

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN
CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ**



**TEZĂ DE DOCTORAT
REZUMAT**

**CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:
PROF.UNIV.DR. FRANCISC MIXICH**

**STUDENT-DOCTORAND:
MIHAI GABRIEL CUCU**

**Craiova
2015**

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE DIN
CRAIOVA
ȘCOALA DOCTORALĂ**

IMPLICAREA AUTOFAGIEI ÎN TUBERCULOZĂ

**CONDUCĂTOR DE DOCTORAT:
PROF.UNIV.DR. FRANCISC MIXICH**

**STUDENT-DOCTORAND:
MIHAI GABRIEL CUCU**

**Craiova
2015**

CUPRINS

I STADIUL CUNOAȘTERII	
CAPITOLUL 1: ISTORICUL TUBERCULOZEI ÎNCA DIN ANTICHITATE	
1.1 <i>Introducere</i>	
1.2 <i>Teoria tuberculozei și tratamente în secolul XX</i>	
1.3 <i>Transmitere</i>	
1.4 <i>Prevenția tuberculozei</i>	
CAPITOLUL 2: EPIDEMIOLOGIE	
2.1 <i>Introducere</i>	
2.2 <i>Indicatori demografici</i>	
2.3 <i>Incidența</i>	
2.4 <i>Mortalitatea</i>	
2.5 <i>Tuberculoza multirezistența la tratament</i>	
2.6 <i>Coinfecția cu HIV</i>	
2.7 <i>Populație cu risc crescut</i>	
CAPITOLUL 3: AUTOFAGIA	
3.1 <i>Ce este autofagia?</i>	
3.2 <i>Mecanismul central al autofagiei</i>	
3.3 <i>Căile de semnalizare care reglează autofagia</i>	
3.4 <i>ATG5 și NOD2 în autofagie</i>	
II. CONTRIBUTII PERSONALE	
CAPITOLUL 4: SCOP ȘI OBIECTIVE	
CAPITOLUL 5: MATERIAL ȘI METODA.....	
5.1 <i>Includerea subiecților și formarea loturilor de studiu</i>	
5.2 <i>Recoltarea probelor biologice</i>	
5.3 <i>Analiza polimorfismelor genetice selectate</i>	
CAPITOLUL 6. REZULTATE.....	
6.1 <i>Caracteristicile loturilor studiate</i>	
6.2 <i>Echilibrul Hardy-Weinberg</i>	
6.3 <i>Polimorfisme genelor implicate în tuberculoza</i>	
CAPITOLUL 7: DISCUTII	
CAPITOLUL 8: CONCLUZII	
BIBLIOGRAFIE	

Introducere:

Tuberculoza este una dintre cele mai vechi boli care a afectat umanitatea, fiind descoperită încă din antichitate [1]. Fragmentele de schelet identificate sugerează faptul că tuberculoza a fost prezentă la oamenii preistorici (4000 i. Hr.) [1].

Franciscus Sylvius de la Bøe (1614-1672) a fost primul care a realizat descrierea anatomo-patologică și a susținut că tuberculoza pulmonară evoluează în trei etape:

- inflamația (formarea tuberculului),
- ulcerarea și

- ftizia, aceasta din urmă fiind confirmată și de Richard Morton care a descris o relație între glande, tuberculi și consumul pulmonar. Cei doi precizează că boala ar fi ereditară.

Primul care a vizualizat *Mycobacterium* a fost Gerhard Hansen (1873), *Mycobacterium leprae*, dar nu a putut dovedi cauza.

Etiologia infecțioasă a tuberculozei, a fost controversată până în anul 1882, când Robert Koch a descoperit bacilul tuberculozei, care îi poartă și numele și a implementat noi tehnici de obținere a culturilor pure de micobacterie.

Tuberculoza pulmonară se transmite pe cale aeriană, de la o persoană bolnavă la o persoană sănătoasă, prin intermediul picăturilor de salivă [2].

Persoanele care au contact prelungit, frecvent sau apropiat cu persoane cu tuberculoză, prezintă un risc mare de a se infecta, având o rată estimată de infecție de 22% [3].

Tuberculoza, declarată de Organizația Mondială a Sănătății la început de secol al XXI-lea drept urgență globală, constituie încă, în ciuda progreselor realizate în diagnosticul, tratamentul și urmărirea bolii, o provocare majoră pentru serviciile de sănătate din lumea întreagă [4-6].

