчета и ФКП-а код претерминске новорођенчади

Променљиве		N (%)	Медијана (IQR)	p вредност
Повраћање	да	35 (24,5)	35,4 (67,2)	0,042*
	не	108 (75,5)	20,6 (32,4)	
МВ	да	57 (39,9)	27,9 (42,3)	0,883*
	не	86 (60,1)	23,4 (42,4)	
Допамин	да	12 (8,0)	15,2 (59,8)	0,233*
	не	131 (91,6)	26,35 (46,2)	
Постанатално дати антибиотици	Иницијално	86 (60,13)	19,5 (37,8)	0,043*
	Широког спектра и пролонгирано	56 (39,16)	29,5 (51,1)	
Морталитет	да	4 (2,8)	23,40 (41,7)	0,961*
	не	139 (97,2)	35,75 (47,8)	
НЕК	да	8 (5,9)	22,8 (41,7)	0,515*
	не	135 (94,4)	29,25 (60,1)	
хзПДА	да	18 (12,6)	47,7 (95,6)	0,040*
	не	125 (87,4)	22,2 (38,0)	
РДС	да	105 (73,4)	24,7 (40,5)	0,836*
	не	38 (26,6)	22,8 (48,4)	
Силверманов скор		-	4 (3)	0,980**
Обим оброка		-	43,7 (27,87)	0,264**

хзДАП-хемодинамси значајан пролазан дуктус артериозус; НЕК-некротични ентероколитис; МВ-конвенционална вентилација * Mann-Whitney U тест; ** Спирманова корелација.

Табела 26. Средње вредности меконијалног калпротектина (ФКП) приказане у односу на порођајну тежину (ПТМ), гестацијску старост (ГС) и 5 мин.-АС код испитиване новорођенчади

ПТМ (у грамама)	<1500	1500-2500	2500-3500	3500-4500	>4500
N (%) претерминска н. [N (%) сви испитаници]	34/143 (23.77) [34/207 (16.42)]	108/143 (75.52) [108/207 (52.17)]	0	0	0
ФКП (С.В.±С.Д.)	129,89±255,65	60,97±139,78	/	/	/
ПТМ (у грамама) терминска новорођенчад	<1500	1500-2500	2500-3500	3500-4500	>4500
N (%) терминске деце [N (%) сви испитаници]	0	1/64 (1,56) [1/207 (0.48)]	33/64 (51,56) [33/207 (15.94)]	30/64 (46,87) [30/207 (14.49)]	0
ФКП (С.В.±С.Д.)	/	/	82,244±121,22	91,247±99,96	/
p вредност	p=0,014				

Гестацијска старост (недеље) претерминска нов.	<28	28-31	32-34	35-36	37-41
N (%) претерминске деце [N (%) сви испитаници]	10/143 (7.04) [10/207 (4.83)]	36/143 (25.17) [36/207 ()]	66/143 (29.57) [66/207 (17.39)]	30/143 (21.12) [30/207 (14.49)]	0
ФКП (С.В.±С.Д.)	160,52±322,12	90,43±190,97	58,68±131,21	75,58±180,27	/
Гестацијска старост (недеље) терминска новорођенчад	<28	28-31	32-34	35-36	37-41
N (%) терминске деце [N (%) сви испитаници]	0	0	0	0	64/64 (100) [64/207 (30.91)]
ФКП (С.В.±С.Д.)	/	/	/	/	85.297±110,37
р вредност	p=0.141				
5'-Апгар скор претерминска нов.	≤ 6	7	8	9	10
N (%) претерминске деце [N (%) сви испитаници]	43/143 (30,28) [43/207 (20,77)]	38/143 (26,57) [38/207 (18,35)]	50/143 (34,96) [50/207 (24,15)]	11/143 (7,69) [11/207 (5,31)]	0
ФКП (С.В.±С.Д.)	118.3±232.96	92.91±222.55	39.33±38.39	37.9±39.0	/
5'-Апгар скор терминска новорођенчад	≤ 6	7	8	9	10
N (%) терминске деце [N (%) сви испитаници]	0	1/64 (1,56) [1/207 (0,48)]	10/64 (15,62) [10/207 (4,83)]	37/64 (57,81) [37/207 (17,87)]	16/64 (25) [16/207 (7,72)]
ФКП (С.В.±С.Д.)	/	/	121,55±133,77	64,432±105,97	115,294±101,14
р вредност	p=0.125				
Ентерална исхрана (ml/kg/24h) претерминска нов.	<30	30-60	60-90	90-120	>120
N (%) претерминске деце [N (%) сви испитаници]	34/143 (23.94) [34/207 (16,42)]	72/143 (50.70) [72/207 (34,78)]	28/143 (19.71) [28/207 (13,52)]	5/143 (3.52) [5/207 (2,41)]	3/143 (2.11) [3/207 (1,44)]
ФКП (С.В. ±С.Д.)	151.4±256.45	64.84±163.80	35.21±29.47	19.46±9.36	34.00±25.39

Ентерална исхрана (ml/kg/24h) терминска новорођенчад	<30	30-60	60-90	90-120	>120
N (%) терминске деце [N (%) сви испитаници]	62/64 (96.87) [62/207 (29,95)]	2/64 (3,12) [2/207 (0,96)]	0	0	0
ФКП (С.В. ±СД)	86,506±111,90	47,8±25,73	/	/	/
p вредност	p=0.095				

N-број испитаника; ФКП-меконијални калпротектин у µg/g; ПТМ-порођајна телесна маса

Табела 27. Средње вредности ФКП у различитим групама према различитим лабораторијским референтним вредностима код испитиване новорођенчади.

Укупан број леукоцита (x10 ⁹ /l) превремена новорођенчад	<10	10-20	20-30	>30
N (%) претерминске деце [N (%) сви испитаници]	29/143 (20.42) [29/207 (14.00)]	84/143 (59.15) [84/207 (40.57)]	21/143 (14.78) [21/207 (14.68)]	8/143 (5.63) [8/207 (3.86)]
ФКП (С.В. ±СД)	40.62±48.88	62.25±125.98	104.19±241.63	300.72±438.49
Укупан број леукоцита (x10 ⁹ /l) терминска новорођенчад	<10	10-20	20-30	>30
N (%) терминске деце [N (%) сви испитаници]	4/64 (6.25) [4/207 (1.93)]	42/64 (65.62) [42/207 (20.29)]	15/64 (23.43) [15/207 (7.24)]	3/64 (4.68) [3/207 (1.44)]
ФКП (С.В. ±СД)	24,1±15,93	99,66±122,91	59,03±80,97	97,13±102,59
p вредност	p=0.132			
pH вредност претерминска нов.	<7.10	7.10-7.30	7.31-7.50	>7.50
N (%) претерминске деце [N (%) сви испитаници]	7/143 (4.92) [7/207 (3.38)]	59/143 (41.5) [59/207 (28.50)]	74/143 (52.1) [74/207 (35.74)]	2/143 (1.4) [2/207 (0.96)]
ФКП (С.В. ±СД)	60.27±79.82	99.79±229.23	62.55±129.88	31.15±27.93

pH вредност терминска новорођенчад	<7.10	7.10-7.30	7.31-7.50	>7.50
N (%) терминске деце [N (%) сви испитаници]	0	0	60/64 (93.75) [60/207 (28.98)]	4/64 (6.25) [4/207 (1.93)]
ФКП (С.В. ±СД)	/	/	83,07±101,77	118,7±224,76
p вредност	p=0.077			
Укупни билирубин (μmol/l) претерминска нов.	>300	250-300	150-250	<150
N (%) претерминске деце [N (%) сви испитаници]	4/143 (2.79) [4/207 (1.93)]	19/143 (13.28) [19/207 (9.17)]	70/143 (48.95) [70/207 (33.81)]	23/143 (15.64) [26/207 (11.11)]
ФКП (С.В.±СД)	26.1±20.37	107.38±222.5 3	93.37±209.03	43.67±48.77
Укупни билирубин (μmol/l) терминска новорођенчад	>300	250-300	150-250	<150
N (%) терминске деце [N (%) сви испитаници]	0	0	12/64 18.75 [12/207 (5.79)]	52/64 (81.25) [52/207 (25.12)]
ФКП (С.В.±СД)	/	/	79,167±124,35	86,712±108,17
p вредност	p=0.325			

Табела 28. Фекални калпротектин (ФКП) у различитим групама према нивоима електролита код испитиване новорођенчади

Ниво натријума (mmol/l) претерминска нов.	<120	120-135	135-145	>145
N (%) пре терминске деце [N (%) сви испитаници]	0	81/143 (57.04) [81/207 (42%)]	58/143 (40.84) [58/207 (28.02)]	3/143 (2.11) [3/207 (1.45)]
ФКП (С.В.±СД)	/	80.32±192.72	76.47±155.99	19.93±27.06
Ниво натријума (mmol/l) терминска новорођенчад	<120	120-135	135-145	>145

N (%) терминске деце [N (%) сви испитаници]	1/64 (1.56) [1/207 (0.48)]	36/64 (56.25) [36/207 (17.39)]	27/64 (42.18) [27/207(13.04)]	
ФКП (С.В.±СД)	/	67,37±87,48	112.17±133.31	
р вредност	p=0.060			
Ниво калијума (mmol/l) претерминска нов.	<3.0	3.0-3.6	3.6-5.1	>5.1
N (%) претерминске деце [N (%) сви испитаници]	0	3/143 (2.11) [3/207 (1.45)]	51/143 (35.91) [51/207 (24.64)]	88/143 (61.97) [88/207 (42.51)]
ФКП (С.В.±СД)	/	342.6±569.32	83.8±166.44	64.77±155.72
Ниво калијума (mmol/l) терминска новорођенчад	<3.0	3.0-3.6	3.6-5.1	>5.1
N (%) терминске деце [N (%) сви испитаници]	1/64 (1.56) [1/207 (0.48)]	0	34/64 (53.12) [34/207 (16.42)]	29/64 (45.31) [29/207 (14.01)]
ФКП (С.В.±СД)	/	/	83.01±107.31	90,37±116,74
р вредност	p=0.078			
Ниво бикарбоната (mmol/l)	<15	15-24	24-32	>32
N (%) претерминска нов. [N (%) сви испитаници]	5/143 (3.52) [5/207 (2.41)]	94/143 (66.19) [94/207 (45.41)]	39/143 (27.46) [39/207 (18.84)]	4/143 (2.81) [4/207 (1.93)]
ФС (С.В.±СД)	31.54±23.55	66.77±161.18	90.33±167.12	261.0±492.71
Ниво бикарбоната (mmol/l) терминска новорођенчад	<15	15-24	24-32	>32
N (%) терминска нов. [N (%) сви испитаници]	0	62/64 (96.87) [62/207 (29.95)]	2/64 (3.12) [2/207 (0.96)]	
ФС (С.В.±СД)	/	86,37±111.83	51.8±46.67	
р вредност	p=0.054			

Табела 29. Средње вредности ФКП у различитим групама према гликемији и нивоу јонизованог калцијума код испитиване новорођенчади.

Гликемија (mmol/l) претерминска нов.	<2.0	2-3.5	3.5-7	>7
N (%) претерминске деце [N (%) сви испитаници]	15/143 (10.5) [15/207 (7.35)]	33/143 (23.2) [33/207 (15.94)]	75/143 (52.8) [75/207 (36.23)]	19/143 (13.3) [19/207 (9.17)]
FC (value±СД)	88.26±248.53	97.22±201.31	52.01±73.18	135.19±306.05
Гликемија (mmol/l) терминска нов.	<2.0	2-3.5	3.5-7	>7
N (%) терминска нов. [N (%) сви испитаници]	1/64 (1.56) [1/207 (0.48)]	35/64 (54.68) [35/207 (16.91)]	27/64 (42.18) [27/207(13.04)]	1/64 (1.56) [1/207 (0.48)]
FC (С.В.±СД)	/	91.36±107.23	82,99±118,27	/
р вредност	p=0.061			
Нивои јонизованог калцијума (mmol/l) претерминска нов.	<0.80	0.80-1.00	1.00-1.30	>1.30
N (%) претерминска нов. [N (%) сви испитаници]	1	20/143 (14.0) [20/207 (9.66)]	87/143 (54.9) [87/207 (42.03)]	35/143 (24.6) [35/207 (16.91)]
FC (С.В.±СД)	/	40.7±33.89	62.2±136.06	136.4±275.88
Нивои јонизованог калцијума (mmol/l) терминска новорођенчад	<0.80	0.80-1.00	1.00-1.30	>1.30
N (%) терминске деце [N (%) сви испитаници]	0	0	63/64 (98.43) [63/207 (30.43)]	1/64 (1.56) [1/207 (0.48)]
FC (С.В.±СД)	/	/	86,41±110,89	/
р вредност	p=0.109			

4.8.1 Улога фекалног калпротектина и Ц-реактивног протеина као раног индикатора некротичног ентероколитиса

Испитан је утицај појединих варијабли на настанак НЕК-а коришћењем бинарне логистичке регресије, најпре униваријантне, а затим и мултиваријантне, узимајући истовремено у обзир све релевантне независне и збуњујуће варијабле за групу испитаника. Резултати су приказани у Табели 30.

Табела 30. Приказ значаја променљивих за предвиђање НЕК-а

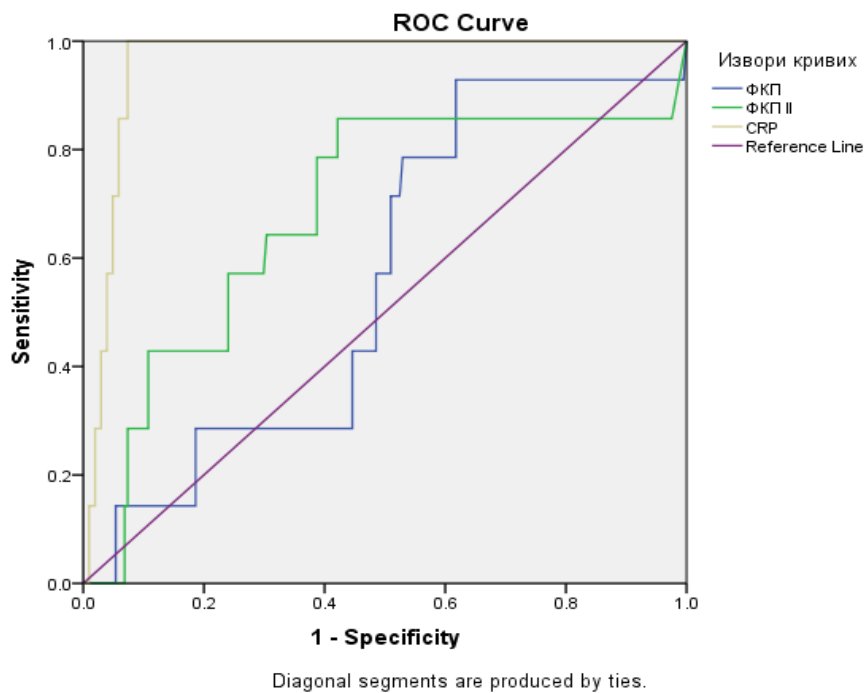
	Униваријантна бинарна регресија		Мултиваријантна бинарна регресија	
	Количник ризика са 95%-тним границама поверења	p	Количник ризика са 95%-тним границама поверења	p
ФКП	1,000 (0,995-1,004)	0,902	0,993 (0,986-0,999)	0,905
ФКП II	1,002 (0,996-1,008)	0,499	1,003 (0,996-1,010)	0,403
ЦРП	1,037 (1,020-1,055)	0,000	1,067 (1,029-1,106)	0,000
Телесна маса	0,998 (0,996-1,000)	0,062	1,000 (0,996-1,005)	0,903
Геостацијска старост	0,785 (0,583-1,055)	0,109	0,570 (0,256-1,269)	0,169
Аргар	0,927 (0,623-1,378)	0,707	1,781 (0,879-3,607)	0,109

Униваријантна и мултиваријантна бинарна логистичка регресија су показале да на НЕК утиче ЦРП вредности ($p < 0,0005$ у оба случаја). Остале променљиве, пре свега меконијални калпротектин или ФКП ($p = 0,902$ униваријантна и $p = 0,905$ мултиваријантна сигнификантност) и ФКП II, мерен 14 дана након првог мерења ФКП-а ($p = 0,499$ униваријантна и $p = 0,487$ мултиваријантна сигнификантност), немају значајан утицај на предвиђање НЕК-а у оквиру униваријантног и мултиваријантног бинарног регресионог модела.

Анализом предикционог ефекта ЦРП-а, ФКП и ФКП II помоћу криве „пријемник-оператер“ (енглески „Receiver Operator Curve“, скраћено ROC), истиче се да је тај ефекат најизраженији за ЦРП, док је утицај ФКП и ФКП II мање значајан (Слика 15). За ЦРП, површина испод криве значајно се разликује од површине половине квадрата ($AUROC = 0,975$, $p < 0,0005$). За ФКП, површина испод криве није значајно различита од површине половине квадрата, што указује на недостатак предиктивног ефекта (ФКП: $AUROC = 0,569$, $p = 0,515$). За ФКП II, површина испод криве је различита од површине половине квадрата и може се користити као индикатор НЕК-а (ФКП II: $AUROC = 0,661$, $p = 0,099$). ROC криве су приказане на Слици 15.

На темељу добијених резултата, даље су разматране оптималне границе или "cut-off" вредности за ЦРП и ФКП II. Оптимална "cut-off" вредност за ЦРП израчуната из ROC криве износила је 51,55 mg/L. Тада су забиљежене сензитивност од 0,750, специфичност од 0,970, негативна предиктивна вредност од 0,98 и позитивна предиктивна вредност од 0,56. 75,0% испитаника који су имали НЕК у групи претерминске новорођенчади је имало ЦРП вредност изнад 51,7 mg/L. Дакле, ROC крива указује на то да ЦРП може бити осетљив маркер за НЕК. Оптимална "cut-off" вредност за ФКП II израчуната на основу ROC криве износи 38,9 $\mu\text{g/g}$ фецеса. Тада су забиљежене сензитивност од 0,857, специфичност од 0,578, негативна предиктивна вредност од 0,987 и позитивна предиктивна вредност од 0,96. На темељу претходно утврђеног, може се закључити да 87,5% испитаника код којих се развила НЕК има ФКП III вредност изнад 39,125 $\mu\text{g/g}$.

Дакле, ROC крива показује да се ФКП II може користити као индикатор НЕК-а, али је нешто мање сензитиван и значајно мање специфичан маркер за НЕК, од ЦРП-а, у популацији превремено рођене деце.



Слика 15. Крива „пријемник-оператор“ (енглески „Receiver Operator Curve“, скраћено ROC) која описује предиктивни ефекат ФКП, ФКП II и ЦРП на појаву НЕК-а

Површина испод ROC криве коришћењем ЦРП као дијагностичког маркера за НЕК износила је 0,975, док су за ФКП и ФКП II површине биле 0,525 и 0,677, редом. Ова анализа указују да је тачност маркера за дијагнозу НЕК-а следећа: ЦРП > ФКП II > ФКП. Дакле, дијагностичка вредност ЦРП је била задовољавајућа и боља у поређењу са ФКП и ФКП II.

5. ДИСКУСИЈА

Основни циљ овог истраживања је био валидација фекалног калпротектина, као раног и неинванзивног скрининг теста неонаталне ентеропатије и пружања додатних информација о утицају пренаталних (феталних) и перинаталних фактора на излучивање фекалног калпротектина.

Калпротектин има антибактеријску (али и антигљивичну) активност, индукује апоптозу и хемотаксију и излучује се епителним ћелијама, након детекције цитокина или бактеријских продуката (*Vaos et al.*, 2013; *Walsham & Sherwood*, 2016). Због тога, може представљати важан протеин у акутној фази упале (*Vaos et al.*, 2013; *Patherina et al.*, 2018; *Lazzarotto et al.*, 2023). Присутан је у фецесу, због миграције неутрофила у цревне ћелије, када је присутан патоген, који изазива упалу.

