

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

**YOHANA PORTO CALEGARI ALVES**

**Perfil proteômico de *Cryptococcus neoformans* exposto ao óleo  
essencial de *Lavandula angustifolia***

**PORTO ALEGRE, RS**

**2022**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**

**Perfil proteômico de *Cryptococcus neoformans* exposto ao óleo  
essencial de *Lavandula angustifolia***

**YOHANA PORTO CALEGARI ALVES**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Biologia Celular e Molecular (PPGBCM) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biologia Celular e Molecular.

**Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dra. Lucélia Santi**

**Co-orientador: Prof. Dr. Walter Orlando Beys da Silva**

Porto Alegre, Dezembro de 2022

### CIP - Catalogação na Publicação

Porto Calegari Alves, Yohana  
Perfil proteômico de *Cryptococcus neoformans*  
exposto ao óleo essencial de *Lavandula angustifolia* /  
Yohana Porto Calegari Alves. -- 2022.  
147 f.  
Orientadora: Lucélia Santi.

Coorientador: Walter Orlando Beys da Silva.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Centro de Biotecnologia do Estado  
do Rio Grande do Sul, Programa de Pós-Graduação em  
Biologia Celular e Molecular, Porto Alegre, BR-RS,  
2022.

1. *Cryptococcus neoformans*. 2. Proteômica. 3. Óleo  
essencial de lavanda. 4. Microbiologia molecular. I.  
Santi, Lucélia, orient. II. Orlando Beys da Silva,  
Walter, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os  
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia Molecular e Proteômica do Departamento de Produção de Matéria-Prima da Faculdade de Farmácia da UFRGS e no *Proteomics Core Facility* do *Sanford Burnham Prebys Medical Discovery Institute* na cidade de *San Diego*, Califórnia - EUA, com financiamento da CAPES. A discente recebeu bolsa de estudos da CAPES e CNPq.

## DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho a todos que contribuíram com a minha formação acadêmica e pessoal até aqui, em especial a meus pais, Carla e Francisco, minha dinda, Cariana, meu companheiro, Anthony, meus irmãos, Yasmim e José Carlos e minha enteada Maria Helena. A força, o apoio e o incentivo de vocês foi o que me impulsionou e permitiu o meu avanço, mesmo durante os momentos mais difíceis. A vocês, toda a gratidão do universo!*

## **Agradecimentos**

Gostaria de agradecer primeiramente e imensamente aos meus pais, Carla e Francisco, que ao longo de todos esses anos sempre deram o melhor de si para que eu e meus irmãos pudéssemos correr atrás dos nossos sonhos e o mais incrível, sonhavam conosco.

Ao meu companheiro Anthony, com quem divido a vida e que é um dos meus maiores incentivadores, sempre me fazendo sonhar mais alto e me incentivando a cada vez ir mais longe dando sempre o meu melhor.

À minha dinda Cariana, uma das minhas inspirações como pessoa e profissional, que sempre me mostrou que o estudo e a dedicação valem a pena, além de todo incentivo ao longo dessa caminhada.

Aos meus irmãos José Carlos e Yasmim, que me incentivam e me apoiam, não importa onde estejamos.

À minha enteada Maria Helena, minha companheira diária ao longo dessa jornada, que vibra comigo a cada conquista e que sempre terá um lugar especial no meu coração.

À minha família na figura dos meus avós Valdeci e Carlos e a família que me adotou a quase 6 anos, na figura da minha sogra Maridalva, Eduardo, Dona Leila e Seu Walter, que sempre me incentivam, apoiam e vibram comigo a cada passo dado.

Aos meus amigos Karine, Daniella, Elisa, Camila, Mariana, Bruna, Nathália, Joana e Mathias, que sempre me acompanham, ficam na torcida e estão sempre a disposição para oferecer um ombro amigo e uma palavra de incentivo.

Ao pesquisador Dr Gildo Almeida da Silva, que me recebeu em seu laboratório na Embrapa durante minha graduação e que se não fosse por ele não teria conhecido minha orientadora e nem estaria aqui.

Aos meus colegas de LAMMOP, em especial a Giovanna, Camila, Renata, Laura e Juliana, que me receberam de braços abertos, me auxiliaram no que foi necessário além de todo carinho e apoio ao longo do desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas Aline e o Rafael que ao longo desse período sempre estiveram à disposição para uma conversa, um desabafo, um auxílio e que muito contribuíram para o desenvolvimento dessa pesquisa.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul e ao Programa de Pós Graduação em Biologia Celular e Molecular, especialmente à secretária Silvia, pelo excelente ensino e aporte que me foi proporcionado.

Aos meus orientadores Dr<sup>a</sup> Lucélia Santi e Dr. Walter Orlando Beys, que não mediram esforços para o desenvolvimento desse trabalho e sempre foram muito solícitos, atenciosos, dedicados e preocupados tanto com o projeto quanto com o meu desenvolvimento pessoal.

Grata!

## ÍNDICE

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	17
<b>2.1 Aspectos gerais do gênero <i>Cryptococcus</i></b> .....	17
<b>2.2 Criptococose e o processo de infecção</b> .....	19
<b>2.3 Fatores de virulência</b> .....	22
2.3.1 Cápsula polissacarídica .....	22
2.3.2 Parede celular e a produção de melanina .....	23
2.3.3 Crescimento a 37°C .....	24
2.3.4 Secreção de enzimas .....	24
<b>2.4 Panorama e tratamento atual para criptococose</b> .....	27
<b>2.5 Óleos essenciais como agentes antifúngicos</b> .....	29
2.5.1 Ruptura da membrana celular, alteração e inibição da formação da parede celular .....	30
2.5.2 Disfunção mitocondrial .....	31
2.5.3 Inibição de bombas de efluxo .....	31
2.5.4 Produção de ERO .....	31
<b>2.6 Óleo essencial de Lavanda (<i>Lavandula angustifolia</i>)</b> .....	32
<b>2.7 Estudo proteômico</b> .....	35
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	36
<b>3.1 Objetivo geral</b> .....	36
<b>3.2 Objetivos específicos</b> .....	36
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	37
<b>4.1 Microrganismos e condições de cultivo</b> .....	37
<b>4.2 Avaliação da concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial de lavanda (OEL)</b> .....	37
<b>4.3 Extração de proteínas</b> .....	37



4.4	Preparação de amostras para Espectrometria de massas .....	38
4.5	Espectrometria de massas (MudPIT) .....	38
4.6	Análise de espectros de massa em tandem .....	39
4.7	Análises de bioinformática .....	39
4.8	Validação da análise proteômica .....	40
4.9	Análise estatística .....	41
5.	RESULTADOS .....	42
5.1	Concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial de lavanda..	42
5.2	Identificação das proteínas.....	42
5.3	Identificação das proteínas hipotéticas .....	49
5.4	Análises de ontologia gênica .....	55
5.5	Análise das vias metabólicas da Enciclopédia de Genes e Genomas de Kyoto (KEGG) .....	56
5.5	Validação experimental .....	59
6.	DISCUSSÃO .....	61
6.1	Análise proteômica .....	61
7.	CONCLUSÃO .....	68
8.	REFERÊNCIAS .....	70
	<b>MATERIAL SUPLEMENTAR 1: Classificação de todas as proteínas em função molecular e processo biológico .....</b>	90
	<b>MATERIAL SUPLEMENTAR 2: Vias metabólicas alteradas, sua hierarquia e as proteínas alteradas de <i>C. neoformans</i> encontradas em cada uma delas .....</b>	115
	<b>MATERIAL SUPLEMENTAR 3: Vias metabólicas envolvidas no metabolismo de aminoácidos .....</b>	120
	<b>MATERIAL SUPLEMENTAR 4: Vias metabólicas envolvidas no metabolismo de carboidratos .....</b>	129
	<b>MATERIAL SUPLEMENTAR 5: Vias metabólicas envolvidas no metabolismo de cofatores e vitaminas .....</b>	136

<b>MATERIAL SUPLEMENTAR 6: Vias metabólicas envolvidas no metabolismo de outros aminoácidos .....</b>	<b>141</b>
---	------------

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

5-FC- Flucitosina

AICAR- 5-aminoimidazol-4-carboxamida ribonucleotideo formiltransferase

AMB- Anfotericina B

BHE - Barreira hematoencefálica

CIM- Concentração inibitória mínima

ERO- Espécie reativas de oxigênio

FLC- Fluconazol

FO- Fosforilação oxidativa

GSH- Glutathiona

HIV- Vírus da imunodeficiência humana

MC- Meningite criptocócica

NAM- Nicotinamida

OE - Óleo essencial

OEL- Óleo essencial de *Lavandula angustifolia*

P5Cdh- 1-pirrolina-5-carboxilato desidrogenase

SIV- Vírus da imunodeficiência símia

TCA - Ácido tricarbóxico

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Complexos de espécies de <i>Cryptococcus</i> .....	18
Figura 2- Processo de infecção de <i>Cryptococcus neoformans</i> .....	20
Figura 3- Cápsula polissacarídica de <i>Cryptococcus neoformans</i> .....	23
Figura 4- Resumo esquemático das regiões de atuação dos óleos essenciais.....	30
Figura 5- Distribuição das proteínas obtidas do proteoma <i>Cryptococcus neoformans</i> H99 nas condições: controle (C) e exposição ao óleo essencial de lavanda (L).....	42
Figura 6- Categorização de proteínas de <i>Cryptococcus neoformans</i> H99 exposto ao óleo essencial de lavanda.....	56
Figura 7- Classificação das vias metabólicas encontradas nas proteínas alteradas de <i>Cryptococcus neoformans</i> H99 exposto ao óleo essencial de lavanda .....	57
Figura 8- Panorama geral do metabolismo alterado em <i>Cryptococcus neoformans</i> H99 exposto ao óleo essencial de lavanda.....	59
Figura 9- Extravasamento celular de células de <i>Cryptococcus neoformans</i> H99 expostas ao óleo essencial de lavanda.....	60
Figura 10- Síntese das alterações observadas pela exposição do <i>Cryptococcus neoformans</i> H99 ao óleo essencial de <i>Lavandula angustifolia</i> .....	68

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Fatores de virulência de <i>Cryptococcus neoformans</i> e suas funções.....	26
Tabela 2- Composição química do óleo essencial de <i>Lavandula angustifolia</i> .....	34
Tabela 3- Proteínas identificadas em <i>Cryptococcus neoformans</i> diferencialmente reguladas quando expostas ao óleo essencial de lavanda.....	44
Tabela 4- Proteínas identificadas exclusivamente no controle de <i>Cryptococcus neoformans</i> , quando exposto ao óleo essencial de lavanda.....	45
Tabela 5- Proteínas identificadas exclusivamente nas células de <i>Cryptococcus neoformans</i> tratadas com óleo essencial de lavanda.....	46
Tabela 6- Classificação de proteínas hipotéticas de <i>Cryptococcus neoformans</i> utilizando softwares de bioinformática.....	51

## RESUMO

O complexo de espécies *Cryptococcus neoformans*, agente etiológico da criptococose, infecta preferencialmente pacientes imunocomprometidos. Além de ser a segunda maior responsável por mortes entre pacientes HIV, a meningite criptococose soma mais de 181 mil óbitos anualmente devido tratamento tardio e opções limitadas de tratamento. Assim, estudos com foco na identificação de substâncias e/ou moléculas com atividade antifúngica são urgentemente necessários, sendo os óleos essenciais considerados uma fonte promissora na busca por novas estratégias terapêuticas. Aqui, avaliamos as alterações moleculares ocasionadas no *C. neoformans* var. *grubii* (H99) pela exposição ao óleo essencial de *Lavandula angustifolia* (OEL) utilizando uma abordagem proteômica. As proteínas identificadas foram categorizadas por anotação gênica e no contexto de funções enzimáticas de vias metabólicas, utilizando o software Blast2Go. Foram identificadas 2.134 proteínas, dentre as quais 21 foram consideradas diferencialmente expressas, 78 exclusivas quando expostas ao OEL e 17 exclusivas no controle. De maneira geral, o OEL parece induzir a expressão de proteínas envolvidas no estresse oxidativo, como a P5Cdh, além de alterar vias metabólicas importantes para o fungo. A ativação do ciclo do TCA a partir da maior expressão de proteínas do ciclo e ao acúmulo de subprodutos (succinato, acetaldeído e piruvato) somado a uma menor expressão de proteínas participantes da fosforilação oxidativa sugerem um acúmulo de espécies reativas de oxigênio (ERO) e uma menor formação de ATP. Além das EROs causarem estresse oxidativo, seu acúmulo é conhecido por afetar a integridade da membrana, dado confirmado durante validação experimental. Alterações em vias responsáveis por combater o estresse oxidativo como da glutatona e da prolina, também foram observados, sendo o segundo substrato também usado como fonte de energia. Alterações em outros metabolismos que possuem funções significativas além de servirem como fonte alternativa de energia, como a purina e o inositol, também foram observadas. Desta maneira, podemos concluir que a exposição das células do *C. neoformans* (H99) ao OEL afetou funções mitocondriais como a síntese de ATP e a formação excessiva de EROs, obrigando a célula a desenvolver mecanismos para obter energia de fontes alternativas e também se proteger do estresse oxidativo.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Cryptococcus neoformans*; óleo essencial de lavanda; proteômica; estresse oxidativo

## ABSTRACT

The *Cryptococcus neoformans* species complex, the etiologic agent of cryptococcosis, preferentially infects immunocompromised patients. In addition to being the second leading cause of deaths among HIV patients, cryptococcal meningitis accounts for more than 181,000 deaths annually due to late treatment and limited treatment options. Thus, studies focusing on the identification of substances and/or molecules with antifungal activity are urgently needed, with essential oils being considered a promising source in the search for new therapeutic strategies. Here, we evaluated the molecular alterations caused in *C. neoformans* var. *grubbi* (H99) by exposure to *Lavandula angustifolia* essential oil (LEO) using a proteomics approach. The identified proteins were categorized by gene annotation and in the context of enzymatic functions of metabolic pathways, using the Blast2Go software. A total of 2,134 proteins were identified, of which 21 were considered differentially expressed, 78 exclusive when exposed to LEO and 17 exclusively in the control. In general, OEL seems to induce the expression of proteins involved in oxidative stress, such as P5Cdh, in addition to altering important metabolic pathways for the fungus. The activation of the TCA cycle of the greater expression of cycle proteins and the accumulation of by-products (succinate, acetaldehyde and pyruvate) added to a lower expression of proteins participating in oxidative phosphorylation suggest an accumulation of reactive oxygen species (ROS) and less ATP formation. In addition to ROS causing oxidative stress, their accumulation is known to affect membrane integrity, as confirmed during experimental validation. Changes in pathways responsible for combating oxidative stress, such as glutathione and proline, were also observed, with the second substrate also being used as an energy source. Changes in other metabolisms that have significant functions beyond serving as an alternative source of energy, such as purine and inositol, were also observed. Thus, we can conclude that exposure of *C. neoformans* (H99) cells to LEO affected mitochondrial functions such as ATP synthesis and excessive formation of ROS. Forcing the cell to develop mechanisms to obtain energy from alternative sources and also protect it from oxidative stress.