Mai mult decât atât, TB se menține încă în grupul primelor zece cauze de moarte din întreaga lume, estimându-se că în jur de 1,5 milioane de oameni mor anual datorită acestei maladii [7,8].

Pe de altă parte, autofagia este considerată ca răspuns la stresul extra- sau intracelular și la semnale precum foamea, lipsa factorului de creștere, stresul reticulului endoplasmatic și infecția patogenă [9].

Autofagia incorectă joacă un rol semnificativ în patologii umane, incluzând cancerul, neurodegenerarea și bolile infecțioase.

În acest context, studiul nostru își propune evaluarea asocierii unor polimorfisme identificate la nivelul genelor implicate în procesul de autofagie, cum ar fi *ATG5* și *NOD2*, și susceptibilitatea la tuberculoza pulmonară în zona Europei de Est (România), o regiune unde aceste variante genetice nu au fost investigate până în prezent.

Cuvinte cheie: tuberculoza pulmonară, polimorfisme mononucleotidice, genotip, susceptibilitate

I STADIUL CUNOAȘTERII

Capitolul 1 ISTORICUL TUBERCULOZEI ÎNCĂ DIN ANTICHITATE

prezintă informații concrete despre ce este tuberculoza pulmonară, când au fost descoperite primele semne ale acestei afecțiuni și s-a realizat descriere anatomică și fiziologică a acesteia. Mai departe în acest capitol este prezentată evoluția tratamentului și a măsurilor preventive de vaccinare BCG.

În **capitolul 2** intitulat **Epidemiologie** se prezintă date recente despre ratele de incidență și mortalitate pentru tuberculoza pulmonară. În acest capitol sunt evidențiate diferențele dintre diferite regiuni ale globului și apoi la nivelul continentului European.

Capitolul 3 Autofagia, face referire la faptul că autofagia este un proces de auto-degradare a componentelor celulare în care autofagozomii cu membrană dublă, sechestrează organele sau porțiuni de citosol și fuzionează cu lizozomi pentru degradare folosind hidrolaze, fiind considerată ca răspuns la stresul extra- sau intracelular și la semnale precum foamea, lipsa factorului de creștere, stresul reticulului endoplasmatic și infecția patogenă.

II. CONTRIBUȚII PERSONALE

Capitolul 4. SCOP ȘI OBIECTIVE

Studiul nostru a pornit de la analiza frecvenței principalelor polimorfisme din gene implicate în mecanismul de acțiune al procesului de autofagie, cât și gene modulatori ale acestui mecanism pe două loturi de subiecți; un lot de subiecți cu tuberculoză pulmonară activă sau în antecedente și un al doilea lot de control. Scopul studiului a fost acela de a corela variantele alelice pentru polimorfismele studiate pe cele două loturi cu scăderea sau, dimpotrivă, creșterea susceptibilității la tuberculoză pulmonară pe o populație Est Europeană, respectiv din România.

Obiectivele studiului:

1. Determinarea frecvenței variantelor alelice pentru polimorfismul genei ATG5 studiat,
2. Determinarea frecvenței variantelor alelice pentru polimorfismul genei NOD2 studiat,
3. Corelarea rezultatelor și determinarea asocierii variantelor alelice studiate cu modificarea susceptibilității la tuberculoză pulmonară.

Toate obiectivele acestui studiu au fost îndeplinite cu succes.

Capitolul 5. MATERIAL ȘI METODĂ

Pentru acest studiu au fost înrolați un total de 586 subiecți încadrați în două loturi de studiu, și anume lotul "TB" și lotul „Control”. Pentru lotul TB au fost înrolați 256 subiecți, neînrușiți, diagnosticați cu tuberculoză pulmonară activă sau cu antecedente de tuberculoză pulmonară. În cadrul lotului Control au fost înrolați 330 de subiecți fără tuberculoză pulmonară activă sau în antecedente. Determinarea variantelor alelice s-a făcut prin tehnica Real-Time PCR, folosind două sisteme și anume ViiA7 (Life Technologies, Carlsbad, USA), respectiv RotorGene 6000 HRM-Corbett, folosind sonde TaqMan specifice pentru cele două polimorfisme cătate, respectiv ATG5 rs2245214 (c.574-1277G>C) și NOD2 rs2066844 (c.2104C>T).