Пошто је фекална маса доступнија за узорковање код новорођене деце, а при том је калпротектин у фецесу и мерљивији (шест пута у односу на плазму), базирали смо нашу студију на одређивању овог маркера из прве, спонтане, меконијалне столице, узете понаособ од свих 207 новорођенчади. За одређивање ФКП-а користили смо ензимски имуносорбентни тест (ЕЛИСА), који је у публикованим истраживањима представљао главни метод за детекцију ФКП-а. Молекул калпротектина отпоран је и до 7 дана на цревне протеазе, као и на секрет панкреаса, (*Zhang et al.*, 2007; *Saigal & Doyle*, 2008; *Araújo et al.*, 2012; *Li et al.*, 2016; *An et al.*, 2022) што га чини стабилним у фецесу. То олакшава транспорт и чување узорака за лабораторијску анализу, а у нашој студији анализа ФКП-а је вршена на апарату Алегрија истог дана, када је вршено и узорковање фецеса.

Посматране групе претерминске (143/207) и терминске новорођенчади (64/207) су биле хомогене, по полу и узрасту. „Царски рез“, као начин завршетка порођаја био је сигнификантно чешће заступљен код претерминске, у односу на терминску новорођенчад, што се може објаснити самом природом патологије трудноће, превремено рођене деце, хоспитализоване у Центру за неонатологију, УКЦ Крагујевац.

Хипертензија индукована трудноћом (14,7%) и тромбофилија (12,58%) представљале су најчешће заступљене болести мајки у групи претерминске новорођенчади, док је анемија (37,5%) била најзаступљеније обољење мајки у групи терминске новорођенчади. Висок крвни притисак током трудноће, као и повећана склоност ка згрушавању крви у пупчаном врпци отежавају фетусу да добије довољно кисеоника и хранљивих материја за раст, што може довести до интраутерусног застоја у расту (6,9%) и превременог порођаја. Сходно томе, претерминска новорођенчад су, у односу на терминску (0%) сигнификантно чешће захтевали конвенционалну механичку вентилацију (39,9%) и инотропну терапију (8,4%), што је резултирало смртношћу од 2,79% која није била статистички значајна.

5.1. Утицај пренаталних (феталних) и перинаталних фактора на излучивање фекалног калпротектина

ГИТ новорођенчади се сматра стерилним при рођењу. Након рођења, брзо се колонизује микроорганизмима из порођајног канала или околине. Према недавној хипотези, ГИТ новорођенчета је прво насељен микроорганизмима из мајчиног ГИТ-а и материце, након чега следи колонизација бактеријама присутним у мајчином млеку. Тачан механизам је још увек нејасан. Бактеријска колонизација ГИТ-а новорођенчета може се сматрати неком врстом имунолошког одговора фетуса, у циљу прилагођавања на живот ван

материце (*Costa et al.*, 2020). Данас је познато да ефекат интерреакције између цревних бактерија и развоја фетуса може имати и дугорочне последице, укључујући развој гастроинтестиналних, алергијских и метаболичких болести.

Интересантно је, да су резултати нашег истраживања детектовали значајно веће нивое ФКП код новорођене деце женског пола са интраутерусним застојем у расту (ИУЗР), у односу на превремено рођену децу мушког пола, без ИУЗР-а. Студије, *Sharma* и сарадника (2016) и *Radulescu* и сарадника (2013) откриле су да постоји корелација између ИУЗР-а, женског пола и нежељених перинаталних исхода, који укључују хипоксију/хипоксемију и полицитемију. Хронична фетална асфиксија може погодovati развоју компликација типа цревног дистреса и неонаталне инфламаторне ентеропатије, са последичним повећањем фекалног калпротектина, што би донекле могло објаснити добијене резултате наше студије. Ипак, већина аутора не налазе сигнификантну корелацију између ФКП вредности и пола испитаника (*Sommermeier et al.*, 2022).

Park и сар. (2019), слично нашој студији мере ФКП у првој недељи живота (просечно $2,14 \pm 1,87$ дана; медијана 1,0 дан, IQR: 1,0–3,0) код новорођене деце просечне гестациске старости $34,6 \pm 3,5$ недеља (са распоном од $25^{4/7}$ – $40^{3/7}$ гестациских недеља) и налазе сигнификантно веће вредности код испитаника женског пола ($626,43 \pm 1,131,04$ мг/кг), у односу на мушки пол ($175,85 \pm 178,03$ $\mu\text{g/kg}$ фецеса; $p < 0,001$). Када су извршили постепену мултиваријантну линеарну или нелинеарну регресиону анализу, да би истражили повезивање пренаталних или перинаталних фактора са меконијалним калпротектином, уочили су да су мања телесна маса ($-284,25 \pm 91,88$ $\mu\text{g/kg}$, $p = 0,002$) и меконијумом обојена плодова вода ($464,70 \pm 232,14$ $\mu\text{g/kg}$; $p = 0,047$) значајно повезани са високом концентрацијом меконијалног калпротектина. Ипак, ови аутори гестациску старост и пол нису сматрали значајним факторима, који су у вези са порастом ФКП-а, јер је гестациска старост имала високу колинеарност са телесном масом ($p = 0,872$, $p < 0,001$), при чему се телесна маса значајно разликовала у односу на пол испитаника, (женски пол: $2,09 \pm 0,78\text{kg}$, мушки пол: $2,48 \pm 0,78\text{kg}$; $p = 0,005$).

Овакви резултати указује да очигледно постоји велика индивидуална варијабилност у експресији ФКП-а, што значајно може отежати тумачење добијених резултата. Меконијална плодова вода (2,09%) и превремено прснуће плодових овојака, које траје више од 18 часова (16,8%), према нашим резултатима не корелира значајно са вредностима ФКП-а. Такође, ни болести мајке током трудноће, односно пренатално дата терапија (антибиотици, Утрогестан, Метилдопа, Дексазон, препарати гвожђа и сл.) нису значајније утицали на вредности меконијалног калпротектина. Познато је из литературе, да физиологија трудноће нема значајнији утицај на излучивање ФКП-а (*Bálint et al.*, 2017, *Julsgaard et al.*, 2017). Ипак, наши резултати указују да патологија трудноће, у смислу хроничне феталне асфиксије која доводи до интраутерусног застоја у расту фетуса и превременог рођења може фаворизовати пораст ФКП-а.

Раније студије (*Laforgia et al.*, 2003; *Lisowska-Mujak B et al.*, 2018) су објавиле да је ниво калпротектина у меконијуму у корелацији са гестациском старашћу при рођењу, телесном масом и ниским 5'-АС-ом и да би меконијални калпротектин могао да одражава интраутерусну средину, незрелост црева и хипоксијско-исхемијско оштећење цревне слузокоже. *Park* и сарадници (2019), налазе да висок ниво меконијалног калпротектина корелира са мањом телесном масом и меконијумом обојеном плодовом водом, када су извршили постепену мултиваријантну линеарну и нелинеарну регресиону анализу. Међутим, меконијални калпротектин није био у корелацији са 5'-АС-ом ($r = -0,057$, $p =$

0,513), или постнаталним данима у првој недељи живота ($r = -0,136$, $p = 0,117$), слично нашим резултатима.

У нашем истраживању, просечан 5'-АС у групи превремено рођене деце био је сигнификантно мањи, у односу на групу здраве, терминске новорођенчади ($p < 0,001$), с обзиром да степен прематуритета значајно утиче на процену тонуса, респираторне и рефлексне активности, (као битних компоненти АС-а), као и због чешће присутне феталне и/или перинаталне асфиксије, услед компликованог тока трудноће и/или порођаја. Сходно томе, ови испитаници су и знатно чешће (48%) захтевали примену реанимације, у односу на терминску новорођенчад (0%).

У групи превремено рођене деце, ниску 5'- оцену при рођењу ($АС \leq 6$), као клинички маркер асфиксије тј. лоше адаптације на екстраутерусне услове имало је 30,28% испитаника, док је 69,72% претерминске новорођенчади добило оцену ≥ 7 . Иако је уочен благи пораст вредности ФКП-а у подгрупи превремено рођене деце са 5'-АС 6 ($118,3 \pm 232,96 \mu\text{g/g}$ фецеса), та разлика је била само индикативна, у односу на подгрупу превремено рођене са 5'-АС = 7, 5'-АС = 8, 5'-АС = 9 ($118,3 \pm 232,96$, $92,91 \pm 222,55$, $39,33 \pm 38,39$, $37,9 \pm 39,0 \mu\text{g/g}$ фецеса респективно; $p = 0,886$), али се при том мора узети у обзир широк дијапазон вредности ФКП-а и мали узорак. Одсуство статистички значајне повезаности између 5'-АС и нивоа ФКП-а налазе и др аутори (*Jung, 2020; Park et al., 2019*).

Неколико врста перинаталних фактора укључујући начин порођаја, запремина (волумен) исхране или опште кондиционо стање новорођенчета је раније пријављено да утиче на вредности ФКП-а, међутим резултати су били неуверљиви (*Campeotto et al., 2004; Josefsson et al., 2007; Yang et al., 2008*).

Недостатак сагласности резултата у публикованим истраживањима, који говоре о корелацији перинаталних фактора са меконијалним калпротектином можда потиче од различитих стања у позадини, или утицаја саме терапије, током перинаталног периода. Такође, меконијум обухвата материје који се уносе током феталног периода, укључујући амнионску течност, жуч и секрет из цревних жлезди, лануго длачице, крв, сквамозне ћелије и цревне епителне ћелије. Разноврстан ћелијски састав може утицати на високу концентрацију меконијалног калпротектина, јер се калпротектин може експримирати на мембрани моноцита и епителних ћелија слузокоже интестиналног тракта, поред цитоплазме у неутрофилима (*Striz et al., 2004; Kapel et al., 2010*).

Већина аутора не налазе сигнификантну корелацију између вредности меконијалног калпротектина и „царског реза“, што је у складу са нашим резултатима (*Kapel et al., 2010; Rougé et al., 2017*). Ипак, *Sommermeier* и сарадници (2022) код одојчади са инфантилним коликама која су рођена царским резом налазе значајно већи ниво ФКП-а ($\geq 100 \mu\text{g/g}$), у односу на одојчад рођену вагиналним путем, слично као *Günaydin*-у и срадници (2020) и закључују да је код деце рођене царским резом чешће присутна интестинална инфламација и поремећај микробиоте, у односу на ону рођену вагиналним путем.

Lee и сарадници (2017), су спровели истраживање на 133 здрава новорођена детета и одојчета узраста од 0-6 месеци. Средња концентрација ФКП-а свих учесника износила је $237,40 \mu\text{g/g}$ фецеса (опсег $11,5-1330,6 \mu\text{g/g}$). Нивои ФКП-а су овога пута били значајно већи код деце рођене вагиналним путем ($319,69 \mu\text{g/g}$ фецеса), наспрам ($130,97 \mu\text{g/g}$ фецеса) вредности ФКП-а код деце рођене царским резом ($p < 0,001$). Тип порођаја је утицао на ниво ФКП-а, без обзира на начин храњења. Нивои ФКП-а код деце узраста од 0-6 месеци су се смањивали са старењем, при чему су вредности ФКП-а са старењем

остајале више код деце рођене из вагиналног порођаја, када су она била храњена мајчиним млеком.

5.1.1 Утицај гестацијске старости и телесне масе на вредности фекалног калпротектина

У нашем истраживању, у групи превремено рођене деце, (просечне гестацијске старости $32,6 \pm 2,43$ недеље и телесне тежине $1815,35 \pm 434,63$ g) средња вредност меконијалног калпротектина износила је $77,476 \pm 176,057$ $\mu\text{g/g}$ фецеса; (од минималних 0,1 до максималних 1000 $\mu\text{g/g}$ фецеса), при чему је 80% претерминске новорођанчади имало вредности ФКП-а испод 50-ог перцентиала.

У групи здраве, терминске новорођенчади, (просечне гестацијске старости $39,141 \pm 1,09$ недеља и телесне тежине при рођењу $3390 \pm 418,94$ g) уочена је нешто већа средња вредност меконијалног калпротектина ($85,297 \pm 110,371$ $\mu\text{g/g}$ фецеса; од минималних 0,1 до максималних $511,0$ $\mu\text{g/g}$), у односу на превремено рођену децу, али је та разлика била само индикативна и без статистичке значајности ($p=0,744$); Код 70% терминске новорођанчади вредности меконијалног калпротектина су биле испод 50-ог перцентиала.

Rougé C и сарадници (2010) сугеришу да је ниво меконијалног ФКП већи код новорођенчади на природној исхрани, а да ФКП негативно корлира са антибиотским третманом. Познато је да ови фактори утичу на колонизацију црева „корисним“ бактеријама, што указује на могућу везу између успостављања физиолошке микробиоте и нивоа калпротектина, у неонаталном периоду.

Због великих интер- и интра- индивидуалних варијација, прецизно одређивање граничних вредности за ФКП у популацији новорођене деце остаје и даље недостижан циљ, а предложене граничне вредности, у зависности од аутора крећу се у распону од 200 до 2.000 $\mu\text{g/g}$ фецеса (*Alber & Puertas*, 2010; *Sharma et al.*, 2016; *Costa et al.*, 2020).

Roseth (2003) и сарадници тврде да је мало вероватно да је такав распон варијација резултат слабе стабилности ФКП-а у столицу, пошто је ФКП отпоран на протеолизу и стабилан је на собној температури. Иако су узорци фецеса, у свим публикованим студијама прикупљани из пелене (што је био случај и у нашој студији), техника узорковања ФКП-а не објашњава варијације, у опсегу његових вредности. Наиме, детектоване промене у концентрацијама калпротектина у великој мери превазилазе ону варијацију, која би се могла објаснити упијањем урина из тетра пелене (*Costa et al.*, 2003). Осим тога, уочене промене у опсегу вредности ФКП-а не могу настати ни гутањем калпротектина, присутног у хуманом млеку, пошто у сагласности са ранијим студијама (*Costa et al.*, 2003), узорци хуманог млека који су анализирани ($n = 10$) нису садржали детектабилни калпротектин (референтни ранг: 15 mg/l).

Поредећи средње вредности меконијалног ФКП-а, у групама превремено рођене деце рођене пре 28 г.н. ($160,52 \pm 322,12$ $\mu\text{g/g}$ фецеса), од 28 1/7 до 32 г.н. ($90,43 \pm 190,97$ $\mu\text{g/g}$ фецеса), од 32 до 34 6/7 г.н. ($58,68 \pm 131,21$ $\mu\text{g/g}$ фецеса), од 35 до 36 6/7 г.н. ($75,58 \pm 180,27$ $\mu\text{g/g}$ фецеса), и терминске деце рођене од 37 до 41 г.н. ($85,297 \pm 110,37$) установљено је да не постоји статистички значајна разлика у средњој вредности ФКП-а, у овим разматраним групама ($p=0,141$).

У неонаталној популацији, осим што нису прецизно дефинисане референтне вредности ФКП-а, поуздано се још увек не зна ни да ли неки пре/пери/ или постнатални фактори доводе до варијације у његовој концентрацији. Већина аутора, (*Husebye et al.*, 2001; *Costa et al.*, 2003; *Rugtveit et al.*, 2004; *Albanna et al.*, 2014; *Lisowska-Mujak & Zytynska-Daniluk*, 2015) не налазе сигнификантну разлику у вредностима ФКП-а у односу на телесну масу

при рођењу, гестацијску старост, начин завршетка порођаја (вагинални/”царски рез“) и тип исхране (природна/вештачка), слично нашим резултатима.

ПТМ испод 2500 грама, у нашем истраживању је имало 68,59% новорођене деце (у свим случајевима се радило о претерминској новорођенчади), а од тога 16,42% је имало веома малу ПТМ (испод 1500 грама), док није било деце са ПТМ преко 4500 грама (тзв. хипертрофично новорођенче). Поредећи средње вредности ФКП-а у групама превремено рођене деце са ПТМ испод 1500 грама ($129,89 \pm 255,65 \mu\text{g/g}$ фецеса), од 1500-2500 грама ($60,97 \pm 139,81 \mu\text{g/g}$ фецеса), и вредности ФКП-а у групама предтерминске и терминске деце са ПТМ од 2500-3500 грама ($82,24 \pm 121,22 \mu\text{g/g}$ фецеса) и од 3500-4500 грама ($91,24 \pm 99,96 \mu\text{g/g}$ фецеса) пронађена је статистички значајна разлика ($\chi^2 = 10,685$, $p=0,014$), у вредностима ФКП-а.

Код 95,1% испитане деце фекални узорак је био уобичајен меконијум, а само 4,9% испитаника је имало ређу, слузаву столицу. Највећи број тестирања је извршен у другом (43,4%) и трећем дану живота (34,3%), а просечно време колектовања фецеса је било $2,664 \pm 0,96$ за претерминску и $2,125 \pm 0,9344$ за терминску новорођенчад. Међутим, ни изглед, као ни време узорковања меконијалне столице није корелирало са нивоом ФКП-а, у првих 5 дана живота. *Yoon* и сарадници (2014) бележе значајну негативну линеарну коелацију између нивоа калпротектина и броја дана након рођења ($p = 0,03$), у гестацијској доби ≥ 26 и < 30 гестацијских недеља. Такође, *Zoppelli* и сарадници (2012) уочавају пад нивоа ФКП-а у прво недељи живота, али након тога уочавају пораст вредности ФКП-а између 26 и 32 г.н., у поређењу са оним испитаницима рођеним са мање од 26 г.н., где су вредности ФКП-а наставиле линеарно да опадају. Слично, у нашем истраживању значајно више вредности калпротектина уочене су код деце врло мале телесне масе, али се при том мора узети у обзир широк дијапазон вредности ФКП-а и мали узорак испитаника (*Ceković et al.*, 2022).

Li и сарадници (2015) су известили да здрава одојчад, млађа од шест месеци генерално имају више нивое ФКП-а у столици, у поређењу са старијом децом и одраслима. Међутим, они нису дефинисали границу код превремено рођене деце изнад које се сматра да је ниво калпротектина у столици повишен. *Moussa* и сарадници (2016) су известили да не постоји корелација између гестацијске или постнаталне старости и нивоа ФКП у столици, проучавајући 26-оро „здраве“ новорођенчади и 26-оро са знацима интолеранције ентералне исхране.

Насупрот томе, у истраживању *van Zoonen* и сарадника (2019) су открили да се горњи референтни интервал за ниво ФКП-а у столици постепено повећава, са повећањем кориговане гестацијске доби. Примећен је постепени пораст медијане, почевши од 30-те недеље кориговане гестацијске доби, који се стабилизовао са око 36 недеља гестације. Овај образац указује да многа превремено рођена деца могу имати биолошки преокрет у цревима, у том гестацијском добу. Могуће је да су за то одговорне промене у урођеном имунолошком одговору, са повећаном активацијом интестиналних гранулоцита и/или промене у интестиналном микробиому (*Levy*, 2007). *La Rosa* и сарадници (2014) су проучавали бактеријску колонизацију фецеса у групи веома незреле деце, са врло малом порођајном тежином и известили су о смањењу физиолошких врста бацила наспрам повећане заступљености клостридије, са повећањем кориговане гестацијске доби.

Van Zoonen (2019) и сарадници су установили да ниво ФКП-а изнад горњег референтног ранга за узраст повећава вероватноћу да се стање назове НЕК-ом, а ово је најзначајније код новорођенчади са коригованом гестацијском доби < 35 недеља. Међутим, ова веза није савршена, јер се код неког броја новорођенчади са повишеним нивоом ФКП-а чини да не постоји НЕК, док се код неких са нивоом унутар референтног опсега НЕК ипак

јавља. Као последица ове ограничене дијагностичке тачности ФКП-а, аутори указују да су појединачни нивои ФКП-а у столици до неке одређене вредности корисни за дијагностиковање НЕК-а, али се не можемо апсолутно ослањати на њих. Додатно, аутори *Kapel* и сарадници (2010) тврде да нису примећене разлике у складу са гестацијском доби или тежином при рођењу, док је виши ниво калпротектина у столици примећен током присуства цревних тегоба код новорођенчади са измењеним инфламаторним статусом, слично нашим резултатима.

