

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL (UFRGS)
CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR**

GABRIELA FLORES GONÇALVES

**ANÁLISE TRANSCRITÔMICA DE RNAs LONGOS NÃO CODIFICANTES (lncRNAs)
DURANTE INFECÇÃO POR *Candida albicans***

**PORTO ALEGRE
2022**

Gabriela Flores Gonçalves

ANÁLISE TRANSCRITÔMICA DE RNAS LONGOS NÃO CODIFICANTES (lncRNAs)
DURANTE INFECÇÃO POR *Candida albicans*

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular do Centro de Biotecnologia da UFRGS como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Orientador: Dr. Márcio Dorn
Coorientadora: Dr^a. Joice de Faria Poloni

Porto Alegre
Outubro, 2022

Gabriela Flores Gonçalves

ANÁLISE TRANSCRITÔMICA DE RNAs LONGOS NÃO CODIFICANTES (lncRNAs)
DURANTE INFECÇÃO POR *Candida albicans*

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular do Centro de Biotecnologia da UFRGS como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências.

Data de Aprovação: 07/10/2022

Banca Examinadora

Dr. Márcio Dorn
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Centro de Biotecnologia / Instituto de Informática
Orientador

Dr^a. Joice de Faria Poloni
Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul
Escola de Ciências da Saúde e da Vida
Coorientadora

Dr. Bruno César Feltes
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Departamento de Biofísica

Dr^a Fabiana Quoos Mayer
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Centro de Biotecnologia

Dr^a Livia Kmetzsch Rosa e Silva
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Centro de Biotecnologia

Ficha catalográfica

Este trabalho foi desenvolvido integralmente no Laboratório de Bioinformática Estrutural e Biologia Computacional (SBCB), situado no Instituto de Informática da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), com financiamento da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

AGRADECIMENTOS

Muitas vezes tenho dificuldade de expressar meus sentimentos em palavras, ainda mais a gratidão. Enquanto planejo minhas palavras, já sinto um leve constrangimento só de pensar que alguém vá ler esses parágrafos. Ainda assim, muitas pessoas foram importantes na minha trajetória e merecem um espaço aqui. Vou dar destaque a algumas.

Começo agradecendo à minha família, em especial à minha irmã Mariana. "Mais que irmãs, sisters". Obrigada por todo o apoio durante os últimos anos, seja na construção da nossa família paralela ou apaziguando os cachorros todas as vezes que eu precisei fugir do caos para assistir a uma aula ou participar de reuniões.

Agradeço a todas as professoras que me orientaram em projetos de ensino, pesquisa e extensão durante a graduação e contribuíram de forma tão importante com a minha formação. Em especial, à professora Juliana por ter me incentivado a participar do meu primeiro projeto na universidade e por fazer a diferença na vida dos alunos com seus conhecimentos e gentileza.

Agradeço aos funcionários e professores do PPGBCM, à UFRGS e à CAPES por viabilizarem o funcionamento do programa, minha participação nele e pelo apoio durante esses anos.

Aos colegas e amigos que fiz até agora, obrigada por todos os momentos compartilhados.

Por fim, registro meu profundo agradecimento ao professor Márcio e à Joice por terem me recebido no laboratório e aceitado me orientar. Antes mesmo de conhecerem, eles e o laboratório ajudaram a aflorar minha curiosidade e entusiasmo com a área da bioinformática e com a pesquisa a partir dos eventos da EGB de 2017 e 2019. Agradeço por todo apoio, incentivo, dicas e compreensão desde 2020, por terem contribuído imensamente com a minha formação e por se fazerem tão presentes durante meu período no mestrado, mesmo diretamente das suas casas.

Obrigada!

RESUMO

Fungos do gênero *Candida* estão presentes na microbiota da maioria das pessoas sem causar qualquer prejuízo ao hospedeiro. No entanto, são fungos comensais oportunistas e podem tornar-se patogênicos em pessoas imunocomprometidas ou que apresentem disbiose. A espécie *Candida albicans* é uma das principais isoladas em pacientes acometidos por infecções fúngicas. Devido a sua importância médica, aspectos moleculares relacionados à infecção por *C. albicans* são frequentemente investigados. No entanto, poucos estudos têm avaliado o papel de RNAs longos não codificantes (lncRNAs) em resposta a infecções causadas por *C. albicans* ou outros fungos. A caracterização de novas moléculas nesse contexto pode ser promissora para a identificação de novos alvos terapêuticos ou diagnósticos. O presente trabalho tem como proposta a investigação do papel de lncRNAs durante a resposta imune a *C. albicans*, utilizando dados de RNA-Seq. Três abordagens foram utilizadas para a seleção dos genes de interesse: análise de expressão diferencial, análise de redes de co-expressão de genes e seleção de genes com base em aprendizado de máquina. A maioria dos lncRNAs selecionados não possuem anotação funcional. Dessa forma, uma abordagem de *guilt by association* foi utilizada para inferir a relação entre essas moléculas e os processos biológicos designados aos seus genes codificadores de proteínas co-expressos. Nesse trabalho propomos que lncRNAs expressos em resposta à infecção por *C. albicans* possam estar associados a funções biológicas envolvidas na inflamação, angiogênese e neutralização e degradação de patógeno.

Palavras-chave: RNA longo não codificante; *Candida albicans*; Transcritômica; Bioinformática; Resposta imune.

ABSTRACT

Candida genus fungi are present in the microbiota of most people without causing impairment to the host. However, those fungi are opportunistic commensals and can become pathogenic in immunocompromised individuals or individuals presenting dysbiosis. *Candida albicans* is the most commonly isolated species in patients affected with fungal infections. Due to its clinical importance, molecular aspects of *C. albicans* infections are frequently investigated. Although, few studies had evaluated the role of long non coding RNAs (lncRNAs) during response to infections caused by *C. albicans* or other fungi. The characterization of new molecules in this context may be promising for the identification of new therapeutic or diagnostic targets. The present work aims to investigate the role of lncRNAs during the immune response to *C. albicans*, using RNA-Seq data. Three approaches were employed to select genes of interest: differential expression gene analysis, co-expression genes network analysis, and gene selection based on machine learning. Most of the selected lncRNAs lack functional annotation. Therefore, a guilt by association strategy was employed to infer the relation between these molecules and the biological processes assigned to its co-expressed protein coding genes. In this work, we propose that lncRNAs expressed in response to *C. albicans* infection may be involved in inflammation, angiogenesis, and pathogen neutralization and degradation.

Keywords: Long non coding RNA; *Candida albicans*; Transcriptomics; Bioinformatics; Immune response.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Morfologias adotadas por fungos <i>Candida albicans</i>	16
Figura 2 – Componentes e organização da parede celular de <i>Candida albicans</i>	17
Figura 3 – Estágios da interação entre <i>Candida albicans</i> e o hospedeiro: contato, adesão, invasão e dano	18
Figura 4 – Receptores de reconhecimento de padrão, padrões moleculares associados a patógenos, vias e produtos relacionados a monócitos, macrófagos, neutrófilos e células dendríticas	21
Figura 5 – Classificação dos lncRNAs de acordo com sua localização no genoma	25
Figura 6 – Versão atualizada do dogma central da Biologia, incluindo os RNAs longos não codificantes	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Als	<i>Agglutinin-like sequence</i>
ceRNA	RNA competidor endógeno
EPS	Substâncias poliméricas extracelulares, do inglês <i>extracellular polymeric substance</i>
FGF	Fator de crescimento dos fibroblastos, do inglês <i>fibroblast growth factor</i>
GO	Ontologia gênica, do inglês <i>gene ontology</i>
IL-1	Interleucina 1
IL-6	Interleucina 6
IL-12	Interleucina 12
IL-17	Interleucina 17
INF- γ	Interferon- γ
lncRNA	RNA longo não codificante, do inglês <i>long non-coding RNAs</i>
miRNA	Micro RNA
mRNA	RNA mensageiro
MYC	<i>MYC proto-oncogene, bHLH transcription factor</i>
NF- κ B	Fator nuclear κ B
NLR	Receptor similar ao domínio de oligomerização ligante de nucleotídeo, do inglês <i>Nucleotide oligomerization domain (Nod)-like receptor</i>
NLRP3	Proteína 3 que contém domínio de pirina da família NLR, do inglês <i>NLR family pyrin domain-containing 3</i>
NLRP10	Proteína 10 que contém domínio de pirina da família NLR, do inglês <i>NLR family pyrin domain-containing 10</i>
NO	Óxido nítrico, do inglês <i>nitric oxide</i>
ORF	Fase de leitura aberta, do inglês <i>open reading frame</i>
PAMP	Padrões moleculares associados a patógeno, do inglês <i>pathogen associated molecular pattern</i>
PRR	Receptor de reconhecimento de padrão, do inglês <i>pattern recognition receptors</i>
ROS	Espécie reativa de oxigênio, do inglês <i>reactive oxygen species</i>
RRP	Receptores de reconhecimento de padrão
Sap	Proteinase aspártica secretada, do inglês <i>secreted aspartic proteinase</i>
Th1	Linfócito T auxiliar 1, do inglês <i>T helper lymphocyte 1</i>
Th17	Linfócito T auxiliar 17, do inglês <i>T helper lymphocyte 17</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	<i>Candida</i> spp.	12
1.1.1	Aspectos Epidemiológicos de <i>Candida</i> spp.	12
1.1.2	Diagnóstico e tratamento	14
1.1.3	Morfologia de <i>Candida albicans</i>	15
1.1.4	Mecanismos patogênicos	16
1.1.5	Resposta imune do hospedeiro	19
1.1.6	Modulação do sistema imune pelo patógeno	22
1.2	RNAs LONGOS NÃO CODIFICANTES	23
1.2.1	LncRNAs envolvidos na resposta imune	27
2	OBJETIVOS	29
2.1	OBJETIVO GERAL	29
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	29
3	RESULTADOS	30
3.1	Artigo científico	30
4	DISCUSSÃO	31
5	CONCLUSÃO	35
	REFERÊNCIAS	36
	ANEXO A – CURRICULUM VITÆ RESUMIDO	44

1 INTRODUÇÃO

1.1 *Candida* spp.

A microbiota é constituída por diversos microrganismos, incluindo bactérias, vírus, protozoários e fungos, presentes em um ambiente. Fungos compõem 0,01% do total de sequências identificadas na microbiota humana, com os gêneros *Saccharomyces*, *Malassezia* e *Candida* como os mais abundantes (NASH et al., 2017).

O gênero *Candida* conta com cerca de 200 espécies, sendo que pelo menos 16 podem causar doenças em humanos (TURNER; BUTLER, 2014; LOCKHART et al., 2017). Esses fungos contam com morfologia de leveduras e são comensais oportunistas. Fungos do gênero *Candida* integram a microbiota de pessoas saudáveis sem causar problemas, mas podem se tornar patogênicos em casos de comprometimento do sistema imune do hospedeiro ou disbiose. Em estudo prévio, a espécie *Candida albicans* foi encontrada em 80,8% das amostras de microbiota de pessoas saudáveis analisadas (NASH et al., 2017). Uma pesquisa realizada em 2012 estimou que *C. albicans* é responsável por 400.000 infecções invasivas por ano no mundo inteiro (BROWN et al., 2012).

O tratamento da candidíase invasiva apresenta algumas dificuldades. Os métodos recomendados para a identificação de isolados *Candida* podem ser custosos em termos de tempo e dinheiro. Somado a isso, a falta de sintomas específicos nessa patologia pode ocasionar a demora no diagnóstico e início do tratamento (PAPPAS et al., 2018). O estudo molecular dessas infecções pode ser utilizado para a elaboração de novas formas de diagnóstico e proposta de novos alvos terapêuticos para tratamento. Sendo assim, a pesquisa de moléculas pouco exploradas nesse contexto apresenta grande potencial. O potencial regulatório dos RNAs longos não codificantes (do inglês *long non-coding RNAs*, lncRNAs) foi observado em diferentes patologias, incluindo câncer (WEI; ZHOU, 2016) e infecções por patógenos como *Mycobacterium tuberculosis* (FU et al., 2017). Alguns estudos já relataram a associação dessas moléculas à resposta imune durante infecções. Contudo, por receberem destaque apenas nos últimos anos, muitos lncRNAs ainda não tiveram sua função biológica descoberta.

1.1.1 Aspectos Epidemiológicos de *Candida* spp.

As doenças ocasionadas por espécies *Candida* podem ser classificadas como candidíases e candidemia, de acordo com o local da infecção. As infecções denominadas candidíase são observadas em locais superficiais como a pele, boca e mucosa genital. As infecções que alcançam

locais internos, como trato gastrointestinal, coração e pulmão, são mais graves e determinadas como candidíase invasiva. A candidíase invasiva pode atingir a corrente sanguínea, nesses casos sendo classificada como candidemia, e dessa forma tem potencial para se disseminar a outros órgãos e se tornar uma infecção sistêmica (KULLBERG; ARENDRUP, 2015; PLANTINGA et al., 2012).

Devido à sua característica comensal, os fungos *Candida* spp. interagem de forma equilibrada com hospedeiros saudáveis, enquanto podem tornar-se patógenos oportunistas em indivíduos imunocomprometidos ou com disbiose. Fatores de risco para desenvolvimento de candidemia incluem doenças autoimunes, realização de hemodiálise, quimioterapia ou tratamento com antibióticos, transplante recente ou uso de equipamentos invasivos como sondas e cateteres (WANG, 2015; PLANTINGA et al., 2012). Desta forma, a candidemia é recorrente em pacientes em ambientes hospitalares (BROWN; NETEA, 2012), enquanto a candidíase superficial é comum tanto nesses pacientes quanto no restante da população. No entanto, é importante ressaltar que alguns subgrupos apresentam fatores de risco à candidíase. Recém nascidos e idosos não possuem sistema imune tão eficiente quanto outros grupos etários, portanto estão mais predispostos a infecções fúngicas (CZECHOWICZ et al., 2022). Locais úmidos como o canal vaginal também propiciam a colonização e infecção fúngica, estima-se que 75% dessa subpopulação enfrenta infecção por *C. albicans* pelo menos uma vez na vida (CZECHOWICZ et al., 2022).