Capitolul 6. REZULTATE

Pentru lotul TB au fost înrolați 256 subiecți, neînrușiți, diagnosticați cu tuberculoză pulmonară activă sau cu antecedente de tuberculoză pulmonară. Subiecții au fost diagnosticați conform standardelor naționale recomandate de către Programul Național de Control al Tuberculozei.

În cadrul lotului Control, au fost înrolați 330 de subiecți fără tuberculoză pulmonară activă sau în antecedente, comparativ ca vârstă cu cei din lotul TB.

Rezultatele au fost interpretate pe baza curbei de amplificare, generată de creșterea semnalului chemiluminiscent provenit de la coloranții folosiți, dar și comparând valorile absolute ale semnalului celor doi coloranți citite de cele două sisteme Real Time PCR folosite (ViiA7 - Life Technologies, Carlsbad, USA; respectiv RotorGene 6000 HRM-Corbett). Astfel, folosind sonda TaqMan, au fost identificate variantele alelice: C folosindu-se colorantul VIC și G folosindu-se colorantul FAM și genotipurile pe care le formează CC, CG și GG, pentru polimorfismul ATG5 rs2245214 (c.574-12777G>C), respectiv C folosindu-se colorantul VIC și T folosindu-se colorantul FAM și genotipurile pe care le formează CC, CT și TT, pentru polimorfismul NOD2 rs2066844 (c.2104C>T). Rezultatele obținute studiind cele două loturi, TB și Control, se regăsesc sintetizate în tabelele de mai jos.

ATG5 rs2245214	Genotip	TB	Control	CHI2, df	p
	CC	121	151		
	CG	101	131		
	GG	34	43		
G vs. C				0.04624, 2	0.9771

Frecvența genotipurilor polimorfismului ATG5 rs2245214 (c.574-12777G>C)

NOD2 rs2066844	Genotip	TB	Control	CHI2, df	p
	CC	240	307		
	CT	16	22		
	TT	0	1		
T vs. C				0.8224, 2	0.6629

Frecvența genotipurilor polimorfismului NOD2 rs2066844 (c.2104C>T)

Pentru a avea o imagine de ansamblu mai bună, am continuat analiza în model dominant și recesiv între genotip și fenotip, rezultatele fiind prezentate în tabelele de mai jos. Astfel, alela minoră G a polimorfismului intronic ATG5 rs2245214 (c.574-12777G>C) a înregistrat frecvențe comparabile între cele două loturi analizate, respectiv 33.01% în lotul TB și 33.38% în lotul Control, de asemenea alela minoră T a

polimorfismului „missense” NOD2 rs2066844 (c.2104C>T) a înregistrat frecvențe comparabile între cele două loturi analizate, respectiv 3.13% în lotul TB și 3.64% în lotul Control. Aceste frecvențe sunt asemănătoare cu cele prezente în populația europeană, după cum rezultă din studiul în studiul „1000 genomes”.

ATG5 rs2245214 (c.574-12777G>C)

Genotip	TB (% , n)	Control (% , n)
CC	20.83%, 121	25.99%, 151
CG	17.83%, 101	22.55%, 131
GG	5.85%, 34	7.4%, 43

Model dominant

OR 0.9956, p = 0.9858

Model recesiv

OR 1.0328, p = 0.8471

Analiza modelului dominant si recesiv pentru polimorfismul ATG5 rs2245214 (c.574-12777G>C)

NOD2 rs2066844 (c.2104C>T)

Genotip	TB (% , n)	Control (% , n)
CC	40.96%, 240	52.39%, 307
CT	2.73%, 16	3.75%, 22
TT	0	0.17%, 1

Model dominant

OR 2.3354, p = 0.6040

Model recesiv

OR 1.1238, p = 0.7289

Analiza modelului dominant si recesiv pentru polimorfismul NOD2 rs2066844 (c.2104C>T)

Capitolul 7. DISCUȚII

Tuberculoza pulmonară, provocată de infecția cu bacilul Mycobacterium tuberculosis, este principala cauză a decesului, de cauză infecțioasă, la nivel mondial.

Organizația Mondială a Sănătății [7] a raportat mai mult de 9,6 milioane de cazuri noi de tuberculoză în 2014. În același an, 1.5 milioane de pacienți au decedat din cauza acestei infecții severe.

