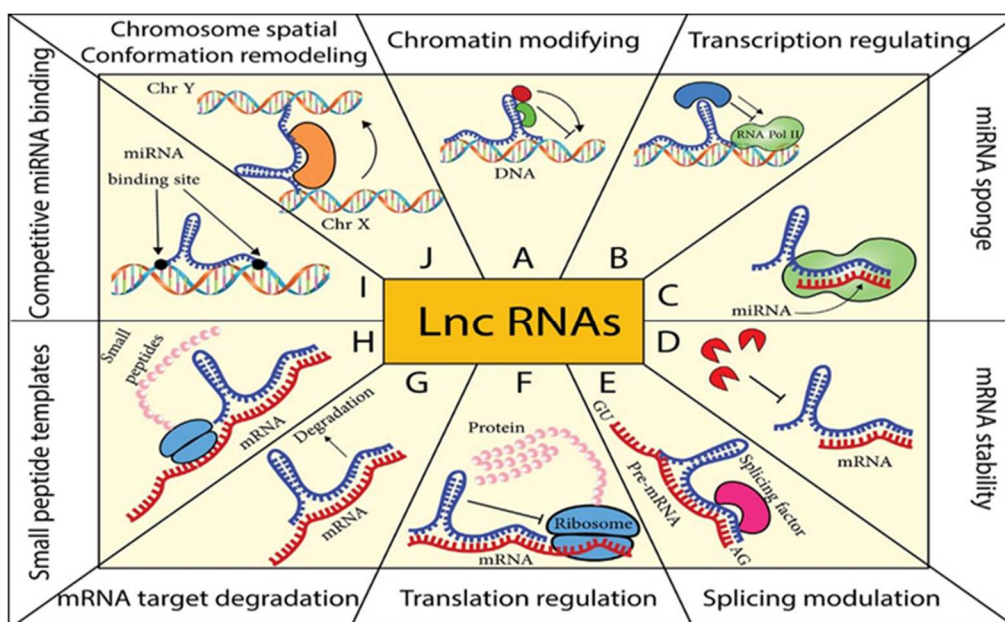


ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Ο ρόλος των μακρών μη-κωδικοποιούμενων (long non-coding) RNAs στη λεισμανίαση

POST GRADUATE THESIS

The role of long non-coding RNAs in leishmaniasis



ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

Αλεξανδρή Ελένη
Alexandri Eleni

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF THE SUPERVISOR

Βογιατζάκη Χρυσάνθη
Vogiatzaki Chrysanthi

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2023



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences
Postgraduate program:
Biomedical methods and technology in diagnosis



POST GRADUATE THESIS
The role of long non-coding RNAs in leishmaniasis

ALEXANDRI ELENI

21002

Dml21002@uniwa.gr

FIRST SUPERVISOR

DR. VOGIATZAKI CHRYSANTHI

SECOND SUPERVISOR

DR. TOUMPANAKI DIMITRA

AIGALEO 2023

Επιτροπή εξέτασης

Ημερομηνία εξέτασης: 02/10/2023

	Ονόματα εξεταστών	Υπογραφή
1 ^{ος} Εξεταστής	Βογιατζάκη Χρυσάνθη	
2 ^{ος} Εξεταστής	Τουμπανάκη Δήμητρα	

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Αλεξανδρή Ελένη του Αποστόλου, με αριθμό μητρώου 21002 φοιτήτρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών Βοϊατρικές μέθοδοι και Τεχνολογία στη Διάγνωση του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Η Δηλούσα

Αλεξανδρή Ελένη

Ευχαριστίες

Πρώτα από όλα θα ήθελα να ευχαριστήσω τις επιβλέπουσες καθηγήτριες κυρία Βογιατζάκη και κυρία Τουμπανάκη για την καθοδήγηση που μου πρόσφεραν σε όλο το ταξίδι της διπλωματικής μου εργασίας. Οι γνώσεις και ο επαγγελματισμός τους με βοήθησαν να ολοκληρώσω και το τελευταίο μέρος αυτού του μεταπτυχιακού διπλώματος.

Τέλος, ευχαριστώ θερμά την οικογένεια μου και τους φίλους μου για την στήριξη και την κατανόηση που μου έδειξαν όταν τα πράγματα γίνονταν «θολά» κατά την έρευνα.

Αφιέρωσεις

Στην οικογένεια μου, που με στηρίζει πάντα.

Περίληψη

Εισαγωγή: Τα μακριά (long) μη κωδικοποιούμενα RNAs (ncRNAs) είναι τμήματα RNA μεγέθους > 200 νουκλεοτιδίων που δεν μεταφράζονται σε πρωτεΐνες αλλά δρουν ρυθμιστικά στο ανοσολογικό σύστημα, αλληλεπιδρώντας κυρίως με τις κυτταροκίνες.

Σκοπός: Σκοπός της παρούσας βιβλιογραφικής εργασίας είναι η ανασκόπηση νέων στοιχείων και η διερεύνηση του ρόλου των long non-coding RNAs (lncRNAs) στην εξέλιξη παρασιτικών ασθενειών όπως η Λεισμανίαση.

Μέθοδος: Η μέθοδος που εφαρμόστηκε για την αναζήτηση πληροφοριών είναι η συστηματική βιβλιογραφική ανασκόπηση. Η αναζήτηση έγινε στο Google, Google scholar και σε βάσεις δεδομένων όπως Scopus και PubMed με τις εξής λέξεις-κλειδιά: “lncRNA AND leishmania”, “long non-coding RNA AND leishmania”, “leishmania” και “lncRNA”. Χρησιμοποιήθηκαν βιβλιογραφικές αναφορές από δημοσιευμένες μελέτες και άρθρα. Ανακτήθηκαν περισσότερες από 300 αναφορές με βάση τις λέξεις-κλειδιά που χρησιμοποιήθηκαν, ενώ το σύνολο των κριτηρίων για χρήση στην παρούσα βιβλιογραφική ανασκόπηση πληρούσαν 7, οι οποίες και αναλύθηκαν περαιτέρω.

Αποτελέσματα: Σύμφωνα με καινοτόμες μελέτες, διαφοροποιήσεις στην έκφραση των lncRNAs: MALAT1, NUTM2A-AS1, LINC00622, LINC00963, MAPKAPK5-AS1, LINC02289, ZFAS1, XPC-AS1 και SNHG5, φαίνεται να εμπλέκονται στην παθολογία της λεισμανίασης και θα μπορούσαν να αξιοποιηθούν στη διάγνωση της νόσου. Πιο συγκεκριμένα, διαπιστώθηκε ότι το MALAT1 είναι ένας σημαντικός ρυθμιστής της ανοσολογικής απόκρισης καθώς η απώλεια αυτού προκαλεί σοβαρότερη νόσο.

Συμπεράσματα: Συμπερασματικά, από τη μελέτη της πρόσφατης βιβλιογραφίας, διαπιστώνουμε ότι τα διαθέσιμα δεδομένα δεν μας επιτρέπουν να βγάλουμε οριστικά συμπεράσματα σχετικά με τον ρόλο που παίζουν και πώς ακριβώς επηρεάζουν τα lncRNAs την νόσο της λεισμανίασης. Επομένως είναι αναγκαίο να πραγματοποιηθούν περαιτέρω έρευνες.

Λέξεις κλειδιά: lncRNAs, λεισμανία

Abstract

Introduction: Long non-coding RNAs are RNA segments with more than 200 nucleotides, that are not translated into protein but they can regulate the immune system, mainly interacting with cytokines.

Purpose: Purpose of the present study is to review new evidence and investigate the role of long-non coding RNAs (lncRNAs) in the development of parasitic diseases such as leishmaniasis.

Method: The method which was applied to search for information is the systematic bibliographic review. The search was performed on Google, Google scholar and in databases such as Scopus and PubMed. References from published studies and articles were used. Over 300 references related to the topic were found and of these, 7 were appropriate for used in the present review, based on the study criteria.

Results: According to recent studies, differential expressions of MALAT1, NUTM2A-AS1, LINC00963, LINC00622, MAPKAPK5-AS1, LINC02289, XPC-AS1 ZFAS1 and SNHG5 lncRNAs, may be involved in the progression of leishmaniasis and may eventually help in the diagnosis of this disease. In particular, MALAT1 was found to be an important regulator of immunity as its loss causes more severe disease.

Discussion: In conclusion, based on the study of recent published studies, the available data do not allow the drawing of definitive conclusions about the role of lncRNAs in leishmaniasis and how exactly they affect leishmaniasis. Further investigations are therefore necessary.

Key words: lncRNAs, leishmaniasis

Περιεχόμενα

Δήλωση συγγραφέα μεταπτυχιακής εργασίας.....	iv
Ευχαριστίες	v
Αφιερώσεις	vi
Περίληψη	vii
Abstract	viii
Συνοτομογραφίες	xi
Πρόλογος.....	1
Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή	3
1.1. Λεισμάνια.....	3
1.1.1 Γενικά στοιχεία.....	3
1.1.2 Κύκλος ζωής.....	4
1.2. Μέθοδοι διάγνωσης της λεισμανίασης	6
1.3 Η παθογένεια της νόσου και ανοσολογικές αποκρίσεις.....	6
1.4 Θεραπεία της λεισμανίασης.....	9
Κεφάλαιο 2. LncRNAs	11
2.1.1 Γενικά στοιχεία.....	11
2.1.2 Τα είδη των LncRNAs.....	13
2.2 Τρόποι ανίχνευσης και προσδιορισμού των LncRNAs.....	16
2.2.1 Τρόποι ανίχνευσης των LncRNAs.....	16
2.2.2 Μέθοδοι ταυτοποίησης των LncRNAs	18
Κεφάλαιο 3. Ο ρόλος των LncRNAs στο ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή	19
3.1 LncRNA και μακροφάγα.....	19
3.2 LncRNAs και CD4 ⁺ T κύτταρα	20
3.3 LncRNAs και δενδριτικά κύτταρα	21
3.4 LncRNAs και NK κύτταρα	22
3.5 LncRNAs και B κύτταρα.....	23
Κεφάλαιο 4. Μεθοδολογία	24
4.1 Στρατηγική αναζήτησης.....	24
Κεφάλαιο 5. Ο ρόλος των LncRNAs στην λεισμανίαση	26
Κεφάλαιο 6. Συμπέρασμα.....	32
Αναφορές.....	33
Πηγές Εικόνων	51

Πηγές Πινάκων.....	51
--------------------	----

Συντομογραφίες

	Αγγλική ορολογία	Ελληνική ορολογία
BIncRNA	Bidirectional long non- coding RNA	Αμφίδρομο μακρύ μη κωδικοποιούμενο RNA
CL	Cutaneous Leishmaniasis	Δερματική λεισμανίαση
EIncRNA	Enhancer long non- coding RNA	Ενισχυτικό μακρύ μη κωδικοποιούμενο RNA
IFN-γ	Interferon	Ιντερφερόνη-γ
IL-10	Interleukin-10	Ιντερλευκίνη-10
IIncRNA	Intronic long non- coding RNA	Ιντρονικό μακρύ μη κωδικοποιούμενο RNA
LincRNA	Long intergenic non- coding RNA	Διαγωνιδιακό μακρύ μη κωδικοποιούμενο RNA
LncRNAs	Long non- coding RNAs	Μακρά μη κωδικοποιούμενα RNAs
LPG	Lipophosphoglycan	Λιποφωσφογλυκάνη
MCL	Muco-cutaneous Leishmaniasis	Βλεννογονοδερματική λεισμανίαση
NOD	Nucleotide Oligomerization Domain	Νουκλεοτίδιο με περιοχή ολιγομερισμού
PBMCs	Peripheral blood mononuclear cells	Ανθρώπινα μονοπύρηνια κύτταρα περιφερικού αίματος
ROS	Reactive oxygen species	Δραστικές μορφές οξυγόνου
SIncRNA	Sense-overlapping long non- coding RNA	Αλληλεπικαλυπτόμενο μακρύ μη κωδικοποιούμενο RNA
TGF-β	Transforming growth factor-β	Μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας β
TNF-α	Tumor necrosis factor-α	Παράγοντας νέκρωσης όγκων-α
VL	Visceral Leishmaniasis	Σπλαχνική λεισμανίαση
NO	Nitric oxide	Μονοξείδιο του αζώτου

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία επικεντρώθηκε στη βιβλιογραφική έρευνα που σχετίζεται με τη λειτουργία και τον ρόλο των long non-coding RNAs στην λεισμανίαση. Την τελευταία δεκαετία, ένας μεγάλος αριθμός ερευνών έχει αποκαλύψει ότι τα μόρια RNA είναι ευέλικτοι και πολύπλευροι ρυθμιστές των περισσότερων κυτταρικών διεργασιών, σε αντίθεση με την αρχική αντίληψη ότι λειτουργούσαν αποκλειστικά και μόνο ως μεσολαβητές για τη μετάφραση του DNA σε πρωτεΐνη (Bridges et al., 2021). Η ανάπτυξη της τεχνολογίας αλληλούχησης του RNA (RNA-seq) και η χαρτογράφηση των μεταγραφημάτων αποκάλυψε ότι ενώ το ανθρώπινο γονιδίωμα μεταγράφεται ευρύτατα, μόνο ένα μικρό κλάσμα RNA (περίπου 2%) κωδικοποιεί πρωτεΐνες (Djebali et al., 2012; Karanov et al., 2007; ENCODE Project Consortium et al., 2007). Η πλειονότητα των εκφραζόμενων μεταγραφημάτων που δεν κωδικοποιούν πρωτεΐνες, ταξινομούνται ευρέως ως lncRNAs όταν έχουν μήκος >200 nt (Hangauer et al., 2013; Iyer et al., 2015; St Laurent et al., 2015; Managadze et al., 2013).

Έχει διαπιστωθεί ότι τα lncRNAs παίζουν κρίσιμο ρόλο σε πολλές κυτταρικές διεργασίες, συμπεριλαμβανομένων σταδίων του κυτταρικού κύκλου (Kitagawa et al., 2013), της διαφοροποίησης (Ballarino et al., 2016; Brazão et al., 2016; Delás et al., 2017), και του μεταβολισμού (Sirey et al., 2019; Sun & Wong, 2016), αλλά και σε διάφορες ασθένειες (Esteller, 2011; Y. Wang et al., 2013; Yuan et al., 2014). Πρόσφατα στοιχεία υποδηλώνουν ότι τα lncRNA παίζουν ρόλο σε ιογενείς μολύνσεις (Y. Wang et al., 2020). Τα lncRNAs μπορούν να λειτουργήσουν μέσω διαφορετικών μηχανισμών δράσης. Για παράδειγμα, μπορούν να ρυθμίσουν τη μεταγραφή, επιγενετικές τροποποιήσεις, τη σταθερότητα του συμπλόκου πρωτεΐνης/RNA, τη μετάφραση και τις μεταμεταφραστικές τροποποιήσεις αλληλεπιδρώντας με το DNA, (R. Arora et al., 2014; Clemson et al., 1996; Postepska-Igielska et al., 2015) το RNA (Grelet et al., 2017; Kleaveland et al., 2018; Zealy et al., 2018) ή και με πρωτεΐνες (Ahn et al., 2018; Jiang et al., 2017; Yamazaki et al., 2018). Επίσης πρόσφατα αποδείχθηκε ότι τα lncRNAs αλληλεπιδρούν άμεσα με υποδοχείς σηματοδότησης (Bridges et al., 2021b; Schmidt et al., 2020).

Είκοσι διαφορετικά είδη του γένους λεισμάνια προκαλούν 0,7 έως 1 εκατομμύριο νέες περιπτώσεις λεισμανίασης σε ανθρώπους κάθε χρόνο παγκοσμίως (Burza et al., 2018). Η ασθένεια απαντάται σε τρεις κύριες κλινικές μορφές: δερματική, βλεννογονοδερματική και σπλαχνική λεισμανίαση και μπορεί να προκαλέσει έλκη στο

δέρμα ή στο βλεννογόνο που μπορεί να αυτοθεραπευθούν ή να προκαλέσουν βλάβη σε όργανα, όπως το ήπαρ, ο σπλήνας καθώς και στον μυελό των οστών, (J. C. R. Fernandes et al., 2023). Είναι καλά τεκμηριωμένο ότι η μόλυνση με λεισμάνια μεταβάλλει τα μεταγραφικά επίπεδα στις αποκρίσεις του κυττάρου-ξενιστή. Δεδομένου ότι τα κύτταρα των θηλαστικών έχουν πολλαπλούς μηχανισμούς για τον έλεγχο της γονιδιακής έκφρασης, διαφορετικά μόρια, όπως τα μη κωδικοποιούμενα RNA, μπορούν να εμπλακούν σε αυτή τη διαδικασία (J. C. R. Fernandes et al., 2023). Τα microRNAs έχουν μελετηθεί εκτενώς στη μόλυνση από λεισμάνια, αλλά το πώς τα μακρά μη κωδικοποιούμενα RNA (lncRNAs) εμπλέκονται σε διαδικασίες που αφορούν μακροφάγα κύτταρα είναι ακόμα υπό έρευνα (J. C. R. Fernandes et al., 2023).

Η παρούσα βιβλιογραφική έρευνα έχει ως στόχο την ανασκόπηση νέων στοιχείων και την διερεύνηση του ρόλου των lncRNAs στην παρασιτική λοίμωξη της λεισμάνια, χρησιμοποιώντας για την ανάλυση του μεταγραφώματος αλληλούχιση RNA (RNA-seq). Η αναζήτηση των πληροφοριών έγινε από τις βάσεις δεδομένων PubMed και Google Scholar με κατάλληλες λέξεις κλειδιά και φίλτρα έως τις 15 Ιουνίου 2023. Βρέθηκαν χιλιάδες δημοσιεύσεις συνολικά για τις λέξεις κλειδιά lncRNA και leishmania που χρησιμοποιήθηκαν ξεχωριστά στην αρχή. Έπειτα την εφαρμογή κριτηρίων αλλά και την ανάγνωση των αντίστοιχων περιλήψεων, 7 ήταν αυτές που πληρούσαν όλα τα κριτήρια για την παρούσα εργασία. Πιο συγκεκριμένα μετά την αναζήτηση της φράσης “lncRNA AND leishmania” εμφανίστηκαν 13 αποτελέσματα. Στην συνέχεια με την φράση “long non-coding RNA AND leishmania” εμφανίστηκαν 12 αποτελέσματα. Από τα 25 συνολικά αποτελέσματα τα 6 χρησιμοποιήθηκαν μετά από ανάγνωση περιλήψεων των δημοσιεύσεων.

Οι παραπάνω μελέτες έδειξαν πως διαφορετικά επίπεδα έκφρασης των lncRNAs MALAT1, NUTM2A-AS1, LINC00963, LINC00622, MAPKAPK5-AS1, LINC02289, XPC-AS1, ZFAS1 και SNHG5, ίσως εμπλέκονται στον τρόπο μόλυνσης και μετάδοσης της λεισμανίασης και μπορεί να παρέχουν μια νέα εικόνα για τη διάγνωση αυτής της ζωνόσου (Z. Li et al., 2023). Ωστόσο, περαιτέρω έρευνα για τα lncRNAs είναι απαραίτητη καθώς δεν έχει διαλευκανθεί πλήρως η λειτουργία τους.

Κεφάλαιο 1. Εισαγωγή

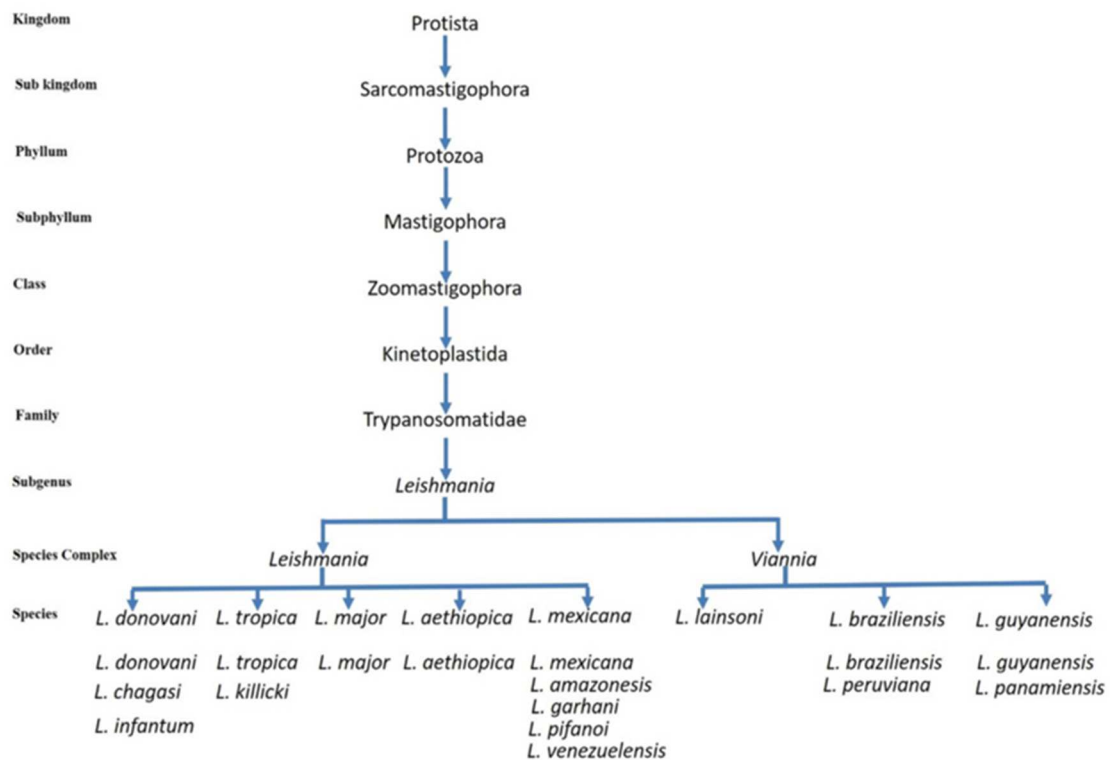
1.1.Λεισμάνια

1.1.1 Γενικά στοιχεία

Η λεισμανίαση είναι μια παρασιτική νόσος η οποία θέτει σε σοβαρό κίνδυνο την ανθρώπινη υγεία (Sen et al., 2004) και θεωρείται ως η αρχαία και μολυσματική ασθένεια των φτωχών (X. Zhou et al., 2012). Προκαλείται από ενδοκυτταρικό παράσιτο (πρωτόζωο), του γένους λεισμάνια της τάξης των κινετοπλαστοειδών και της οικογένειας των τρυπανοσωματιδίων (βλ. Εικ. 1) (Raj et al., 2020). Οι πιο κοινές μορφές της ασθένειας είναι η σπλαχνική λεισμανίαση (VL), η δερματική (CL) λεισμανίαση και η βλεννογονοδερματική (MCL). Η σπλαχνική λεισμανίαση είναι η πιο σοβαρή μορφή της νόσου, προσβάλλει πολλά εσωτερικά όργανα (συνήθως το σπλήνα, το ήπαρ και το μυελό των οστών) και είναι πιθανά θανατηφόρος εάν δεν θεραπευθεί. Υπάρχουν όμως και ασυμπτωματικές μορφές. Η νόσος αυτή, σε όσους αναπτύσσουν συμπτώματα, χαρακτηρίζεται από πυρετό, απώλεια βάρους, διόγκωση ήπατος, σπλήνα και λεμφαδένων, αναιμία και πτώση του αριθμού των αιμοπεταλίων και των λευκών αιμοσφαιρίων. Η δερματική λεισμανίαση, η πιο συχνή μορφή παγκοσμίως, προκαλεί κυρίως δερματικά έλκη και θεωρείται λιγότερο σοβαρή μορφή της νόσου. Τα συμπτώματα εμφανίζονται από λίγες ημέρες έως πολλούς μήνες μετά το τσίμπημα της μολυσμένης σκνίπας (*Λεισμανίαση - Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας, n.d.*).

