

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„IULIU HAȚIEGANU” CLUJ-NAPOCA



TEZĂ DE DOCTORAT

- rezumat -

**IMPORTANȚA DETERMINĂRII ANTICORPILOR
ANTITRANSGLUTAMINAZĂ ȘI ANTIGLIADINĂ ÎN
BOALA CELIACĂ LA COPIL**

Teste de imunofluorescență și biologie moleculară

Doctorand

Samașca Gabriel

Conducător științific

Prof.Univ.Dr.Doru Dejica

2011

CUPRINS

..... pag.	
INTRODUCERE	1
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII	2
EXPLORAREA DE LABORATOR A BOLII CELIACE	3
Anticorpilor antiigliadină nativă.....	3
Anticorpilor antiendomisiu.....	8
Anticorpilor antitransglutaminază tisulară.....	13
Anticorpilor antiigliadină deamidată.....	19
Tipizarea moleculelor HLA.....	23
CONTRIBUȚII ORIGINALE	28
CAPITOLUL 1. DIAGNOSTICUL SEROLOGIC	29
1.1. Investigații de laborator de actualitate, anticorpilor antiigliadină deamidată.....	29
1.2. Anticorpilor antitransglutaminază tisulară, prima linie în diagnosticul bolii celiace.....	40
1.3. Dificultăți în diagnosticul bolii celiace la copil.....	50
CAPITOLUL 2. TIPIZAREA MOLECULELOR HLA	55
2.1. Importanța determinării HLA în prevenirea limfomului intestinal.....	55
2.2. Noi haplotipuri în boala celiacă la copil.....	64
2.3. Antigeni de histocompatibilitate cu risc în boala celiacă la copil.....	74
CAPITOLUL 3. EVALUAREA GRUPELOR DE RISC: DIABETUL ZAHARAT TIP 1	82
3.1. Markerii prognostici nefavorabili în asocierea diabet zaharat tip 1-boala celiacă.....	82
3.2. Prevalența anticorpilor antitransglutaminază tisulară la copiii cu diabet zaharat tip 1.....	87
CAPITOLUL 4. DERMATITA HERPETIFORMĂ	99
4.1. Boli rare: dermatita herpetiformă – descriere, diagnostic de laborator.....	99
4.2. Dermatita herpetiformă – explorare imunologică.....	104
CAPITOLUL 5. MANIFESTĂRI BIOCHIMICE ÎN BOALA CELIACĂ	109
5.1. Statusul nutrițional biochimic la copiii cu boală celiacă.....	109
CAPITOLUL 6. MANIFESTĂRI ALERGOLOGICE ÎN BOALA CELIACĂ	122
6.1. Răspunsul imun IgE-mediat în boala celiacă la copil.....	122
CAPITOLUL 7. ASOCIERI VIRALE ÎN BOALA CELIACĂ	128
7.1. Adenovirusuri în boala celiacă la copil.....	128
7.2. Asocierea bolii celiace cu hepatita cronică virală C.....	136
CAPITOLUL 8. ASOCIERI IMUNOLOGICE ALE BOLII CELIACE	138
8.1. Anticorpilor anti-F-actină în boala celiacă și dermatita herpetiformă.....	138
8.2. Boala celiacă în imunodeficiența comună variabilă (prezentare de caz).....	146
CAPITOLUL 9. EDUCAȚIE PENTRU SĂNĂTATE	152
9.1. Importanța educației în evoluția bolii celiace.....	152
CONCLUZII	162
BIBLIOGRAFIE	170

Cuvinte cheie: analiză complexă, teste de diagnostic, boala celiacă, copil

INTRODUCERE

Ultimul Consens în Boala Celiacă din anul 2008 desfășurat sub egida Societății Europene de Gastroenterologie, Hepatologie și Nutriție Pediatrică împreună cu Societatea Nord Americană de Gastroenterologie, Hepatologie și Nutriție Pediatrică releva următoarele: „Boala celiacă este o enteropatie cronică mediată imun, caracterizată prin sensibilizarea la gluten. Aceasta poate afecta orice organ sau sistem, având o gamă largă de manifestări clinice de severitate variabilă”. Astfel, în ultimii ani, tabloul clinic al bolii celiace s-a schimbat, *vechea paradigmă* - boală a intestinului subțire cu atrofie vilozitară și malnutriție, fiind înlocuită cu *noua paradigmă* – boală autoimună multi-organ, afectând tot mai multe organe și sisteme dar cu simptome mai puțin specifice, care nediagnosticate duc la întârzierea diagnosticului, la un debut tardiv al bolii și la complicații majore pe termen lung ca riscul unui cancer. În concordanță cu schimbarea tabloului clinic al bolii celiace, diagnosticul acesteia a suferit modificări importante în ultimii ani.

SCOPUL STUDIULUI

Pomind de la aceste constatări, scopul studiului nostru a fost de a face o analiză complexă a bolii celiace, având ca domeniu de cercetare evaluarea unui procedeu de diagnostic. Astfel am făcut o punere la punct a ceea ce este vechi și nou în diagnosticul bolii celiace. Performanțele testelor serologice au fost analizate în boala celiacă, în grupele de risc ale bolii celiace, diabetul zaharat tip 1, în manifestările particulare ale bolii celiace, dermatita herpetiformă dar și în manifestările și asocierile biochimice, alergologice, virale și imunologice ale bolii celiace. Noile teste, dozarea anticorpilor antigliadină deamidată și tipizarea moleculelor HLA în boala celiacă la copil sunt noutăți pentru țara noastră aducând originalitate tezei de față. De asemenea, studii asupra importanței regimului fără gluten în evoluția bolii celiace în cadrul familiilor copiilor cu boală celiacă nu au fost efectuate în țara noastră.

MATERIAL ȘI METODĂ

- **LOTUL DE CERCETARE** - copii proveniți din Centrul regional pentru managementul bolii celiace Cluj, organizat în structura Spitalului Clinic de Urgență pentru Copii Cluj-Napoca, Clinica II Pediatrie, conform *Hotărârii Guvernului nr. 168/2005 privind organizarea și funcționarea Ministerului Sănătății*, pentru județele: Cluj, Satu Mare, Maramureș, Bihor, Sălaj, Bistrița, Mureș, Harghita, Covasna, Brașov, Sibiu, Alba.

- **INFRASTRUCTURA DE CERCETARE**

- 1.Laboratorul de Analize Medicale, Departamentul de Virusologie și Imunologie Clinică, Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii Cluj-Napoca - testări ELISA, testări imunofluorescență indirectă, extracția ADN.
- 2.Laboratorul de Cercetare și Granturi, Clinica de Dermatologie Cluj-Napoca - testări imunofluorescență directă.
- 3.Centrul de Imunogenetică și Virusologie, Institutul Clinic Fundeni București - testări *polymerase chain reaction* (PCR) – determinări HLA.

CERCETĂRI PERSONALE

Capitolul 1. DIAGNOSTICUL SEROLOGIC

1.1. Investigații de laborator de actualitate, anticorpii antigliadină deamidată

Studiul nostru a fost axat doar pe pacienți de vârstă pediatrică și a avut următoarele obiective: 1. Cuantificarea asocierii dintre anticorpii antigliadină deamidată și boala celiacă; 2. Evaluarea analitică observațională a calităților testului, cu axare pe grupele mici de vârstă și pe deficitul în imunoglobulina IgA, unde există deficiențe ale testelor serologice uzuale și anume ale IgA tTG și IgA EMA. Lotul nostru a cuprins un eșantion reprezentativ de 102 pacienți, testați serologic pentru boala celiacă. Distribuția pe sexe a lotului a fost: 54 % băieți și 46 % fete. Pacienții au fost împărțiți în trei grupe de vârstă: 0-3 ani; 3-10 ani și 10-18 ani. Testarea a cuprins determinarea panelului serologic: IgA tTG, IgA EMA, IgA+IgG DGP și imunoglobulina A totală.

Concluzii

1. Testarea ELISA a IgA+IgG DGP deschide noi căi în diagnosticul bolii celiace fiind un test util ca marker serologic la grupa de vârstă 0-3 ani în screeningul bolii celiace; sensibilitate 80 % (CI 95 % 28,3-99,4), și în același timp și al deficitului imunoglobulinei A (corelații la 11 pacienți). 2. Testul prezintă o valoare diagnostică de precizie ridicată, respectiv valori ridicate ale specificității testului, la toate grupele de vârstă ale copilului. 3. Din datele obținute putem însă conchide că testul nu este util în monitorizarea terapiei de excludere a glutenului la pacienții cu boală celiacă. 4. Procentul mare de 45 % al testelor serologice pozitive la bolnavii cu boală celiacă confirmată demonstrează necesitatea extinderii programelor de educație pentru sănătate în sensul respectării regimului fără gluten în rândul adolescenților cu boală celiacă.

1.2. Anticorpii antitransglutaminază tisulară, prima linie în diagnosticul bolii celiace

Pomind de la aspectele relevate am dorit să evaluăm activitatea IgA tTG în boala celiacă precum și în bolile asociate acesteia la copii, având ca standard de aur IgA EMA. Lotul de studiu a fost format din 890 pacienți. Distribuția pe sexe a fost: 45 % băieți și 55 % fete. Din totalul pacienților investigați 123 pacienți au fost cu diagnostic de boală celiacă confirmată, aflați sub regim fără gluten și 767 pacienți au fost cu semne clinice și suspiciune de boală celiacă. Testarea a cuprins determinarea IgA tTG și IgA EMA.