Mycobacterium tuberculosis este transmis între persoane, în principal prin picăturile din aerosolii generați de pacienți cu boală pulmonară activă. Este capabilă să invadeze, să persiste și să se replice în interiorul macrofagelor, prin stoparea maturării fagozomilor și inhibarea fuziunii lizozom – fagozom [10].

Macrofagele pot controla această evaziune prin inducerea autofagiei, un proces celular elaborat prin care conținutul citoplasmatic, care include și bacili, este orientat spre degradarea lizozomală, reducând astfel încărcătura bacteriană din celulele infectate [10, 11].

Autofagia, proces conservat în timpul evoluției, mediază degradarea organelor sau proteinelor deficitare în condiții de stres sau de lipsă a energiei a celulei eucariote, cu scopul de a genera substanțele nutritive necesare [12, 13].

S-a demonstrat că autofagia modulează, de asemenea, inflamația în sistemul imunitar înăscut, precum și răspunsul imun dobândit [14].

Autofagia funcționează prin formarea unei structuri cu membrană dublă numită autofagom, care sechestrează materialul citosolic și ulterior, fuzionează cu lizozomul pentru a degrada și apoi elibera produsele rezultate înapoi în citosol [12].

Acest proces este reglementat de un set specific din familia de gene legate de autofagie (ATG) [103]. Odată ce procesul de autofagie este indus, diferite componente ale căii autofagiei, cum ar fi ATG5, ATG12, ATG16 și LC3, cooperează pentru a forma autofagomii și a livra materialul sechestrat către lizozom [15].

ATG5 este o genă centrală de reglementare în procesul autofagiei, fiind implicată în alungirea membranei autofagozomale [9, 16].

În plus, NOD2 (CARD15 sau NLRC2) este un membru important a familiei de gene NLR exprimate în macrofage, granulocite și monocite [17], care recunoaște atât bacteriile gram-pozitive, cât și cele gram negative [18, 19] și s-a dovedit a avea un rol important în controlarea procesului autofagiei [20].

O implicare clară a NOD2 în recunoașterea *Mycobacterium tuberculosis*, a fost demonstrată pe tulpinile de șoareci NOD2 - / - [21].

Pe de altă parte, rolul autofagiei pentru apărarea anti-micobacteriană a gazdei, a fost provocat printr-un studiu recent. Acesta a confirmat că ATG5 are un rol important în răspunsul gazdei la infecția micobacteriană, prin restrângerea creșterii *Mycobacterium tuberculosis*, ceea ce a pus în discuție rolul autofagiei în acest proces [10].

Pentru a investiga rolul autofagiei în apărarea gazdei împotriva tuberculozei, la om, am presupus că variantele genetice, cum ar fi polimorfismele mononucleotidice din genele ATG5 - rs2245214 (c.574-12777G> C) și NOD2 - rs2066844 (c.2104C> T), sunt asociate cu susceptibilitatea la tuberculoza pulmonară activă.

Autofagia a fost considerată o cale nouă și promițătoare, reprezentând o țintă pentru dezvoltarea unor vaccinuri mai bune și a unor noi medicamente concepute pentru a elimina *Mycobacterium tuberculosis* [22-25]. Studii recente au pus problema acestei ipoteze [10].

O abordare importantă în evaluarea rolului anumitor procese pentru apărarea gazdă împotriva tuberculozei la om, este de a investiga dacă profilul genetic influențează susceptibilitatea la infecție.

Din familia de gene ATG, ATG5 este un modulator important al procesului de autofagie, însărcinat cu expansiunea și închiderea structurii dublu membranare numită autofagom [26].

Există atât studii in-vivo, cât și in-vitro, axate pe autofagie și, mai specific, pe gena ATG5 și implicarea sa în tuberculoză. Studiile oferă rezultate diferite pentru abordarea in-vivo. Astfel, există fie o deficiență modestă în controlul macrofagului, după infecție, la tulpinile de șoareci, care nu au ATG5 în celulele mioeloide [27], fie una severă care conduce la un nivel mai ridicat de bacterii și moarte mai rapidă [10, 28].

