

Rezumatul tezei de doctorat

TEZĂ DE DOCTORAT

**Studiul epidemiologic și al evoluției în
bolile inflamatorii intestinale
pediatrice**

Doctorand: **Georgia Valentina TARTAMUȘ (TITA)**

Conducător de doctorat: **Prof. Dr. Vasile Marcel TANȚĂU**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

CUPRINS

INTRODUCERE.....	1
STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII.....	3
1. Aspecte generale.....	5
2. Epidemiologia bolilor inflamatorii intestinale pediatrice	9
3. Diagnosticul bolilor inflamatorii intestinale pediatrice	11
4. Evaluarea evoluției pacienților cu boli inflamatorii intestinale pediatrice.....	21
CONTRIBUȚIA PERSONALĂ	31
1. Scop și obiective.....	33
2. Metodologie generală	35
3. Studiul 1. Studiul epidemiologic al bolilor inflamatorii intestinale pediatrice în regiunea de Nord-Vest a României	37
4. Studiul 2. Evoluția pacienților pediatrici cu boală Crohn sub nutriție enterală exclusivă.....	67
5. Studiul 3. Studiul evoluției pacienților pediatrici cu boală Crohn: o evaluare multidimensională	79
6. Studiul 4. Studiul evoluției pacienților pediatrici cu boală Crohn prin analiza microbiotei intestinale.....	95
7. Propunere de inițiere a unui Registru Național pentru bolile inflamatorii intestinale pediatrice în România	117
8. Concluzii generale	129
9. Originalitatea și contribuțiile inovative ale cercetării. doctorale.....	131
REFERINȚE	133

Cuvinte cheie: boală inflamatorie intestinală pediatrică, boala Crohn, incidență, remisie, microbiotă intestinală

LISTA DE PUBLICAȚII

Articole publicate *in extenso* ca rezultat al cercetării doctorale

1. Georgia Valentina Tartamus Tita, Daniela Elena Serban, Cristina Rebeca Fogas, Marcel Vasile Tantau. Pediatric Inflammatory Bowel Disease in Romania: The First Epidemiological Study of the North-West Region (2000–2020). *Children* **2025**, *12*, 403. doi:10.3390/children12040403). *ISI Factor de impact JCR₂₀₂₄ – 2.1 (studiu cuprins în capitolul 3).*
2. Georgia Valentina Tartamus Tita, Daniela Elena Serban, Marcel Vasile Tantau. Two Decades of Pediatric Inflammatory Bowel Disease in North-Western Romania: Phenotypic Characteristics and Diagnostic Trends. *J. Clin. Med.* **2025**, *14*, 4597. doi: 10.3390/jcm14134597. *ISI Factor de impact JCR₂₀₂₄ – 2.9 (studiu cuprins în capitolul 3).*
3. Georgia Valentina Tartamus Tita, Daniela Elena Serban, Lacramioara Eliza Chiperi, Cristina Rebeca Fogas, Stefana Arlinda Medan, Marcel Vasile Tantau. Exclusive enteral nutrition in Crohn's disease pediatric patients: from clinical remission to transmural healing. *Med Pharm Rep.* **2025**;98(3):371-380. doi:10.15386/mpr-2900. BDI, Indexat Scopus, Pubmed, Pubmed Central, EBSCO, CNCSIS BDI (*studiu cuprins în capitolul 4).*

INTRODUCERE

Bolile inflamatorii intestinale (BII), care includ în principal boala Crohn (BC), colita ulcerativă (CU) și boala inflamatorie intestinală neclasificată (BII-N), reprezintă afecțiuni cronice inflamatorii ale tractului digestiv cu impact major asupra calității vieții pacienților. BII afectează în mod predominant adolescenții și adulții tineri. În ultimele decenii, cercetările au evidențiat o creștere susținută a incidenței acestor afecțiuni la nivel global, inclusiv în rândul populației pediatrice. Creșterea numărului de cazuri de BII într-o regiune anterior considerată cu incidență scăzută necesită o atenție sporită asupra modului în care pacienții sunt investigați, diagnosticați și ulterior monitorizați. O monitorizare adecvată contribuie semnificativ la prevenirea complicațiilor, a recăderilor frecvente și a instalării dizabilității pe termen lung.

STADIUL ACTUAL AL CUNOAȘTERII

BII reprezintă rezultatul unei interacțiuni complexe între susceptibilitatea genetică, modificările epigenetice, factorii de mediu, disfuncția barierei intestinale și răspuns imun aberant. Deși în ultimele decenii s-au realizat progrese semnificative, mecanismele precise prin care acești factori converg și declanșează, ulterior întrețin inflamația intestinală cronică rămân incomplet elucidate.

La începutul secolului XX, BII erau predominante în țările occidentale industrializate. În ultimele decenii, incidența acestora a crescut și în regiunile în curs de industrializare, precum Asia și America de Sud. La nivel pediatric, cele mai mari rate de incidență ale BII sunt raportate în Finlanda, Minnesota (SUA) și Polonia, iar cele mai mici în Europa de Sud-Est și America de Sud. Incidența globală a BII pediatrice (BIIp) este în creștere, la cel puțin o categorie de vârstă sau grupă de boală. Totuși, unele țări, precum Slovenia și Anglia, indică o posibilă stabilizare a ratei incidenței.

Diagnosticul BIIp este un proces complex care necesită o abordare multidisciplinară și integrativă, având în vedere variabilitatea mare a manifestărilor clinice și suprapunerea trăsăturilor între subtipurile de boală: BC, CU și BII-N. Recunoașterea precoce a bolii și stabilirea unui diagnostic corect sunt esențiale pentru inițierea unui tratament adecvat și prevenirea complicațiilor. Diagnosticul BIIp se bazează pe criteriile Porto ale ESPGHAN (2014), care recomandă evaluarea clinică detaliată, analize de laborator, endoscopie digestivă superioară și ileocolonoscopie cu biopsii multiple, precum și imagistica intestinului subțire.