Concluzii

1. IgA anticorpii antitransglutaminază tisulară reprezintă un marker important pentru screeningul bolii celiace, Se 77,3 % (CI 95 % 68,3-84,6), și în monitorizarea regimului fără gluten la copii cu această boală, Se 94,6 % (CI 95 % 82,6-99). 2. Datorită valorii predictive pozitive scăzute a acestora, 55,3 % (CI 95 % 48,8-60,5), rezultatele trebuie confirmate cu o altă metodă de diagnostic, ca test de confirmare. 3. Testul prezintă o

valoare diagnostică foarte ridicată în boala celiacă și în asocierile acesteia: în diabetul zaharat tip 1, malnutriția protein-calorică și malabsorbția intestinală, fapt demonstrat specificitatea mare a acestora.

Capitolul 2. TIPIZAREA MOLECULELOR HLA

2.2. Noi haplotipuri în boala celiacă la copil

Cu toate noile cuceriri ale științei, testele genetice sunt importante în diagnosticul bolii celiace. Odată cu dezvoltarea lor apar mereu noi variații genice ale HLA-DQ2/DQ8, dar și o serie de neconcordanțe ale acestora cu testele serologice și cu examenul histopatologic al biopsiei duodenale. Prezentăm în lucrare o serie de cazuri, care ilustrează această ultimă idee. Lotul studiat a cuprins un eșantion de 37 copii, diagnosticați cu boală celiacă. Distribuția pe sexe a lotului a fost: 10 băieți (27 %) și 27 fete (73 %). Testarea a cuprins determinarea serologică a IgA tTG, IgA EMA și determinarea prin polymerase chain reaction a antigenilor umani de histocompatibilitate (HLA).

Concluzii

1. Studiul demonstrează că în diagnosticul corect al bolii celiace trebuie să concureze toate testele serologice, genetice, precum și biopsia duodenală. 2. Studiul relevă, de asemenea, variabilitatea genotipică a haplotipurilor cu factor de risc pentru boala celiacă, confirmată prin tipizarea de haplotipuri cunoscute cu predominanța DQ2 (respectiv prezența pattern-urilor DR3-DQ2/-, DR3-DQ2/DR3-DQ2, DR3-DQ2/DR7-DQ2, DR5-DQ7/DR7-DQ2) la 22 pacienți (61 %) în timp ce DQ8 (respectiv prezența pattern-ului DR4-DQ8/-) a fost observată la 3 pacienți (8 %) dar și prin descoperirea de noi combinații de haplotipuri, 3 pacienți (8 %) au prezentat o combinație între pattern 1 și pattern 5, DR3-DQ2/DR4-DQ8. 3. Noile haplotipuri descoperite se prezintă ca haplotipuri heterozigote DR3-DQ2/DR4-DQ8 formate din pattern-ul 1 DR3-DQ2 - alelele DQA1*0501 și DQB1*0201 și pattern-ul 5 DR4-DQ8 - alelele DQA1*0301 și DQB1*0302.

Capitolul 3. EVALUAREA GRUPELOR DE RISC: DIABETUL ZAHARAT TIP 1

3.2. Prevalența anticorpilor antitransglutaminază tisulară la copii cu diabet zaharat tip

1

În acest studiu am avut ca obiectiv principal evaluarea testelor serologice imunoenzimatică utilizate în screeningul bolii celiace la pacienții cu diabet zaharat tip 1, respectiv IgA tTG, IgA+IgG DGP, IgA AGA și IgG AGA, utilizând ca „standard de aur” metoda imunofluorescenței indirecte, respectiv IgA EMA. Obiectivele secundare ale studiului au fost de a stabili corelații între valorile pozitive IgA tTG și vârsta de subiecților, precum și de a evalua diferențele IgA tTG între pacienții cu diabet zaharat fără complicații și cei cu diabetului zaharat cu alte manifestări. De asemenea, studiul a urmărit analiza diferențelor HbA1c la pacienții cu valori negative ale IgA tTG, cu valori sub 100 U/ml ale IgA tTG, și la pacienții cu IgA tTG valori mai mari de 100

U/ml. Lotul de cercetare a cuprins un eșantion de 119 de copii cu diabet zaharat tip 1 la care pe parcursul anului 2008-2009 am efectuat un studiu clinic analitic observațional, implicând testele serologice de screening specifice bolii celiace. Distribuția pe sexe a lotului a fost: 57 % băieți și 43 % fete. Menționăm că pentru eficientizarea economică screeningul bolii celiace s-a făcut cu IgA tTG, dozarea IgA EMA fiind făcută doar la cazurile suspecte iar celelalte teste serologice, IgA+IgG DGP, IgA AGA, IgG AGA au fost efectuate doar la pacienții pozitivi pentru unul sau amândouă din aceste teste.

Concluzii

1. Studiul prezintă o prevalență crescută, de 9,2 %, a IgA tTG la pacienții cu diabet zaharat de tip 1. 2. IgA tTG sunt un marker cu o specificitate crescută, Sp 82,6 % (95 % CI 69,9-91,7), 93,5 % VPN (95 % CI 82,1-98,6) în screeningul bolii celiace dar datorită valorii predictive pozitive scăzute, VPP 57,1 % (95 % CI 34-78,1) rezultatele trebuie confirmate cu IgA EMA. 3. IgA tTG sunt, de asemenea, un marker al evoluției nefavorabile a diabetului zaharat tip 1 asociat cu boala celiacă. 4. Rezultatele obținute arată nevoia pentru continuarea și extinderea programului de screening al bolii celiace la toți copii cu diabet zaharat tip 1.

Capitolul 4. DERMATITA HERPETIFORMĂ

4.1. Boli rare: dermatita herpetiformă – descriere, diagnostic de laborator

Conform Orphanet Journal of Rare Disease dermatita herpetiformă sau boala Duhring este încadrată în categoria bolilor rare cu o prevalență de 1:2000 și cu o cauză necunoscută. Ca atare ne-am axat pe două scopuri: 1. stabilirea profilului clinic al pacienților cu asocieri între enteropatia glutemică și dermatită herpetiformă; 2. stabilirea unui algoritm de lucru în diagnosticul de laborator. Lotul nostru a cuprins 10 pacienți în proporție egală bărbați: femei.

Concluzii

1. Datele clinice ne-au ajutat în stabilirea profilului clinic al bolii și anume: simptomatologia caracteristică a fost pruritul, vârsta de debut a bolii a fost variabilă iar la examenul local am constatat vezicule, crustă și eroziune. 2. IgA tTG au o înaltă sensibilitate (80 %) și specificitate (100 %), considerabil mai mare decât a AGA, au un valori apropiate cu EMA ($r=0,4925$) și nu necesită substrat animal. 3. Sensibilitatea și specificitatea IgA AGA (70 %, 100 %) este comparabilă cu a IgA tTG dar este nesemnificativă fiind lipsită de importanță în cazul IgG AGA (70 %, 87,5 %).

Capitolul 5. MANIFESTĂRI BIOCHIMICE ÎN BOALA CELIACĂ

5.1. Statusul nutrițional biochimic la copii cu boală celiacă

Studiul nostru a urmărit evaluarea biochimică a statusului nutrițional la pacienții cu boala celiacă diagnosticată și regim fără gluten comparativ cu pacienții cu boală celiacă diagnosticată recent. Au fost incluși

în studiu un număr de 39 copii diagnosticați cu boală celiacă prin examen histopatologic pe parcursul anului 2009. Lotul de studiu a fost analizat pe două grupuri distincte și anume: grupul A: n=28 pacienți aflați pe dietă restrictivă pentru gluten pe o durată de 1-3 ani; grupul B: n=11 pacienți nou diagnosticați, la care dieta glutenoprivă nu a fost încă inițiată în momentul includerii în studiu.

Concluzii

1. În cazul respectării dietei corelațiile care apar între factorul anticorpilor specifici, factorul afectare hepatică, factorul statusului nutrițional mineral și factorul anemic sunt normale ca și în cazul persoanelor sănătoase. La acești pacienți valorile parțial pozitive ale anticorpilor specifici denotă faptul că boala este parțial controlată. Există o bună corelație a acestora cu valorile aproape normale ale transaminazelor. De asemenea cu cât valorile anticorpilor specifici scad cresc cele ale hemoglobinei fapt ce denotă ameliorarea statusului nutrițional sub dieta fără gluten. 2. În cazul bolii celiace la debut am constatat dezechilibre între factorul anticorpilor specifici, factorul afectare hepatică combinat cu IgA+IgG anticorpii antigliadină deamidată și factorul anemic, respectiv valori crescute ale anticorpilor specifici care merg cu scăderea hemoglobinei.