Аутори *Koninckx* и сарадници (2021) су дошли до закључка да нивои ФКП-а ипак зависе од гестацијске и постнаталне старости. Ови аутори указују на то, да иако екстремно незрела деца могу имати посебно ниске нивое ФКП-а (*Walker*, 1979), превремено рођена деца и терминска новорођенчад пре навршене прве године живота имају значајно више нивое ФКП-а у поређењу са здравом децом, с тим да се ови нивои смањују са повећањем постнаталне старости (*Berstad et al.*, 2000; *Björkström et al.*, 2009; *Baldassarre et al.*, 2010). Нивои ФКП, који су запажени код „здраве“ превремено рођене деце су виши од оних који су пријављени код одраслих особа и деце (*Berstad et al.*, 2000). Просечни нивои ФКП-а, пријављени у свеобухватном прегледу литературе се крећу између 98 и 122 $\mu\text{g/g}$ фецеса (са стандардном девијацијом 68 и 98 $\mu\text{g/g}$), док се медијана ФКП-а, као мера централне тенденције креће између 150 и 253 $\mu\text{g/g}$ (распон од <15 до 1867 $\mu\text{g/g}$ фецеса) код превремено рођене деце, узраста од 3-18 дана, до максимално 1-8 недеља (*Van Elburg et al.*, 2003). Код новорођенчади рођене у термину и одојчади млађе од 3 месеца, просечни нивои ФКП су се кретали између 145 и 277 $\mu\text{g/g}$ (са стандардна девијацијом 46 и 109 $\mu\text{g/g}$ фецеса), а медијане између 167 и 269 $\mu\text{g/g}$ (са распоном од 31 до 2880 $\mu\text{g/g}$) (*Van Elburg et al.*, 2003). Због велике варијације у величини анализираних популација, као и у распону узраста, у добијеним студијама није било могуће успоставити дефинитивне референтне границе за ФКП, како код новорођене деце, тако ни код деце млађе од годину дана.

5.2. Утицај постнаталних фактора на излучивање фекалног калпротектина

Током нашег истраживања, није уочена значајна веза између постнаталне старости, тј. броја дана у моменту узорковања меконијума и вредности ФКП-а, у обе посматране групе. Просечно време колектовања меконијалне столице, у групи терминске новорођенчади износило је $2,125 \pm 0,934$ дана, а у групи претерминске новорођенчади $2,664 \pm 0,963$ дана.

Када смо у трећој недељи живота (просечно 16.965 ± 1.436 дана) поновили узорковање фецеса, превремено рођена деца су имала сигнификантно ниже вредности ФКП-а (67.434 ± 95.5918 $\mu\text{g/g}$ фецеса; $p < 0.000$), у односу на прву недељу живота, без обзира да ли су или нису били на суплементацији пробиотиком. Код здраве, терминске новорођенчади нисмо били у могућности да поновимо узорковање фецеса у трећој недељи живота, због кратког трајања хоспитализације (<5 дана).

Слично, у студији *Park JS* и сар. 2020. примећен је значајан пад ФКП-а после прве недеље живота, а концентрација ФКП-а је била стабилна после друге недеље живота. Ово смањење ФКП-а, након прве недеље живота се може тумачити решавањем феталног дистреса (*Lisowska-Mujak et al.*, 2018.), сазревањем црева и тиме смањеном пропустљивости цревне баријере, (*Laforgia et al.*, 2003.), успостављањем физиолошке

цревне микробиоте (*Rougé et al.*, 2010) или променама од меконијума, (са различитим ћелијским и молекуларним саставом), у прелазну столицу.

Недавни преглед указује на релевантност, али и извесна ограничења детекције калпротектина у овом клиничком контексту, посебно код превремено рођене деце са бројним пратећим проблемима (*Campeotto et al.*, 2009). Висока концентрација калпротектина у фецесу током прве године живота, а нарочито у првом месецу може бити нормална појава, услед незрелости адаптивног имунитета у детињству, (*Günaydin Şahin et al.*, 2020), али може указати и на интестинални дистрес или неонаталну ентеропатију (*Groer et al.*, 2016; *Bjarnason*, 2017; *Jang et al.*, 2018). Други аутори (*Klingberg et al.*, 2012) сугеришу да су високи нивои ФКП повезани са започињањем ентералне исхране и да не подразумевају увек патолошку инфламацију, или исхемију ГИТ-а превремено рођене деце и углавном су повезивани са бактеријском колонизацијом црева.

У нашем истраживању, респираторни дистрес синдром је имало 51,04% испитане претерминске деце, а 39,8% је захтевало неки вид вентилаторне потпоре. Није било значајне разлике ($p=0,836$) у вредностима ФКП-а међу групама деце са и без РДС-а, као ни међу испитаницима који су захтевали вентилаторну или инотропну потпору, слично резултатима (*Park et al.*, 2020). У групи превремено рођене деце уочене су више вредности бикарбоната, у односу на здраву, терминску новорођенчад, где су се вредности бикарбоната кретале у оквиру референтних вредности. Пораст бикарбоната, у групи превремено рођене деце је био компензаторне природе, (у склопу повраћања или респираторне инсуфицијенције) и позитивно је корелирао са ФКП-вредностима, као и у нашем објављеном истраживању (*Cekovic et al.*, 2022), док рН, базни ексцес, парцијални притисак кисеоника (pO_2) и угљен диоксида (pCO_2) нису били у значајној вези са ФКП-ом.

Поредећи параметре хематолошког статуса испитиване деце и вредности ФКП-а, установили смо да разлике нису биле статистички значајне, у обе посматране групе. У групи превремено рођене деце, вредности хемоглобина, односно анемија (без обзира на потребу за трансфузијом деплазматисаних еритроцита), није имала утицаја на вредности ФКП-а ($e = 26,7$; $IQR = 51,5$), наспрам ФКП-а у групи са нормалним вредностима хемоглобина ($e = 20,3$; $IQR = 31,9$; $p=0,210$). Слично важи и за ниво ФКП-а код деце са тромбоцитопенијом ($e = 28,4$; $IQR = 38,4$), наспрам ФКП-вредности код деце са нормалним бројем тромбоцита ($e = 23,4$; $IQR = 46,2$; $p=0,862$).

Ипак, у подгрупи превремено рођене деце са леукоцитозом, уочена је корелација између укупног броја леукоцита и нивоа ФКП-а, али је та веза била слаба и због тога недовољно клинички убедљива. У групи претерминске деце са бројем леукоцита између 20 и $30 \times 10^9/l$ (14,78%) верификоване су више вредности ФКП-а ($104,19 \pm 241,63 \mu g/g$ фецеса), у односу на групу са бројем леукоцита између 10 и $20 \times 10^9/l$ (59,15% испитаника; средња вредност ФКП-а $62,25 \pm 125,98 \mu g/g$ фецеса) и групу са бројем леукоцита испод $10 \times 10^9/l$ (20,42% испитаника; средња вредност ФКП-а $40,62 \pm 48,88 \mu g/g$ фецеса). Средње вредности ФКП терминске деце су слично распоређене уколико се испитаници групишу по броју леукоцита, тако да је у групи са бројем леукоцита до $10 \times 10^9/l$ (6,25% испитаника; средња вредност ФКП-а $24,1 \pm 15,93 \mu g/g$ фецеса), у групи са бројем леукоцита између 10 и $20 \times 10^9/l$ (65,62% испитаника; средња вредност ФКП-а $99,66 \pm 122,91 \mu g/g$ фецеса), у групи са бројем леукоцита између 20 и $30 \times 10^9/l$ (23,43% испитаника; средња вредност ФКП-а $59,03 \pm 80,97 \mu g/g$ фецеса) и у групи са бројем леукоцита преко $30 \times 10^9/l$ (1,44% испитаника; средња вредност ФКП-а $97,13 \pm 102,59 \mu g/g$ фецеса). Висок ниво ФКП-а, у првих 5 дана живота када корелира са леукоцитозом, генерално може указивати на

активну упалу у телу, која можда није специфична за одређено стање, али исто тако може бити и рани знак интестиналне инфламације или цревног дистреса.

Према нашим резултатима, поремећај електролитног статуса (натријума, калијума и јонизованог калцијума) нема утицаја на вредности ФКП-а, а хипонатремија је верификована код 69,9%, хипокалемија код 27,97%, хиперкалемија код 18,18% пацијената и хипокалцемија код 16,78% испитаника.

У групи превремено рођене деце са хипергликемијом, као последицом незрелости панкреаса, перинаталног стреса и/или инфекције примећене су значајно више вредности ФКП-а, у односу на превремено рођену децу са нормогликемијом. Насупрот томе, у групи терминске новорођенчади повишене вредности ФКП-а су корелирале са хипогликемијом, у склопу недовољног ентералног уноса (као стеросогеног фактора за интестинални тракт), или гестацијског дијабетеса мајке (ГДМ), који је забележен у 7/45 (15,55%) случајева. Новије студије су показале да ГДМ може бити повезан са поремећеном микробиотом црева, како код мајки, тако и код њихове деце, (то јест мајке се ГДМ, а тиме и њихова деца могу имати помак ка проинфламаторнијем цревном микробиому) (*Li et al.*, 2021). Слично, у студији *Roth-Schulze* и сарадника (2021), труднице са дијабетес мелитусом-тип 1 су имале повишене концентрације фекалног калпротектина, са повећањем броја бактерија које производе липополисахариде и смањењем оних које производе кратколанчане масне киселине, посебно у трећем триместру трудноће.

У нашој студији, уочена је слаба веза између концентрација ФКП-а и индиректног билирубина, у подгрупама превремено рођене деце са значајном индиректном билирубинемиијом ($>250-300\mu\text{mol/l}$). Слично, *Yoon* и сарадници (2014) утврдили су значајно веће вредности ФКП-а и укупног билирубина код превремено рођене деце веома мале порођајне тежине са некротизирајућим ентероколитисом.

Познато је да је билирубин токсичан метаболит, који треба да се елиминише из тела мокрењем или дефекацијом. Примећено је да некоњуровани (индиректни) билирубин активира и оштећује ћелије микроглије путем морфолошких промена и ослобађања високих нивоа туморског фактора некрозе (ТНФ- α) и интерлеукина (ИЛ-1 β и ИЛ-6), на начин који зависи од његове концентрације, а ин витро студија је показала да индиректни билирубин повећава пермеабилност цревног епитела (*Raimondi et al.*, 2006).

Утицај биолошки активних супстанци на ниво калпротектина у фецесу може бити комплексан и варира у зависности од специфичног контекста или основног обољења/стања, превремено рођеног детета. Стога су потребна даља истраживања, како би се боље разумели прецизни механизми и интеракције између индиректног билирубина и ФКП-а. Ипак, могуће је и да се радило и о случајној корелацији, јер је индиректна билирубинемиија врло честа код новорођене деце, (посебно оне рођене пре термина). У прилог томе донекле говори и чињеница да *Bukulmez* и сарадници (2013) не налазе значајну везу између примене фототерапије и вредности фекалног калпротектина.

Потребне су нове студије и даља истраживања, како би се утврдили тачни механизми који су у основи раног пораста ФКП-а, у популацији превремено рођене деце. Примећено је да одрасле особе са инсулинском резистенцијом и дијабетесом имају више вредности калпротектина, у одсуству интестиналног патоанатомског супстрата, што указује да

извесни метаболички поремећаји могу бити повезани са порастом ФКП-а, уколико постоји системска инфламација. И друге студије повезују неинтестинална инфламаторна обољења са порастом ФКП-а код деце и одраслих, па би требало урадити велике мултицентричне студије и дугорочно пратити превремено рођену децу са метаболичким дисбалансом и високим вредностима ФКП-а. Са друге стране, варијабилности у методологији екстракције ФКП-а и различите перформансе комплета или китова за његово детектовање донекле могу ометати његову дијагностичку тачност.

5.2.1 Хемодинамски значајан дуктус артериозус и фекални калпротектин

Као део феталне циркулације, дуктус артериозус (ДА) је локализован дистално од леве субклавијеи представља спој између десцедентне аорте и трункуса плућне артерије. Два пута је чешћи код деце женског пола. Учесталост перзистентног дуктус артериозуса (ПДА) код превремено рођене деце варира у зависности од гестациске старости и респираторног статуса. Скоро свако треће превремено рођено дете са порођајном тежином од 500 до 1500 грама има ПДА (*Lisowska-Myjak & Zytynska-Daniluk, 2015*). Поред тога, описано је да 55% новорођенчади која имају тежину <1000 има симптоматски дуктус артериозус, који треба медицински третирати.

Код превремено рођене деце, затварање ДА може бити одложено због незрелости, извесних генетских фактора и присуства инфекције. Тачан механизам одговоран за иницијацију постнаталног затварања ДА још увек није у потпуности јасан. Шант крви кроз ДА, као „фетални канал“ регулише се ниским парцијалним притиском кисеоника и простагландинима, углавном простагландином Е2 (PGE2) и простаглицлином (PGI2). Ове материје производи плацента и оне се не разграђују у плућима фетуса, због високе плућне васкуларне резистенције (*MacQueen et al., 2018*). Постнатално, ДА се код здравог новорођенчета функционално затвара за 10-15 сати, а анатомски у року од три дана, због повећања системског протока крви, постепеног пада плућне васкуларне резистенције, повећања артеријског парцијалног притиска кисеоника и смањења нивоа простагландина и њихових рецептора (*Lisowska-Myjak & Zytynska-Daniluk, 2015; Lopez et al., 2017*). Супротно томе, код превремено рођене деце не успева овај механизам што доводи до перзистирања ДА, прве 2-3 недеље по рођењу. То условљава бројне клиничке последице, у зависности од степена усмеравања протока крви од аорте ка плућној циркулацији, што се назива „феноменом крађе,“ а једна од њих је и некротични ентероколитис. Познато је да, поред незрелости, уколико је присутно запаљење, оно стимулише активацију циклооксигеназе 2 и синтезу простагландина, што погодује перзистирању дуктус артериозуса. Са друге стране, перзистирање ДА може погоршати већ постојећу цревну исхемију, што може бити разлог повишених вредности ФКП-а, код испитаника са хемодинамски значајним ПДА, у нашој студији (*Ercalik et al., 2021*).

5.2.2. Утицај типа исхране (природна/вештачка) на фекални калпротектин

Након пријема у одељење интензивне неге и терапије новорођеног детета, сва превремено рођена деца су храњена реконституисаном високо адаптираном формулом за превремено рођену децу. У центру за неонатологију, УКЦ Крагујевац не поседујемо „банку млека“ нити мајке „доноре“, а транспорт превремено рођене деце ка нама се врши из 12 удаљених породилишта.

Код екстремно незреле деце, као и код деце са тешком асфиксијом, праћеном поремећајем свести, тешком формом РДС-а или резидуалним волуменом у желуцу $>1\text{-}2\text{ml/kg}$ исхрана је одлагана 24-48-72h и увођена након узорковања фецеса за детекцију ФКП (ФКП). Код стабилне превремено рођене деце исхрана је увођена по навршеном 6-ом сату живота, по принципу минималног ентералног уноса; 2-3 ml по obroку ($<1500\text{g}$) или 5ml по obroку (1500-2000g), који је даван у болусу на 3 сата, најпре са 5% глукозом, а затим са адаптираном млечном формулом, за превремено рођену децу. Са постизањем толеранције исхране, унос је поступно повећаван за 3-4ml по obroку ($<1500\text{g}$), односно за 5-10ml по obroку (1500-2000g), сваког дана. Сва здрава, терминска новорођенчад су дојена у породицишту од стране властитих мајки, а ФКП је узоркован између подоја.

Тип исхране (подој или специјално адаптирана млечна формула) није имала утицаја ($p=0,088$) на вредности ФКП, као ни обим (волумен) ентаралне исхране, у нашем истраживању. Ипак, највишу средњу вредност и стандардну девијацију ФКП-а (151.4 ± 256.45) су установљене код превремено рођене деце која су храњена са мање од 30ml/kg адаптиране млечне формуле дневно, током првих 3-4 дана живота (23,94% испитаника), наспрам деце која су пила $30\text{-}60\text{ml/kg}$ дневно (64.84 ± 163.80), $60\text{-}90\text{ml/kg}$ (35.21 ± 29.47), $90\text{-}120\text{ml/kg/дан}$ (19.46 ± 9.36), преко 120ml/kg/дан (34.00 ± 25.39), терминске деце која су пила до 30 ml/kg дневно (86.51 ± 111.90) и $30\text{-}60\text{ml/kg}$ дневно (47.80 ± 25.73) међутим та разлика није била статистички значајна ($p=0,095$).

Rugtveit и *Fagerhol* (2002) су открили да је концентрација калпротектина значајно нижа код деце на природној исхрани, у односу на децу храњену адаптираном млечном формулом, а *Sullivan* и сарадници (2010) и *Cristofalo* и сарадници (2013) су известили да су превремено рођена деца, која су храњена искључиво хуманим млеком имала нижу инциденцу некротизирајућег ентероколитиса, у поређењу са онима чија се исхрана базирала на крављем млеку, или је мајчино млеко било обогаћено фортификајерима, базираним на крављем млеку. У посматраној популацији, нивои калпротектина у столици су били виши код асимптоматске претерминске новорођенчади, која су примала мешавину хуманог млека и фортификатора, или млечне формуле базиране на крављем млеку. *Panczuk* и сарадници (2016) из Торонта су известили о сличном открићу, док *Yoon* и сарадници (2014) из Кореје нису пронашли везу између пораста ФКП-а и типа исхране, слично нашим резултатима. Слично, у сету података *van Zoonen* и сарадника (2019), нивои калпротектина код превремено рођене деце која су храњена мајчиним млеком нису се разликовали од оних код којих се исхрана базирала само на адаптираној млечној формули. Аутори тврде да би то могла бити последица утицаја гестацијске старости на инфламаторни одговор на протеине крављег млека, с обзиром да су деца која су примала само адаптирану млечну формулу била старије гестацијске доби. Са друге стране може постојати повећање упале ГИТ-а када се деци даје мешавина крављег млека и хуманог, у поређењу са коришћењем искључиво хуманог млека или само крављег млека.

Није јасно зашто фортификатори, базирани на крављем млеку у хуманом млеку понекад резултирају повишеним нивоима ФКП у столици, код новорођенчади без НЕК-а. Претходно је тврђено да је ФКП у цревима захваћеним НЕК-ом повезан са ванћелијским неутрофилним екстрацелуларним „замкама“ (НЕТ) (*MacQueen et al.*, 2016); које представљају мреже формиране олабављеним хроматином са којима се повезују нуклеарни и грануларни протеини неутрофила. Ове сложене 3Д мреже ослобађају неутрофили током инфламаторног одговора и служе првенствено за хватање и имобилизацију бактерија (*Yost et al.*, 2016). Претпоставка је да асимптоматска недоношчад са повишеним нивоима калпротектина у столици доживљава инфламаторни процес који укључује активацију гранулоцита. Потенцијални узрок повећане активације неутрофила у овој популацији, који није повезан са НЕК-ом, може бити алергијски

ентероколитис изазван алергијом на протеине крављег млека (*Hwang et al.*, 2008; *Christensen et al.*, 2012). Употребу калпротектина, у столицу у дијагнози алергијског ентероколитиса изазваног протеинима крављег млека захтева даље проучавање.

Campeotto и сарадници (2004) и *Baldassarre* и сарадници (2010) такође нису пронашли разлике у вредностима ФКП-а међу децом рођеном у термину, када су она дојена или храњена адаптираном млечном формулом, током првог месеца живота. Са друге стране, *Rugtveit* и *Fagerhol* (2002) су открили да су концентрације ФКП-а у фецесу значајно ниже код дојене деце, у односу на децу храњену формулом, током "периода пре одвикавања од дојења". *Dorosko* и сарадници (2008) и *Savino* и сарадници (2010) су описали супротне резултате, са вишим нивоима ФКП-а код искључиво дојене деце, у поређењу са мешовито храњеном или храњеном адаптираном млечном формулом, слично нашим резултатима. Међутим, поређење резултата различитих студија је тешко и ствара се извесна конфузија, јер су деца регрутована у различитим узрастима приликом укључивања у студије. *Campeotto* и сарадници (2009) су укључили новорођенчад током прве недеље живота, *Baldassarre* и сарадници (2007) су пратили децу током првог месеца живота, *Rugtveit* и *Fagerhol* (2002) су углавном укључили децу током периода пре одвикавања од дојења, *Savino* и сарадници (2010) су укључили децу старости 3 месеца или млађу, а *Dorosko* и сарадници (2008) су пратили шири распон узраста. Због варијација ФКП током прве године живота, велики дијапазон узраста испитаника, приликом укључивања у истраживања могу објаснити разлике у објављеним резултатима. Осим тога, већина ових студија није пружила довољно информација о клиничким карактеристикама новорођене деце и саставу адаптираних млечних формула, што додатно може утицати на нивое ФКП.