Anticorpii anti-GP2 reprezintă un marker serologic potențial util în diferențierea BC de CU, având o specificitate ridicată, dar o sensibilitate relativ scăzută. Analiza microbiomului intestinal are un potențial semnificativ în diferențierea pacienților cu BII de indivizii sănătoși. Numeroase studii, atât transversale cât și prospective, utilizând secvențiere metagenomică și analiză metabolomică, au demonstrat constant că pacienții cu BC și CU prezintă modificări marcate ale structurii și funcției comunităților microbiene intestinale comparativ cu persoanele sănătoase.

Clasificarea Paris reprezintă o adaptare pediatrică a clasificării Montreal, fiind dezvoltată pentru a descrie mai fidel fenotipul BII la copii și adolescenți, prin includerea unor particularități specifice vârstei pediatrice, permițând astfel o caracterizare mai precisă a bolii și o individualizare adecvată a strategiilor de tratament și monitorizare.

Evaluarea evoluției pacienților cu BII pediatrică necesită o abordare integrată, centrată pe atingerea unor ținte terapeutice clare. Inițiativa STRIDE II propune un model etapizat de monitorizare, care pornește de la obținerea unui răspuns clinic rapid și progresează spre obiective mai complexe precum remisia clinică, vindecarea mucoasei și, ideal, vindecarea transmurală și endoscopică. Utilizarea scorurilor clinice validate, alături de markeri ai inflamației precum PCR și calprotectina fecală (CF), permite o urmărire mai precisă și mai puțin invazivă a evoluției bolii. Metodele imagistice (enterografie RMN, ecografie intestinală) și evaluările endoscopice rămân esențiale în aprecierea profunzimii răspunsului terapeutic, completând datele clinice și biologice. În paralel, interesul crescut pentru microbiomul intestinal deschide noi direcții de cercetare, inclusiv în urmărirea pacienților cu BII. Integrarea tuturor acestor instrumente contribuie la un management complex și adaptat pacientului pediatric, cu scopul de a

reduce impactul bolii pe termen lung și de a susține o dezvoltare fizică și psihosocială armonioasă.

CONTRIBUȚIA PERSONALĂ

Cercetarea de față a fost generată de necesitatea de a contura o imagine mai clară și mai obiectivă asupra BIIp în România, printr-o serie de studii care acoperă dimensiuni complementare ale acestei patologii complexe.

Această lucrare propune inițial o analiză epidemiologică a BII pediatrice în România. De asemenea, dorește o evaluare retrospectivă, ulterior prospectivă a modului în care evoluția pacienților pediatrici cu BII este monitorizată, punând accent pe metode standardizate, dar și pe instrumente moderne, neinvazive, de evaluare. Se subliniază importanța creării unui Registru Național de BII pediatrice pentru îmbunătățirea managementului clinic și sprijinirea cercetării în domeniu.

Studiul 1. Studiul epidemiologic al bolilor inflamatorii intestinale pediatrice în regiunea de Nord-Vest a României

Scop/Obiective: Scopul acestui studiu a fost evaluarea ratelor de incidență și a tendințelor temporale pentru BII pediatrică în regiunea de Nord-Vest a României și compararea acestora cu rezultatele studiilor similare publicate la nivel internațional. De asemenea, am urmărit caracteristicilor fenotipice ale pacienților și compararea rezultatelor obținute cu cele raportate în alte studii internaționale.

Materiale și metode: Am realizat un studiu retrospectiv al pacienților cu vârsta sub 18 ani, rezidenți ai regiunii de Nord-Vest a României (județele Cluj, Sălaj, Bistrița-Năsăud, Maramureș, Satu Mare și Bihor), diagnosticați cu BII în perioada 1 ianuarie 2000 – 31 decembrie 2020, la Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii (SCUC) din Cluj-Napoca. Fenotipul bolii la momentul diagnosticului a fost stabilit conform clasificării Paris. Au fost calculate ratele de incidență ajustate pentru vârstă, rata anuală de schimbare procentuală (APC), rata anuală de schimbare procentuală medie (AAPC) și intervalele de încredere de 95% (95%CI) aferente, pentru BII, BC și CU. Tendințele temporale au fost analizate folosind regresia Joinpoint.

Rezultate: Au fost incluși 94 de pacienți (BC: 51,0%; CU: 43,6%; BII-N: 5,4%), cu o vârstă mediană la diagnostic de 14 ani (interval: 11–15,7 ani). Pentru întreaga perioadă analizată, rata de incidență a fost de $0,79/10^5$ ($\pm 0,74$) pentru BII, $0,4/10^5$ pentru BC ($\pm 0,42$), $0,34/10^5$ pentru CU ($\pm 0,4$) și $0,045/10^5$ ($\pm 0,1$) pentru BII-N. Tendința temporală a incidenței a fost pozitivă, însă semnificația statistică a fost atinsă doar pentru BII și BC. APC-ul observat a fost de 12 (95% CI: 6,5–17,7) pentru BII, 13,1 (95% CI: 8–18,5) pentru

BC și 5,67 (95% CI: 1,5–13,4) pentru CU. Comparativ cu alte studii similare, România se situează printre țările cu cele mai scăzute rate de incidență pentru BII pediatrică. Formele cu debut foarte precoce au reprezentat 5,3% din cazuri. Probabilitatea de a fi diagnosticat cu BC după vârsta de 10 ani a fost semnificativ mai mare comparativ cu CU (OR = 4,75, 95% CI: 1,10–29,07, $p = 0,03$). CU s-a prezentat cel mai frecvent sub forma pancolitei (51,2%), iar BC ca formă ileocolonică (56,3%). Fenotipul inflamator a fost cel mai des întâlnit în BC (69%). Afectarea tractului digestiv superior a fost documentată în 18,7% dintre cazurile de BC, cu o frecvență mai mare după anul 2014. Boala perianală și retardul de creștere au fost asociate semnificativ cu un comportament complicat al BC ($p = 0,03$, respectiv $p = 0,007$). Rezultatele sunt, în general, în concordanță cu cele raportate în literatura de specialitate

Concluzii: Acest studiu oferă prima caracterizare epidemiologică și fenotipică detaliată a BIIp în regiunea de Nord-Vest a României. Deși incidența BIIp în regiunea noastră pare a fi scăzută, s-a constatat o creștere importantă și semnificativă a incidenței BIIp per ansamblu, în special a BC. Observațiile noastre reflectă tendințe observate și în alte populații și subliniază importanța unei evaluări diagnostice standardizate.