Η σπλαχνική λεισμανίαση, γνωστή και ως καλα-αζάρ στην Ινδική υποήπειρο, μεταδίδεται από το δάγκωμα μολυσμένων θηλυκών φλεβοτόμων σκνίπας. Ξενιστές μπορεί να είναι ζώα όπως σαρκοφάγα θηλαστικά, τρωκτικά, μαρσιποφόρα αλλά και άνθρωποι (Singh et al., 2021). Συναντάται ευρέως στην Ασία, την Ευρώπη, την Αφρική, τη Λατινική Αμερική, και άλλες περιοχές (Ejazi et al., 2019) (Alvar et al., 2012). Έχει γίνει αναφορά για μολύνσεις από λεισμάνια σε 101 χώρες και περίπου 350 εκατομμύρια άνθρωποι ζουν σε περιοχές όπου το παράσιτο κυκλοφορεί ενεργά (Savoia, 2015). Υπάρχουν επίσης περίπου 1,3 εκατομμύρια νέα κρούσματα παγκοσμίως κάθε χρόνο (Elmahallawy et al., 2014), όπου η σπλαχνική λεισμανίαση αντιπροσωπεύει την μόλυνση περίπου 200.000-400.000 ατόμων (Sakkas et al., 2016). Υπολογίστηκε ότι περίπου 40.000 άνθρωποι πεθαίνουν από αυτό κάθε χρόνο (Ready, 2014), ενώ παρά την κατάλληλη θεραπεία, οι ασθενείς μπορεί να υποτροπιάσουν μετά από 6-12 μήνες. Επιπλέον, η

λεισμανίαση χωρίς θεραπεία μπορεί να οδηγήσει σε πολυσυστηματική νόσο που με την σειρά της οδηγεί σε δευτερογενή μόλυνση και θάνατο (Murray et al., n.d.). Οι άνθρωποι μολύνονται από ζώα τα οποία μεταδίδουν την ασθένεια μέσω των δευτερογενών επιπτώσεων, όπως η μόλυνση του περιβάλλοντος ή μέσω της άμεσης επαφής μαζί τους, και αυτό τους επηρεάζει αρνητικά (Sánchez et al., 2021).

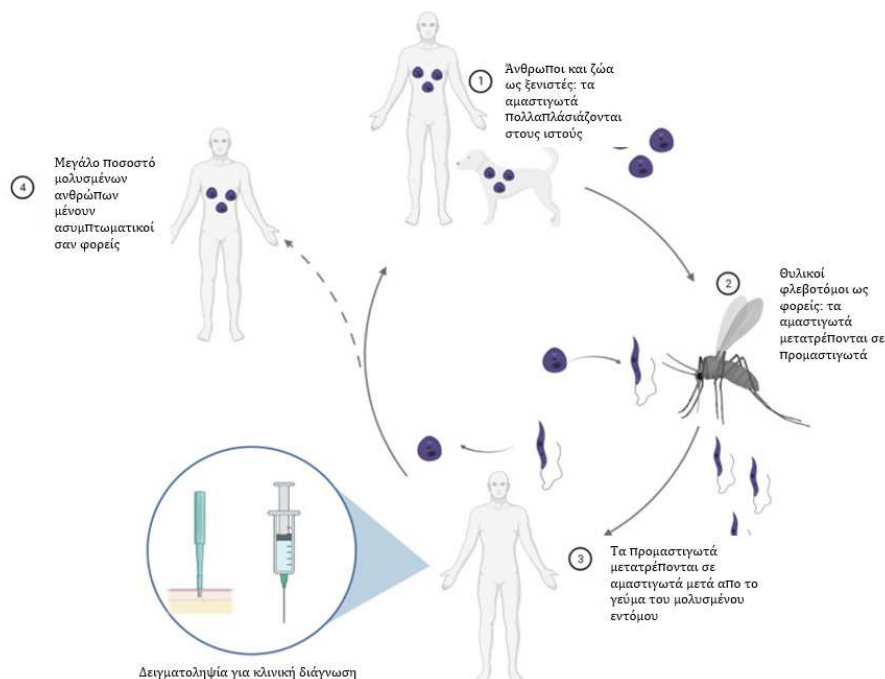


Εικόνα 1: Ταξινόμηση του γένους *Leishmania* (Raj et al., 2020).

1.1.2 Κύκλος ζωής

Το παράσιτο έχει απλό βιολογικό κύκλο και εμφανίζεται σε δύο μορφές, το αμαστιγωτό, αναπαραγόμενο με διχοτόμηση, το οποίο βρίσκεται μέσα στο μακροφάγο και μονοπύρηνου που έχει μολυνθεί, και το μαστιγοφόρο προμαστιγωτό που βρίσκεται μέσα στο έντομο. Τα αμαστιγωτά βρίσκονται ενδοκυττάρια και διατηρούν χαμηλό ρυθμό πολλαπλασιασμού, μειωμένη βιοσυνθετική ικανότητα, χαμηλό βιοενεργειακό επίπεδο και σημαντικά τροποποιημένο μεταβολισμό. Τα παράσιτα λαμβάνονται από το θηλυκό έντομο κατά το γεύμα του από ένα μολυσμένο άτομο, (Sahu & Khare, 2021) μεταναστεύουν στη συνέχεια προς τους σιελογόνους αδένες και τον οισοφάγο και

μεταδίδονται αργότερα μαζί με το σάλιο του εντόμου στον ξενιστή θηλαστικό κατά τη διάρκεια του επόμενου γεύματος αίματος. Το αντιπηκτικό που υπάρχει στο σάλιο του εντόμου βοηθά στη μετάδοση των παρασίτων, εμποδίζοντας την πήξη του αίματος στο σημείο του τσιμπήματος του. Μετά την είσοδό τους στον ξενιστή, τα προμαστιγωτά προσλαμβάνονται εύκολα από μακροφάγα ή δενδριτικά κύτταρα, εντός των οποίων επανέρχονται στην αμαστιγωτή μορφή και πολλαπλασιάζονται. Τελικά τα αμαστιγωτά απελευθερώνονται από τα κύτταρα του ξενιστή λόγω του κυτταρολυτικού περιβάλλοντος που προκαλείται από την ανεπαρκή ανοσολογική απόκριση του ξενιστή (Real et al., 2014). Όταν απελευθερώνονται τα αμαστιγωτά παράσιτα είτε φαγοκυτταρώνονται από άλλα μακροφάγα είτε προσλαμβάνονται από άλλο έντομο κατά τη διάρκεια ενός αιματολογικού γεύματος. Έτσι, το παράσιτο συνεχίζει τον κύκλο ζωής του ο οποίος κορυφώνεται με τη μόλυνση των γύρω κυττάρων και ιστών στην δερματική λεισμανίαση και των οργάνων που είναι πλούσια σε μακροφάγα, όπως ο μυελός των οστών, το ήπαρ και ο σπλήνας στην σπλαχνική λεισμανίαση (Esch & Petersen, 2013)(βλ. Εικ. 2). Μεταξύ των μολυσματικών ασθενειών των παρασίτων, η λεισμανίαση είναι η τρίτη πιο συχνή αιτία θανάτου μετά την ελονοσία και την σχιστοσωμίαση (Ready, 2014).



Εικόνα 2 : Ο κύκλος ζωής των ειδών λεισμανία. Οι φλεβοτόμοι εγχέουν τα προμαστιγωτά στάδια του παρασίτου καθώς παίρνουν το γεύμα τους από το αίμα . Αυτά τα παράσιτα μετατρέπονται σε ασεξουαλικά αναπαραγόμενα αμαστιγωτά

μέσα στα μακροφάγα και μπορούν να προσβάλουν διάφορα όργανα και ιστούς, ανάλογα με το είδος του παρασίτου και το είδος και την ανοσολογική κατάσταση του ξενιστή (Gow et al., 2022).

1.2. Μέθοδοι διάγνωσης της λεισμανίασης

Η παραδοσιακή μέθοδος διάγνωσης της λεισμανίασης είναι η ανίχνευση των παθογόνων μικροοργανισμών από επίχρισμα ή από καλλιέργεια μυελού των οστών. Το κύριο μειονέκτημα της μεθόδου δεν είναι μόνο ο πόνος κατά την λήψη του μυελού των οστών, αλλά το γεγονός ότι ασθενείς που έχουν χαμηλή συγκέντρωση πρωτόζωων μπορεί να μην διαγνωσθούν. Οπότε, η λεισμάνια συνήθως διαγιγνώσκεται κλινικά, ειδικά σε περιοχές όπου είναι γνωστό ότι είναι ενδημικές, αλλά πολύ συχνά τα συμπτώματα είναι αβέβαια και συγχέονται με άλλες συνεπικρατούσες ασθένειες όπως η ελονοσία και η λοίμωξη με HIV (Abass et al., 2015; Srividya et al., 2012).

Πιο συγκεκριμένα, οι τεχνικές ανίχνευσης που χρησιμοποιούνται για τη διάγνωση της νόσου περιλαμβάνουν άμεσες παρασιτολογικές εξετάσεις (καλλιέργεια και μικροσκόπηση) και ορολογικές δοκιμές, όπως: ενζυμική ανοσοπροσοροφητική δοκιμασία (ELISA), δοκιμή ταχείας συγκόλλησης (FAST), ανίχνευση του διαλυτού αντιγόνου της λεισμάνιας (SLA), ανοσοχρωματογραφική δοκιμή (ICT), ανοσοφθορισμός (IFAT), Western blot (WB), δοκιμή άμεσης συγκόλλησης (DAT), δοκιμή συγκόλλησης λατέξ (KAtex), δερματική δοκιμή Montenegro (MST) και ανίχνευση του συμπλόκου φουκόζης-μαννόζης (FML). Ακόμη η ανίχνευση γίνεται με μοριακές δοκιμασίες όπως αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης (PCR), PCR πραγματικού χρόνου (qPCR), προσδιορισμός μονονουκλεοτιδικών πολυμορφισμών (SNP), η δερματική δοκιμή Leishmanin (LST), προσδιορισμό καθυστερημένης υπερευαισθησίας (DTH), καλλιέργεια με μικροτριχοειδή (MCM) και δοκιμασία απελευθέρωσης γ-ιντερφερόνης (IGRA) (Pederiva et al., 2023).

1.3 Η παθογένεια της νόσου και ανοσολογικές αποκρίσεις

Η λιποφωσφογλυκάνη (LPG) είναι ένας σημαντικός παράγοντας που εκφράζεται στην επιφάνεια της προμαστιγωτής μορφής της λεισμάνιας. Το μόριο αυτό είναι απαραίτητο κατά την αλληλεπίδραση ξενιστή-παρασίτου (de Assis et al., 2012) αφού βοηθάει στη ρύθμιση των ανοσολογικών αποκρίσεων του ξενιστή (Turco & Descoteaux, 2003). Η LPG μπορεί να συμβάλλει στην ικανότητα της λεισμάνιας είτε να αντέχει είτε να απενεργοποιεί

το αντιμικροβιακό οπλοστάσιο των μακροφάγων (Desjardins & Descoteaux, 1997). Ο Silveira και οι συνεργάτες του διερεύνησαν την ικανότητα των LPGs από τα είδη *L. amazonensis* και *L. braziliensis* να επάγουν την παραγωγή ιντερλευκίνης-32 (IL-32) σε ανθρώπινα μονοπύρρηνα κύτταρα περιφερικού αίματος (PBMCs). Διαπίστωσαν ότι και τα δύο LPGs επάγουν την IL-32, η παραγωγή αυτή συνδέεται με την παραγωγή ιντερλευκίνης-1β (IL-1β) και ιντερλευκίνης 6 (IL-6) και εξαρτάται από τους Toll Like Receptor 4 (TLR 4) και τους υποδοχείς Nucleotide Oligomerization Domain (NOD). Καταλήγουν ότι ο προσδιορισμός των παραγόντων του παρασίτου και των υποδοχέων του ξενιστή που ευθύνονται για την παραγωγή της IL-32 είναι σημαντικός για τον έλεγχο της λείσμανιάσης και την ανάπτυξη νέων θεραπευτικών στρατηγικών για τη θεραπεία αυτής της νόσου (Silveira et al., 2022).

Ο πληθυσμός των μονοκυττάρων και των μακροφάγων παίζει σημαντικό ρόλο στη μόλυνση από τη λείσμανία. Μετά την αρχική τους συνάντηση με τα ουδετερόφιλα τις πρώτες ώρες μετά τη μόλυνση, τα παράσιτα φαγοκυτταρώνονται τόσο από τα μονοκύτταρα όσο και από τα μακροφάγα (Goundry et al., 2018). Τα μονοκύτταρα που εκφράζουν το μόριο CD11c έχουν αναγνωριστεί ως η κύρια κυτταρική θέση για τον πολλαπλασιασμό της λείσμανίας καθώς και ως πηγή παρασίτων για τη μόλυνση γειτονικών κυττάρων (M. B. Carneiro et al., 2020). Η προστασία μετά από μια δευτερογενή λοίμωξη απαιτεί τη στρατολόγηση και ενεργοποίηση φλεγμονωδών μονοκυττάρων, τα οποία περιορίζουν τον πολλαπλασιασμό των παρασίτων μέσω της παραγωγής τόσο των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) όσο και της επαγωγίσιμης συνθάσης του μονοξειδίου του αζώτου (iNOS) (Glennie et al., 2017; Sacks, 2020). Από την άλλη πλευρά, όταν το παράσιτο έχει εγκατασταθεί στον ιστό, τα μακροφάγα γίνονται το κύριο κύτταρο του ξενιστή που είναι υπεύθυνο για την εξάλειψή του. Τα μακροφάγα ενεργοποιούνται από την ιντερφερόνη-γ (IFN-γ) και τον παράγοντα νέκρωσης όγκων-α (TNF-α), οι οποίοι συνεργάζονται για να επάγουν την έκφραση του iNOS. Αυτό το ένζυμο είναι υπεύθυνο για την παραγωγή μονοξειδίου του αζώτου (NO), μιας ελεύθερης ρίζας που παίζει ρόλο στη θανάτωση των παρασίτων λείσμανίας σε ποντίκια (D. Liu & Uzonna, 2012). Η λείσμανία για να μπορέσει να επιβιώσει μέσα στο εχθρικό περιβάλλον των μακροφάγων, έχει αναπτύξει μια σειρά από στρατηγικά βήματα ώστε να παρακάμψει τους αντιμικροβιακούς μηχανισμούς που αναπτύσσουν αυτά τα κύτταρα. Οι στρατηγικές αυτές περιλαμβάνουν την ανατροπή τόσο της παρουσίας αντιγόνου όσο και της έκκρισης κυτταροκινών, την

“πειρατεία” των μεταβολικών οδών των μακροφάγων, την αναστολή της παραγωγής του NO και την επαγωγή ανοσοκατασταλτικών μορίων όπως η ιντερλευκίνη 10 (IL-10) και ο μετασχηματιστικός αυξητικός παράγοντας β (TGF- β). Οι δύο προαναφερόμενες κυτταροκίνες εμπλέκονται στην απενεργοποίηση των λειτουργιών των μακροφάγων (Arango Duque & Descoteaux, 2015; Olivier et al., 2005).

Ο ρόλος των δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS) στην κάθαρση της λειψομάνια έχει διαλευκανθεί στον άνθρωπο. Στα πρώτα στάδια της μόλυνσης από το παράσιτο, τα μακροφάγα και τα μονοκύτταρα παράγουν H_2O_2 και O_2^- ως απάντηση στη φαγοκυττάρωση (Gantt et al., 2001; Murray & Cartelli, 1983; Ritter & Moll, 2000). Η παραγωγή των ROS από τα μονοκύτταρα έχει παρατηρηθεί στον έλεγχο της *L. braziliensis* και υψηλές εκφράσεις γονιδίων που σχετίζονται με τα ROS έχουν βρεθεί σε δερματικές βλάβες που προκαλούνται από αυτό το είδος λειψομάνια (Novais et al., 2014). Μονοκύτταρα από ασθενείς με δερματική λειψομανίαση παρήγαγαν υψηλότερες ποσότητες ROS μετά από μόλυνση *in vitro* με *L. braziliensis* σε σχέση με υγιή άτομα. Επιπλέον, η αναστολή της παραγωγής ROS σε μονοκύτταρα μολυσμένα με λειψομάνια αύξησε την παρουσία βιώσιμων παρασίτων, υποδεικνύοντας τον σημαντικό ρόλο τους στη θανάτωση των παρασίτων (P. P. Carneiro et al., 2016). Τα μονοκύτταρα, που ενεργοποιούνται άμεσα τόσο από την κυτταροκίνη CCL2 όσο και από την IFN- γ , εμπλέκονται άμεσα στη θανάτωση της *L. major* και στην επούλωση των δερματικών βλαβών (Badolato et al., 1996; Ritter & Moll, 2000). Η έκβαση της λοίμωξης που προκαλείται από τη *L. mexicana* έχει συσχετιστεί με τη διαφορετική έκφραση των CCL2 και CCL3, οι οποίες σχετίζονται με τη στρατολόγηση μονοκυττάρων/μακροφάγων στο δέρμα. Υψηλά επίπεδα CCL2 βρέθηκαν τόσο σε καλοήθεις εντοπισμένες δερματικές βλάβες όσο και στην δερματική απόκριση καθυστερημένου τύπου υπερευαισθησίας (DTH) σε αντιγόνα λειψομάνιας είτε σε άτομα με επουλωμένες βλάβες είτε σε άτομα με ασυμπτωματική λοίμωξη. Αντίθετα, υψηλά επίπεδα CCL3 βρέθηκαν σε χρόνιες και μη επουλωτικές βλάβες της διάχυτης δερματικής λειψομανίασης (DCL), γεγονός που υποδηλώνει ότι μπορούν να προσελκυστούν διαφορετικοί υποπληθυσμοί μονοκυττάρων/μακροφάγων, οι οποίοι διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην παθολογία της νόσου (Bosque et al., 1998; Valencia-Pacheco et al., 2014). Ο παρακάτω πίνακας δείχνει τον ρόλο των μονοκυττάρων και μακροφάγων στη μόλυνση από τον άνθρωπο.

Είδη λειψομάνια	Μόρια	Λειτουργία	Αποτέλεσμα	Αναφορές
<i>L. (L.) major</i>	CCL2, IFN- γ	Παραγωγή ROS και NO	Εξόντωση παρασίτων, επούλωση των βλαβών	(Badolato et al., 1996; Ritter & Moll, 2000)
<i>L. (L.) mexicana</i>	CCL2, CCL3	Εξόντωση παρασίτων, επούλωση βλαβών	Επούλωση των βλαβών και έλεγχος της λοίμωξης σε ασυμπτωματικά άτομα	(Bosque et al., 1998; Valencia-Pacheco et al., 2014)
<i>L. (V.) braziliensis</i>	CCL2, CXCL8, CXCL9, CXCL10, TNF- α , IL1 β	Επιδείνωση της φλεγμονώδους αντίδρασης	Ανάπτυξη βλαβών και παθολογίας της νόσου	(Giudice et al., 2012; Santos et al., 2018; Vargas-Inchaustegui et al., 2010)

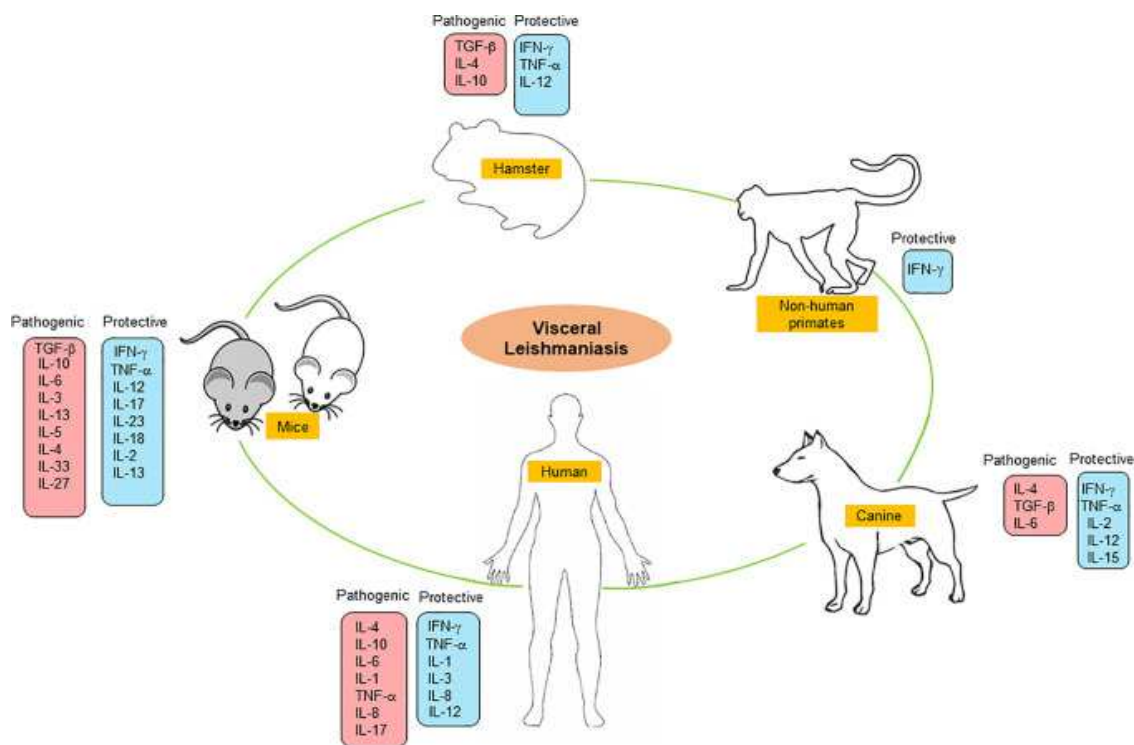
Πίνακας 1 : Ο ρόλος των μονοκυττάρων και μακροφάγων στη μόλυνση από λειψομάνια στον άνθρωπο.