**KEYWORDS:** *Cryptococcus neoformans*; lavender essential oil; proteomic; oxidative stress

## 1. INTRODUÇÃO

O complexo de espécie *Cryptococcus neoformans* é uma levedura patogênica encapsulado pertencente ao gênero *Cryptococcus* e ao filo *Basidiomycota*, encontrado em solos contaminados por excretas de pássaros, madeira em decomposição e cavidades de algumas árvores (LIN & HEITMAN, 2006). O *C. neoformans* é um dos agentes etiológicos da criptococose, doença que pode causar pneumonia e meningite (IYER *et al.*, 2021), com taxa de mortalidade de 100% quando não tratada (PARK *et al.*, 2009). *C. neoformans* atua como uma infecção oportunista, causando doença, preferencialmente, em pacientes imunocomprometidos, sendo a segunda causa de morte entre pacientes HIV-positivos (SANTI *et al.*, 2014). A infecção ocorre através da inalação de esporos fúngicos, que se alojam nos pulmões, causando pneumonia. As células fúngicas podem invadir a corrente sanguínea, atingindo o cérebro onde causam meningite (meningoencefalite), levando à morte em casos mais graves.

Assim como outras infecções fúngicas, a criptococose é uma micose negligenciada que representa um grave problema de saúde pública (DOS SANTOS BENTES *et al.*, 2019). No cenário brasileiro, nenhuma infecção fúngica possui notificação compulsória (NOTIFICAÇÃO COMPULSÓRIA), o que dificulta e retarda o diagnóstico e, conseqüentemente, o tratamento. Somado a esta dificuldade, os tratamentos costumam ser demorados e limitados a três medicamentos: anfotericina B (AMB), flucitosina (5-fluorocitosina ou 5-FC) e fluconazol (FLC) (SPADARI *et al.*, 2020). Além do pequeno arsenal antifúngico, o tratamento é limitado a baixas concentrações para evitar toxicidade, o que aumenta o desenvolvimento de resistência fúngica (LIN & HEITMAN, 2006; SHOURIAN & QURESHI, 2019). Por isso, a busca e identificação de moléculas com atividade antifúngica isolada ou que possam atuar sinergicamente com esses medicamentos, aumentando sua eficácia, se faz necessário. O efeito sinérgico pode contribuir para a diminuição da dosagem, resultando na redução dos efeitos colaterais e do tempo de tratamento (D'AGOSTINO *et al.*, 2019).

Os OE com propriedades antifúngicas são uma alternativa terapêutica interessante às moléculas sintéticas (SHARIFI-RAD *et al.*, 2017). São produtos químicos aromáticos complexos extraídos de uma variedade de plantas, sendo descritas diversas propriedades farmacológicas (NAZZARO *et al.*, 2017). O OEL (*Lavandula angustifolia*) vem sendo



relatado como apresentando atividades antibacterianas e antifúngicas, além de inibir a resistência fúngica (AL-BADANI *et al.*, 2017; ALI-SHTAYEH *et al.*, 2020).

Aqui, avaliamos o efeito, a nível molecular, da exposição de *C. neoformans* ao OEL utilizando uma abordagem proteômica. A análise ajudará a identificar as alterações moleculares e o possível mecanismo de ação deste óleo que pode ser um promissor agente antifúngico.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Aspectos gerais do gênero *Cryptococcus*

O gênero *Cryptococcus* compreende fungos leveduriformes aeróbicos, de importância biomédica, pertencentes ao filo *Basidiomycota*, que estão globalmente onipresentes (MAY *et al.*, 2016) em cascas ou cavidades de árvores, madeira em decomposição e solo contaminado por excretas de aves (entre elas o pombo) (LIN & HEITMAN, 2006; MITCHELL *et al.*, 2014). Sua reprodução se dá através de combinação sexual entre os genes de duas linhagens haplóides, formando uma célula diplóide que, após sofrer meiose e mitose, formam novos esporos haplóides, denominados basidiósporos. O tamanho diminuto destes esporos formados os configuram como estruturas infecciosas, além de sua resistência ao estresse oxidativo, facilitando a sua penetração nos alvéolos pulmonares após inalação (GILES *et al.*, 2009). Alguns autores inferem que o modo de reprodução sexuado aumenta a resistência aos antifúngicos disponíveis (NI *et al.*, 2013) o que acaba por favorecer infecções futuras (HEITMAN *et al.*, 2014).

Apesar de existirem mais de 70 espécies apresentadas pelo gênero *Cryptococcus*, poucas são consideradas patogênicas para humanos, capazes de causar a criptococose. São dois os complexos de espécies: o de *C. neoformans*, contemplando 2 espécies, a *C. neoformans* (antiga *C. neoformans* var. *grubii*) e a *C. deneoformans* (antigo *C. neoformans* var. *neoformans*), e o de *Cryptococcus gattii*, com 6 espécies, a *C. gattii* (antiga *C. neoformans* var. *gattii*), *C. deuterogattii*, *C. bacillisporus*, *C. decagattii*, *C. tetragattii* e uma sem nome (MONTROYA *et al.*, 2021). Uma das diferenças entre estes complexos é o seu nicho ecológico. *C. neoformans* é cosmopolita, sendo encontrado em praticamente todo o globo, principalmente em solos contaminados por excretas de pombos. Por este motivo, a doença criptococose, é conhecida como "doença do pombo". Em contrapartida, *C. gattii* tem alta prevalência em áreas tropicais e subtropicais (SORRELL, 2001) tendo sido encontrado frequentemente em eucaliptos (*Eucalyptus camaldulensis* e *Eucalyptus tereticornis*) (TRILLES *et al.*, 2008). Outra diferença é o perfil imunológico do hospedeiro: enquanto *C. neoformans* tem preferência por pacientes imunocomprometidos, sendo um grande risco para a população HIV (BOVERS *et al.*, 2008) o *C. gattii* tem preferência por pacientes imunologicamente saudáveis, sendo considerado um patógeno

primário. Infelizmente, alguns isolados apresentam caráter endêmico no Brasil, nas regiões Norte e Nordeste, entre a população de jovens e crianças (LUCAS JÚNIOR *et al.*, 2017).

O *C. neoformans* foi isolado pela primeira vez em 1894, na Alemanha, e descrito por David Paul von Hansemann em 1905, como “afecção do sistema nervoso central” (REIS-FILHO *et al.*, 1985). A espécie *C. neoformans* foi inicialmente classificada em 4 sorotipos (A, B, C e D) de acordo com diferenças moleculares dos antígenos capsulares (FRANZOT *et al.*, 1999). Em 1970, uma espécie diferente de *C. neoformans* foi isolada de um paciente com leucemia (VANBREUSEGHEM & DE VROEY, 1970), e foi denominada como *C. neoformans* variedade *gattii*. Essa denominação permaneceu até 2002, quando foram observadas diferenças moleculares significativas com as demais variedades de *C. neoformans*. Assim, uma nova espécie foi renomeada como *C. gattii* (KWON-CHUNG *et al.*, 2002). Atualmente, em uma visão taxonômica, entre os complexos *C. neoformans* e *C. gattii*, existem doze linhagens reconhecidas pela literatura, como mostrado na Figura 1.

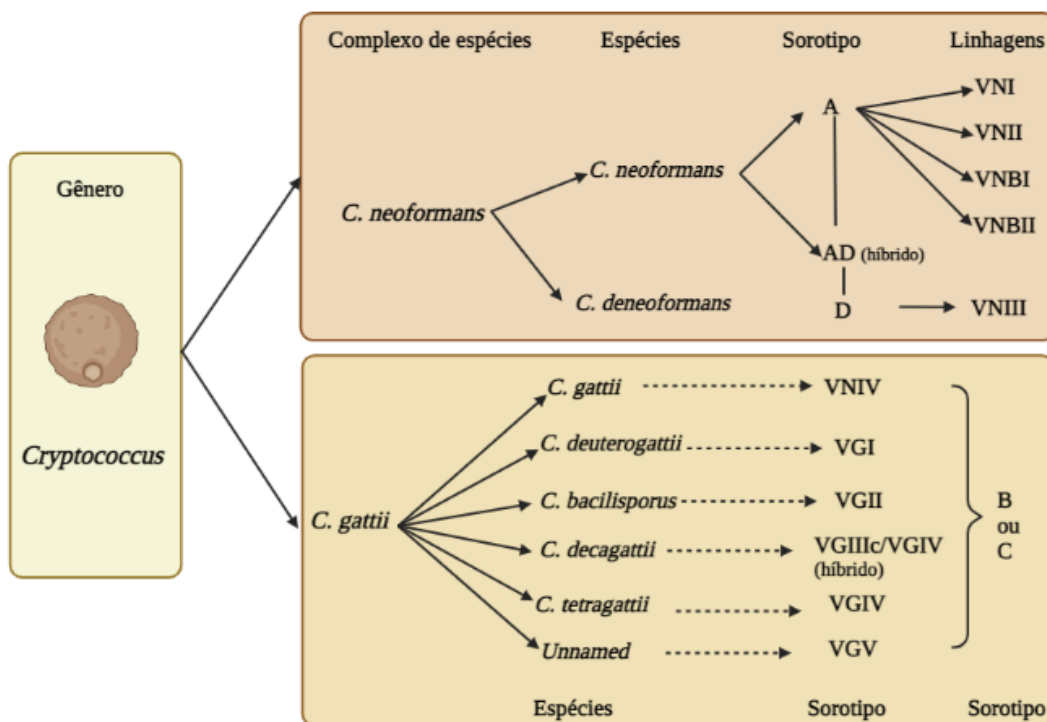


Figura 1: **Complexos de espécies de *Cryptococcus*.** As linhagens são distinguidas por: complexo de espécies, espécie, sorotipo, tipo molecular e tipo de sequência. (Fonte: Adaptado de Montoya *et al.* 2021)

## 2.2 Criptococose e o processo de infecção

A criptococose é uma micose sistêmica que acarreta na meningite criptococose, somando mais de duzentas mil mortes por ano (RAJASINGHAM *et al.*, 2017). E, apesar de ser conhecida desde o século XX, só ganhou notoriedade no final do século devido à associação com pacientes HIV (HEITMAN *et al.*, 2014). Além disso, é considerado o fungo com maior letalidade em humanos, o principal causador de mortes entre pacientes imunocomprometidos no Brasil (GIACOMAZZI *et al.*, 2016), e a segunda maior causa de morbidade e mortalidade entre pacientes HIV/AIDS (CDC, 2019).

A infecção ocorre via inalação de basidiósporos ou de leveduras dessecadas dispersos no ambiente, que são oriundos de excretas de aves revolvidas no solo ou de cascas de árvores (BOTT & HULL, 2010). Estes esporos se depositam facilmente nos alvéolos pulmonares, podendo causar uma infecção latente assintomática, ou evoluir para a criptococose pulmonar ativa (CP). Também pode ser disseminada por via hematogênica para todo corpo, chegando até o sistema nervoso central (SNC) (CHANG *et al.*, 2004), durante algum evento imunossupressor (PARK *et al.*, 2009), causando meningite criptocócica (MC) (RAJASINGHAM *et al.*, 2017) (Figura 2). Vale ressaltar que hospedeiros suscetíveis à infecção não possuem fase latente, e que o estágio grave da doença pode ocorrer anos ou décadas após a infecção inicial, demonstrando que os indivíduos são capazes de tolerar a presença do fungo por longos períodos (GARCIA-HERMOSO *et al.*, 1999).

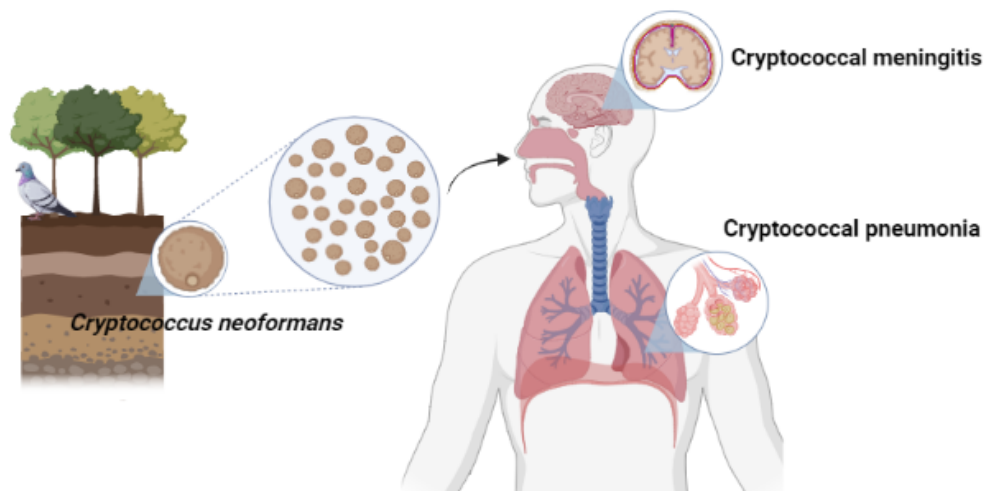


Figura 2: **Processo de infecção de *Cryptococcus neoformans***. A infecção ocorre via inalação dos esporos oriundos de cascas de árvores, como eucalipto, e solos contaminados por excretas de pássaros, como pombos. Os esporos se alojam nos pulmões gerando uma infecção latente assintomática, que podem ocasionar a pneumonia criptocócica, ou migrar para o cérebro via hematogênica, causando a meningite criptocócica, caso o paciente passe por algum evento imunossupressor. (Fonte: Autora, 2022)

Em geral, as infecções pulmonares são mais brandas devido à falta de um ambiente favorável para o crescimento e multiplicação do fungo, ocasionado pelo sistema imune. Nos pulmões, o *Cryptococcus* encontra alguns aparatos desenvolvidos pelo sistema imune do hospedeiro com o objetivo de eliminar este patógeno. O primeiro deles é a presença de macrófagos alveolares que recobrem os alvéolos e são encarregados de fagocitar e eliminar esse microrganismo. Somado a isso, algumas células, como os linfócitos T (CD4 e CD8) e células dendríticas são recrutadas para o órgão. Por fim, o pulmão contém surfactantes que, além de manter a tensão superficial da pleura durante a respiração, possuem propriedades antimicrobianas (ZARAGOZA, 2019). Apesar de todo estes mecanismos, as células fúngicas ainda podem sobreviver neste ambiente e se multiplicar no interior dos macrófagos (MANSOUR & LEVITZ, 2002), conferindo vantagens para a disseminação do fungo (WANG *et al.*, 2012). Um dos exemplos é a formação de criptocomas que, apesar de ser um quadro mais comum em infecções por *C. gattii* (ULETT *et al.*, 2017), já foi descrito em infecções por *C. neoformans* (BAKER, 1976; SALYER *et al.*, 1974; WEI *et al.*, 2020).