Studiul 2. Evoluția pacienților pediatrici cu boala Crohn sub nutriție enterală exclusivă

Scop/Obiective: Prin acest studiu am dorit evaluarea evoluției pacienților pediatrici cu BC din România având ca mijloc de inducție a remisiei nutriția enterală exclusivă (NEE). Accentul a fost pus pe statusul nutrițional, obținerea remisiei și impactul diferiților factori asupra ratelor de remisie.

Materiale și metode: A fost realizat un studiu observațional retrospectiv pe pacienți consecutivi cu BC pediatrică din cadrul SCUC Cluj-Napoca, care au primit NEE pentru inducerea remisiei între 2007 și 2017, într-un centru de referință din Cluj-Napoca, România. Remisia clinică (RC) a fost definită printr-un scor wPCDAI < 12,5, vindecarea mucozală (VM) printr-o valoare a CF < 250 $\mu\text{g/g}$, iar vindecarea transmurală (VT) ca asocierea dintre VM și remisia imagistică evaluată prin ecografie intestinală.

Rezultate: Au fost incluși 20 de pacienți cu BC (45% din cohorta totală). Vârsta mediană la diagnostic a fost de 14,2 ani (interval: 9,9–18,4), iar 65% au fost de sex masculin. Durata medie a NEE a fost de $7,84 \pm 1,26$ săptămâni. Scorurile Z pentru indicele de masă corporală au crescut semnificativ după NEE ($p = 0,02$). Hipoalbuminemia, prezentă la 55% dintre pacienți la diagnostic, s-a corectat complet după tratament ($p = 0,00015$). RC a fost obținută la 82% dintre pacienții cu boală activă clinic, VM la 26% dintre cei cu activitate microscopică, iar VT la 20% dintre pacienții cu activitate imagistică. Nu s-au identificat asocieri semnificative între RC sau VM și factori precum vârsta la diagnostic, comportamentul bolii, localizarea, activitatea bolii sau prezența anticorpilor anti-

Saccharomyces cerevisiae. Totuși, activitatea clinică a bolii la inițierea NEE (evaluată prin scorul wPCDAI) s-a asociat invers cu obținerea VT ($p = 0,004$).

Concluzii: Acesta este primul studiu care raportează rezultatele NEE la pacienți cu BCp din România. NEE a fost eficientă în îmbunătățirea statusului nutrițional și inducerea RC, în timp ce VM a fost obținută la aproximativ un sfert dintre pacienți. De asemenea, obținerea VT a fost observată, deși mai rar, fiind influențată negativ de un nivel mai ridicat al activității clinice a bolii la momentul inițial.

Studiul 3. Studiul evoluției pacienților pediatrici cu boală Crohn: o evaluare multidimensională

Scop/Obiective: Scopul acestui studiu a fost evaluarea evoluției pacienților pediatrici cu BC prin integrarea unor metode convenționale (scor clinic, markeri inflamatori, aspect ecografic intestinal) și a unei abordări complementare, reprezentată de determinarea anticorpilor anti-GP2. Un prim obiectiv a vizat determinarea ratelor de RC, remisie biologică (RB), VM și VT. O altă direcție a constat în explorarea valorii discriminative a anticorpilor anti-GP2 (IgA și IgG) între diferite forme de BII și evaluarea dinamicii lor sub terapie. În completare, am investigat corelațiile dintre profilul anticorpilor și parametrii de activitate a bolii.

Materiale și metode: Studiul a fost unul prospectiv analitic, desfășurat în perioada 2022–2024 la SCUC Cluj-Napoca și a inclus trei grupuri: copii diagnosticați cu BC, CU și martori sănătoși. Monitorizarea pacienților cu BC a fost realizată printr-o abordare multidimensională, care a integrat scoruri clinice validate (wPCDAI), markeri inflamatori serici și fecali (PCR, VSH, CF), precum și evaluarea ecografică intestinală. Un alt element a fost determinarea anticorpilor anti-GP2 (IgA și IgG) prin metoda ELISA (metodă imunoenzimatică), aplicată atât la pacienți cu BIIp, cât și la copii sănătoși.

Rezultate: Au fost incluși 13 pacienți pediatrici cu BC, cu vârsta mediană la diagnostic de 14 ani (IQR 12,5–16). Dintre aceștia, 12 pacienți au avut și re-evaluare la un interval median de 18 săptămâni (IQR 13,5–20,2). La acel moment, 100% dintre pacienți erau în RC, 75% în RB, 91,7% prezentau VM, iar VT a fost atinsă de 41,7% dintre pacienți. Analiza statistică a demonstrat o ameliorare semnificativă a scorului clinic wPCDAI ($p = 0,0025$), a markerilor inflamatori serici (PCR, $p = 0,014$; VSH, $p = 0,0068$) și fecali (CF, $p = 0,0019$), precum și creșteri semnificative ale albuminei ($p = 0,012$) și hemoglobinei ($p = 0,0093$). Ecografic, grosimea peretelui intestinal (GPI) a prezentat o reducere semnificativă ($p = 5,73 \times 10^{-6}$), iar semnalul vascular Doppler a diminuat semnificativ ($p = 0,007$). În ansamblu, 83,3% dintre pacienți au prezentat ameliorare imagistică, iar 50% remisie imagistică. În privința anticorpilor anti-GP2, nu s-au observat modificări semnificative între diagnostic și re-evaluare (IgG, $p = 0,68$; IgA, $p > 0,99$). Analiza ROC a indicat pentru

anticorpii anti-GP2 IgG un AUC = 0,79, cu sensibilitate 53,8% și specificitate 100% în diferențierea BC de CU.

Concluzii: Studiul evidențiază utilizarea unei abordări multidimensionale în monitorizarea evoluției pacienților pediatrici cu BC. La momentul re-evaluării, majoritatea pacienților au atins RC, RB și VM, iar o proporție relevantă a obținut VT. Pentru scorul clinic (wPCDAI), valoarea markerilor inflamatori (VSH, PCR, CF) și parametrii ecografici (GPI și semnalul vascular Doppler) s-au observat ameliorări semnificative. Anticorpii anti-GP2 s-au menținut relativ stabili în timp și fără utilitate ca markeri de activitate; în schimb, izotipul IgG a demonstrat o capacitate moderată de diferențiere între BC și CU.