1.4 Θεραπεία της λειψομανίασης

Η λειψομανίαση θεραπεύεται με τα εξής φάρμακα: πεντασθενές αντιμόνιο, δεοξυχολική αμφοτερικίνη Β, λιπιδικά σκευάσματα αμφοτερικίνης Β, παρομομυκίνη, ισοθειονική πενταμιδίνη και μιλτεφοσίνη. Τα περισσότερα από τα διαθέσιμα φάρμακα χορηγούνται αποκλειστικά ενδομυϊκά ή ενδοφλέβια, γεγονός που απαιτεί επαρκείς υπηρεσίες δημόσιας υγείας, οι οποίες συνήθως απουσιάζουν από τις ενδημικές περιοχές της λειψομανίασης. Η ανθεκτικότητα στα αντιλειψομανικά φάρμακα αναδεικνύεται σε μείζονα απειλή για τον παγκόσμιο έλεγχο των λειψομανιάσεων. Για παράδειγμα, το πεντασθενές αντιμόνιο ήταν η συνήθης θεραπεία για σχεδόν 100 χρόνια (Saha & Silvestre, 2021). Ωστόσο, τα τελευταία 25 χρόνια η αποτελεσματικότητά του μειώθηκε λόγω ανθεκτικότητας (Ponte-Sucré et al., 2017), κυρίως στην Ινδία, με ποσοστά αποτυχίας άνω του 60%. Ανθεκτικότητα έχει παρατηρηθεί επίσης έναντι της μιλτεφοσίνης, του μοναδικού βιοδιαθέσιμου από το στόμα φαρμάκου, της αμφοτερικίνης Β και της παρομομυκίνης, γεγονός που απαιτεί επείγουσα δράση για την ανάπτυξη στρατηγικών κατά της νόσου (Saha & Silvestre, 2021). Οι μακροπρόθεσμες στρατηγικές για την επίτευξη του τελικού στόχου της εξάλειψης της λειψομανίασης περιλαμβάνουν όχι μόνο τον έλεγχο των φορέων αλλά και την ανοσοθεραπεία, την ανοσοπροφύλαξη και τη διεύρυνση της χημειοθεραπείας (Saha & Silvestre, 2021). Στο παρελθόν, οι ανοσοθεραπευτικές

παρεμβάσεις μέσω εμβολιασμού ή παθητικής χορήγησης αντισωμάτων αποδείχθηκαν ιδιαίτερα αποτελεσματικές στην πρόληψη ή τη θεραπεία διαφόρων μολυσματικών ασθενειών.

Η βελτίωση της κατανόησης της παθογένειας της λεισμανίασης και των μηχανισμών της προστατευτικής ανοσίας θα πρέπει να αποτελέσει ισχυρό επιχείρημα για τον σχεδιασμό ανοσοθεραπευτικών, ανοσοπροφυλακτικών και βελτιωμένων χημειοθεραπευτικών παρεμβάσεων. Η ανοσοθεραπεία με βάση τις κυτταροκίνες είναι μια πολλά υποσχόμενη στρατηγική για τη θεραπεία της λεισμανίασης, καθώς οι κυτταροκίνες είναι σε θέση να αποκαταστήσουν την αντίσταση του ξενιστή και τις λειτουργίες του ανοσοποιητικού συστήματος που οδηγούν στην εξάλειψη των παρασίτων (Saha & Silvestre, 2021). Η παρακάτω εικόνα παρουσιάζει συνοπτικά την ανοσολογική απόκριση με βάση τις κυτταροκίνες που συμβαίνουν σε διάφορα πειραματικά ζωικά μοντέλα, όπως ποντίκια, χάμστερ, σκύλοι, πρωτεύοντα θηλαστικά και άνθρωποι έναντι της λοίμωξης που προκαλούν τα παράσιτα που οδηγούν σε σπλαγχνική λεισμανίαση (VL). Παρατηρούμε ότι οι κυτταροκίνες που συμμετέχουν στην εξέλιξη της νόσου και στην προστασία του ξενιστή θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν για την ανάπτυξη ενός αποτελεσματικού ανοσοθεραπευτικού εργαλείου κατά της VL (βλ. Εικ.3)(Samant et al., 2021).



Εικόνα 3: Παθογόνος και προστατευτική απάντηση των κυτταροκινών στην πειραματική και ανθρώπινη VL. (Samant et al., 2021). Η παθογόνος δράση υποδηλώνεται με κόκκινο χρώμα ενώ η προστατευτική με μπλέ.

Κεφάλαιο 2. lncRNAs

2.1.1 Γενικά στοιχεία

Τα long non-coding RNAs έχουν μέγεθος μεγαλύτερο από 200 νουκλεοτίδια και δεν έχουν ή έχουν πολύ μικρή ικανότητα κωδικοποίησης πρωτεϊνών (Akhade et al., 2017). Στο ανθρώπινο γονιδίωμα, μόνο το 2% των mRNA έχουν την ικανότητα κωδικοποίησης πρωτεϊνών και περισσότερο από το 70% ανήκει στα μη κωδικοποιούμενα RNAs (Hewitson et al., 2020). Προηγούμενες μελέτες απέδειξαν ότι τα lncRNAs μπορούν να ρυθμίσουν την έκφραση γονιδίων μέσω διαφορετικών μηχανισμών (Bhat et al., 2016; Hanly et al., 2018), συμπεριλαμβανομένων των επιγενετικών τροποποιήσεων (Kitagawa et al., 2013), και μπορεί να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στη ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου, στη διατήρηση των πολυδύναμων κυττάρων (Rosa & Ballarino, 2016) και στην αναπαραγωγή (Golicz et al., 2018). Μπορούν να ρυθμίσουν την πρωτεϊνοσύνθεση, την ωρίμανση του RNA, τη δράση των μοριακών σημάτων, των μοριακών δολωμάτων και της μεταφοράς και συμμετέχουν στη σίγαση του μεταγραφικού γονιδίου μέσω της ρύθμισης της δομής της χρωματίνης (Khan et al., 2021). Τα lncRNAs Kcnq1ot1 και Air, που χαρτογραφούνται στα

αντίστοιχα γονίδια Kcnq1 και Igf2r, μεσολαβούν στη μεταγραφική σίγαση πολλαπλών γονιδίων αλληλεπιδρώντας με τη χρωματίνη και στρατολογώντας τον μηχανισμό τροποποίησης της χρωματίνης (Mohammad et al., 2009; K. C. Wang & Chang, 2011). Επιπλέον, διερευνώνται ως νέοι βιοδείκτες RNA σε ανθρώπινες ασθένειες, ιδιαίτερα στον καρκίνο (Beer mann et al., 2016). Τα lncRNA μπορούν να χρησιμεύσουν και τα ίδια ως μοριακά σήματα επειδή η μεταγραφή μεμονωμένων lncRNA λαμβάνει χώρα σε πολύ συγκεκριμένο χρόνο και τόπο για την ενσωμάτωση αναπτυξιακών ενδείξεων, την ερμηνεία του κυτταρικού πλαισίου ή την απόκριση σε διάφορα ερεθίσματα (Khan et al., 2021).

Οι μεταλλάξεις και η εσφαλμένη ρύθμιση των μη κωδικοποιημένων RNA και ιδιαίτερα των lncRNAs, φαίνεται να παίζουν σημαντικό ρόλο στον καρκίνο. Μελέτες έχουν εντοπίσει μεγάλο αριθμό lncRNA που σχετίζονται με διάφορους τύπους καρκίνου. Οι αλλαγές στην έκφραση τους και οι μεταλλάξεις τους προάγουν την ογκογένεση και τη μετάσταση. Ακόμη, μπορεί να επιδεικνύουν ογκοκατασταλτικές και ογκογόνες λειτουργίες (Bhan et al., 2017). Λόγω του μοτίβου έκφρασης του γονιδιώματος σε μια ποικιλία από ιστούς, τα lncRNAs μπορούν να θεωρηθούν ως νέοι βιοδείκτες και θεραπευτικοί στόχοι για τον καρκίνο (Bhan et al., 2017). Με βάση την εγκυκλοπαίδεια των στοιχείων του DNA (ή ENCODE), εκτιμάται ότι το ανθρώπινο γονιδίωμα κωδικοποιεί περισσότερα από 28.000 μακρά μη κωδικοποιούμενα RNA, πολλά από τα οποία εξακολουθούν να ανακαλύπτονται και δεν έχουν ακόμη προσδιοριστεί (Tragante et al., 2014). Ενώ η κατανόηση των λειτουργιών τόσων πολλών lncRNAs και ο λεπτομερής χαρακτηρισμός τους είναι δύσκολο καθόρθωμα, η ανάλυση των μεταγραφημάτων με αλληλουχία επόμενης γενιάς (NGS) τα τελευταία χρόνια αποκάλυψε ότι χιλιάδες lncRNAs εκφράζονται μη ομαλά ή μεταλλάσσονται σε διάφορους καρκίνους (Bhan & Mandal, 2014).

Τα lncRNA μεταγράφονται από την RNA Pol II, ένα ένζυμο που είναι υπεύθυνο για τη μεταγραφή και τη σύνθεση των περισσότερων mRNA. Αυτό υποδηλώνει ότι πολλά lncRNA διέρχονται αντίστοιχες επεξεργασίες με τα mRNA. Τα lncRNAs συχνά παρουσιάζουν 5'-άκρο m7G κάλυμα, που είναι μια μεταγραφική σφραγίδα που βοηθά στη σταθεροποίηση του μεταγράφου και τη μετάφρασή του σε πρωτεΐνη, αν και τα lncRNA δεν μεταφράζονται. Επίσης, πολλά lncRNAs έχουν 3'-άκρο poly(A) ουρές, παρόμοιες με αυτές που βρίσκονται στα mRNAs. Ωστόσο, πρόσφατα ανακαλύφθηκε ότι τα lncRNAs υπόκεινται σε διακριτή μεταγραφή, επεξεργασία, εξαγωγή και εναλλαγή, που μπορεί να διαφέρει από τις αντίστοιχες διεργασίες των mRNAs (Statello et al., 2021). Ένα μεγαλύτερο

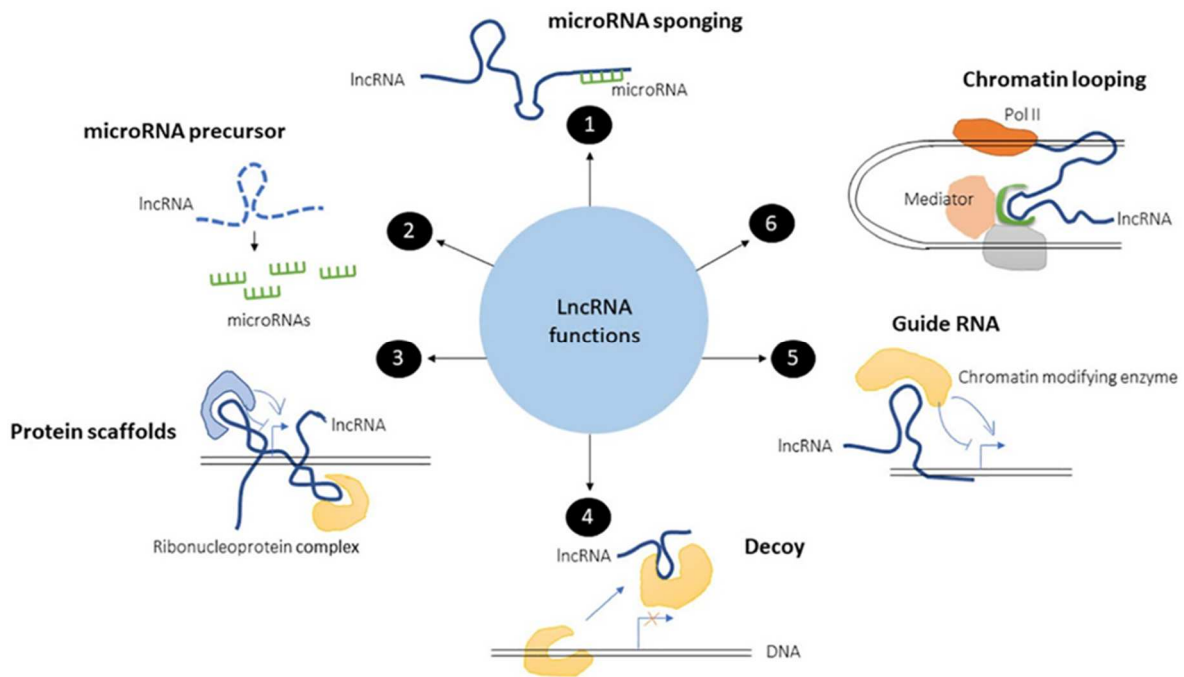
ποσοστό των lncRNAs εντοπίζεται στον πυρήνα σε σύγκριση με τα mRNAs (Derrien et al., 2012; C. J. Guo et al., 2020; Tian & Manley, 2017). Μια ανάλυση των χαρακτηριστικών των lncRNAs και mRNAs δείχνει ότι τα γονίδια lncRNAs είναι λιγότερο συντηρημένα εξελικτικά, έχουν λιγότερα εξώνια και εκφράζονται λιγότερο έντονα (C. J. Guo et al., 2020; Hezroni et al., 2015; Quinn et al., 2016). Πρόσφατα, η μέθοδος RNA capture long seq επέτρεψε την καλύτερη ανάλυση του πλήρους μήκους των lncRNAs, συμπεριλαμβανομένων των 5' άκρων τους, αποκαλύπτοντας μικρή διαφορά στο μήκος τους σε σύγκριση με τα mRNAs. Τέλος, αν και όπως αναφέρθηκε, τα lncRNAs περιέχουν λιγότερα εξώνια έχουν μεγαλύτερο μήκος συγκριτικά με τα mRNAs (Lagarde et al., 2017; Melé et al., 2017).

2.1.2 Τα είδη των lncRNAs

Τα πρώτα lncRNAs που μελετήθηκαν χαρακτηρίστηκαν ως ρυθμιστές της χρωματίνης αφού κυριαρχούσε η άποψη ότι τα lncRNAs είναι πυρηνικά. Ωστόσο, διαπιστώθηκε ότι ο αριθμός των κυτταροπλασματικών lncRNAs είναι μεγαλύτερος από ότι πιστευόταν (Bridges et al., 2021b). Ταξινομούνται ευρέως με βάση το γονιδιωματικό εντοπισμό, τους τρόπους δράσης και τη λειτουργία τους (Z. Wang & Yang, 2022). Τα ιντρονικά lncRNA (ilncRNA) προέρχονται από τα ιντρόνια (ή εσώνια) των γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες (Bhan et al., 2017). Τα διαγονιδιακά lncRNA (lincRNA) προέρχονται από την περιοχή μεταξύ δύο γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες (Bhan et al., 2017). Έχει διαπιστωθεί ότι τα lincRNAs ενεργοποιούνται μεταγραφικά με παρόμοιο τρόπο με τα mRNAs (Guttman et al., 2009, 2010; Khalil et al., 2009; Ørom et al., 2010), καθώς τα lincRNAs είναι πιο συντηρημένα από τα εσώνια (Guttman et al., 2009, 2010; Khalil et al., 2009) και τα αντινοσηματικά μεταγραφήματα (Guttman et al., 2010). Εκφράζονται πιο ειδικά για συγκεκριμένους ιστούς σε σύγκριση με τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες και είναι πιο σταθερά από τα ilncRNA (Clark et al., 2012; Derrien et al., 2012; Guttman et al., 2010; Ma et al., 2013a). Τα ενισχυτικά lncRNA (elncRNA) προέρχονται από τις περιοχές ενισχυτή-προαγωγέα (Bhan et al., 2017). Τα αμφίδρομα lncRNA (blncRNA) εντοπίζονται στην περιοχή ενός κωδικοποιητικού μετάγραφου του αντίθετου κλώνου (Bhan et al., 2017). Τα νοηματικά αλληλεπικαλυπτόμενα lncRNA (slncRNA) αλληλεπικαλύπτονται με ένα ή περισσότερα εσώνια και εξώνια διαφορετικών γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες στον κωδικοποιητικό κλώνο του DNA (Bhan et al., 2017). Τα αντινοσηματικά

μεταγραφήματα προέρχονται από τους συμπληρωματικούς κλώνους του DNA και μπορεί να είναι συμπληρωματικά ή να μην είναι συμπληρωματικά με τις κωδικοποιητικές αλληλουχίες πρωτεΐνης στον κωδικοποιητικό κλώνο (Bhan & Mandal, 2014; Ma et al., 2013a).

Λειτουργικά, τα lncRNAs ταξινομούνται ως lncRNA σηματοδότησης, δολώματος, καθοδήγησης και ικριώματος (K. C. Wang & Chang, 2011). Τα σηματοδοτικά lncRNA συνδέονται με συγκεκριμένα μονοπάτια σηματοδότησης και η έκφρασή τους υποδηλώνει ένα ενεργό συμβάν σηματοδότησης (K. C. Wang & Chang, 2011). Για παράδειγμα, η έκφραση του Xist σηματοδοτεί την απενεργοποίηση του χρωμοσώματος X στις γυναίκες (Bhan et al., 2017; Pontier & Gribnau, 2011). Τα lncRNAs δολώματος δρουν σαν μοριακές καταβόθρες για μεταγραφικούς παράγοντες και αναστολείς. Αλληλεπιδρούν με τους μεταγραφικούς παράγοντες με τη δέσμευση στους προαγωγείς του γονιδίου-στόχου διευκολύνοντας την ενεργοποίηση ή τη σίγαση των γονιδίων (Bhan et al., 2017; K. C. Wang & Chang, 2011). Παραδείγματα τέτοιου είδους περιλαμβάνουν το GAS5 (ειδικό αναστολής ανάπτυξης 5), και το TERRA (RNA που περιέχει επανάληψη τελομερούς) (K. C. Wang & Chang, 2011). Τα καθοδηγητικά lncRNAs δεσμεύονται στα ρυθμιστικά ή ενζυμικά ενεργά πρωτεϊνικά σύμπλοκα και τα κατευθύνουν σε συγκεκριμένους προαγωγείς γονιδίων-στόχων ή γονιδιωματικούς τόπους που ρυθμίζουν τα σηματοδοτικά συμβάντα και εκφράσεις γονιδίων (Bhan et al., 2017). Παραδείγματα καθοδηγητικών lncRNAs περιλαμβάνουν το AIR, το CCND1 (lncRNA που σχετίζεται με τον προαγωγέα κυκλίνης D), το lincRNA-p21 και άλλα (Ma et al., 2013a; K. C. Wang & Chang, 2011). Τα lncRNAs ικριώματος λειτουργούν ως κεντρική πλατφόρμα στην οποία συνδέονται διάφορα πρωτεϊνικά σύμπλοκα και κατευθύνονται σε συγκεκριμένη γονιδιωματική θέση ή γονιδιακό στόχο, ρυθμίζοντας την έκφραση γονιδίου και τη χρωμοσωμική δυναμική. Παραδείγματα lncRNAs ικριώματος είναι τα HOTAIR, TERC και άλλα (Bhan et al., 2017)(βλ. Εικ. 4).



Εικόνα 4: (1) Το lncRNA δρα ως σφουγγάρι για το microRNA, επομένως ελέγχει την καθοδική ρύθμιση του mRNA που προκαλείται από το microRNA (Paraskevoudou & Hatzigeorgiou, 2016). (2) Το lncRNA δρα ως πρόδρομο miRNAs (J. Fernandes et al., 2019). (3) Το lncRNA λειτουργεί ως ικρίωμα για ριβονουκλεοπρωτεΐνες [16]. (4) Το lncRNA χρησιμεύει ως δόλωμα μέσω της αφαίρεσης των γονιδιωματικών ρυθμιστικών παραγόντων (Y. Fang & Fullwood, 2016). (5) Το lncRNA μπορεί να μειώσει ή να αυξήσει τη γενετική έκφραση δρώντας ως οδηγός RNA (K. C. Wang & Chang, 2011). (6) Το lncRNA βοηθά στο σχηματισμό βρόγχου χρωματίνης, δρώντας έτσι στη γονιδιακή ρύθμιση (Marchese et al., 2017).