Em revisão de dados disponíveis na literatura, foi constatado que o Brasil foi o segundo país com maior incidência estimada de candidemia entre os 39 países analisados. Estimaram que candidemia pode afetar 14,9 a cada 100.000 habitantes do país, ficando atrás apenas do Paquistão (BONGOMIN et al., 2017). Os países com menores valores foram Jamaica, Áustria e Portugal. Os autores também relataram que países com renda média apresentaram maiores valores de incidência estimada e que não havia dados sobre países mais pobres, possivelmente por não utilizarem cultura celular para diagnóstico de candidemia (BONGOMIN et al., 2017).

Um estudo realizado em 16 hospitais do Brasil entre 2007 e 2010 apontou *Candida* spp. como o 7º principal grupo de microrganismos relacionados a infecções sanguíneas em pacientes internados (DOI et al., 2016). *C. albicans* foi a espécie mais prevalente, correspondendo a 34,3% dos isolados, enquanto outras 8 espécies do gênero *Candida* foram identificadas como os patógenos restantes. Outro estudo (CANELA et al., 2018), também realizado no Brasil, indicou que 44% dos isolados em pacientes com candidemia correspondiam a *C. albicans*, com 4 outras espécies representando os demais. Em alguns hospitais, a mortalidade em decorrência

da infecção por *C. albicans* pode variar de 52% (CANELA et al., 2018) até 72% (DOI et al., 2016), enquanto pode atingir 59% em infecções por *C. auris* (LOCKHART et al., 2017).

C. albicans é a espécie mais comum a ser identificada em casos de infecção, no entanto, é importante observar que outras espécies do gênero *Candida* estão emergindo e tornando-se motivo de preocupação, como *C. glabrata*, *C. parapsilosis* (PFALLER et al., 2019) e *C. auris*. *C. auris* foi isolado pela primeira vez no Japão em 2009 e desde então tem sido identificado em outros países, incluindo África do Sul, Brasil, Índia, Paquistão e Venezuela (LOCKHART et al., 2017; JR et al., 2021).

1.1.2 Diagnóstico e tratamento

Indivíduos com candidíase invasiva não apresentam sintomas específicos (PAPPAS et al., 2018). Os profissionais da saúde responsáveis recorrem ao diagnóstico de candidíase invasiva quando há fatores de risco para a infecção e febre persistente após o uso de antibióticos (PAPPAS et al., 2018). O método diagnóstico considerado o padrão ouro é a cultura celular (MCCARTY et al., 2021), no entanto, essa não é uma prática adotada ou mesmo viável em muitos hospitais, além de demorar aproximadamente 96 horas para a obtenção do resultado de identificação da espécie invasora. A técnica MALDI-TOF também pode ser utilizada para o diagnóstico da infecção, com a vantagem de demorar cerca de 24 a 36 horas a menos quando comparada ao padrão ouro (MCCARTY et al., 2021). A agilidade e identificação correta do organismo são cruciais para iniciar o tratamento da infecção (ROCHA et al., 2021). Antes mesmo do início do tratamento é importante que a fonte da infecção seja determinada e neutralizada. Por exemplo, no caso da infecção ter iniciado em local associado a um cateter, o uso do equipamento médico deverá ser interrompido (PAPPAS et al., 2018).

O tratamento contra candidemia nem sempre é efetivo devido à resistência de algumas espécies ou isolados às principais classes de fármacos antifúngicos utilizadas, como o azol, polieno e equinocandina (FRÍAS-DE-LEÓN et al., 2020). O mecanismo de ação dos azóis é a inibição da síntese de ergosterol, molécula importante para a formação adequada da membrana celular dos fungos *Candida*. Além disso, também agem impedindo a transição morfológica dos fungos *Candida*, um dos seus principais fatores de virulência. Os antifúngicos polienos podem prejudicar o processo de fusão de membrana celular do fungo (FRÍAS-DE-LEÓN et al., 2020) ou provocar a formação de poros através da membrana, ocasionando a perda de íons presentes no citoplasma (ROCHA et al., 2021). As equinocandinas realizam a inibição de enzima essencial para síntese de β -glucanas, uma das principais moléculas da parede celular de *Candida* (ROCHA

et al., 2021).

A escolha do fármaco a ser administrado dependerá da susceptibilidade do isolado identificado, avaliada a partir de testes de concentração inibitória mínima (MCCARTY et al., 2021). De modo geral, a espécie *C. albicans* apresenta menos resistência aos antifúngicos, quando comparada a espécies como *C. glabrata*, *C. tropicalis* e *C. auris* (ROCHA et al., 2021; CASTANHEIRA et al., 2016; FRÍAS-DE-LEÓN et al., 2020). Equinocandinas costumam ser a primeira forma de tratamento contra candidíase invasiva (PAPPAS et al., 2018). O tratamento para infecções invasivas pode durar cerca de três semanas, enquanto nos casos de infecção profunda, pode chegar a levar de 6 a 12 meses (PAPPAS et al., 2018).

1.1.3 Morfologia de *Candida albicans*

Fungos *C. albicans* são polimórficos, portanto são capazes de alternar entre pequenas estruturas arredondas e estruturas filamentosas, sendo que as comunidades dessas células são caracterizadas respectivamente como fenótipos branco e opaco (YANG et al., 2003). As células brancas, apresentadas na (Figura 1B), recebem o nome de leveduras. As células opacas podem ser diferenciadas entre hifas verdadeiras, caracterizadas como longos tubos (Figura 1C), e pseudo-hifas, que tratam-se de leveduras alongadas interligadas por constrições nas suas extremidades (Figura 1A) (SUDBERY, 2011). A alteração de morfologia entre leveduras e hifas possibilita que o fungo adapte suas estratégias de sobrevivência e colonização aos diferentes tecidos do hospedeiro. Essa transição é mediada por uma série de genes associados ao crescimento filamentosos, sendo *EFG1* o principal. A expressão deste fator de transcrição pode ser desencadeada a partir de características do meio, como o pH e presença de CO₂ ou N-acetilglicosamina (SUDBERY, 2011; BRAUN; JOHNSON, 2000). A transição morfológica de levedura para hifa é caracterizada por alteração na parede celular fúngica.

Formada por β -glucanas, manoproteínas e quitina, a parede celular de *C. albicans*, representada na Figura 2, é responsável tanto pelo formato do organismo quanto por sua proteção (GARCIA-RUBIO et al., 2020). A remodelagem da parede celular durante a mudança fenotípica ocasiona a expansão da camada externa de manoproteínas. Essas glicoproteínas auxiliam na impermeabilidade do organismo, fator importante para o aumento da proteção do fungo contra o sistema imune do hospedeiro e fármacos antifúngicos. Conseqüentemente, a camada interna, constituída pelos polissacarídeos β -glucana e quitina, torna-se mais comprimida e protegida do reconhecimento por parte do sistema imune do hospedeiro.

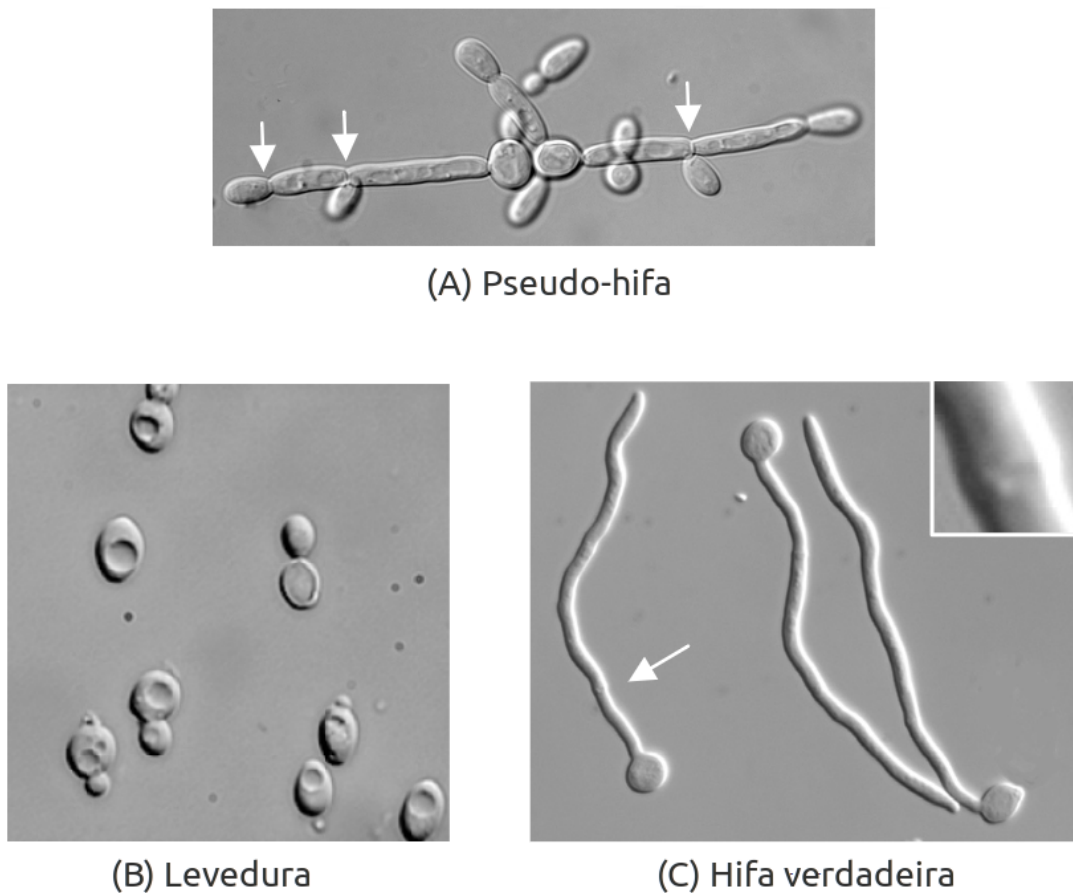


Figura 1 – Morfologias adotadas por fungos *Candida albicans*: (A) pseudo-hifa; (B) levedura; e (C) hifa verdadeira. Figura adaptada de (GLADFELTER; SUDBERY, 2008; SUDBERY, 2011).

1.1.4 Mecanismos patogênicos

C. albicans conta com fatores de virulência que contribuem com sua sobrevivência, patogenicidade e permanência da colonização no hospedeiro (NIKOU et al., 2019). O fungo é capaz de aderir-se a variadas superfícies sólidas, alterar sua morfologia entre levedura e hifas, formar tubos germinativos importantes para a adesão, construir estruturas de biofilme e produzir uma potente toxina essencial para a invasão do células epiteliais (YANG et al., 2003).

A infecção por *C. albicans* pode ser dividida entre as etapas de adesão, invasão e dano tecidual (CHEN et al., 2013; CHIN et al., 2016). A adesão representa a mudança na interação entre o patógeno e o hospedeiro, passando de contato para os estágios iniciais da infecção (Figura 3A-B). A etapa de invasão é caracterizada pela mudança de morfologia de levedura para fungo filamentoso, capaz de perfurar células epiteliais com a secreção da toxina candidalisina (Figura 3C). Por fim, o dano possibilita que o fungo atravesse a barreira epitelial e infecte órgãos ou a corrente sanguínea (Figura 3D).

A parede celular de *Candida*

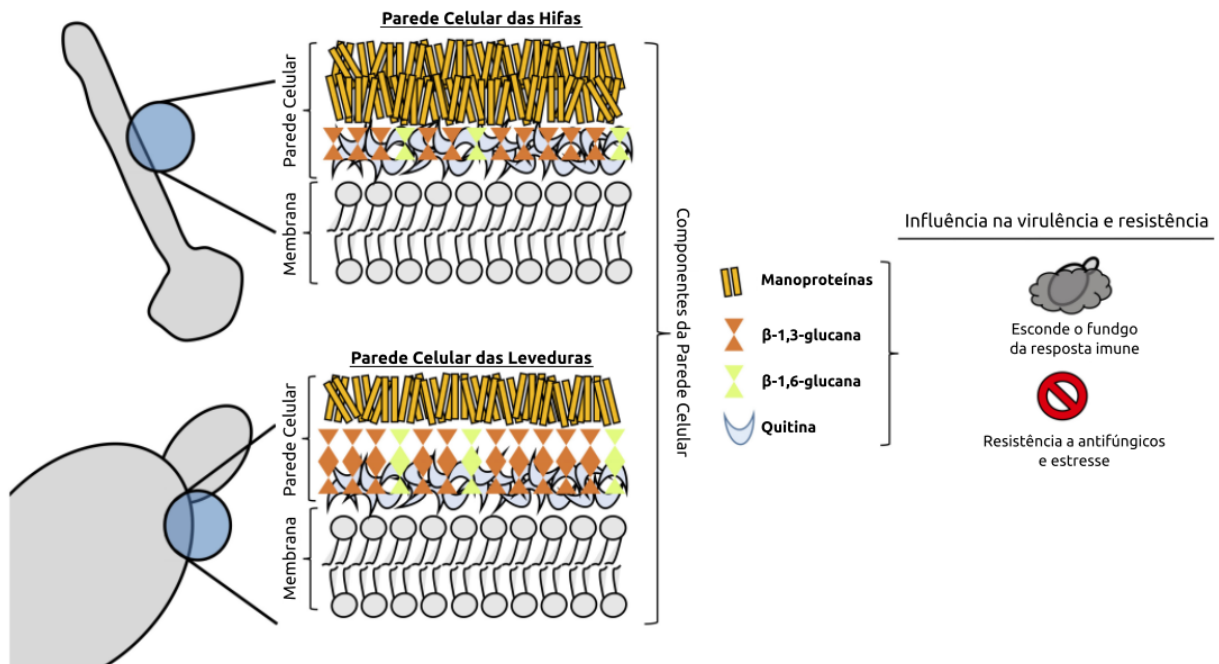


Figura 2 – Componentes e organização da parede celular de *Candida albicans* nos estados morfológicos de hifa e de levedura. Figura adaptada de (GARCIA-RUBIO et al., 2020).