Studiul 4. Studiul evoluției pacienților pediatrici cu boală Crohn prin analiza microbiotei intestinale

Scop/Obiective: Scopul studiului a fost caracterizarea microbiotei intestinale la pacienții pediatrici cu BC la diagnostic și evaluarea evoluției acesteia după tratamentul de inducere a remisiei. Obiectivele au vizat compararea microbiotei intestinale între pacienții cu BC și copiii sănătoși, analiza modificărilor microbiotei după inducerea remisiei, evaluarea dinamicii intra-individuale și explorarea corelațiilor cu parametrii de activitate a bolii.

Materiale și metode: Studiul a avut un design prospectiv analitic, fiind desfășurat în perioada 2022–2024 la SCUC Cluj-Napoca, și a inclus două grupuri: copii diagnosticați cu BC, precum și martori sănătoși. Evaluarea pacienților cu BC a avut loc la momentul includerii în studiu și la un moment ulterior de control. Aceasta a inclus scorul clinic (wPCDAI), markerii inflamatori serici și fecali (PCR, VSH, CF) și parametrii de ecografie intestinală. Analiza microbiotei intestinale din probe de materii fecale a fost realizată utilizând tehnologia NGS, atât pentru pacienții cu BC, cât și pentru grupul de control. Datele au fost procesate printr-un flux bioinformatic complex, care a inclus evaluarea diversității alfa (indicele Shannon) și a diversității beta prin Analiza Coordonatelor Principale (PCoA), bazată pe indicii de disimilaritate Bray–Curtis. Semnificația diferențelor a fost testată cu metode robuste, precum PERMANOVA și teste PERMANOVA pereche. Pentru caracterizarea detaliată a comunităților bacteriene, au fost efectuate analize suplimentare: identificarea nucleului microbial, reprezentarea grafică prin heatmap și detecția taxonilor diferențiali prin metoda LEfSe, cu corecție pentru testări multiple prin FDR (Rata Descoperirilor False). În plus, clasificarea Random Forest a permis ordonarea taxonilor în funcție de valoarea lor discriminativă între grupuri, iar robustețea modelului a fost verificată prin estimarea erorii Out-Of-Bag (OOB).

Rezultate: Studiul a inclus 10 pacienți pediatrici cu BC și 8 copii sănătoși; re-evaluarea completă a fost posibilă la 5 pacienți cu BC, toți aflați în RC, după un interval median de 14 săptămâni (IQR: 12–18) de la diagnostic. Diversitatea alfa, evaluată prin indicii

Shannon, a fost semnificativ mai redusă la pacienții cu BC comparativ cu martorii sănătoși ($p = 0,037$), fără diferențe semnificative între momentul diagnosticului și re-evaluare ($p = 0,21$). Analiza diversității beta a arătat o separare parțială între grupurile BC la diagnostic și martori ($p = 0,041$, FDR = 0,0615). A existat o asociere inversă puternică între indicele Shannon și scorul clinic wPCDAI ($r = -0,68$, $p = 0,028$). Corelațiile cu alți markeri inflamatori, inclusiv CRP, VSH, CF și GPI, nu au fost statistic semnificative. La nivel de compoziție bacteriană, pacienții cu BC au prezentat o reducere semnificativă a filumului *Firmicutes* ($p = 0,015$) și o creștere a *Bacteroidota* ($p = 0,021$) comparativ cu grupul sănătos. *Ruminococcus gnavus* a fost semnificativ mai abundent la diagnostic, atât prin analiza diferențială utilizând LEfSe ($p = 0,012$, LDA = 0,256), cât și prin clasificarea Random Forest, unde a fost identificat printre taxonii cu importanță majoră pentru separarea grupurilor. Totodată, *Escherichia coli* a prezentat o abundență crescută la pacienții cu BC la diagnostic comparativ cu martorii sănătoși ($p = 0,031$, LDA = 0,194).

La re-evaluare, în contextul RC, pacienții au continuat să prezinte o diversitate alfa redusă comparativ cu copiii sănătoși ($p = 0,028$). Comunitățile microbiene intestinale ale pacienților aflați în RC au rămas semnificativ diferite de cele ale martorilor (PERMANOVA $p = 0,005$, FDR = 0,015, $R^2 = 19,7\%$). *E. coli* a înregistrat o scădere marcată, dispărând complet din probele analizate, deși diferența nu a fost semnificativă statistic. În schimb, *Roseburia intestinalis* a prezentat o tendință de creștere la re-evaluare ($p = 0,0417$, FDR = 0,1516), iar *F. prausnitzii* tip G a fost identificată în nucleul microbial la 80% dintre pacienții cu BC la re-evaluare.

Concluzie: Prin analiza microbiotei intestinale la pacienții pediatrici cu BC din România, studiul de față a confirmat prezența unei disbioze marcate la momentul diagnosticului. La re-evaluare, deși pacienții se aflau în RC, compoziția microbială nu a revenit la un profil comparabil cu cel al copiilor sănătoși, menținându-se o diversitate alfa redusă și dezechilibre taxonomice, dar cu tendință de creștere a unor specii benefice, producătoare de butirat. Corelația inversă între indicele Shannon și scorul wPCDAI sugerează un potențial rol al diversității alfa ca marker de severitate a bolii.

Propunere de inițiere a unui Registru Național pentru bolile inflamatorii intestinale pediatrice în România

Acest studiu a avut ca obiectiv elaborarea unei propuneri de înființare a unui Registru Național dedicat BII cu debut pediatric, în contextul lipsei unui astfel de instrument în România. Registrul este conceput ca o platformă digitală securizată și standardizată, destinată colectării și monitorizării datelor clinice și paraclinice ale pacienților pediatrici cu BII, cu scopul de a integra practica clinică, cercetarea și politicile de sănătate.