Генерално, све студије спроведене на новорођеној деци, било да су она рођена у термину, или пре показале су високе међуиндивидуалне варијације. Као што смо већ напоменули, ове варијације могу се донекле приписати методи сакупљања узорка, у којој узорак столице остаје дуго у пелени. Међутим, *Olafsdottir* и сарадници (2002) су показали да ова метода узорковања, у којој пелена упија нешто воде, повећава концентрацију ФКП за највише 30%, тј. варијација је много нижа од оне измерене у различитим студијама. Могу се поставити и друге хипотезе. Будући да пораст нивоа ФКП у фецесу новорођене деце одражава повећање гранулоцита у цревном лумену, услед високе интестиналне пропустљивости и/или развоја ткива лимфоидних органа црева, међуиндивидуалне варијације би требало да буду повезане са факторима животне средине. Они могу појединачно модификовати овај процес, као што су начин исхране, колонизација црева бактеријама или гљивицама, као и реакција на антигене.

5.2.2.1 Нетолеранција ентералне исхране

У групи превремено рођене деце, код 56 испитаника са сигнификантним порастом ФКП-а ($p = 0,038$), због интолеранције ентералне исхране и суспектне ране сепсе иницијална антибиотска терапија замењена је антибиотицима широког спектра. Након 5-ог дана живота, ови испитаници су имали повећан гастрични резидуални волумен, метеоризам и учестало повраћање, а у трећој недељи живота њих 8/56 је резвило акутни НЕК, градуса *Ia do IIb* по *Bell*-у.

Нетолеранција ентералне исхране односи се на немогућност организма да поднесе унос хране путем црева. То може резултирати различитим симптомима као што су повраћање, дијареја, метеоризам или абдоминални бол. Нетолеранција ентералне исхране је врло честа код превремено рођене деце (*Gisbert & McNicholl*, 2009; *Jang et al.*, 2018) и може бити знак смањеног мотилитета гастроинтестиналног тракта услед инсуфицијенције

недовољног зрелог ензимског система (лактаза, липаза, ентерокиназа итд.) или може бити почетна манифестација некротизирајућег ентероколитиса (*Aydemir et al.*, 2012; *Shenoy et al.*, 2014; *Yoon et al.*, 2014; *Albanna et al.*, 2014; *Moussa et al.*, 2016; *Nakayuenyongsuk et al.*, 2018; *van Zoonen et al.*, 2019;). Када је присутна нетолеранција ентералне исхране, може се јавити повећање нивоа ФКП у фецесу. То се може објаснити инфламаторним процесом у цревима, који се јавља као одговор на унос хране путем црева коју организам не подноси. Повишени нивои ФКП тада указују на присуство инфламације у цревима. Високи нивои ФКП-а могу бити показатељ и озбиљнијих стања, као што су неонатална ентеропатија, инфекција ГИТ-а, или други гастроинтестинални поремећаји који могу бити повезани са нетолеранцијом ентералне исхране. Важно је напоменути да је нетолеранција ентералне исхране комплексно стање које захтева свеобухватну процену и праћење новорођенчета.

Унапређење ентералне исхране код превремено рођене деце представља један од најизазовнијих задатака у постнаталном расту (*Olafsdottir et al.*, 2002). Одлагање ентералне исхране може бити повезано са смањеном секрецијом гастроинтестиналних (ГИ) хормона и смањеним мотилитетом црева (*Khan et al.*, 2018). Услед одлагања ентералне исхране, продужена употреба интравенског катетера за парентералну исхрану повезана је са чешћим постнаталним инфекцијама, продуженом хоспитализацијом, неповољним неуролошким исходом и повећаним ризиком од смртог исхода, код превремено рођене деце (*Worthington et al.*, 2017). Међутим, многе клиничке ситуације спречавају ентералну исхрану превремено рођене деце, због страха од различитих ГИ компликација (*Olafsdottir et al.*, 2002).

Нетолеранција ентералне исхране (НИ) дефинише се као немогућност варења уз заостајање повећане количину хране у желуцу, надутост или повраћање, што се често јавља код превремено рођене деце (*Oliveira et al.*, 2002). Познати фактори ризика за НИ су слабо функционални езофагеални сфинктер, успорен пролаз хране кроз желудац, хипомотилитет црева и абнормална бактеријска колонизација. Незрелост гастроинтестиналног тракта игра доминантну улогу код превремено рођене деце са НИ (*Neu & Pammi*, 2017). Функционална и биохемијска зрелост постепено се успоставља током последњег тромесечја гестације и под утицајем је различитих фактора као што су узраст, употреба лекова, тип исхране и цревна микрофлора (*Oliveira et al.*, 2002). То значајно утиче на функцију апсорпције хране код превремено рођене деце. Разградња протеина започиње хидролизом у киселом окружењу желуца и наставља се путем различитих протеаза (*Goodman*, 2010). Међутим, ограничена секреција желудачне киселине код превремено рођене деце резултира смањеном активношћу ентерокиназа за хидролизу протеина и активацију панкреасне протеазне каскаде за варење (*Neu*, 2007). Поменуте чињенице сугеришу да је апсорпција хидролизованог протеина лакша код превремено рођене деце. *Mihatsch* и сарадници (2001) су известили да примена формула са хидролизованом протеинима код превремено рођене деце омогућава брже успостављање потпуне ентералне исхране. *Raimondi* и сарадници (2012) су известили да је краткотрајна примена формула на бази аминокиселина (ААФ) била сигурна и ефикасна стратегија за решавање проблема НИ код превремено рођене деце са веома малом порођајном тежином.

Током нашег истраживања значајно виши нивои ФКП у фецесу (медијана 35,9; IQR 70,3 $\mu\text{g/g}$) су детектовани код превремено рођене деце са нетолеранцијом ентералне исхране (тј. са повраћањем), у поређењу са групом која је толерисала ентерални унос, (медијана 20,2; IQR 30,2 $\mu\text{g/g}$; $p = 0,038$). Интолеранција ентералног уноса, као и промене у микрофлори дигестивног тракта могу имати значајан утицај на састав и функционалност диференцијације имунских ћелија, па тиме и на ниво калпротектина у неонаталном добу

(Jauréguy et al., 2004; Björkström et al., 2009). Када је нетолеранција хране праћена упорним надимањем, НЕК се може појавити било где дуж интестиналног тракта и показати знаке цревне некрозе, како болест напредује (Albar & Puertas, 2010). У мета-анализи, *Qi* и сарадника (2020) укључено је 10 студија са 568 пацијената. Обједињена дијагностичка осетљивост и специфичност ФКП-а за НЕК биле су 0,86 и 0,79, што је указало на то да фекални калпротектин може бити обећавајући маркер, са високом дијагностичком вредношћу за НЕК код превремено рођене деце.

5.2.3. Ентерална дисбиоза и фекални калпротектин

У нашој студији, иницијална-емпиријска антимикуробна терапија (у којој су аминокликозиди коришћени у комбинацији са бета-лактамским антибиотцима) је започињана одмах по пријему у одељење интензивне неге и терапије новорођеног детета, код све превремено рођене деце са високим ризиком за појаву ране сепсе (екстремно незрела новорођенчад, асфиктична и друга превремено рођена деца која захтевају примену механичке вентилације, ПРОМ>18h, хориоамнионитис или фебрилност мајке и сл). Међутим, замена иницијалне-емпиријске антимикуробне терапије, антибиотцима широког спектра, у условима негативних хемокултура била је у позитивној корелацији са вредностима фекалног калпротектина. Предности иницијалне-емпиријске терапије антибиотцима, када је она индикована су очигледне, али пролонгирана употреба антибиотика широког спектра, без икаквог микробиолошког оправдања је опасна (Cotton, 2016) и може довести до поремећаја микробиоте црева, резистенције на антибиотике или развоја НЕК-а, са следствено високим морталитетом.

Ентерална дисбиоза се односи на неравнотежу или поремећај у саставу и функцији цревне микробиоте, комплексне заједнице микроорганизама који се налазе у гастроинтестиналном тракту. Ова неравнотежа може резултирати смањењем корисних бактерија и прекомерним растом потенцијално штетних бактерија, што доводи до промењеног микробиолошког екосистема. ФКП се углавном ослобађа из неутрофила и указује на имунолошки одговор у цревима. Ентеричка дисбиоза може утицати на нивое ФКП због свог утицаја на здравље црева и упалу, на више начина. Ентеричка дисбиоза може довести до повећане цревне упале, коју карактерише инфилтрација имуних ћелија и ослобађање проинфламаторних молекула. Овај инфламаторни одговор може резултирати повишеним нивоима ФКП у фецесу. Пропустљивост црева: Поремећај цревне микробиоте може нарушити интегритет цревних баријера, што доводи до повећане пропустљивости. То омогућава бактеријама и њиховим продуктима да пређу у цревни лумен и покрену имунолошки одговор, што на крају доприноси повишеним нивоима ФКП (Cristofalo et al., 2013). Промењени метаболички процеси микробиоте: Дисбиоза може утицати на метаболичке активности цревне микробиоте, што доводи до производње метаболита који могу подстаћи упалу. Ови метаболити могу допринети повишењу нивоа ФКП. Повезаност са гастроинтестиналним поремећајима: Ентеричка дисбиоза често је повезана са разним гастроинтестиналним поремећајима, као што су инфламаторна цревна болест, синдром иритабилног црева и инфективни гастроентеритис. Ови поремећаји карактеришу цревна упала и често су праћени повишеним нивоима ФКП. Обнављање здраве цревне микробиоте путем интервенција попут пробиотика, пребиотика или измена исхране може помоћи у ублажавању ентеричке дисбиозе и смањењу цревне упале, што доводи до смањења нивоа ФКП (Christensen et al., 2012).

Потребне су нове студије и даља истраживања, како би се утврдили тачни механизми који су у основи раног пораста ФКП-а, а нарочито у субпопулацији превремено рођене

деце. Извесни аутори сугеришу да ФКП позитивно корелира са запремином (волуменом) ентералне хране, односно негативно корелира са пре или постнаталном антибиотском терапијом, док други аутори не налазе значајну разлику у његовим вредностима, у овом контексту (*Kapel et al., 2010*). *Rougé* и сарадници (2010) су одређивали ФКП коришћењем ЕЛИСА теста из 147 узорак добијених проспективно од 47 превремено рођена детета, гестациске старости при рођењу од 27–29 недеља и 880–1320 грама, у интервалима од 2 недеље, до отпуста из болнице. Иако је медијана екскреције ФКП била 138 µg/g, примећен је широк распон интер- и интра-индивидуалних варијација у вредностима ф-калпротектина (од 3-ег до 78-ог дана; 86% и 67%, респективно). У мултиваријантној регресионој анализи, вредности ФКП-а су биле у негативној корелацији са анте и перинаталним антибиотским третманом ($p=0,001$) и позитивној корелацији са запремином тј. волуменом (ml/kg/дан) ентералне исхране ($p=0,009$) и потребом за прекидањем ентералне исхране, услед интолеранције ($p=0,001$), слично нашим резултатима (*Rougé et al., 2010*).

Познато је да антибиотици, нарочито они широког спектра ремете бактеријску колонизацију црева, што још једном указује на могућу везу између успостављања бактеријске колонизације црева, започињања ентералне исхране и раног пораста ФКП-а у неонаталном периоду (*Jauréguy et al., 2004; Mussap et al., 2013; Lisowska-Mujak & Zytynska-Daniluk, 2015; Lopez et al., 2017*).

5.2.4. Утицај биолошки активних супстанци на излучивање фекалног калпротектина

Утицај биолошки активних супстанци на излучивање калпротектина у фецесу може варирати у зависности од конкретне супстанце и њеног утицаја на гастроинтестинални тракт. Као што је већ наглашено, калпротектин потиче претежно од неутрофила и ослобађа се током упале или имунских реакција у цревима. Одређене биолошки активне супстанце, попут проинфламаторних цитокина (нпр. интерлеукин-6, фактор туморске некрозе алфа) и хемокина, могу стимулисати миграцију неутрофила у црева и подстицати упалу. Због тога упални процеси у гастроинтестиналном тракту могу довести до повећане производње и ослобађања калпротектина у фецес (*Olafsdottir et al., 2002; Dorosko et al., 2008; Savino et al., 2010; Christensen et al., 2012*).

С друге стране, антиинфламаторне супстанце, попут глукокортикоида могу умањити упалу и тиме смањити производњу калпротектина, што резултира нижим нивоима калпротектина у фецесу (*Dorosko et al., 2008*). Састав цревне микробиоте, такође може утицати на нивое калпротектина у фецесу. Неравнотежа или дисбиоза у микробиоти црева, често је повезана са злоупотребом антибиотика и одређеним болестима или стањима и може допринети упали, или утицати на нивое калпротектина у фецесу.

Утицај биолошки активних супстанци на излучивање ФКП, код превремено рођене деце може бити посебно значајан, због недовољно развијеног гастроинтестиналног и имунолошког система. Биолошки активне супстанце, попут проинфламаторних цитокина и хемокина, имају улогу у промовисању упале и активацији имунског система у гастроинтестиналном тракту. Превремено рођено дете је подложније упалним стањима, попут НЕК или сепсе, што може довести до повећане производње и ослобађања калпротектина у фецесу. Са друге стране, превремено рођена деца због незрелости интестиналног тракта често имају повећану пропустљивост црева, што омогућава улазак упалних медијатора и имунских ћелија у цревни лумен. То може резултирати миграцијом неутрофила у црева и каснијим ослобађањем ФКП-а, као показатеља цревне упале.

Биолошки активне супстанце могу се пренети са мајке на фетус различитим путевима, укључујући пренос преко постељице или мајчиног млека. Инфламаторни процеси у организму мајке, или изложеност одређеним лековима током трудноће могу иницирати упално стање код превремено рођеног детета и тиме повећати ниво калпротектина. Клиничке интервенције које се често користе у нези превремено рођене деце, попут механичке вентилације, примене антибиотика, индометацина или других лекова, могу утицати на цревно окружење и имунски одговор, а тиме и на излучивање ФКП-а (Cristofalo et al., 2013; Yoon et al., 2014; Panczuk et al., 2016; MacQueen et al., 2016).

Важно је напоменути да утицај биолошки активних супстанци на ниво калпротектина у фецесу може бити комплексан и може варирати у зависности од специфичног контекста или основног обољења/стања превремено рођеног детета. Стога су потребна даља истраживања, како би се боље разумели прецизни механизми и интеракције између ових супстанци и ФКП-а (Yoon et al., 2014).

5.2.4.1 Утицај ране примене пробиотика на интестиналну инфламацију

Питање да ли је време да се промени пракса и усвоји употреба пробиотика (суплемената који садрже потенцијално корисне бактерије или гљивице), као стандарда у нези превремено рођене деце, широко се разматра у медицинској литератури, последњих година. Механизам путем којег пробиотици врше заштитни ефекат на гастроинтестинални тракт и спречавају цревна обољења још увек није потпуно јасан и до сада су предложени различити механизми:

- Коменсалне бактерије инхибирају цревне патогене и могу помоћи у сузбијању раста и инвазије црева патогеним бактеријама, чиме побољшавају функцију цревне баријере (Lin & Stoll, 2006; Jones & Versalovic, 2009).
- Пробиотици модулирају проинфламаторне цитокине, што помаже у регулисању имуних одговора и одржавању хомеостазе (Lin & Stoll, 2006; Jones & Versalovic, 2009).
- Суплементација пробиотцима омогућава насељавање гастроинтестиналног тракта нормалном, коменсалном бактеријском флором, модулира инфламаторни баланс и као резултат тога смањује развој цревних обољења, код превремено рођене деце. (Collado et al., 2015)

Да би се испитало да ли орална примена пробиотика који садржи *Bifidobacterium lactis Bb12* може утицати на вредности ФКП-а, као показатеља здравственог стања код превремено рођене деце, Мохан и сарадници (Mohan, 2008) су спровели двоструко слепо, плацебо контролисано рандомизовано клиничко испитивање, на 69-оро превремено рођене деце. Код антибиотиком третиране деце, суплементација пробиотиком довела је до тога да ФКП буде нижи у пробиотичкој групи ($p > 0,041$).

У истраживању El Frargy M S u cap. (2014) посматрана су претерминска и терминска новорођенчад, приликом утврђивања утицаја пробиотика са два бактеријска соја (*Lactobacillus acidophilus* + *Bifidobacterium bifidum*) на вредности ФКП-а. Проспективно, двоструко слепо, рандомизовано контролисано клиничко испитивање спроведено је на 30 новорођенчади којима је детектован калпротектин у фецесу. Новорођена деца су подељена у две групе, од по 15 новорођенчади, којима су давани (група I), или нису давани пробиотици (група II). Обе групе су затим посматране до постизања потпуног обима (волумена) исхране, како би се утврдила појава НЕК-а, нетолеранције исхране или сепсе. Након 2 недеље суплементације пробиотцима, утврђено је да су нивои ФКП-а

били значајно виши код новорођенчади групе II-без суплементације пробиотиком (ФКП=190,5±86,9 µg/g), у односу на новорођенчад групе I-тзв. пробиотска група (ФКП=38,4±32,2µg/g). Постојала је значајна корелација између нивоа ФКП-а и неонаталне ентеропатије у групи II, на почетку истраживања (p=0,029), након прве (p=0,024) и након друге недеље (p=0,019), а гранична вредност ФКП-а на којој је дошло до појаве ентеропатије била је 482 µg/g фецеса. Аутори су закључили да употреба пробиотика код новорођенчади може смањити учесталост НЕК-а и сепсе, а да се ФКП може користити као рани предиктор НЕК-а. *El Fraryu* и сарадници (2014.) су дошли до сличних закључака, као *Mohan* и сарадници (2008), да рана примена пробиотика значајно смањује ниво ФКП-а, а тиме и интестиналну инфламацију, слично нашим резултатима.

Са друге стране, студија *Björkström* и сарадника (2009), није пронашла никакву корелацију између колонизације цревне микробиоте и нивоа ФКП-а; међутим, технике културе коришћене у тој студији нису омогућавале детекцију клостридија. Детаљно истраживање спроведено је и од стране *Rouge* и сарадника (2010). Концентрације ФКП у фецесу су одређиване два пута у интервалима од 2 недеље, користећи комерцијални ензимски везани имуноесеј (*CalprestH, Eurospital*, Трст, Италија). Средњи коефицијент варијације био је мањи од 3%. У овој студији је учествовало четрдесет седморо претерминске новорођенчади (29 дечака и 18 девојчица). Медијана гестацијске старости износила је 29 недеља (интерквартилни опсег, 27-29 недеља) и медијана телесне масе при рођењу 1100 g (интерквартилни опсег, 880-1320 g). Нивои ФКП-а се нису значајно разликовали између плацебо: 180 mg/g [интерквартилни опсег 52-283] и пробиотске групе: 117 mg/g [интерквартилни опсег 65-234], током овог истраживања (p = 0,31).

У оквиру ове докторске дисертације разматране су вредности ФКП пре и након употребе пробиотика, код претерминске новорођенчади на пролонгираној антибиотској терапији (>5 дана). У групи претерминске новорођенчади, просечно време узорковања прве столице, за детекцију ФКП-а било је 2,664 ± 0,963 дана по рођењу, док је друго узорковање столице, (након двонедељне примене пробиотика) просечно износило 16.965±1.436 дана, по рођењу. Уочено је да између прве, меконијалне вредности калпротектина (77.476±176.0571 µg/g фецеса; t_{ФКП} = 5.244; p<0.000) и друге ФКП II-вредности (67.434±95.5918 µg/g фецеса; t_{ФКП II} =8.436; p<0.000) постојала блага позитивна корелација (ρ=0.372), тј. средња вредност ФКП-а код другог мерења била је **значајно нижа**. Група превремено рођене деце, која није била на суплементацији пробиотиком имала је сличне средње вредности првог, меконијалног калпротектина, у односу на пробиотску групу (p=0,917), док је друга вредност ФКП-а, мерена у трећој недељи живота, у групи без пробиотика била значајно нижа (ФКП II; 52,052±70,4147 µg/g), у односу на пробиотску групу (ФКП II : 90,527±122,4768 µg/g фецеса; p=0,007). Веће вредности ФКП-II примећене код превремено рођене деце на суплементацији пробиотиком могу бити повезане са обнављањем „здраве“ микробиоте у цревима (*Rouge C*, 2010.), на шта указује и позитивна корелација између вредности ФКП II и примене пробиотика, док је пролонгирана употреба антибиотика у групи без суплементације пробиотиком вероватно била разлог сигнификантно мањих вредности ФКП-II. У пробиотској групи 10 (17,9%) испитаника, наспрам 25 (28,7%) испитаника у „плацебо“ групи је развило интолеранцију ентералне исхране, док је у пробиотској групи 46 (82,1%) испитаника толерисало ентерални унос, наспрам 62 (71,3%) у „плацебо“ групи (p=0,140).