Capitolul 6. MANIFESTĂRI ALERGOLOGICE ÎN BOALA CELIACĂ

6.1. Răspunsul imun IgE-mediat în boala celiacă la copil

Scopul lucrării noastre a fost de a prezenta prevalența răspunsului imun mediat IgE în boala celiacă la copil și pe baza observației clinice a doi pacienți de a prezenta câteva din caracteristicile paraclinice ale răspunsului imun IgE-mediat, precum și câțiva din principalii alergeni implicați în declanșarea acestuia. Lotul nostru a cuprins un eșantion reprezentativ de 28 pacienți diagnosticați cu boală celiacă, care au fost testați serologic pentru determinarea răspunsului imun mediat IgE pe parcursul anilor 2008 - 2009. Distribuția pe sexe a lotului a fost: 36 % băieți și 64 % fete. Testarea a cuprins determinarea IgE totale și la pacienții cu hiperreactivitate a IgE a principalilor alergeni implicați, respectiv a IgE specifice.

Concluzii

1. Prevalența răspunsului imun mediat IgE a fost de 28,5 %, respectiv la 8 pacienți, majoritatea de sex feminin, cu vârsta medie de apariție a manifestărilor atopice între 5-9 ani. 2. Un anumit grad de asociere între boala celiacă și manifestările atopice am evidențiat la pacienții cu hiperreactivitate a IgE la asocierea între IgE și anticorpii antitrasglutaminază tisulară $r=0,44$, dar cu un $p=0,27$ nesatisfăcător statistic, ca atare nu există o relație de asociere între manifestările atopice și boala celiacă. 3. Observațiile clinice prezentate scot în evidență existența răspunsul imun moderat și accentuat mediat IgE după regimul fără gluten, precum și caracterul familial al acestuia în boala celiacă iar dintre alergenii găsiți, implicați în declanșarea răspunsului imun IgE-mediat în boala celiacă, enumerăm: albușul, laptele, peștele și acarienii

Capitolul 7. ASOCIERI VIRALE ÎN BOALA CELIACĂ

7.1. Adenovirusuri în boala celiacă la copil

În România studii asupra implicării adenovirusului în patogeneza bolii celiace nu au fost efectuate. Scopul nostru a fost de a determina prezența IgA Ad, utilizat în mod uzual în laboratoarele clinice, în boala celiacă netratată și tratată la copil și de a căuta astfel o dovadă a implicării și a altor subtipuri de adenovirus în patogeneza bolii celiace. Lotul pe care s-a efectuat studiul a cuprins 80 de pacienți cu boală celiacă. Studiul s-a desfășurat pe parcursul anului 2010 iar probele au fost păstrate la -20 grade C până la testare. Pacienții au fost testați pentru evidențierea IgA Ad prin ELISA.

Concluzii

1. Acest studiu arată o prezență crescută 31,2 % a IgA Ad. 2. Se observă lipsa corelațiilor dintre faza activă a bolii celiace și adenovirusuri. 3. De asemenea studiul relevă și o relație de asociere semnificativă statistic ($p=0,002$) între IgA Ad și pacienții cu boala celiacă cu regim fără gluten, respectiv cu faza de regresie și vindecare a bolii celiace. 4. Lipsa semnelor clinice, respectiv a manifestărilor IgA Ad la pacienții cu valori ale IgA tTG < 100 U/ml, ne relevă faptul ca acesta ar putea fi folosit ca marker al exacerbărilor autoimune în cursul tratamentului fără gluten.

Capitolul 8. ASOCIERI IMUNOLOGICE ÎN BOALA CELIACĂ

8.1. Anticorpii anti-F-actină în boala celiacă și dermatita herpetiformă

În România studii asupra implicării AAA în boala celiacă la copil nu au fost efectuate. Pornind de la aspectele relevate, scopul nostru a fost de a prezenta prevalența AAA în boala celiacă și dermatita herpetiformă, cu evaluarea calitățile testului comparativ cu tTG având ca golden standard EMA. De asemenea am vrut să vedem dacă există o relație de asociere între aceste elemente. Lotul nostru a cuprins de 70 pacienți copii cu boală celiacă sub regim fără gluten și 10 pacienți adulți cu dermatită herpetiformă. Studiul s-a desfășurat pe parcursul anului 2010 iar probele au fost păstrate la -20 grade C până la testare. Pacienții au fost testați pentru determinarea serologică ELISA a IgG anticorpilor anti-F-actină (IgG AAA). Distribuția pe sexe a fost 35 % băieți și 65 % fete cu boală celiacă și 50 % bărbați și 50 % femei cu dermatită herpetiformă.

Concluzii

1. Evaluarea calităților IgG AAA comparativ cu IgA tTG având ca golden standard IgA EMA ne relevă următoarele valori Se 27.8 %, Sp 79.4 %, respectiv Se 88.9 %, Sp 79.4 % în boala celiacă și Se 33.3 %, Sp 100 % respectiv Se 100 %, Sp 100 % în dermatita herpetiformă, ceea ce arată că aceștia nu pot înlocui IgA tTG la copii cu boală celiacă și regim fără gluten și în dermatita herpetiformă la adulți. 2. Acest studiu arată o prevalență crescută 24,3 % și 30 % a IgG AAA în cele două boli, mai mult întâmplătoare și fără o relație de asociere semnificativă statistic cu acestea.

8.2.Boala celiacă în imunodeficiența comună variabilă (prezentare de caz)

Sindromul imunodeficienței comune variabile afectează în special adulți și rareori copii. Prognosticul pentru acești pacienți poate fi favorabil atunci când aceștea nu dezvoltă complicații cum ar fi bronșiectazii, boli autoimune sau boli maligne. Această lucrare prezintă observația clinică la o fetiță de 11 ani cu un nivel scăzut la toate clasele de imunoglobuline și frecvente infecții bacteriene, care este principala caracteristică a imunodeficienței variabile comune. Pacientul a prezentat primele simptome la vârsta de 8 ani și după aproximativ un an a fost diagnosticat cu bronșiectazii. După aproximativ 3 ani de urmărire clinică a prezentat dureri abdominale și hipotrofie ponderală. Biopsia a relevat un aspect duodenale sugestiv pentru tipul de boală celiacă Marsh 3C.

Concluzii

Sindromul imunodeficienței cronice, este o entitate care ar trebui să fie luată în considerare la pacienții cu infecții recurente. Atunci când este asociată cu hipotrofia ponderală marcată este o posibilă cauză de comorbiditate. Aspectul Marsh 3C al bolii celiace găsite la pacientul nostru nu a mai fost raportat în România.

Capitolul 9. EDUCAȚIE PENTRU SĂNĂTATE

9.1.Importanța educației în evoluția bolii celiace

Pomind de la aspectele relevate, studiul nostru a urmărit monitorizarea serologică a evoluției IgA tTG, respectiv a terapiei fără gluten, la copii diagnosticați cu boală celiacă în corelație cu instrucția școlară a părinților. Au fost luați în studiu 50 pacienți diagnosticați cu boală celiacă, înainte de anul 2008 și monitorizați apoi pentru respectarea regimului fără gluten pe o perioadă de 2 ani. Distribuția pe sexe a lotului a fost: 34 % băieți și 66 % fete. IgA tTG nu a fost utilizată în diagnosticul bolii celiace, aceasta fiind utilizată doar în monitorizarea terapiei fără gluten. Determinarea IgA tTG, s-a efectuat la intervale de 1 lună, 3 luni, 6 luni, 1 an și 2 ani.

Concluzii

1. În urma interviului clinic legat de nivelul de pregătire școlară a părinților, am constatat următoarele: 38 % dintre părinți au studii primare, 44 % dintre părinți au studii medii, iar 18 % dintre părinți au studii superioare. 2. Corelând aceste date cu evoluția IgA tTG la copii am observat următoarele: la copii provenind din părinți cu studii primare evoluția IgA tTG prezintă intermitențe, fără un ritm constant de descreștere; la copii provenind din părinți cu studii medii evoluția IgA tTG este în descreștere dar cu multe intermitențe, iar la copii provenind din părinți cu studii superioare evoluția IgA tTG este în descreștere fără intermitențe. 3. Rolul regimului fără gluten nu este pe deplin conștientizat în rândul familiilor copiilor cu boală celiacă. 4. Cu cât nivelul de educație al părinților copiilor cu boală celiacă este mai înalt, cu atât, evoluția bolii la copil, este mai bună fapt obiectivat prin nivelul în descreștere al IgA tTG. 5. Educația pentru sănătate în boala celiacă trebuie să rămână o prioritate atât pentru familie cât și pentru societate.