No processo de disseminação, que ocorre via sangue ou linfa, o cérebro é o órgão que possui maior propensão a ser um sítio ativo da doença devido ao neurotropismo

fúngico (KWON-CHUNG & BENNETT, 1992) e às concentrações de nutrientes disponíveis que são de fácil assimilação, como por exemplo glutamina e dopamina (LITTMAN & SCHNEIERSON, 1959). Assim como nos pulmões, o cérebro também possui recursos de defesa contra o microrganismo. Desta maneira, para que as células de *C. neoformans* consigam adentrar o SNC, é necessário que as mesmas consigam atravessar a barreira hematoencefálica (BHE). A BHE é uma membrana composta por células endoteliais e pericitos (CHARLIER *et al.*, 2009), que possui permeabilidade seletiva e regula a passagem de moléculas e microrganismos (RODRÍGUEZ *et al.*, 2010). Existem, atualmente, três potenciais meios de invasão e disseminação do *Cryptococcus* no SNC: transcitose, trânsito paracelular e dentro dos macrófagos alveolares como “cavalo de Tróia”. O mecanismo de transcitose, observada em *Escherichia coli* (HUANG *et al.*, 1995) e *Candida albicans* (JONG *et al.*, 2001), compreende a penetração de patógenos através das células endoteliais (endocitose) microvasculares do cérebro através das junções , envolvendo gasto energético (CHEN *et al.*, 2003). No transporte paracelular, também observado em *Trypanosoma* sp. (LONSDALE-ECCLES & GRAB, 2002), os microrganismos passam através do espaço intercelular entre as células do epitélio , mediante um gradiente de concentração (VU *et al.*, 2013). O mecanismo conhecido por “cavalo de Tróia”, também utilizado pelos vírus HIV e SIV (ERLANDER, 1995; LANE *et al.*, 1996), é a hipótese mais aceita na comunidade científica atualmente. O “cavalo de Tróia” está relacionado com a capacidade do *C. neoformans* em sobreviver e se “esconder” em células fagocíticas, pois são os monócitos infectados que carregam, através da BHE, o patógeno para dentro do cérebro (SANTIAGO-TIRADO *et al.*, 2017; ZARAGOZA, 2019). Os patógenos que vencem a BHE e adentram no SNC, iniciam uma fase crônica da doença e de grande importância para sua patogenicidade (BARBOSA *et al.*, 2006; KIM, 2008).

A apresentação clínica da MC é variável entre quadros de meningoencefalite subaguda ou crônica, tendo como febre e cefaléia os sintomas mais comuns (MITCHELL & PERFECT, 1995). Como já descrito anteriormente, a MC é a infecção fúngica mais frequente e a terceira complicação neurológica entre pacientes HIV (RAJASINGHAM *et al.*, 2017). Além dos pacientes HIV, pacientes transplantados e que fazem tratamento prolongado com corticosteróides também são suscetíveis a desenvolver MC (CHAYAKULKEEREE & PERFECT, 2006).

### **2.3 Fatores de virulência**

Os fatores de virulência são necessários para que os microrganismos consigam sobreviver e se multiplicar, tanto no seu habitat natural, como no processo infeccioso, transpondo as barreiras do sistema imune do hospedeiro (KRONSTAD *et al.*, 2008). Desta maneira, os fatores de virulência favorecem o sucesso da disseminação fúngica (NOSANCHUK & CASADEVALL, 2006). A regulação desses fatores está associada a vias de sinalização de estresse, como a ativação de sinalização AMPc/Proteína quinase A, via do glicerol de alta osmolaridade (HOG), via Mpk1, via de resposta protéica desdobrado (UPR) e etc (MONTROYA *et al.*, 2021). Somado à regulação dos fatores de virulência, também ocorre a indução de alterações reprodutivas e metabólicas que, quando visto através do panorama da doença, facilita a sobrevivência do fungo à temperatura do hospedeiro, essencial para o estabelecimento da infecção em mamíferos (ESHER *et al.*, 2018; KWON-CHUNG *et al.*, 2014). Um resumo dos principais fatores de virulência de *Cryptococcus* estão descritos na Tabela 1.

#### **2.3.1 Cápsula polissacarídica:**

A cápsula polissacarídica (Figura 3) é um dos fatores de virulências mais predominantes quando se estuda *Cryptococcus* (O'MEARA & ALSPAUGH, 2012), pois é o único fungo patogênico que possui esta estrutura (DECOTE-RICARDO *et al.*, 2019). Seu papel vai muito além de proteger a célula da desidratação quando exposta ao meio ambiente, servindo como fator antifagocítico (DEL POETA, 2004; O'MEARA & ALSPAUGH, 2012), inibindo a liberação de citocinas e reduzindo o recrutamento de outras células de defesa para o sítio de infecção (BOSE *et al.*, 2003). Sua estrutura é composta pelos polissacarídeos glucuronoxilomanana (GXM), galactoxilomanana (GXMGal) e manoproteínas (ZARAGOZA, 2019). A composição, estrutura, densidade e tamanho da cápsula pode ter variações conforme as condições que o fungo for submetido, como por exemplo a exposição ao hospedeiro (GATES *et al.*, 2004), alteração de pH (ALSPAUGH, 2015), níveis de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) (GRANGER *et al.*, 1985), concentrações de ferro (Fe) (VARTIVARIAN *et al.*, 1993), estresse osmótico, temperatura, exposição a drogas antifúngicas e sinais relacionados à biologia do hospedeiro (O'MEARA & ALSPAUGH, 2012). Alterações da composição da cápsula alteram as

propriedades antigênicas utilizadas para classificar os sorotipos (RODRIGUES *et al.*, 2014), além de modificar a aderência das células fúngicas ao endotélio do hospedeiro (ESHER *et al.*, 2018). A importância da presença da cápsula para a virulência de *Cryptococcus* pode ser observada não somente em trabalhos que demonstram a maior evasão do sistema imune relacionadas ao aumento da cápsula (ZARAGOZA *et al.*, 2008), mas também em trabalhos que demonstram cepas que se tornam avirulentas na ausência dela (CHANG & KWON-CHUNG, 1994, 1998; CHANG *et al.*, 1996).

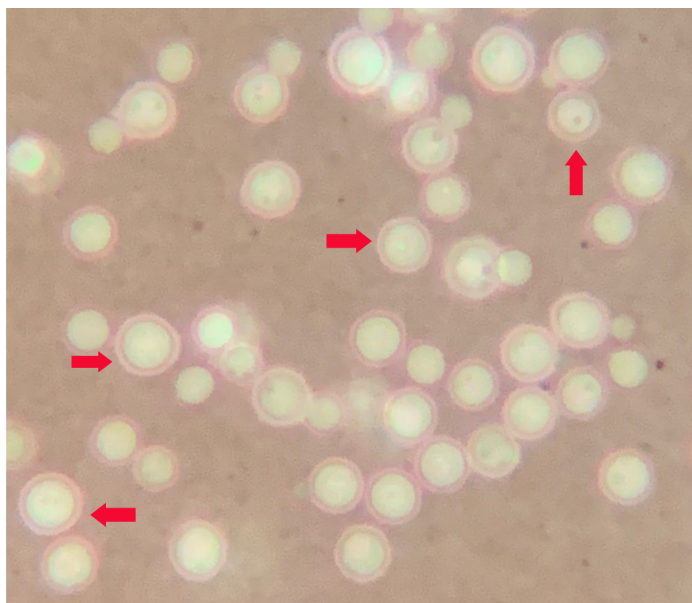


Figura 3: Cápsula polissacarídica de *Cryptococcus neoformans*. (Fonte: Autora, 2022)

### 2.3.2 Parede celular e a produção de melanina:

Uma outra forma de se adaptar às alterações ambientais e fisiológicas do hospedeiro é a produção de melanina, que se deposita na parede celular fúngica. A melanina é um pigmento de cor marrom (NOSANCHUK *et al.*, 1999) que se ancora na quitina da parede celular, cuja síntese é realizada pela enzima lacase, codificada pelo gene *LAC1*. O *Cryptococcus*, diferentemente de outros fungos, utiliza precursores de catecolaminas exógenos (EISENMAN *et al.*, 2011), podendo este fato estar relacionado ao seu neurotropismo, já que a catecolamina atua como neurotransmissor (CASADEVALL *et al.*, 2000). A função da melanina é proteger a célula contra raios UV, pressões elevadas (HILL, 1992) e extremos de temperatura (ROSAS & CASADEVALL, 1997) quando o



mesmo se encontra no ambiente, e espécies reativas de oxigênio (ERO) quando infectando o hospedeiro (SICHEL *et al.*, 1991; ZHU & WILLIAMSON, 2004). Além disso, auxilia na secreção de enzimas como fosfolipase, lacase e urease (ROSAS & CASADEVALL, 2001). A produção de melanina, somada à integridade da parede celular tornam o fungo menos suscetível a ser encontrado e fagocitado pelas células imunes do hospedeiro (GILBERT *et al.*, 2011). E, apesar da melanina não ser um fator essencial e predominante no processo de infecção, torna a levedura termotolerante, capaz de neutralizar efeitos dos EROs e reduz a sensibilidade a antifúngicos (TROFA *et al.*, 2014).

### **2.3.3 Crescimento a 37 °C:**

Se tratando de um fungo que infecta mamíferos, um dos fatores primordiais para que ocorra a infecção é a capacidade do microrganismo de se desenvolver à temperatura corporal (37 °C). Esta é uma das principais diferenças entre *C. neoformans* e *C. gattii* com as demais espécies do gênero que não são patógenos humanos. Inúmeros genes já foram associados a essa habilidade de desenvolvimento (PERFECT, 2006). A proteína citoplasmática calcineurina é um exemplo que tem como função a resposta ao estresse e manutenção da integridade celular em leveduras (ODOM *et al.*, 1997). Outros exemplos são a enzima MPK1, que está envolvida com a manutenção da integridade celular (KRAUS *et al.*, 2003) e a RAS1, que regula o desenvolvimento em altas temperaturas.

### **2.3.4 Secreção de enzimas:**

Uma outra estratégia encontrada por *Cryptococcus* para permanecer no hospedeiro e transpor o sistema imune é a secreção de enzimas extracelulares ativas, como proteases, fosfolipases e urease. Estas enzimas ainda possibilitam que a levedura adquira nutrientes, degradando e danificando as moléculas do hospedeiro (COX *et al.*, 2000; GHANNOUM, 2000). As ureases, por exemplo, catalisam a conversão de uréia e outros compostos nitrogenados em amônia e carbamato (SAMIE *et al.*, 2019). A presença da amônia vai além da elevação do pH, causando o não amadurecimento dos fagócitos (RUTHERFORD, 2014) Sua presença, em alguns isolados, já foi relacionada com uma maior letalidade e maior disseminação em tecidos cerebrais (OLSZEWSKI *et al.*, 2004). Somado a isso, as ureases podem danificar os tecidos epiteliais, fornecendo acesso mais fácil à corrente

sanguínea, ocasionando a disseminação de patógenos dos pulmões (SINGH *et al.*, 2013). As fosfolipases aumentam a adesão às células epiteliais pulmonares e hidrolisam ligações de éster fosfolipídico, facilitando a penetração nos tecidos do hospedeiro (DJORDJEVIC, 2010). As proteases, por sua vez, têm a capacidade de lisar proteínas importantes para a infecção tecidual, colonização e evasão da resposta imune (ALMEIDA *et al.*, 2015), além de desempenharem funções na penetração da célula hospedeira e virulência (CHEN *et al.*, 1997). E, juntamente com as fosfolipases, podem danificar a membrana celular do macrófago do hospedeiro (TUCKER & CASADEVALL, 2002).

Tabela 1: **Fatores de virulência de *Cryptococcus neoformans* e suas funções.** Adaptado de Ashwin et al. (2009).