Упркос великом броју рандомизираних плацебом контролисаних клиничких испитивања и опсервационих кохортних студија (*Underwood et al.*, 2020), које укључују више од 50.000 превремено рођене деце из 29 земаља, које су показале смањење ризика од некротизирајућег ентероколитиса, сепсе и фаталног исхода, рутинска профилактичка примена пробиотика остаје и даље неуобичајена у великом делу света.

На основу прегледа литературе и спроведеног истраживања током израде дисертације, може се закључити да су потребна даља истраживања, како би се истражила оптимална припрема, дозирање и трајање терапије пробиотицима, који би значајније утицали на смањење цревне инфламације.

5.2.5. Предиктивни значај фекалног калпротектина и Ц-реактивног протеина у раној дијагнози некротичног ентероколитиса

У ери персонализоване медицине, неинвазивни биомаркери могу играти кључну улогу у смањењу неонаталног морталитета, пре свега, омогућавајући прецизнију процену ризика за развој неонаталних болести, адекватнији терапијски третман и раније предвиђање крајњег клиничког исхода. Претходна истраживања су сугерисала да би одређивање калпротектина у столици превремено рођене деце могло бити од пресудног значаја, јер је овај маркер већ потврђен код одраслих и деце као сензитиван маркер инфламаторне болести црева (Кронове болести и улцерозног колитиса (*Koninckx et al.*, 2021)).

У неонаталном и одојачком периоду ФКП може имати значајну прогностичку вредност у неколико гастроинтестиналних стања. На пример, код превремено рођене деце, високи нивои ФКП-а могу бити повезани са већим ризиком од развоја НЕК-а, озбиљног запаљења црева које може бити опасно по живот. Студије су показале да је повишен ФКП повезан са већим ризиком од развоја акутног НЕК-а код превремено рођене деце. Сходно томе, ФКП би се могао користити и као неинвазивни биомаркер за праћење ефикасности терапије и предвиђање исхода код пацијената са инфламаторним болестима црева. Важно је напоменути да високи нивои ФКП нису специфични само за патолошка стања. Они могу бити присутни и код других инфламаторних стања, као што су инфекције гастроинтестиналног тракта, алергијске реакције на храну и других фактора који могу изазвати инфламацију. Стога, интерпретација резултата ФКП-а треба да се обави узимајући у обзир и друге клиничке информације и налазе, како би се добио целокупан увид у стање пацијента. ФКП се сматра корисним и практичним биомаркером због своје једноставне примене и брзих резултата. Међутим, важно је нагласити да ФКП само пружа информације о присуству инфламације у гастроинтестиналном тракту, док за постављање тачне дијагнозе и планирање терапије често су потребне додатне дијагностичке методе и клиничка процена лекара (*Jang et al.*, 2018).

Ипак, ФКП (*Koninckx et al.*, 2021) још увек није довољно валидиран као неинвазивни маркер некротизирајућег ентероколитиса, посебно за ране стадијуме НЕК-а (први до други стадијум по Беловим критеријумима). Утицај бројних перинаталних фактора, биолошки активних супстанци или лекова на излучивање фекалног калпротектина, код превремено рођене деце још увек није потпуно познат и доста је контроверзан (*Park et al.*, 2019, *Łoniewska et al.*, 2019).

Студије (*Husebye et al.*, 2001, *Rugtveit & Fagerhol*, 2002), које су се бавиле проценом корисности ФКП у дијагнози НЕК су регистровале веће концентрације ФКП-а код недоношчади са НЕК-ом, у поређењу са контролном групом, а пораст ФКП-а је корелирао са тежином болести (*Lopez et al.*, 2017; *Gracey et al.*, 2020; *Liu et al.*, 2023). Са друге стране, ФКП није био користан маркер код других болести дигестивног тракта, пролазне интолеранције на лактозу, функционалних гастроинтестиналних поремећаја, укључујући инфантилне колике или код прекомерног раста бактерија у танком цреву (*Lopez et al.*, 2017).

Campeotto и сарадници (2004) су показали да се калпротектин може користити као акутни маркер интестиналног дистреса. Дефинисали су „болесну“ новорођенчад као ону

са суспектном сепсом, која су захтевала примену антибиотика, вазопресора или вентилаторну подршку и која су развила интолеранцију ентералног уноса. „Болесна“ новорођенчад су имала сигнификантно веће концентрације ФКП-а ($380,4 \pm 246,3 \mu\text{g/g}$), наспрам „здравих“ испитаника ($122,8 \pm 98,9 \mu\text{g/g}$; $p < 0,001$), слично нашим резултатима и резултатима др. аутора (*Lohmuller et al.*, 1990; *Sandborn*, 1994; *Rugtveit & Fagerhol*, 2002; *Lopez et al.*, 2017; *Saviano et al.*, 2022).

У нашем истраживању, уочене су више вредности ФКП код превремено рођене деце са интолеранцијом ентералног уноса (тј. повраћањем), али не и са раном сепсом. Интолеранција ентералне исхране се може објаснити утицајем саме незрелости црева и ентералне дисбиозе, настале као последица примене антибиотика, (нарочито оних широког спектра). Са друге стране, примена антибиотка пренатално или у породилишту могла је утицати и на појаву лажно негативних хемокултута, док је ниска инциденца ране сепсе, верификована и у нашој студији отежавала добијање статистички значајне повезаности са посматраним варијаблама, па тако и са ФКП-ом.

Ц-реактивни протеин (ЦРП) и прокалцитонин су маркери који упозоравају клиничаре на присуство запаљенског процеса у телу (*Tibble et al.*, 1999), па су сходно томе њихове сигнификантно веће вредности уочене у групи превремено рођене деце, у односу на здраву, терминску новорођенчад. Gray и сарадници (*Tibble et al.*, 1999) су анализирали узорке серума и спутума током погоршања цистичне фиброзе и приметили да је калпротектин у серуму предвиђао средње време до погоршања болести, знатно боље од ЦРП-а. Слично, код пацијената са реуматском болешћу, концентрације калпротектина, али не и ЦРП-а, биле су значајно ниже код пацијената без отечених зглобова, у поређењу са онима са једним или више отечених зглобова (*Konikoff & Denson*, 2006). *Mori* и сарадници (2019), анализирајући серумске вредности калпротектина, као дијагностичког маркера за сепсу налазе значајно веће вредности калпротектина ($p < 0,001$) код 62 новорођена детета са потврђеном сепсом ($3,1 \pm 1,0 \text{ mg/l}$), у односу на 29 неинфицирана новорођена детета ($1,1 \pm 0,3 \text{ mg/l}$) или 110 здравих испитаника ($0,91 \pm 0,58 \text{ mg/l}$). Калпротектин је показао већу осетљивост (89%) и специфичност (96%), у односу на уобичајене лабораторијске маркере инфламације, попут броја белих крвних зрнаца (WBC) и ЦРП-а.

У нашем раду потврђена је слаба веза између ФКП-а и укупног броја леукоцита, док није уочена веза између ФКП-а и других маркера акутне инфламације (ЦРП-а и ПЦТ-а), као ни са маркерима бубрежне или хепатичне функције, слично резултатима *Yoon* и сарадника (2014). У публикованој литератури (*Rugtveit & Fagerhol*, 2002; *Lopez et al.*, 2017), веза између повећаног нивоа ФКП-а и леукоцитозе најчешће је објашњавана чешћом миграцијом белих крвних зрнаца услед цревне инфламације, тј. концентрација ФКП-а је била у директној корелацији са тежином упале у танком цреву. Ипак, високи нивои ФКП-а нису специфични само за постојање патоанатомског супстрата типа некрозе црева. Они могу бити присутни и код других инфламаторних стања, као што су инфекције гастроинтестиналног тракта, алергија на протеине крављег млека и других фактора који могу изазвати интестиналну инфламацију (*Jang et al.*, 2018).

Наши резултати указују да рани пораст ЦРП-а $\geq 51.55 \text{ mg/L}$ са сензитивношћу 75% и специфичношћу 97% (негативна предиктивна вредност 0,98 и позитивна предиктивна вредност 0,56) може да предвиди акутни НЕК, у популацији превремено рођене деце. Нажалост, иако је ФКП II показао високу сензитивност, имао је значајно мању специфичност за НЕК, у односу на ЦРП. Пораст ФКП-а $\geq 38.9 \mu\text{g/g}$ са сензитивношћу 85,7% и специфичношћу 57,8% (негативна предиктивна вредност 0,987 и позитивна предиктивна вредност 0,96) указивао је на развој НЕК-а, у популацији превремено рођене деце.

НЕК се скоро искључиво јавља код превремено рођене деце и праћен је развојем цревне инфламације са значајним учешћем неутрофила, због незрелог одговора ентероцита на бактеријску стимулацију и увођења ентералне исхране. Док неки аутори сматрају да се нивои ФКП-а значајно повећавају код превремено рођене деце са врло малом телесном масом (<1500г) и НЕК-ом (*Nakayuenyongsuk et al.*, 2018), други аутори верују да овај параметар не игра значајну улогу у дијагнози НЕК-а, посебно у раним стадијумима ове болести (*Park et al.*, 2019). У нашој студији, повећање ФКП није претходило клиничким симптомима и радиографским доказима НЕК-а IIа-IIб стадијума, по *Bell*-у, код 8-оро превремено рођене деце са врло малом телесном масом (7%). У многим објављеним случајевима, повећање вредности ФКП се јавило касније од развоја акутног НЕК-а, тако да је серијско мерење вредности калпротектина у столицама понекад неопходно за дијагностиковање НЕК-а. Такође, извесна ограничење у дијагностичкој валидности ФКП-а могу потицати и од варијабли које утичу на његове нивое (нпр. постнатална употреба антибиотика и/или пробиотика, пол и старост испитаника, исхрана и сл.) (*Albanna et al.*, 2014).

Одређене варијабле могу бити узрок неуобичајено ниских вредности калпротектина чак и у случајевима фулминантног НЕК-а, што потврђује и необично ниска гранична вредност за НЕК, добијена у нашој студији. Упркос малом броју пријављених случајева, корелација ФКП са акутним НЕК-ом је важна за неонатологе, пошто праћење динамике промена његових вредности може бити корисно за проспективну процену НЕК-а и предвиђање исхода. Недавно је објављено да је концентрација ФКП-а била виша код превремено рођене деце врло мале телесне масе са интестиналним дистресом или упалом црева, него код оних са нижим степеном системске упале или перинаталног стреса, слично нашим резултатима. Ово указује да се калпротектин смањује са „зрастањем“ црева тј. са оздрављењем (*Song et al.*, 2017; *Park et al.*, 2019). Лонгитудиналне студије у смислу дуготрајног праћења вредности ФКП током неонаталног периода могу бити од пресудног значаја.

6. ЗАКЉУЧАК

Упркос напретку у неонаталној нези, дијагностички модалитети и специфичне стратегије за поједине болести и даље недостају. Као резултат тога, неонатални морбидитет и морталитет остаје висок. Нова сазнања о калпротектину, као потенцијално корисном и неинвазивном биомаркеру цревног дистреса може бити од великог значаја, у ери персонализованог медицинског приступа новорођенчету.

Значај овог истраживања се огледа у валидацији фекалног калпротектина, као раног неинвазивног скрининг теста неонаталне ентеропатије, са циљем да се рано открију критично оболела новорођенчад, у одељењима интензивне неге и терапије.

Референтни ранг за ФКП у субпопулацији претерминске и терминске новорођенчади, услед велике интер- и интра- индивидуалне варијабилности у излучивању ФКП-а показује широк опсег. У нашој студији, средња вредност меконијалног калпротектина или ФКП-а, у популацији претерминске новорођенчади, (просечне гестацијске старости $32,44 \pm 2,34$ недеље; просечне телесне тежине при рођењу $1815,35 \pm 434,63$ g и постнаталне старости $2,664 \pm 0,963$ дана) износила је $76,47 \pm 176,05$ $\mu\text{g/g}$ (IQR = 41,7; од минимално 0,1 до максимално 1000 $\mu\text{g/g}$ фецеса).

Средња вредност ФКП-а у популацији терминске новорођенчади, (просечне гестацијске старости $39,141 \pm 1,09$ недеље; телесне тежине при рођењу $3390 \pm 418,94$ g и постнаталне старости $2,125 \pm 0,934$ дана) износила је $85,297 \pm 110,371$ $\mu\text{g/g}$ фецеса (IQR = 86,3 од минимално 0,1 до максимално 511,0 $\mu\text{g/g}$).

Нису уочене значајне разлике у расподели вредности меконијалног калпротектина између популација претерминске и терминске новорођенчади. Средње вредности ФКП-а у обе популације биле су ниже од очекиваних, што се вероватно може приписати самим перформансама коришћеног теста (24 Alegria® тест траке, са распоном од 0-1000 $\mu\text{g/g}$ фецеса).

Посматрано понаособ, у групи претерминске и терминске новорођенчади на вредности ФКП-а нису значајније утицали телесна маса при рођењу и гестацијска старост испитаника, начин завршетка порођаја (вагинални/царски рез), тип исхране (природна/вештачка), болести мајке и пренатална терапија. Ипак, када су испитаници збирно посматрани, у субпопулацији превремено рођене деце, веома мале телесне тежине (гестацијске старости ≤ 31 г.н.; телесне тежине < 1500 грама) забележене су сигнификантно веће вредности ФКП-а ($126,67 \pm 252,59$ $\mu\text{g/g}$ фецеса), у односу на терминску новорођенчад ($82,24 \pm 121,22$ $\mu\text{g/g}$ фецеса; $p=0,015$).

Пораст ФКП-а, у популацији превремено рођене деце женског пола корелирао је са интраутерусним застојем у расту, што указује на могућу улогу хроничне феталне асфиксије, у настанку интестиналног дистреса.

У првих пет дана живота ниво меконијалног калпротектина је био стабилан и није зависио од узраста.

У трећој недељи живота, уочен је значајан пад ФКП-вредности, у односу на прву недељу живота, што указује на могућу везу између „решавања“ феталног дистреса, смањења пропустљивости цревне баријере, услед сазревања црева и успостављања „физиолошке“ бактеријске флоре у цревима у првим данима по рођењу.

Осим компензаторно повишених вредности бикарбоната (у склопу повраћања или респираторне инсуфицијенције), није уочена корелација између ФКП-а са осталим параметарима гасних анализа (pH, pO₂, pCO₂, pO₂).

ФКП, као потенцијални маркер интестиналног дистреса није корелирао са респираторним дистрес синдромом, као ни са потребом за вентилаторном или инотропном потпором, у популацији превремено рођене деце.

Измене у биохемијском и хематолошком статусу терминске, или превремено рођене деце не утичу сигнификантно на ФКП-вредности.

Значајно виши ниво калпротектина у меконијуму (медијана 35,9; IQR 70,3 $\mu\text{g/g}$) је детектован код превремено рођене деце са нетолеранцијом ентералне исхране (тј. повраћањем), у поређењу са групом која је толерисала ентерални унос, (медијана 20,2; IQR 30,2 $\mu\text{g/g}$; $p = 0,038$). У даљем праћењу, од 35 испитаника са повраћањем и упорним метеоризмом (надимањем), њих 8 је развило НЕК градус I-II по Bell-у.

Хемодинамски значајан дуктус артериозус (хзДА), поред незрелости доприносио је порасту ФКП-а. То се може објаснити присутним запаљењем, које стимулише активацију циклооксигеназе 2 и синтезу простагландина, што погодује перзистирању хзДА. Са друге стране, само перзистирање хзДА може погоршати већ постојећу цревну исхемију.

Ентерална дисбиоза, повезана са раном постнаталном употребом антибиотика широког спектра, (у одсуству позитивних хемокултура), сигнификантно је корелирала са порастом ФКП-а, у популацији превремено рођене деце, због развоја проинфламаторнијег микробиома.

Пораст меконијалног калпротектина није био значајно повезан са НЕК-ом или раном сепсом. Са једне стране примена антибиотика могла је утицати на појаву лажно негативних хемокултура, као и лажно негативних ФКП-вредности. Са друге стране, ниска инциденца ране сепсе и НЕК-а могла је отежати добијање статистички значајних резултата.

Серијско мерење ФКП-а, може помоћи да се лакше уочи прогресија цревног дистреса или инфламације црева ка НЕК-у. Пораст ФКП-а у трећој недељи живота $\geq 38,9 \mu\text{g/g}$ са сензитивношћу 85,7% и специфичношћу 57,8% (негативна предиктивна вредност 0,987 и позитивна предиктивна вредност 0,875) може указати на развој НЕК-а, у популацији превремено рођене деце.

Пораст Ц-реактивног протеина, у првих 5 дана живота $\geq 51,55 \text{ mg/L}$, са сензитивношћу 75% и специфичношћу 97% (негативна предиктивна вредност 0,98 и позитивна предиктивна вредност 0,96) може да предвиди акутни НЕК.

У односу на Ц-реактивни протеин, ФКП II је имао велику позитивну предиктивну вредност за НЕК, али значајно мању специфичност. Дакле, дијагностичка тачност серијског мерења фекалног калпротектина могла би се потврдити и повећати укључивањем ФКП-а у панел са другим маркерима инфламације.

При тумачењу добијених резултата ФКП-а, у популацији превремено рођене деце требало би узети у обзир гестацијску старост и узраст новорођене деце, као и др. пратећа стања: интраутерусни застој у расту, перинаталну асфиксију, синдром инфламаторног одговора, интолеранцију ентералног уноса, хемодинамски значајан дуктус артериозус и ентералну дисбиозу, јер могу утицати на пораст ФКП-а у одсуству патоанатомског супстрата.

Многе предности давања пробиотика и других биолошки активних супстанци, код превремено рођене деце су углавном недовољно доказане. Наши резултати указују да је двонедељна суплементација пробиотиком, (*Lactobacillus rhamnosus GG 10 милијарди cfu*, уз додатак цинка и витамина Д3), код превремено рођене деце на пролонгираној

антибиотској терапији корисна, нарочито у ублажавању ентералне дисбиозе и смањењу цревне упале, што је потврђено смањењем иницијалних ФКП-вредности. Веће ФКП II-вредности у пробиотској групи, у односу на „плацебо“ групу, корелирале су са обнављањем „здраве“ цревне микробиоте, на шта указује позитивна корелација између вредности ФКП II и примене пробиотика, код претерминске новорођенчади на пролонгираној антибиотској терапији.

Резултати нашег истраживања могли би бити не само од општег, научног значаја већ и од (локалног) клиничког значаја, приликом употребе *Alegria*-апарата у лабораторији УКЦ „Крагујевац.“ Дефинисање локалног референтног ранга за ФКП, у неонаталној популацији олакшало би рану детекцију инфламаторне или исхемијске „лезије“ црева, односно потврдило одсуство или смањење степена упале или цревног дистреса.

Будућа истраживања, која би се базирала на серијском узорковању фецеса за детекцију ФКП-а, уз боље разумевање фактора који утичу на његово излучивање могла би помоћи да се избегну лажно позитивни, као и лажно негативни резултати.