Toate aceste constatări, indică faptul că autofagia și gena ATG5, sunt esențiale pentru controlul in vivo al Mycobacterium tuberculosis. Cu toate acestea, nu s-au putut trage concluzii clare cu privire la rolul polimorfismelor genetice în gena ATG5. Unele studii sugerează un impact asupra susceptibilității la tuberculoza pulmonară [10], deși nu au reușit să reproducă acest lucru [29]. În studiul de față, am încercat să investigăm această ipoteză, într-o cohortă românească cu tuberculoză, dar nu a putut fi observată influența asupra susceptibilității la infecție.

În plus, se știu puține despre sensibilitatea la tuberculoză a persoanelor care poartă variante alelice în gena NOD2. Rolul, potențial, jucat de gena NOD2 în infecția cu TB, a fost sugerat de două studii care au evidențiat implicarea acestei gene în recunoașterea Mycobacterium tuberculosis prin semnalizarea producției de citokine proinflamatorii [18, 21].

Studii recente au arătat că semnalizarea modulată de NOD2 poate iniția răspunsul autofagiei [30], care sechestrează bacteriile intracelulare în autofagozom [20] și limitează infecția [31]. NOD2 rs2066844 a fost asociat, în mai multe studii, cu susceptibilitate la alte afecțiuni patologice cronice, cum ar fi boala Crohn [32-35], schizofrenia [36] și astmul [37].

Cu toate acestea, nu am putut identifica o asociere între polimorfismul NOD2 rs2066844 (c.2104C> T) și riscul crescut de a dezvolta tuberculoză pulmonară activă. Această observație, cuplată și cu absența asocierii variantelor genetice ale polimorfismului ATG5 rs2245214 (c.574-12777G>C), sugerează că autofagia și Mycobacterium tuberculosis au o interacțiune complexă [29] și că procesul de autofagie poate fi redundant pentru apărarea gazdei împotriva tuberculozei, așa cum a fost sugerat recent [10].

O limitare a studiului actual este reprezentată de mărimea cohortelor, care nu au fost suficiente pentru a exclude rolul variantelor genetice ale genelor ATG5 și NOD2 în tuberculoza pulmonară. În plus, deoarece acest studiu a inclus atât subiecți diagnosticați recent cu tuberculoză pulmonară activă, cât și pe cei cu antecedente de TBC, acest lucru nu a permis evaluarea influenței genotipurilor ATG5 și NOD2 asupra gravității bolii.

Capitolul 8. CONCLUZII

Acesta este primul studiu care a evaluat rolul polimorfismelor genelor implicate în autofagie, într-o populație est-europeană, cu un număr mare de cazuri de tuberculoză pulmonară.

Rezultatele obținute în acest studiu sugerează că genotipurile ATG5 și NOD2 nu sunt asociate cu riscul de a dezvolta tuberculoză pulmonară activă.

De asemenea, nu s-a găsit nicio dovadă a unei interacțiuni între variantele genotipice ale ATG5 rs2245214 și NOD2 rs2066844.

Lipsa de asociere între polimorfismele studiate și susceptibilitatea la tuberculoză pulmonară constatată prin acest studiu, nu exclude posibilitatea ca alte polimorfisme mononucleotidice, din cele două gene (sau alte gene implicate în autofagie), să contribuie la riscul de dezvoltare a tuberculozei pulmonare active.

Limitările studiului sunt legate de:

- mărimea cohortelor, care nu au fost suficiente pentru a exclude rolul variantelor genetice ale genelor ATG5 și NOD2 în tuberculoza pulmonară.

- faptul că acest studiu a inclus atât subiecți diagnosticați recent cu tuberculoză pulmonară activă, cât și pe cei cu antecedente de TBC, acest lucru nu a permis evaluarea influenței genotipurilor ATG5 și NOD2 asupra gravității bolii.