<b>Fator</b>	<b>Função</b>
<b>Cápsula polissacarídica</b>	Evasão da fagocitose Redução da apresentação de antígeno Redução da produção de citocinas Indução de células T supressoras, que inibem imunidade mediada por células Inibição da resposta das células T pela GXM Inibição pela GXM da migração de leucócitos a sítios de inflamação
<b>Melanina</b>	Proteção contra radiação UV Proteção contra radicais livres derivados de oxigênio e nitrogênio Pode contribuir ao tropismo pelo sistema nervoso central Contribui a carga celular negativa
<b>Manitol</b>	Sugestão de aumento na pressão intracranial Proteção contra estresse Proteção contra radicais livres derivados de oxigênio
<b>Proteases extracelulares</b>	Atividade proteolítica Pode contribuir com a degradação de proteínas envolvidas na integridade tecidual e imunidade do hospedeiro
<b>Produtos da rota da lacase</b>	Oxidação de difenol Síntese de melanina Degradação de lignina da madeira

<b>Superóxido-dismutase</b>	Proteção contra estresse oxidativo Proteção contra ruptura oxidativa produzida por células imune efectoras
<b>Fosfolipases</b>	Invasão tecidual pela degradação de lipídeos de membrana dos mamíferos e surfactante pulmonar
<b>Urease</b>	Função exata desconhecida Pode agir na transferência de <i>Cryptococcus</i> para o sistema nervoso central
<b>Crescimento à temperatura fisiológica (37°C)</b>	Sobrevivência e persistência no hospedeiro
<b>Tolerância a pH baixo e Tolerância a níveis elevados de sal</b>	Sobrevivência e persistência no ambiente
<b>Mudança fenotípica</b>	Mudança no tamanho da cápsula – variante mucóide mais virulenta, variante mais lisa supostamente capaz de ultrapassar a barreira hematoencefálica

Atualmente, além dos fatores de virulência clássicos apresentados acima, novos fenótipos de virulência vem sendo estudados e descritos, como é o caso do tamanho celular. Existem três tamanhos sugeridos para células criptocócicas: média (~4-7  $\mu\text{m}$ ), micro ( $\leq 1 \mu\text{m}$ ) e titãs ( $\geq 11\mu\text{m}$ ), e cada uma delas possui sua particularidade. As células titãs, por exemplo, se diferenciam por serem haplóides (GERSTEIN *et al.*, 2015). Já as micro, devido ao tamanho, conseguem se dispor em locais estratégicos e se disseminar de uma maneira mais eficiente no cérebro (FELDMESSER *et al.*, 2001; XIE *et al.*, 2012).

É importante se ter em mente que, apesar de não se ter elucidado os mecanismos envolvidos nestas alterações de fenótipos, outros fatores também são alterados nestas células, como é o caso da espessura da cápsula. Dessa maneira, a mudança fenotípica culmina em uma maior evasão do sistema imune e produção de citocinas pró-inflamação.

#### **2.4 Panorama e tratamento atual para criptococose**

A cada ano sobe alarmantemente o número de infectados por patógenos fúngicos no mundo (BROWN *et al.*, 2012). Uma das explicações para este aumento é a crescente de indivíduos com algum problema relacionado ao sistema imune, como infecção do vírus

HIV, transplante, terapia imunossupressora prolongada, neoplasias e etc (BROWN *et al.*, 2012; LIONAKIS & LEVITZ, 2018).

A meningite criptocócica atinge anualmente mais de 223 mil pacientes, causando mais de 181 mil mortos (RAJASINGHAM *et al.*, 2017) e, juntamente com *Candida*, *Aspergillus* e *Pneumocystis*, representa 90% de todas as mortes relacionadas a doenças fúngicas no mundo. Dados publicados pelo Fundo Global de Ações contra Infecções Fúngicas (GAFFI) estimam que aproximadamente um bilhão de pessoas sofrem de algum tipo de infecção fúngica (ATHERTON, 2017) e mais de 1,5 milhão morrem em decorrência das complicações geradas por estas infecções (BONGOMIN *et al.*, 2017). Recentemente, a Organização Mundial da Saúde (OMS) incluiu as micoses invasivas como doenças negligenciadas devido à falta de atenção dos órgãos de saúde (ZAVALA & BADDLEY, 2020). No Brasil, não existe notificação compulsória para infecções fúngicas, (RODRIGUES & OTHERS, 2019) o que posterga o diagnóstico e impossibilita a análise epidemiológica correta (NOTIFICAÇÃO COMPULSÓRIA). Outro fator que dificulta o diagnóstico são as semelhanças entre os fungos e os seres humanos, tornando o tratamento de infecções fúngicas mais complicado em relação às demais doenças que acometem o homem.

As terapias antifúngicas disponíveis pertencem a três grupos: polienos, azóis e equinocandinas. Tanto os polienos como os azóis atuam sobre o ergosterol, componente da membrana plasmática fúngica. O primeiro causa seu esgotamento, e o segundo bloqueia a sua síntese. Por fim, as equinocandinas atuam sobre a integridade da parede celular, pois inibem a produção de (1,3)- $\beta$ -D-glucano. Dentre o aparato medicamentoso atual para criptococose, se limitam, basicamente, duas classes de medicamentos antifúngicos: um polieno, representado pela AmB, e dois azólicos, representados pelo FLC e 5FC (SPADARI *et al.*, 2020) *Cryptococcus* é naturalmente resistente às equinocandinas (DENNING, 2003). De forma corriqueira, os três medicamentos são usados juntos, de forma a coibir e combater a forma disseminada da doença em três etapas conhecidas como indução, consolidação e manutenção (MOURAD & PERFECT, 2018). O primeiro age ligando-se ao ergosterol presente na membrana do fungo, causando uma perturbação e aumentando a permeabilidade da mesma; o segundo age inibindo a síntese de ergosterol, e o terceiro na síntese de RNA, substituindo uracila por 5- fluorouracil, inibindo também a duplicação do DNA. Em casos de pacientes acometidos por HIV e que apresentem quadro

de meningite criptococose, preconiza-se um tratamento inicial, de primeira linha, composto por AmB e 5FC, enquanto que o FLC entra no esquema de tratamento separadamente por 8 semanas, a fim de consolidar o tratamento, e por 12 meses ou mais para manutenção (SRICHATRAPIMUK & SUNGKANUPARPH, 2016).

Embora haja opções de medicamentos com seu protocolo estabelecido, o tratamento pode sofrer variações de acordo com o quadro clínico da simbiose entre paciente-fungo-terapias existentes. Diversas instituições de saúde no mundo vem experimentando falhas na terapêutica vigente, já que o alto custo e a toxicidade passaram a ser um problema a ser solucionado (ROBBINS *et al.*, 2016). Ainda, para transpor os desafios da resistência aos antifúngicos, cada vez mais proeminentes, e a prevalência das infecções por *C. neoformans* de forma significativa, é imprescindível que se lance mão de novas estratégias terapêuticas (VU *et al.*, 2019). Desta forma, inúmeras estratégias vêm sendo estudadas como possíveis alternativas para o problema apresentado, como o uso dos fatores de virulência de *Cryptococcus* como alvos terapêuticos (ZARAGOZA, 2019). Por exemplo, o uso de anticorpos monoclonais contra a melanina com o intuito de reduzir o crescimento de células fúngicas vem sendo avaliado (ROSAS *et al.*, 2001).

Assim como em outros microrganismos, o tratamento para doenças fúngicas vem sendo tratado com cuidado no que diz respeito às cepas resistentes aos medicamentos disponíveis (BERMAS & GEDDES-MCALISTER, 2020). O *Cryptococcus*, por exemplo, possui resistência a equinocandinas (DENNING, 2003) e azólicos (LEE *et al.*, 2021). Além disso, o gênero possui uma alta plasticidade genômica e adaptabilidade fisiológica, fazendo com que a resistência aos antifúngicos seja ainda maior (IYER *et al.*, 2021). Por ser uma levedura ambiental, sofrem exposição aos agroquímicos (BASTOS *et al.*, 2018, 2019) e estressores biológicos que alteram sua arquitetura genômica e seus aspectos morfológicos, tornando-os exímios hetero resistentes.

A baixa variedade de medicamentos antifúngicos disponíveis e a sua limitada eficácia justificada pela toxicidade devido a similaridade das células fúngicas com as células humanas (NAZZARO *et al.*, 2017), associado à resistência acumulada ao longo dos anos (BROWN *et al.*, 2012) e o custo do tratamento que pode superar a faixa de R\$ 400 mil/paciente no Brasil (BORBA *et al.*, 2018), culminam em altas taxas de mortalidade. Deste modo, apesar do impacto negativo que as doenças fúngicas causam no mundo todo,

seus tratamentos são um problema a serem solucionados (LEE *et al.*, 2021), tornando-se cada vez mais importante a descoberta de novas terapias para blindar a disseminação desses patógenos (LOYSE *et al.*, 2019).

## **2.5 Óleos essenciais como agentes antifúngicos**

Pensando em suprir a lacuna de novos medicamentos devido à existência de microrganismos multirresistentes (NAZZARO *et al.*, 2017), os recursos naturais têm se mostrado uma excelente fonte de biomoléculas com diversas atividades biológicas. Nesse sentido, os OE extraídos a partir de folhas, flores, raízes ou cascas vegetais (BAKKALI *et al.*, 2008) tem se mostrado promissores na busca por estratégias terapêuticas (HU *et al.*, 2017; KALEMBA & KUNICKA, 2003). A definição de OE, segundo a ANVISA na RDC nº 2 de 15 de Janeiro de 2007, é “ produto volátil de origem vegetal obtido por processo físico (destilação por arraste com vapor de água, destilação a pressão reduzida ou outro método adequado) que pode se apresentar isoladamente ou misturado entre si, retificados, desterpenados ou concentrados”.

Quando se estuda um OE, além de ser fundamental a compreensão de seus componentes principais, as características físico-químicas e os componentes minoritários não podem ser esquecidos, pois são as informações contidas na análise global do extrato que permitem a identificação correta de sua atividade antimicrobiana. Isso pode significar que o efeito antimicrobiano esteja relacionado às características que parecem irrísórias, como densidade, cor e textura do óleo, ou seja, suas características físico-químicas pois são elas que conferem caráter lipofílico ou hidrofílico ao óleo, determinando assim a sua capacidade de penetração na pele ou a incorporação a outros veículos usados pela indústria farmacêutica (BAKKALI *et al.*, 2008). Da mesma forma, dentre os compostos minoritários podem conter moléculas que apresentem atividade sinérgica com o composto principal (KHAN & AHMAD, 2011). O sinergismo que ocorre nessa modalidade de tratamento pode ser explicado por alguns mecanismos, como a inibição de estágios nas vias intracelulares e a ação adicional de outro agente que interfira na membrana celular do fungo, por exemplo (JOHNSON *et al.*, 2004). Além disso, o sinergismo que ocorre entre o óleo e os antifúngicos poderia reduzir a dose administrada e, assim, diminuir a toxicidade e os efeitos colaterais observados no tratamento convencional (D'AGOSTINO *et al.*, 2019),

como foi observado no trabalho de (GIORDANI *et al.*, 2004) com o composto timol obtido do OE de tomilho (*Thymus vulgaris*) reduzindo em 48% a CIM de AmB.

Apesar da diversidade de óleos disponíveis, com alguns apresentando atividade antimicrobiana, o mecanismo de ação desenvolvido por eles se diferem (figura 4). Abaixo alguns exemplos:

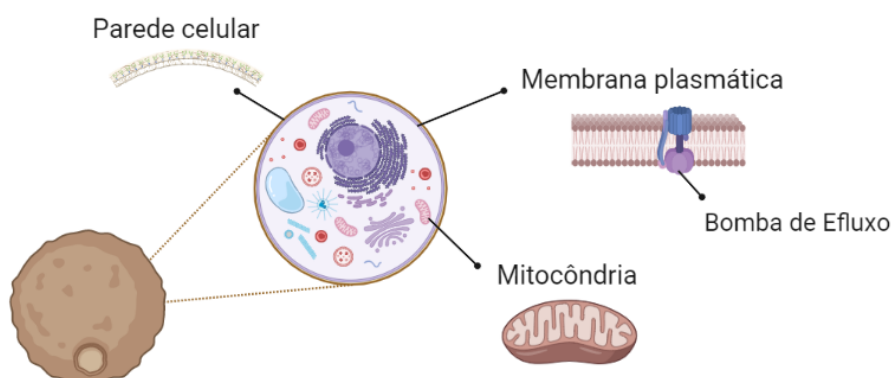


Figura 4: **Resumo esquemático das regiões de atuação dos óleos essenciais.** Os óleos podem atuar: na parede celular e/ou membrana plasmática inibindo ou alterando morfológicamente algum componente chave dessas estruturas; nas proteínas de membrana e nas bombas de Efluxo; e na mitocôndria alterando as funções mitocondriais de biossíntese de ATP e produção excessiva de EROs. (Fonte: Autora, 2022)

### 2.5.1 Ruptura da membrana celular, alteração e inibição da formação da parede celular

Compreendendo a importância que a parede celular e a membrana desempenham no crescimento e viabilidade dos fungos, qualquer alteração que ocorra na síntese de seus componentes ou na forma morfológica causa um desencadeamento de fatores que alteram a sobrevivência (NAZZARO *et al.*, 2017). O óleo de *Citrus sinensis* já foi descritos na literatura alterando a morfologia de hifas (SHARMA & TRIPATHI, 2008; YUTANI *et al.*, 2011), componentes do óleo de *Pimpinella anisum* inibindo a polimerização da quitina componente indispensável da parede celular (WU *et al.*, 2008), já o óleo de *Nigella sativa* L. causando alterações na membrana plasmática (İŞCAN *et al.*, 2016) e os óleos de *Melaleuca alternifolia* e *Litsea cubeba* alterando a permeabilidade (HAMMER *et al.*, 2004) levando ao extravasamento celular. Outros atuam inibindo a biossíntese de DNA,

RNA, proteínas, peptidoglicanos (em bactérias) e ergosterol (em fungos) (AHMAD *et al.*, 2011; FREIRES *et al.*, 2014; RAJPUT & KARUPPAYIL, 2013).

### **2.5.2 Disfunção mitocondrial**

A alteração da eficácia na biossíntese de ATP com a inibição de enzimas importantes como as desidrogenases mitocondriais (lactato, succinato e malato desidrogenase) também é um mecanismo utilizado pelos óleos (NAZZARO *et al.*, 2017). O OE de *Anethum graveolens* já foi descrito alterando o ciclo do ácido cítrico (CHEN *et al.*, 2013) em *C. albicans*, e os OE de *Origanum compactum*, *Artemisia herba alba* e *Cinnamomum camphora* descritos causando danos mitocondriais em *Saccharomyces cerevisiae* (BAKKALI *et al.*, 2006). No trabalho de (HAQUE *et al.*, 2016), os terpenóides, composto encontrado principalmente em óleos da família *Lamiaceae* (MARCHESE *et al.*, 2016), são descritos por desempenharem papel fundamental na diminuição do conteúdo mitocondrial, levando à produção de EROs.