Curriculum vitae Europass

Informații personale

Nume / Prenume SAMAȘCA GABRIEL

Adresă(e) Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii, Clinica Pediatrie II, Laborator Centralizat Analize Medicale,
Departamentul de Virusologie și Imunologie, Str.Crișan Nr.3-5, 400177, Cluj-Napoca, România

Telefon(oane) : 0724825209

Naționalitate(-tăți) Română

E-mail(uri) samascagabriel@yahoo.com

Data nașterii 12 mai 1975

Experiența profesională

Perioada **1998-prezent (activitate de bază)**

Numele și adresa angajatorului Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii, str.Moșilor, nr.68

Tipul activității sau sectorul de activitate Clinica Pediatrie II (1998-2007, 2010-prezent), Clinica Pediatrie III (2007-2010),
Laborator Analize Medicale, Departamentul de Virusologie și Imunologie Clinică

Educație și formare

Perioada promoția 1993

Numele și tipul instituției de învățământ Grupul Școlar de Chimie Industrială "Terapia", Cluj-Napoca România
/ furnizorului de formare - specializarea laboranți analize fizico-chimice

Perioada promoția 2001

Numele și tipul instituției de învățământ Universitatea „Babeș-Bolyai” din Cluj-Napoca, România, FACULTATEA DE BIOLOGIE,
/ furnizorului de formare DIPLOMĂ DE LICENȚĂ, lucrare de licență: „Aspecte ale dinamicii trombocitelor în Purpura
trombocitopenică autoimună” – coordonator: Prof.Univ.Dr.Pavel Tudor

Perioada 2007-2008

Numele și tipul instituției de învățământ DIPLOMĂ DE MASTER, lucrare de dizertație: „Politici de sănătate publică în domeniul bolilor
/ furnizorului de formare transmisibile din perspectiva Pieței și Serviciilor Uniunii Europene; Cazul României” –
coordonator: deputat Prof.Univ.Dr.Vasile Pușcas

Perioada 2008-prezent

Numele și tipul instituției de învățământ Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, România, FACULTATEA
/ furnizorului de formare DE MEDICINĂ, Catedra de Imunologie, domeniul Medicină - doctorand cu tema: „Importanța
determinării anticorpilor antitransglutaminază și antiigliadină în boala celiacă la copil. Teste de
imunofluorescență și biologie moleculară”, îndrumător științific: prof.univ.dr.Doru Dejica,

Aptitudini și competențe personale

Limba(i) străină(e) cunoscută(e) **engleza**

Informații suplimentare

CURSURI DE PERFECTIONARE POSTUNIVERSITARĂ – Universitatea de Medicină și Farmacie, Cluj-Napoca, România

2005 - Elemente de bază în imunologia clinică, Catedra Medicală I

2006 - Actualități în virusologie, Catedra Microbiologie

2007 - Introducere în managementul serviciilor de sănătate, Catedra de Management Sanitar

2009 - Biotehnologii moleculare – aplicații medicale, Catedra de biochimie

Tradiție și modernitate în învățământul medical clujean interbelic, Catedra de Istoria Medicinii

2010 - Probleme în asistența medicală spitalicească și de ambulator a copilului, Catedra Pediatrie III

SPECIALIZĂRI ÎN STRĂINĂTATE

1.Biotest, HLA Antibody Diagnosis, Quickstep Application, HLA typing with SSP, Dreieich, Germany; November 6-10, 2006

2.DRG, Worldwide Diagnostic's Product and Marketing Training, Marburg, Germany; November 16-18, 2008

ACTIVITATEA ȘTIINȚIFICĂ ÎN DOMENIUL TEZEI DE DOCTORAT

A.ARTICOLE PUBLICATE IN EXTENSO

Articole indexate Thomson Reuters Web of Knowledge (fost ISI)

1. Samașca G, Iancu M, Butnariu A, Andreica M, Dejica D. Prevalența anticorpilor antitransglutaminază IgA la copii cu diabet zaharat tip I. Journal of Clinical Laboratory Analysis 2011; 25(3): 156-161 *factor de impact 0,87, scor relativ de influență 0,42.*
2. Samașca G, Iancu M, Pop T, Butnariu A, Andreica M, Miu N, Cristea V, Dejica D. Importanța mediului educațional în evoluția bolii celiace. LabMedicine 2011; [In press]. 11-02-LM-S-SR-0031 *factor de Impact 0,31, scor relativ de influență 0,09.*
3. Samașca G, Iancu M, Farcău D, Butnariu A, Pop T, Pîrvan A, Andreica M, Miu N, Cristea V, Dejica D. Anticorpii antitransglutaminază tisulară IgA, prima linie în diagnosticul bolii celiace. Clinical Laboratory 2011; 9+10: [In press]. 101205 *Factor de Impact 1,010.*
4. Samașca G, Iancu M, Butnariu A, Andreica M, Dejica D. Investigații paraclinice de actualitate în boala celiacă. Revista Română de Medicină de Laborator 2010; 18(2):43-51.
5. Samașca G, Cherecheș-Panța P, Fufezan O, Farcău D, Gheban D, Cristea V. Boala celiacă și Imunodeficiența variabilă. Revista Română de Medicină de Laborator 2011; 19(2): [In press].

Articole indexate BDI (Medline/Pubmed)

1. Samașca G, Iancu M, Butnariu A, Pîrvan A, Andreica M, Miu N, Constantinescu I, Dejica D. Controverse în diagnosticul de laborator al bolii celiace la copil. Noi haplotipuri descoperite. Romanian Archives of Microbiology and Immunology 2010; 69(3):119-124.
2. Samașca G, Băican A, Pop T, Pîrvan A, , Miu N, Andreica M, Cristea V, Dejica D. Anticorpii IgG-F-actină în boala celiacă și dermatita herpetiformă. Romanian Archives of Microbiology and Immunology 2010; 69(4):177-182.

Articole CNCS (B+)

1. Samașca G, Pîrvan A, Farcău D, Dejica D. Teste vechi și noi în boala celiacă la copil. Clujul Medical 2010; 83(4):584-587
2. Samașca G, Pîrvan A, Farcău D, Dejica D. Anticorpii antitransglutaminază tisulară. Revista Practica Medicală 2010; 5(2): 88-91.
3. Samașca G, Iancu M, Butnariu A, Andreica M, Constantinescu I, Dejica D. Importanța determinării antigenelor leucocitare umane în prevenția limfomului intestinal la pacienții cu boală celiacă. Analele științifice ale Universității „Alexandru Ioan Cuza” Iași, Secțiunea II a.Genetică și Biologie Moleculară 2010; 11(2,3): 81-87.
4. Samașca G, Iancu M, Butnariu A, Andreica M, Dejica D. Markeri prognostici nefavorabili în asocierea diabet zaharat tip I-boală celiacă. Acta Medica Transilvanica 2010; 2(1):66-68.
5. Samașca G, Nechit R, Ponta M, Iancu M, Butnariu A, Farcău D, Andreica M, Dejica D. Statusul nutrițional biochimic la copii cu boală celiacă. Clujul Medical 2010; 83(3):497-503.
6. Samașca G, Dejica D. Răspunsul imun IgE mediat în boala celiacă la copil. Revista Medicală Română 2010; 57(1): 66-69.
7. Samașca G, Burac L, Farcău D, Dejica D. Screeningul bolii celiace în hepatitele cronice virale C. Revista Română de Pediatrie 2010; 59(1): 49-50.
8. Samașca G, Bruchental M, Butnariu A, Pîrvan A, Andreica M, Cristea V, Dejica D. Dificultăți în diagnosticul bolii celiace. Maedica 2011; 6(1): 32-35.
9. Samașca G, Iancu M, Pîrvan A, Andreica M, Miu N, Constantinescu I, Cristea V, Dejica D. Antigeni de histocompatibilitate de risc în boala celiacă la copil. Clujul Medical 2011; 84(2): 269-273.
10. Samașca G, Pîrvan A, Miu N, Andreica M, Cristea V, Dejica D. Adenovirusuri în boala celiacă la copil. Revista Română de Boli Infecțioase 2011; 14(1): 5-9.

Articole CNCS (alta categorie)

1. Samașca G, Pîrvan A, Farcău D, Dejica D. Anticorpii antiendomisiu. Jurnalul medical arădean 2010; 13(2): 43-47.
2. Samașca G, Băican A, Dejica D, Miu N. Boli rare: dermatita herpetiformă. Descriere, diagnostic de laborator, rezultate de etapă. Revista de Medicină și Farmacie Orvosi des Gzozszereszeti Szemle 2009; 55(3): 300-302.
3. Samașca G, Băican A, Pîrvan A, Dejica D. Dermatita Herpetiformă. Revista Română de Laborator Medical 2009; 4(15): 23-27.

B.ARTICOLE PUBLICATE ÎN REZUMAT

În reviste internaționale

1. Samașca G, Pîrvan A, Miu N, Andreica M, Constantinescu I, Cristea V, Dejica D. Molecular diagnosis of celiac disease. European Journal of Microbiology&Immunology 2011; 1(2):136-137.
2. Samașca G, Pop T, Pîrvan A, Miu N, Andreica M, Băican A, Cristea V, Dejica D. IgG-F-actin antibodies in celiac disease and dermatitis herpetiformis. European Journal of Microbiology&Immunology 2011; 1(2):169-170.
3. Samașca G, Pîrvan A, Miu N, Andreica M, Matinca D, Cristea V, Dejica D. Adenoviruses in celiac disease in children. European Journal of Microbiology&Immunology 2011; 1(2):180.