7. ЛІТЕРАТУРА

1. A Kohler, C., Maes, M., Slyepchenko, A., Berk, M., Solmi, M., L Lanctôt, K., & F Carvalho, A. (2016). The gut-brain axis, including the microbiome, leaky gut and bacterial translocation: mechanisms and pathophysiological role in Alzheimer's disease. *Current pharmaceutical design*, 22(40), 6152-6166.
2. Albanna, E. A., Ahmed, H. S., & Awad, H. A. (2014). Stool calprotectin in necrotizing enterocolitis. *Journal of clinical neonatology*, 3(1), 16.
3. Albar, L., & Puertas, A. (2010). Valverde M. Fetal sex and perinatal outcomes. *Journal of Maternal-Fetal Neonatal Medicine*, 23:338–44. doi: 10.3109/14767050903300969
4. Aldana-Valenzuela, C., & Mannino, F. L. (1989). Spontaneous intestinal perforation in newborn infants. A form of necrotizing enterocolitis. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 46(1), 30-34.
5. AlFaleh, K., & Anabrees, J. (2014). Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Evidence-Based Child Health: A Cochrane Review Journal*, 9(3), 584-671.
6. An, H., Jin, M., Li, Z., Zhang, L., Li, H., Zhang, Y., ... & Li, N. (2022). Impact of gestational hypertension and pre-eclampsia on preterm birth in China: a large prospective cohort study. *BMJ open*, 12(9), e058068.
7. Apgar, V. (1953). A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Anesthesia & Analgesia*, 32(4), 260-267.
8. Araújo, B. F. D., Zatti, H., Madi, J. M., Coelho, M. B., Olmi, F. B., & Canabarro, C. T. (2012). Analysis of neonatal morbidity and mortality in late-preterm newborn infants. *Jornal de pediatria*, 88, 259-266.
9. Athalye-Jape, G., Rao, S., & Patole, S. (2016). *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 as a probiotic for preterm neonates: a strain-specific systematic review. *Journal of parenteral and enteral nutrition*, 40(6), 783-794.
10. Athalye-Jape, G., Rao, S., Simmer, K., & Patole, S. (2018). *Bifidobacterium breve* M-16V as a Probiotic for Preterm Infants: A Strain-Specific Systematic Review. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 42(4), 677-688.
11. Aydemir, G., Cekmez, F., Asya Tanju, I., Emre Canpolat, F., Alparslan Gene, F., Yildirim, S., ... & Umit Sarici, S. (2012). Increased fecal calprotectin in preterm infants with necrotizing enterocolitis. *Clinical laboratory*, 58(7), 841.
12. Ayling, R. M., & Kok, K. (2018). Fecal calprotectin. *Advances in clinical chemistry*, 87, 161-190.
13. Baldassarre, M. E., Altomare, M. A., Fanelli, M., Carbone, D., Di Bitonto, G., Mautone, A., & Laforgia, N. (2007). Does calprotectin represent a regulatory factor in host

- defense or a drug target in inflammatory disease?. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, 7(1), 1-5.
14. Baldassarre, M. E., Laforgia, N., Fanelli, M., Laneve, A., Grosso, R., & Lifschitz, C. (2010). Lactobacillus GG improves recovery in infants with blood in the stools and presumptive allergic colitis compared with extensively hydrolyzed formula alone. *The Journal of pediatrics*, 156(3), 397-401.
 15. Bálint, A., Berényi, A., Farkas, K., Pallagi-Kunstár, É., Altorjay, Á., Csonka, A., ... & Molnár, T. (2017). Pregnancy does not affect fecal calprotectin concentration in healthy women. *Turkish Journal of Gastroenterology*, 28, 171-175.
 16. Ballard, J. L., Novak, K. K., & Driver, M. (1979). A simplified score for assessment of fetal maturation of newly born infants. *The Journal of pediatrics*, 95(5 Pt 1), 769-774.
 17. Bashiri, A., Zmora, E., Sheiner, E., HersHKovitz, R., Shoham-Vardi, I., & Mazor, M. (2003). Maternal hypertensive disorders are an independent risk factor for the development of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Fetal diagnosis and therapy*, 18(6), 404-407.
 18. Battaglia, M., Ahmed, S., Anderson, M. S., Atkinson, M. A., Becker, D., Bingley, P. J., ... & Peakman, M. (2020). Introducing the endotype concept to address the challenge of disease heterogeneity in type 1 diabetes. *Diabetes care*, 43(1), 5-12.
 19. Benkoe, T. M., Mechtler, T. P., Weninger, M., Pones, M., Rebhandl, W., & Kasper, D. C. (2014). Serum levels of interleukin-8 and gut-associated biomarkers in diagnosing necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Journal of Pediatric Surgery*, 49(10), 1446-1451.
 20. Berdon, W. E., Grossman, H., Baker, D. H., Mizrahi, A., Barlow, O., & Blanc, W. A. (1964). Necrotizing enterocolitis in the premature infant. *Radiology*, 83(5), 879-887.
 21. Berstad, A., Arslan, G., & Folvik, G. (2000). Relationship between intestinal permeability and calprotectin concentration in gut lavage fluid. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 35(1), 64-69.
 22. Bertino, E., Giuliani, F., Prandi, G., Coscia, A., Martano, C., & Fabris, C. (2009). Necrotizing enterocolitis: risk factor analysis and role of gastric residuals in very low birth weight infants. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 48(4), 437-442.
 23. Bjarnason, I. (2017). The use of fecal calprotectin in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology & hepatology*, 13(1), 53.
 24. Björkström, M. V., Hall, L., Söderlund, S., Håkansson, E. G., Håkansson, S., & Domellöf, M. (2009). Intestinal flora in very low-birth weight infants. *Acta paediatrica*, 98(11), 1762-1767.

25. Bubová, K., Forejtová, Š., Zegzulková, K., Gregová, M., Hušáková, M., Filková, M., ... & Šenolt, L. (2019). Cross-sectional study of patients with axial spondyloarthritis fulfilling imaging arm of ASAS classification criteria: baseline clinical characteristics and subset differences in a single-centre cohort. *BMJ open*, 9(4), e024713.
26. Bukulmez, A., Dogru, O., Kundak, A. A., Oztekin, O., Koken, R., Melek, H., ... & Koken, T. (2012). The effect of phototherapy on fecal calprotectin levels. *American journal of perinatology*, 215-218.
27. Bunn, S. K., Bisset, W. M., Main, M. J., & Golden, B. E. (2001). Fecal calprotectin as a measure of disease activity in childhood inflammatory bowel disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 32(2), 171-177.
28. Bunn, S. K., Bisset, W. M., Main, M. J., Gray, E. S., Olson, S., & Golden, B. E. (2001). Fecal calprotectin: validation as a noninvasive measure of bowel inflammation in childhood inflammatory bowel disease. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 33(1), 14-22.
29. Campeotto, F., Baldassarre, M., Butel, M. J., Viallon, V., Nganzali, F., Soulaines, P., ... & Kapel, N. (2009). Fecal calprotectin: cutoff values for identifying intestinal distress in preterm infants. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 48(4), 507-510.
30. Campeotto, F., Butel, M. J., Kalach, N., Derrieux, S., Aubert-Jacquín, C., Barbot, L., ... & Kapel, N. (2004). High faecal calprotectin concentrations in newborn infants. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition*, 89(4), F353-F355.
31. Carroll, D., Corfield, A., Spicer, R., & Cairns, P. (2003). Faecal calprotectin concentrations and diagnosis of necrotising enterocolitis. *The Lancet*, 361(9354), 310-311.
32. Carter, B. M., & Holditch-Davis, D. (2008). Risk factors for NEC in preterm infants: how race, gender and health status contribute. *Advances in neonatal care: official journal of the National Association of Neonatal Nurses*, 8(5), 285.
33. Cekovic, J. R., Prodanovic, N. S., Mijailovic, S. S., Knezevic, S. M., Vuletic, B. P., Stojkovic, A. K., ... & Simovic, A. M. (2022). The perinatal factors that influence the excretion of fecal calprotectin in premature-born children. *Open Medicine*, 17(1), 1275-1281.
34. Christensen, R. D., Lambert, D. K., Gordon, P. V., Baer, V. L., Gerday, E., & Henry, E. (2012). Neonates presenting with bloody stools and eosinophilia can progress to two different types of necrotizing enterocolitis. *Journal of Perinatology*, 32(11), 874-879.
35. Claud, E. C., & Walker, W. A. (2008). Bacterial colonization, probiotics, and necrotizing enterocolitis. *Journal of clinical gastroenterology*, 42, S46-S52.

36. Collado, M. C., Cernada, M., Neu, J., Pérez-Martínez, G., Gormaz, M., & Vento, M. (2015). Factors influencing gastrointestinal tract and microbiota immune interaction in preterm infants. *Pediatric research*, 77(6), 726-731.
37. Costa, F., Mumolo, M. G., Bellini, M. A., Romano, M. R., Ceccarelli, L., Arpe, P., ... & Maltinti, G. (2003). Role of faecal calprotectin as non-invasive marker of intestinal inflammation. *Digestive and Liver Disease*, 35(9), 642-647.
38. Costa, S., Patti, M. L., Perri, A., Cocca, C., Pinna, G., Tirone, C., ... & Vento, G. (2020). Effect of different milk diet on the level of fecal calprotectin in very preterm infants. *Frontiers in Pediatrics*, 8, 552.
39. Costeloe, K., Bowler, U., Brocklehurst, P., Hardy, P., Heal, P., Juszczak, E., ... & Millar, M. (2016). A randomised controlled trial of the probiotic *Bifidobacterium breve* BBG-001 in preterm babies to prevent sepsis, necrotising enterocolitis and death: the Probiotics in Preterm infantS (PiPS) trial. *Health technology assessment*, 20(66).
40. Cotten, C. M. (2016). Adverse consequences of neonatal antibiotic exposure. *Current opinion in pediatrics*, 28(2), 141-149.
41. Cristofalo, E. A., Schanler, R. J., Blanco, C. L., Sullivan, S., Trawoeger, R., Kiechl-Kohlendorfer, U., ... & Abrams, S. (2013). Randomized trial of exclusive human milk versus preterm formula diets in extremely premature infants. *The Journal of pediatrics*, 163(6), 1592-1595.
42. Cummins, A. G., Eglinton, B. A., Gonzalez, A., & Robertson, D. M. (1994). Immune activation during infancy in healthy humans. *Journal of clinical immunology*, 14, 107-115.
43. Davidson, F., & Lock, R. J. (2017). Paediatric reference ranges for faecal calprotectin: a UK study. *Annals of Clinical Biochemistry*, 54(2), 214-218.
44. Desfrere, L., de Oliveira, I., Goffinet, F., El Ayoubi, M., Firtion, G., Bavoux, F., ... & Moriette, G. (2005). Increased incidence of necrotizing enterocolitis in premature infants born to HIV-positive mothers. *Aids*, 19(14), 1487-1493.
45. Devos, D., Lebouvier, T., Lardeux, B., Biraud, M., Rouaud, T., Pouclet, H., ... & Derkinderen, P. (2013). Colonic inflammation in Parkinson's disease. *Neurobiology of disease*, 50, 42-48.
46. Dorosko, S. M., MacKenzie, T., & Connor, R. I. (2008). Fecal calprotectin concentrations are higher in exclusively breastfed infants compared to those who are mixed-fed. *Breastfeeding Medicine*, 3(2), 117-119.
47. Dubowitz, L. M., Dubowitz, V., & Goldberg, C. (1970). Clinical assessment of gestational age in the newborn infant. *The Journal of pediatrics*, 77(1), 1-10.

48. Dumitrescu, L., Marta, D., Dănaŭ, A., Lefter, A., Tulbă, D., Cozma, L., ... & Popescu, B. O. (2021). Serum and fecal markers of intestinal inflammation and intestinal barrier permeability are elevated in Parkinson's disease. *Frontiers in Neuroscience*, 15, 738.
49. Dunlop, S. P., Jenkins, D., & Spiller, R. C. (2004). Age-related decline in rectal mucosal lymphocytes and mast cells. *European journal of gastroenterology & hepatology*, 16(10), 1011-1015.
50. Eicher, C., Seitz, G., Bevot, A., Moll, M., Goelz, R., Arand, J., ... & Fuchs, J. (2012). Surgical management of extremely low birth weight infants with neonatal bowel perforation: a single-center experience and a review of the literature. *Neonatology*, 101(4), 285-292.
51. El Frargy, M. S., & Hassan, A. M. (2014). The Effect of probiotics supplementation on fecal calprotectin as an early marker of neonatal enteropathy. *J Am Sci*, 10, 209-13.
52. Emad, Y., Ragab, Y., Hammam, N., El-Shaarawy, N., Fawzi, M., Amer, A., ... & Rasker, J. J. (2022). The clinical utility of faecal calprotectin in patients with differentiated and undifferentiated spondyloarthritis: Relevance and clinical implications. *Reumatologia clinica*, 18(2), 69-76.
53. Ercalik, C., Baskaya, M. C., Ozdem, S., & Butun, B. (2021). Investigation of asymptomatic intestinal inflammation in ankylosing spondylitis by fecal calprotectin. *Arab Journal of Gastroenterology*, 22(4), 272-277.
54. Esatoglu, S. N., Hatemi, I., Ozguler, Y., Hatemi, G., Uzun, H., Celik, A. F., & Yazici, H. (2018). Faecal but not serum calprotectin levels look promising in predicting active disease in Behçet's syndrome patients with gastrointestinal involvement. *Clin Exp Rheumatol*, 36(6 Suppl 115), 90-6.
55. Ezri, J., & Nydegger, A. (2011). Pediatrics. Fecal calprotectin in children: use and interpretation. *Revue Medicale Suisse*, 7(277), 69-70.
56. Fagerberg, U. L., Lööf, L., Merzoug, R. D., Hansson, L. O., & Finkel, Y. (2003). Fecal calprotectin levels in healthy children studied with an improved assay. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 37(4), 468-472.
57. Gazim, C. C., Borba, A. A. D., Castro, G. K. P. D., Simioni, J., Gehlen, M. L., Ramos Júnior, O., & Skare, T. L. (2022). Fecal calprotectin levels in acute anterior uveitis in patients with spondyloarthritis. *Arquivos Brasileiros de Oftalmologia*, 86, 33-37.
58. Gephart, M. S. M., McGrath, J. M., Effken, J. A., & Halpern, M. D. (2012). Necrotizing enterocolitis risk: state of the science. *Advances in Neonatal Care*, 12(2), 77.
59. Ghidini, A., Espada, R. A., & Spong, C. Y. (2001). Does exposure to magnesium sulfate in utero decrease the risk of necrotizing enterocolitis in premature infants?. *Acta obstetricia et gynecologica Scandinavica*, 80(2), 126-129.

60. Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of nutrition*, 125(6), 1401-1412.
61. Gisbert, J. P., & McNicholl, A. G. (2009). Questions and answers on the role of faecal calprotectin as a biological marker in inflammatory bowel disease. *Digestive and Liver Disease*, 41(1), 56-66.
62. Goodman, B. E. (2010). Insights into digestion and absorption of major nutrients in humans. *Advances in physiology education*, 34(2), 44-53.
63. Gordon, P. V., & Swanson, J. R. (2014). Necrotizing enterocolitis is one disease with many origins and potential C.B.s of prevention. *Pathophysiology*, 21(1), 13-19.
64. Gosain, A., Frykman, P. K., Cowles, R. A., Horton, J., Levitt, M., Rothstein, D. H., ... & American Pediatric Surgical Association Hirschsprung Disease Interest Group. (2017). Guidelines for the diagnosis and management of Hirschsprung-associated enterocolitis. *Pediatric surgery international*, 33, 517-521.
65. Gracey E, Vereecke L, McGovern D, Fröhling M, Schett G, Danese S, De Vos M, Van den Bosch F, Elewaut D. Revisiting the gut-joint axis: links between gut inflammation and spondyloarthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2020 Aug;16(8):415-433.
66. Grave, G. D., Nelson, S. A., Walker, W. A., Moss, R. L., Dvorak, B., Hamilton, F. A., ... & Raju, T. N. (2007). New therapies and preventive approaches for necrotizing enterocolitis: report of a research planning workshop. *Pediatric research*, 62(4), 510-514.
67. Gregory, K. E. (2008). Clinical predictors of necrotizing enterocolitis in premature infants. *Nursing research*, 57(4), 260-270.
68. Groer, M., Ashmeade, T., Louis-Jacques, A., Beckstead, J., & Ji, M. (2016). Relationships of feeding and mother's own milk with fecal calprotectin levels in preterm infants. *Breastfeeding Medicine*, 11(4), 207-212.
69. Guillet, R., Stoll, B. J., Cotten, C. M., Gantz, M., McDonald, S., Poole, W. K., ... & members of the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. (2006). Association of H2-blocker therapy and higher incidence of necrotizing enterocolitis in very low birth weight infants. *Pediatrics*, 117(2), e137-e142.
70. Günaydın Şahin, B. S., Keskindemirci, G., Özden, T. A., Durmaz, Ö., & Gökçay, G. (2020). Faecal calprotectin levels during the first year of life in healthy children. *Journal of Paediatrics and Child Health*, 56(11), 1806-1811.
71. Haidmayer, A., Bosch, P., Lackner, A., D'Orazio, M., Fessler, J., & Stradner, M. H. (2020). Effects of Probiotic Strains on Disease Activity and Enteric Permeability in Psoriatic Arthritis—A Pilot Open-Label Study. *Nutrients*, 12(8), 2337.

72. Hand, I. L., Noble, L., McVeigh, T. J., Kim, M., & Yoon, J. J. (2001). The effects of intrauterine cocaine exposure on the respiratory status of the very low birth weight infant. *Journal of Perinatology*, 21(6), 372-375.
73. Henderson, P., Anderson, N. H., & Wilson, D. C. (2014). The diagnostic accuracy of fecal calprotectin during the investigation of suspected pediatric inflammatory bowel disease: a systematic review and meta-analysis. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*, 109(5), 637-645.
74. Ho, T. T., Groer, M. W., Kane, B., Yee, A. L., Torres, B. A., Gilbert, J. A., & Maheshwari, A. (2019). Enteric dysbiosis and fecal calprotectin expression in premature infants. *Pediatric research*, 85(3), 361-368.
75. Holman, R. C., Stoll, B. J., Curns, A. T., Yorita, K. L., Steiner, C. A., & Schonberger, L. B. (2006). Necrotising enterocolitis hospitalisations among neonates in the United States. *Paediatric and perinatal epidemiology*, 20(6), 498-506.
76. Holtman, G. A., Lisman-van Leeuwen, Y., Kollen, B. J., Norbruis, O. F., Escher, J. C., Kindermann, A., ... & Berger, M. Y. (2016). Diagnostic accuracy of fecal calprotectin for pediatric inflammatory bowel disease in primary care: a prospective cohort study. *The Annals of Family Medicine*, 14(5), 437-445.
77. Hor, J. W., Lim, S. Y., Khor, E. S., Chong, K. K., Song, S. L., Ibrahim, N. M., ... & Tan, A. H. (2022). Fecal calprotectin in Parkinson's disease and multiple system atrophy. *Journal of movement disorders*, 15(2), 106.
78. Horvath, I., Jia, X., Johansson, P., Wang, C., Moskalenko, R., Steinau, A., ... & Morozova-Roche, L. A. (2016). Pro-inflammatory S100A9 protein as a robust biomarker differentiating early stages of cognitive impairment in Alzheimer's disease. *ACS chemical neuroscience*, 7(1), 34-39.
79. Hsueh, W., Caplan, M. S., Qu, X. W., Tan, X. D., De Plaen, I. G., & Gonzalez-Crussi, F. (2003). Neonatal necrotizing enterocolitis: clinical considerations and pathogenetic concepts. *Pediatric and Developmental Pathology*, 6, 6-23.
80. Hull, M. A., Fisher, J. G., Gutierrez, I. M., Jones, B. A., Kang, K. H., Kenny, M., ... & Jaksic, T. (2014). Mortality and management of surgical necrotizing enterocolitis in very low birth weight neonates: a prospective cohort study. *Journal of the American College of Surgeons*, 218(6), 1148-1155.
81. Husebye, E., Tøn, H., & Johne, B. (2001). Biological variability of fecal calprotectin in patients referred for colonoscopy without colonic inflammation or neoplasm. *The American journal of gastroenterology*, 96(9), 2683-2687.
82. Hwang, J. B., Song, J. Y., Kang, Y. N., Kim, S. P., Suh, S. I., Kam, S., & Choi, W. J. (2008). The significance of gastric juice analysis for a positive challenge by a standard

- oral challenge test in typical cow's milk protein-induced enterocolitis. *Journal of Korean medical science*, 23(2), 251-255.
83. Jang, H. J., Park, J. H., Kim, C. S., Lee, S. L., & Lee, W. M. (2018). Amino acid-based formula in premature infants with feeding intolerance: comparison of fecal calprotectin level. *Pediatric Gastroenterology, Hepatology & Nutrition*, 21(3), 189-195.
 84. Jauréguy, F., Carton, M., Panel, P., Foucaud, P., Butel, M. J., & Doucet-Populaire, F. (2004). Effects of intrapartum penicillin prophylaxis on intestinal bacterial colonization in infants. *Journal of clinical microbiology*, 42(11), 5184-5188.
 85. Jeong, S. J. (2019). The role of fecal calprotectin in pediatric disease. *Korean journal of pediatrics*, 62(8), 287.
 86. Jones, S. E., & Versalovic, J. (2009). Probiotic *Lactobacillus reuteri* biofilms produce antimicrobial and anti-inflammatory factors. *BMC microbiology*, 9(1), 1-9.
 87. Josefsson, S., Bunn, S. K., & Domellöf, M. (2007). Fecal calprotectin in very low birth weight infants. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 44(4), 407-413.
 88. Josephson, C. D., Wesolowski, A., Bao, G., Sola-Visner, M. C., Dudell, G., Castillejo, M. I., ... & Maheshwari, A. (2010). Do red cell transfusions increase the risk of necrotizing enterocolitis in premature infants?. *The Journal of pediatrics*, 157(6), 972-978.
 89. Joshi, S., Lewis, S. J., Creanor, S., & Ayling, R. M. (2010). Age-related faecal calprotectin, lactoferrin and tumour M2-PK concentrations in healthy volunteers. *Annals of Clinical Biochemistry*, 47(3), 259-263.
 90. Julsgaard, M., Hvas, C. L., Gearry, R. B., Vestergaard, T., Fallingborg, J., Svenningsen, L., ... & Bell, S. J. (2017). Fecal calprotectin is not affected by pregnancy: clinical implications for the management of pregnant patients with inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases*, 23(7), 1240-1246.
 91. Jung, J. H., & Park, S. H. (2020). Correlation between fecal calprotectin levels in meconium and vitamin D levels in cord blood: association with intestinal distress. *Journal of Clinical Medicine*, 9(12), 4089.
 92. Kamoji, V. M., Dorling, J. S., Manktelow, B., Draper, E. S., & Field, D. J. (2008). Antenatal umbilical Doppler abnormalities: an independent risk factor for early onset neonatal necrotizing enterocolitis in premature infants. *Acta paediatrica*, 97(3), 327-331.
 93. Kang, K. Y., Park, S. H., & Hong, Y. S. (2020). Relationship between faecal calprotectin and inflammation in peripheral joints and entheses in axial spondyloarthritis. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 49(5), 397-404.