Algumas moléculas presentes na superfície de *C. albicans* exercem papel importante nos estágios de adesão às células e invasão de tecidos do hospedeiro, como as *agglutinin-like sequence* (Als). A família das Als é composta por glicoproteínas de superfície ancoradas por glicosilfosfatidilinositol. Essas proteínas atuam como adesinas e são essenciais para que o fungo estabeleça ligação com as células do hospedeiro. Em especial, a proteína Als-3 é essencial para o êxito do processo de adesão e início da invasão (MURCIANO et al., 2012).

Após a adesão bem-sucedida, há uma alteração no fenótipo do fungo, que passa da sua morfologia de levedura para hifa a partir da projeção do tubo germinativo. As hifas são capazes de se espalhar pela superfície epitelial, em um processo conhecido como tigmotropismo (MAYER et al., 2013). Enquanto as leveduras realizam a disseminação e adesão às células do hospedeiro, as hifas são as principais encarregadas pela invasão das células e tecido (MAYER et al., 2013). Esse fenótipo possibilita que o fungo expresse e secrete a candidalisina, toxina essencial para a degradação da membrana celular epitelial e para formação de um bolso nessa célula, enquanto continua a se alongar para adentrar essa estrutura, dando início ao processo de invasão (MOGAVERO et al., 2021). Outro mecanismo também empregado para este fim é a indução de endocitose. O fungo utiliza as proteínas Als-3 e Hwp1 de sua membrana para

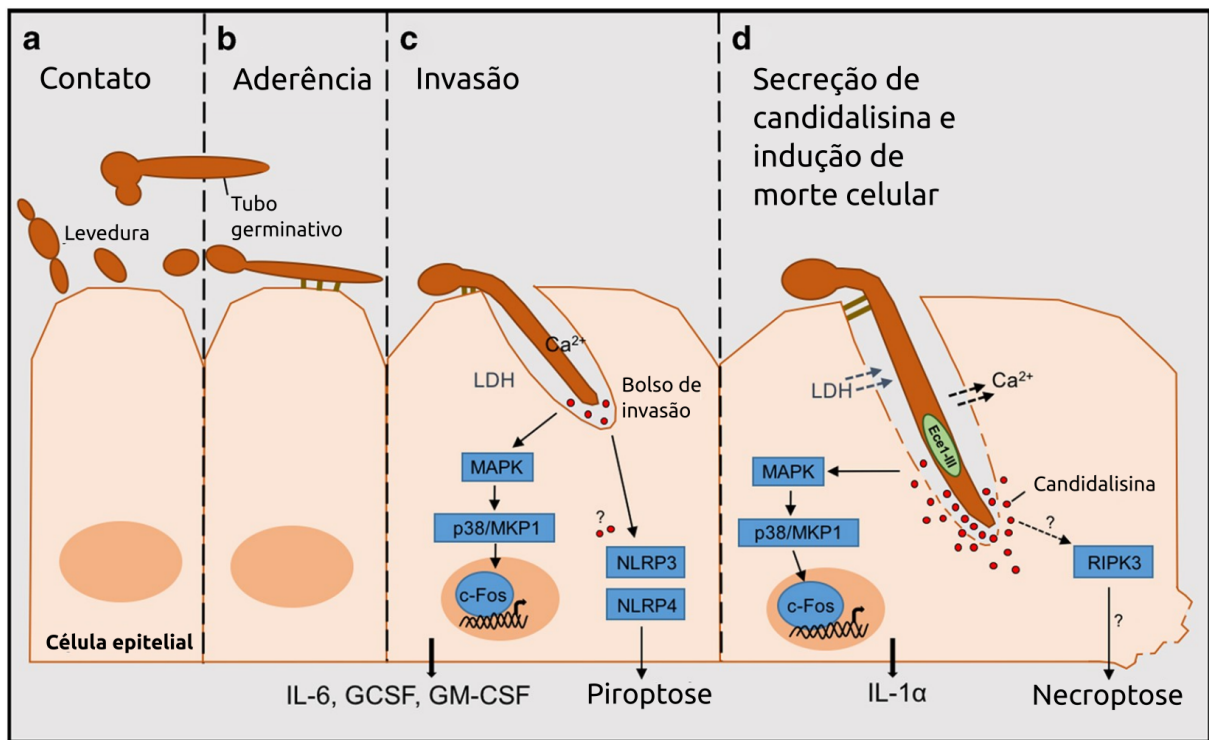


Figura 3 – Estágios da interação entre *Candida albicans* e o hospedeiro, incluindo o contato com as leveduras, seguida da adesão, invasão e dano por parte da hifa. Figura adaptada de (PASRICHA; PEARSON, 2016).

interagir com a proteína transmembrana caderina da célula epitelial do hospedeiro, provocando seu próprio engolfamento (MAYER et al., 2013).

A toxina candidalissina foi descrita pela primeira vez em 2016 e é associada exclusivamente a infecções por *C. albicans* (MOYES et al., 2016). A candidalissina secretada pelo fungo e acumulada no bolso formado na célula epitelial causa estresse celular e induz dano ao tecido do hospedeiro (MOGAVERO et al., 2021). O estresse gerado estimula a resposta de defesa do organismo, que produz citocinas e promove o recrutamento de neutrófilos e macrófagos (NAGLIK et al., 2011). Além disso, as células epiteliais passam a liberar espécies reativas de oxigênio (do inglês *reactive oxygen species*, ROS). Essas moléculas oxidativas têm importante papel na defesa, porém também contribuem para o dano oxidativo ao tecido e com a indução de necrose celular do hospedeiro (BLAGOJEVIC et al., 2021).

Após a adesão a uma superfície sólida, podendo ser tanto o tecido epitelial quanto equipamentos de uso hospitalar, o fungo pode iniciar a formação de biofilme. Neste sentido, as leveduras se proliferam e formaram uma estrutura única, aderindo-se umas às outras. Este conglomerado é protegido por uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares (EPS),

composta por proteínas, carboidratos, lipídeos e DNA (KERNIEN et al., 2018). A estrutura de biofilme confere proteção extra ao fungo, dificultando que sejam eliminados pelo sistema imune, fármacos antifúngicos ou por produtos utilizados para a higienização de superfícies (MBA; NWEZE, 2020).

C. albicans conta com enzimas hidrolíticas para adquirir nutrientes necessários e sobreviver dentro do hospedeiro. A família das proteinases aspárticas secretadas (Sap, do inglês *proteinases aspartil secretadad*) executa diversas funções, inclusive participam da obtenção de micronutrientes. As proteínas Pra1p e Sap6p se ligam moléculas de zinco, necessário para o crescimento celular fúngico adequado (NIKOU et al., 2019). O fungo consegue obter ferro diretamente de outras moléculas do hospedeiro, como ferritina e transferrina, além dos metais obtidos partir da lise celular de hemácias (NIKOU et al., 2019; CZECHOWICZ et al., 2022). Cobre é adquirido do ambiente extracelular e é necessário para algumas proteínas fúngicas, incluindo proteínas envolvidas na absorção de ferro (NIKOU et al., 2019).

1.1.5 Resposta imune do hospedeiro

A adesão das Als presentes na superfície de *C. albicans* ao tecido epitelial ocasiona a ativação da defesa do organismo (MURCIANO et al., 2012). Em particular, a interação com a Als-3 é essencial para uma resposta adequada. Foi observado que a adesão de fungos mutantes com deficiência da Als-3 não é o suficiente para induzir uma resposta do hospedeiro (MURCIANO et al., 2012).

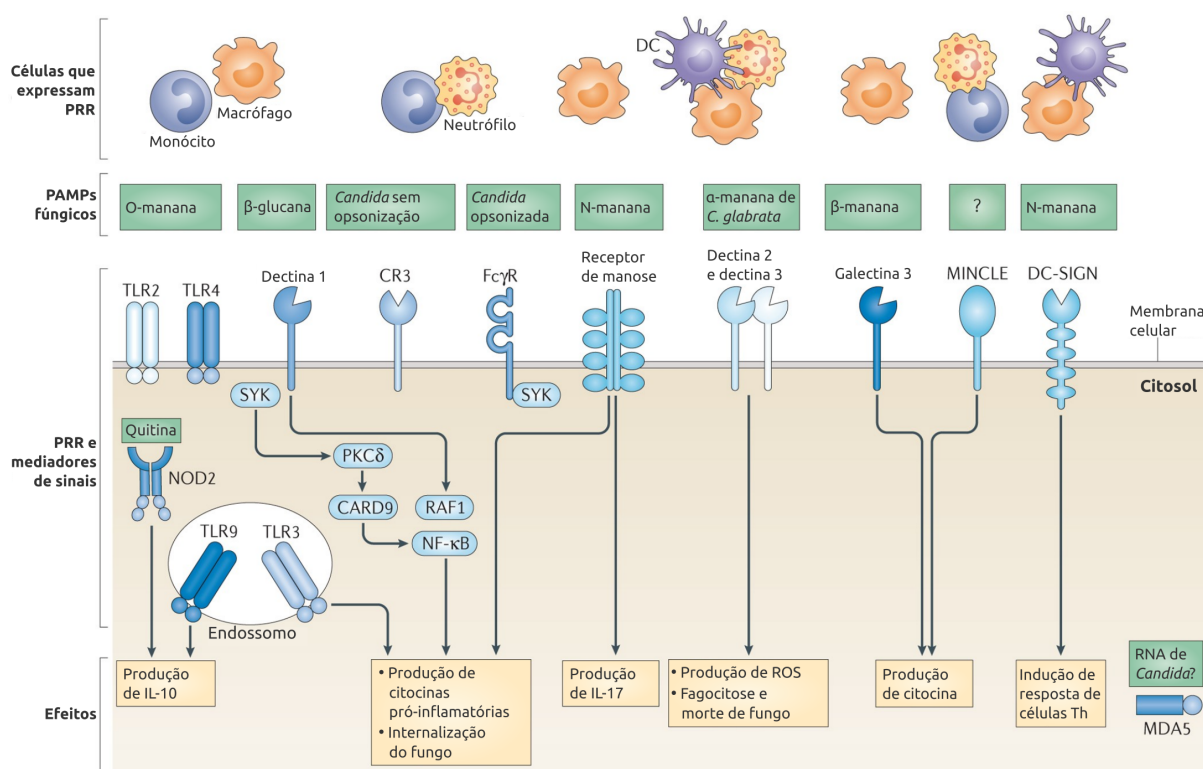
Durante o estágio inicial do dano, neutrófilos e macrófagos são recrutados para o local da invasão a partir da secreção de citocinas e detecção de outras moléculas associadas ao dano tecidual, como ROS, Ca^+ e a lactato desidrogenase, liberadas pelas células epiteliais danificadas. Esses dois tipos de células de defesa buscam eliminar os patógenos pela produção de moléculas citotóxicas, como ROS e óxido nítrico (NAVARATHNA et al., 2019; LACY, 2006). Os neutrófilos engolfam os fungos e os degradam em um processo de fagocitose através de lisossomos (PATRICIO et al., 2019). Além disso, essas células podem secretar substâncias citotóxicas no ambiente extracelular ou em vesículas internas, ou fagossoma, com o intuito de estressar e degradar o patógeno em um processo denominado degranulação (LACY, 2006, 2006).

Além dos neutrófilos, as células dendríticas (DC) e macrófagos circulantes também são cruciais para a defesa do hospedeiro. Esses tipos celulares realizam fagocitose, imobilizando o organismo invasor no seu interior e utilizando variados mecanismos para degradá-los. Os macrófagos preparam um ambiente intracelular tóxico com pH baixo e altos níveis de íons de

cobre, elemento capaz de gerar ROS (CULBERTSON et al., 2020). Como forma de sinalização para recrutamento de mais neutrófilos, os macrófagos secretam as quimiocinas CXCL1 e CXCL2 (PAPPAS et al., 2018).

Moléculas do fungo como manoproteínas, β -glucanas e quitina tornam-se padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) ideais para a detecção de organismos do gênero *Candida* pelo sistema imune (NETEA et al., 2006). Células como macrófagos, neutrófilos e DCs identificam os PAMPs associados a fungos através de receptores de reconhecimento de padrão (RRPs) como os receptores do tipo Toll (do inglês *Toll-like receptors*, TLR), receptores de lectina tipo C (do inglês *C-type lectin receptors*, CTR) ou dectinas. Os subtipos de cada classe de receptores identificam diferentes PAMPs (Figura 4), enquanto os TLR2 e TLR4 reconhecem proteínas manose, o TLR6 reconhece o DNA fúngico (NETEA et al., 2008; HÖFS et al., 2016). O reconhecimento de manose também é realizado por dectina 2 e CLR's especializados, denominados receptores de manose (MR) (NETEA et al., 2008), e o de β -glucana por dectina 1 (HÖFS et al., 2016). O receptor DC-SIGN é expresso exclusivamente na superfície de DC e também faz o reconhecimento de manoses (VENDELE et al., 2020). Esses três tipos celulares secretam citocinas pró-inflamatórias como interferon- γ (INF- γ), fator de necrose tumoral (do inglês *tumor necrosis factor*, TNF), IL-1 β e interleucina 6 (IL-6) (Figura 4), responsáveis por recrutar mais neutrófilos e macrófagos (NETEA et al., 2006). Enquanto a inflamação é necessária durante a defesa contra patógenos, a resposta imune exagerada por ser prejudicial, agravando o dano tecidual e contribuindo com a invasão fúngica (REHAUME et al., 2010).