În reviste naționale cotate ISI/ CNCSIS – 3 articole

În volumele unor manifestări științifice naționale – 7 articole

C.SIMPOZIOANE, CONFERINȚE, CONGRESE – prelegeri în plen

- 11 prezentări orale, 9 prezentări poster

MEMORIU DE ACTIVITATE ȘTIINȚIFICĂ

Subsemnatul SAMAȘCA GABRIEL mi-am început activitățile pentru realizarea tezei de doctorat în anul 2008 sub conducerea prof.univ.dr.DORU DEJICA, prof.univ.dr.Victor Cristea și a unor referenți de prestigiu în domeniul bolii celiace și anume prof.univ.dr.Nicolae Miu, conf.univ.dr.Lucia Slăvescu și actuala șefă a Clinicii Pediatrie II prof.univ.dr.Mariana Andreica. Activitatea de cercetare mi-am desfășurat-o în cadrul Laboratorului de analize medicale al Spitalului Clinic de Urgență pentru Copii Cluj-Napoca. Am beneficiat și de sprijinul d-nului șef de lucrări Alexandru Pîrvan, șeful grupului de lucru în boala celiacă din cadrul Societății Române de Gastroenterologie, Hepatologie și Nutriție Pediatrică. Nu în ultimul rând, în activitatea de cercetare m-au ajutat doi colegi deosebiți din cadrul Clinicii Pediatrie III și anume conf.univ.Angela Butnariu și conf.univ.Dorin Farcău. Partea de statistică a beneficiat de sprijinul d-nei as.univ.Iancu Mihaela, de la Catedra de Bioinformatică. Alți colaboratori au fost d-nul șef de lucrări Adrian Băican de la Clinica de Dermatologie Cluj-Napoca și d-na conf.univ.Ileana Constantinescu de la Departamentul de Diagnostic Biologie Moleculară, Imunologie, HLA și Virusologie al Universității de Medicină și Farmacie Carol Davila București.

Primul an de cercetare a avut ca studiu 3 teme de cercetare concretizate în lucrări prezentate în cadrul a 6 manifestări științifice naționale și anume: 1.Evaluarea unor procedee de diagnostic în boala celiacă – anticorpii antigliadină deamidată și anticorpii antitransglutaminază tisulară; 2.Dermatita herpetiformă și 3.Evaluarea grupelor de risc în boala celiacă – diabetul zaharat tip 1. Anul doi de cercetare a început cu prezentarea primelor rezultate ale cercetării din țara noastră în domeniul anticorpilor antigliadină deamidată, cea mai nouă achiziție în diagnosticul bolii celiace la copil, în cadrul zilelor UMF CLUJ 2009 și cu alte teme de cercetare concretizate în lucrări prezentate în cadrul a 3 manifestări științifice naționale și a unei competiții pentru tineri cercetători: 1.Asocieri virale în boala celiacă la copil; 2.Manifestări alergologice în boala celiacă; 3.Importanța factorilor genetici HLA în boala celiacă și 4.Educație pentru sănătate în boala celiacă subliniindu-se importanța mediului educațional în respectarea regimului fără gluten la copii cu boală celiacă. Anul trei de cercetare a început cu prezentarea rezultatelor primelor determinări HLA din țara noastră la copii cu boală celiacă din zona Clujului și zonele învecinate, în cadrul zilelor UMF CLUJ 2010 și cu alte teme de cercetare, Manifestări imunologice în boala celiacă, concretizate în o prezentare orală și 2 prezentări poster, lucrări prezentate în cadrul primei CONFERINȚE EUROPENE DE MICROBIOLOGIE ȘI IMUNOLOGIE de la Budapesta, 12-14.05.2011. Anul s-a încheiat cu finalizarea tezei de doctorat.

Rezultatele activității de cercetare s-au concretizat în 20 articole *in extenso* ca prim autor dintre care 5 articole ISI în reviste naționale și internaționale, *Journal of Clinical Laboratory Analysis factor de impact 0,87, scor relativ de influență 0,42*, *LabMedicine factor de Impact 0,31, scor relativ de influență 0,09*, *Clinical Laboratory factor de impact 1,010*, și *Revista Română de Medicină de Laborator*, 2 articole publicate în reviste indexate BDI Medline/Pubmed, *Romanian Archives of Microbiology and Immunology*, 10 articole publicate în reviste CNCSIS B+ (3 articole în revista *Clujul Medical*) și 3 articole publicate în reviste cu alte cotații. Și nu în ultimul rând mă bucură aprecierile și comentariile sitului american www.celiac.com legate de cercetările personale asupra diagnosticului molecular HLA în boala celiacă la copil, aprecieri disponibile la adresa: <http://www.celiac.com/articles/22555/1/Diagnosing-Celiac-Disease-is-Far-from-Straightforward/Page1.html>, precum și includerea mea în Comitetul Editorial al revistei americane *Pharmaceutica Analytica Acta*: <http://www.omicsonline.org/EditorialboardPAA.php>

**UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY
„IULIU HAȚIEGANU”, CLUJ-NAPOCA**



DOCTORAL THESIS

- abstract -

**IMPORTANCE OF DETERMINING
ANTITISSUETRANSGLUTAMINASE AND ANTIGLIADIN
ANTIBODIES IN CELIAC DISEASE IN CHILDREN
Immunofluorescence and molecular biology tests**

PhD Student

Samașca Gabriel

Scientific advisor

Professor Doru Dejica

2011

TABLE OF CONTENTS

.....	p.
INTRODUCTION	1
CURRENT KNOWLEDGE	2
LABORATORY EXPLORATION OF CELIAC DISEASE	3
Native antigliadin antibodies.....	3
Antiendomysium antibodies.....	8
Antitissue transglutaminase antibodies.....	13
Deamidated antigliadin antibodies.....	19
HLA molecular typing	23
ORIGINAL CONTRIBUTIONS	28
CHAPTER 1. SEROLOGICAL DIAGNOSIS	29
1.1.New Para-Clinical Investigations in celiac disease, deamidated antigliadin antibodies	29
1.2.Antitissue transglutaminase antibodies, first line in the diagnosis of celiac disease.....	40
1.3.Difficulties in Celiac Disease Diagnosis in children.....	50
CHAPTER 2. TIPIZAREA MOLECULELOR HLA	55
2.1.The importance of determining HLA in preventing intestinal lymphoma	55
2.2.New haplotypes in celiac disease in children	64
2.3.Histocompatibility risc antigens in celiac disease in children.....	74
CHAPTER 3. ASSESSMENT OF RISK GROUPS: TYPE 1 DIABETES MELLITUS	82
3.1.Unfavorable prognostic markers in association type 1 diabetes mellitus with celiac disease	82
3.2.Prevalence of antitissue transglutaminase antibodies in children with type 1 diabetes mellitus	87
CHAPTER 4. DERMATITIS HERPETIFORMIS	99
4.1.Rare Disease: dermatitis herpetiformis – description, diagnostic laboratory	99
4.2.Dermatitis herpetiformis – immunological exploration	104
CHAPTER 5. BIOCHEMICAL EVENTS IN CELIAC DISEASE	109
5.1.Biochemical nutritional status in children with celiac disease	109
CHAPTER 6. ALLERGY EVENTS IN CELIAC DISEASE	122
6.1.IgE-mediated immune response in celiac disease in children.....	122
CHAPTER 7. VIRAL ASSOCIATIONS IN CELIAC DISEASE	128
7.1.Adenoviruses in celiac disease in children	128
7.2.Celiac disease association with chronic viral hepatitis C	136
CHAPTER 8. IMMUNOLOGICAL ASSOCIATIONS IN CELIAC DISEASE	138
8.1.F-actin antibodies in celiac disease and dermatitis herpetiformis.....	138
8.2.Celiac disease in common variable immunodeficiency (case report)	146
CHAPTER 9. HEALTH EDUCATION	152
9.1.The importance of education in the development of celiac disease	152
CONCLUSIONS	162
REFERENCES	170

Keywords: complex analysis, diagnostic tests, celiac disease, child

INTRODUCTION

Last consensus in celiac disease in 2008 conducted under the aegis of the European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition jointly with North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition reveals the following: "Celiac disease is a chronic immune-mediated enteropathy characterized by sensitization to gluten. That can affect any organ or system, with a wide range of clinical manifestations of variable severity. Thus, in recent years, clinical picture of celiac disease has changed the *old paradigm* - bowel disease with villous atrophy and malnutrition, being replaced with the *new paradigm* - multi-organ autoimmune disease, affecting many organs and systems throughout but with more less specific symptoms, which undiagnosed leads to delayed diagnosis, at a late-onset disease and long-term major complications as the risk of cancer. In line with changing clinical features of celiac disease, its diagnosis has undergone significant changes in recent years.

PURPOSE OF STUDY

Based on these findings, the aim of our study was to make a comprehensive analysis of celiac disease, with a research area of evaluating of a diagnostic process. So I made a point making of what is old and new in celiac disease diagnosis. Performance of serological tests were analyzed in celiac disease, in risk groups of celiac disease, type 1 diabetes mellitus, in particular manifestations of celiac disease, dermatitis herpetiformis but also in biochemistry, allergy, viral and immunology manifestations of celiac disease. The new tests, deamidated antigliadin antibodies and determination of HLA molecules in celiac disease in children are news for our country and bring originality thesis. Also, studies on the importance of gluten-free diet in the development of celiac disease in families of children with celiac disease were not performed in our country.

MATERIAL AND METHODS

- **RESEARCH GROUP** - children from Regional Center for Cluj celiac disease management, held in the structure of the Emergency Hospital for Children, Cluj-Napoca, Pediatric Clinic II, according to *GD no. 168/2005 on the organization and functioning of the Ministry of Health* in the counties of Cluj, Satu Mare, Maramures, Bihor, Salaj, Bistrita, Mures, Harghita, Covasna, Brasov, Sibiu, Alba.

- **RESEARCH infrastructure**

1. Medical Analysis Laboratory, Department of Virology and Immunology Clinic, Children's Hospital Cluj-Napoca - ELISA tests, indirect immunofluorescence tests, DNA extraction.
2. Research and Grants Laboratory, Dermatology Clinic Cluj-Napoca - direct fluorescent antibody testing.
3. Immunogenetics and Virology Center, Institute of Clinical Fundeni Bucharest - *polymerase testing chain reaction (PCR)* - HLA determinations.