### **2.5.3 Inibição de bombas de efluxo**

Um dos componentes da membrana plasmática são as proteínas integrais de membrana denominadas H<sup>+</sup>-ATPases. O funcionamento adequado dessas proteínas é de extrema importância para a fisiologia celular, visto que elas bombeiam prótons do citoplasma para o exterior utilizando-se da energia liberada pela hidrólise do ATP (KASAMO, 2003), tolerando o gradiente eletroquímico necessário para a absorção de nutrientes (NAZZARO *et al.*, 2017). Além disso, as H<sup>+</sup>-ATPases também regulam o pH intracelular, crescimento celular e patogenicidade (SETO-YOUNG *et al.*, 1997). Alguns componentes do óleo de tomilho, como o timol e o eugenol, se mostram inibidores da H<sup>+</sup>-ATPase, ocasionando a morte celular (AHMAD *et al.*, 2013).

### **2.5.4 Produção de ERO**

A produção de ERO é uma parte fundamental do metabolismo de vida aeróbica. A oxidação faz parte, no organismo, da produção de energia, fagocitose, regulação do crescimento celular, sinalização intercelular e na biossíntese de algumas moléculas importantes (BARREIROS *et al.*, 2006). Porém, o excesso desses radicais causa danos na peroxidação lipídica das membranas, enzimas, carboidratos e ao DNA (RAFAT HUSAIN



*et al.*, 1987). Um dos principais danos que o estresse oxidativo pode causar à célula é relacionado às proteínas ribossomais, devido à alta afinidade que o ERO tem pelo RNA (YANG *et al.*, 2020). Além disso, a indução de estresse oxidativo é conhecido por afetar a integridade da membrana, evento chamado de peroxidação lipídica. A peroxidação lipídica é a incorporação de um oxigênio molecular sobre os ácidos graxos da membrana celular, que pode levar à destruição da sua estrutura, perda das trocas metabólicas e, em casos extremos, apoptose (GASCHLER & STOCKWELL, 2017).

Alguns trabalhos como o de Haque *et al.* (2016) descrevem os terpenóides, compostos comuns encontrados em OE, como desreguladores do conteúdo mitocondrial, induzindo a produção de EROs em *Saccharomyces cerevisiae*. Também já foi descrito na literatura que o OEL induz estresse oxidativo e permeabilidade de membrana devido à formação de EROs em *Klebsiella pneumoniae* (YANG *et al.*, 2020).

## **2.6 Óleo essencial de lavanda (*Lavandula angustifolia*)**

O gênero *Lavandula*, membro da família *Lamiaceae*, contempla 39 espécies (BENABDELKADER *et al.*, 2011) e são plantas nativas do Mediterrâneo, mas cultivadas em todo o mundo (APROTOSOAIE *et al.*, 2017). A espécie *Lavandula angustifolia*, conhecida como lavanda ou lavanda verdadeira, é uma das espécies mais cultivadas para a produção de OEL (ZUZARTE *et al.*, 2012). O OEL é muito conhecido na aromaterapia por suas propriedades relaxantes (CANNARD, 1995). Também era utilizado como antisséptico no tratamento de queimaduras, picadas de insetos e uso veterinário, para controle de piolhos e outros parasitas (GRIEVE, 2013).

Nos últimos anos, com o desenvolvimento de estudos voltados para descrever a atividade antimicrobiana, o OEL tem se mostrado como alternativa para o tratamento de determinados fungos e bactérias (D'AURIA *et al.*, 2005). Além de se mostrar eficiente no tratamento contra os fungos fitopatógenos *Botrytis cinerea* e *Fusarium* spp. (DAFERERA; *et al.*, 2003), contra a levedura *C. albicans* (BEHMANESH *et al.*, 2015; D'AURIA *et al.*, 2005; MIJATOVIC *et al.*, 2022) e contra o fungo filamentosos *Monilinia fructicola* (XIONG *et al.*, 2021). Alguns estudos sugerem a utilização de óleos no tratamento de infecções de cepas resistentes a antibióticos, como por exemplo, foi relatada a atividade *in vitro* contra *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA) e *Enterococcus faecalis*

resistente à vancomicina (VRE) com concentração menor que 1% (VASIREDDY *et al.*, 2018). OEs de outras espécies de lavanda, como *L. viridis* L'Her e *L. multifida* já foram descritos por serem ativos contra o *C. neoformans* (VAIRINHOS & MIGUEL, 2020; ZUZARTE *et al.*, 2011).

Compreendo que os OE são uma mistura complexa de compostos químicos que variam de concentração e composição de acordo com sua origem (BAKKALI *et al.*, 2008) e que podem causar desequilíbrio na pressão osmótica intracelular, desencadear bloqueio de reações enzimáticas e vazamento de conteúdo citoplasmático (TIAN *et al.*, 2011) devido a atuação sobre a membrana celular (SHAHINA *et al.*, 2018), avaliar esses componentes separadamente podem auxiliar na elucidação dos mecanismos desenvolvidos pelos OEs. Os componentes principais do OEL, especificamente, já foram descritos por alguns autores; porém, sem evidências da molécula que apresenta atividade antifúngica contra o *Cryptococcus*. Nesse sentido, se faz necessário estudos futuros, utilizando-se desse trabalho como base, para que seja identificado um possível novo fármaco.

Porém, apesar da composição química do óleo (tabela 2) não ser abordada neste trabalho, os componentes majoritários do OE de *L. angustifolia*, segundo o fabricante (AROMA, 2017), são os terpenos acetato de linalila (LA) e o linalool (Lol). Outros constituintes como o eucaliptol, terpinen-4-ol e  $\alpha$ -terpineol já demonstraram atividade antimicrobiana como foi o caso do eucaliptol contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas (KRÓL *et al.*, 2013).

Tabela 2: **Composição química do óleo essencial de *Lavandula angustifolia*.** Adaptado de AROMA (2017).

Constituinte	%
Acetato de linalila	38,6
Linalool	36
Outros	4,6
Cânfora	4,5
$\beta$ -cariofileno	4,4
Eucaliptol	3

Limoneno	2,8
Mirceno	1,7
$\alpha$ -terpineol	0,9
Terpinen-4-ol	0,7
Propionato linalila	0,5
Z- $\beta$ -ocimeno	0,5
E- $\beta$ -ocimeno	0,4
Acetato lavandulila	0,4
$\alpha$ -felandreno	0,4
$\beta$ -pineno	0,3

Tanto LA como Lol são monoterpenos aromáticos (ILC *et al.*, 2016) encontrados amplamente nas espécies da família *Lamiaceae* (PEREIRA *et al.*, 2018). Com relação à toxicidade, o LA isolado possui uma maior citotoxicidade quando comparado com a apresentada pelo OEL e o Lol se forma isolada (PRASHAR *et al.*, 2004). Como o Lol não apresenta toxicidade e possui atividade antibiofilme, é frequentemente utilizado na indústria alimentícia (APROTOSOAIIE *et al.*, 2014). No trabalho de HERMAN *et al.*, 2016 foi observado que óleos enriquecidos com Lol, incluindo o OEL, apresentaram maior atividade antimicrobiana contra *S. aureus*, *E. coli* e *C. albicans* quando comparados com os óleos puros. Além disso, segundo os resultados apresentados por HSU *et al.*, 2013 contra *C. albicans*, o Lol também possui uma relevância quando se aborda novas formas terapêuticas. Também já foi sugerido que o Lol seja o responsável pela atividade fungicida e o LA exerce uma função mais ativa sobre a inibição da formação do tubo germinativo e alongamento das hifas em *C. albicans* (D'AURIA *et al.*, 2005).

Apesar de existirem alguns trabalhos que caracterizam a atividade antifúngica do OEL contra *Cryptococcus* (POWERS *et al.*, 2018, 2019; VIOLLON & CHAUMONT, 1994), a abordagem trazida pelos autores é, superficial, se levado em consideração a importância biomédica deste fungo e quais as consequências da sua disseminação. O mecanismo de ação já foi sugerido por para o OE de *L. luisieri* (ZUZARTE *et al.*, 2012).

Porém, até o momento, o mecanismo de ação do OE de *L. angustifolia* contra *Cryptococcus* ainda não foi abordado. Importante ressaltar que, apesar de pertencentes ao mesmo gênero, os mecanismos desenvolvidos pelos OEs podem ser distintos. Por esta razão, o presente estudo realizou uma abordagem mais aprofundada, para que seja possível compreender e elucidar o mecanismo de ação a nível molecular do OEL sobre o *Cryptococcus*.

## 2.7 O estudo proteômico

Estratégias que tornam possível a elucidação do mecanismo de ação de moléculas antifúngicas são essenciais na busca por novos medicamentos e é nesse contexto que vem crescendo estudos utilizando abordagem proteômica. A proteômica consiste em uma análise do conjunto de todas as proteínas expressas em um determinado tecido ou célula em um determinado momento (BLUDAU & AEBERSOLD, 2020). E, sendo o proteoma um sistema dinâmico, é possível uma melhor compreensão da expressão gênica, pois é possível analisar o produto final do genoma. A proteômica é uma abordagem muito versátil pois engloba e sustenta o estudo de diversos aspectos da proteína como sequência, estado de modificação, estrutura, contexto molecular (AEBERSOLD & MANN, 2016).

No presente trabalho, o estudo proteômico nos permitiu analisar como a célula de *C. neoformans* reage à exposição ao OEL, sendo possível buscar por alvos ou moléculas anti-virulência, que possam destruir ou sensibilizar o fungo para que os tratamentos atuais tenham maior eficácia. Apesar de ser uma metodologia mais recente, a proteômica já vem sendo aplicada em estudos para a elucidação do mecanismo de ação de agentes antimicrobianos, e para a identificação de alvos moleculares para tratamento. O trabalho de (YANG *et al.*, 2020) é um exemplo de estudo proteômico comparativo entre células tratadas e sem tratamento para a identificação do mecanismo de ação do OEL em *K. pneumoniae*. Um outro exemplo é o trabalho de (BARBOSA *et al.*, 2020) que se utilizou da abordagem proteômica para compreender o mecanismo de resistência antibacteriano de *Salmonella enteritidis* exposta ao OE de *Oribanum vulgare*.

Nesse sentido, a proteômica é um instrumento valioso que auxilia na compreensão da forma com que os agentes antifúngicos alteram o perfil metabólico de células de *Cryptococcus*.

### **3. OBJETIVOS**

Compreendendo a importância que o estudo de novos compostos com ação antifúngica contra *Cryptococcus* em um cenário nacional e global, e a inexistência de trabalhos com a abordagem molecular visando a ação do OEL contra o *C. neoformans*, este trabalho tem por objetivos:

#### **3.1 Objetivo geral**

Avaliar o perfil proteômico de *C. neoformans* exposto ao óleo essencial de *Lavandula angustifolia*.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Expor as células de *C. neoformans* em meio de cultura contendo óleo essencial de *Lavandula angustifolia*;
- Extrair as proteínas de *C. neoformans*;
- Identificar as proteínas diferencialmente expressas;
- Caracterizar molecularmente as proteínas diferencialmente expressas e exclusivas utilizando ferramentas de bioinformática;
- Validar experimentalmente o proteoma diferencial;
- Elucidar o mecanismo de ação do óleo essencial de lavanda.

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Microrganismos e condições de cultivo

*C. neoformans* variedade *grubii* H99 (sorotipo A), foi gentilmente fornecido pela Dr. Marilene Vainstein (Centro de Biotecnologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.). As leveduras foram mantidas e cultivadas em meio Sabouraud (glicose 2%, peptona 1%) em agitador orbital por 16h a 30°C e 150 rpm. Após esse tempo, as células foram recuperadas por centrifugação (5 min a 10.000 rpm), lavadas três vezes com tampão fosfato salina (PBS) estéril e contadas em um hemocítômetro.

Foram utilizadas duas condições de tratamento: células ( $1 \times 10^6$  células/mL) cultivadas em meio Sabouraud com  $\frac{1}{2}$  MIC de OEL (*L. angustifolia*) (Via Aroma, RS) (tratado) e células cultivadas em meio Sabouraud na ausência do óleo (controle). Os frascos foram inoculados com e mantidos por 24h a 37°C e 150 rpm. Em seguida, as células foram recuperadas por centrifugação (5.000 rpm por 10 min), lavadas duas vezes com PBS, congeladas a -80°C e posteriormente liofilizadas. Os experimentos foram realizados em triplicata.

### 4.2 Avaliação da concentração inibitória mínima (CIM) do óleo essencial de lavanda (OEL)

Para identificar a CIM do OEL, a metodologia descrita pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute*, norma M27-A2 foi utilizada. Brevemente, as células ( $2 \times 10^3$ ) foram inoculadas em placas de 96 poços contendo meio RMPI-1640 em diferentes concentrações do OEL, variando de 25 a 0,09  $\mu\text{L/mL}$ . Após, a placa foi incubada por 48h a 37°C para posterior análise. A CIM foi definida como a menor concentração que inibe visualmente o crescimento celular, comparado ao controle (sem óleo). O experimento foi realizado em quadruplicata em dois dias diferentes.

### 4.3 Extração de proteínas

As células liofilizadas foram rompidas com um almofariz e pilão em nitrogênio líquido até um pó fino, que foi ressuscitado em tampão 50 mM tris-HCl pH 7,5 com inibidores de protease (1 mM PMSF, 50  $\mu\text{M}$  TPCK, 5 mM de iodoacetamida). O material

foi passado em vórtex por 1 min e refrigerado 1 min, sendo este processo repetido cinco vezes. Após, os eppendorfs foram centrifugados (13.000 rpm por 20 min) e o foram coletados. Os restos celulares foram suspensos no mesmo tampão o procedimento foi repetido mais uma vez. Por fim os sobrenadantes coletados foram reunidos e armazenados a -80°C. A concentração de proteínas foi determinada usando o método do ácido bicinconínico BCA (Thermo Scientific, IL).