Receptores similares ao domínio de oligomerização ligante de nucleotídeo (NLRs, do inglês *nucleotide oligomerization domain (Nod)-like receptor*) executam variadas funções, como a formação de inflamassomas e ativação das vias inflamatórias do fator nuclear κ B (NF- κ B) e MAPK (ZHONG et al., 2013). As proteínas 3 e 10 que contêm domínio de pirina da família NLR (NLRP3 e NLRP10) são importantes durante o combate a *C. albicans* (PAPPAS et al., 2018). A NLRP3 participa de um complexo proteico composto pelo receptor NLRP3, a proteína adaptadora ASC e a enzima caspase 1 (ALATSHAN; BENKŐ, 2021), denominado inflamassoma NLRP3. Esse inflamassoma é essencial para a resposta ao fungo, pois realiza o processamento e maturação de interleucina 1 β (IL-1 β) (HISE et al., 2009), citocina associada à diferenciação do linfócito T auxiliar 17 (Th17), e de interleucina 18 (IL-18) (ALATSHAN; BENKŐ, 2021). Em estudo, murinos com deficiência do inflamassoma NLRP3 apresentaram maior colonização oral por *C. albicans* quando comparados aos animais de alelo selvagem (HISE et al., 2009). É importante notar que o NLRP3 é ativado apenas com a detecção de *C. albicans* em forma



Nature Reviews | Immunology

Figura 4 – Representação dos tipos de receptores de reconhecimento de padrão (RRPs) presentes em células do sistema imune, especialmente monócitos, macrófagos, neutrófilos e células dendríticas (DCs). Além disso, são apresentados os padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) identificados pelos diferentes RRP, assim como as vias ativadas e produtos gerados por cada uma. Figura adaptada de (NETEA et al., 2015).

filamentosa, e não por leveduras (NETEA et al., 2015). A NLRP10 não participa da formação de inflamassoma (ZHONG et al., 2013), no entanto, está associada à diferenciação de linfócitos Th17 e Th1 (JOLY et al., 2012).

Macrófagos, neutrófilos e DCs são células apresentadoras de antígenos (do inglês *antigen presenting cells*, APCs), exibem em sua superfície antígenos obtidos do fungo degradado, e para isso contam com as proteínas MHC classe II. As DCs entram em contato com linfócitos T (ou células T) imaturos para apresentação desses antígenos, cujo reconhecimento desencadeia a ativação e proliferação de linfócitos T. Essas células podem passar pelo processo de diferenciação, transformando-se em T auxiliar CD4+ ou T CD8+. Os linfócitos CD8+, que também são conhecidos como células T citotóxicas, tem como alvo e eliminam células que apresentem algum antígeno (PATRICIO et al., 2019).

As células CD4+ podem se transformar em Th17, subtipo de linfócito estimulado pela

presença de IL-1b, IL-6, TGF- β e TNF- β (PATRICIO et al., 2019). Os Th17 são caracterizados pela produção e liberação de interleucina 17 (IL-17) (LI et al., 2018), citocinas que desempenham função pró-inflamatória e auxiliam no recrutamento de neutrófilos para o local da infecção (NETEA et al., 2015). Também podem se diferenciar em Th1 após a detecção de (LI et al., 2018). Esses linfócitos produzem INF- γ , citocina importante para o recrutamento de interleucina 17 (IL-17) em macrófagos, e estão presentes em abundância entre CD4+ estimuladas por *C. albicans* (BACHER et al., 2019).

Além de auxiliarem na resposta imune com a liberação de citocinas, os linfócitos CD4+ são essenciais para a ativação das células ou linfócitos B, atuantes na produção e secreção de anticorpos. O impacto da resposta imune contra *C. albicans* por meio de anticorpos é considerado pouco expressivo (RICHARDSON; MOYES, 2015). Imunoglobulinas são necessárias para a opsonização e degradação do patógeno, se ligando à parede celular desses organismos (MCCARTY et al., 2021). Além disso, essa ligação pode prejudicar o desempenho de funções biológicas do fungo, como a adesão e a formação do tubo germinativo (RICHARDSON; MOYES, 2015).

A restauração do tecido epitelial do hospedeiro lesionado durante a etapa da invasão de *C. albicans* inclui diversos processos, desde a inflamação e defesa contra os patógenos até a angiogênese e organização da matriz extracelular (ECM), com formação de novos componentes (RAINA et al., 2021). Em contrapartida, uma resposta inflamatória intensa pode ser prejudicial e agravar a lesão.

Com o início do dano ao tecido epitelial, algumas moléculas como ROS, Ca⁺, lactato desidrogenase, TNF- α e fator de crescimento dos fibroblastos (FGF) são liberadas no meio extracelular (Figura 3) e promovem o recrutamento de neutrófilos e macrófagos para o local da infecção fúngica (PASRICHA; PEARSON, 2016; GARDNER et al., 2010). Em especial, FGF-2 já foi identificado como um fator dependente da atuação de candidalissina secretada por *C. albicans* filamentosos (VELLANKI et al., 2019). Essa proteína é secretada por células epiteliais e promove a proliferação de células vasculares, sendo considerada um fator de angiogênese (JAVERZAT et al., 2002).

1.1.6 Modulação do sistema imune pelo patógeno

A formação de biofilme aumenta a proteção do fungo. Essa estrutura possibilita a utilização de alguns mecanismos para escapar ou modular o sistema imune do hospedeiro. As β -glucanas, polissacarídeos presentes na parede celular de *C. albicans*, são capazes de mediar a resposta imune treinada (NETEA et al., 2020; BRIARD et al., 2021). A imunidade treinada é

descrita como uma memória imune da resposta inata, que possibilita uma reação mais rápida em casos de reinfecção, similar ao que ocorre com a imunidade adaptativa (NETEA et al., 2020). As β -glucanas já foram associadas à inibição de inflamassomas NLRP3, e consequentemente à maturação de IL-1 β em macrófagos de pacientes com doenças autoinflamatórias (NEVEN et al., 2008; BRIARD et al., 2021).

Em experimento realizado em cultura celular, foi descoberto que biofilmes são mais resistentes a neutrófilos quando comparados a células fora de conglomerados (XIE et al., 2012). Os autores observaram que biofilmes maduros induzem uma menor resposta mediada por ROS do que biofilmes em estágios iniciais. As β -glucanas livres presentes na matriz de EPS podem estar envolvidas na modulação dessa resposta. Os polissacarídeos são identificados pelos os receptores de reconhecimento de padrões (do inglês *pattern recognition receptors*, PRR) dos neutrófilos. Como essas β -glucanas não estão conectados a uma célula fúngica, os leucócitos não realizam fagocitose ou a indução da geração de ROS (XIE et al., 2012).

A transição do organismo hospedeiro para um estado de combate a um patógeno é caracterizada por alterações da expressão gênica. Os padrões de expressão são mediados por sinais recebidos pelas células imunes e por moléculas reguladoras (DEVENISH et al., 2021), como os RNAs não codificantes.

1.2 RNAs LONGOS NÃO CODIFICANTES

Diversas moléculas podem ser transcritas a partir do genoma de um organismo, desde RNA mensageiro (mRNA), que será traduzido em proteínas, até elementos não codificantes que exercem funções de manutenção ou regulação nas células. Alguns exemplos de RNAs não codificantes incluem micro RNAs (miRNA), RNA ribossomal (rRNA), RNA nucleolar pequeno (snoRNA), RNA circular e RNA longo não-codificante (lncRNA).

Um dos primeiros estudos a identificar um lncRNA foi publicado em 1990 (BRANNAN et al., 1990). Na época, o lncRNA H19 foi descrito como um tipo de mRNA, visto que algumas características de sua biogênese eram compatíveis com mRNA, como a transcrição por RNA polimerase II, poliadenilação e *splicing*. No entanto, os autores não identificaram uma proteína resultante desse gene e observações como a falta de fase de leitura aberta (do inglês *open reading frame*, ORF) conservada e de associação a ribossomos os levaram à hipótese de que o produto final pudesse ser um RNA não codificante, como os RNAs com funções de processamento de outros RNAs ou transporte de proteínas que estavam sendo identificados naquela época (BRANNAN et al., 1990).

Os lncRNAs apresentam sequência de tamanho ≥ 200 a ≤ 100.000 nucleotídeos (com média de 10.000) (RAO, 2017) e não são traduzidos em proteínas. A classificação dessas moléculas é definida de acordo com a localização do seu gene no genoma (Figura 5), sendo: (i) intrônico, referindo-se a lncRNAs cujo gene está posicionado na região de um intron; (ii) intergênico, quando o lncRNA encontra-se entre outros dois genes; (iii) antisense, definição para lncRNAs presentes na fita complementar a outro gene; (iv) bidirecional, para lncRNAs cuja transcrição ocorre simultaneamente a de outro gene, porém na direção oposta da fita; e (v) *overlapping*, representando lncRNAs com gene sobreposto a outro gene na mesma fita.

A expressão dos genes de lncRNAs também pode ser regulada, em particular pela proteínas Dicer1 e o fator de transcrição MYC (do inglês *MYC proto-oncogene*, *bHLH transcription factor*) (ZHENG et al., 2014; QUINN; CHANG, 2016). O *Dicer* também é importante na biogênese de pequenos RNAs não codificantes (QUINN; CHANG, 2016). De modo geral a transcrição de lncRNAs é realizada pela RNA polimerase II, no entanto, RNA polimerase III e RNA polimerase IV e V, no caso de plantas, também podem realizar tal processo (RAO, 2017). Assim como os mRNA, os lncRNA podem passar pelas etapas de capeamento da porção 5', poliadenilação e *splicing* (QUINN; CHANG, 2016).

Foi observado que 5% dos RNAs pequenos (RNAs transportadores, miRNAs, pequenos RNAs nucleares e snoRNAs) mapeiam com sequências de lncRNAs, indicando que lncRNAs podem ser precursores dessas moléculas (DERRIEN et al., 2012). Além disso, a expressão de lncRNAs apresenta níveis mais baixos, em comparação a mRNAs, e tende a ser específica a tecidos (DERRIEN et al., 2012) e até mesmo a tipos celulares, como relatado em um estudo feito com cultura de células T auxiliares (HU et al., 2013). Adicionalmente, uma pesquisa envolvendo a expressão gênica em série temporal constatou que lncRNAs são expressos durante períodos de tempo menores que os mRNAs (PAULI et al., 2012).

Embora não tenham proteínas como produto final, os lncRNAs são importantes para o funcionamento molecular, executando funções regulatórias (YAO et al., 2019). A Figura 6 representa a relação dessas moléculas com o dogma central da Biologia e apresenta suas principais formas de atuação (RAO, 2017). Os lncRNAs já foram observados atuando na regulação de diferentes moléculas e em diversos estágios, sendo envolvidos em processos relacionados desde a abertura da cromatina e leitura do DNA até a interferência na regulação exercida por miRNAs, transformações pós-transcricionais de mRNAs e modificações pós-traducionais (ZHANG et al., 2019). Essas interações ainda podem ser divididas em regulação *cis*, em casos nos quais a molécula alvo está próxima ao lncRNA dentro do genoma, e regulação *trans*, quando o alvo está

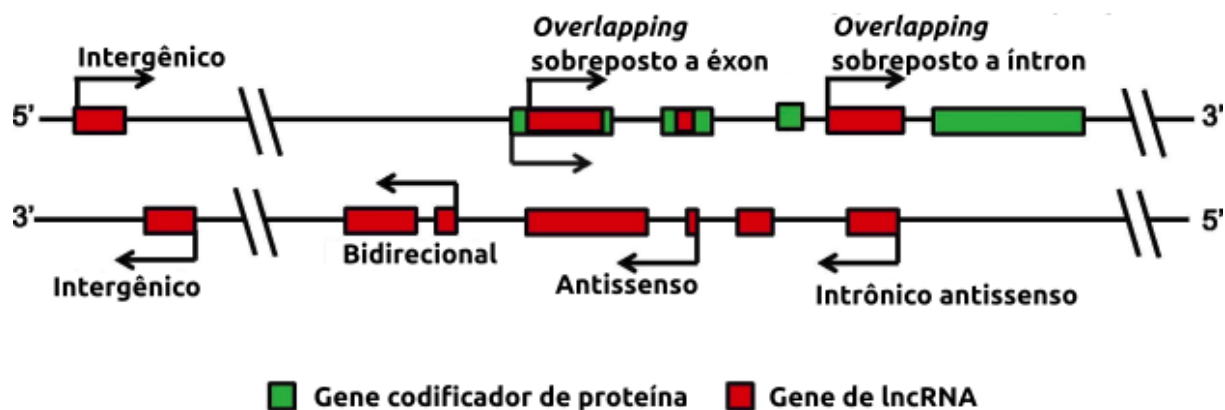


Figura 5 – Classificação dos lncRNAs de acordo com sua localização no genoma: intergênicos, *overlapping* sobrepostos a éxons, *overlapping* sobrepostos a introns, bidirecionais, antissenso e antissenso intrônico. Figura adaptada de (WEI; ZHOU, 2016).

distante ou origina-se em outro cromossomo (ELLING et al., 2018). Em estudo, foi constatado que a correlação entre mRNA-lncRNA com até 1 Mb de distância é maior que a de pares de RNA mais distantes ou em cromossomos distintos (DERRIEN et al., 2012).

Os lncRNAs podem ser encontrados dentro do núcleo celular, nucléolo, citoplasma ou mitocôndria (FERNANDES et al., 2019). Enquanto os lncRNAs no núcleo atuam nas regulações epigenéticas e transcricionais, os lncRNAs presentes no citoplasma estão envolvidos em atividades pós-transcricionais e atuam como RNAs competidores endógenos (ceRNAs) (GAO et al., 2020). Essas moléculas funcionam a partir de diferentes mecanismos de ação, como sinalização, competição com outras moléculas, direcionamento e *scaffold* (GAO et al., 2020). Além disso, os lncRNAs podem regular a expressão de outros genes indiretamente, provocando a inativação da cromatina em locais próximos durante sua própria transcrição (STATELLO et al., 2021). Os ceRNAs regulam a funcionalidade de miRNAs específicos ao se ligarem a essas moléculas no lugar de seus alvos. Dessa forma, os ceRNAs acabam inibindo a funcionalidade dos miRNAs e, consequentemente, impedindo a inibição dos alvos dessas moléculas (YAO et al., 2019).