94. Kapel, N., Campeotto, F., Kalach, N., Baldassare, M., Butel, M. J., & Dupont, C. (2010). Faecal calprotectin in term and preterm neonates. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 51(5), 542-547.
95. Khan, Z., Morris, N., Unterrainer, H., Haiden, N., Holasek, S. J., & Urlesberger, B. (2018). Effect of standardized feeding protocol on nutrient supply and postnatal growth of preterm infants: a prospective study. *Journal of Neonatal-Perinatal Medicine*, 11(1), 11-19.
96. Kim, J. H. (2019). Role of abdominal US in diagnosis of NEC. *Clinics in Perinatology*, 46(1), 119-127.
97. Klingberg, E., Carlsten, H., Hilme, E., Hedberg, M., & Forsblad-d'Elia, H. (2012). Calprotectin in ankylosing spondylitis—frequently elevated in feces, but normal in serum. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 47(4), 435-444.
98. Konikoff, M. R., & Denson, L. A. (2006). Role of fecal calprotectin as a biomarker of intestinal inflammation in inflammatory bowel disease. *Inflammatory bowel diseases*, 12(6), 524-534.
99. Koninckx, C. R., Donat, E., Benninga, M. A., Broekaert, I. J., Gottrand, F., Kolho, K. L., ... & Thapar, N. (2021). The use of fecal calprotectin testing in paediatric disorders: a position paper of the European Society for Paediatric Gastroenterology and Nutrition Gastroenterology Committee. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 72(4), 617-640.
100. La Rosa, P. S., Warner, B. B., Zhou, Y., Weinstock, G. M., Sodergren, E., Hall-Moore, C. M., ... & Tarr, P. I. (2014). Patterned progression of bacterial populations in the premature infant gut. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(34), 12522-12527.
101. Laforgia, N., Baldassarre, M. E., Pontrelli, G., Indrio, F., Altomare, M. A., Di Bitonto, G., & Mautone, A. (2003). Calprotectin levels in meconium. *Acta Paediatrica*, 92(4), 463-466.
102. Lau, C. S., & Chamberlain, R. S. (2015). Probiotic administration can prevent necrotizing enterocolitis in preterm infants: a meta-analysis. *Journal of pediatric surgery*, 50(8), 1405-1412.
103. Lazzarotto, E. S., Vasco, J. F. D. M., Führ, F., Riedi, C. A., & Rosário Filho, N. A. (2023). Systematic review on fecal calprotectin in cystic fibrosis. *Jornal de Pediatria*, 99, 04-10.
104. Leblhuber, F., Geisler, S., Steiner, K., Fuchs, D., & Schütz, B. (2015). Elevated fecal calprotectin in patients with Alzheimer's dementia indicates leaky gut. *Journal of neural transmission*, 122, 1319-1322.

105. Lee, Y. M., Min, C. Y., Choi, Y. J., & Jeong, S. J. (2017). Delivery and feeding mode affects fecal calprotectin levels in infants < 7 months old. *Early Human Development*, 108, 45-48.
106. Lendvai-Emmert, D., Emmert, V., Makai, A., Fusz, K., Prémusz, V., Eklics, K., ... & Tóth, G. (2022). Fecal calprotectin levels in pediatric cow's milk protein allergy. *Frontiers in Pediatrics*, 10, 945212.
107. Lenfestey, M. W., de la Cruz, D., & Neu, J. (2018). Food protein–induced enterocolitis instead of necrotizing enterocolitis? A neonatal intensive care unit case series. *The Journal of Pediatrics*, 200, 270-273.
108. Levy, O. (2007). Innate immunity of the newborn: basic mechanisms and clinical correlates. *Nature Reviews Immunology*, 7(5), 379-390.
109. Li, F., Ma, J., Geng, S., Wang, J., Liu, J., Zhang, J., & Sheng, X. (2015). Fecal calprotectin concentrations in healthy children aged 1-18 months. *PLoS One*, 10(3), e0119574.
110. Li, N., Li, Z., Ye, R., Zhu, Y., Li, S., Yang, N., ... & Ren, A. (2016). Preconception blood pressure and risk of preterm birth: a large cohort study in China. *Journal of Hypertension*, 34(11), 2243-2247.
111. Li, X., Yu, D., Wang, Y., Yuan, H., Ning, X., Rui, B., ... & Li, M. (2021). The intestinal dysbiosis of mothers with gestational diabetes mellitus (GDM) and its impact on the gut microbiota of their newborns. *The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology= Journal Canadien des Maladies Infectieuses et de la Microbiologie Médicale*, 2021.
112. Lin, P. W., & Stoll, B. J. (2006). Necrotising enterocolitis. *The Lancet*, 368(9543), 1271-1283.
113. Lisowska-Myjak, B., & Zytynska-Daniluk, J. (2015). Changes in physiology and pathophysiology of calprotectin excretion from neonate to adult. *Journal of Molecular Biomarkers & Diagnosis*, 6(3), 1.
114. Lisowska-Myjak, B., Skarżyńska, E., & Żytyńska-Daniluk, J. (2018). Calprotectin in serially collected meconium portions as a biomarker for intrauterine fetal environment. *Fetal diagnosis and therapy*, 43(1), 68-71.
115. Liu, L., Wang, H., Chen, X., & Xie, P. (2023). Gut microbiota: A new insight into neurological diseases. *Chinese Medical Journal*, 136(11), 1261-1277.
116. Lohmuller, J. L., Pemberton, J. H., Dozois, R. R., Ilstrup, D., & Van Heerden, J. (1990). Pouchitis and extraintestinal manifestations of inflammatory bowel disease after ileal pouch-anal anastomosis. *Annals of surgery*, 211(5), 622.
117. Łoniewska, B., Węgrzyn, D., Adamek, K., Kaczmarczyk, M., Skonieczna-Żydecka, K., Adler, G., ... & Łoniewski, I. (2019). The influence of maternal-foetal parameters on

- concentrations of zonulin and calprotectin in the blood and stool of healthy newborns during the first seven days of life. An observational prospective cohort study. *Journal of Clinical Medicine*, 8(4), 473.
118. Lopez, R. N., Leach, S. T., Lemberg, D. A., Duvoisin, G., Gearry, R. B., & Day, A. S. (2017). Fecal biomarkers in inflammatory bowel disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 32(3), 577-582.
 119. Ma, Y., Fan, D., Xu, S., Deng, J., Gao, X., Guan, S., & Pan, F. (2020). Calprotectin in spondyloarthritis: a systematic review and meta-analysis. *International Immunopharmacology*, 88, 106948.
 120. MacQueen, B. C., Christensen, R. D., Yost, C. C., Gordon, P. V., Baer, V. L., Schlaberg, R., & Lowe, J. (2018). Reference intervals for stool calprotectin in preterm neonates and their utility for the diagnosis of necrotizing enterocolitis. *Journal of Perinatology*, 38(10), 1379-1385.
 121. MacQueen, B. C., Christensen, R. D., Yost, C. C., Lambert, D. K., Baer, V. L., Sheffield, M. J., ... & Shepherd, J. G. (2016). Elevated fecal calprotectin levels during necrotizing enterocolitis are associated with activated neutrophils extruding neutrophil extracellular traps. *Journal of perinatology*, 36(10), 862-869.
 122. Madland, T. M., Björkkjaer, T., Brunborg, L. A., Frøyland, L., Berstad, A., & Brun, J. G. (2006). Subjective improvement in patients with psoriatic arthritis after short-term oral treatment with seal oil. A pilot study with double blind comparison to soy oil. *The Journal of Rheumatology*, 33(2), 307-310.
 123. Manogura, A. C., Turan, O., Kush, M. L., Berg, C., Bhide, A., Turan, S., ... & Baschat, A. A. (2008). Predictors of necrotizing enterocolitis in preterm growth-restricted neonates. *American journal of obstetrics and gynecology*, 198(6), 638-e1.
 124. McElhinney, D. B., Hedrick, H. L., Bush, D. M., Pereira, G. R., Stafford, P. W., Gaynor, J. W., ... & Wernovsky, G. (2000). Necrotizing enterocolitis in neonates with congenital heart disease: risk factors and outcomes. *Pediatrics*, 106(5), 1080-1087.
 125. Mehall, J. R., Kite, C. A., Saltzman, D. A., Wallett, T., Jackson, R. J., & Smith, S. D. (2002). Prospective study of the incidence and complications of bacterial contamination of enteral feeding in neonates. *Journal of pediatric surgery*, 37(8), 1177-1182.
 126. Miceli Sopo, S., Gelsomino, M., Rivetti, S., & Del Vescovo, E. (2019). Food protein-induced enterocolitis syndrome: proposals for new definitions. *Medicina*, 55(6), 216.
 127. Mihatsch, W. A., Högel, J., & Pohlandt, F. (2001). Hydrolysed protein accelerates the gastrointestinal transport of formula in preterm infants. *Acta Paediatrica*, 90(2), 196-198.
 128. Mohan, R., Koebnick, C., Schildt, J., Mueller, M., Radke, M., & Blaut, M. (2008). Effects of *Bifidobacterium lactis* Bb12 supplementation on body weight, fecal pH,

- acetate, lactate, calprotectin, and IgA in preterm infants. *Pediatric research*, 64(4), 418-422.
129. Mori, A., Mitsuyama, K., Sakemi, R., Yoshioka, S., Fukunaga, S., Kuwaki, K., ... & Torimura, T. (2019). Evaluation of serum calprotectin levels in patients with inflammatory bowel disease. *The Kurume medical journal*, 66(4), 209-215.
 130. Moussa, R., Khashana, A., Kamel, N., & Elsharqawy, S. E. (2016). Fecal calprotectin levels in preterm infants with and without feeding intolerance. *Jornal de Pediatria*, 92, 486-492.
 131. Mussap, M., Noto, A., Cibecchini, F., & Fanos, V. (2013, February). The importance of biomarkers in neonatology. In *Seminars in fetal and neonatal medicine* (Vol. 18, No. 1, pp. 56-64). WB Saunders.
 132. Nakayuenyongsuk, W., Christofferson, M., Stevenson, D. K., Sylvester, K., Lee, H. C., & Park, K. T. (2018). Point-of-care fecal calprotectin monitoring in preterm infants at risk for necrotizing enterocolitis. *The Journal of pediatrics*, 196, 98-103.
 133. Neu, J. (2007). Gastrointestinal maturation and implications for infant feeding. *Early human development*, 83(12), 767-775.
 134. Neu, J. (2020). Necrotizing enterocolitis: the future. *Neonatology*, 117(2), 240-244.
 135. Neu, J., & Pammi, M. (2017, February). Pathogenesis of NEC: impact of an altered intestinal microbiome. In *Seminars in perinatology* (Vol. 41, No. 1, pp. 29-35). WB Saunders.
 136. Neu, J., Modi, N., & Caplan, M. (2018, December). Necrotizing enterocolitis comes in different forms: Historical perspectives and defining the disease. In *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine* (Vol. 23, No. 6, pp. 370-373). WB Saunders.
 137. Neu, J., Mshvildadze, M., & Mai, V. (2008). A roadmap for understanding and preventing necrotizing enterocolitis. *Current gastroenterology reports*, 10(5), 450-457.
 138. Nissen, A. C., van Gils, C. E., Menheere, P. P., Van den Neucker, A. M., van der Hoeven, M. A., & Forget, P. P. (2004). Fecal calprotectin in healthy term and preterm infants. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 38(1), 107-108.
 139. Obladen, M. (2009). Necrotizing enterocolitis—150 years of fruitless search for the cause. *Neonatology*, 96(4), 203-210.
 140. Ofek Shlomai, N., Deshpande, G., Rao, S., & Patole, S. (2013). Probiotics for preterm neonates: what will it take to change clinical practice?. *Neonatology*, 105(1), 64-70.
 141. Ogunyemi, D., Murillo, M., Jackson, U., Hunter, N., & Alperson, B. (2003). The relationship between placental histopathology findings and perinatal outcome in preterm infants. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, 13(2), 102-109.

142. Ohlsson A, Walia R, Shah S. Ibuprofen for the treatment of patent ductus arteriosus in preterm and/or low birthweight infants. *Cochrane Database Syst Rev.* 2010;(4):CD003481
143. Olafsdottir, E., Aksnes, L., Fluge, G., & Berstad, A. (2002). Faecal calprotectin levels in infants with infantile colic, healthy infants, children with inflammatory bowel disease, children with recurrent abdominal pain and healthy children. *Acta Paediatrica*, 91(1), 45-50.
144. Oliveira, F. R., Barros, E. G., & Magalhaes, J. A. (2002). Biochemical profile of amniotic fluid for the assessment of fetal and renal development. *Brazilian journal of medical and biological research*, 35, 215-222.
145. Olofsson, T., Lindqvist, E., Mogard, E., Andréasson, K., Marsal, J., Geijer, M., ... & Wallman, J. K. (2019). Elevated faecal calprotectin is linked to worse disease status in axial spondyloarthritis: results from the SPARTAKUS cohort. *Rheumatology*, 58(7), 1176-1187.
146. Orivuori, L., Mustonen, K., De Goffau, M. C., Hakala, S., Paasela, M., Roudit, C., ... & PASTURE Study Group. (2015). High level of fecal calprotectin at age 2 months as a marker of intestinal inflammation predicts atopic dermatitis and asthma by age 6. *Clinical & experimental allergy*, 45(5), 928-939.
147. Ostlie, D. J., Spilde, T. L., St Peter, S. D., Sexton, N., Miller, K. A., Sharp, R. J., ... & Snyder, C. L. (2003). Necrotizing enterocolitis in full-term infants. *Journal of pediatric surgery*, 38(7), 1039-1042.
148. Özşeker, B., Şahin, C., Özşeker, H. S., Efe, S. C., Kav, T., & Bayraktar, Y. (2016). The role of fecal calprotectin in evaluating intestinal involvement of Behçet's disease. *Disease markers*, 2016.
149. Panczuk, J. K., Unger, S., Francis, J., Bando, N., Kiss, A., & O'Connor, D. L. (2016). Introduction of bovine-based nutrient fortifier and gastrointestinal inflammation in very low birth weight infants as measured by fecal calprotectin. *Breastfeeding Medicine*, 11(1), 2-5.
150. Paquette, L., Friedlich, P., Ramanathan, R., & Seri, I. (2006). Concurrent use of indomethacin and dexamethasone increases the risk of spontaneous intestinal perforation in very low birth weight neonates. *Journal of perinatology*, 26(8), 486-492.
151. Park, J. S., Cho, J. Y., Oh, S. H., Do, H. J., Seo, J. H., Park, C. H., & Youn, H. S. (2019). Changes of Fecal Calprotectin and Related Clinical Factor in Neonates. *Gut & Liver*, 13.
152. Patel, R. M., & Underwood, M. A. (2018, February). Probiotics and necrotizing enterocolitis. In *Seminars in pediatric surgery* (Vol. 27, No. 1, pp. 39-46). WB Saunders.

153. Pathirana, W. G. W., Chubb, S. P., Gillett, M. J., & Vasikaran, S. D. (2018). Faecal calprotectin. *The Clinical Biochemist Reviews*, 39(3), 77.
154. Poullis, A., Foster, R., Shetty, A., Fagerhol, M. K., & Mendall, M. A. (2004). Bowel inflammation as measured by fecal calprotectin: a link between lifestyle factors and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 13(2), 279-284.
155. Pumberger, W., Mayr, M., Kohlhauser, C., & Weninger, M. (2002). Spontaneous localized intestinal perforation in very-low-birth-weight infants:: a distinct clinical entity different from necrotizing enterocolitis. *Journal of the American College of Surgeons*, 195(6), 796-803.
156. Qu, Y., Xu, W., Han, J., Zhou, W., & Wu, H. (2020). Diagnostic value of fecal calprotectin in necrotizing enterocolitis: a meta-analysis. *Early human development*, 151, 105170.
157. Radulescu, L., Ferechide, D., & Popa, F. (2013). The importance of fetal gender in intrauterine growth restriction. *Journal of Medicine & Life*, 6(1).
158. Raimondi, F., Crivaro, V., Capasso, L., Maiuri, L., Santoro, P., Tucci, M., ... & Paludetto, R. (2006). Unconjugated bilirubin modulates the intestinal epithelial barrier function in a human-derived in vitro model. *Pediatric research*, 60(1), 30-33.
159. Raimondi, F., Spera, A. M., Sellitto, M., Landolfo, F., & Capasso, L. (2012). Amino Acid-based Formula as a Rescue Strategy in Feeding Very-Low-Birth-Weight Infants With Intrauterine Growth Restriction. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 54(5), 608-612.
160. Rendon, A., & Schäkel, K. (2019). Psoriasis pathogenesis and treatment. *International journal of molecular sciences*, 20(6), 1475.
161. Røseth, A. G. (2003). Determination of faecal calprotectin, a novel marker of organic gastrointestinal disorders. *Digestive and liver disease*, 35(9), 607-609.
162. Røseth, A. G., Fagerhol, M. K., Aadland, E., & Schjønsby, H. (1992). Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces: a methodologic study. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 27(9), 793-798.
163. Roth-Schulze, A. J., Penno, M. A., Ngui, K. M., Oakey, H., Bandala-Sanchez, E., Smith, A. D., ... & ENDIA Study Group. (2021). Type 1 diabetes in pregnancy is associated with distinct changes in the composition and function of the gut microbiome. *Microbiome*, 9, 1-21.
164. Rougé, C., Butel, M. J., Piloquet, H., Ferraris, L., Legrand, A., Vodovar, M., ... & Rozé, J. C. (2010). Fecal calprotectin excretion in preterm infants during the neonatal period. *PLoS One*, 5(6), e11083.