#### **4.4 Preparação de amostras para Espectrometria de massas**

As proteínas (100 µg) de cada tratamento foram suspensas em tampão de digestão (8 M de uréia, 100 mM de Tris-HCl pH 8,5), reduzidas com 5mM de tris-2-carboxietil-fosfina (TCEP) à temperatura ambiente, durante 20 min e alquiladas com 10mM de iodoacetamida por 15 min no escuro Após a adição de 1 mM de CaCl<sub>2</sub>, as proteínas foram digeridas com 2 µg de tripsina (Promega, WI) e incubadas a 37°C durante 16h. A proteólise foi interrompida pela adição de ácido fórmico a uma concentração final de 5%. As amostras foram centrifugadas (14.000 rpm por 20 min), e o sobrenadante foi coletado e armazenado a -80°C.

#### **4.5 Espectrometria de massas (MudPIT)**

A técnica de MudPIT (*multidimensional protein identification technology*) foi utilizada para a espectrometria de massas, em colaboração com o laboratório do prof John Yates no *Scripps Research* (La Jolla - USA). Brevemente, os peptídeos digeridos foram carregados em coluna microcapilar bidimensional empacotada com 2.5 cm de resina de troca iônica forte 5 µm Luna (Whatman, USA), seguida por 2 cm de resina de fase reversa 3 µm Aqua C18 (Phenomenex, USA). Após lavagem com tampão (95% água, 5% acetonitrila, 0.1% ácido fórmico), a coluna foi acoplada *in line* com outra coluna capilar contendo 11 cm de resina 3 µm Aqua C18 (Phenomenex, USA).

A coluna foi posta em sistema HPLC quaternário (Agilent 1100) e os peptídeos foram separados utilizando 12 passos com diferentes concentrações do tampão C, variando de 10 a 100%, conforme descrito previamente (SANTI *et al.*, 2014). As soluções tampão utilizadas foram 5% de acetonitrila, 0,1% de ácido fórmico (Tampão A), 80% de acetonitrila, 0,1% de ácido fórmico (Tampão B) e 500 mM de acetato de amônio, 5% de

acetonitrila e 0,1% de ácido fórmico (Tampão C). Foram realizadas 2 réplicas técnicas para cada biológica, totalizando seis réplicas técnicas para cada uma das condições de cultivo de *C. neoformans*.

Os peptídeos eluídos foram eletropulverizados diretamente em um espectrômetro de massas do tipo LTQ-XL (Thermo Fisher, EUA) com a aplicação de uma voltagem de pulverização distal de 2,4 kV. Um ciclo de um espectro de massa de varredura completa (300-2000 m/z) seguido por cinco espectros MS/MS dependentes de dados em uma energia de colisão normalizada de 35% foi repetido continuamente em cada etapa da separação multidimensional. Para evitar análises repetitivas, a exclusão dinâmica foi habilitada com uma contagem de repetição de 1, uma duração de repetição de 30s e um tamanho de lista de exclusão de 200. A aplicação de funções de varredura de espectrômetro de massa e gradientes de solvente HPLC foram controlados pelo sistema de dados Xcalibur (Thermo, EUA).

#### **4.6 Análise de espectros de massa em tandem**

As análises de identificação e quantificação de proteínas foram feitas com o *Integrated Proteomics Pipeline* ([www.integratedproteomics.com/](http://www.integratedproteomics.com/)). Brevemente, os espectros de massa em tandem ms<sup>2</sup> foram extraídos usando RawExtract 1.9.9 e a identificação foi feita usando o algoritmo ProLuCID contra o proteoma de *C. neoformans* H99, disponível no banco de dados do UniprotKB (*download* em 20 maio de 2020). A tolerância de massa do peptídeo foi definida para 3 Da, e carboximetilação (+57,02146 Da) de cisteína foi considerada uma modificação estática. Os resultados do ProLuCID foram montados e filtrados usando o programa DTASelect usando dois parâmetros definidos pelo SEQUEST: a pontuação de correlação cruzada (XCorr) e a diferença normalizada nas pontuações de correlação cruzada (DeltaCN), para alcançar uma taxa de falso-positivo de 1%.

#### **4.7 Análises de bioinformática**

Foi utilizado o software PatternLab (CARVALHO *et al.*, 2016) para identificar proteínas exclusivas e diferencialmente expressas encontradas tanto no controle quanto no tratado (células expostas ao OEL). O módulo *T-Fold* foi usado para selecionar proteínas



diferencialmente expressas, utilizando os seguintes parâmetros: proteínas que não foram detectadas em pelo menos quatro das seis corridas por condição não foram consideradas; valor q de 0,05, F-stringency de 0,2 e L-stringency de 0,4 foram utilizados. Além disso, uma mudança de *fold-change* absoluta maior ou igual a dois foi usada para selecionar proteínas expressas de maneira diferente. O módulo de diagrama de Venn de área aproximadamente proporcional (AAPV) do PatternLab foi usado para identificar proteínas exclusivamente identificadas para uma condição usando uma probabilidade de 0,01.

A ferramenta Blast2GO (<http://www.blast2go.org>) foi utilizada para categorizar as proteínas detectadas pela anotação do Gene Ontology (GO) de acordo com o processo biológico e a função molecular. Além disso, o módulo de mapa KEGG permitiu a exibição de funções enzimáticas no contexto das vias metabólicas nas quais essas proteínas participam. As vias foram classificadas de acordo com a categorização molecular por evento hierárquico, como ciclo celular, doença e metabolismo de proteínas, utilizando  $p < 0,05$ .

Para investigar as características de proteínas hipotéticas identificadas, foram utilizadas outras ferramentas de bioinformática. Os softwares BlastP (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PAGE=Proteins>), Uniprot (<https://www.uniprot.org/>), Interpro (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>), Panther (<http://pantherdb.org/>) foram utilizados para predição da função proteica, classe enzimática e ontologia gênica. E o software HMMER (<https://fungi.ensembl.org/hmmer/index.html>) foi utilizado para pesquisar proteínas homólogas.

#### **4.8 Validação da análise proteômica**

Para avaliar alterações na membrana celular, o ensaio de extravasamento celular foi realizado como descrito previamente (VASIREDDY *et al.*, 2018). As células foram cultivadas em meio Sabouraud por 20h a 35°C e 150 rpm, separadas por centrifugação (5 min, 10.000 rpm), lavadas com PBS estéril e contadas na câmara de Neubauer. Após cultivo em meio Sabouraud como descrito acima, as células foram separadas em quatro grupos: a) controle, apenas células; b) células tratadas com  $\frac{1}{2}$  MIC do óleo; c) células tratadas com 5  $\mu\text{g/mL}$  fluconazol; d) controle positivo: células fervidas a 100°C por 10 min. Os frascos foram incubados a 35°C em 150 rpm e 1mL de amostra foi coletado nos

tempos 0, 30min, 1h, 2h e 4h. O sobrenadante foi separado por centrifugação (5 min a 5.000 rpm) e procedida a leitura em espectrofotômetro a 260 nm.

#### **4.9 Análise estatística**

O ensaio descrito acima foi realizado em triplicata e os dados gerados a partir dos experimentos foram analisados estatisticamente por meio do teste ANOVA seguido de pós-teste Dunnett utilizando o software GraphPad Prism 8.

## 8. REFERÊNCIAS

AEBERSOLD, Ruedi; MANN, Matthias. Mass-spectrometric exploration of proteome structure and function. **Nature**, [s. l.], v. 537, n. 7620, p. 347–355, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nature19949>.

AHMAD, Aijaz *et al.* Antifungal activity of Coriaria nepalensis essential oil by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against Candida. **Yeast**, [s. l.], v. 28, n. 8, p. 611–617, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/yea.1890>.

AHMAD, Aijaz; KHAN, Amber; MANZOOR, Nikhat. Reversal of efflux mediated antifungal resistance underlies synergistic activity of two monoterpenes with fluconazole. **European journal of pharmaceutical sciences: official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 48, n. 1-2, p. 80–86, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejps.2012.09.016>.

AL-BADANI, Rowaida N. *et al.* Chemical Composition and Biological Activity of Lavandula pubescens Essential Oil from Yemen. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, [s. l.], v. 20, n. 2, p. 509–515, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2017.1322538>.

ALDEA, Martí; JENKINS, Kirsten; CSIKÁSZ-NAGY, Attila. Growth Rate as a Direct Regulator of the Start Network to Set Cell Size. **Frontiers in cell and developmental biology**, [s. l.], v. 5, p. 57, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fcell.2017.00057>.

ALI-SHTAYEH, Mohammed S. *et al.* **Downy Lavender Oil: A Promising Source of Antimicrobial, Antiobesity, and Anti-Alzheimer's Disease Agents**. [S. l.: s. n.], 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2020/5679408>.

ALMEIDA, Fausto; WOLF, Julie M.; CASADEVALL, Arturo. Virulence-Associated Enzymes of Cryptococcus neoformans. **Eukaryotic cell**, [s. l.], v. 14, n. 12, p. 1173–1185, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/EC.00103-15>.

ALSPAUGH, J. Andrew. Virulence mechanisms and Cryptococcus neoformans pathogenesis. **Fungal genetics and biology: FG & B**, [s. l.], v. 78, p. 55–58, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fgb.2014.09.004>.

APROTOSOAIE, Ana Clara *et al.* Essential oils of Lavandula genus: a systematic review of their chemistry. **Phytochemistry Reviews**, [s. l.], v. 16, n. 4, p. 761–799, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11101-017-9517-1>.

APROTOSOAIE, Ana Clara *et al.* Linalool: a review on a key odorant molecule with valuable biological properties. **Flavour and fragrance journal**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 193–219, 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ffj.3197>.

AROMA, Via. **Óleo Essencial 10ml - Lavanda**. [S. l.], 2017. Disponível em: <http://www.viaaroma.com.br/oleo-essencial-10ml-lavanda/>. Acesso em: 14 nov. 2022.

ATHERTON, Graham. Fungal meningitis still killing over 180,000 people each year despite drugs available to save lives. *Em: GAFFI*. 8 maio 2017. Disponível em: <https://gaffi.org/fungal-meningitis-still-killing-over-180000-people-each-year-despite-drugs-available-to-save-lives/>. Acesso em: 4 nov. 2022.

BAKER, R. D. The primary pulmonary lymph node complex of cryptococcosis. *American journal of clinical pathology*, [s. l.], v. 65, n. 1, p. 83–92, 1976. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/ajcp/65.1.83>.

BAKKALI, F. *et al.* Antigenotoxic effects of three essential oils in diploid yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) after treatments with UVC radiation, 8-MOP plus UVA and MMS. *Mutation research*, [s. l.], v. 606, n. 1-2, p. 27–38, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mrgentox.2006.02.005>.

BAKKALI, F. *et al.* Biological effects of essential oils--a review. **Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association**, [s. l.], v. 46, n. 2, p. 446–475, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>.

BALL, Brianna; GEDDES-MCALISTER, Jennifer. Quantitative Proteomic Profiling of *Cryptococcus neoformans*. **Current protocols in microbiology**, [s. l.], v. 55, n. 1, p. e94, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/cpmc.94>.

BARBOSA, Fabiane M. *et al.* Glucuronoxylomannan-mediated interaction of *Cryptococcus neoformans* with human alveolar cells results in fungal internalization and host cell damage. **Microbes and infection / Institut Pasteur**, [s. l.], v. 8, n. 2, p. 493–502, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micinf.2005.07.027>.

BARBOSA, Lidiane Nunes *et al.* Proteomic analysis and antibacterial resistance mechanisms of *Salmonella Enteritidis* submitted to the inhibitory effect of *Origanum vulgare* essential oil, thymol and carvacrol. **Journal of proteomics**, [s. l.], v. 214, p. 103625, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jprot.2019.103625>.

BARREIROS, André L. B. S.; DAVID, Jorge M.; DAVID, Juceni P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, [s. l.], v. 29, n. 1, p. 113–123, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/K9hDbHkb3D3KPkgpLz7fg7k/?lang=pt>. Acesso em: 6 nov. 2022.

BASTOS, Rafael Wesley *et al.* Environmental Triazole Induces Cross-Resistance to Clinical Drugs and Affects Morphophysiology and Virulence of *Cryptococcus gattii* and *C. neoformans*. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, [s. l.], v. 62, n. 1, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.01179-17>.

BASTOS, Rafael Wesley *et al.* From the environment to the host: How non-azole agrochemical exposure affects the antifungal susceptibility and virulence of *Cryptococcus gattii*. **The Science of the total environment**, [s. l.], v. 681, p. 516–523, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.05.094>.

BEHMANESH, Fereshteh *et al.* Antifungal Effect of Lavender Essential Oil (*Lavandula angustifolia*) and Clotrimazole on *Candida albicans*: An *In Vitro* Study. **Scientifica**, [s. l.], v. 2015, p. 261397, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1155/2015/261397>.

BENABDELKADER, Tarek *et al.* Essential oils from wild populations of Algerian *Lavandula stoechas* L.: composition, chemical variability, and in vitro biological properties. **Chemistry & biodiversity**, [s. l.], v. 8, n. 5, p. 937–953, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/cbdv.201000301>.

BERMAS, Arianne; GEDDES-MCALISTER, Jennifer. Combatting the evolution of antifungal resistance in *Cryptococcus neoformans*. **Molecular microbiology**, [s. l.], v. 114, n. 5, p. 721–734, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/mmi.14565>.

BLUDAU, Isabell; AEBERSOLD, Ruedi. Proteomic and interactomic insights into the molecular basis of cell functional diversity. **Nature reviews. Molecular cell biology**, [s. l.], v. 21, n. 6, p. 327–340, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41580-020-0231-2>.

BLUNDELL, Ross D. *et al.* Disruption of de Novo Adenosine Triphosphate (ATP) Biosynthesis Abolishes Virulence in *Cryptococcus neoformans*. **ACS infectious diseases**, [s. l.], v. 2, n. 9, p. 651–663, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/acsinfecdis.6b00121>.

BONGOMIN, Felix *et al.* Global and Multi-National Prevalence of Fungal Diseases-Estimate Precision. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, [s. l.], v. 3, n. 4, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/jof3040057>.