Os lncRNAs também podem exercer funções relacionadas a diferentes vias de sinalização celular. Foi descoberto que o lncRNA-21 é induzido pelo fator de transcrição p53 e é importante para a repressão gênica promovida pela via de sinalização desta proteína (HUARTE et al., 2010; GAO et al., 2020). O lncRNA Firre parece agir como *scaffold*, promovendo interações entre o fator de transcrição hnRNPU e regiões genômicas localizadas em outros cromossomos, ou guia, direcionando essa proteína para o local de interação (HACISULEYMAN et al., 2014; YAO et al., 2019).

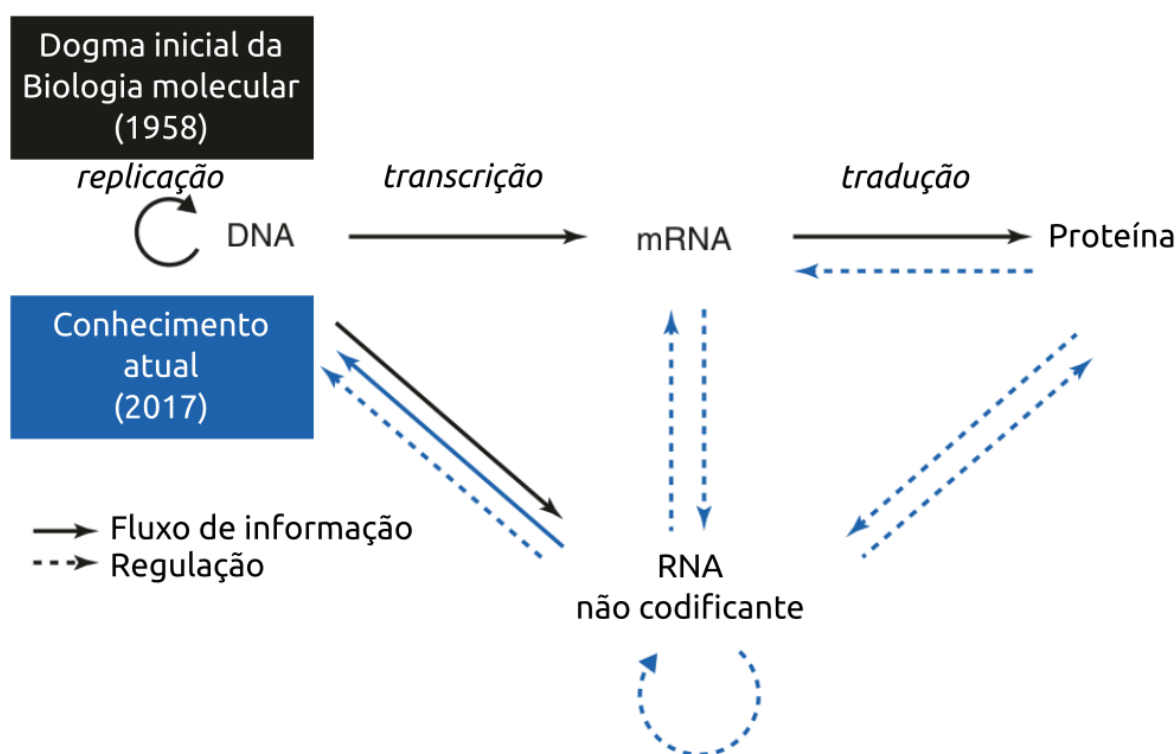


Figura 6 – Representação atualizada do dogma central da biologia, incluindo os RNAs longos não codificantes (RNAs) não codificantes como moléculas participantes na regulação gênica. Figura adaptada de (RAO, 2017).

A descoberta de novos genes não codificantes ultrapassa a de transcritos originados a partir de genes codificadores de proteínas (RAO, 2017). A anotação mais recente do genoma humano (GRCh38.p13) conta com 19.804 genes codificantes e 25.134 não codificantes, dentre os quais estão 18.049 lncRNAs. Para *Mus musculus*, organismo comumente utilizado para estudos moleculares, a diferença na contagem é ligeiramente menor. Enquanto os genes codificantes totalizam 22.213, os não codificantes 17.398 genes, sendo que 11.310 são lncRNAs. Devido a essa significativa presença nos genomas, o estudo de lncRNAs e investigação de suas funções tornam-se essenciais para começar a desvendar a complexidade envolvida na regulação gênica.

Apesar de alguns lncRNAs já terem sido detalhadamente caracterizados, a maioria ainda não foi relacionada a qualquer processo biológico ou teve seu alvo molecular desvendado. De acordo com dados obtidos no GENCODE V30, projeto que identifica e classifica genes de *H. sapiens* e *M. musculus*, estima-se que alguma função já foi descrita para menos de 3% dos lncRNAs (ROBINSON et al., 2020). Dados do Ensembl BioMart (KINSELLA et al., 2011) mostram que novos transcritos representam 42% dos lncRNAs anotados no genoma de *H. sapiens*

(GRCh38.p13), o que indica que estes transcritos ainda não foram caracterizados. No genoma de *M. musculus* (GRCm39) existe uma alta quantidade de genes preditos. Por consequência, a soma de lncRNAs originados a partir destes genes eleva a quantidade de lncRNAs classificados como novos transcritos para 64% do total.

A determinação das funções dessas moléculas pode ser dificultada devido à expressão dos lncRNAs depender do tecido ou célula de origem (QUINN; CHANG, 2016), tornando necessário que um cenário específico seja atingido para que se possa observar a expressão de alguns lncRNAs. Dessa forma, a tarefa de identificar o alvo direto da regulação e associá-lo a alguma função biológica pode se tornar complexa.

O uso de estratégias computacionais, como *guilt by association*, é uma maneira interessante para iniciar a investigação e predição de processos biológicos associados a moléculas sem função conhecida. Para essa abordagem presume-se que genes com expressão correlacionadas estão provavelmente envolvidos em funções similares ou em uma determinada resposta celular (GILLIS; PAVLIDIS, 2011). Assim, é possível inferir processos biológicos a lncRNAs a partir de processos já atribuídos aos seus genes co-expressos. Essa abordagem é comumente utilizada para estudar lncRNAs.

Em um dos primeiros e mais detalhados estudos aplicando *guilt by association* para lncRNAs, os autores identificaram lncRNAs diferencialmente expressos em células-tronco embrionárias de camundongos, associaram 150 destes a processos biológicos relacionados a genes codificadores co-expressos e, por fim, conseguiram validar as vias preditas para 85 lncRNAs a partir da análise de outros conjuntos de dados (GUTTMAN et al., 2009). Entre os processos identificados estavam proliferação celular, morfogênese e defesa imune. Outro estudo conseguiu inferir associações entre termos de ontologia gênica e lncRNAs expressos durante a embriogênese em *Danio rerio* (PAULI et al., 2012).

1.2.1 LncRNAs envolvidos na resposta imune

Diversos lncRNAs específicos já foram apontados como relevantes durante patologias específicas. A resposta imune depende da ação conjunta, coordenada e equilibrada de variadas moléculas e tipos celulares. Dado sua função geral de regulação, lncRNAs tem potencial para atuar dentro desse sistema. Nesse contexto, a maioria dos estudos desenvolvidos descreve o papel dessas moléculas no câncer (GAO et al., 2020). A relação entre lncRNAs e a resposta imunológica à infecção por *C. albicans* ainda é pouca explorada.

Hou et al. (2021) utilizam células CD4+ humanas expostas a β -glucana para simular

uma infecção por *C. albicans* e identificam lncRNAs expressos nessa condição, assim como mRNAs com expressão correlacionada a eles. O estudo sugere alvos para os lncRNAs e explora suas possíveis funções. Como resultado, os autores destacaram os lncRNAs lnc-CCL3L3-1:1, lnc-MARCKS-7:1 e lnc-CCL3L3-1:1 e sugeriram alguns genes co-expressos como possíveis alvos de regulação. A partir de análise de enriquecimento funcional dos mRNAs, inferiram que os lncRNAs podem participar de processos biológicos relacionados à resposta imune, como inflamação, e via de sinalização de NF- κ B (HOU et al., 2021).

Após constatarem que o lncRNA 9708-1 é super expresso durante a defesa contra *C. albicans* em candidíase vulvovaginal, Wu et al. (2021) induziram um quadro dessas infecções em modelo murino. Um dos grupos de animais recebeu o lncRNA 9708-1 como tratamento a fim de avaliar a atuação dessa molécula na resposta imune. Observaram que o lncRNA 9708-1 reduziu a inflamação e que pode atuar na via de sinalização da proteína FAK (WU et al., 2021). Esta proteína é uma quinase que participa de processos de adesão, apoptose e migração celular e já foi associada à ativação da resposta imune em infecção viral (WU et al., 2021; BOZYM et al., 2012).

No contexto de infecções, o lncRNA intergênico lincRNA-Cox2 foi apontado como regulador *in cis* do gene *Ptgs2*, agindo como RNA *enhancer*. O gene *Ptgs2* é essencial para a síntese de prostaglandina, uma molécula secretada em locais com dano tecidual ou inflamação. Além disso, o lincRNA-Cox2 desempenha função regulatória *in trans* para um conjunto de genes envolvidos na resposta inflamatória em tecidos de pulmão e fígado (ELLING et al., 2018). Um estudo anterior revelou que lincRNA-Cox2 é induzido após a ativação de TLR (CARPENTER et al., 2013).

Embora o papel dos lncRNAs na resposta do hospedeiro à infecção por *Candida* spp. permaneça desconhecido, existem evidências que comprovam a importância destas moléculas na resposta imune durante infecções por diferentes patógenos, como *Mycobacterium tuberculosis* (WANG et al., 2015), *Salmonella enterica* (GOMEZ et al., 2013) e vírus da hepatite C (CARNERO et al., 2016; AGLIANO et al., 2019).

Candida albicans é uma espécie de grande importância clínica devido às infecções que pode provocar, especialmente em pessoas com sistema imune comprometido. O diagnóstico para essas infecções ainda apresenta limitações, principalmente relacionadas ao tempo de execução e custo. Desta forma, investigar o papel de moléculas pouco estudadas no contexto de infecções fúngicas tem potencial para expandir o conhecimento na área e contribuir com a formulação de hipóteses para diagnóstico e tratamento.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho tem como objetivo geral investigar a importância de lncRNAs em processos e funções biológicas relevantes durante a resposta imune do hospedeiro durante a infecção por *C. albicans*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Selecionar conjunto de dados de expressão gênica com condições controle e infecção invasiva por *C. albicans*;
- Identificar RNAs longos não codificantes importantes durante a resposta imune à infecção;
- Identificar genes codificadores de proteína expressos durante a infecção por *Candida* que possam atuar conjuntamente com os lncRNAs na resposta imune do hospedeiro;
- Determinar as funções e processos biológicos associados aos genes codificadores de proteínas;
- Inferir associações entre os lncRNAs e os processos biológicos desempenhados pelos genes codificadores de proteínas.

3 Resultados

A seção de resultados apresenta o artigo científico redigido para divulgação das análises realizadas e resultados obtidos no presente trabalho. A formatação segue as diretrizes para manuscritos da revista *Genes*, para qual o manuscrito foi submetido.

3.1 Artigo científico

4 Discussão

Fungos do gênero *Candida* tem grande importância clínica devido à gravidade observada nas infecções, principalmente em pessoas com estado de saúde já comprometido. Entre todas as espécies patogênicas, *C. albicans* se destaca por ser a mais comumente isolada em casos de candidemia.

O interesse em desvendar o papel de lncRNAs em patologias específicas vem crescendo, principalmente no contexto de câncer. No entanto, essas moléculas ainda são pouco exploradas em infecções fúngicas. Poucos estudos investigando a relação entre lncRNAs e infecção por *C. albicans* foram encontrados durante consulta na literatura (HOU et al., 2021). Para o presente estudo, um conjunto de dados de expressão gênica gerado a partir de experimento de RNA-Seq foi selecionado após busca na base de dados GEO DataSets. O conjunto possui o identificador GSE119853 e apresenta dados de expressão gênica referentes a 19 fêmeas *M. musculus* da linhagem C57BL/6J, sendo que 11 animais foram usados como controle enquanto oito foram expostos ao fungo *C. albicans* por 24 horas. Após esse período, os animais foram sacrificados e houve a coleta do pulmão e preparação das amostras (SINGHANIA et al., 2019).

A intersecção dos resultados de diferentes métodos para seleção de genes foi essencial para reduzir a quantidade de lncRNAs e genes codificadores de proteínas a serem explorados neste estudo. Além disso, essa intersecção trouxe mais confiabilidade à lista de genes resultante, pois todos foram selecionados por três abordagens comumente utilizadas: análise de expressão diferencial, análise de rede de co-expressão de genes e seleção de genes com base aprendizado de máquina. Após a análise de enriquecimento funcional, houve a exclusão dos genes codificadores de proteínas que não foram associados a algum dos termos de ontologia gênica (GO) resultantes. Foram selecionados apenas os lncRNAs com peso de interação $> 0,4$ com algum dos genes codificadores restantes. Por fim, os lncRNAs passaram por uma validação da sua classificação biológica.

As duas redes de co-expressão foram filtradas de acordo com os genes presentes nas listas resultantes das análises anteriores. A rede correlacionada à infecção é composta por 51 lncRNAs, 471 genes codificadores de proteínas e 3.568 interações. A versão final da rede correlacionada à condição controle inclui 13 lncRNAs, 50 genes codificadores de proteínas e 66 interações. As redes podem ser visualizadas na Figura 5 do manuscrito apresentado na seção de Resultados.

É interessante observar a diferença na quantidade de nodos e interações das redes criadas a partir dos lncRNAs, considerando apenas as suas interações de primeiro grau, conforme

observado na Figura 5 dos Resultados. Ao construir a rede a partir dos lncRNAs, podemos observar que a condição controle (Resultados, Figura 5B) apresenta menor robustez, sendo composta por menor número de nodos e interações em comparação à rede associada à infecção (Resultados, Figura 5A) (GUNEY; OLIVA, 2014). Essa diferença se torna um fator que corrobora com a hipótese dos lncRNAs serem participantes importantes na resposta imune do hospedeiro durante a infecção por *C. albicans*. A expressão rápida, coordenada e controlada de genes envolvidos na resposta imune é essencial para o combate efetivo de um patógeno (DEVENISH et al., 2021), e os lncRNAs podem desempenhar funções de regulação da expressão gênica que contribuam para o ajuste fino desta resposta e mantenham seu equilíbrio.