Obiectivele sale includ: realizarea unei analize epidemiologice precise (incidență, prevalență, distribuție regională), monitorizarea longitudinală a evoluției bolii și a răspunsului la tratamente, identificarea discrepanțelor regionale în practica medicală, consolidarea colaborării între centrele de gastroenterologie pediatrică, fundamentarea politicilor de sănătate publică pe date reale și facilitarea participării la rețele internaționale și studii multicentrice.

Implementarea presupune respectarea strictă a normelor etice și de protecție a datelor (GDPR), colectarea standardizată a informațiilor la diagnostic și pe parcursul evoluției bolii, precum și raportări periodice centralizate. Finanțarea unui astfel de proiect poate fi asigurată printr-un parteneriat între societăți profesionale, asociații de pacienți, centre academice, autorități și industrie.

Crearea unui Registru Național pentru BII pediatrice reprezintă o necesitate strategică, cu beneficii majore atât pentru practica clinică și managementul pacienților, cât și pentru cercetarea științifică, aliniind România la standardele europene și internaționale.

CONCLUZII GENERALE

Incidența BIIp în Nord-Vestul României se menține printre cele mai scăzute din lume, dar cu o tendință de creștere semnificativă, în special pentru BC, iar caracteristicile fenotipice ale BIIp sunt similare celor raportate internațional. Pacienții pediatrici cu BC au evoluat favorabil sub NEE, obținând remisia clinică, vindecarea mucozală și îmbunătățirea statusului nutrițional, iar în unele cazuri chiar vindecare transmurală. Monitorizarea prospectivă, prin integrarea scorurilor clinice, a markerilor biologici și a ecografiei intestinale, a permis o evaluare modernă a evoluției bolii. Metodele inovative utilizate, precum determinarea anticorpilor anti-GP2, cu valoare confirmatorie pentru diagnosticul de BC, și analiza microbiotei intestinale, cu observarea persistenței disbiozei chiar și în remisie, au adus informații complementare relevante. În acest context, implementarea unui registru național pentru BIIp reprezintă o necesitate strategică pentru standardizarea datelor, îmbunătățirea îngrijirii și integrarea României în rețelele internaționale de cercetare.

Originalitatea și contribuțiile inovative ale cercetării doctorale

Teza aduce contribuții originale prin realizarea primei analize epidemiologice detaliate a BIIp din România, evidențiind incidența, tendințele temporale și particularitățile fenotipice regionale. Este prezentat primul studiu național privind evoluția copiilor cu BC tratați prin NEE, confirmând eficiența acestei terapii în inducerea remisiei clinice, mucozale și transmurale. Într-un cadru prospectiv, lucrarea integrează principiile moderne de tip treat-to-target printr-un model complex de monitorizare

clinică, biologică și imagistică. O contribuție importantă o reprezintă analiza, realizată în premieră în România, a profilului imunologic prin anticorpii anti-GP2 la copii cu BII și copii sănătoși, cu relevanță pentru diagnosticul diferențial și monitorizarea bolii. De asemenea, teza oferă prima caracterizare NGS a microbiotei intestinale la copii cu BC și la copii sănătoși din România, subliniind rolul microbiotei ca element integrat în tabloul bolii și potențială țintă terapeutică. În plus, este propusă înființarea unui registru național pentru BII pediatrică, cu impact major asupra practicii clinice, cercetării și alinierii la standardele internaționale.

PhD Thesis Summary

PhD THESIS

Epidemiology and Disease Course of Pediatric Inflammatory Bowel Disease

PhD Student: **Georgia Valentina TARTAMUȘ (TITA)**

PhD Supervisor: **Prof. Dr. Vasile Marcel TANȚĂU**



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA

TABLE OF CONTENTS

INTRODUCTION.....	1
CURRENT STATE OF KNOWLEDGE.....	3
1. General aspects.....	5
2. Epidemiology of pediatric inflammatory bowel disease	9
3. Diagnosis of pediatric inflammatory bowel disease	11
4. Assessment of the disease course in pediatric inflammatory bowel disease patients.....	21
PERSONAL CONTRIBUTION.....	31
1. Aims and objectives.....	33
2. General methodology.....	35
3. Study 1. Epidemiological study of pediatric inflammatory bowel disease in the North-West region of Romania.....	37
4. Study 2. Disease course of pediatric Crohn's disease patients under exclusive enteral nutrition.....	67
5. Study 3. Evolution of pediatric patients with Crohn's disease: a multidimensional evaluation.....	79
6. Study 4. Evolution of pediatric patients with Crohn's disease through the analysis of the intestinal microbiota	95
7. Proposal for the initiation of a national registry for pediatric inflammatory bowel disease in Romania	117
8. General conclusions.....	129
9. Originality and innovative contributions of the doctoral research.....	131
REFERENCES.....	133

Keywords: pediatric inflammatory bowel disease, Crohn's disease, incidence, remission, gut microbiota

LIST OF PUBLICATIONS

Full-length articles published as a result of the doctoral research

1. Georgia Valentina Tartamus Tita, Daniela Elena Serban, Cristina Rebeca Fogas, Marcel Vasile Tantau. Pediatric Inflammatory Bowel Disease in Romania: The First Epidemiological Study of the North-West Region (2000–2020). *Children* **2025**, *12*, 403. doi:10.3390/children12040403). *ISI Factor de impact JCR₂₀₂₄ – 2.1 (studiu cuprins în capitolul 3).*
2. Georgia Valentina Tartamus Tita, Daniela Elena Serban, Marcel Vasile Tantau. Two Decades of Pediatric Inflammatory Bowel Disease in North-Western Romania: Phenotypic Characteristics and Diagnostic Trends. *J. Clin. Med.* **2025**, *14*, 4597. doi: 10.3390/jcm14134597. *ISI Factor de impact JCR₂₀₂₄ – 2.9 (studiu cuprins în capitolul 3).*
3. Georgia Valentina Tartamus Tita, Daniela Elena Serban, Lacramioara Eliza Chiperi, Cristina Rebeca Fogas, Stefana Arlinda Medan, Marcel Vasile Tantau. Exclusive enteral nutrition in Crohn's disease pediatric patients: from clinical remission to transmural healing. *Med Pharm Rep.* **2025**;98(3):371-380. doi:10.15386/mpr-2900. BDI, Indexat Scopus, Pubmed, Pubmed Central, EBSCO, CNCSIS BDI (*studiu cuprins în capitolul 4).*

INTRODUCTION

Inflammatory bowel diseases (IBD), which mainly include Crohn's disease (CD), ulcerative colitis (UC), and unclassified IBD (IBD-U), are chronic inflammatory disorders of the digestive tract with a major impact on patients' quality of life. IBD primarily affects adolescents and young adults. In recent decades, research has highlighted a steady global increase in the incidence of these conditions, including among pediatric populations. The rising number of IBD cases in regions previously considered low-incidence requires increased attention to how patients are investigated, diagnosed, and subsequently monitored. Adequate monitoring significantly contributes to preventing complications, frequent relapses, and long-term disability.