Bibliografie selectiva

1. Lawn SD, Zumla AI: Tuberculosis. *The Lancet* 2011, 378(9785):57-72.
2. Cole EC, Cook CE: Characterization of infectious aerosols in health care facilities: an aid to effective engineering controls and preventive strategies. *American journal of infection control* 1998, 26(4):453-464.
3. Ahmed N, Hasnain SE: Molecular epidemiology of tuberculosis in India: moving forward with a systems biology approach. *Tuberculosis* 2011, 91(5):407-413.
4. Sterfarta A PM, Ciobanu O, Stoica A, Marin C, Plesea RM, Plesea IE: Head and neck tuberculosis – an attempt of assessing of the main clinical morphological aspects. *Current Health Sciences Journal* 2015(41 (Supple 3)):51-57.
5. Huplea V SA, Ciobanu O, Calin G, Sterfarta A, Marin C, Plesea RM, Popescu MR, Plesea IE: Osteoarticular tuberculosis – an attempt of assessing of the main clinical morphological aspects. *Current Health Sciences Journal* 2014(40 (Supple 14)):42-50.
6. Goletti D, Petruccioli E, Joosten SA, Ottenhoff TH: Tuberculosis biomarkers: from diagnosis to protection. *Infectious disease reports* 2016, 8(2).
7. Organization WH: Global tuberculosis report 2015. 2015.
8. Organization WH: Global tuberculosis report 2016. 2016..
9. Klionsky DJ: Autophagy: from phenomenology to molecular understanding in less than a decade. *Nature reviews Molecular cell biology* 2007, 8(11):931-937.
10. Kimmey JM, Huynh JP, Weiss LA, Park S, Kambal A, Debnath J, Virgin HW, Stallings CL: Unique role for ATG5 in neutrophil-mediated immunopathology during *M. tuberculosis* infection. *Nature* 2015, 528(7583):565-569.
11. Bento CF, Empadinhas N, Mendes V: Autophagy in the fight against tuberculosis. *DNA and cell biology* 2015, 34(4):228-242.
12. Xie Z, Klionsky DJ: Autophagosome formation: core machinery and adaptations. *Nature cell biology* 2007, 9(10):1102-1109
13. Levine B, Mizushima N, Virgin HW: Autophagy in immunity and inflammation. *Nature* 2011, 469(7330):323-335.
14. Deretic V, Levine B: Autophagy, immunity, and microbial adaptations. *Cell host & microbe* 2009, 5(6):527-549.
15. Youle RJ, Narendra DP: Mechanisms of mitophagy. *Nature reviews Molecular cell biology* 2011, 12(1):9-14.
16. Kuma A, Hatano M, Matsui M, Yamamoto A, Nakaya H, Yoshimori T, Ohsumi Y, Tokuhisa T, Mizushima N: The role of autophagy during the early neonatal starvation period. *Nature* 2004, 432(7020):1032-1036.
17. Gutierrez O, Pipaon C, Inohara N, Fontalba A, Ogura Y, Prosper F, Nuñez G, Fernandez-Luna JL: Induction of Nod2 in myelomonocytic and intestinal epithelial cells via nuclear factor- κ B activation. *Journal of Biological Chemistry* 2002, 277(44):41701-41705.
18. Girardin SE, Boneca IG, Viala J, Chamaillard M, Labigne A, Thomas G, Philpott DJ, Sansonetti PJ: Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *Journal of Biological Chemistry* 2003, 278(11):8869-8872.
19. Inohara N, Ogura Y, Fontalba A, Gutierrez O, Pons F, Crespo J, Fukase K, Inamura S, Kusumoto S, Hashimoto M: Host Recognition of Bacterial Muramyl Dipeptide Mediated through NOD2 IMPLICATIONS FOR CROHN' S DISEASE. *Journal of Biological Chemistry* 2003, 278(8):5509-5512.
20. Travassos LH, Carneiro LA, Ramjeet M, Hussey S, Kim Y-G, Magalhães JG, Yuan L, Soares F, Chea E, Le Bourhis L: Nod1 and Nod2 direct autophagy by recruiting ATG16L1 to the plasma membrane at the site of bacterial entry. *Nature immunology* 2010, 11(1):55-62.
21. Ferwerda G, Girardin SE, Kullberg BJ, Le Bourhis L, de Jong DJ, Langenberg DM, van Crevel R, Adema GJ, Ottenhoff TH, Van der Meer JW et al: NOD2 and toll-like receptors are nonredundant recognition systems of *Mycobacterium tuberculosis*. *PLoS pathogens* 2005, 1(3):279-285.