Τα lncRNAs εντοπίζονται κυρίως στον πυρήνα και τη χρωματίνη (Derrien et al., 2012), υποδηλώνοντας ότι έχουν σημαντικό αντίκτυπο στις αλληλουχίες του DNA. Η παρακάτω ταξινόμηση των lncRNAs είναι βάσει των επιδράσεών τους στις αλληλουχίες του DNA. Τα cis-lncRNAs (cis-acting lncRNAs) είναι αυτά που ρυθμίζουν την έκφραση γονιδίων που βρίσκονται σε στενή γονιδιωματική εγγύτητα με τον τοποθεσία τους. Από την άλλη πλευρά, τα trans-lncRNAs (trans-acting lncRNAs) ρυθμίζουν την έκφραση απομακρυσμένων γονιδίων.

Τα cis-lncRNAs μπορούν να λειτουργήσουν μέσω της τροποποίησης της χρωματίνης, συχνά συνδυάζοντας σύμπλοκα τροποποίησης της χρωματίνης, όπως το PRC (polycomb repressive complex) ή τα σύμπλοκα Rpd3S HDAC (Rpd3 histone deacetylase complexes) (Ma et al., 2013b). Το PRC είναι ένα από τα πιο μελετημένα σύμπλοκα τροποποίησης της χρωματίνης, και ένα γνωστό παράδειγμα είναι το Xist, ένα lncRNA που εκφράζεται στον άνθρωπο και έχει μήκος 19 kb. Το Xist συνδέεται με το PRC2 για να

προκαλέσει την τροποποίηση του H3K27me3 και, ως εκ τούτου, οδηγεί στη μεταγραφική σίγαση των γονιδίων στο χρωμόσωμα X (Ma et al., 2013b; Maenner et al., 2010). Άλλα παραδείγματα cis-lncRNAs που εμπλέκονται στην τροποποίηση της χρωματίνης είναι το MEG3 (maternally expressed gene 3), ένα lncRNA μήκους περίπου 1,6 kb (Zhao et al., 2010), και το COLDAIR, ένα lncRNA μήκους περίπου 1,1 kb (Heo & Sung, 2011; Ma et al., 2013b). Αυτά τα cis-lncRNAs συνεργάζονται με τα τροποποιητικά σύμπλοκα για να επηρεάσουν τη χρωματίνη και να προκαλέσουν μεταγραφική ρύθμιση, είτε απενεργοποιώντας γονίδια είτε ενεργοποιώντας τη μεταγραφή άλλων γονιδίων στην ίδια περιοχή του γονιδιώματος (Ma et al., 2013b).

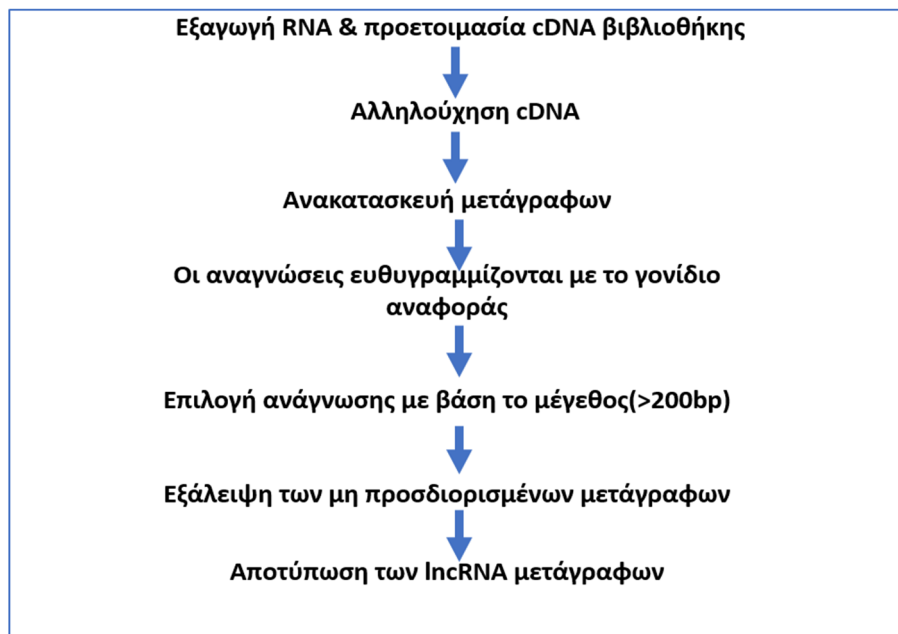
Όπως αναφέρθηκε προηγουμένως, τα lncRNAs μπορούν να λειτουργούν μέσω της δράσης τους σε απομακρυσμένους γονιδιακούς τόπους, γνωστή και ως trans-δράση. Ένα παράδειγμα αυτής της δράσης είναι το HOTAIR (HOX antisense intergenic RNA), ένα lncRNA μήκους περίπου 2,2 kb, το οποίο μεταγράφεται από τον γονιδιακό τόπο HOXC στο χρωμόσωμα 12. Το HOTAIR μπορεί να μεταφερθεί από την πρωτεΐνη Suz-Twelve σε απομακρυσμένους γονιδιακούς τόπους, όπως ο γονιδιακός τόπος HOXD στο χρωμόσωμα 2, και να επηρεάσει τη μεταγραφική ρύθμιση των ομόλογων θέσεων-στόχων (Ma et al., 2013b; Rinn et al., 2007). Επιπλέον, το HOTAIR έχει παρατηρηθεί να συνδέεται με πολλούς άλλους γονιδιακούς τόπους, οι οποίοι έχουν συγκεκριμένα μοτίβα DNA. Με την πρόσδεση σε αυτούς τους τόπους, το HOTAIR μπορεί να επηρεάσει τη γονιδιακή έκφραση μέσω της αλληλεπίδρασής του με σύμπλοκα τροποποίησης της χρωματίνης (Chu et al., 2011; Ma et al., 2013b; Tsai et al., 2010).

2.2 Τρόποι ανίχνευσης και προσδιορισμού των lncRNAs

2.2.1 Τρόποι ανίχνευσης των lncRNAs

Για τον προσδιορισμό των lncRNAs που συνδέονται με ασθένειες χρησιμοποιούνται δύο κύριες προσεγγίσεις: προσδιορισμός με βιολογικά πειράματα και υπολογιστικές προβλέψεις. Η πρώτη προσέγγιση βασίζεται σε βιολογικά πειράματα και παρέχει γενικά πιο αξιόπιστα αποτελέσματα. Ωστόσο, αυτή η μέθοδος είναι ακριβή και μερικές φορές η απόδοση τους είναι χαμηλή. Η δεύτερη προσέγγιση χρησιμοποιεί υπολογιστικές προβλέψεις και επικεντρώνεται σε βιολογικά δεδομένα από πολλαπλές πηγές, όπως γονίδια που σχετίζονται με ασθένειες, μεταγραφώματα και πρωτεώματα, για να

προβλέπει σχετικά lncRNAs (Cao et al., 2022). Μία από τις παραδοσιακές μεθόδους ταυτοποίησης των lncRNAs είναι η δημιουργία λίστας μεταγράφων μετά τη δημιουργία και αλληλούχιση βιβλιοθηκών cDNA (Kashi et al., 2016). Αρχικά, πραγματοποιείται η ανακατασκευή των μεταγράφων από τα δεδομένα RNA-seq των δειγμάτων. Έπειτα, οι αναγνώσεις ευθυγραμμίζονται με το γονιδίωμα αναφοράς και αξιοποιούνται οι βάσεις δεδομένων RefSeq, UCSC και GENCODE για τον σχολιασμό τους. Με αυτόν τον τρόπο, απομακρύνονται τα μη-lncRNA μετάγραφα, όπως γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, tRNA, miRNA και ψευδογονίδια. Προκειμένου να διαχωριστούν τα θραύσματα με χαμηλή έκφραση μονού εξωνίου από lncRNAs με χαμηλή έκφραση, επιλέγεται ένα κατώφλι κάλυψης ανάγνωσης με τιμή >200 bp. Για την εξάλειψη μη προσδιορισμένων ή νέων κωδικοποιούμενων γονιδίων, χρησιμοποιούνται δύο μέθοδοι, η PhyloCSF και η Pfam. Η PhyloCSF χρησιμοποιείται για την αξιολόγηση των υποτιθέμενων ανοικτών πλαισίων ανάγνωσης, ενώ η Pfam, χρησιμοποιείται για να αποκλείσει τη μεταγραφή, η οποία κωδικοποιεί οποιαδήποτε από τις 31.912 πρωτεϊνικές περιοχές που έχουν προσδιοριστεί. Τέλος, αποτυπώνονται τα μετάγραφα των lncRNAs (Saleembhasha & Mishra, 2018)(Βλ. Εικ.5).



Εικόνα 5: Διάγραμμα ροής που απεικονίζει την ταυτοποίηση του lncRNA από δεδομένα RNA-seq (Saleembhasha & Mishra, 2018).

2.2.2 Μέθοδοι ταυτοποίησης των lncRNAs

Αφού τα lncRNAs έχουν ανιχνευθεί, είναι σημαντικό να προσδιοριστεί εάν αυτά τα μεταγραφώματα επηρεάζουν πραγματικές βιολογικές λειτουργίες. Πληροφορίες για τον υποκυτταρικό εντοπισμό ενός συγκεκριμένου lncRNA μπορούν να αποκτηθούν με την μέθοδο FISH (Fluorescence In Situ Hybridization). Η FISH επιτρέπει την οπτικοποίηση του RNA σε κυτταρικό επίπεδο, χρησιμοποιώντας φθοριοχρώματα που συνδέονται με αντίστοιχα εναπομείναντα συμπληρωματικά RNA προϊόντα (Kashi et al., 2016). Επιπλέον, η FISH μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την οπτικοποίηση της αλληλεπίδρασης μεταξύ των lncRNAs και άλλων κυτταρικών συστατικών, όπως πρωτεΐνες ή νουκλεϊκά οξέα, γεγονός που παρέχει περισσότερες πληροφορίες για τον ρόλο του lncRNA στις κυτταρικές λειτουργίες και τις μοριακές αλληλεπιδράσεις που συμμετέχει (Kashi et al., 2016). Η φθορίζουσα in situ αλληλούχιση RNA (FISSEQ) είναι μια πρόσφατη τεχνολογία που επιτρέπει την ενίσχυση cDNA σε κύτταρα και δείγματα ιστών (Lee et al., 2015). Αυτή η μέθοδος μπορεί να εντοπίσει έναν μεγάλο αριθμό στόχων. Αν και έχει χαμηλότερο αριθμό αναγνώσεων σε σύγκριση με ένα τυπικό RNA-seq πείραμα, έχει το πλεονέκτημα να παρέχει πληροφορίες για την αναλυτική τοποθεσία των μεταγραφικών στόχων στον ιστό ή το κύτταρο (Kashi et al., 2016). Η FISSEQ επιτρέπει την οπτική ανίχνευση του RNA με χρήση φθοριοχρωμάτων και τη συνεχή ανάγνωση τους μέσω επαναλαμβανόμενων κύκλων ενίσχυσης και ανίχνευσης. Αυτό οδηγεί σε μεγαλύτερη ανάλυση και χαρτογράφηση του RNA σε μοριακό επίπεδο στο πλαίσιο του ιστού ή του κυττάρου.

Κεφάλαιο 3. Ο ρόλος των lncRNAs στο ανοσοποιητικό σύστημα του ξενιστή

Ευρήματα από μελέτες κατέδειξαν τις ποικίλες λειτουργίες των lncRNAs στο ανοσοποιητικό σύστημα, την επιγενετική, την εξέλιξη της νόσου και τη διαφοροποίηση των κυττάρων. Πρόσφατα στοιχεία υποδηλώνουν ότι υπάρχουν 58.084 μη κωδικοποιητικά μεταγραφήματα, περισσότερα από τα RNA που κωδικοποιούν πρωτεΐνες, στα οποία τα lncRNAs αποτελούν μεγάλο ποσοστό (Akhade et al., 2017). Επιπλέον, τα lncRNAs μπορούν να δράσουν ως ανταγωνιστικό ενδογενές RNA (ceRNA) σε microRNA στόχο (Chan & Tay, 2018; Iqbal et al., 2019; Khan et al., 2021). Στην συνέχεια θα αναφερθούν οι αλληλεπιδράσεις των lncRNAs με διαφορετικούς τύπους κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος. Το ανοσοποιητικό σύστημα έχει δυο κατηγορίες ανοσίας, την φυσική και την επίκτητη. Φυσική είναι η ανοσία που αποκτά ο άνθρωπος από την στιγμή της γέννησης του ή κατά την διάρκεια της ενδομήτριας ζωής του. Επίκτητη είναι η ανοσία που δημιουργείται κατά την διάρκεια της ζωής του. Μία άλλη διάκριση της ανθρώπινης ανοσίας είναι η μη ειδική ανοσία, κατά την οποία δεν απαιτείται η αναγνώριση της βλάβης και η ειδική ανοσία, η οποία χρειάζεται χρόνο για να δράσει την πρώτη φορά που τα κύτταρα θα έρθουν σε επαφή με το “βλαπτικό αίτιο”. Τα μακροφάγα, τα δενδριτικά κύτταρα και τα NK κύτταρα που θα αναλυθούν παρακάτω ανήκουν στην φυσική μη ειδική ανοσία. Ενώ τα B και T- λεμφοκύτταρα ανήκουν στην επίκτητη ειδική ανοσία.

3.1 lncRNA και μακροφάγα

Πρόσφατες μελέτες απέδειξαν ότι τα lncRNAs παίζουν ρόλο στην ανάπτυξη και τη λειτουργία των μακροφάγων. Τα μακροφάγα αλλάζουν τον λειτουργικό τους φαινότυπο ως απόκριση στα διαφορετικά ερεθίσματα σηματοδότησης. Αυτή η διαδικασία αλλαγής του φαινοτύπου των μακροφάγων ονομάζεται πόλωση (S. Arora et al., 2018). Τα προφλεγμονώδη μακροφάγα είναι γνωστά ως φαινότυπος M1, ενώ ο αντιφλεγμονώδης ή επουλωτικός φαινότυπος είναι γνωστός ως M2 (Funes et al., 2018; Khan et al., 2021). Τα lncRNAs φαίνεται ότι εμπλέκονται σε μια ποικιλία κυτταρικών διεργασιών, συμπεριλαμβανομένης της ρύθμισης της πόλωσης των μακροφάγων προς τον φαινότυπο M1/M2, της αλλαγής των οδών κυτταρικής σηματοδότησης, της ενίσχυσης της αντιφλεγμονώδους δραστηριότητας κ.λπ. Αυτό επιτυγχάνεται με τη ρύθμιση της έκκρισης

προφλεγμονωδών και αντιφλεγμονωδών κυτταροκινών (Khan et al., 2021). Υπάρχουν ενδείξεις ότι η υποέκφραση ενός lncRNA μπορεί να μειώσει τη φλεγμονή μέσω της ρύθμισης της πόλωσης των μακροφάγων ή της εμπλοκής του lncRNA στην απορρύθμιση της κυτταρικής σηματοδότησης. Μπορεί επίσης να προάγει την αυτοφαγία, να αποτρέψει την απόπτωση και να μεταβάλλει ορισμένα επίπεδα ενζύμων (Khan et al., 2021). Παρ'όλα αυτά η λειτουργία τους σε μολυσματικές ασθένειες και η διαφοροποίηση των μακροφάγων δεν είναι ακόμη πολύ σαφής (Varol et al., 2015). Ομάδα ερευνητών επιβεβαίωσε, *in vitro* και *in vivo* ότι το lncRNA-AK085865 παίζει σημαντικό ρόλο στην πόλωση των μακροφάγων (Khan et al., 2021; Y. Zhang et al., 2020). Επιπλέον ευρήματα υποδεικνύουν ότι το lncRNA-MALAT1 έχει ισχυρό ρόλο στη γονιδιακή ρύθμιση και στα μονοπάτια σηματοδότησης αποκαλύπτοντας τον κρίσιμο ρόλο του σε διάφορους τύπους εξέλιξης ασθενειών, όπως του καρκίνου (Yang et al., 2020).

3.2 lncRNAs και CD4⁺ T κύτταρα

Τα βοηθητικά κύτταρα T είναι γνωστά ως CD4⁺ (cluster of differentiation 4) T κύτταρα λόγω της παρουσίας υποδοχέων CD4 στην κυτταρική τους επιφάνεια. Διαδραματίζουν πολύ σημαντικό ρόλο στην ανοσοαπόκριση που ενεργοποιείται από παθογόνα (Khan et al., 2021). Τα βοηθητικά κύτταρα T αλληλεπιδρούν με το σύμπλεγμα αντιγόνου-MHC μέσω του υποδοχέα T-κυττάρων και ενεργοποιούνται οδηγώντας στη διαφοροποίησή τους σε διαφορετικές υπομονάδες T κυττάρων με βάση τις κυτταροκίνες που υπάρχουν στο κυτταρικό περιβάλλον. Οι υποομάδες των CD4⁺ T κυττάρων περιλαμβάνουν τα Tregs, Th1, Th2, Th9, Th17 και θυλακιδώδη T βοηθητικά κύτταρα και κάθε υποσύνολο έχει ένα ξεχωριστό προφίλ κυτταροκινών (Luckheeram et al., 2012). Τα T-κύτταρα ενεργοποιούνται όταν λαμβάνουν διάφορα σήματα, τα οποία περιλαμβάνουν τον σχηματισμό ενός τριμοριακού συμπλόκου που αποτελείται από τον υποδοχέα T κυττάρων (TCR -T cell receptor), επεξεργασμένο αντιγόνο και σύμπλοκο ιστοσυμβατότητας τάξης 2 (MHC II). Το μόριο MHC μαζί με το αντιγόνο υπάρχει στην κυτταρική επιφάνεια των κυττάρων που παρουσιάζουν αντιγόνο (APCs). Επιπλέον, η αλληλεπίδραση του υποδοχέα CD28 (που υπάρχει στα CD4⁺ T κύτταρα) με τα μόρια CD86 και CD80 των APC δρα ως συνδιεγέρτης. Ο σχηματισμός του τριμοριακού συμπλέγματος μαζί με το σήμα συνδιέγερσης προάγει την έκκριση των μεταγραφικών παραγόντων NF-κB και NFAT (Khan et al., 2021). Στη

συνέχεια, οδηγεί στην επαγωγή της έκφρασης της IL-2, η οποία με τη σειρά της έχει ως αποτέλεσμα τον πολλαπλασιασμό των CD4⁺ T κυττάρων. Μελέτες δείχνουν ότι τα lncRNAs παίζουν ρόλο στην επιγενετική και μεταγραφική ρύθμιση των γενετικών εκφράσεων στα CD4⁺ T κύτταρα, μπορούν να λειτουργήσουν ως σφουγγάρια miRNA και μπορούν να αλλάξουν τα επίπεδα διαφόρων μεταγραφικών παραγόντων, να αλλάξουν τα προφλεγμονώδη γονιδιακά δίκτυα και να ανακουφίσουν ή να καταστείλουν τη διαφοροποίηση των βοηθητικών T κυττάρων που προκαλούν την ανισορροπία τους (Khan et al., 2021). Ορισμένα στοιχεία δείχνουν ότι lncRNAs εμπλέκονται στη διαφοροποίηση του Th17 και συμβάλλουν στη χρόνια φλεγμονή. Κάτω από ιδιαίτερες παθολογικές συνθήκες, τα lncRNAs μπορούν να αλλάξουν τα επίπεδα διάφορων μεταγραφικών παραγόντων και κυταροκινών και να ρυθμίσουν τη ρύθμιση και έκφραση των γονιδίων. Επομένως, η αλληλεπίδραση των lncRNAs με τα CD4⁺ T κύτταρα πρέπει να διερευνηθεί περαιτέρω (West & Lagos, 2019).

3.3 lncRNAs και δενδριτικά κύτταρα

Τα δενδριτικά κύτταρα (dendritic cells- DCs) ανήκουν στην ομάδα των αντιγονοπαρουσιαστικών κυττάρων (antigen-presenting cells - APC) και είναι σημαντικά για τη λειτουργία του έμφυτου ανοσοποιητικού συστήματος. Τα δενδριτικά κύτταρα ενδοκυτταρώνουν αντιγόνα μέσω μακροπινοκυττάρωσης και φαγοκυττάρωσης και παρουσιάζουν τα αντιγόνα αυτά σε λεμφοκύτταρα για την ενεργοποίηση της ανοσοαπόκρισης. Διαδραματίζουν ανοσοδιεγερτικό ρόλο στο δέρμα, ο οποίος ενισχύεται μέσω κυταροκινών, κυρίως του GM-CSF (Granulocyte macrophage – colony stimulating factor). Τα lncRNAs συμμετέχουν στην ωρίμανση και την εξέλιξη των δενδριτικών κυττάρων και διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην ανάπτυξή τους, την απόπτωση και την ανοσολογική απόκριση μέσω της διαμόρφωσης της οδού TLR9/STAT3. Επιπλέον, μπορεί να επηρεάσουν τη μετανάστευση των δενδριτικών κυττάρων στους λεμφαδένες (Khan et al., 2021).