CURRENT STATE OF KNOWLEDGE

IBD results from a complex interplay of genetic susceptibility, epigenetic changes, environmental factors, intestinal barrier dysfunction, and aberrant immune responses. Despite significant progress in recent decades, the precise mechanisms by which these factors converge to trigger and maintain chronic intestinal inflammation remain incompletely understood.

At the beginning of the 20th century, IBD was predominant in industrialized Western countries. Over the past decades, its incidence has also risen in industrializing regions from Asia and South America. In pediatrics, the highest incidence rates of IBD are reported in Finland, Minnesota (USA), and Poland, while the lowest are seen in Southeastern Europe and South America. Globally, pediatric IBD (pIBD) incidence continues to rise in at least one age category or disease group. However, some countries, such as Slovenia and England, suggest a possible stabilization of incidence rates.

Diagnosing pIBD is a complex process requiring a multidisciplinary, integrative approach, considering the wide variability of clinical manifestations and the overlap between CD, UC, and IBD-U. Early recognition and accurate diagnosis are crucial for initiating appropriate treatment and preventing complications. Diagnosis is based on the ESPGHAN Porto criteria (2014), which recommend detailed clinical evaluation, laboratory tests, upper gastrointestinal endoscopy, ileocolonoscopy with multiple biopsies, and small bowel imaging.

Anti-GP2 antibodies represent a potentially useful serological marker in differentiating CD from UC, with high specificity but relatively low sensitivity. Intestinal microbiome analysis also holds significant potential in differentiating IBD patients from healthy individuals. Numerous cross-sectional and prospective studies, using metagenomic sequencing and metabolomic analysis, consistently show marked alterations in the structure and function of intestinal microbial communities in CD and UC compared to healthy subjects.

The Paris classification represents a pediatric adaptation of the Montreal classification, developed to better capture disease phenotypes in children and adolescents with IBD by including age-specific features. This allows for more precise disease characterization and more individualized treatment and monitoring strategies.

Evaluating the evolution of pIBD patients requires an integrated approach centered on achieving clear therapeutic targets. The STRIDE II initiative proposes a stepwise monitoring model, starting with rapid clinical response and progressing to more complex objectives such as clinical remission, mucosal healing, and ideally transmural and endoscopic healing. The use of validated clinical scores alongside inflammatory markers such as C reactive protein (CRP) and fecal calprotectin (FC) allows for more precise and less invasive monitoring. Imaging methods (magnetic resonance enterography, intestinal ultrasound) and endoscopic evaluations remain essential in assessing the depth of therapeutic response, complementing clinical and biological data. In parallel, the growing interest in the intestinal microbiome opens new avenues of research, including for monitoring IBD patients. Integrating all these tools contributes to a comprehensive, patient-centered management approach, aimed at reducing long-term disease burden and supporting harmonious physical and psychosocial development.

PERSONAL CONTRIBUTION

This research was motivated by the need to provide a clearer and more objective picture of pIBD in Romania, through a series of studies addressing complementary dimensions of this complex pathology. The thesis first proposes an epidemiological analysis of pIBD in Romania. It then evaluates, retrospectively and prospectively, how pIBD patients are monitored, with emphasis on standardized methods as well as modern, non-invasive assessment tools. It highlights the importance of creating a National Pediatric IBD Registry to improve clinical management and support research in the field.

Study 1. Epidemiological study of pediatric inflammatory bowel disease in the North-West region of Romania

Aim/Objectives: The aim was to evaluate incidence rates and temporal trends of pIBD in the North-West region of Romania and compare them with international data. Phenotypic characteristics of patients were also analyzed.

Materials and Methods: This retrospective study included patients under 18 years old, residents of the North-West region of Romania (counties Cluj, Sălaj, Bistrița-Năsăud, Maramureș, Satu Mare, Bihor), diagnosed with IBD between January 1, 2000, and December 31, 2020, at the Emergency Clinical Children's Hospital (ECHC) Cluj-Napoca. Phenotypes were attributed according to the Paris classification. Incidence rates, annual percent change (APC), average annual percent change (AAPC), and 95% CI were calculated for IBD, CD, and UC. Temporal trends were analyzed using Joinpoint regression.

Results: A total of 94 patients were included (CD: 51.0%; UC: 43.6%; IBD-U: 5.4%), with a median age at diagnosis of 14 years (range: 11–15.7). The incidence rate was $0.79/10^5$ (± 0.74) for IBD, $0.4/10^5$ for CD (± 0.42), $0.34/10^5$ for UC (± 0.4), and $0.045/10^5$ (± 0.1) for IBD-U. Temporal trends showed a significant increase for IBD and CD, with APCs of 12 (95% CI: 6.5–17.7) for IBD, 13.1 (95% CI: 8–18.5) for CD, and 5.67 (95% CI: 1.5–13.4) for UC. Compared to similar studies, Romania ranks among the countries with the lowest pIBD incidence. Very early-onset cases accounted for 5.3%. The probability of CD diagnosis after the age of 10 was significantly higher compared to UC (OR = 4.75, 95% CI: 1.10–29.07, $p = 0.03$). UC most often presented as pancolitis (51.2%), and CD as ileocolonic disease (56.3%). The inflammatory phenotype was most common in CD (69%). Upper gastrointestinal involvement was documented in 18.7% of CD cases, more frequently after 2014. Perianal disease and growth delay were significantly associated with complicated CD behavior ($p = 0.03$ and $p = 0.007$). Overall results were consistent with international literature.