BORBA, Helena Hiemisch Lobo *et al.* Cost-effectiveness of amphotericin B formulations in the treatment of systemic fungal infections. **Mycoses**, [s. l.], v. 61, n. 10, p. 754–763, 2018. Disponível em: [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/myc.12801?casa\\_token=RfvVZwU8M10A AAAA:iejgVHe6nUGCu\\_Sc447hVJkIxiVtVZ2mTYGD6Eah0z3bJS\\_iSB5k93W6lhuHvzvWefVHMMTMqHpRecg](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/myc.12801?casa_token=RfvVZwU8M10A AAAA:iejgVHe6nUGCu_Sc447hVJkIxiVtVZ2mTYGD6Eah0z3bJS_iSB5k93W6lhuHvzvWefVHMMTMqHpRecg).

BOSE, Indrani *et al.* A yeast under cover: the capsule of *Cryptococcus neoformans*. **Eukaryotic cell**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 655–663, 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/EC.2.4.655-663.2003>.

BOTTS, Michael R.; HULL, Christina M. Dueling in the lung: how *Cryptococcus* spores race the host for survival. **Current opinion in microbiology**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 437–442, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2010.05.003>.

BOVERS, Marjan; HAGEN, Ferry; BOEKHOUT, Teun. Diversity of the *Cryptococcus neoformans*-*Cryptococcus gattii* species complex. **Revista iberoamericana de micología**, [s. l.], v. 25, n. 1, p. S4–S12, 2008. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/s1130-1406\(08\)70019-6](http://dx.doi.org/10.1016/s1130-1406(08)70019-6).

BROWN, Gordon D. *et al.* Hidden killers: human fungal infections. **Science translational**

**medicine**, [s. l.], v. 4, n. 165, p. 165rv13, 2012. Disponível em:  
<http://dx.doi.org/10.1126/scitranslmed.3004404>.

BROWN, Gordon D.; DENNING, David W.; LEVITZ, Stuart M. Tackling human fungal infections. **Science**, [s. l.], v. 336, n. 6082, p. 647, 2012. Disponível em:  
<http://dx.doi.org/10.1126/science.1222236>.

CANNARD, Graham. On the scent of a good night's sleep. **Nursing standard: official newspaper of the Royal College of Nursing**, [s. l.], v. 9, n. 34, p. 21–21, 1995. Disponível em: <https://www.lenus.ie/bitstream/handle/10147/251925/?sequence=1>.

CARVALHO, Paulo C. *et al.* Integrated analysis of shotgun proteomic data with PatternLab for proteomics 4.0. **Nature protocols**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 102–117, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nprot.2015.133>.

CASADEVALL, A.; ROSAS, A. L.; NOSANCHUK, J. D. Melanin and virulence in *Cryptococcus neoformans*. **Current opinion in microbiology**, [s. l.], v. 3, n. 4, p. 354–358, 2000. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/s1369-5274\(00\)00103-x](http://dx.doi.org/10.1016/s1369-5274(00)00103-x).

CHANG, Yun C. *et al.* Cryptococcal yeast cells invade the central nervous system via transcellular penetration of the blood-brain barrier. **Infection and immunity**, [s. l.], v. 72, n. 9, p. 4985–4995, 2004. Disponível em:  
<http://dx.doi.org/10.1128/IAI.72.9.4985-4995.2004>.

CHANG, Y. C.; KWON-CHUNG, K. J. Complementation of a capsule-deficient mutation of *Cryptococcus neoformans* restores its virulence. **Molecular and cellular biology**, [s. l.], v. 14, n. 7, p. 4912–4919, 1994. Disponível em:  
<http://dx.doi.org/10.1128/mcb.14.7.4912-4919.1994>.

CHANG, Y. C.; KWON-CHUNG, K. J. Isolation of the third capsule-associated gene, CAP60, required for virulence in *Cryptococcus neoformans*. **Infection and immunity**, [s. l.], v. 66, n. 5, p. 2230–2236, 1998. Disponível em:  
<http://dx.doi.org/10.1128/IAI.66.5.2230-2236.1998>.

CHANG, Y. C.; PENOYER, L. A.; KWON-CHUNG, K. J. The second capsule gene of *cryptococcus neoformans*, CAP64, is essential for virulence. **Infection and immunity**, [s. l.], v. 64, n. 6, p. 1977–1983, 1996. Disponível em:  
<http://dx.doi.org/10.1128/iai.64.6.1977-1983.1996>.

CHARLIER, Caroline *et al.* Evidence of a role for monocytes in dissemination and brain invasion by *Cryptococcus neoformans*. **Infection and immunity**, [s. l.], v. 77, n. 1, p. 120–127, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.01065-08>.

CHAYAKULKEEREE, Methee; PERFECT, John R. Cryptococcosis. **Infectious disease clinics of North America**, [s. l.], v. 20, n. 3, p. 507–544, v – vi, 2006. Disponível em:  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.idc.2006.07.001>.

CHEN, Yuxin *et al.* Antifungal mechanism of essential oil from *Anethum graveolens* seeds

against *Candida albicans*. **Journal of medical microbiology**, [s. l.], v. 62, n. Pt 8, p. 1175–1183, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.055467-0>.

CHEN, Steven H. M. *et al.* Cryptococcus neoformans induces alterations in the cytoskeleton of human brain microvascular endothelial cells. **Journal of medical microbiology**, [s. l.], v. 52, n. Pt 11, p. 961–970, 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.05230-0>.

CHEN, L. C.; PIROFSKI, L. A.; CASADEVALL, A. Extracellular proteins of *Cryptococcus neoformans* and host antibody response. **Infection and immunity**, [s. l.], v. 65, n. 7, p. 2599–2605, 1997. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/iai.65.7.2599-2605.1997>.

CHEONG, Cheom-Gil *et al.* Crystal structures of human bifunctional enzyme aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide transformylase/IMP cyclohydrolase in complex with potent sulfonyl-containing antifolates. **The Journal of biological chemistry**, [s. l.], v. 279, n. 17, p. 18034–18045, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M313691200>.

CHITTY, Jessica L.; FRASER, James A. Purine Acquisition and Synthesis by Human Fungal Pathogens. **Microorganisms**, [s. l.], v. 5, n. 2, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms5020033>.

COX, G. M. *et al.* Urease as a virulence factor in experimental cryptococcosis. **Infection and immunity**, [s. l.], v. 68, n. 2, p. 443–448, 2000. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.68.2.443-448.2000>.

DAFERERA, Dimitra J.; ZIOGAS, Basil N.; POLISSIOU, Moschos G. The effectiveness of plant essential oils on the growth of *Botrytis cinerea*, *Fusarium sp.* and *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*. **Crop protection**, [s. l.], v. 22, n. 1, p. 39–44, 2003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0261219402000959>.

D'AGOSTINO, Maurine *et al.* Essential Oils and Their Natural Active Compounds Presenting Antifungal Properties. **Molecules**, [s. l.], v. 24, n. 20, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24203713>.

D'AURIA, F. D. *et al.* Antifungal activity of *Lavandula angustifolia* essential oil against *Candida albicans* yeast and mycelial form. **Medical mycology: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology**, [s. l.], v. 43, n. 5, p. 391–396, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/13693780400004810>.

DECOTE-RICARDO, Debora *et al.* Immunomodulatory Role of Capsular Polysaccharides Constituents of *Cryptococcus neoformans*. **Frontiers of medicine**, [s. l.], v. 6, p. 129, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fmed.2019.00129>.

DEL POETA, Maurizio. Role of phagocytosis in the virulence of *Cryptococcus neoformans*. **Eukaryotic cell**, [s. l.], v. 3, n. 5, p. 1067–1075, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/EC.3.5.1067-1075.2004>.

DENNING, David W. Echinocandin antifungal drugs. **The Lancet**, [s. l.], v. 362, n. 9390, p. 1142–1151, 2003. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)14472-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(03)14472-8).

DJORDJEVIC, Julianne Teresa. Role of phospholipases in fungal fitness, pathogenicity, and drug development - lessons from *Cryptococcus neoformans*. **Frontiers in microbiology**, [s. l.], v. 1, p. 125, 2010. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2010.00125>.

DOS SANTOS BENTES, Amaury *et al.* *Cryptococcus gattii* VGII isolated from native forest and river in Northern Brazil. **Brazilian journal of microbiology: [publication of the Brazilian Society for Microbiology]**, [s. l.], v. 50, n. 2, p. 495–500, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s42770-019-00066-6>.

EISENMAN, Helene C. *et al.* The effect of L-DOPA on *Cryptococcus neoformans* growth and gene expression. **Virulence**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 329–336, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4161/viru.2.4.16136>.

ELION, G. B. The purine path to chemotherapy. **Science**, [s. l.], v. 244, n. 4900, p. 41–47, 1989. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1126/science.2649979>.

ERLANDER, S. R. The solution to the seven mysteries of AIDS: the “Trojan horse”. **Medical hypotheses**, [s. l.], v. 44, n. 1, p. 1–9, 1995. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/0306-9877\(95\)90293-7](http://dx.doi.org/10.1016/0306-9877(95)90293-7).

ESHER, Shannon K.; ZARAGOZA, Oscar; ALSPAUGH, James Andrew. Cryptococcal pathogenic mechanisms: a dangerous trip from the environment to the brain. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 113, n. 7, p. e180057, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0074-02760180057>.

FANG, Jing; BEATTIE, Diana S. External alternative NADH dehydrogenase of *Saccharomyces cerevisiae*: a potential source of superoxide. **Free radical biology & medicine**, [s. l.], v. 34, n. 4, p. 478–488, 2003. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/s0891-5849\(02\)01328-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0891-5849(02)01328-x).

FELDMESSER, Marta; KRESS, Yvonne; CASADEVALL, Arturo. Dynamic changes in the morphology of *Cryptococcus neoformans* during murine pulmonary infection. **Microbiology**, [s. l.], v. 147, n. Pt 8, p. 2355–2365, 2001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1099/00221287-147-8-2355>.

FISHER, Stephen K.; NOVAK, James E.; AGRANOFF, Bernard W. Inositol and higher inositol phosphates in neural tissues: homeostasis, metabolism and functional significance. **Journal of neurochemistry**, [s. l.], v. 82, n. 4, p. 736–754, 2002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1471-4159.2002.01041.x>.

FRANZOT, S. P.; SALKIN, I. F.; CASADEVALL, A. *Cryptococcus neoformans* var. *grubii*: separate varietal status for *Cryptococcus neoformans* serotype A isolates. **Journal of clinical microbiology**, [s. l.], v. 37, n. 3, p. 838–840, 1999. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.37.3.838-840.1999>.



FREIRES, Irlan de Almeida *et al.* Coriandrum sativum L. (Coriander) essential oil: antifungal activity and mode of action on Candida spp., and molecular targets affected in human whole-genome expression. **PloS one**, [s. l.], v. 9, n. 6, p. e99086, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0099086>.

GARCIA-HERMOSO, D.; JANBON, G.; DROMER, F. Epidemiological evidence for dormant Cryptococcus neoformans infection. **Journal of clinical microbiology**, [s. l.], v. 37, n. 10, p. 3204–3209, 1999. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/JCM.37.10.3204-3209.1999>.

GASCHLER, Michael M.; STOCKWELL, Brent R. Lipid peroxidation in cell death. **Biochemical and biophysical research communications**, [s. l.], v. 482, n. 3, p. 419–425, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2016.10.086>.

GATES, Marcellene A.; THORKILDSON, Peter; KOZEL, Thomas R. Molecular architecture of the Cryptococcus neoformans capsule. **Molecular microbiology**, [s. l.], v. 52, n. 1, p. 13–24, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2958.2003.03957.x>.

GERSTEIN, Aleeza C. *et al.* Polyploid titan cells produce haploid and aneuploid progeny to promote stress adaptation. **mBio**, [s. l.], v. 6, n. 5, p. e01340–15, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/mBio.01340-15>.

GHANNOUM, M. A. Potential role of phospholipases in virulence and fungal pathogenesis. **Clinical microbiology reviews**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 122–143, table of contents, 2000. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.13.1.122>.

GIACOMAZZI, Juliana *et al.* The burden of serious human fungal infections in Brazil. **Mycoses**, [s. l.], v. 59, n. 3, p. 145–150, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/myc.12427>.

GILBERT, Nicole M.; SPECHT, Charles A.; LODGE, Jennifer K. The cell wall of Cryptococcus. *Em: CRYPTOCOCCUS*. [S. l.]: American Society of Microbiology, 2011. p. 67–79. *E-book*. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1128/9781555816858.ch6>.

GILES, Steven S. *et al.* Elucidating the pathogenesis of spores from the human fungal pathogen Cryptococcus neoformans. **Infection and immunity**, [s. l.], v. 77, n. 8, p. 3491–3500, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.00334-09>.

GIORDANI, R. *et al.* Antifungal effect of various essential oils against Candida albicans. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from Thymus vulgaris. **Phytotherapy research: PTR**, [s. l.], v. 18, n. 12, p. 990–995, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.1594>.

GRANGER, D. L.; PERFECT, J. R.; DURACK, D. T. Virulence of Cryptococcus neoformans. Regulation of capsule synthesis by carbon dioxide. **The Journal of clinical investigation**, [s. l.], v. 76, n. 2, p. 508–516, 1985. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1172/JCI112000>.

GRANT, C. M.; DAWES, I. W. Synthesis and role of glutathione in protection against oxidative stress in yeast. **Redox report: communications in free radical research**, [s. l.], v. 2, n. 4, p. 223–229, 1996. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/13510002.1996.11747054>.

GRIEVE, Margaret. **A Modern Herbal**. [S. l.]: Courier Corporation, 2013. *E-book*. Disponível em: <https://play.google.com/store/books/details?id=kCDCAgAAQBAJ>.

HAMMER, K. A.; CARSON, C. F.; RILEY, T. V. Antifungal effects of Melaleuca alternifolia (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. **The Journal of antimicrobial chemotherapy**, [s. l.], v. 53, n. 6, p. 1081–1085, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/jac/dkh243>.