PERSONAL RESEARCH

Chapter 1. SEROLOGICAL DIAGNOSISs

1.1. New Para-Clinical Investigations in celiac disease, deamidated antigliadin antibodies

Our study focused only on pediatric patients and had the following objectives: 1. Quantifying the association of the IgA+IgG DGP with the celiac disease; 2. The observational analytical evaluation of the test's qualities, with a focus on the small groups of age and on the immunoglobulin IgA deficit where there are deficiencies of the usual serologic tests, i.e. of IgA tTG and IgA EMA. Our group consisted of a representative population of 102 children, who were serologically tested for celiac disease. The gender distribution was: 54 % boys and 46 % girls. The patients were divided into three age groups: 0-3 years, 3-10 years and 10-18 years old. The testing established the serologic panel: IgA tTG, IgA EMA, IgA+IgG DGP and total immunoglobulin A.

Conclusions

1. The ELISA testing of the IgA+IgG deamidated antigliadin antibodies opens new ways for celiac disease diagnosis, as it is a useful test as serological marker in the age group 0-3 years in the celiac disease screening, 80 % sensitivity (95 % CI 28.3 to 99.4), and at the same time in the immunoglobulin A deficit (correlations in 11 patients). 2. The test has a high precision diagnostic value, high specificity values, in all child age groups. 3. We can conclude though from the obtained data that the test is not useful in monitoring the gluten exclusion therapy in the case of the patients with celiac disease. 4. High percentage (45 %) of the positive serologic tests in the case of the patients with confirmed celiac disease demonstrates the necessity of extending the health education program in the sense of following the gluten-free diet among the adolescent population.

1.2. IgA anti-tissue transglutaminase antibodies, first line in the diagnosis of celiac disease

Starting from relevant aspects, we aimed to evaluate tTG IgA activity in celiac disease as well as in associated diseases in children, using EmA IgA as the gold standard. The study group consisted of 890 patients. Distribution by gender was 45 % male and 55 % female. Our study group consisted 123 patients with a diagnosis of confirmed celiac disease, under a gluten-free diet and 767 patients with clinical signs and a suspicion of celiac disease. The tests included the measurement of TTG IgA and EmA IgA.

Conclusions

1. IgA anti-tissue transglutaminase antibodies are important markers for the screening of celiac disease Se 77.3 % (CI 95 % 68.3-84.6), and the monitoring of the gluten-free diet in children with this disease, Se 94.6 % (CI 95 % 82.6-99). 2. Due to their low positive predictive value, 55.3 % (CI 95 % 48.8-60.5), the results need to be confirmed by another diagnostic method, as a confirmation test. 3. The test have a very high diagnostic

value in celiac disease and in the evidencing of celiac disease in type 1 diabetes mellitus, protein-calorie malnutrition and intestinal malabsorption, which is demonstrated by their high specificity.

Chapter 2. HLA TYPING

2.2. New haplotypes in celiac disease in children

With all the advancements of science, genetic tests are important for the diagnosis of celiac disease. With their development, new gene variations in HLA-DQ2/DQ8 continuously occur, but there are also some discrepancies between these and serological tests and the histopathological examination of the duodenal mucosa. In this paper, we present a number of cases that illustrate this idea. The studied group included 37 children diagnosed with celiac disease. The sex distribution of the group was: 10 boys (27 %) and 27 girls (73 %). The testing included the serological determination of IgA tTG, IgA EMA and the determination of human histocompatibility antigens (HLA) by polymerase chain reaction.

Conclusions

1. The study demonstrates that a correct diagnosis of celiac disease should be based on all serological, genetic tests, as well as duodenal biopsy. 2. The study also evidences the genotypic variability of haplotypes as a risk factor for celiac disease, confirmed by the typing of known haplotypes with the predominance of DQ2 (ie the presence of DR3-DQ2 / -, DR3-DQ2/DR3-DQ2, DR3-DQ2/DR7-DQ2, DR5-DQ7/DR7-DQ2 patterns) in 22 patients (61 %) while DQ8 (ie presence DR4-DQ8 /- pattern) was observed in 3 patients (8 %), as well as by the discovery of new combinations of haplotypes, 3 patients (8 %) showed a combination of pattern 1 and pattern 5, DR3-DQ2/DR4-DQ8. 3. The new haplotypes discovered appear as heterozygous haplotypes, DR3-DQ2/DR4-DQ8, formed by pattern 1, DR3-DQ2 - the DQA1*0501 and DQB1*0201 alleles, and pattern 5, DR4-DQ8 - the DQA1*0301 and DQB1*0302 alleles.

Chapter 3. ASSESSMENT OF RISK GROUPS: TYPE 1 DIABETES MELLITUS

3.2 Prevalence of antitissue transglutaminase antibodies in children with type 1 diabetes mellitus

The main objective of this study was to evaluate the serological immunoenzymatic tests used in the screening of celiac disease in patients with type 1 diabetes mellitus, i.e., IgA antitissue transglutaminase antibodies (IgA tTG), IgA+IgG antideamidated gliadin peptide antibodies (IgA+IgG DGP), IgA antigliadin antibodies (IgA AGA), and IgG antigliadin antibodies (IgG AGA), using indirect immunofluorescence for the detection of IgA antiendomysium antibodies (IgA EMA) as the gold standard. The secondary objectives of the study were to establish correlations between the positive IgA tTG values and the age of subjects, as well as to evaluate IgA tTG differences between patients with diabetes mellitus without complications and with other

manifestations. The study also aimed to analyze the differences in glycosylated hemoglobin (HbA1c) between patients with negative IgA tTG values, with IgA tTG values lower than 100 U/ml, and patients with IgA tTG values higher than 100 U/ml. The study group comprised 119 children with type 1 diabetes mellitus that were included in an analytical clinical study in the period 2008–2009, which involved serological screening tests specific for celiac disease. The sex distribution of the group was: 57 % boys and 43 % girls. We mention that for economic efficiency, the screening of celiac disease was performed with IgA tTG, the dosage of IgA EMA being only initiated in suspect cases, whereas the other serological tests, IgA+IgG DGP, IgA-AGA, IgG-AGA, were only carried out in patients positive for one or both tests.

Conclusions

1. The study shows an increased prevalence, of 9.2 %, of IgA antitissue transglutaminase antibodies in patients with type 1 diabetes mellitus. 2. IgA antitissue transglutaminase antibodies are highly specific markers, Sp 82.6 % (95 % CI 69.9–91.7) and NPV 93.5 % (95 % CI 82.1–98.6) in the screening of celiac disease, but results must be confirmed by IgA antiendomysium antibodies, owing to the low positive predictive value, PPV 57.1 % (95 % CI 34–78.1). 3. The results obtained show that IgA antitissue transglutaminase antibodies are also markers of the unfavorable evolution of the celiac disease—type 1 diabetes mellitus association. 4. The results evidences the need for the continuation and extension of the screening program for celiac disease in all children with type 1 diabetes mellitus.

Chapter 4. DERMATITIS HERPETIFORMIS

4.1. Rare Disease: dermatitis herpetiformis – description, diagnostic laboratory

According *Orphanet Journal of Rare Disease* dermatitis herpetiformis or Duhring disease is classified as rare diseases with a prevalence of 1:2000 and an unknown cause. As such, we focused on two purposes: 1. establish clinical profiling of patients with the association between dermatitis herpetiformis and gluten enteropathy, 2. establish a working algorithm in laboratory diagnosis. Our group included 10 patients in the same proportion as men: women.

Conclusions

1. Clinical data have helped us in establishing the clinical profile of the disease, namely: the characteristic symptoms were itching, age of onset of disease was variable and local examination found blisters, crust and erosion. 2. IgA tTG have high sensitivity (80 %) and specificity (100 %), considerably higher than AGA, have a values close to the EMA ($r = 0.4925$) and requires no substrate animal. 3. Sensitivity and specificity of IgA AGA (70 %, 100 %) is comparable to the tTG IgA is low but is irrelevant for IgG AGA (70 %, 87.5 %).

Chapter 5. BIOCHEMICAL EVENTS IN CELIAC DISEASE

5.1. Biochemical nutritional status in children with celiac disease

Our study sought to evaluate biochemical nutritional status in patients with diagnosed celiac disease and gluten-free diet compared with patients with newly diagnosed celiac disease. Were included in the study a total of 39 children diagnosed with celiac disease by histopathology during 2009. The study group was analyzed in two distinct groups, namely: group A: n = 28 patients on gluten-restricted diet for a period of 1-3 years, group B: n = 11 newly diagnosed patients, the gluten-free diet does not yet been initiated at the time of enrollment.

Conclusions

1. In compliance with diet, correlations that arise between antibodies factor, liver factor, mineral nutritional status factor and anemia factor are normal as in healthy individuals. In these patients the positive part of the specific antibody reveals that the disease is partially controlled. There is a good correlation with their almost normal transaminases values. The antibodies also decrease as the values of hemoglobin increase, which indicates improved nutritional status in gluten-free diet. 2. In celiac disease onset, we found imbalances between antibodies factor, liver factor combined with IgA+IgG deamidated antigliadin antibodies and the anemia factor, ie elevated levels of antibodies that going with decreased hemoglobin.