Συγκεκριμένα, το lnc-DC είναι ένα lncRNA που εκφράζεται αποκλειστικά από τα ανθρώπινα δενδριτικά κύτταρα. Έχουν διεξαχθεί πειραματικές μελέτες που υποδεικνύουν ότι το lnc-DC συμμετέχει στην ωρίμανση των δενδριτικών κυττάρων και στην εξέλιξη της Ηπατίτιδας Β. Πρόσφατα μελετήθηκε ο ρόλος του lncRNA-NEAT1 στα δενδριτικά κύτταρα

με χρήση πειραμάτων qRT-PCR, in-situ υβριδισμό και βιοπληροφορική ανάλυση (M. Zhang et al., 2019). Οι ερευνητές προσπάθησαν να καθορίσουν την κατανομή, την έκφραση και τα γονίδια-στόχους του lncRNA-NEAT1 στα DCs. Τα αποτελέσματα δείχνουν ότι το lncRNA-NEAT1 μπορεί να προάγει έναν ανεκτικό φαινότυπο στα DCs. Η μείωση του lncRNA-NEAT1 μελετήθηκε με χρήση RNA-seq και αναδείχθηκαν επιδράσεις στην έκφραση του miR-3076-3p. Επιπλέον, το lncRNA-NEAT1 χρησιμοποίησε το φλεγμονόσωμα NLRP3 ως μοριακό δόλωμα για το miR-3076-3p, προωθώντας έτσι την έκφραση ανοσογόνων φαινοτύπων στα DCs. Επίσης, ο μεταγραφικός παράγοντας E2F1 λειτούργησε ως ανταγωνιστής του lncRNA-NEAT1 μέσω της δραστηριότητας του H3K27ac. Τα ευρήματα αυτά υποδεικνύουν ότι οι μηχανισμοί που σχετίζονται με το lncRNA-NEAT1 ευνοούν τη δημιουργία ανεκτικών DCs (tol-DCs) και υποδεικνύουν το lncRNA-NEAT1 ως έναν πιθανό στόχο για ανοσοθεραπείες στο μέλλον (M. Zhang et al., 2019).

Αν και η λειτουργία του lncRNA-MALAT1 στην ανοσολογική ανοχή των δενδριτικών κυττάρων παραμένει ασαφής, έχει διαπιστωθεί ότι η ρύθμιση του MALAT1 ενισχύει τα δενδριτικά κύτταρα προς έναν ανεκτικό φαινότυπο κυττάρων. Μέσω της στόχευσης του miRNA-155, το MALAT1 προάγει την έκφραση του μορίου DC-SIGN (dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3 grabbing nonintegrin), το οποίο είναι ειδικό για τα δενδριτικά κύτταρα. Μέσω του άξονα miRNA-155/DC-SIGN/IL10, το MALAT1 προάγει τα ανοσογόνα δενδριτικά κύτταρα (tDCs) και αυξάνει την επιβίωση της μεταμοσχευμένης καρδιάς (J. Wu et al., 2018).

3.4 lncRNAs και NK κύτταρα

Τα κύτταρα φυσικοί φονείς (NK- natural killers) αποτελούν σημαντικό συστατικό του ανοσοποιητικού συστήματος και διαδραματίζουν κρίσιμο ρόλο στην προστασία από ασθένειες και παθογόνα. Επιπλέον, τα NK κύτταρα εκκρίνουν κυτταροκίνες και εμπλέκονται στη ρύθμιση και ενεργοποίηση άλλων κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος (Taveirne et al., 2020).

Πειραματικά δεδομένα και μελέτες έχουν υπογραμμίσει τον σημαντικό ρόλο των μακρών μη κωδικοποιητικών RNAs στη διαφοροποίηση, στα αποτελέσματα θανάτωσης και στην ευαισθησία των NK κυττάρων, καθώς και στην κυτταρική βιολογία τους (Khan et al., 2021). Το lnc-CD56 είναι ειδικό για τα NK κύτταρα και ρυθμίζει τον δείκτη κυτταρικής

επιφάνειας CD56 στα ανθρώπινα NK κύτταρα. Επίσης, το lncRNA IFNG-AS1 (ή NeST) αυξάνει την έκκριση της κυτταροκίνης IFN- γ στα κύτταρα NK (R. Zhang et al., 2016). Παρόλο που γνωρίζουμε για αυτά τα lncRNAs και τις λειτουργίες τους, οι υποκείμενοι μηχανισμοί ρύθμισης αυτών των lncRNAs στα NK κύτταρα παραμένουν ακόμη άγνωστοι (Khan et al., 2021).

3.5 LncRNAs και B κύτταρα

Τα B κύτταρα παράγονται από αιμοποιητικά βλαστοκύτταρα στον μυελό των οστών και εκφράζουν στην επιφάνεια τους υποδοχείς, που ονομάζονται ανοσοσφαιρίνες (Ig). Έχουν διενεργηθεί μελέτες που επισημαίνουν τη σημασία της έκφρασης των lncRNA στη ρύθμιση των μεταγραφικών παραγόντων στα κύτταρα B. Η έκφραση αυτών των lncRNA φαίνεται να επηρεάζει την ανάπτυξη των κυττάρων B και τη ρύθμιση των γονιδίων που σχετίζονται με τον κυτταρικό κύκλο. Κατά τη διάρκεια των διαφορετικών σταδίων διαφοροποίησης των κυττάρων B, όπως τα προ-B κύτταρα, τα προ-B1 και τα αδιαφοροποίητα B κύτταρα, έχει παρατηρηθεί διακριτή έκφραση των lncRNA που εξαρτάται από το στάδιο ανάπτυξης. Πιο συγκεκριμένα, τα lncRNAs SMAS-AS1, LEF-AS1 και MYB-AS1 έχουν αναφερθεί ως παραδείγματα lncRNAs που εκφράζονται κυρίως στα προ-B1 και προ-B2 κύτταρα (Ahmad et al., 2020).

Κεφάλαιο 4. Μεθοδολογία

4.1 Στρατηγική αναζήτησης

Η παρούσα βιβλιογραφική έρευνα ακολουθεί την μεθοδολογία Preferred Reporting Items for the Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA)(PRISMA, n.d.). Η αναζήτηση βιβλιογραφίας έγινε με τις λέξεις κλειδιά: “long-non coding RNA AND leishmania”, “lncRNA AND leishmania”. Από τον Φεβρουάριο 2023 έως τον Ιούνιο 2023 έγιναν οι αναζητήσεις κυρίως στις βάσεις δεδομένων PubMed και Google Scholar. Όλα τα άρθρα ήταν στην αγγλική γλώσσα και ως κριτήριο επιλογής ήταν η αυθεντικότητα τους. Πιο αναλυτικά η φράση “long-non coding RNA AND leishmania” έδωσε 12 αποτελέσματα. Η φράση “lncRNA AND leishmania” έδωσε 13 αποτελέσματα. Από τα συνολικά 25 άρθρα τα 10 ήταν ίδια. Από τα 15 εναπομείναντα αποτελέσματα, 6 επιλέχθηκαν μετά από ανάγνωση περιλήψεων και επιλογή αυτών που ήταν καταλληλότερα με το θέμα . Στον παρακάτω πίνακα συνοψίζονται οι δημοσιεύσεις.

Αναφορές	Είδη λεισμάνια	Μέθοδοι ανάλυσης
(Hashemi et al., 2018)	<i>L. major</i>	qPCR Real Time
(Hewitson et al., 2020)	Δεν αναφέρει	RNA-seq
(J. C. R. Fernandes et al., 2023)	<i>L. amazonensis</i> , <i>L. braziliensis</i> και <i>L. infantum</i>	RNA-seq
(Maruyama et al., 2022)	<i>L. infantum</i>	RNA-seq
(Pawar et al., 2017a)	<i>L. major</i>	Φασματομετρία μάζας
(Z. Li et al., 2023)	Δεν αναφέρει	RNA-seq

Πίνακας 2: Σύνοψη των αναφορών που χρησιμοποιήθηκαν στην εργασία

Οι περισσότερες δημοσιεύσεις που σχετίζονται με την λεισμάνια χαρτογραφούνται στην Βραζιλία και Ινδία, χώρες στις οποίες ενδημούν συγκεκριμένα είδη λεισμάνιας. Πιο συγκεκριμένα στη Βραζιλία βρίσκουμε τα εξής είδη πέρα από άλλα: *L. amazonensis*, *L. braziliensis*, *L. infantum*, ενώ στην Ινδία βρίσκουμε την *L. major* και *L. donovani*. Τα περιοδικά που δημοσίευσαν τα άρθρα που χρησιμοποιήθηκαν στην εργασία είναι τα παρακάτω: Acta Tropica, Frontiers in Genetics, Cytokine, Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, Nature Reviews. Molecular Cell Biology, RNA Biology, Life Sciences. Στην

πλειοψηφία των ερευνών έχει χρησιμοποιηθεί η μέθοδο RNA-seq για την ανάλυση των μεταγραφωμάτων.

Κεφάλαιο 5. Ο ρόλος των lncRNAs στην λεισμανίαση

Αρχικά ο προσδιορισμός των lncRNAs μελετήθηκε σε συστήματα καλλιέργειας παρασίτων. Η πρώτη αναφορά για μια νέα κατηγορία μη κωδικοποιούμενων RNAs στη λεισμανία δημοσιεύθηκε το 2006 από τον Dumas και τους συνεργάτες του (Dumas et al., 2006). Παρουσίαζε μια νέα κατηγορία μη κωδικοποιημένων RNAs στην *Leishmania infantum*. Η μέθοδος που χρησιμοποιήθηκε ήταν η ανάλυση ραδιοσημασμένου cDNA που προήλθε από το ολικό RNA διαφορετικών σταδίων του κύκλου ζωής του παράσιτου από όπου αναδείχθηκε μια αλληλουχία RNA μήκους 274 νουκλεοτιδίων που προερχόταν από γονίδια της *L. infantum*. Αυτή η αλληλουχία περιείχε επαναλήψεις κεφαλής-ουράς, κατανεμόταν κυρίως σε υποτελομερείς περιοχές του γονιδιώματος, δεν ήταν όμοια με άλλα γνωστά μη κωδικοποιητικά RNAs στους ευκαρυωτικούς οργανισμούς. Επίσης, παρατηρήθηκε ότι ένα μικρότερο RNA μήκους 272 νουκλεοτιδίων προήλθε από το ένζυμο RNA Pol II, βρίσκεται στο κυτταρόπλασμα του παρασίτου και υποδείχθηκε πιθανή αλληλεπίδρασή του με μικρές ριβονουκλεοπρωτεΐνες (Dumas et al., 2006).

Ο Rastrojo και οι συνεργάτες του το 2013 ανέλυσαν δεδομένα του μεταγραφώματος του παράσιτου *Leishmania major* χρησιμοποιώντας την τεχνική RNA-Seq με την πλατφόρμα illumine. Σε αυτήν τη μελέτη, περιγράφονται 10.285 μεταγραφήματα που προέρχονται από 14 εκατομμύρια χαρτογραφημένες αναγνώσεις. Από αυτά, 1884 νέα μεταγραφήματα βρέθηκαν σε γονιδιακές περιοχές που δεν είχαν αναφορά σε προηγούμενες μελέτες και κατηγοριοποιήθηκαν ως μη σχολιασμένα γονίδια (Rastrojo et al., 2013). Στην συνέχεια, ο Pawar και συνεργάτες του (2017) χρησιμοποίησαν προηγούμενα πεπτιδικά δεδομένα από φασματομετρία μάζας της *L. major* σε συνδυασμό με τα 1884 μη σχολιασμένα γονίδια που περιγράφονται στην προηγούμενη μελέτη, για να προσδιορίσουν τρία μεταφρασμένα πλαίσια ncRNAs. Ανακάλυψαν ότι μόνο οκτώ μεταγραφήματα (ποσοστό 0,42%) είχαν αντιστοιχίση με πεπτιδικά δεδομένα, υποδεικνύοντας ότι σχεδόν όλα αυτά τα νέα μεταγραφήματα πιθανόν αντιπροσωπεύουν νέα lincRNAs (Pawar et al., 2017).

Μια άλλη μελέτη των Ruy και συνεργατών (2019) εξέτασε την έκφραση των γονιδίων σε όλα τα στάδια του κύκλου ζωής του παράσιτου *Leishmania braziliensis*, αναλύοντας τόσο τα κωδικοποιητικά όσο και τα μη κωδικοποιητικά RNAs. Οι ερευνητές χρησιμοποίησαν δεδομένα RNA-Seq από προκυκλικά, μετακυκλικά και αξενικά στάδια του

παρασίτου, που απέδωσε συνολικά 677 εκατομμύρια αναγνώσεις, εκ των οποίων περίπου το 98% ήταν χαρτογραφημένες (Ruy et al., 2019). Στη μελέτη αυτή, ανακαλύφθηκαν συνολικά 9269 μεταγραφές που κωδικοποιούν πρωτεΐνες και 7351 μακριές μη κωδικοποιητικές μεταγραφές RNA. Από αυτές τις μη κωδικοποιητικές μεταγραφές RNA, 4683 αναγνωρίστηκαν ως lincRNAs, 2334 ως slincRNAs και 334 ως alincRNAs. Τα περισσότερα από τα διαφορικά εκφραζόμενα lincRNAs βρέθηκαν μεταξύ των σταδίων πολλαπλασιασμού του παρασίτου στο έντομο και στα θηλαστικά, και 295 lincRNAs είχαν διαφορετική έκφραση και στα τρία στάδια. Το προφίλ έκφρασής τους ήταν διαφορετικό από τα γειτονικά γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες. Επιπλέον, από τα 35 ncRNAs που προσδιορίστηκαν, 22 ncRNAs επιβεβαιώθηκαν με ανάλυση Northern blot (Ruy et al., 2019).

Σε μία άλλη ερευνητική προσέγγιση, τα διαφορικά εκφραζόμενα lincRNAs προσδιορίστηκαν σε ασθενείς με λεισμανίαση, με στόχο την εύρεση βιοδεικτών και την παροχή βοηθητικών δεδομένων για την έγκαιρη προειδοποίηση της προόδου της λεισμανίασης. Οι διαφορετικές εκφράσεις των lincRNAs και mRNAs ταυτοποιήθηκαν στον ορό ασθενών με λεισμανίαση με την χρήση NGS. Επιπλέον, προβλέφθηκαν τα γονίδια-στόχοι των διαφορικά εκφραζόμενων lincRNAs μέσω βιοπληροφορικής ανάλυσης (Z. Li et al., 2023). Η αλληλεπίδραση πρωτεϊνών και η ανάλυση δικτύου των γονιδίων-στόχων χρησιμοποιήθηκαν για την ανάλυση αυτών των στόχων και τον εντοπισμό των lincRNAs που θεωρούνται σημαντικά (Z. Li et al., 2023).

Διαπιστώθηκε ότι σε σύγκριση με τον πληθυσμό ελέγχου, 502 lincRNAs υπερεκφράστηκαν (up-regulated) και 468 lincRNAs υποεκφράστηκαν (down-regulated) στους ασθενείς. Στη συνέχεια, 9 lincRNAs (MALAT1, LINC00622, MAPKAPK5-AS1, LINC02289, XPC-AS1, LINC00963, ZFAS1, NUTM2A-AS1 και SNHG5) μελετήθηκαν σε βάθος με βιοπληροφορική ανάλυση (Z. Li et al., 2023).

Προηγούμενη μελέτη είχε διαπιστώσει ότι το lincRNA-MALAT1 εκφραζόταν σε μεγάλο βαθμό σε μολυσμένα ποντίκια με λεισμανία, τα οποία μπορούν να επηρεάσουν τα βοηθητικά κύτταρα T προάγοντας την έκφραση του άξονα Maf/IL-10 (Z. Li et al., 2023). Το c-Maf έχει προταθεί ως βασικός μεταγραφικός παράγοντας για την παραγωγή IL-10 σε CD4⁺ T κύτταρα και σε μακροφάγα (M. Liu et al., 2018). Η ιντερλευκίνη (IL)-10 είναι μια βασική αντιφλεγμονώδης κυτταροκίνη που παίζει σημαντικό ρόλο ως αρνητικός ρυθμιστής των ανοσολογικών αποκρίσεων στα μικροβιακά αντιγόνα. Συνεπώς, το lincRNA-

MALAT1 παίζει σημαντικό ρόλο στην ανοσία των θηλαστικών (Hewitson et al., 2020). Το lncRNA-MALAT1 μπορεί να προάγει την κυτταρική μετάσταση και τον πολλαπλασιασμό στον καρκίνο της ουροδόχου κύστης και του νεφρού επηρεάζοντας τις υπομονάδες PRC1 και PRC2, σύμπλοκα που καταστέλλουν την μεταγραφή (Vijayanathan et al., 2022)(Fan et al., 2014; Hirata et al., 2015). Προτάθηκε, επίσης, ότι το lncRNA-MALAT1 λειτουργεί ως σφουγγάρι miRNA που ρυθμίζει την έκφραση των γονιδίων-στόχων, επηρεάζοντας έτσι την εξέλιξη της νόσου (Hu et al., 2020; L. Zheng et al., 2019). Διαπιστώθηκε πως σε καρκίνους μπορεί να επηρεάσει την κυτταρική εισβολή, τον πολλαπλασιασμό και τη μετάσταση ρυθμίζοντας μονοπάτια σήματος όπως: β-κατενίνη/Wnt, PI-3K/AKT (Y. Chen et al., 2018; Z. Li et al., 2023; S. Liu et al., 2018; Peng et al., 2020). Στη μελέτη των Li και των συνεργατών του, το lncRNA-MALAT1 υπερεκφράστηκε, ανάλογα με αποτελέσματα σε διαφορετικούς καρκίνους όπως ο μη μικροκυτταρικός καρκίνος του πνεύμονα (ΜΜΚΠ), ο καρκίνος του μαστού, το οστεοσάρκωμα και ο καρκίνος των ωοθηκών (Bai et al., 2018; Stone et al., 2019; Tiansheng et al., 2020; Y. Wang et al., 2017). Όπως και στην μελέτη του Maruyama και των συνεργατών που χρησιμοποίησαν την τεχνολογία RNA-seq για να ανιχνεύσουν το προφίλ συνέκφρασης των long non-coding RNAs και mRNAs στη λείσμανια, βρέθηκε ότι το MALAT1 είχε υψηλή έκφραση (Maruyama et al., 2022). Επομένως, το lncRNA-MALAT1 μπορεί να παίζει σημαντικό ρόλο και στη λείσμανιαση, κάτι που απαιτεί περαιτέρω έρευνα (Z. Li et al., 2023).

Ο Guo και οι συνεργάτες του ανακάλυψαν ότι το lncRNA-LINC00622 ήταν περισσότερο ρυθμισμένο στο νευροβλάστωμα, αποτέλεσμα που συμφωνούσε με τα ευρήματα του Li και των συνεργατών του (Z. Li et al., 2023)(M. Guo et al., 2021). Επιπλέον, πρόσφατες μελέτες έχουν διαπιστώσει ότι το lncRNA-LINC00963 εκφράζεται σε μεγάλο βαθμό και μπορεί να επηρεάσει την ανάπτυξη και την εξέλιξη της νόσου μέσω της ενεργοποίησης της οδού JAK2/STAT1 και διαφορετικών στοχευμένων ρυθμιστικών αξόνων, όπως ο άξονας miR-10b/FGF13, ο άξονας MiR-532-3p/HMGA2 και ο άξονας miR-506/BCAT1 (Y. Wu et al., 2021; Xie et al., 2020; F. Ye et al., 2020; J. Ye et al., 2021). Όσον αφορά τη λείσμανιαση, το LINC00963 δεν έχει μελετηθεί ποτέ, πράγμα που σημαίνει ότι μπορεί να αποτελέσει έναν νέο μηχανισμό και θεραπευτική στρατηγική για αυτή τη νόσο (Z. Li et al., 2023).

Ακόμη, το lncRNA-MAPKAPK5-AS1 παίζει σημαντικό ρόλο στον πολλαπλασιασμό, τη μετανάστευση, την εισβολή, την κυτταρική απόπτωση σε διαφορετικούς καρκίνους και

στην απόκριση φλεγμονής (W. Chen et al., 2021; Ji et al., 2019; Z. Li et al., 2023; L. Wang et al., 2021; Y. Zhou et al., 2020). Διαπιστώθηκε ότι το lncRNA-MAPKAPK5-AS1 υποεκφράστηκε υποδεικνύοντας την λειτουργία του ως ένα βασικό lncRNA (Z. Li et al., 2023). Βρέθηκε ότι το lncRNA-LINC00963 μπορεί να προάγει τη μετανάστευση και τον πολλαπλασιασμό μέσω της οδού miR-124-3p/FZD4 (K. Zheng & Zhang, 2020). Εν τω μεταξύ, προηγούμενη έρευνα διαπίστωσε ότι η υπερέκφραση του lncRNA-ZFAS1 μπορεί να προκαλέσει κυτταρική απόπτωση και να προάγει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων σε διάφορες ασθένειες (C. Fang et al., 2017; T. Li et al., 2015). Ωστόσο, αυτό το αποτέλεσμα ήταν διαφορετικό από αυτό του Li και των συνεργατών του, καθώς διαπιστώθηκε ότι το lncRNA-ZFAS1 είχε υποεκφραστεί (Z. Li et al., 2023). Έτσι, το lncRNA-ZFAS1 μπορεί να έχει άλλες λειτουργίες στη λεισμανίαση, και απαιτείται περαιτέρω έρευνα (Z. Li et al., 2023).

Ο Wang και οι συνεργάτες του διαπίστωσαν ότι το lncRNA-NUTM2A-AS1 μπορεί να προάγει τη βιωσιμότητα των κυττάρων του αδενοκαρκινώματος του πνεύμονα μέσω του άξονα miR-590-5p/METTL3 (J. Wang et al., 2021). Επιπλέον, σε άλλες μελέτες η υπερέκφραση του lncRNA-NUTM2A-AS1 αποδείχθηκε ότι προάγει την ανάπτυξη ασθένειας (J. Wang et al., 2020; X. Wang et al., 2021). Έτσι, το lncRNA-NUTM2A-AS1 μπορεί να παίζει καταλυτικό ρόλο στην εξέλιξη της λεισμανίασης (Z. Li et al., 2023).

Η δημοσιευμένη βιβλιογραφία δείχνει ότι το lncRNA-SNHG5, μπορεί να προάγει την εξέλιξη του καρκίνου του οισοφάγου, τον καρκίνο του τραχήλου της μήτρας και ούτω καθεξής (Z. Li et al., 2023; D. Liu et al., 2020; Wei et al., 2021; L. Zhang et al., 2021). Ακόμη διαπιστώθηκε ότι το SNHG5 έχει χαμηλή έκφραση, παρόμοια με την έρευνα των Wei και των συνεργατών του (Wei et al., 2021), έτσι το lncRNA-SNHG5 μπορεί να είναι ένα νέο γονίδιο στόχος στη λεισμανίαση (Z. Li et al., 2023).