Para explorar os processos biológicos associados aos genes selecionados, foi executada uma análise de enriquecimento funcional. Entre todos os processos resultantes, apenas aqueles enriquecidos para algum lncRNA ou que alcançaram um valor de p ajustado $< 0,01$ foram apresentados e discutidos no manuscrito. Porém, outros processos identificados também podem ser considerados relevantes no contexto de infecção por *C. albicans*.

Durante a resposta imune, os fagócitos encapsulam o fungo no seu interior e utilizam substâncias tóxicas para neutralizar e atacar esse organismo. Essas células podem acumular óxido nítrico (NAVARATHNA et al., 2019), oxidar íons de cobre para a geração de ROS (CULBERTSON et al., 2020) e gerar superóxido a partir da redução de NADPH (DÜHRING et al., 2015). O superóxido não apresenta alta atividade tóxica para o fungo, no entanto, pode ser convertido em peróxido de hidrogênio, além de reagir com NO e gerar peroxinitrito, substância importantes para o combate à *C. albicans* (DÜHRING et al., 2015). Neste contexto, os processos biológicos *nitric oxide mediated signal transduction* (GO:0007263), *reactive oxygen species metabolic process* (GO:0072593), *NADPH oxidation* (GO:0070995), *positive regulation of superoxide anion generation* (GO:0032930), *response to toxic substance* (GO:0009636) e *cellular response to hydrogen peroxide* (GO:0070301) foram enriquecidos entre os genes selecionados. O processo *response to toxic substance* também pode ser associado à etapa de invasão fúngica, na qual as hifas de *C. albicans* secretam a toxina candidalisina nas células epiteliais.

Apesar de serem essenciais para a defesa contra patógenos, estas substâncias citotóxicas podem afetar negativamente células próprias do hospedeiro. Como forma de equilibrar os níveis dessas substâncias, as células recorrem a mecanismos de detoxificação, incluindo a exportação dos metais ou o armazenamento destes em vesículas, processo denominado como sequestro dos metais (DÜHRING et al., 2015; DAMERON; HARRISON, 1998). Como exemplos desse mecanismo, estão os termos de GO *sequestering of metal ion* (GO:0051238) e *detoxification of*

copper ion (GO:0010273), observado nos resultados.

Os fungos *C. albicans* utilizam metais presentes no organismo do hospedeiro para seus processos de manutenção e sobrevivência. Em uma tentativa de restringir o acesso do patógeno, metais como zinco, cobre e ferro são sequestrados para dentro das células do hospedeiro (DÜHRING et al., 2015). Essa importação de zinco faz parte dos processos enriquecidos neste estudo: *zinc ion import across plasma membrane* (GO:0071578).

Poucos processos biológicos relacionados à resposta imune humoral foram observados entre os resultados, sendo estes: *antimicrobial humoral immune response mediated by antimicrobial peptide* (GO:0061844), *positive regulation of antimicrobial humoral response* (GO:0002760) e *positive regulation of humoral immune response mediated by circulating immunoglobulin* (GO:0002925). No estudo que gerou o conjunto de dados utilizado no presente trabalho, os animais foram expostos ao fungo por apenas 24 horas antes da coleta das amostras. Sendo assim, não houve tempo hábil para que a resposta humoral fosse integralmente desencadeada. Após o início da infecção, as células B podem demorar dias ou semanas para serem ativadas pelos linfócitos T auxiliares e passarem a produzir e secretar anticorpos (WAICKMAN et al., 2020).

Mesmo após todas as filtragens de genes a serem analisados e de componentes das redes, alguns lncRNAs continuaram a interagir com muitos mRNAs do seus módulos. Como consequência, alguns lncRNAs do módulo *turquoise*, correlacionado à infecção, apresentaram muitos processos biológicos em sua lista de possíveis associações. Após a filtragem das associações, oito lncRNAs continuaram com mais de 30 processos biológicos, sendo que ao final as listas de dois desses incluíam 101 processos. Em contrapartida, cinco lncRNAs ficaram sem associação a qualquer processo.

A busca na literatura e em bancos de dados especializados foi utilizada para verificar e comparar as associações entre os lncRNAs e processos biológicos sugeridos no manuscrito. Durante essa etapa foi constatado que poucos dos lncRNAs selecionados possuem algum registro, o que dificulta a formulação e validação de hipóteses. Como consequência, os bancos de dados específicos para lncRNAs também contam com poucas informações. Por ser uma área de estudo relativamente nova, os protocolos e ferramentas desenvolvidos para a investigação de funções dos lncRNAs ainda são pouco utilizados, prejudicando a confiabilidade destas soluções.

O estudo de processos biológicos associados a lncRNAs é complexo, visto que esses RNAs atuam na regulação direta ou indireta de outras moléculas. Análise de dados de expressão gênica pode ser utilizada para iniciar uma investigação, possibilitando que padrões sejam observados e se reduza o escopo de hipóteses a serem validadas experimentalmente. Posteriormente,

estudos mais aprofundados são necessários pois a correlação de valores de expressão gênica não é o suficiente para confirmar os papéis de regulador e alvo.

Existe uma limitação relacionada ao tipo de dado gerado por experimentos de RNA-Seq, no contexto de investigação acerca de lncRNAs. As técnicas atualmente empregadas não possibilitam que se estime a expressão de genes codificadores de proteínas, lncRNAs e miRNAs em um mesmo experimento devido à diferença de tamanho das moléculas e aos protocolos de preparação das amostras necessários para cada uma. A presença de todos esses tipos de transcritos em um mesmo conjunto de dados seria bastante importante para avaliar a regulação gênica indireta que os lncRNAs podem realizar.

Durante a realização trabalho, uma nova versão do genoma de *M. musculus* foi lançada. A maior diferença da versão GRCm39 para a anterior foi a remoção da classificação dos lncRNAs. Enquanto a versão GRCm38 distinguia os lncRNAs entre antissenso, bidirecional, intergênico e intrônico, a versão GRCm39 passou a anotar todos apenas como lncRNA. A classificação dessas moléculas a partir da localização do gene pode dar indícios do seu mecanismo de atuação e alvo e, conseqüentemente, da função que exercem. A possibilidade de lncRNAs bidirecionais regularem a expressão dos genes codificadores de proteínas transcritos simultaneamente a eles já foi apontada (GUIL; ESTELLER, 2012; QUINN; CHANG, 2016). A informação de classificação possibilitaria a elaboração de outras hipóteses quanto às funções biológicas associadas aos lncRNAs aqui analisados. Entretanto, a atualização na anotação do genoma pode ser vista como um indicativo de que o conhecimento geral acerca dos lncRNAs ainda está sendo construído e que existe espaço para novas contribuições.

5 Conclusão

A partir de três estratégias para seleção de genes, foram identificados lncRNAs presentes durante a resposta imune do hospedeiro a infecção causada por *C. albicans*. O uso da abordagem de *guilt by association* possibilitou que processos biológicos fossem associados aos lncRNAs selecionados, visto que, em sua maioria, ainda não possuem anotação funcional. Os resultados englobam áreas essenciais durante o combate à infecção por *C. albicans*, como inflamação, angiogênese e neutralização e degradação de patógenos. Enquanto isso, termos GO relacionados com o fator de transcrição TNF, degranulação de neutrófilos e imunoglobulinas se destacaram por aparecerem na lista de processos biológicos inferidos para diversos lncRNAs. Os resultados propostos neste trabalho apontam lncRNAs potencialmente relevantes durante a defesa contra *C. albicans*. Ainda que não existam relatos de envolvimento dessas moléculas com infecções fúngicas, os processos biológicos propostos a elas indicam suas possíveis funções biológicas.

REFERÊNCIAS

AGLIANO, F.; RATHINAM, V. A.; MEDVEDEV, A. E.; VANAJA, S. K.; VELLA, A. T. Long noncoding rnas in host–pathogen interactions. **Trends in immunology**, Elsevier, v. 40, n. 6, p. 492–510, 2019.

ALATSHAN, A.; BENKŐ, S. Nuclear receptors as multiple regulators of nlrp3 inflammasome function. **Frontiers in Immunology**, Frontiers Media SA, v. 12, p. 630569, 2021.

BACHER, P.; HOHNSTEIN, T.; BEERBAUM, E.; RÖCKER, M.; BLANGO, M. G.; KAUFMANN, S.; RÖHMEL, J.; ESCHENHAGEN, P.; GREHN, C.; SEIDEL, K. et al. Human anti-fungal th17 immunity and pathology rely on cross-reactivity against candida albicans. **Cell**, Elsevier, v. 176, n. 6, p. 1340–1355, 2019.

BLAGOJEVIC, M.; CAMILLI, G.; MAXSON, M.; HUBE, B.; MOYES, D. L.; RICHARDSON, J. P.; NAGLIK, J. R. Candidalysin triggers epithelial cellular stresses that induce necrotic death. **Cellular microbiology**, Wiley Online Library, v. 23, n. 10, p. e13371, 2021.

BONGOMIN, F.; GAGO, S.; OLADELE, R. O.; DENNING, D. W. Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision. **Journal of fungi**, MDPI, v. 3, n. 4, p. 57, 2017.

BOZYM, R. A.; DELORME-AXFORD, E.; HARRIS, K.; MOROSKY, S.; IKIZLER, M.; DERMODY, T. S.; SARKAR, S. N.; COYNE, C. B. Focal adhesion kinase is a component of antiviral rig-i-like receptor signaling. **Cell host & microbe**, Elsevier, v. 11, n. 2, p. 153–166, 2012.

BRANNAN, C. I.; DEES, E. C.; INGRAM, R. S.; TILGHMAN, S. M. The product of the h19 gene may function as an rna. **Molecular and cellular biology**, Am Soc Microbiol, v. 10, n. 1, p. 28–36, 1990.

BRAUN, B. R.; JOHNSON, A. D. Tup1, cph1 and efg1 make independent contributions to filamentation in candida albicans. **Genetics**, Oxford University Press, v. 155, n. 1, p. 57–67, 2000.

BRIARD, B.; FONTAINE, T.; KANNEGANTI, T.-D.; GOW, N. A.; PAPON, N. Fungal cell wall components modulate our immune system. **The Cell Surface**, Elsevier, v. 7, p. 100067, 2021.

BROWN, G. D.; DENNING, D. W.; GOW, N. A.; LEVITZ, S. M.; NETEA, M. G.; WHITE, T. C. Hidden killers: human fungal infections. **Science translational medicine**, American Association for the Advancement of Science, v. 4, n. 165, p. 165rv13–165rv13, 2012.

BROWN, G. D.; NETEA, M. G. Exciting developments in the immunology of fungal infections. **Cell host & microbe**, Elsevier, v. 11, n. 5, p. 422–424, 2012.

CANELA, H. M. S.; CARDOSO, B.; VITALI, L. H.; COELHO, H. C.; MARTINEZ, R.; FERREIRA, M. E. d. S. Prevalence, virulence factors and antifungal susceptibility of candida spp. isolated from bloodstream infections in a tertiary care hospital in brazil. **Mycoses**, Wiley Online Library, v. 61, n. 1, p. 11–21, 2018.

CARNERO, E.; BARRIOCANAL, M.; PRIOR, C.; UNFRIED, J. P.; SEGURA, V.; GURUCEAGA, E.; ENGUITA, M.; SMERDOU, C.; GASTAMINZA, P.; FORTES, P. Long noncoding rna egot negatively affects the antiviral response and favors hcv replication. **EMBO reports**, v. 17, n. 7, p. 1013–1028, 2016.

CARPENTER, S.; AIELLO, D.; ATIANAND, M. K.; RICCI, E. P.; GANDHI, P.; HALL, L. L.; BYRON, M.; MONKS, B.; HENRY-BEZY, M.; LAWRENCE, J. B. et al. A long noncoding rna mediates both activation and repression of immune response genes. **science**, American Association for the Advancement of Science, v. 341, n. 6147, p. 789–792, 2013.

CASTANHEIRA, M.; MESSER, S. A.; RHOMBERG, P. R.; PFALLER, M. A. Antifungal susceptibility patterns of a global collection of fungal isolates: results of the sentry antifungal surveillance program (2013). **Diagnostic microbiology and infectious disease**, Elsevier, v. 85, n. 2, p. 200–204, 2016.

CHEN, Y. Y.; CHAO, C.-C.; LIU, F.-C.; HSU, P.-C.; CHEN, H.-F.; PENG, S.-C.; CHUANG, Y.-J.; LAN, C.-Y.; HSIEH, W.-P.; WONG, D. S. H. Dynamic transcript profiling of candida albicans infection in zebrafish: a pathogen-host interaction study. **PLoS One**, Public Library of Science San Francisco, USA, v. 8, n. 9, p. e72483, 2013.

CHIN, V. K.; LEE, T. Y.; RUSLIZA, B.; CHONG, P. P. Dissecting candida albicans infection from the perspective of c. albicans virulence and omics approaches on host–pathogen interaction: a review. **International journal of molecular sciences**, MDPI, v. 17, n. 10, p. 1643, 2016.

CULBERTSON, E. M.; KHAN, A. A.; MUCHENDITSI, A.; LUTSENKO, S.; SULLIVAN, D. J.; PETRIS, M. J.; CORMACK, B. P.; CULOTTA, V. C. Changes in mammalian copper homeostasis during microbial infection. **Metallomics**, Oxford University Press, v. 12, n. 3, p. 416–426, 2020.

CZECHOWICZ, P.; NOWICKA, J.; GOŚCINIAK, G. Virulence factors of candida spp. and host immune response important in the pathogenesis of vulvovaginal candidiasis. **International Journal of Molecular Sciences**, MDPI, v. 23, n. 11, p. 5895, 2022.