Chapter 6. ALLERGY EVENTS IN CELIAC DISEASE

6.1. IgE-mediated immune response in celiac disease in children

The aim of our work was to present the prevalence of IgE-mediated immune response in celiac disease in children and based on clinical observation of two patients to present some of the laboratory features of IgE-mediated immune response, and several of the major allergens involved in its onset. Our group included a representative sample of 28 patients diagnosed with celiac disease, who were serological tests for IgE-mediated immune response during the years 2008 to 2009. Distribution by sex of the lot was: 36 % male and 64 % girls. Testing included determination of total IgE and in patients with hyper IgE, the major allergens involved, ie specific IgE.

Conclusions

1. Prevalence of IgE-mediated immune response was 28.5 %, respectively in 8 patients, mostly female, mean age of occurrence of atopic manifestations 5-9 years. 2. A certain degree of association between celiac disease and atopic manifestations in patients with hyper IgE highlighted the association between IgE and antitissue transglutaminase antibodies $r = 0.44$, $p = 0.27$ but with a statistically unsatisfactory, as such there is no relationship of association between celiac disease and atopic manifestations. 3. Presented clinical observations reveal the existence of moderate immune response mediated IgE increased after gluten-free diet,

family character in celiac disease and the allergens found involved in triggering IgE-mediated immune response in celiac disease, are: egg, milk, fish and mites

Chapter 7. VIRAL ASSOCIATIONS IN CELIAC DISEASE

7.1. Adenoviruses in celiac disease in children

In Romania, studies involving adenovirus in the pathogenesis of celiac disease were not performed. Our aim was to determine the presence of IgA Ad, commonly used in clinical laboratories in untreated and treated celiac disease in children and to seek an evidence of involvement of other subtypes of adenovirus in the pathogenesis of celiac disease. The lot included 80 patients with celiac disease. The study was conducted during 2010 and samples were stored at -20 degrees C until used. Patients were tested for Ad IgA by ELISA.

Conclusions

1. This study shows a high 31.2 % of IgA Ad. 2. It notes the lack of correlation between the active phase of celiac disease and adenoviruses. 3. The study also reveals a statistically significant association relationship ($p = 0.002$) between IgA Ad and patients with celiac disease and gluten-free diet, respectively with regression and healing phase of celiac disease. 4. Lack of clinical signs of IgA Ad in patients with serum IgA tTG <100 U/ml, reveals that it could be used as a marker of autoimmune exacerbations during gluten free diet.

Chapter 8. IMMUNOLOGICAL ASSOCIATIONS IN CELIAC DISEASE

8.1. F-actin antibodies in celiac disease and dermatitis herpetiformis

Studies on anti actin antibodies involvement in celiac disease and dermatitis herpetiformis in Romania have not been done. Starting from relevant aspects, our aim was to present AAA prevalence in celiac disease and dermatitis herpetiformis and to evaluate the test qualities compared with tissue transglutaminase antibodies with endomysial antibody as golden standard. Also we wanted to see if there is an association relation between AAA and celiac disease. The study included 70 pediatric patients with celiac disease under gluten-free diet and 10 adult patients with dermatitis herpetiformis. The study was conducted during 2010 and serum samples were stored at -20° C until testing. The patients were tested for serological ELISA detection of IgG anti-F-actin antibodies (IgG AAA). The sex distribution was 35 % boys and 65 % girls with celiac disease respectively 50 % male and 50 % female with dermatitis herpetiformis.

Conclusions

1. Evaluation of IgG AAA compared with IgA tTG with IgA EMA as golden standard reveals the following values: Se 27.8 %, Sp 79.4 %, and Se 88.9 %, Sp 79.4 % in celiac disease and Se 33.3 %, Sp 100 % and Se 100 %, Sp 100 % in dermatitis herpetiformis, which shows that IgG AAA can not replace IgA tTG in children patients with celiac disease under gluten free diets and in adult patients with dermatitis herpetiformis.

2. This study shows a higher prevalence of 24.3 % and 30 % of IgG-AAA in the two diseases, more coincidental and without a statistically significant association relationship with them.

8.2. Coeliac disease and variable immunodeficiency (case report)

Common variable immunodeficiency syndrome affects mainly adults and rarely children. The prognosis for these patients may be favorable when they don't develop complications such as bronchiectasis, autoimmune or malignant diseases. This paper presents a clinical observation of an 11 years old girl with low levels of all classes of immunoglobulins and frequent bacterial infections, which is the main characteristic of common variable immunodeficiency. The patient presented first symptoms at the age of 8 years and after about one year was diagnosed with bronchiectasis. After about 3 years of follow-up she presented abdominal pains and failure to thrive. The duodenal biopsy revealed an aspect suggestive for coeliac disease type Marsh 3C.

Conclusions

Chronic immune deficiency syndrome is an entity that should be considered in patients with recurrent infections. When it is associated marked weight hypotrophy is a possible comorbidity. The aspect of Marsh 3C coeliac disease found in our patient is not yet reported in Romania.

Chapter 9. HEALTH EDUCATION

9.1. The importance of education in the development of celiac disease

Starting from relevant aspects, our study was aimed at the serological monitoring of the evolution of IgA tTG under the conditions of gluten-free therapy in children diagnosed with celiac disease, in correlation with the parents' education. The study included 50 patients diagnosed with celiac disease before 2008 and subsequently monitored for their adherence to a gluten-free diet over a 2 year period. Sex distribution was: 34 % boys and 66 % girls. The determination of IgA tTG was not used for the celiac disease diagnosis, but only for the monitoring of gluten-free therapy. IgA tTG were determined at 1 month, 3 months, 6 months, 1 year, and 2 years.

Conclusions

1. Following the clinical interview related to the parents' education level, we found the following: 38 % of parents had primary education, 44 % of parents had secondary education, and 18 % of parents had higher education studies. 2. Correlating these data with the evolution of IgA tTG in children we observed the following: in children from parents with primary education the evolution of IgA tTG was intermittent, without a constant decreasing rate, in children from parents with secondary education the evolution of IgA tTG was decreasing, but with many intermittences and in children from parents with higher education the evolution of IgA tTG was decreasing, without intermittences. 3. The role of a gluten-free diet is not completely understood by the families of children with celiac disease. 4. The higher the education level of parents of children with celiac disease, the better the evolution of the disease in children, which is shown by the decreasing the levels of IgA tTG. 5. Health education in celiac disease should remain a priority for both the family and society.



**Curriculum vitae
Europass**

Personal Information

Your name SAMAȘCA GABRIEL
Address (es) Children's Hospital, Pediatric Clinic II, Centralized Medical Analysis Laboratory, Department of Virology and Immunology, Crișan Street, No.3-5, 400 177, Cluj-Napoca, Romania
Phone 0040-724-825209 Nationality (-ties) Română
E-mail (s) samascagabriel@yahoo.com Date of birth May 12, 1975

Professional Experience

Period 1998-present
Name and address of employer Children's Hospital, Moților Street, No.68
Type of business or sector Pediatric Clinic II (1998-2007, 2010-present), Pediatric Clinic III (2007-2010)
Medical Analysis Laboratory, Department of Clinical Virology and Immunology

Education and training

Period 1993 graduates
Name and type of organization providing education and training "Terapia" School of Chemical, Cluj-Napoca, Romania
- specialization: physical-chemical laboratory
Period 2001 graduates
Name and type of organization providing education and training "Babes-Bolyai University in Cluj-Napoca, Romania, FACULTY OF BIOLOGY,
undergraduate degree, thesis: "Aspects of the dynamics of platelet autoimmune thrombocytopenic purpura - coordinator: Professor Pavel Tudor
Period 2007-2008
Name and type of organization providing education and training Master's degree, dissertation: "Public health policies from the perspective of communicable diseases and Market Services of the European Union, Romania's case" - Coordinator: Deputy Professor Vasile Puscas
Period 2008-present
Name and type of organization providing education and training University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania, Faculty of Medicine, Department of Immunology, Medical field - PhD on "The importance of determining antitissue transglutaminase and antigliadin antibodies in celiac disease in children. Immunofluorescence and molecular biology tests, scientific advisor: professor Doru Dejica,

Personal Skills

Foreign Languages english

Additional Information

POSTGRADUATE TRAINING COURSES - University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania

- 2005 - Basics in clinical immunology, Medical Department I
- 2006 - News in virology, Department of Microbiology
- 2007 - Introduction to Health Services Management, Department of Health Management
- 2009 - Molecular Biotechnology - Medical Applications, Department of Biochemistry
Tradition and modernity in the interwar Cluj medical education - Department of History of Medicine
- 2010 - Problems in the outpatient hospital care and child, Department of Pediatrics III

SPECIALIZATION IN ABROAD

- 1. Biotest, HLA Antibody Diagnosis, Quickstep Application, HLA typing with SSP - Dreieich, Germany; November 6-10, 2006
- 2. DRG, Worldwide Diagnostic's Product and Marketing Training - Marburg, Germany; November 16-18, 2008

SCIENTIFIC ACTIVITY IN THE FIELD OF DOCTORATE THESIS

A. ARTICLES PUBLISHED IN EXTENSO

Articles indexed Web of Knowledge Thomson Reuters (formerly ISI)