Conclusions: This study provides the first epidemiologic and detailed phenotypic characterization of pIBD in the North-West region of Romania. Although pIBD incidence in our region appears to be low, there was an important and significant increase in the incidence of overall pIBD and especially CD. Our findings reflect trends observed in other populations and underscore the importance of standardized diagnostic evaluation.

Study 2. Evolution of pediatric Crohn's disease patients under exclusive enteral nutrition

Aim/Objectives: Through this study, we aimed to evaluate the evolution of pediatric patients with CD in Romania, using exclusive enteral nutrition (EEN) as the method for induction of remission. The focus was placed on nutritional status, achievement of remission, and the impact of various factors on remission rates.

Materials and Methods: A retrospective observational study was conducted on consecutive pediatric CD patients from the ECHC Cluj-Napoca, who received EEN for induction of remission between 2007 and 2017. Clinical remission (CR) was defined as a wPCDAI score < 12.5, mucosal healing (MH) as a FC < 250 µg/g, and transmural healing (TH) as the association of MH with imaging remission assessed by intestinal ultrasound.

Results: Twenty CD patients were included (45% of the total cohort). The median age at diagnosis was 14.2 years (range: 9.9–18.4), and 65% were male. The mean duration of EEN was 7.84 ± 1.26 weeks. Body mass index (BMI) Z-scores increased significantly after EEN ($p = 0.02$). Hypoalbuminemia, present in 55% of patients at diagnosis, was completely corrected after treatment ($p = 0.00015$). CR was achieved in 82% of patients with clinically active disease, MH in 26% of those with microscopic activity, and TH in 20% of patients with imaging activity. No significant associations were found between CR or MH and factors such as age at diagnosis, disease behavior, disease localization, disease activity, or presence of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies. However, baseline clinical disease activity at the start of EEN (evaluated by the wPCDAI score) was inversely associated with the achievement of TH ($p = 0.004$).

Conclusions: This is the first study to report on EEN outcomes in pCD patients from Romania. EEN was effective in improving nutritional status and inducing CR, while MH was achieved in about one-quarter of patients. Additionally, TH was observed, although less frequently, and was negatively influenced by a higher level of baseline clinical disease activity.

Study 3. Evolution of pediatric patients with Crohn's disease: a multidimensional evaluation

Aim/Objectives: The aim of this study was to evaluate the evolution of pediatric patients with CD by integrating conventional methods (clinical score, inflammatory markers, intestinal ultrasound findings) with a complementary approach represented by the assessment of anti-GP2 antibodies. A primary objective was to determine the rates of CR, biological remission (BR), MH, and TH. Another objective focused on exploring the discriminative value of anti-GP2 antibodies (IgA and IgG) among different forms of IBD and on evaluating their dynamics under therapy. Additionally, correlations between the antibody profile and disease activity parameters were investigated.

Materials and Methods: This was a prospective analytical study conducted between 2022 and 2024 at ECHC Cluj-Napoca and included three groups: children diagnosed with CD, UC, and healthy controls. Monitoring of patients with CD was performed using a multidimensional approach that integrated validated clinical scores (wPCDAI), serum and fecal inflammatory markers (CRP, ESR, FC), and intestinal ultrasound assessment. Another component was the assessment of anti-GP2 antibodies (IgA and IgG) using the ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) method, applied to both patients with pIBD and healthy children.

Results: Thirteen pediatric patients with CD were included, with a median age at diagnosis of 14 years (IQR 12.5–16). Of these, 12 patients also underwent re-evaluation after a median interval of 18 weeks (IQR 13.5–20.2). At that time, 100% of patients were in CR, 75% in BR, 91.7% presented MH, and TH was achieved by 41.7% of patients. Statistical analysis demonstrated a significant improvement in the clinical wPCDAI score ($p = 0.0025$), serum inflammatory markers (CRP, $p = 0.014$; ESR, $p = 0.0068$), and fecal markers (FC, $p = 0.0019$), as well as significant increases in serum albumin ($p = 0.012$) and hemoglobin levels ($p = 0.0093$). On ultrasound, bowel wall thickness (BWT) showed a significant reduction ($p = 5.73 \times 10^{-6}$), and Doppler vascular signal decreased significantly ($p = 0.007$). Overall, 83.3% of patients showed imaging improvement, and 50% achieved imaging remission. Regarding anti-GP2 antibodies, no significant changes were observed between diagnosis and re-evaluation (IgG, $p = 0.68$; IgA, $p > 0.99$). ROC analysis indicated that anti-GP2 IgG antibodies had an AUC = 0.79, with a sensitivity of 53.8% and a specificity of 100% in differentiating BC from CU.

Conclusions: The study highlights the use of a multidimensional approach in monitoring the course of pediatric patients with CD. At the time of re-evaluation, most patients achieved CR, BR and MH, while a relevant proportion reached TH. Significant improvements were observed in the clinical score (wPCDAI), inflammatory marker levels (ESR, CRP, FC), and ultrasound parameters (BWT and Doppler vascular signal). Anti-GP2 antibodies remained relatively stable over time and did not demonstrate utility as activity

markers; in contrast, the IgG isotype showed a moderate ability to differentiate between BC and CU.

Study 4. Evolution of pediatric patients with Crohn's disease through the analysis of the intestinal microbiota

Aim/Objectives: The aim of this study was to characterize the gut microbiota of pediatric patients with CD at diagnosis and to assess its evolution following remission induction therapy. The objectives included comparing the intestinal microbiota between patients with CD and healthy children, analyzing microbiota changes after induction of remission, evaluating intra-individual microbiota dynamics, and exploring correlations with disease activity parameters.