DAMERON, C. T.; HARRISON, M. D. Mechanisms for protection against copper toxicity. **The American journal of clinical nutrition**, Oxford University Press, v. 67, n. 5, p. 1091S–1097S, 1998.

DERRIEN, T.; JOHNSON, R.; BUSSOTTI, G.; TANZER, A.; DJEBALI, S.; TILGNER, H.; GUERNEC, G.; MARTIN, D.; MERKEL, A.; KNOWLES, D. G. et al. The gencode v7 catalog of human long noncoding rnas: analysis of their gene structure, evolution, and expression. **Genome research**, Cold Spring Harbor Lab, v. 22, n. 9, p. 1775–1789, 2012.

DEVENISH, L. P.; MHLANGA, M. M.; NEGISHI, Y. Immune regulation in time and space: The role of local-and long-range genomic interactions in regulating immune responses. **Frontiers in Immunology**, Frontiers, p. 1715, 2021.

DOI, A. M.; PIGNATARI, A. C. C.; EDMOND, M. B.; MARRA, A. R.; CAMARGO, L. F. A.; SIQUEIRA, R. A.; MOTA, V. P. da; COLOMBO, A. L. Epidemiology and microbiologic characterization of nosocomial candidemia from a brazilian national surveillance program. **PLoS one**, Public Library of Science San Francisco, CA USA, v. 11, n. 1, p. e0146909, 2016.

DÜHRING, S.; GERMERODT, S.; SKERKA, C.; ZIPFEL, P. F.; DANDEKAR, T.; SCHUSTER, S. Host-pathogen interactions between the human innate immune system and

candida albicans—understanding and modeling defense and evasion strategies. **Frontiers in microbiology**, Frontiers Media SA, v. 6, p. 625, 2015.

ELLING, R.; ROBINSON, E. K.; SHAPLEIGH, B.; LIAPIS, S. C.; COVARRUBIAS, S.; KATZMAN, S.; GROFF, A. F.; JIANG, Z.; AGARWAL, S.; MOTWANI, M. et al. Genetic models reveal cis and trans immune-regulatory activities for lincrna-cox2. **Cell reports**, Elsevier, v. 25, n. 6, p. 1511–1524, 2018.

FERNANDES, J. C.; ACUÑA, S. M.; AOKI, J. I.; FLOETER-WINTER, L. M.; MUXEL, S. M. Long non-coding rnas in the regulation of gene expression: physiology and disease. **Non-coding RNA**, MDPI, v. 5, n. 1, p. 17, 2019.

FRÍAS-DE-LEÓN, M. G.; HERNÁNDEZ-CASTRO, R.; VITE-GARÍN, T.; ARENAS, R.; BONIFAZ, A.; CASTAÑÓN-OLIVARES, L.; ACOSTA-ALTAMIRANO, G.; MARTÍNEZ-HERRERA, E. Antifungal resistance in candida auris: Molecular determinants. **Antibiotics**, MDPI, v. 9, n. 9, p. 568, 2020.

FU, Y.; XU, X.; XUE, J.; DUAN, W.; YI, Z. Deregulated lincnas in b cells from patients with active tuberculosis. **PLoS One**, Public Library of Science San Francisco, CA USA, v. 12, n. 1, p. e0170712, 2017.

GAO, N.; LI, Y.; LI, J.; GAO, Z.; YANG, Z.; LI, Y.; LIU, H.; FAN, T. Long non-coding rnas: the regulatory mechanisms, research strategies, and future directions in cancers. **Frontiers in Oncology**, Frontiers Media SA, v. 10, p. 598817, 2020.

GARCIA-RUBIO, R.; OLIVEIRA, H. C. de; RIVERA, J.; TREVIJANO-CONTADOR, N. The fungal cell wall: Candida, cryptococcus, and aspergillus species. **Frontiers in Microbiology**, Frontiers, p. 2993, 2020.

GARDNER, A.; BORTHWICK, L. A.; FISHER, A. J. Lung epithelial wound healing in health and disease. **Expert Review of Respiratory Medicine**, Taylor & Francis, v. 4, n. 5, p. 647–660, 2010.

GILLIS, J.; PAVLIDIS, P. The impact of multifunctional genes on "guilt by association" analysis. **PLoS one**, Public Library of Science San Francisco, USA, v. 6, n. 2, p. e17258, 2011.

GLADFELTER, A. S.; SUDBERY, P. Septins in four model fungal systems: diversity in form and function. **The septins. Wiley Blackwell, London, United Kingdom**, p. 125–145, 2008.

GOMEZ, J. A.; WAPINSKI, O. L.; YANG, Y. W.; BUREAU, J.-F.; GOPINATH, S.; MONACK, D. M.; CHANG, H. Y.; BRAHIC, M.; KIRKEGAARD, K. The nest long ncna controls microbial susceptibility and epigenetic activation of the interferon- γ locus. **Cell**, Elsevier, v. 152, n. 4, p. 743–754, 2013.

GUIL, S.; ESTELLER, M. Cis-acting noncoding rnas: friends and foes. **Nature structural & molecular biology**, Nature Publishing Group, v. 19, n. 11, p. 1068–1075, 2012.

GUNEY, E.; OLIVA, B. Analysis of the robustness of network-based disease-gene prioritization methods reveals redundancy in the human interactome and functional diversity of disease-genes. **PLoS One**, Public Library of Science San Francisco, USA, v. 9, n. 4, p. e94686, 2014.

GUTTMAN, M.; AMIT, I.; GARBER, M.; FRENCH, C.; LIN, M. F.; FELDSER, D.; HUARTE, M.; ZUK, O.; CAREY, B. W.; CASSADY, J. P. et al. Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding rnas in mammals. **Nature**, Nature Publishing Group, v. 458, n. 7235, p. 223–227, 2009.

HACISULEYMAN, E.; GOFF, L. A.; TRAPNELL, C.; WILLIAMS, A.; HENAO-MEJIA, J.; SUN, L.; MCCLANAHAN, P.; HENDRICKSON, D. G.; SAUVAGEAU, M.; KELLEY, D. R. et al. Topological organization of multichromosomal regions by the long intergenic noncoding rna *firre*. **Nature structural & molecular biology**, Nature Publishing Group, v. 21, n. 2, p. 198–206, 2014.

HISE, A. G.; TOMALKA, J.; GANESAN, S.; PATEL, K.; HALL, B. A.; BROWN, G. D.; FITZGERALD, K. A. An essential role for the *nlrp3* inflammasome in host defense against the human fungal pathogen *candida albicans*. **Cell host & microbe**, Elsevier, v. 5, n. 5, p. 487–497, 2009.

HÖFS, S.; MOGAVERO, S.; HUBE, B. Interaction of *candida albicans* with host cells: virulence factors, host defense, escape strategies, and the microbiota. **Journal of microbiology**, Springer, v. 54, n. 3, p. 149–169, 2016.

HOU, J.-s.; HE, Y.-y.; DU, L.-l.; DUAN, Z.-m.; CHEN, X.; LI, M. Gene expression profile and long noncoding rna analysis in *candida albicans* insoluble β -glucan-stimulated *cd14+* monocytes and *thp-1* cells. **Microbial Pathogenesis**, Elsevier, v. 157, p. 104963, 2021.

HU, G.; TANG, Q.; SHARMA, S.; YU, F.; ESCOBAR, T. M.; MULJO, S. A.; ZHU, J.; ZHAO, K. Expression and regulation of intergenic long noncoding rnas during t cell development and differentiation. **Nature immunology**, Nature Publishing Group, v. 14, n. 11, p. 1190–1198, 2013.

HUARTE, M.; GUTTMAN, M.; FELDSER, D.; GARBER, M.; KOZIOL, M. J.; KENZELMANN-BROZ, D.; KHALIL, A. M.; ZUK, O.; AMIT, I.; RABANI, M. et al. A large intergenic noncoding rna induced by p53 mediates global gene repression in the p53 response. **Cell**, Elsevier, v. 142, n. 3, p. 409–419, 2010.

JAVERZAT, S.; AUGUSTE, P.; BIKFALVI, A. The role of fibroblast growth factors in vascular development. **Trends in molecular medicine**, Elsevier, v. 8, n. 10, p. 483–489, 2002.

JOLY, S.; EISENBARTH, S. C.; OLIVIER, A. K.; WILLIAMS, A.; KAPLAN, D. H.; CASSEL, S. L.; FLAVELL, R. A.; SUTTERWALA, F. S. Cutting edge: *Nlrp10* is essential for protective antifungal adaptive immunity against *candida albicans*. **The Journal of Immunology**, Am Assoc Immunol, v. 189, n. 10, p. 4713–4717, 2012.

JR, J. N. de A.; FRANCISCO, E. C.; HAGEN, F.; BRANDÃO, I. B.; PEREIRA, F. M.; DIAS, P. H. P.; COSTA, M. M. de M.; JORDÃO, R. T. de S.; GROOT, T. de; COLOMBO, A. L. Emergence of *candida auris* in brazil in a covid-19 intensive care unit. **Journal of Fungi**, MDPI, v. 7, n. 3, p. 220, 2021.

KERNIEN, J. F.; SNARR, B. D.; SHEPPARD, D. C.; NETT, J. E. The interface between fungal biofilms and innate immunity. **Frontiers in immunology**, Frontiers Media SA, v. 8, p. 1968, 2018.

KINSELLA, R. J.; KÄHÄRI, A.; HAIDER, S.; ZAMORA, J.; PROCTOR, G.; SPUDICH, G.; ALMEIDA-KING, J.; STAINES, D.; DERWENT, P.; KERHORNOU, A. et al. Ensembl biomarts: a hub for data retrieval across taxonomic space. **Database**, Oxford Academic, v. 2011, 2011.

KULLBERG, B. J.; ARENDRUP, M. C. Invasive candidiasis. **New England Journal of Medicine**, Mass Medical Soc, v. 373, n. 15, p. 1445–1456, 2015.

LACY, P. Mechanisms of degranulation in neutrophils. **Allergy, Asthma & Clinical Immunology**, BioMed Central, v. 2, n. 3, p. 1–11, 2006.

LI, J.; CASANOVA, J.-L.; PUEL, A. Mucocutaneous il-17 immunity in mice and humans: host defense vs. excessive inflammation. **Mucosal immunology**, Nature Publishing Group, v. 11, n. 3, p. 581–589, 2018.

LOCKHART, S. R.; ETIENNE, K. A.; VALLABHANENI, S.; FAROOQI, J.; CHOWDHARY, A.; GOVENDER, N. P.; COLOMBO, A. L.; CALVO, B.; CUOMO, C. A.; DESJARDINS, C. A. et al. Simultaneous emergence of multidrug-resistant candida auris on 3 continents confirmed by whole-genome sequencing and epidemiological analyses. **Clinical Infectious Diseases**, Oxford University Press US, v. 64, n. 2, p. 134–140, 2017.

MAYER, F. L.; WILSON, D.; HUBE, B. Candida albicans pathogenicity mechanisms. **Virulence**, Taylor & Francis, v. 4, n. 2, p. 119–128, 2013.

MBA, I. E.; NWEZE, E. I. Mechanism of candida pathogenesis: revisiting the vital drivers. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, Springer, v. 39, n. 10, p. 1797–1819, 2020.

MCCARTY, T. P.; WHITE, C. M.; PAPPAS, P. G. Candidemia and invasive candidiasis. **Infectious Disease Clinics**, Elsevier, v. 35, n. 2, p. 389–413, 2021.

MOGAVERO, S.; SAUER, F. M.; BRUNKE, S.; ALLERT, S.; SCHULZ, D.; WISGOTT, S.; JABLONOWSKI, N.; ELSHAFFEE, O.; KRÜGER, T.; KNIEMEYER, O. et al. Candidalysin delivery to the invasion pocket is critical for host epithelial damage induced by candida albicans. **Cellular Microbiology**, Wiley Online Library, v. 23, n. 10, p. e13378, 2021.

MOYES, D. L.; WILSON, D.; RICHARDSON, J. P.; MOGAVERO, S.; TANG, S. X.; WERNECKE, J.; HÖFS, S.; GRATACAP, R. L.; ROBBINS, J.; RUNGLALL, M. et al. Candidalysin is a fungal peptide toxin critical for mucosal infection. **Nature**, Nature Publishing Group, v. 532, n. 7597, p. 64–68, 2016.

MURCIANO, C.; MOYES, D. L.; RUNGLALL, M.; TOBOUTI, P.; ISLAM, A.; HOYER, L. L.; NAGLIK, J. R. Evaluation of the role of candida albicans agglutinin-like sequence (als) proteins in human oral epithelial cell interactions. **PloS one**, Public Library of Science San Francisco, USA, v. 7, n. 3, p. e33362, 2012.

NAGLIK, J. R.; MOYES, D. L.; WÄCHTLER, B.; HUBE, B. Candida albicans interactions with epithelial cells and mucosal immunity. **Microbes and Infection**, Elsevier, v. 13, n. 12-13, p. 963–976, 2011.

NASH, A. K.; AUCHTUNG, T. A.; WONG, M. C.; SMITH, D. P.; GESELL, J. R.; ROSS, M. C.; STEWART, C. J.; METCALF, G. A.; MUZNY, D. M.; GIBBS, R. A. et al. The gut mycobiome of the human microbiome project healthy cohort. **Microbiome**, Springer, v. 5, n. 1, p. 1–13, 2017.

NAVARATHNA, D. H.; LIONAKIS, M. S.; ROBERTS, D. D. Endothelial nitric oxide synthase limits host immunity to control disseminated candida albicans infections in mice. **PloS one**, Public Library of Science San Francisco, CA USA, v. 14, n. 10, p. e0223919, 2019.

NETEA, M. G.; BROWN, G. D.; KULLBERG, B. J.; GOW, N. A. An integrated model of the recognition of candida albicans by the innate immune system. **Nature Reviews Microbiology**, Nature Publishing Group, v. 6, n. 1, p. 67–78, 2008.