Διαπιστώθηκε επίσης ότι το θερμικό σοκ προκαλεί διαφορετική έκφραση των lncRNAs στη λεισμανία (Oliveira et al., 2018). Οπότε, τα γονίδια που εκφράζονται διαφορετικά σχετίζονται με την κυτταρική επικοινωνία, τη μεταγωγή σήματος και τις διαδικασίες μεταβολισμού των αμινοξέων. Ωστόσο, επί του παρόντος, οι μελέτες για τα lncRNAs σε παράσιτα βρίσκονται ακόμη σε εξέλιξη και η λειτουργία δράσης των περισσότερων lncRNA στην ανθρώπινη μόλυνση από λεισμανία είναι ακόμη ασαφής. Είναι γνωστό μόνο ότι τα lncRNAs μεταγράφονται από διαγονιδιακές περιοχές και αποτελούν βασικούς ρυθμιστικούς παράγοντες στη διαδικασία της ζωής (Z. Li et al., 2023; Maruyama et al., 2022).

Τέλος, μελέτες έδειξαν ότι η απόκριση των μακροφάγων στην λειψιμάνια μπορεί να διαφέρει ανάλογα με το είδος και το στέλεχος του παράσιτου καθώς και τον τύπο του κυττάρου ξενιστή (J. C. R. Fernandes et al., 2023). Για παράδειγμα, στη μελέτη του Osorio y Fortéa και συνεργατών το 2009, παρατηρήθηκε μια φλεγμονώδης απόκριση στα μακροφάγα ποντικών BALB/c και C57BL/6 που μολύνθηκαν με το είδος *L. amazonensis*, η οποία ήταν διαφορετική από την απόκριση που παρατηρήθηκε στο *L. Major* (Osorio y Fortéa et al., 2009). Αυτό υποδηλώνει ότι η απόκριση των μακροφάγων εξαρτάται από ποικίλους παράγοντες και μηχανισμούς, συμπεριλαμβανομένων των φλεγμονωδών ερεθισμάτων και με βάση αυτήν την παρατήρηση πραγματοποιήθηκε η παρακάτω μελέτη (J. C. R. Fernandes et al., 2023).

Με την μέθοδο RNA-seq έγινε σύγκριση των μεταγραφημάτων σε ανθρώπινα μακροφάγα THP-1 που μολύνθηκαν με τα είδη *L. amazonensis* (*La*), *L. braziliensis* (*Lb*), και *L. infantum* (*Li*) για 24 ώρες. Κατά τη διάρκεια αυτού του χρονικού διαστήματος, η μόλυνση εγκαθίσταται και παρουσιάζονται μεταγραφικές μεταβολές που σχετίζονται με lncRNAs, εστιάζοντας στην πρώιμη φάση της μόλυνσης και τις επιπτώσεις τους στην ενεργοποίηση της ανοσολογικής απόκρισης (J. C. R. Fernandes et al., 2023). Συνολικά, προσδιορίστηκε περίπου 40% των αναγνώσεων που αντιστοιχούν στο ανθρώπινο γονιδίωμα για τα δείγματα των μολυσμένων μακροφάγων και περίπου 99% για τα μη μολυσμένα μακροφάγα. Ως αποτέλεσμα, περίπου 19.043 γονίδια αντιστοιχούν στο ανθρώπινο γονιδίωμα (GRCh38). Από αυτά, 4.311 γονίδια εμφανίζουν διαφορετική έκφραση σε τουλάχιστον ένα μοντέλο λοίμωξης σε σύγκριση με τα μη μολυσμένα μακροφάγα (J. C. R. Fernandes et al., 2023). Τα πλέον άφθονα μεταγραφήματα που εντοπίστηκαν ήταν γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες αλλά και lncRNAs. Από το υποσύνολο των lncRNA που έχουν επισημανθεί στη μελέτη, προσδιορίστηκαν συνολικά 735 lncRNAs για τα μακροφάγα που έχουν μολυνθεί από το είδος *L. amazonensis*, 795 lncRNAs για τα μακροφάγα που έχουν μολυνθεί από το είδος *L. braziliensis* και 1082 lncRNAs για τα μακροφάγα που έχουν μολυνθεί από το είδος *L. infantum*. Από αυτά, 335 lncRNAs ήταν υπερεκφρασμένα και 400 lncRNAs ήταν υποεκφρασμένα στη μόλυνση από το είδος *L. amazonensis*. Στην περίπτωση της μόλυνσης από το είδος *L. braziliensis*, εντοπίστηκαν 380 υπερεκφρασμένα lncRNAs και 415 υποεκφρασμένα lncRNAs. Τέλος, για τη μόλυνση από το είδος *L. infantum*, εντοπίστηκαν 466 υπερεκφρασμένα lncRNAs και 616 υποεκφρασμένα lncRNAs (J. C. R. Fernandes et al., 2023).

Παρατηρήθηκε ότι τα σημαντικά εμπλουτισμένα μονοπάτια ανοσοαπόκρισης στα μολυσμένα με το είδος *L. infantum* μακροφάγα σχετίζονταν κυρίως με την αναγνώριση των παρασίτων. Αυτά τα μονοπάτια περιλάμβαναν τους καταρράκτες υποδοχέων τύπου Toll, το σηματοδοτικό μονοπάτι NLR (Nod-like receptors), τους κυτταροδιαλυτούς αισθητήρες του DNA που σχετίζονται με το παθογόνο και τον υποδοχέα λεκτίνης τύπου C. Αντίθετα, για τις λοιμώξεις από τα είδη *L. amazonensis* και *L. braziliensis*, παρατηρήθηκε ότι η παρουσίαση αντιγόνων MHC τάξης II ήταν εμπλουτισμένη (J. C. R. Fernandes et al., 2023).

Κεφάλαιο 6. Συμπέρασμα

Αρκετές μελέτες την τελευταία δεκαετία έχουν δημοσιευτεί για τον ρόλο των lncRNAs στην λείσμανια, αλλά καμία από αυτές δεν διευκρινίζει πλήρως τη λειτουργία και τον μηχανισμό δράσης τους στην ασθένεια. Αρχικά ανακαλύφθηκε η ύπαρξη των μη κωδικοποιούμενων RNAs και διαπιστώθηκε η διαφορετική έκφρασή τους σε ασθενείς με λείσμανιαση. Παρατηρήθηκε η υπερέκφραση 502 lncRNAs και η υποέκφραση 468 lncRNAs σε σύγκριση με υγιή άτομα. Ένας αριθμός από αυτά τα lncRNAs, συμπεριλαμβανομένων των MALAT1, LINC00622, MAPKAPK5-AS1, LINC02289, XPC-AS1, LINC00963, ZFAS1, NUTM2A-AS1 και SNHG5, μελετήθηκαν περαιτέρω με βιοπληροφορική ανάλυση. Πιο συγκεκριμένα τα: MALAT1, LINC00963, NUTM2A-AS1 υπερεκφράστηκαν που σημαίνει ότι μπορούν να διαδραματίσουν σημαντικό ρόλο στην ανοσία και την πρόοδο της νόσου. Αντίθετα, τα: MAPKAPK5-AS1, ZFAS1, SNHG5 υποεκφράστηκαν, υποδηλώνοντας την σημασία αυτών των γονιδίων-στόχων για περαιτέρω έρευνα ώστε να διευκρινιστεί ο μηχανισμός δράσης τους. Όσον αφορά την ανοσολογική απόκριση στην νόσο της λείσμανιασης, είναι σύνθετη και επηρεάζεται από πολλούς παράγοντες, καθώς διαφέρει ανάλογα το είδος και το στέλεχος του παρασίτου αλλά και τον τύπο του κυττάρου ξενιστή. Συνοψίζοντας, τα μη κωδικοποιούμενα RNAs διαδραματίζουν σημαντικό ρόλο στην λείσμανια και την ανοσολογική απόκριση, όπως φαίνεται από τις δημοσιευμένες μελέτες και έρευνες που έχουν γίνει τα τελευταία χρόνια. Οι διαφορές στις εκφράσεις των lncRNAs μεταξύ ασθενών με λείσμανια και υγιών ατόμων ανοίγουν νέες προοπτικές για την κατανόηση της νόσου.

Αναφορές

- Abass, E., Kang, C., Martinkovic, F., Semião-Santos, S. J., Sundar, S., Walden, P., Piarroux, R., El Harith, A., Lohoff, M., & Steinhoff, U. (2015). Heterogeneity of *Leishmania donovani* parasites complicates diagnosis of visceral leishmaniasis: comparison of different serological tests in three endemic regions. *PLoS One*, *10*(3), e0116408. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116408>
- Ahmad, I., Valverde, A., Ahmad, F., & Naqvi, A. R. (2020). Long Noncoding RNA in Myeloid and Lymphoid Cell Differentiation, Polarization and Function. *Cells*, *9*(2), 269. <https://doi.org/10.3390/cells9020269>
- Ahn, J.-H., Lee, H.-S., Lee, J.-S., Lee, Y.-S., Park, J.-L., Kim, S.-Y., Hwang, J.-A., Kunkeaw, N., Jung, S. Y., Kim, T. J., Lee, K.-S., Jeon, S. H., Lee, I., Johnson, B. H., Choi, J.-H., & Lee, Y. S. (2018). nc886 is induced by TGF- β and suppresses the microRNA pathway in ovarian cancer. *Nature Communications*, *9*(1), 1166. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03556-7>
- Akhade, V. S., Pal, D., & Kanduri, C. (2017). *Long Noncoding RNA: Genome Organization and Mechanism of Action* (pp. 47–74). https://doi.org/10.1007/978-981-10-5203-3_2
- Alvar, J., Vélez, I. D., Bern, C., Herrero, M., Desjeux, P., Cano, J., Jannin, J., den Boer, M., & WHO Leishmaniasis Control Team. (2012). Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One*, *7*(5), e35671. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035671>
- Arango Duque, G., & Descoteaux, A. (2015). Leishmania survival in the macrophage: where the ends justify the means. *Current Opinion in Microbiology*, *26*, 32–40. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2015.04.007>
- Arora, R., Lee, Y., Wischnewski, H., Brun, C. M., Schwarz, T., & Azzalin, C. M. (2014). RNaseH1 regulates TERRA-telomeric DNA hybrids and telomere maintenance in ALT tumour cells. *Nature Communications*, *5*, 5220. <https://doi.org/10.1038/ncomms6220>
- Arora, S., Dev, K., Agarwal, B., Das, P., & Syed, M. A. (2018). Macrophages: Their role, activation and polarization in pulmonary diseases. *Immunobiology*, *223*(4–5), 383–396. <https://doi.org/10.1016/j.imbio.2017.11.001>
- Badolato, R., Sacks, D. L., Savoia, D., & Musso, T. (1996). *Leishmania major*: Infection of Human Monocytes Induces Expression of IL-8 and MCAF. *Experimental Parasitology*, *82*(1), 21–26. <https://doi.org/10.1006/expr.1996.0003>
- Bai, L., Wang, A., Zhang, Y., Xu, X., & Zhang, X. (2018). Knockdown of MALAT1 enhances chemosensitivity of ovarian cancer cells to cisplatin through inhibiting the Notch1 signaling pathway. *Experimental Cell Research*, *366*(2), 161–171. <https://doi.org/10.1016/j.yexcr.2018.03.014>

- Ballarino, M., Morlando, M., Fatica, A., & Bozzoni, I. (2016). Non-coding RNAs in muscle differentiation and musculoskeletal disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 126(6), 2021–2030. <https://doi.org/10.1172/JCI84419>
- Beermann, J., Piccoli, M.-T., Viereck, J., & Thum, T. (2016). Non-coding RNAs in Development and Disease: Background, Mechanisms, and Therapeutic Approaches. *Physiological Reviews*, 96(4), 1297–1325. <https://doi.org/10.1152/physrev.00041.2015>
- Bhan, A., & Mandal, S. S. (2014). Long Noncoding RNAs: Emerging Stars in Gene Regulation, Epigenetics and Human Disease. *ChemMedChem*, 9(9), 1932–1956. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201300534>
- Bhan, A., Soleimani, M., & Mandal, S. S. (2017). Long Noncoding RNA and Cancer: A New Paradigm. *Cancer Research*, 77(15), 3965–3981. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-2634>
- Bhat, S. A., Ahmad, S. M., Mumtaz, P. T., Malik, A. A., Dar, M. A., Urwat, U., Shah, R. A., & Ganai, N. A. (2016). Long non-coding RNAs: Mechanism of action and functional utility. *Non-Coding RNA Research*, 1(1), 43–50. <https://doi.org/10.1016/j.ncrna.2016.11.002>
- Bosque, F., Milon, G., Valderrama, L., & Saravia, N. G. (1998). Permissiveness of Human Monocytes and Monocyte-Derived Macrophages to Infection by Promastigotes of *Leishmania (Viannia) panamensis*. *The Journal of Parasitology*, 84(6), 1250. <https://doi.org/10.2307/3284682>
- Brazão, T. F., Johnson, J. S., Müller, J., Heger, A., Ponting, C. P., & Tybulewicz, V. L. J. (2016). Long noncoding RNAs in B-cell development and activation. *Blood*, 128(7), e10-9. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-11-680843>
- Bridges, M. C., Daulagala, A. C., & Kourtidis, A. (2021a). LNCcation: lncRNA localization and function. *The Journal of Cell Biology*, 220(2). <https://doi.org/10.1083/jcb.202009045>
- Bridges, M. C., Daulagala, A. C., & Kourtidis, A. (2021b). LNCcation: lncRNA localization and function. *The Journal of Cell Biology*, 220(2). <https://doi.org/10.1083/JCB.202009045>
- Burza, S., Croft, S. L., & Boelaert, M. (2018). Leishmaniasis. *Lancet (London, England)*, 392(10151), 951–970. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31204-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31204-2)
- Cao, C., Wang, J., Kwok, D., Cui, F., Zhang, Z., Zhao, D., Li, M. J., & Zou, Q. (2022). webTWAS: a resource for disease candidate susceptibility genes identified by transcriptome-wide association study. *Nucleic Acids Research*, 50(D1), D1123–D1130. <https://doi.org/10.1093/nar/gkab957>
- Carneiro, M. B., Lopes, M. E., Hohman, L. S., Romano, A., David, B. A., Kratofil, R., Kubes, P., Workentine, M. L., Campos, A. C., Vieira, L. Q., & Peters, N. C. (2020). Th1-Th2

Cross-Regulation Controls Early Leishmania Infection in the Skin by Modulating the Size of the Permissive Monocytic Host Cell Reservoir. *Cell Host & Microbe*, 27(5), 752-768.e7. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.03.011>

Carneiro, P. P., Conceição, J., Macedo, M., Magalhães, V., Carvalho, E. M., & Bacellar, O. (2016). The Role of Nitric Oxide and Reactive Oxygen Species in the Killing of *Leishmania braziliensis* by Monocytes from Patients with Cutaneous Leishmaniasis. *PLOS ONE*, 11(2), e0148084. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148084>

Chan, J., & Tay, Y. (2018). Noncoding RNA:RNA Regulatory Networks in Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(5), 1310. <https://doi.org/10.3390/ijms19051310>

Chen, W., Gao, G., Yan, M., Yu, M., Shi, K., & Yang, P. (2021). Long noncoding RNA MAPKAPK5-AS1 promoted lipopolysaccharide-induced inflammatory damage in the myocardium by sponging microRNA-124-3p/E2F3. *Molecular Medicine*, 27(1), 131. <https://doi.org/10.1186/s10020-021-00385-1>

Chen, Y., Huang, W., Sun, W., Zheng, B., Wang, C., Luo, Z., Wang, J., & Yan, W. (2018). LncRNA MALAT1 Promotes Cancer Metastasis in Osteosarcoma via Activation of the PI3K-Akt Signaling Pathway. *Cellular Physiology and Biochemistry : International Journal of Experimental Cellular Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, 51(3), 1313–1326. <https://doi.org/10.1159/000495550>

Chu, C., Qu, K., Zhong, F. L., Artandi, S. E., & Chang, H. Y. (2011). Genomic maps of long noncoding RNA occupancy reveal principles of RNA-chromatin interactions. *Molecular Cell*, 44(4), 667–678. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2011.08.027>

Clark, M. B., Johnston, R. L., Inostroza-Ponta, M., Fox, A. H., Fortini, E., Moscato, P., Dinger, M. E., & Mattick, J. S. (2012). Genome-wide analysis of long noncoding RNA stability. *Genome Research*, 22(5), 885–898. <https://doi.org/10.1101/GR.131037.111>

Clemson, C. M., McNeil, J. A., Willard, H. F., & Lawrence, J. B. (1996). XIST RNA paints the inactive X chromosome at interphase: evidence for a novel RNA involved in nuclear/chromosome structure. *The Journal of Cell Biology*, 132(3), 259–275. <https://doi.org/10.1083/jcb.132.3.259>

de Assis, R. R., Ibraim, I. C., Nogueira, P. M., Soares, R. P., & Turco, S. J. (2012). Glycoconjugates in New World species of *Leishmania*: polymorphisms in lipophosphoglycan and glycoinositolphospholipids and interaction with hosts. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1820(9), 1354–1365. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.11.001>

Delás, M. J., Sabin, L. R., Dolzhenko, E., Knott, S. R., Munera Maravilla, E., Jackson, B. T., Wild, S. A., Kovacevic, T., Stork, E. M., Zhou, M., Erard, N., Lee, E., Kelley, D. R., Roth, M., Barbosa, I. A., Zuber, J., Rinn, J. L., Smith, A. D., & Hannon, G. J. (2017). lncRNA

requirements for mouse acute myeloid leukemia and normal differentiation. *ELife*, 6. <https://doi.org/10.7554/eLife.25607>

- Derrien, T., Johnson, R., Bussotti, G., Tanzer, A., Djebali, S., Tilgner, H., Guernec, G., Martin, D., Merkel, A., Knowles, D. G., Lagarde, J., Veeravalli, L., Ruan, X., Ruan, Y., Lassmann, T., Carninci, P., Brown, J. B., Lipovich, L., Gonzalez, J. M., ... Guigó, R. (2012). The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: analysis of their gene structure, evolution, and expression. *Genome Research*, 22(9), 1775–1789. <https://doi.org/10.1101/GR.132159.111>
- Desjardins, M., & Descoteaux, A. (1997). Inhibition of Phagolysosomal Biogenesis by the Leishmania Lipophosphoglycan. *Journal of Experimental Medicine*, 185(12), 2061–2068. <https://doi.org/10.1084/JEM.185.12.2061>
- Djebali, S., Davis, C. A., Merkel, A., Dobin, A., Lassmann, T., Mortazavi, A., Tanzer, A., Lagarde, J., Lin, W., Schlesinger, F., Xue, C., Marinov, G. K., Khatun, J., Williams, B. A., Zaleski, C., Rozowsky, J., Röder, M., Kokocinski, F., Abdelhamid, R. F., ... Gingeras, T. R. (2012). Landscape of transcription in human cells. *Nature*, 489(7414), 101–108. <https://doi.org/10.1038/nature11233>
- Dumas, C., Chow, C., Müller, M., & Papadopoulou, B. (2006). A novel class of developmentally regulated noncoding RNAs in Leishmania. *Eukaryotic Cell*, 5(12), 2033–2046. <https://doi.org/10.1128/EC.00147-06>
- Ejazi, S. A., Ghosh, S., Saha, S., Choudhury, S. T., Bhattacharyya, A., Chatterjee, M., Pandey, K., Das, V. N. R., Das, P., Rahaman, M., Goswami, R. P., Rai, K., Khanal, B., Bhattarai, N. R., Deepachandi, B., Siriwardana, Y. D., Karunaweera, N. D., deBrito, M. E. F., Gomes, Y. de M., ... Ali, N. (2019). A multicentric evaluation of dipstick test for serodiagnosis of visceral leishmaniasis in India, Nepal, Sri Lanka, Brazil, Ethiopia and Spain. *Scientific Reports*, 9(1), 9932. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46283-9>
- Elmahallawy, E. K., Sampedro Martinez, A., Rodriguez-Granger, J., Hoyos-Mallecot, Y., Agil, A., Navarro Mari, J. M., & Gutierrez Fernandez, J. (2014). Diagnosis of leishmaniasis. *Journal of Infection in Developing Countries*, 8(8), 961–972. <https://doi.org/10.3855/jidc.4310>
- ENCODE Project Consortium, Birney, E., Stamatoyannopoulos, J. A., Dutta, A., Guigó, R., Gingeras, T. R., Margulies, E. H., Weng, Z., Snyder, M., Dermitzakis, E. T., Thurman, R. E., Kuehn, M. S., Taylor, C. M., Neph, S., Koch, C. M., Asthana, S., Malhotra, A., Adzhubei, I., Greenbaum, J. A., ... de Jong, P. J. (2007). Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature*, 447(7146), 799–816. <https://doi.org/10.1038/nature05874>
- Esch, K. J., & Petersen, C. A. (2013). Transmission and epidemiology of zoonotic protozoal diseases of companion animals. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(1), 58–85. <https://doi.org/10.1128/CMR.00067-12>