22. Liu PT, Stenger S, Tang DH, Modlin RL: Cutting edge: vitamin D-mediated human antimicrobial activity against *Mycobacterium tuberculosis* is dependent on the induction of cathelicidin. *The Journal of Immunology* 2007, 179(4):2060-2063.
23. Fabri M, Stenger S, Shin D-M, Yuk J-M, Liu PT, Realegeno S, Lee H-M, Krutzik SR, Schenk M, Sieling PA: Vitamin D is required for IFN- γ -mediated antimicrobial activity of human macrophages. *Science translational medicine* 2011, 3(104):104ra102-104ra102.
24. Jounai N, Kobiyama K, Shiina M, Ogata K, Ishii KJ, Takeshita F: NLRP4 negatively regulates autophagic processes through an association with beclin1. *The Journal of immunology* 2011, 186(3):1646-1655.
25. Saitoh T, Akira S: Regulation of innate immune responses by autophagy-related proteins. *The Journal of cell biology* 2010, 189(6):925-935.
26. Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ: Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature* 2008, 451(7182):1069-1075.
27. Castillo EF, Dekonenko A, Arko-Mensah J, Mandell MA, Dupont N, Jiang S, Delgado-Vargas M, Timmins GS, Bhattacharya D, Yang H et al: Autophagy protects against active tuberculosis by suppressing bacterial burden and inflammation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2012, 109(46):E3168-3176.
28. Watson RO, Manzanillo PS, Cox JS: Extracellular *M. tuberculosis* DNA targets bacteria for autophagy by activating the host DNA-sensing pathway. *Cell* 2012, 150(4):803-815.
29. Songane M, Kleinnijenhuis J, Alisjahbana B, Sahiratmadja E, Parwati I, Oosting M, Plantinga TS, Joosten L, Netea MG, Ottenhoff T: Polymorphisms in autophagy genes and susceptibility to tuberculosis. *PLoS one* 2012, 7(8):e41618.
30. Cooney R, Baker J, Brain O, Danis B, Pichulik T, Allan P, Ferguson DJ, Campbell BJ, Jewell D, Simmons A: NOD2 stimulation induces autophagy in dendritic cells influencing bacterial handling and antigen presentation. *Nature medicine* 2010, 16(1):90-97.
31. Homer CR, Richmond AL, Rebert NA, Achkar JP, McDonald C: ATG16L1 and NOD2 interact in an autophagy-dependent antibacterial pathway implicated in Crohn's disease pathogenesis. *Gastroenterology* 2010, 139(5):1630-1641. e1632.
32. Hugot J-P, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard J-P, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M: Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001, 411(6837):599-603.
33. Ogura Y, Bonen DK, Inohara N, Nicolae DL, Chen FF, Ramos R, Britton H, Moran T, Karaliuskas R, Duerr RH: A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001, 411(6837):603-606.
34. Economou M, Trikalinos TA, Loizou KT, Tsianos EV, Ioannidis JP: Differential effects of NOD2 variants on Crohn's disease risk and phenotype in diverse populations: a metaanalysis. *The American journal of gastroenterology* 2004, 99(12):2393-2404.
35. Kanaan ZM, Eichenberger MR, Ahmad S, Weller C, Roberts H, Pan J, Rai SN, Petras R, Weller EB, Jr., Galandiuk S: Clinical predictors of inflammatory bowel disease in a genetically well-defined Caucasian population. *Journal of negative results in biomedicine* 2012, 11:7.
36. van Schijndel JE, van Loo KM, van Zweeken M, Djurovic S, Andreassen OA, Hansen T, Werge T, Kallunki P, Pedersen JT, Martens GJ: Three-cohort targeted gene screening reveals a non-synonymous TRKA polymorphism associated with schizophrenia. *Journal of psychiatric research* 2009, 43(15):1195-1199.
37. Kabesch M, Peters W, Carr D, Leupold W, Weiland SK, von Mutius E: Association between polymorphisms in caspase recruitment domain containing protein 15 and allergy in two German populations. *Journal of allergy and clinical immunology* 2003, 111(4):813-817.