NETEA, M. G.; DOMÍNGUEZ-ANDRÉS, J.; BARREIRO, L. B.; CHAVAKIS, T.; DIVANGAHI, M.; FUCHS, E.; JOOSTEN, L. A.; MEER, J. W. van der; MHLANGA, M. M.; MULDER, W. J. et al. Defining trained immunity and its role in health and disease. **Nature Reviews Immunology**, Nature Publishing Group, v. 20, n. 6, p. 375–388, 2020.

NETEA, M. G.; GOW, N. A.; MUNRO, C. A.; BATES, S.; COLLINS, C.; FERWERDA, G.; HOBSON, R. P.; BERTRAM, G.; HUGHES, H. B.; JANSEN, T. et al. Immune sensing of candida albicans requires cooperative recognition of mannans and glucans by lectin and toll-like receptors. **The Journal of clinical investigation**, Am Soc Clin Investig, v. 116, n. 6, p. 1642–1650, 2006.

NETEA, M. G.; JOOSTEN, L. A.; MEER, J. W. V. D.; KULLBERG, B.-J.; VEERDONK, F. L. V. D. Immune defence against candida fungal infections. **Nature Reviews Immunology**, Nature Publishing Group, v. 15, n. 10, p. 630–642, 2015.

NEVEN, B.; PRIEUR, A.-M. et al. Cryopyrinopathies: update on pathogenesis and treatment. **Nature clinical practice Rheumatology**, Nature Publishing Group, v. 4, n. 9, p. 481–489, 2008.

NIKOU, S.-A.; KICHIK, N.; BROWN, R.; PONDE, N. O.; HO, J.; NAGLIK, J. R.; RICHARDSON, J. P. Candida albicans interactions with mucosal surfaces during health and disease. **Pathogens**, MDPI, v. 8, n. 2, p. 53, 2019.

PAPPAS, P. G.; LIONAKIS, M. S.; ARENDRUP, M. C.; OSTROSKY-ZEICHNER, L.; KULLBERG, B. J. Invasive candidiasis. **Nature Reviews Disease Primers**, Nature Publishing Group, v. 4, n. 1, p. 1–20, 2018.

PASRICHA, S.; PEARSON, J. Lifting the veil on fungal toxins. **Cell Death Discovery**, Nature Publishing Group, v. 2, n. 1, p. 1–2, 2016.

PATRICIO, P.; PAIVA, J. A.; BORREGO, L. M. Immune response in bacterial and candida sepsis. **European Journal of Microbiology and Immunology**, Akadémiai Kiadó, v. 9, n. 4, p. 105–113, 2019.

PAULI, A.; VALEN, E.; LIN, M. F.; GARBER, M.; VASTENHOEW, N. L.; LEVIN, J. Z.; FAN, L.; SANDELIN, A.; RINN, J. L.; REGEV, A. et al. Systematic identification of long noncoding rnas expressed during zebrafish embryogenesis. **Genome research**, Cold Spring Harbor Lab, v. 22, n. 3, p. 577–591, 2012.

PFALLER, M. A.; DIEKEMA, D. J.; TURNIDGE, J. D.; CASTANHEIRA, M.; JONES, R. N. Twenty years of the sentry antifungal surveillance program: results for candida species from 1997–2016. In: OXFORD UNIVERSITY PRESS US. **Open forum infectious diseases**. [S.l.], 2019. v. 6, n. Supplement_1, p. S79–S94.

PLANTINGA, T. S.; JOHNSON, M. D.; SCOTT, W. K.; JOOSTEN, L. A.; MEER, J. W. V. D.; PERFECT, J. R.; KULLBERG, B. J.; NETEA, M. G. Human genetic susceptibility to candida infections. **Medical mycology**, Informa UK Ltd UK, v. 50, n. 8, p. 785–794, 2012.

QUINN, J. J.; CHANG, H. Y. Unique features of long non-coding rna biogenesis and function. **Nature Reviews Genetics**, Nature Publishing Group, v. 17, n. 1, p. 47–62, 2016.

RAINA, N.; RANI, R.; GUPTA, M. Angiogenesis: aspects in wound healing. In: **Endothelial Signaling in Vascular Dysfunction and Disease**. [S.l.]: Elsevier, 2021. p. 77–90.

- RAO, M. R. S. **Long Non Coding RNA Biology**. [S.l.]: Springer, 2017. v. 1008.
- REHAUME, L. M.; JOUAULT, T.; CHAMAILLARD, M. Lessons from the inflammasome: a molecular sentry linking candida and crohn's disease. **Trends in immunology**, Elsevier, v. 31, n. 5, p. 171–175, 2010.
- RICHARDSON, J. P.; MOYES, D. L. Adaptive immune responses to candida albicans infection. **Virulence**, Taylor & Francis, v. 6, n. 4, p. 327–337, 2015.
- ROBINSON, E. K.; COVARRUBIAS, S.; CARPENTER, S. The how and why of lncrna function: an innate immune perspective. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Gene Regulatory Mechanisms**, Elsevier, v. 1863, n. 4, p. 194419, 2020.
- ROCHA, W. R. V. da; NUNES, L. E.; NEVES, M. L. R.; XIMENES, E. C. P. de A.; ALBUQUERQUE, M. C. P. de A. Gênero candida-fatores de virulência, epidemiologia, candidíase e mecanismos de resistência. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 4, p. e43910414283–e43910414283, 2021.
- SINGHANIA, A.; GRAHAM, C. M.; GABRYŠOVÁ, L.; MOREIRA-TEIXEIRA, L.; STAVROPOULOS, E.; PITT, J. M.; CHAKRAVARTY, P.; WARNATSCH, A.; BRANCHETT, W. J.; CONEJERO, L. et al. Transcriptional profiling unveils type i and ii interferon networks in blood and tissues across diseases. **Nature communications**, Nature Publishing Group, v. 10, n. 1, p. 1–21, 2019.
- STATELLO, L.; GUO, C.-J.; CHEN, L.-L.; HUARTE, M. Gene regulation by long non-coding rnas and its biological functions. **Nature reviews Molecular cell biology**, Nature Publishing Group, v. 22, n. 2, p. 96–118, 2021.
- SUDBERY, P. E. Growth of candida albicans hyphae. **Nature Reviews Microbiology**, Nature Publishing Group, v. 9, n. 10, p. 737–748, 2011.
- TURNER, S. A.; BUTLER, G. The candida pathogenic species complex. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, Cold Spring Harbor Laboratory Press, v. 4, n. 9, p. a019778, 2014.
- VELLANKI, S.; HUH, E. Y.; SAVILLE, S. P.; LEE, S. C. Candida albicans morphology-dependent host fgf-2 response as a potential therapeutic target. **Journal of Fungi**, MDPI, v. 5, n. 1, p. 22, 2019.
- VENDELE, I.; WILLMENT, J. A.; SILVA, L. M.; PALMA, A. S.; CHAI, W.; LIU, Y.; FEIZI, T.; SPYROU, M.; STAPPERS, M. H.; BROWN, G. D. et al. Mannan detecting c-type lectin receptor probes recognise immune epitopes with diverse chemical, spatial and phylogenetic heterogeneity in fungal cell walls. **PLoS pathogens**, Public Library of Science San Francisco, CA USA, v. 16, n. 1, p. e1007927, 2020.
- WAICKMAN, A. T.; GROMOWSKI, G. D.; RUTVISUTTINUNT, W.; LI, T.; SIEGFRIED, H.; VICTOR, K.; KUKLIS, C.; GOMOOTUKAVADEE, M.; MCCRACKEN, M. K.; GABRIEL, B. et al. Transcriptional and clonal characterization of b cell plasmablast diversity following primary and secondary natural denv infection. **EBioMedicine**, Elsevier, v. 54, p. 102733, 2020.
- WANG, Y. Looking into candida albicans infection, host response, and antifungal strategies. **Virulence**, Taylor & Francis, v. 6, n. 4, p. 307–308, 2015.

WANG, Y.; ZHONG, H.; XIE, X.; CHEN, C. Y.; HUANG, D.; SHEN, L.; ZHANG, H.; CHEN, Z. W.; ZENG, G. Long noncoding rna derived from cd244 signaling epigenetically controls cd8+ t-cell immune responses in tuberculosis infection. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, National Acad Sciences, v. 112, n. 29, p. E3883–E3892, 2015.

WEI, M.-M.; ZHOU, G.-B. Long non-coding rnas and their roles in non-small-cell lung cancer. **Genomics, proteomics & bioinformatics**, Elsevier, v. 14, n. 5, p. 280–288, 2016.

WU, Y.; JIANG, L.; ZHANG, L.; LIU, X.; YAN, L.; LUAN, T.; RUI, C.; MAO, Z.; FAN, C.; LIU, Y. et al. Antifungal effect of long noncoding rna 9708-1 in the vulvovaginal candidiasis murine model. **Mycopathologia**, Springer, v. 186, n. 2, p. 177–188, 2021.

XIE, Z.; THOMPSON, A.; SOBUE, T.; KASHLEVA, H.; XU, H.; VASILAKOS, J.; DONGARI-BAGTZOGLOU, A. Candida albicans biofilms do not trigger reactive oxygen species and evade neutrophil killing. **The Journal of infectious diseases**, Oxford University Press, v. 206, n. 12, p. 1936–1945, 2012.

YANG, Y.-L. et al. Virulence factors of candida species. **Journal of Microbiology Immunology and Infection**, LIPPINCOTT WILLIAMS AND WILKINS ASIA LTD, v. 36, n. 4, p. 223–228, 2003.

YAO, R.-W.; WANG, Y.; CHEN, L.-L. Cellular functions of long noncoding rnas. **Nature cell biology**, Nature Publishing Group, v. 21, n. 5, p. 542–551, 2019.

ZHANG, X.; WANG, W.; ZHU, W.; DONG, J.; CHENG, Y.; YIN, Z.; SHEN, F. Mechanisms and functions of long non-coding rnas at multiple regulatory levels. **International journal of molecular sciences**, MDPI, v. 20, n. 22, p. 5573, 2019.

ZHENG, G. X.; DO, B. T.; WEBSTER, D. E.; KHAVARI, P. A.; CHANG, H. Y. Dicer-microrna-myc circuit promotes transcription of hundreds of long noncoding rnas. **Nature structural & molecular biology**, Nature Publishing Group, v. 21, n. 7, p. 585–590, 2014.

ZHONG, Y.; KINIO, A.; SALEH, M. Functions of nod-like receptors in human diseases. **Frontiers in immunology**, Frontiers Media SA, v. 4, p. 333, 2013.

ANEXO A – Curriculum vitae resumido

GONÇALVES, G. F.

1. DADOS PESSOAIS

Nome: Gabriela Flores Gonçalves

Data e local de nascimento: 05/04/1997 - Porto Alegre, Rio Grande do Sul (RS), Brasil

Endereço profissional: Av. Bento Gonçalves, 9500, Instituto de Informática, Prédio 43424,
Lab. 209 - Porto Alegre (RS), Brasil

E-mail: gabrielaflgn@gmail.com

2. FORMAÇÃO

2020–atual Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular (PPGBCM)

Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

2016–2019 Bacharelado em Informática Biomédica

Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre (UFCSPA)

3. ESTÁGIOS

2019 Iniciação científica

Título: Caracterização de Bacteriófagos em viromas de aves com e sem Síndrome da Má Absorção

Orientadora: Fabiana Quoos Mayer

Instituição: Secretaria de Agricultura, Pecuária e Desenvolvimento Rural (SEAPDR)

Financiamento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul

2019 Estágio curricular

Orientadora: Fabiana Quoos Mayer

Instituição: SEAPDR

2019 Iniciação científica

Título: Genômica Funcional Evolutiva de bactérias do gênero Mycoplasma

Orientadora: Claudia Elizabeth Thompson

Instituição: UFCSPA

Financiamento: UFCSPA

2017–2018 Projeto de iniciação à docência

Título: Definição de modelo para a formação de engenheiros de software de alto desempenho na área da saúde

Orientadora: Juliana Silva Herbert

Instituição: UFCSPA

Financiamento: UFCSPA

4. PRÊMIOS E DISTINÇÕES

2019 Trabalho Destaque no VIII Salão de Iniciação Científica e Inovação Tecnológica (SICIT), SEAPDR

5. RESUMOS E TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS

2019 GONÇALVES, G. F.; LIMA, D. A. ; ROEHE, P. M. ; MAYER, F. Q. . Caracterização de bacteriófagos em viroma de aves com e sem síndrome da má absorção. 2019. In: VIII SICIT, Porto Alegre. (Apresentação de Trabalho e Resumo)

2019 GONÇALVES, G. F.; VEDOVATTO, M. M. ; ANDREIS, F. C. ; THOMPSON, C. E. . Novas funcionalidades em um pipeline para estudos de genômica evolutiva de bactérias do gênero Mycoplasma. 2019. In: Congresso UFCSPA: conectando saúde e sociedade, Porto Alegre. (Apresentação de Trabalho e Resumo)

2018 GONÇALVES, G. F.; GIGLIO, R. F. ; HERBERT, J. S. . Portfólio de sistemas de software na área da saúde - Informática biomédica da UFCSPA. 2018. In: IV Mostra de Trabalhos de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFCSPA, Porto Alegre. (Apresentação de Trabalho)

2018 POOCH, E. H. P. ; GONÇALVES, G. F. ; SILVEIRA, M. R. ; GIGLIO, R. F. ; HERBERT, J. S. . Ligi: um aplicativo para compartilhar segurança. 2018. In: III Semana Acadêmica da Informática Biomédica, Porto Alegre. (Apresentação de Trabalho).

2017 GONÇALVES, G. F.; HERBERT, J. S. . Definição de Modelo para a Formação de Engenheiros de Software de Alto Desempenho na Área da

Saúde. 2017. In: III Mostra de Trabalhos de Ensino, Pesquisa e Extensão da UFCSPA, Porto Alegre. (Apresentação de Trabalho).

2017 GONÇALVES, G. F.; HERBERT, J. S. . Engenharia de Software Baseada em Evidências. 2017. In: II Semana Acadêmica da Informática Biomédica, Porto Alegre. (Apresentação de Trabalho).