6. Samaşca G, Iancu M, Butnariu A, Andreica M, Dejica D. Prevalence of IgA antitissue transglutaminase antibodies in children with type 1 diabetes mellitus. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 2011; 25(3): 156-161 *Impact factor 0.87, relative influence score 0.42*.
7. Samaşca G, Iancu M, Pop T, Butnariu A, Andreica M, Miu N, Cristea V, Dejica D. The importance of environmental education in the development of celiac disease. *LabMedicine* 2011; [In press]. 11-02-LM-S-SR-0031 *Impact factor 0.31, relative influence score 0.09*.
8. Samaşca G, Iancu M, Farcău D, Butnariu A, Pop T, Pîrvan A, Andreica M, Miu N, Cristea V, Dejica D. IgA antitissue transglutaminase antibodies, first line in celiac disease diagnosis. *Clinical Laboratory* 2011; 9+10: [In press]. 101205 *Impact factor 1,010*.
9. Samaşca G, Iancu M, Butnariu A, Andreica M, Dejica D. New paraclinical investigations in celiac disease. *Romanian Review of Laboratory Medicine* 2010; 18(2):43-51.
10. Samaşca G, Cherecheş-Panţa P, Fufezan O, Farcău D, Gheban D, Cristea V. Celiac disease and Variable Immunodeficiency. *Romanian Review of Laboratory Medicine* 2011; 19(2): [In press].

BDI indexed articles (Medline/Pubmed)

3. Samaşca G, Iancu M, Butnariu A, Pîrvan A, Andreica M, Miu N, Constantinescu I, Dejica D. Controversies in the laboratory diagnosis of celiac disease in children. New haplotypes discovered. *Romanian Archives of Microbiology and Immunology* 2010; 69(3):119-124.
4. Samaşca G, Băican A, Pop T, Pîrvan A, Miu N, Andreica M, Cristea V, Dejica D. IgG-F-actin antibodies in celiac disease and dermatitis herpetiformis. *Romanian Archives of Microbiology and Immunology* 2010; 69(4):177-182.

CNCS articles (indexed B+)

11. Samaşca G, Pîrvan A, Farcău D, Dejica D. Old and new tests in celiac disease in children. *Cluj Medical Journal* 2010; 83(4):584-587
12. Samaşca G, Pîrvan A, Farcău D, Dejica D. Antitissue transglutaminase antibodies. *Medical Practice Review* 2010; 5(2): 88-91.
13. Samaşca G, Iancu M, Butnariu A, Andreica M, Constantinescu I, Dejica D. The importance of determining human leukocyte antigens in the prevention of intestinal lymphoma in patients with celiac disease. *Scientific Annals of University "Alexandru Ioan Cuza ", Section II a. Genetics and Molecular Biology* 2010; 11(2,3): 81-87.
14. Samaşca G, Iancu M, Butnariu A, Andreica M, Dejica D. Unfavorable prognostic markers in association with type 1 diabetes mellitus-celiac disease. *Acta Medica Transilvanica* 2010; 2(1):66-68.
15. Samaşca G, Nechit R, Ponta M, Iancu M, Butnariu A, Farcău D, Andreica M, Dejica D. Biochemical nutritional status in children with celiac disease. *Cluj Medical Journal* 2010; 83(3):497-503.
16. Samaşca G, Dejica D. IgE-mediated immune response in celiac disease in children. *Romanian Medical Journal* 2010; 57(1): 66-69.
17. Samaşca G, Burac L, Farcău D, Dejica D. Screening for celiac disease in chronic viral hepatitis C. *The Romanian Journal of Pediatrics* 2010; 59(1): 49-50.
18. Samaşca G, Bruchental M, Butnariu A, Pîrvan A, Andreica M, Cristea V, Dejica D. Difficulties in Celiac Disease Diagnosis – A case report. *Maedica* 2011; 6(1): 32-35.
19. Samaşca G, Iancu M, Pîrvan A, Andreica M, Miu N, Constantinescu I, Cristea V, Dejica D. Histocompatibility risk antigens in celiac disease in children. *Cluj Medical Journal* 2011; 84(2): 269-273.
20. Samaşca G, Pîrvan A, Miu N, Andreica M, Cristea V, Dejica D. Adenoviruses in celiac disease in children. *Romanian Journal of Infectious Diseases* 2011; 14(1): 5-9.

Articole CNCS (alta categorie)

4. Samaşca G, Pîrvan A, Farcău D, Dejica D. Antiendomysium antibodies. *Arad Medical Journal* 2010; 13(2): 43-47.
5. Samaşca G, Băican A, Dejica D, Miu N. Rare Diseases: Dermatitis herpetiformis. Description, laboratory diagnosis, stage results. *Journal of Medicine and Pharmacy Orvosi és Gzozszereszeti Szemle* 2009; 55(3): 300-302.
6. Samaşca G, Băican A, Pîrvan A, Dejica D. Dermatitis Herpetiformis. *Romanian Journal of Medical Laboratory* 2009; 4(15): 23-27.

B. ARTICLES PUBLISHED IN SUMMARY

In international journals

4. Samașca G, Pîrvan A, Miu N, Andreica M, Constantinescu I, Cristea V, Dejica D. Molecular diagnosis of celiac disease. European Journal of Microbiology&Immunology 2011; 1(2):136-137.
5. Samașca G, Pop T, Pîrvan A, Miu N, Andreica M, Băican A, Cristea V, Dejica D. IgG-F-actin antibodies in celiac disease and dermatitis herpetiformis. European Journal of Microbiology&Immunology 2011; 1(2):169-170.
6. Samașca G, Pîrvan A, Miu N, Andreica M, Matinca D, Cristea V, Dejica D. Adenoviruses in celiac disease in children. European Journal of Microbiology&Immunology 2011; 1(2):180.

În national journals ISI / CNCISIS – 3 articles

The volumes of national scientific – 7 articles

C. SYMPOSIA, CONFERENCES, CONGRESSES - Plenary lectures

- 11 oral presentations, 9 poster presentations

STATEMENT OF SCIENTIFIC ACTIVITIES

Undersigned SAMAȘCA GABRIEL, I started activities for doctoral thesis in 2008 under the leadership professor DORU DEJICA, professor Victor Cristea and prestige of referees in celiac disease, namely professor Nicolae Miu, associate professor Lucia Slavescu and the present head of the Pediatric Clinic II professor Mariana Andreica. Research I conducted in the Laboratory of Clinical Emergency Hospital for Children, Cluj-Napoca. I benefited from the support of lecturer Alexander Pîrvan, head of celiac disease working group within the Romanian Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. Finally, in my research helped me two distinguished colleagues in the Pediatric Clinic III, namely associate professor Angela Butnariu and associate professor Dorin Farcău. Part of the statistical received support from assistant professor Iancu Mihaela, Department of Bioinformatics. Other collaborators were lecturer Adrian Băican from Dermatology Clinic Cluj-Napoca and associate professor Constantinescu Ileana from Department of Molecular Biology, Immunology, Virology HLA Diagnostic, University of Medicine and Pharmacy Carol Davila Bucharest.

The first year of research was to study three research themes embodied in the six papers presented at national scientific meetings, namely: 1.Evaluation of diagnostic procedures in celiac disease – antitissue transglutaminase and antigliadin antibodies; 2.Dermatitis herpetiformis and 3.Assessment of risk groups in celiac disease - type 1 diabetes mellitus. Year two of research began with the presentation of first results of research in our country in deamidated antigliadin antibodies, the latest acquisition in the diagnosis of celiac disease in children, in the days UMF CLUJ 2009 and other research themes embodied in the papers presented at three national scientific meetings and a competition for young researchers: 1.Viral associations in celiac disease in children; 2.Allergy events in celiac disease; 3.The importance of HLA genetic factors in celiac disease 4.Health educations in celiac disease, emphasizing the importance of environmental education in compliance with gluten-free diet in children with celiac disease. Year three of research started with presentation of research results of the first HLA determinations in our country in celiac disease children in the area of Cluj and neighboring areas, in the days UMF CLUJ 2010 and other research topics, immunological events in celiac disease, resulting in a oral presentation and two poster presentations, papers presented at the first European Conference of Microbiology and Immunology in Budapest, 12-14.05.2011. The year ended with the completion of my PhD thesis.

Results of research have resulted in 20 articles in extenso as first author of the five ISI articles in national and international journals (Journal of Clinical Laboratory Analysis - impact factor 0.87, relative influence score 0.42, LabMedicine - impact factor 0.31, relative influence scores 0.09, Clinical Laboratory - impact factor 1.010, and the Romanian Review of Laboratory Medicine), two articles published in journals indexed BDI Medline / Pubmed, (Archives of Microbiology and Immunology Romanian), 10 articles published in journals CNCISIS B + (3 articles in the Cluj Medical journal) and three articles published in journals with quotations. And last but not least I enjoy feedback and comments of the U.S. site www.celiac.com about personal research on molecular HLA in celiac disease diagnosis in children, findings available at: <http://www.celiac.com/articles/22555/1/Diagnosing-Celiac-Disease-is-Far-from-Straightforward/Page1.html> and my inclusion in Editorial Board of U.S. journal Pharmaceutica Acta Analytica: <http://www.omicsonline.org/EditorialboardPAA.php>