Materials and Methods: This prospective analytical study was conducted between 2022 and 2024 at EHC Cluj-Napoca and included two groups: children diagnosed with CD, and healthy controls. The evaluation of patients with CD was performed at study inclusion and at a subsequent follow-up visit. It included the clinical score (wPCDAI), serum and fecal inflammatory markers (CRP, ESR, FC), and intestinal ultrasound parameters. Gut microbiota analysis from fecal samples was performed using NGS technology in both patients with CD and the control group. Data were processed through a complex bioinformatic pipeline, including alpha diversity assessment (Shannon index) and beta diversity by Principal Coordinates Analysis (PCoA) based on Bray–Curtis dissimilarity. Significance of differences was tested with robust methods such as PERMANOVA and pairwise PERMANOVA. For detailed characterization of bacterial communities, additional analyses were performed: identification of the microbial core, graphical representation through heatmaps, and detection of differential taxa using the LEfSe (Linear Discriminant Analysis Effect Size) method, with multiple-testing correction via FDR (False Discovery Rate). Furthermore, Random Forest classification was applied to rank taxa according to their discriminative value between groups, with model robustness verified through Out-Of-Bag (OOB) error estimation.

Results: The study included 10 pediatric patients with CD and 8 healthy children; complete re-evaluation was possible in 5 patients with CD, all in CR, after a median interval of 14 weeks (IQR: 12–18) from diagnosis. Alpha diversity (Shannon index) was significantly lower in CD patients compared with healthy controls ($p = 0.037$), with no significant differences between diagnosis and re-evaluation ($p = 0.21$). Beta diversity analysis revealed partial separation between CD at diagnosis and controls ($p = 0.041$, FDR = 0.0615). A strong inverse correlation was observed between Shannon index and the wPCDAI score ($r = -0.68$, $p = 0.028$). Correlations with other inflammatory markers, including CRP, ESR, CF, and GPI, were not statistically significant. At the bacterial composition level, CD patients showed a significant reduction in *Firmicutes* ($p = 0.015$) and an increase in *Bacteroidota* ($p = 0.021$) compared with controls. *Ruminococcus*

gnavus was significantly more abundant at diagnosis, confirmed both by LEfSe analysis ($p = 0.012$, LDA = 0.256) and Random Forest classification, where it was among the top taxa contributing to group separation. Similarly, *Escherichia coli* abundance was higher in CD patients at diagnosis compared with controls ($p = 0.031$, LDA = 0.194).

At re-evaluation, in the context of CR, patients continued to display reduced alpha diversity compared with healthy children ($p = 0.028$). The intestinal microbial communities of patients in CR remained significantly different from those of controls (PERMANOVA $p = 0.005$, FDR = 0.015, $R^2 = 19.7\%$). *E. coli* showed a marked decrease, disappearing completely from the analyzed samples, although the difference was not statistically significant. Conversely, *Roseburia intestinalis* showed a tendency to increase at re-evaluation ($p = 0.0417$, FDR = 0.1516), and *Faecalibacterium prausnitzii* type G was identified as part of the microbial core in 80% of CD patients at re-evaluation.

Conclusions: By analyzing the gut microbiota of pediatric patients with CD in Romania, the present study confirmed the presence of marked dysbiosis at the time of diagnosis. At re-evaluation, although patients were in CR, the microbial composition did not return to a profile comparable to that of healthy children, with persistently reduced alpha diversity and taxonomic imbalances, albeit with a tendency toward an increase in beneficial, butyrate-producing species. The inverse correlation between the Shannon index and the wPCDAI score suggests a potential role of alpha diversity as a marker of disease severity.

Proposal for the establishment of a National Registry for pediatric inflammatory bowel disease in Romania

The objective of this study was to develop a proposal for the establishment of a National Registry dedicated to pediatric-onset IBD, given the current lack of such a tool in Romania. The registry is designed as a secure and standardized digital platform for the collection and monitoring of clinical and paraclinical data of pediatric patients with IBD, with the aim of integrating clinical practice, research, and health policies.

Its objectives include: conducting accurate epidemiological analyses (incidence, prevalence, regional distribution), longitudinal monitoring of disease progression and treatment response, identifying regional discrepancies in medical practice, strengthening collaboration among pediatric gastroenterology centers, supporting health policy decisions with real-world data, and facilitating participation in international networks and multicenter studies.

Implementation requires strict compliance with ethical and data protection standards (GDPR), standardized collection of information at diagnosis and throughout disease progression, as well as centralized periodic reporting. Funding for such a project

could be ensured through a partnership between professional societies, patient associations, academic centers, authorities, and industry.

The creation of a National Registry for pIBD represents a strategic necessity, with major benefits for clinical practice and patient management, as well as for scientific research, aligning Romania with European and international standards.

GENERAL CONCLUSIONS

The incidence of pIBD in the North-West region of Romania remains among the lowest worldwide, but with a significant increasing trend, particularly for CD, while the phenotypic characteristics of pIBD are similar to those reported internationally. Pediatric patients with CD evolved favorably under EEN, achieving clinical remission, mucosal healing, and improved nutritional status, with some cases even reaching transmural healing. Prospective monitoring, through the integration of clinical scores, biological markers, and intestinal ultrasound, allowed for a modern evaluation of disease progression. Innovative methods such as the assessment of anti-GP2 antibodies, with confirmatory value for the diagnosis of CD, and the analysis of the intestinal microbiota, which revealed persistence of dysbiosis even in remission, provided complementary and relevant information. In this context, the implementation of a national registry for pIBD represents a strategic necessity for data standardization, improved patient care, and Romania's integration into international research networks.

Originality and innovative contributions of the doctoral research

The thesis provides original contributions by presenting the first detailed epidemiological analysis of pediatric IBD in Romania, highlighting incidence, temporal trends, and regional phenotypic characteristics. It also reports the first national study on the outcomes of children with BC treated with EEN, confirming the effectiveness of this therapy in inducing clinical, mucosal, and even transmural remission. In a prospective framework, the thesis integrates modern treat-to-target principles through a comprehensive model of clinical, biological, and imaging monitoring. A significant contribution is represented by the first analysis in Romania of the immunological profile through anti-GP2 antibodies in children with IBD and healthy controls, offering relevant insights for differential diagnosis and disease monitoring. Additionally, the thesis provides the first NGS-based characterization of the gut microbiota in children with BC and healthy children in Romania, highlighting the microbiota as an integral component of the disease and a potential therapeutic target. Furthermore, the thesis proposes the establishment of a national pediatric IBD registry, with major impact on clinical care, research, and alignment with international standards.