CURRICULUM VITAE

Date personale:

Nume și prenume: Cucu Mihai Gabriel

Data și locul nașterii: 26.09.1987, Craiova, Dolj

Cetățenie: Română

E-mail: cucu_mihai_gabriel@yahoo.com

Studii:

- 2006 – 2012: Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie, Craiova, Dolj
- 2002 – 2006: Liceul de Informatică „Ștefan Odobleja”, Craiova, Dolj

Activitate profesională:

- Ianuarie 2013 – decembrie 2016: medic rezident în specialitatea Genetică Medicală – Spitalul Clinic Județean de Urgență Craiova

Activitate didactică și științifică:

- Septembrie 2016 – prezent: Asistent cercetare, membru al echipei de cercetare din cadrul proiectului FUSE (Genomica Funcțională în infecții SEvere)
- Octombrie 2015 – prezent: Asistent cercetare, membru al echipei de cercetare din cadrul proiectului RID-TB (Rolul factorilor Imunogenetici și al deficitului de vitamină D în TuBerculoză)
- Aprilie 2013 – prezent: Asistent cercetare, membru al echipei de cercetare din cadrul proiectului FP7 (The Seventh Framework Programme) – T ANDEM (Concurrent Tuberculosis and Diabetes Mellitus; unravelling the causal link, and improving care)
- Octombrie 2012 – prezent: Doctorand al Universității de Medicină și Farmacie din Craiova, Disciplina Biologie Celulară și Moleculară

Cursuri:

- Curs Româno – German de Genetică – Ediția a-8-a, “Genetica Medicală Astăzi”, Oradea, 30.08 – 01.09.2015
- “Dysmorphology and Radiology of Inborn Errors of Metabolism”, Manchester, United Kingdom, 16-17 Octombrie 2014

Publicații:

- Cimpeanu RA, Popescu DM, Burada F, Cucu MG, Gheonea DI, Ioana M, Rogoveanu I: miR-149 rs2292832 C>T polymorphism and risk of gastric cancer. Romanian journal of morphology and embryology = Revue roumaine de morphologie et embryologie 2017, 58(1):125-129.
- Cucu MG, Streata I, Riza AL, Cimpoeru AL, Șerban-Șoșoi S, Ciocoiu A, Pleșea RM, Popescu EL, Dorobanțu Ș, Anghel A, Stroe AM. Polymorphisms in autophagy genes and active pulmonary tuberculosis susceptibility in Romania. Revista Romana de Medicina de Laborator. 2017 Mar 1;25(1):47-53.
- C.D. Uscatu, Elena-Raluca Nicoli, T. Dumitrescu, Ioana Streată, Simona Serban-Sosoi, M. Cucu, A. Barbalan, I. Munteanu, Amelia Dobrescu, F. Mixich (2014). Autophagy and colorectal cancer, Current Health science journal vol. 40, suppl. 1, 13-19.
- Nicoli, E. R., Ivanov, P., Cucu, M. G., Al Eisa, N., Dumitrescu, T., Serban Sosoi, S., Cimpoeru, A., Streata, I., & Popescu, F. (2013). Experimental animal models for intestinal inflammation. Current Health science journal vol. 39, suppl. 5, 12-15.
- Ivanov P., Nicoli E-R., Lungulescu D., Streată I., Cucu M. G., Dumitrescu T., Smarandache C. & Popescu F. (2013). Pharmacogenetics of chemotherapeutic agents in colorectal cancer, Current Health Science Journal.
- Cimpoeru A., Streată I., Cucu M., Nicoli E. R., Șerban -Șoșoi S., Marchian S., Verdeș D. & Cruce M. (2013). Polymorphisms in Cytokines and Toll-Like Receptor Genes and Susceptibility to Tuberculosis. Current Health Science Journal.
- E. Stefan, Ioana Streata, F. Gherghina, Alina Cimpoeru, M. Cucu, F. Petrescu, M. Cruce, F. Burada, (2013); IL-1B -511C>T POLYMORPHISM IS NOT CORRELATED WITH OSTEOARTHRITIS SUSCEPTIBILITY; Annals of RSCB; Vol. XVIII, Issue 1/2013
- M. G. CUCU, A. L. CIMPOERU, R. M. PLEȘEA, A. CIOCOIU, E. BURADA, E. L. POPESCU, F. MIXICH, 2015; Frequency of NOD2 rs2066844 C/T polymorphism in a Romanian population; Annals of R.S.C.B., Vol. XIX, Issue 3, 2015, pp. 105 – 109
- M. G. Cucu, A. L. Riza, A. L. Cimpoeru, I. Streata, S. Serban Sosoi, M. S. Ciontea, I. Capitanescu, M. Ioana, M. Olaru, F. Mixich; 2016; Implication of TLR2 polymorphism in pulmonary tuberculosis; Annals of R.S.C.B., Vol. XX, Issue 1, 2016, pp. 21 - 25