- Esteller, M. (2011). Non-coding RNAs in human disease. *Nature Reviews. Genetics*, 12(12), 861–874. <https://doi.org/10.1038/nrg3074>
- Fan, Y., Shen, B., Tan, M., Mu, X., Qin, Y., Zhang, F., & Liu, Y. (2014). TGF- β -induced upregulation of malat1 promotes bladder cancer metastasis by associating with suz12. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 20(6), 1531–1541. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-13-1455>
- Fang, C., Zan, J., Yue, B., Liu, C., He, C., & Yan, D. (2017). Long non-coding ribonucleic acid zinc finger antisense 1 promotes the progression of colonic cancer by modulating ZEB1 expression. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 32(6), 1204–1211. <https://doi.org/10.1111/jgh.13646>
- Fang, Y., & Fullwood, M. J. (2016). Roles, Functions, and Mechanisms of Long Non-coding RNAs in Cancer. *Genomics, Proteomics & Bioinformatics*, 14(1), 42–54. <https://doi.org/10.1016/j.gpb.2015.09.006>
- Fernandes, J., Acuña, S., Aoki, J., Floeter-Winter, L., & Muxel, S. (2019). Long Non-Coding RNAs in the Regulation of Gene Expression: Physiology and Disease. *Non-Coding RNA*, 5(1), 17. <https://doi.org/10.3390/ncrna5010017>
- Fernandes, J. C. R., Gonçalves, A. N. A., Floeter-Winter, L. M., Nakaya, H. I., & Muxel, S. M. (2023). Comparative transcriptomic analysis of long noncoding RNAs in Leishmania-infected human macrophages. *Frontiers in Genetics*, 13. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1051568>
- Funes, S. C., Rios, M., Escobar-Vera, J., & Kalergis, A. M. (2018). Implications of macrophage polarization in autoimmunity. *Immunology*, 154(2), 186–195. <https://doi.org/10.1111/imm.12910>
- Gantt, K. R., Goldman, T. L., McCormick, M. L., Miller, M. A., Jeronimo, S. M. B., Nascimento, E. T., Britigan, B. E., & Wilson, M. E. (2001). Oxidative Responses of Human and Murine Macrophages During Phagocytosis of *Leishmania chagasi*. *The Journal of Immunology*, 167(2), 893–901. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.167.2.893>
- Giudice, A., Vendrame, C., Bezerra, C., Carvalho, L. P., Delavechia, T., Carvalho, E. M., & Bacellar, O. (2012). Macrophages participate in host protection and the disease pathology associated with Leishmania braziliensis infection. *BMC Infectious Diseases*, 12(1), 75. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-75>
- Glennie, N. D., Volk, S. W., & Scott, P. (2017). Skin-resident CD4+ T cells protect against Leishmania major by recruiting and activating inflammatory monocytes. *PLOS Pathogens*, 13(4), e1006349. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006349>
- Golicz, A. A., Bhalla, P. L., & Singh, M. B. (2018). lncRNAs in Plant and Animal Sexual Reproduction. *Trends in Plant Science*, 23(3), 195–205. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2017.12.009>

- Goundry, A., Romano, A., Lima, A. P. C. A., Mottram, J. C., & Myburgh, E. (2018). Inhibitor of serine peptidase 2 enhances *Leishmania major* survival in the skin through control of monocytes and monocyte-derived cells. *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *32*(3), 1315–1327. <https://doi.org/10.1096/fj.201700797R>
- Gow, I., Smith, N. C., Stark, D., & Ellis, J. (2022). Laboratory diagnostics for human *Leishmania* infections: a polymerase chain reaction-focused review of detection and identification methods. *Parasites & Vectors*, *15*(1), 412. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05524-z>
- Grelet, S., Link, L. A., Howley, B., Obellianne, C., Palanisamy, V., Gangaraju, V. K., Diehl, J. A., & Howe, P. H. (2017). A regulated PNUTS mRNA to lncRNA splice switch mediates EMT and tumour progression. *Nature Cell Biology*, *19*(9), 1105–1115. <https://doi.org/10.1038/ncb3595>
- Guo, C. J., Ma, X. K., Xing, Y. H., Zheng, C. C., Xu, Y. F., Shan, L., Zhang, J., Wang, S., Wang, Y., Carmichael, G. G., Yang, L., & Chen, L. L. (2020). Distinct Processing of lncRNAs Contributes to Non-conserved Functions in Stem Cells. *Cell*, *181*(3), 621-636.e22. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2020.03.006>
- Guo, M., Li, D., Feng, Y., Li, M., & Yang, B. (2021). Adipose-derived stem cell-derived extracellular vesicles inhibit neuroblastoma growth by regulating GABBR1 activity through LINC00622-mediated transcription factor AR. *Journal of Leukocyte Biology*, *111*(1), 19–32. <https://doi.org/10.1002/JLB.1MIA0321-164R>
- Guttman, M., Amit, I., Garber, M., French, C., Lin, M. F., Feldser, D., Huarte, M., Zuk, O., Carey, B. W., Cassady, J. P., Cabili, M. N., Jaenisch, R., Mikkelsen, T. S., Jacks, T., Hacohen, N., Bernstein, B. E., Kellis, M., Regev, A., Rinn, J. L., & Lander, E. S. (2009). Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding RNAs in mammals. *Nature*, *458*(7235), 223–227. <https://doi.org/10.1038/NATURE07672>
- Guttman, M., Garber, M., Levin, J. Z., Donaghey, J., Robinson, J., Adiconis, X., Fan, L., Koziol, M. J., Gnirke, A., Nusbaum, C., Rinn, J. L., Lander, E. S., & Regev, A. (2010). Ab initio reconstruction of cell type-specific transcriptomes in mouse reveals the conserved multi-exonic structure of lincRNAs. *Nature Biotechnology*, *28*(5), 503–510. <https://doi.org/10.1038/NBT.1633>
- Hangauer, M. J., Vaughn, I. W., & McManus, M. T. (2013). Pervasive Transcription of the Human Genome Produces Thousands of Previously Unidentified Long Intergenic Noncoding RNAs. *PLoS Genetics*, *9*(6), e1003569. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003569>
- Hanly, D. J., Esteller, M., & Berdasco, M. (2018). Interplay between long non-coding RNAs and epigenetic machinery: emerging targets in cancer? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *373*(1748), 20170074. <https://doi.org/10.1098/rstb.2017.0074>

- Hashemi, N., Sharifi, M., Masjedi, M., Tolouei, S., Hashemi, M., Mortazavidehkordi, N., Mohaghegh, M. A., Hashemi, C., & Hejazi, S. H. (2018). Locked nucleic acid -anti- let-7a induces apoptosis and necrosis in macrophages infected with *Leishmania major*. *Microbial Pathogenesis*, *119*, 193–199. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.03.057>
- Heo, J. B., & Sung, S. (2011). Vernalization-mediated epigenetic silencing by a long intronic noncoding RNA. *Science (New York, N.Y.)*, *331*(6013), 76–79. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1197349>
- Hewitson, J. P., West, K. A., James, K. R., Rani, G. F., Dey, N., Romano, A., Brown, N., Teichmann, S. A., Kaye, P. M., & Lagos, D. (2020). Malat1 Suppresses Immunity to Infection through Promoting Expression of Maf and IL-10 in Th Cells. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *204*(11), 2949–2960. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1900940>
- Hezroni, H., Koppstein, D., Schwartz, M. G., Avrutin, A., Bartel, D. P., & Ulitsky, I. (2015). Principles of long noncoding RNA evolution derived from direct comparison of transcriptomes in 17 species. *Cell Reports*, *11*(7), 1110–1122. <https://doi.org/10.1016/J.CELREP.2015.04.023>
- Hirata, H., Hinoda, Y., Shahryari, V., Deng, G., Nakajima, K., Tabatabai, Z. L., Ishii, N., & Dahiya, R. (2015). Long Noncoding RNA MALAT1 Promotes Aggressive Renal Cell Carcinoma through Ezh2 and Interacts with miR-205. *Cancer Research*, *75*(7), 1322–1331. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-2931>
- Hu, D., Zhang, B., Yu, M., Shi, W., & Zhang, L. (2020). Identification of prognostic biomarkers and drug target prediction for colon cancer according to a competitive endogenous RNA network. *Molecular Medicine Reports*, *22*(2), 620–632. <https://doi.org/10.3892/mmr.2020.11171>
- Iqbal, M. A., Arora, S., Prakasam, G., Calin, G. A., & Syed, M. A. (2019). MicroRNA in lung cancer: role, mechanisms, pathways and therapeutic relevance. *Molecular Aspects of Medicine*, *70*, 3–20. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2018.07.003>
- Iyer, M. K., Niknafs, Y. S., Malik, R., Singhal, U., Sahu, A., Hosono, Y., Barrette, T. R., Prensner, J. R., Evans, J. R., Zhao, S., Poliakov, A., Cao, X., Dhanasekaran, S. M., Wu, Y.-M., Robinson, D. R., Beer, D. G., Feng, F. Y., Iyer, H. K., & Chinnaiyan, A. M. (2015). The landscape of long noncoding RNAs in the human transcriptome. *Nature Genetics*, *47*(3), 199–208. <https://doi.org/10.1038/ng.3192>
- Ji, H., Hui, B., Wang, J., Zhu, Y., Tang, L., Peng, P., Wang, T., Wang, L., Xu, S., Li, J., & Wang, K. (2019). Long noncoding RNA MAPKAP5-AS1 promotes colorectal cancer proliferation by partly silencing p21 expression. *Cancer Science*, *110*(1), 72–85. <https://doi.org/10.1111/cas.13838>
- Jiang, L., Shao, C., Wu, Q.-J., Chen, G., Zhou, J., Yang, B., Li, H., Gou, L.-T., Zhang, Y., Wang, Y., Yeo, G. W., Zhou, Y., & Fu, X.-D. (2017). NEAT1 scaffolds RNA-binding proteins

and the Microprocessor to globally enhance pri-miRNA processing. *Nature Structural & Molecular Biology*, 24(10), 816–824.
<https://doi.org/10.1038/nsmb.3455>

- Kapranov, P., Willingham, A. T., & Gingeras, T. R. (2007). Genome-wide transcription and the implications for genomic organization. *Nature Reviews. Genetics*, 8(6), 413–423.
<https://doi.org/10.1038/nrg2083>
- Kashi, K., Henderson, L., Bonetti, A., & Carninci, P. (2016). Discovery and functional analysis of lncRNAs: Methodologies to investigate an uncharacterized transcriptome. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Regulatory Mechanisms*, 1859(1), 3–15. <https://doi.org/10.1016/J.BBAGRM.2015.10.010>
- Khalil, A. M., Guttman, M., Huarte, M., Garber, M., Raj, A., Morales, D. R., Thomas, K., Presser, A., Bernstein, B. E., Van Oudenaarden, A., Regev, A., Lander, E. S., & Rinn, J. L. (2009). Many human large intergenic noncoding RNAs associate with chromatin-modifying complexes and affect gene expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(28), 11667–11672.
<https://doi.org/10.1073/PNAS.0904715106>
- Khan, S., Masood, M., Gaur, H., Ahmad, S., & Syed, M. A. (2021). Long non-coding RNA: An immune cells perspective. *Life Sciences*, 271, 119152.
<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119152>
- Kitagawa, M., Kitagawa, K., Kotake, Y., Niida, H., & Ohhata, T. (2013). Cell cycle regulation by long non-coding RNAs. *Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS*, 70(24), 4785–4794. <https://doi.org/10.1007/s00018-013-1423-0>
- Kleaveland, B., Shi, C. Y., Stefano, J., & Bartel, D. P. (2018). A Network of Noncoding Regulatory RNAs Acts in the Mammalian Brain. *Cell*, 174(2), 350-362.e17.
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.05.022>
- Lagarde, J., Uszczyńska-Ratajczak, B., Carbonell, S., Pérez-Lluch, S., Abad, A., Davis, C., Gingeras, T. R., Frankish, A., Harrow, J., Guigo, R., & Johnson, R. (2017). High-throughput annotation of full-length long noncoding RNAs with capture long-read sequencing. *Nature Genetics*, 49(12), 1731–1740. <https://doi.org/10.1038/NG.3988>
- Lee, J. H., Daugharthy, E. R., Scheiman, J., Kalhor, R., Ferrante, T. C., Terry, R., Turczyk, B. M., Yang, J. L., Lee, H. S., Aach, J., Zhang, K., & Church, G. M. (2015). Fluorescent in situ sequencing (FISSEQ) of RNA for gene expression profiling in intact cells and tissues. *Nature Protocols* 2015 10:3, 10(3), 442–458.
<https://doi.org/10.1038/nprot.2014.191>
- Li, T., Xie, J., Shen, C., Cheng, D., Shi, Y., Wu, Z., Deng, X., Chen, H., Shen, B., Peng, C., Li, H., Zhan, Q., & Zhu, Z. (2015). Amplification of Long Noncoding RNA ZFAS1 Promotes Metastasis in Hepatocellular Carcinoma. *Cancer Research*, 75(15), 3181–3191. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-14-3721>

- Li, Z., Fang, Y., Zhang, Y., & Zhou, X. (2023). RNA-seq analysis of differentially expressed lncRNAs from leishmaniasis patients compared to uninfected humans. *Acta Tropica*, 238, 106738. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2022.106738>
- Liu, D., & Uzonna, J. E. (2012). The early interaction of Leishmania with macrophages and dendritic cells and its influence on the host immune response. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2012.00083>
- Liu, D., Wang, Y., Zhao, Y., & Gu, X. (2020). lncRNA SNHG5 promotes nasopharyngeal carcinoma progression by regulating miR-1179/HMGB3 axis. *BMC Cancer*, 20(1), 178. <https://doi.org/10.1186/s12885-020-6662-5>
- Liu, M., Zhao, X., Ma, Y., Zhou, Y., Deng, M., & Ma, Y. (2018). Transcription factor c-Maf is essential for IL-10 gene expression in B cells. *Scandinavian Journal of Immunology*, 88(3). <https://doi.org/10.1111/SJI.12701>
- Liu, S., Yan, G., Zhang, J., & Yu, L. (2018). Knockdown of Long Noncoding RNA (lncRNA) Metastasis-Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1 (MALAT1) Inhibits Proliferation, Migration, and Invasion and Promotes Apoptosis by Targeting miR-124 in Retinoblastoma. *Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics*, 26(4), 581–591. <https://doi.org/10.3727/096504017X14953948675403>
- Luckheeram, R. V., Zhou, R., Verma, A. D., & Xia, B. (2012). CD4⁺ T Cells: Differentiation and Functions. *Clinical and Developmental Immunology*, 2012, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2012/925135>
- Ma, L., Bajic, V. B., & Zhang, Z. (2013a). On the classification of long non-coding RNAs. *RNA Biology*, 10(6), 924–933. <https://doi.org/10.4161/RNA.24604>
- Ma, L., Bajic, V. B., & Zhang, Z. (2013b). On the classification of long non-coding RNAs. *RNA Biology*, 10(6), 924–933. <https://doi.org/10.4161/rna.24604>
- Maenner, S., Blaud, M., Fouillen, L., Savoye, A., Marchand, V., Dubois, A., Sanglier-Cianféroni, S., Van Dorsselaer, A., Clerc, P., Avner, P., Visvikis, A., & Branlant, C. (2010). 2-D structure of the A region of Xist RNA and its implication for PRC2 association. *PLoS Biology*, 8(1). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PBIO.1000276>
- Managadze, D., Lobkovsky, A. E., Wolf, Y. I., Shabalina, S. A., Rogozin, I. B., & Koonin, E. V. (2013). The Vast, Conserved Mammalian lincRNome. *PLoS Computational Biology*, 9(2), e1002917. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002917>
- Marchese, F. P., Raimondi, I., & Huarte, M. (2017). The multidimensional mechanisms of long noncoding RNA function. *Genome Biology*, 18(1), 206. <https://doi.org/10.1186/s13059-017-1348-2>
- Maruyama, S. R., Fuzo, C. A., Oliveira, A. E. R., Rogerio, L. A., Takamiya, N. T., Pessenda, G., de Melo, E. V., da Silva, A. M., Jesus, A. R., Carregaro, V., Nakaya, H. I., Almeida, R. P., & da Silva, J. S. (2022). Insight Into the Long Noncoding RNA and mRNA

Coexpression Profile in the Human Blood Transcriptome Upon *Leishmania infantum* Infection. *Frontiers in Immunology*, 13.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.784463>

- Melé, M., Mattioli, K., Mallard, W., Shechner, D. M., Gerhardinger, C., & Rinn, J. L. (2017). Chromatin environment, transcriptional regulation, and splicing distinguish lincRNAs and mRNAs. *Genome Research*, 27(1), 27–37.
<https://doi.org/10.1101/GR.214205.116>
- Mohammad, F., Mondal, T., & Kanduri, C. (2009). Epigenetics of imprinted long non-coding RNAs. *Epigenetics*, 4(5), 277–286. <https://doi.org/10.4161/epi.4.5.9242>
- Murray, H. W., Berman, J. D., Davies, C. R., & Saravia, N. G. (n.d.). Advances in leishmaniasis. *Lancet (London, England)*, 366(9496), 1561–1577.
[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67629-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67629-5)
- Murray, H. W., & Cartelli, D. M. (1983). Killing of intracellular *Leishmania donovani* by human mononuclear phagocytes. Evidence for oxygen-dependent and -independent leishmanicidal activity. *Journal of Clinical Investigation*, 72(1), 32–44.
<https://doi.org/10.1172/JCI110972>
- Novais, F. O., Nguyen, B. T., Beiting, D. P., Carvalho, L. P., Glennie, N. D., Passos, S., Carvalho, E. M., & Scott, P. (2014). Human Classical Monocytes Control the Intracellular Stage of *Leishmania braziliensis* by Reactive Oxygen Species. *The Journal of Infectious Diseases*, 209(8), 1288–1296.
<https://doi.org/10.1093/infdis/jiu013>
- Oliveira, V. F., Moares, L. A. G., Mota, E. A., Jannotti-Passos, L. K., Coelho, P. M. Z., Mattos, A. C. A., Couto, F. F. B., Caffrey, B. E., Marsico, A., & Guerra-Sá, R. (2018). Identification of 170 New Long Noncoding RNAs in *Schistosoma mansoni*. *BioMed Research International*, 2018, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2018/1264697>
- Olivier, M., Gregory, D. J., & Forget, G. (2005). Subversion Mechanisms by Which *Leishmania* Parasites Can Escape the Host Immune Response: a Signaling Point of View. *Clinical Microbiology Reviews*, 18(2), 293–305.
<https://doi.org/10.1128/CMR.18.2.293-305.2005>
- Ørom, U. A., Derrien, T., Beringer, M., Gumireddy, K., Gardini, A., Bussotti, G., Lai, F., Zytnicki, M., Notredame, C., Huang, Q., Guigo, R., & Shiekhattar, R. (2010). Long noncoding RNAs with enhancer-like function in human cells. *Cell*, 143(1), 46–58.
<https://doi.org/10.1016/J.CELL.2010.09.001>
- Osorio y Fortéa, J., de La Llave, E., Regnault, B., Coppée, J. Y., Milon, G., Lang, T., & Prina, E. (2009). Transcriptional signatures of BALB/c mouse macrophages housing multiplying *Leishmania amazonensis* amastigotes. *BMC Genomics*, 10.
<https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-119>
- Paraskevopoulou, M. D., & Hatzigeorgiou, A. G. (2016). *Analyzing MiRNA–LncRNA Interactions* (pp. 271–286). https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3378-5_21

- Pawar, H., Pai, K., & Patole, M. S. (2017a). A novel protein coding potential of long intergenic non-coding RNAs (lincRNAs) in the kinetoplastid protozoan parasite *Leishmania major*. *Acta Tropica*, *167*, 21–25. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.12.012>
- Pawar, H., Pai, K., & Patole, M. S. (2017b). A novel protein coding potential of long intergenic non-coding RNAs (lincRNAs) in the kinetoplastid protozoan parasite *Leishmania major*. *Acta Tropica*, *167*, 21–25. <https://doi.org/10.1016/J.ACTATROPICA.2016.12.012>
- Pederiva, M. M. C., Santos, S. M. dos, Rivarola, L. G. S., Guerreiro, V. J., Lopes, K. S., Lima Junior, M. S. da C., & Neitzke-Abreu, H. C. (2023). Asymptomatic *Leishmania* infection in humans: A systematic review. *Journal of Infection and Public Health*, *16*(2), 286–294. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2022.12.021>
- Peng, N., He, J., Li, J., Huang, H., Huang, W., Liao, Y., & Zhu, S. (2020). Long noncoding RNA MALAT1 inhibits the apoptosis and autophagy of hepatocellular carcinoma cell by targeting the microRNA-146a/PI3K/Akt/mTOR axis. *Cancer Cell International*, *20*(1), 165. <https://doi.org/10.1186/s12935-020-01231-w>
- Ponte-Sucre, A., Gamarro, F., Dujardin, J.-C., Barrett, M. P., López-Vélez, R., García-Hernández, R., Pountain, A. W., Mwenechanya, R., & Papadopoulou, B. (2017). Drug resistance and treatment failure in leishmaniasis: A 21st century challenge. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *11*(12), e0006052. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006052>
- Pontier, D. B., & Gribnau, J. (2011). Xist regulation and function explored. *Human Genetics*, *130*(2), 223–236. <https://doi.org/10.1007/s00439-011-1008-7>
- Postepska-Igielska, A., Giwojna, A., Gasri-Plotnitsky, L., Schmitt, N., Dold, A., Ginsberg, D., & Grummt, I. (2015). LncRNA Khps1 Regulates Expression of the Proto-oncogene SPHK1 via Triplex-Mediated Changes in Chromatin Structure. *Molecular Cell*, *60*(4), 626–636. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.10.001>
- PRISMA. (n.d.). Retrieved July 12, 2023, from <http://prisma-statement.org/prismastatement/checklist.aspx?AspxAutoDetectCookieSupport=1>
- Quinn, J. J., Zhang, Q. C., Georgiev, P., Ilik, I. A., Akhtar, A., & Chang, H. Y. (2016). Rapid evolutionary turnover underlies conserved lncRNA-genome interactions. *Genes & Development*, *30*(2), 191–207. <https://doi.org/10.1101/GAD.272187.115>
- Raj, S., Sasidharan, S., Balaji, S. N., Dubey, V. K., & Saudagar, P. (2020). Review on natural products as an alternative to contemporary anti-leishmanial therapeutics. *Journal of Proteins and Proteomics*, *11*(2), 135–158. <https://doi.org/10.1007/S42485-020-00035-W>
- Rastrojo, A., Carrasco-Ramiro, F., Martín, D., Crespillo, A., Reguera, R. M., Aguado, B., & Requena, J. M. (2013). The transcriptome of *Leishmania major* in the axenic promastigote stage: Transcript annotation and relative expression levels by RNA-

seq. *BMC Genomics*, 14(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-223/FIGURES/4>