165. Rugtveit, J., & Fagerhol, M. K. (2002). Age-dependent variations in fecal calprotectin concentrations in children. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 34(3), 323.
166. Saigal, S., & Doyle, L. W. (2008). An overview of mortality and sequelae of preterm birth from infancy to adulthood. *The Lancet*, 371(9608), 261-269.
167. Sandborn, W. J. (1994). Pouchitis following heal pouch-anal anastomosis: definition, pathogenesis, and treatment. *Gastroenterology*, 107(6), 1856-1860.
168. Saviano, A., Candelli, M., Zanza, C., Piccioni, A., Migneco, A., & Ojetti, V. (2022). Gastrointestinal Involvement in Extra-Digestive Disease: Which Is the Role of Fecal Calprotectin?. *Medicina*, 58(10), 1384.
169. Savino, F., Castagno, E., Calabrese, R., Viola, S., Oggero, R., & Miniero, R. (2010). High faecal calprotectin levels in healthy, exclusively breast-fed infants. *Neonatology*, 97(4), 299-304.
170. Schmid, K. O., & Quaiser, K. (1953). Über eine besonders schwer verlaufende Form von Enteritis beim Säugling. *Österreichische Zeitschrift für Kinderchirurgie*, 8, 114.
171. Schwiertz, A., Spiegel, J., Dillmann, U., Grundmann, D., Bürmann, J., Faßbender, K., ... & Unger, M. M. (2018). Fecal markers of intestinal inflammation and intestinal permeability are elevated in Parkinson's disease. *Parkinsonism & related disorders*, 50, 104-107.
172. Seo, S., Ahn, S. H., Ri, S., Yoon, Y., Byeon, J. H., Kim, S. H., ... & Yoo, Y. (2018). Elevated fecal calprotectin levels are associated with severity of atopic dermatitis in children. *Asian Pac J Allergy Immunol*, 36(2), 82-87.
173. Sharma, D., Shastri, S., & Sharma, P. (2016). Intrauterine growth restriction: antenatal and postnatal aspects. *Clinical Medicine Insights: Pediatrics*, 10, CMPed-S40070.
174. Shenoy, M. T., Shenoy, K. T., Roseth, A., Geir, L., & Keshavamurthy, S. R. (2014). Diagnostic utility of fecal calprotectin as a biomarker of gut inflammation in neonates to predict necrotizing enterocolitis: a prospective study. *Indian Journal of Child Health*, 99-104.
175. Sikora, M., Stec, A., Chrabaszcz, M., Giebultowicz, J., Samborowska, E., Jazwiec, R., ... & Rudnicka, L. (2021). Clinical implications of intestinal barrier damage in psoriasis. *Journal of Inflammation Research*, 14, 237.
176. Silverman, W. A., & Andersen, D. H. (1956). A controlled clinical trial of effects of water mist on obstructive respiratory signs, death rate and necropsy findings among premature infants. *Pediatrics*, 17(1), 1-10.
177. Sommermeyer, H., Bernatek, M., Pszczola, M., Krauss, H., & Piatek, J. (2022). Supporting the diagnosis of infantile colic by a point of care measurement of fecal calprotectin. *Frontiers in Pediatrics*, 10, 978545.

178. Song, J. Y., Lee, Y. M., Choi, Y. J., & Jeong, S. J. (2017). Fecal calprotectin level in healthy children aged less than 4 years in South Korea. *Journal of clinical laboratory analysis*, 31(6), e22113.
179. Spinner, J. A., Morris, S. A., Nandi, D., Costarino, A. T., Marino, B. S., Rossano, J. W., & Shamszad, P. (2020). Necrotizing enterocolitis and associated mortality in neonates with congenital heart disease: a multi-institutional study. *Pediatric Critical Care Medicine*, 21(3), 228-234.
180. Stenger, M. R., Reber, K. M., Giannone, P. J., & Nankervis, C. A. (2011). Probiotics and prebiotics for the prevention of necrotizing enterocolitis. *Current infectious disease reports*, 13, 13-20.
181. Stey, A., Barnert, E. S., Tseng, C. H., Keeler, E., Needleman, J., Leng, M., ... & Shew, S. B. (2015). Outcomes and costs of surgical treatments of necrotizing enterocolitis. *Pediatrics*, 135(5), e1190-e1197.
182. Stolzenberg, E., Berry, D., Yang, D. E., Lee, E. Y., Kroemer, A., Kaufman, S., ... & Zasloff, M. A. (2017). A role for neuronal alpha-synuclein in gastrointestinal immunity. *Journal of innate immunity*, 9(5), 456-463.
183. Stout, G., Lambert, D. K., Baer, V. L., Gordon, P. V., Henry, E., Wiedmeier, S. E., ... & Christensen, R. D. (2008). Necrotizing enterocolitis during the first week of life: a multicentered case-control and cohort comparison study. *Journal of Perinatology*, 28(8), 556-560.
184. Stríž, I., & Trebichavský, I. (2004). Calprotectin—a pleiotropic molecule in acute and chronic inflammation. *Physiol Res*, 53, 245-253.
185. Sturgeon, C., & Fasano, A. (2016). Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue barriers*, 4(4), e1251384.
186. Sullivan, S., Schanler, R. J., Kim, J. H., Patel, A. L., Trawöger, R., Kiechl-Kohlendorfer, U., ... & Lucas, A. (2010). An exclusively human milk-based diet is associated with a lower rate of necrotizing enterocolitis than a diet of human milk and bovine milk-based products. *The Journal of pediatrics*, 156(4), 562-567.
187. Tashiro, J., Wagenaar, A. E., Perez, E. A., & Sola, J. E. (2017). Peritoneal drainage is associated with higher survival rates for necrotizing enterocolitis in premature, extremely low birth weight infants. *Journal of surgical research*, 218, 132-138.
188. Tepas III, J. J., Sharma, R., Hudak, M. L., Garrison, R. D., & Pieper, P. (2006). Coming full circle: an evidence-based definition of the timing and type of surgical management of very low-birth-weight (< 1000 g) infants with signs of acute intestinal perforation. *Journal of pediatric surgery*, 41(2), 418-422.

189. Terrin, G., Stronati, L., Cucchiara, S., & De Curtis, M. (2017). Serum markers of necrotizing enterocolitis: a systematic review. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 65(6), e120-e132.
190. Thompson, A. M., & Bizzarro, M. J. (2008). Necrotizing enterocolitis in newborns: pathogenesis, prevention and management. *Drugs*, 68, 1227-1238.
191. Thuijls, G., Derikx, J. P., van Wijck, K., Zimmermann, L. J., Degraeuwe, P. L., Mulder, T. L., ... & Heineman, E. (2010). Non-invasive markers for early diagnosis and determination of the severity of necrotizing enterocolitis. *Annals of surgery*, 251(6), 1174-1180.
192. Tibble, J. A., Sigthorsson, G., Foster, R., Scott, D., Fagerhol, M. K., Roseth, A., & Bjarnason, I. (1999). High prevalence of NSAID enteropathy as shown by a simple faecal test. *Gut*, 45(3), 362-366.
193. Underwood, M. A., Umberger, E., & Patel, R. M. (2020). Safety and efficacy of probiotic administration to preterm infants: ten common questions. *Pediatric research*, 88(Suppl 1), 48-55.
194. Van Belkum, M., Mendoza Alvarez, L., & Neu, J. (2020). Preterm neonatal immunology at the intestinal interface. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 77, 1209-1227.
195. Van den Akker, C. H. P., van Goudoever, J. B., Szajewska, H., Embleton, N. D., Hojsak, I., Reid, D., & Shamir, R. (2018). ESPGHAN working Group for Probiotics, Prebiotics & Committee on nutrition. Probiotics for preterm infants: a strain-specific systematic review and network meta-analysis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 67(1), 103-22.
196. Van Elburg, R. M., Fetter, W. P. F., Bunkers, C. M., & Heymans, H. S. A. (2003). Intestinal permeability in relation to birth weight and gestational and postnatal age. *Archives of Disease in Childhood-Fetal and Neonatal Edition*, 88(1), F52-F55.
197. Van Rheenen, P. F., Van de Vijver, E., & Fidler, V. (2010). Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis. *Bmj*, 341.
198. van Zoonen, A. G., Hulzebos, C. V., Kobold, A. C. M., Kooi, E. M., Bos, A. F., & Hulscher, J. B. (2019). Serial fecal calprotectin in the prediction of necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Journal of Pediatric Surgery*, 54(3), 455-459.
199. Vaos, G., Kostakis, I. D., Zavras, N., & Chatzemichael, A. (2013). The role of calprotectin in pediatric disease. *BioMed research international*, 2013.
200. Von Roon, A. C., Karamountzos, L., Purkayastha, S., Reese, G. E., Darzi, A. W., Teare, J. P., ... & Tekkis, P. P. (2007). Diagnostic precision of fecal calprotectin for inflammatory bowel disease and colorectal malignancy. *Official journal of the American College of Gastroenterology| ACG*, 102(4), 803-813.

201. Vongbhavit, K., & Underwood, M. A. (2017). Intestinal perforation in the premature infant. *Journal of Neonatal-Perinatal Medicine*, 10(3), 281-289.
202. Walker, W. A. (1979, January). Gastrointestinal host defence: importance of gut closure in control of macromolecular transport. In *Ciba Foundation Symposium 70-Development of Mammalian Absorptive Processes* (Vol. 70, pp. 201-219). Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd..
203. Walsham, N. E., & Sherwood, R. A. (2016). Fecal calprotectin in inflammatory bowel disease. *Clinical and experimental gastroenterology*, 21-29.
204. Waugh, N., Cummins, E., Royle, P., Kandala, N. B., Shyangdan, D., Arasaradnam, R., ... & Johnston, R. (2013). Faecal calprotectin testing for differentiating amongst inflammatory and non-inflammatory bowel diseases: systematic review and economic evaluation. *Health technology assessment* (Winchester, England), 17(55), xv-xix.
205. Worthington, P., Balint, J., Bechtold, M., Bingham, A., Chan, L. N., Durfee, S., ... & Holcombe, B. (2017). When is parenteral nutrition appropriate?. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 41(3), 324-377.
206. Yang, Q., Smith, P. B., Goldberg, R. N., & Cotten, C. M. (2008). Dynamic change of fecal calprotectin in very low birth weight infants during the first month of life. *Neonatology*, 94(4), 267-271.
207. Yang, Y., Guo, Y., Kan, Q., Zhou, X. G., Zhou, X. Y., & Li, Y. (2014). A meta-analysis of probiotics for preventing necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Brazilian journal of medical and biological research*, 47, 804-810.
208. Yee, W. H., Soraisham, A. S., Shah, V. S., Aziz, K., Yoon, W., Lee, S. K., & Canadian Neonatal Network. (2012). Incidence and timing of presentation of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Pediatrics*, 129(2), e298-e304.
209. Yoon, J. M., Park, J. Y., Ko, K. O., Lim, J. W., Cheon, E. J., & Kim, H. J. (2014). Fecal calprotectin concentration in neonatal necrotizing enterocolitis. *Korean Journal of Pediatrics*, 57(8), 351.
210. Yost, C. C., Schwertz, H., Cody, M. J., Wallace, J. A., Campbell, R. A., Vieira-de-Abreu, A., ... & Zimmerman, G. A. (2016). Neonatal NET-inhibitory factor and related peptides inhibit neutrophil extracellular trap formation. *The Journal of clinical investigation*, 126(10), 3783-3798.
211. Zamir, O., Goldberg, M., Udassin, R., Peleg, O., Nissan, S., & Eyal, F. (1988). Idiopathic gastrointestinal perforation in the neonate. *Journal of pediatric surgery*, 23(4), 335-337.
212. Zhang, J., Villar, J., Sun, W., Merialdi, M., Abdel-Aleem, H., Mathai, M., ... & Carroli, G. (2007). Blood pressure dynamics during pregnancy and spontaneous preterm birth. *American journal of obstetrics and gynecology*, 197(2), 162-e1.

213. Zoppelli, L., Güttel, C., Bittrich, H. J., Andréé, C., Wirth, S., & Jenke, A. (2012). Fecal calprotectin concentrations in premature infants have a lower limit and show postnatal and gestational age dependence. *Neonatology*, 102(1), 68-74.

8.0 ПРИЛОГ

8.1 Скраћенице

ASCA	-	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> антитела
AUROC	-	Површина испод ROC криве
ахСпА	-	Аксијални анкилозирајући спондилитис
IQR	-	интерквартилни распон
M2-ПК	-	тумор маркер M2-пируват киназе
АД	-	Атопијски дерматитис
АС	-	Анкилозирајући спондилитис
АС	-	Аргаг скор
ББ	-	Behçetova болест
БМИ	-	Индекс телесне масе
г.н.-	-	гестацијска недеља
ГИТ	-	Гастроинтестинални тракт
ГС	-	Гестацијска старост
ГС	-	Гестацијска старост
ДАП	-	Проходан duktus arteriozus
ДМГ	-	<i>dijabetes melitus</i>
ЕЛИСА	-	Ензимско имуносорбентни тест
ИБЦ	-	Инфламаторне болести црева
ИУЗР	-	интаутерусни застој у расту
ЛИНН	-	јединица интензивне неге новорођенчади
ККС	-	Комплетна крвна слика
МВ	-	Механичка вентилација
МСА	-	Мултисистемска атрофија
НЕК	-	Некротични ентероколитис
ПА	-	Перинатална асфиксија
ПБ	-	Паркинсонова болест
ППД	-	Примарна перитонеална дренажа
ПРОМ	-	Превремено прснуће плодових овојака
ПсА	-	Псоријатични артритис
ПТМ	-	Телесна маса при рођењу
ПЦТ	-	Прокалцитонин

РА	-	Реуматоидни артритис
РДС	-	респираторни дистрес синдром
С.В.	-	Средња вредност
С.Д.	-	Стандардна девијација
СЕИПХ	-	Синдром Ентероколитиса Изазваног Протеинском Храном
СИП	-	Спонтане интестиналне перфорације
СИРС	-	Синдром системског инфламаторног одговора
СКТ	-	Случајна контролисана испитивања
СпА	-	Спондилоартропатија
ТМ	-	Телесна маса
УК	-	Улцерозни колитис
УКЦ	-	Универзитетски клинички центар
ФКП	-	Фекални калпротектин
хзДА	-	duktus arteriosus
хзДАП	-	хемодинамски значајан пролазан дуктус артериозус
ХИВ	-	хумани вирус имунодефицијенције
ЦРП	-	Ц-реактивни протеин
ЦФ	-	Цистична фиброза

8.2 Биографски подаци аутора

Рођена 25.04.1986. године у Крагујевцу. Медицинску школу завршила у Крагујевцу са одличним успехом. Медицински факултет у Крагујевцу уписала школске 2005/2006. Дипломирала у новембру 2011. године, са просечном оценом 9,03 и тиме стекла звање доктора медицине. Волонтирала на Клиници за хематологију, КЦ Крагујевац од фебруара 2013. до августа 2014. Године. Као клинички лекар радила у одељењу неонатологије ГАК, КЦ крагујевац од августа 2014. до јануара 2017. године. Од октобра 2017. године стално запослена у Центру за неонатологију, Клинике за педијатрију, КЦ Крагујевац. Специјализацију из педијатрије уписала школске 2018/2019. године, на Факултету медицинских наука у Крагујевцу, коју је завршила са одличном оценом у јуну 2022. године. Докторске академске студије, (смер хумана репродукција и развој) уписала 2013.године. Усмени докторски испит положила 2016. године. Тема докторске дисертације, под називом: „Клинички значај одређивања концентрације фекалног калпротектина код превремено рођене деце“ прихваћена је 18.11.2020.године (одлука бр: IV-03-830/6). Едуковала се 2016. године за ултразвучну дијагностику развојних поремећаја кука. Члан је лекарске коморе. Од школсе 2023/24. године фацитатор је на предметима из уже научне области Педијатрија на Факултету медицинских наука Универзитета у Крагујевцу. Сарадник је на пројекту Јуниор пројекат број 09\22 "Утицај перинаталних фактора и биолошки активних супстанци на излучивање фекалног калпротектина", где је гавни истраживач проф. др Александра Симовић. Аутор је 7 радова, (у 4 први аутор), а рад категорије М22 је директно проистекао из докторске дисертације, чиме је стекла услов за одбрану докторске дисертације.

9.3 Презентовани и објављени радови

1. **Cekovic J**, Prodanovic N, Mijailovic S, Knezevic S, Vuletic B, Stojkovic A, Savic D, Prodanovic T, Stanojevic M. and Simovic A. The perinatal factors that influence the excretion of fecal calprotectin in premature-born children. Open Medicine 2022; 17 (1): 1275-1281. <https://doi.org/10.1515/med-2022-0522>. **M22 IF 2,199**
2. Prodanovic T, Petrovic Savic S, Prodanovic N, Simovic A, Zivojinovic S, **Cekovic Djordjevic J**, Savic D, Advanced Diagnostics of Respiratory Distress Syndrome in Premature Infants Treated with Surfactant and Budesonide through Computer-Assisted Chest X-ray Analysis. Diagnostics 2024, 14(2), 214; <https://doi.org/10.3390/diagnostics14020214>. **M22 IF 3,7**
3. Prodanovic T, Petrovic Savic S, **Cekovic J**, Savic D, Simovic A Segmentation of lung radiography of a preterm infant with respiratory distress syndrome. Twelfth international medical congress, Migration of Yung Doctros The Continues Medical Education of Doctors, 6-10 September, Techanloniki Greece (2023). **M34**

ИЗЈАВА АУТОРА О ОРИГИНАЛНОСТИ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Изјављујем да докторска дисертација под насловом:

„Клинички значај одређивања концентрације фекалног калпротекина код превремено рођене деце“ представља *оригинално ауторско дело* настало као резултат *сопственог истраживачког рада*.

Овом Изјавом такође потврђујем:

- да сам *једини аутор* наведене докторске дисертације,
- да у наведеној докторској дисертацији *нисам извршио/ла повреду* ауторског нити другог права интелектуалне својине других лица,

У Крагујевцу, 12.12.2023. године,


др Јелена Цековић Борђевић, спец мед.

Образац 2

**ИЗЈАВА АУТОРА О ИСТОВЕТНОСТИ ШТАМПАНЕ И ЕЛЕКТРОНСКЕ ВЕРЗИЈЕ
ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ**

Изјављујем да су штампана и електронска верзија докторске дисертације под насловом:
„Клинички значај одређивања концентрације фекалног калпротектина код превремено
рођене деце“ истоветне.

У Крагујевцу, 12.12.2023. године,


др Јелена Цековић Ђорђевић, спец мед.

ИЗЈАВА АУТОРА О ИСКОРИШЋАВАЊУ ДОКТОРСКЕ ДИСЕРТАЦИЈЕ

Ја, _____ др Јелена Цековић Ђорђевић, спец. мед. _____,

дозвољавам

не дозвољавам

Универзитетској библиотеци у Крагујевцу да начини два трајна умножена примерка у електронској форми докторске дисертације под насловом:

„Клинички значај одређивања концентрације фекалног калпротектина код превремено рођене деце“ и то у целини, као и да по један примерак тако умножене докторске дисертације учини трајно доступним јавности путем дигиталног репозиторијума Универзитета у Крагујевцу и централног репозиторијума надлежног министарства, тако да припадници јавности могу начинити трајне умножене примерке у електронској форми наведене докторске дисертације путем *преузимања*.

Овом Изјавом такође

дозвољавам

не дозвољавам¹

припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од следећих *Creative Commons* лиценци:

¹ Уколико аутор изабере да не дозволи припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци, то не искључује право припадника јавности да наведену докторску дисертацију користе у складу са одредбама Закона о ауторском и сродним правима.

- 1) Ауторство
- 2) Ауторство - делити под истим условима
- 3) Ауторство - без прерада
- 4) Ауторство - некомерцијално
- 5) Ауторство - некомерцијално - делити под истим условима
- 6) Ауторство - некомерцијално - без прерада²**

У Крагујевцу, 12.12.2023. године,


др Јелена Цековић Ђорђевић, спец мед.

² Молимо ауторе који су изабрали да дозволе припадницима јавности да тако доступну докторску дисертацију користе под условима утврђеним једном од *Creative Commons* лиценци да заокруже једну од понуђених лиценци. Детаљан садржај наведених лиценци доступан је на: <http://creativecommons.org.rs/>