- Ready, P. (2014). Epidemiology of visceral leishmaniasis. *Clinical Epidemiology*, 147. <https://doi.org/10.2147/CLEP.S44267>
- Real, F., Florentino, P. T. V., Reis, L. C., Ramos-Sanchez, E. M., Veras, P. S. T., Goto, H., & Mortara, R. A. (2014). Cell-to-cell transfer of *Leishmania amazonensis* amastigotes is mediated by immunomodulatory LAMP-rich parasitophorous extrusions. *Cellular Microbiology*, 16(10), 1549–1564. <https://doi.org/10.1111/cmi.12311>
- Rinn, J. L., Kertesz, M., Wang, J. K., Squazzo, S. L., Xu, X., Bruggmann, S. A., Goodnough, L. H., Helms, J. A., Farnham, P. J., Segal, E., & Chang, H. Y. (2007). Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. *Cell*, 129(7), 1311–1323. <https://doi.org/10.1016/J.CELL.2007.05.022>
- Ritter, U., & Moll, H. (2000). Monocyte chemotactic protein-1 stimulates the killing of *Leishmania major* by human monocytes, acts synergistically with IFN- γ and is antagonized by IL-4. *European Journal of Immunology*, 30(11), 3111–3120. [https://doi.org/10.1002/1521-4141\(200011\)30:11<3111::AID-IMMU3111>3.0.CO;2-O](https://doi.org/10.1002/1521-4141(200011)30:11<3111::AID-IMMU3111>3.0.CO;2-O)
- Rosa, A., & Ballarino, M. (2016). Long Noncoding RNA Regulation of Pluripotency. *Stem Cells International*, 2016, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2016/1797692>
- Ruy, P. D. C., Monteiro-Teles, N. M., Miserani Magalhães, R. D., Freitas-Castro, F., Dias, L., Aquino Defina, T. P., Rosas De Vasconcelos, E. J., Myler, P. J., & Kaysel Cruz, A. (2019). Comparative transcriptomics in *Leishmania braziliensis*: disclosing differential gene expression of coding and putative noncoding RNAs across developmental stages. *RNA Biology*, 16(5), 639–660. <https://doi.org/10.1080/15476286.2019.1574161>
- Sacks, D. L. (2020). The Null Hypothesis of IFN- γ and Monocyte Function in Leishmaniasis. *Cell Host & Microbe*, 27(5), 683–684. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.04.014>
- Saha, B., & Silvestre, R. (2021). Cytokines in the immunity and immunopathogenesis in leishmaniasis. *Cytokine*, 145, 155320. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2020.155320>
- Sahu, U., & Khare, P. (2021). Interferon- γ : a key cytokine in leishmaniasis. In *Pathogenesis, Treatment and Prevention of Leishmaniasis* (pp. 197–208). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822800-5.00001-9>
- Sakkas, H., Gartzonika, C., & Levidiotou, S. (2016). Laboratory diagnosis of human visceral leishmaniasis. *Journal of Vector Borne Diseases*, 53(1), 8–16.
- Saleembhasha, A., & Mishra, S. (2018). Novel molecules lncRNAs, tRFs and circRNAs deciphered from next-generation sequencing/RNA sequencing: computational

databases and tools. *Briefings in Functional Genomics*, 17(1), 15–25.
<https://doi.org/10.1093/bfgp/elx013>

- Samant, M., Sahu, U., Pandey, S. C., & Khare, P. (2021). Role of Cytokines in Experimental and Human Visceral Leishmaniasis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, 624009. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.624009>
- Sánchez, C. A., Venkatachalam-Vaz, J., & Drake, J. M. (2021). Spillover of zoonotic pathogens: A review of reviews. *Zoonoses and Public Health*, 68(6), 563–577. <https://doi.org/10.1111/zph.12846>
- Santos, D., Campos, T. M., Saldanha, M., Oliveira, S. C., Nascimento, M., Zamboni, D. S., Machado, P. R., Arruda, S., Scott, P., Carvalho, E. M., & Carvalho, L. P. (2018). IL-1 β Production by Intermediate Monocytes Is Associated with Immunopathology in Cutaneous Leishmaniasis. *Journal of Investigative Dermatology*, 138(5), 1107–1115. <https://doi.org/10.1016/j.jid.2017.11.029>
- Savoia, D. (2015). Recent updates and perspectives on leishmaniasis. *Journal of Infection in Developing Countries*, 9(6), 588–596. <https://doi.org/10.3855/jidc.6833>
- Schmidt, K., Weidmann, C. A., Hilimire, T. A., Yee, E., Hatfield, B. M., Schneekloth, J. S., Weeks, K. M., & Novina, C. D. (2020). Targeting the Oncogenic Long Non-coding RNA SLNCR1 by Blocking Its Sequence-Specific Binding to the Androgen Receptor. *Cell Reports*, 30(2), 541-554.e5. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.12.011>
- Sen, N., Das, B. B., Ganguly, A., Mukherjee, T., Bandyopadhyay, S., & Majumder, H. K. (2004). Camptothecin-induced Imbalance in Intracellular Cation Homeostasis Regulates Programmed Cell Death in Unicellular Hemoflagellate *Leishmania donovani*. *Journal of Biological Chemistry*, 279(50), 52366–52375. <https://doi.org/10.1074/jbc.M406705200>
- Silveira, M. B., Gomes, R. S., Shio, M. T., Rugani, J. N., Paranaíba, L. F., Soares, R. P., & Ribeiro-Dias, F. (2022). Lipophosphoglycan From Dermotropic New World *Leishmania* Upregulates Interleukin-32 and Proinflammatory Cytokines Through TLR4 and NOD2 Receptors. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.805720>
- Singh, O. P., Tiwary, P., Kushwaha, A. K., Singh, S. K., Singh, D. K., Lawyer, P., Rowton, E., Chaubey, R., Singh, A. K., Rai, T. K., Fay, M. P., Chakravarty, J., Sacks, D., & Sundar, S. (2021). Xenodiagnosis to evaluate the infectiousness of humans to sandflies in an area endemic for visceral leishmaniasis in Bihar, India: a transmission-dynamics study. *The Lancet. Microbe*, 2(1), e23–e31. [https://doi.org/10.1016/S2666-5247\(20\)30166-X](https://doi.org/10.1016/S2666-5247(20)30166-X)
- Sirey, T. M., Roberts, K., Haerty, W., Bedoya-Reina, O., Rogatti-Granados, S., Tan, J. Y., Li, N., Heather, L. C., Carter, R. N., Cooper, S., Finch, A. J., Wills, J., Morton, N. M., Marques, A. C., & Ponting, C. P. (2019). The long non-coding RNA Cerx1 is a post

transcriptional regulator of mitochondrial complex I catalytic activity. *ELife*, 8.
<https://doi.org/10.7554/eLife.45051>

- Srividya, G., Kulshrestha, A., Singh, R., & Salotra, P. (2012). Diagnosis of visceral leishmaniasis: developments over the last decade. *Parasitology Research*, 110(3), 1065–1078. <https://doi.org/10.1007/s00436-011-2680-1>
- St Laurent, G., Wahlestedt, C., & Kapranov, P. (2015). The Landscape of long noncoding RNA classification. *Trends in Genetics : TIG*, 31(5), 239–251.
<https://doi.org/10.1016/j.tig.2015.03.007>
- Statello, L., Guo, C. J., Chen, L. L., & Huarte, M. (2021). Gene regulation by long non-coding RNAs and its biological functions. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 22(2), 96. <https://doi.org/10.1038/S41580-020-00315-9>
- Stone, J. K., Kim, J.-H., Vukadin, L., Richard, A., Giannini, H. K., Lim, S.-T. S., Tan, M., & Ahn, E.-Y. E. (2019). Hypoxia induces cancer cell-specific chromatin interactions and increases MALAT1 expression in breast cancer cells. *Journal of Biological Chemistry*, 294(29), 11213–11224. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA118.006889>
- Sun, X., & Wong, D. (2016). Long non-coding RNA-mediated regulation of glucose homeostasis and diabetes. *American Journal of Cardiovascular Disease*, 6(2), 17–25.
- Taveirne, S., Wahlen, S., van Loocke, W., Kiekens, L., Persyn, E., van Ammel, E., de Mulder, K., Roels, J., Tilleman, L., Aumercier, M., Matthys, P., van Nieuwerburgh, F., Kerre, T. C. C., Taghon, T., van Vlierberghe, P., Vandekerckhove, B., & Leclercq, G. (2020). The transcription factor ETS1 is an important regulator of human NK cell development and terminal differentiation. *Blood*, 136(3), 288–298.
<https://doi.org/10.1182/BLOOD.2020005204>
- Tian, B., & Manley, J. L. (2017). Alternative polyadenylation of mRNA precursors. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 18(1), 18–30.
<https://doi.org/10.1038/NRM.2016.116>
- Tiansheng, G., Junming, H., Xiaoyun, W., Peixi, C., Shaoshan, D., & Qianping, C. (2020). lncRNA Metastasis-Associated Lung Adenocarcinoma Transcript 1 Promotes Proliferation and Invasion of Non-Small Cell Lung Cancer Cells via Down-Regulating miR-202 Expression. *Cell Journal*, 22(3), 375–385.
<https://doi.org/10.22074/cellj.2020.6837>
- Tragante, V., Moore, J. H., & Asselbergs, F. W. (2014). The ENCODE project and perspectives on pathways. *Genetic Epidemiology*, 38(4), 275–280.
<https://doi.org/10.1002/gepi.21802>
- Tsai, M. C., Manor, O., Wan, Y., Mosammamaparast, N., Wang, J. K., Lan, F., Shi, Y., Segal, E., & Chang, H. Y. (2010). Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science (New York, N.Y.)*, 329(5992), 689–693.
<https://doi.org/10.1126/SCIENCE.1192002>

- Turco, S. J., & Descoteaux, A. (2003). THE LIPOPHOSPHOGLYCAN OF LEISHMANIA PARASITES. *Https://Doi.Org/10.1146/Annurev.Mi.46.100192.000433*, 46(1), 65–92. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV.MI.46.100192.000433>
- Valencia-Pacheco, G., Loría-Cervera, E. N., Sosa-Bibiano, E. I., Canché-Pool, E. B., Vargas-Gonzalez, A., Melby, P. C., & Andrade-Narvaez, F. J. (2014). In situ cytokines (IL-4, IL-10, IL-12, IFN- γ) and chemokines (MCP-1, MIP-1 α) gene expression in human Leishmania (Leishmania) mexicana infection. *Cytokine*, 69(1), 56–61. <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2014.05.016>
- Vargas-Inchaustegui, D. A., Hogg, A. E., Tulliano, G., Llanos-Cuentas, A., Arevalo, J., Endsley, J. J., & Soong, L. (2010). CXCL10 Production by Human Monocytes in Response to *Leishmania braziliensis* Infection. *Infection and Immunity*, 78(1), 301–308. <https://doi.org/10.1128/IAI.00959-09>
- Varol, C., Mildner, A., & Jung, S. (2015). Macrophages: Development and Tissue Specialization. *Annual Review of Immunology*, 33(1), 643–675. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-032414-112220>
- Vijayanathan, M., Trejo-Arellano, M. G., & Mozgová, I. (2022). Polycomb Repressive Complex 2 in Eukaryotes—An Evolutionary Perspective. *Epigenomes*, 6(1). <https://doi.org/10.3390/EPIGENOMES6010003/S1>
- Wang, J., Yu, Z., Wang, J., Shen, Y., Qiu, J., & Zhuang, Z. (2020). LncRNA NUTM2A-AS1 positively modulates TET1 and HIF-1A to enhance gastric cancer tumorigenesis and drug resistance by sponging miR-376a. *Cancer Medicine*, 9(24), 9499–9510. <https://doi.org/10.1002/cam4.3544>
- Wang, J., Zha, J., & Wang, X. (2021). Knockdown of lncRNA NUTM2A-AS1 inhibits lung adenocarcinoma cell viability by regulating the miR-590-5p/METTL3 axis. *Oncology Letters*, 22(5), 798. <https://doi.org/10.3892/ol.2021.13059>
- Wang, K. C., & Chang, H. Y. (2011). Molecular mechanisms of long noncoding RNAs. *Molecular Cell*, 43(6), 904–914. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2011.08.018>
- Wang, L., Sun, L., Liu, R., Mo, H., Niu, Y., Chen, T., Wang, Y., Han, S., Tu, K., & Liu, Q. (2021). Long non-coding RNA MAPKAPK5-AS1/PLAGL2/HIF-1 α signaling loop promotes hepatocellular carcinoma progression. *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*, 40(1), 72. <https://doi.org/10.1186/s13046-021-01868-z>
- Wang, X., Sun, H., Hu, Z., Mei, P., Wu, Y., & Zhu, M. (2021). NUTM2A-AS1 silencing alleviates LPS-induced apoptosis and inflammation in dental pulp cells through targeting let-7c-5p/HMGB1 axis. *International Immunopharmacology*, 96, 107497. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107497>
- Wang, Y., Chen, L., Chen, B., Li, X., Kang, J., Fan, K., Hu, Y., Xu, J., Yi, L., Yang, J., Huang, Y., Cheng, L., Li, Y., Wang, C., Li, K., Li, X., Xu, J., & Wang, D. (2013). Mammalian ncRNA-disease repository: a global view of ncRNA-mediated disease network. *Cell Death & Disease*, 4(8), e765. <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.292>

- Wang, Y., Huang, L., Wang, Y., Luo, W., Li, F., Xiao, J., Qin, S., Wang, Z., Song, X., Wang, Y., Jin, F., & Wang, Y. (2020). Single-cell RNA-sequencing analysis identifies host long noncoding RNA MAMDC2-AS1 as a co-factor for HSV-1 nuclear transport. *International Journal of Biological Sciences*, *16*(9), 1586–1603. <https://doi.org/10.7150/ijbs.42556>
- Wang, Y., Zhang, Y., Yang, T., Zhao, W., Wang, N., Li, P., Zeng, X., & Zhang, W. (2017). Long non-coding RNA MALAT1 for promoting metastasis and proliferation by acting as a ceRNA of miR-144-3p in osteosarcoma cells. *Oncotarget*, *8*(35), 59417–59434. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.19727>
- Wang, Z., & Yang, B. (2022). *Polypharmacology*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-031-04998-9>
- Wei, S., Sun, S., Zhou, X., Zhang, C., Li, X., Dai, S., Wang, Y., Zhao, L., & Shan, B. (2021). SNHG5 inhibits the progression of EMT through the ubiquitin-degradation of MTA2 in oesophageal cancer. *Carcinogenesis*, *42*(2), 315–326. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgaa110>
- West, & Lagos. (2019). Long Non-Coding RNA Function in CD4+ T Cells: What We Know and What Next? *Non-Coding RNA*, *5*(3), 43. <https://doi.org/10.3390/ncrna5030043>
- Wu, J., Zhang, H., Zheng, Y., Jin, X., Liu, M., Li, S., Zhao, Q., Liu, X., Wang, Y., Shi, M., Zhang, S., Tian, J., Sun, Y., Zhang, M., & Yu, B. (2018). The long noncoding RNA MALAT1 induces tolerogenic dendritic cells and regulatory T cells via miR155/dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3 grabbing nonintegrin/IL10 axis. *Frontiers in Immunology*, *9*(AUG), 1847. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2018.01847/BIBTEX>
- Wu, Y., Cong, L., Chen, W., Wang, X., & Qiu, F. (2021). lncRNA LINC00963 downregulation regulates colorectal cancer tumorigenesis and progression via the miR-10b/FGF13 axis. *Molecular Medicine Reports*, *23*(3), 211. <https://doi.org/10.3892/mmr.2021.11850>
- Xie, L., Chen, B., Liao, X., Chen, Y., Yang, R., He, S., Pei, L., & Jiang, R. (2020). LINC00963 targeting miR-128-3p promotes acute kidney injury process by activating JAK2/STAT1 pathway. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, *24*(10), 5555–5564. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15211>
- Yamazaki, T., Souquere, S., Chujo, T., Kobelke, S., Chong, Y. S., Fox, A. H., Bond, C. S., Nakagawa, S., Pierron, G., & Hirose, T. (2018). Functional Domains of NEAT1 Architectural lncRNA Induce Paraspeckle Assembly through Phase Separation. *Molecular Cell*, *70*(6), 1038-1053.e7. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2018.05.019>
- Yang, J., Lin, X., Wang, L., Sun, T., Zhao, Q., Ma, Q., & Zhou, Y. (2020). lncRNA MALAT1 Enhances ox-LDL-Induced Autophagy through the SIRT1/MAPK/NF-κB Pathway in Macrophages. *Current Vascular Pharmacology*, *18*(6), 652–662. <https://doi.org/10.2174/1570161118666200317153124>

- Ye, F., Xu, R., Ge, Y., Zheng, Y., Liu, X., Deng, P., & Xu, X. (2020). LINC00963 Confers Oncogenic Properties in Glioma by Regulating the miR-506/BCAT1 Axis. *Cancer Management and Research, Volume 12*, 2339–2351. <https://doi.org/10.2147/CMAR.S246332>
- Ye, J., Liu, J., Tang, T., Xin, L., Bao, X., & Yan, Y. (2021). LINC00963 affects the development of colorectal cancer via MiR-532-3p/HMGA2 axis. *Cancer Cell International, 21*(1), 87. <https://doi.org/10.1186/s12935-020-01706-w>
- Yuan, J., Yang, F., Wang, F., Ma, J., Guo, Y., Tao, Q., Liu, F., Pan, W., Wang, T., Zhou, C., Wang, S., Wang, Y., Yang, Y., Yang, N., Zhou, W., Yang, G., & Sun, S. (2014). A long noncoding RNA activated by TGF- β promotes the invasion-metastasis cascade in hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell, 25*(5), 666–681. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2014.03.010>
- Zealy, R. W., Fomin, M., Davila, S., Makowsky, D., Thigpen, H., McDowell, C. H., Cummings, J. C., Lee, E. S., Kwon, S.-H., Min, K.-W., & Yoon, J.-H. (2018). Long noncoding RNA complementarity and target transcripts abundance. *Biochimica et Biophysica Acta. Gene Regulatory Mechanisms, 1861*(3), 224–234. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2018.02.001>
- Zhang, L., Wu, X., Li, Y., Teng, X., Zou, L., & Yu, B. (2021). LncRNA SNHG5 promotes cervical cancer progression by regulating the miR-132/SOX4 pathway. *Autoimmunity, 54*(2), 88–96. <https://doi.org/10.1080/08916934.2020.1864731>
- Zhang, M., Zheng, Y., Sun, Y., Li, S., Chen, L., Jin, X., Hou, X., Liu, X., Chen, Q., Li, J., Liu, M., Zheng, X., Zhang, Y., Wu, J., & Yu, B. (2019). Knockdown of NEAT1 induces tolerogenic phenotype in dendritic cells by inhibiting activation of NLRP3 inflammasome. *Theranostics, 9*(12), 3425–3442. <https://doi.org/10.7150/THNO.33178>
- Zhang, R., Ni, F., Fu, B., Wu, Y., Sun, R., Tian, Z., Wei, H., Zhang, R., Ni, F., Fu, B., Wu, Y., Sun, R., Tian, Z., & Wei, H. (2016). A long noncoding RNA positively regulates CD56 in human natural killer cells. *Oncotarget, 7*(45), 72546–72558. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.12466>
- Zhang, Y., Li, X., Kong, X., Zhang, M., Wang, D., Liu, Y., & Lv, K. (2020). Long non-coding RNA AK085865 ablation confers susceptibility to viral myocarditis by regulating macrophage polarization. *Journal of Cellular and Molecular Medicine, 24*(10), 5542–5554. <https://doi.org/10.1111/jcmm.15210>
- Zhao, J., Ohsumi, T. K., Kung, J. T., Ogawa, Y., Grau, D. J., Sarma, K., Song, J. J., Kingston, R. E., Borowsky, M., & Lee, J. T. (2010). Genome-wide identification of polycomb-associated RNAs by RIP-seq. *Molecular Cell, 40*(6), 939–953. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCEL.2010.12.011>
- Zheng, K., & Zhang, T.-K. (2020). LncRNA LINC00963 promotes proliferation and migration through the miR-124-3p/FZD4 pathway in colorectal cancer. *European Review for*

Medical and Pharmacological Sciences, 24(14), 7634–7644.
https://doi.org/10.26355/eurrev_202007_22264

Zheng, L., Zhang, Y., Fu, Y., Gong, H., Guo, J., Wu, K., Jia, Q., & Ding, X. (2019). Long non-coding RNA MALAT1 regulates BLCAP mRNA expression through binding to miR-339-5p and promotes poor prognosis in breast cancer. *Bioscience Reports*, 39(2).
<https://doi.org/10.1042/BSR20181284>

Zhou, X., Zhang, Y., & Zhao, F. (2012). Partitioning of cephalosporins in acetone/NaCl two-phase system. *Fluid Phase Equilibria*, 319, 1–4.
<https://doi.org/10.1016/j.fluid.2012.01.003>

Zhou, Y., Liu, S., Luo, Y., Zhang, M., Jiang, X., & Xiong, Y. (2020). lncRNA MAPKAPK5-AS1 promotes proliferation and migration of thyroid cancer cell lines by targeting miR-519e-5p/YWHAH. *European Journal of Histochemistry : EJH*, 64(4).
<https://doi.org/10.4081/ejh.2020.3177>

Λεισμανίαση - Εθνικός Οργανισμός Δημόσιας Υγείας. (n.d.). Retrieved March 24, 2023, from <https://eody.gov.gr/disease/leismaniasi/>

Πηγές Εικόνων

Εικόνα 1	4
Εικόνα 2	5
Εικόνα 3	11
Εικόνα 4	15
Εικόνα 5	17

Πηγές Πινάκων

Πίνακας 1	9
Πίνακας 2	24