HAQUE, E. *et al.* Terpenoids with antifungal activity trigger mitochondrial dysfunction in *Saccharomyces cerevisiae*. **Microbiology**, [s. l.], v. 85, n. 4, p. 436–443, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1134/S0026261716040093>.

HARE, P. D.; CRESS, W. A. Metabolic implications of stress-induced proline accumulation in plants. **Plant growth regulation**, [s. l.], v. 21, n. 2, p. 79–102, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1023/A:1005703923347>.

HEITMAN, Joseph *et al.* Sexual reproduction of human fungal pathogens. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, [s. l.], v. 4, n. 8, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a019281>.

HERMAN, Anna; TAMBOR, Krzysztof; HERMAN, Andrzej. Linalool Affects the Antimicrobial Efficacy of Essential Oils. **Current microbiology**, [s. l.], v. 72, n. 2, p. 165–172, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00284-015-0933-4>.

HILL, H. Z. The function of melanin or six blind people examine an elephant. **BioEssays: news and reviews in molecular, cellular and developmental biology**, [s. l.], v. 14, n. 1, p. 49–56, 1992. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/bies.950140111>.

HSU, Chih-Chieh *et al.* The inhibitory activity of linalool against the filamentous growth and biofilm formation in *Candida albicans*. **Medical mycology: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology**, [s. l.], v. 51, n. 5, p. 473–482, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3109/13693786.2012.743051>.

HU, Yichen *et al.* Mechanisms of antifungal and anti-aflatoxigenic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*. **Food chemistry**, [s. l.], v. 220, p. 1–8, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.09.179>.

HUANG, S. H. *et al.* *Escherichia coli* invasion of brain microvascular endothelial cells in vitro and in vivo: molecular cloning and characterization of invasion gene *ibe10*. **Infection and immunity**, [s. l.], v. 63, n. 11, p. 4470–4475, 1995. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/iai.63.11.4470-4475.1995>.

IGNATOVA, Zoya; GIERASCH, Lila M. Inhibition of protein aggregation in vitro and in

vivo by a natural osmoprotectant. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 103, n. 36, p. 13357–13361, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0603772103>.

ILC, Tina *et al.* Monoterpenol Oxidative Metabolism: Role in Plant Adaptation and Potential Applications. **Frontiers in plant science**, [s. l.], v. 7, p. 509, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2016.00509>.

İŞCAN, Gökalp; İŞCAN, Arzu; DEMIRCI, Fatih. Anticandidal Effects of Thymoquinone: Mode of Action Determined by Transmission Electron Microscopy (TEM). **Natural product communications**, [s. l.], v. 11, n. 7, p. 977–978, 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30452175>.

IYER, Kali R. *et al.* Treatment strategies for cryptococcal infection: challenges, advances and future outlook. **Nature reviews. Microbiology**, [s. l.], v. 19, n. 7, p. 454–466, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41579-021-00511-0>.

JOHNSON, Melissa D. *et al.* Combination antifungal therapy. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, [s. l.], v. 48, n. 3, p. 693–715, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.48.3.693-715.2004>.

JONG, Ambrose *et al.* Hyaluronic acid receptor CD44 deficiency is associated with decreased *Cryptococcus neoformans* brain infection. **The Journal of biological chemistry**, [s. l.], v. 287, n. 19, p. 15298–15306, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M112.353375>.

JONG, A. Y. *et al.* Traversal of *Candida albicans* across human blood-brain barrier in vitro. **Infection and immunity**, [s. l.], v. 69, n. 7, p. 4536–4544, 2001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.69.7.4536-4544.2001>.

KALEMBA, D.; KUNICKA, A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. **Current medicinal chemistry**, [s. l.], v. 10, n. 10, p. 813–829, 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2174/0929867033457719>.

KASAMO, Kunihiro. Regulation of plasma membrane H<sup>+</sup>-ATPase activity by the membrane environment. **Journal of plant research**, [s. l.], v. 116, n. 6, p. 517–523, 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10265-003-0112-8>.

KAUL, S.; SHARMA, S. S.; MEHTA, I. K. Free radical scavenging potential of L-proline: evidence from in vitro assays. **Amino acids**, [s. l.], v. 34, n. 2, p. 315–320, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00726-006-0407-x>.

KHAN, Mohd Sajjad Ahmad; AHMAD, Iqbal. Antifungal activity of essential oils and their synergy with fluconazole against drug-resistant strains of *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton rubrum*. **Applied microbiology and biotechnology**, [s. l.], v. 90, n. 3, p. 1083–1094, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00253-011-3152-3>.

KIM, Kwang Sik. Mechanisms of microbial traversal of the blood-brain barrier. **Nature**

reviews. **Microbiology**, [s. l.], v. 6, n. 8, p. 625–634, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro1952>.

KRAUS, Peter R. *et al.* The *Cryptococcus neoformans* MAP kinase Mpk1 regulates cell integrity in response to antifungal drugs and loss of calcineurin function. **Molecular microbiology**, [s. l.], v. 48, n. 5, p. 1377–1387, 2003. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1365-2958.2003.03508.x>.

KRÓL, Sylwia Katarzyna *et al.* The biological and pharmacological activity of essential oils in the treatment and prevention of infectious diseases. **Postepy higieny i medycyny doswiadczalnej**, [s. l.], v. 67, p. 1000–1007, 2013. Disponível em: <https://europepmc.org/article/med/24088544>.

KRONSTAD, James; JUNG, Won Hee; HU, Guanggan. Beyond the big three: systematic analysis of virulence factors in *Cryptococcus neoformans*. **Cell host & microbe**, [s. l.], v. 4, n. 4, p. 308–310, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2008.09.003>.

KUSHNAREVA, Yulia; MURPHY, Anne N.; ANDREYEV, Alexander. Complex I-mediated reactive oxygen species generation: modulation by cytochrome c and NAD(P)<sup>+</sup> oxidation-reduction state. **Biochemical Journal**, [s. l.], v. 368, n. Pt 2, p. 545–553, 2002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1042/BJ20021121>.

KWON-CHUNG, Kyung J. *et al.* (1557) Proposal to conserve the name *Cryptococcus gattii* against *C. hondurianus* and *C. bacillisporus* (Basidiomycota, Hymenomycetes, Tremellomycetidae). **Taxon**, [s. l.], v. 51, n. 4, p. 804–806, 2002. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.2307/1555045>.

KWON-CHUNG, Kyung J. *et al.* *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*, the etiologic agents of cryptococcosis. **Cold Spring Harbor perspectives in medicine**, [s. l.], v. 4, n. 7, p. a019760, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1101/cshperspect.a019760>.

KWON-CHUNG, K. J.; BENNETT, J. E. Medical mycology. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, [s. l.], v. 34, n. 6, p. 504–504, 1992. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/c9qbdRw9mB8xLsxC5jB7x5D/?lang=pt>. Acesso em: 5 nov. 2022.

LANE, J. H. *et al.* Neuroinvasion by simian immunodeficiency virus coincides with increased numbers of perivascular macrophages/microglia and intrathecal immune activation. **Journal of neurovirology**, [s. l.], v. 2, n. 6, p. 423–432, 1996. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3109/13550289609146909>.

LEE, Yunjin *et al.* Antifungal Drug Resistance: Molecular Mechanisms in *Candida albicans* and Beyond. **Chemical reviews**, [s. l.], v. 121, n. 6, p. 3390–3411, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00199>.

LEE, I. Russel *et al.* Reactive oxygen species homeostasis and virulence of the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans* requires an intact proline catabolism pathway.

**Genetics**, [s. l.], v. 194, n. 2, p. 421–433, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1534/genetics.113.150326>.

LE NOURS, Jérôme *et al.* Structural analyses of a purine biosynthetic enzyme from *Mycobacterium tuberculosis* reveal a novel bound nucleotide. **The Journal of biological chemistry**, [s. l.], v. 286, n. 47, p. 40706–40716, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M111.291138>.

LIANG, Qingjian *et al.* The role of delta-1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase (P5CDh) in the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) during biotic and abiotic stress. **Aquatic toxicology**, [s. l.], v. 208, p. 1–11, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2018.12.016>.

LIN, Xiaorong; HEITMAN, Joseph. The biology of the *Cryptococcus neoformans* species complex. **Annual review of microbiology**, [s. l.], v. 60, p. 69–105, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.micro.60.080805.142102>.

LIOCHEV, S. I.; FRIDOVICH, I. Superoxide and iron: partners in crime. **IUBMB life**, [s. l.], v. 48, n. 2, p. 157–161, 1999. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/713803492>.

LIONAKIS, Michail S.; LEVITZ, Stuart M. Host Control of Fungal Infections: Lessons from Basic Studies and Human Cohorts. **Annual review of immunology**, [s. l.], v. 36, p. 157–191, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev-immunol-042617-053318>.

LITTMAN, M. L.; SCHNEIERSON, S. S. *Cryptococcus neoformans* in pigeon excreta in New York City. **American journal of hygiene**, [s. l.], v. 69, n. 1, p. 49–59, 1959. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a119980>.

LIU, Tong-Bao *et al.* Brain inositol is a novel stimulator for promoting *Cryptococcus* penetration of the blood-brain barrier. **PLoS pathogens**, [s. l.], v. 9, n. 4, p. e1003247, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1003247>.

LONSDALE-ECCLES, John D.; GRAB, Dennis J. Trypanosome hydrolases and the blood-brain barrier. **Trends in parasitology**, [s. l.], v. 18, n. 1, p. 17–19, 2002. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/s1471-4922\(01\)02120-1](http://dx.doi.org/10.1016/s1471-4922(01)02120-1).

LOYSE, Angela *et al.* Leave no one behind: response to new evidence and guidelines for the management of cryptococcal meningitis in low-income and middle-income countries. **The Lancet infectious diseases**, [s. l.], v. 19, n. 4, p. e143–e147, 2019. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(18\)30493-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(18)30493-6).

LUCAS JÚNIOR, Joaquim *et al.* Distribuição de tipos moleculares de *Cryptococcus gattii* no Brasil: uma revisão bibliográfica. [s. l.], 2017. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/41536>.

MANSOUR, Michael K.; LEVITZ, Stuart M. Interactions of fungi with phagocytes. **Current opinion in microbiology**, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 359–365, 2002. Disponível em:

[http://dx.doi.org/10.1016/s1369-5274\(02\)00342-9](http://dx.doi.org/10.1016/s1369-5274(02)00342-9).

MARAS, Bruno *et al.* Glutathione metabolism in *Candida albicans* resistant strains to fluconazole and micafungin. **PLoS one**, [s. l.], v. 9, n. 6, p. e98387, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0098387>.

MARCHESE, Anna *et al.* Antibacterial and antifungal activities of thymol: A brief review of the literature. **Food chemistry**, [s. l.], v. 210, p. 402–414, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.111>.

MATSUURA, Keisuke; TAKAGI, Hiroshi. Vacuolar functions are involved in stress-protective effect of intracellular proline in *Saccharomyces cerevisiae*. **Journal of bioscience and bioengineering**, [s. l.], v. 100, n. 5, p. 538–544, 2005. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1263/jbb.100.538>.

MAY, Robin C. *et al.* *Cryptococcus*: from environmental saprophyte to global pathogen. **Nature reviews. Microbiology**, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 106–117, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro.2015.6>.

MEISTER, A.; ANDERSON, M. E. Glutathione. **Annual review of biochemistry**, [s. l.], v. 52, p. 711–760, 1983. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.bi.52.070183.003431>.

MIJATOVIC, Stefan *et al.* Antifungal Activity of *Lavandula angustifolia* Essential Oil against *Candida albicans*: Time-Kill Study on Pediatric Sputum Isolates. **Molecules**, [s. l.], v. 27, n. 19, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules27196300>.

MITCHELL, Thomas G. *et al.* Environmental Niches for *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii*. *Em: CRYPTOCOCCUS*. Washington, DC, USA: ASM Press, 2014. p. 235–259. *E-book*. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1128/9781555816858.ch18>.

MITCHELL, T. G.; PERFECT, J. R. *Cryptococcosis* in the era of AIDS--100 years after the discovery of *Cryptococcus neoformans*. **Clinical microbiology reviews**, [s. l.], v. 8, n. 4, p. 515–548, 1995. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.8.4.515>.

MONTOYA, Marhiah C.; MAGWENE, Paul M.; PERFECT, John R. Associations between *Cryptococcus* Genotypes, Phenotypes, and Clinical Parameters of Human Disease: A Review. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, [s. l.], v. 7, n. 4, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/jof7040260>.

MORROW, Carl A. *et al.* De novo GTP biosynthesis is critical for virulence of the fungal pathogen *Cryptococcus neoformans*. **PLoS pathogens**, [s. l.], v. 8, n. 10, p. e1002957, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1002957>.

MOURAD, Ahmad; PERFECT, John R. Present and Future Therapy of *Cryptococcus* Infections. **Journal of fungi (Basel, Switzerland)**, [s. l.], v. 4, n. 3, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/jof4030079>.

NAZZARO, Filomena *et al.* Essential Oils and Antifungal Activity. **Pharmaceuticals**, [s.

l.], v. 10, n. 4, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/ph10040086>.

NETTO, Luis Eduardo Soares *et al.* Reactive cysteine in proteins: protein folding, antioxidant defense, redox signaling and more. **Comparative biochemistry and physiology. Toxicology & pharmacology: CBP**, [s. l.], v. 146, n. 1-2, p. 180–193, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cbpc.2006.07.014>.

NI, Min *et al.* Unisexual and heterosexual meiotic reproduction generate aneuploidy and phenotypic diversity de novo in the yeast *Cryptococcus neoformans*. **PLoS biology**, [s. l.], v. 11, n. 9, p. e1001653, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.1001653>.

NOSANCHUK, J. D. *et al.* Evidence that *Cryptococcus neoformans* is melanized in pigeon excreta: implications for pathogenesis. **Infection and immunity**, [s. l.], v. 67, n. 10, p. 5477–5479, 1999. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.67.10.5477-5479.1999>.

NOSANCHUK, Joshua D.; CASADEVALL, Arturo. Impact of melanin on microbial virulence and clinical resistance to antimicrobial compounds. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, [s. l.], v. 50, n. 11, p. 3519–3528, 2006. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/AAC.00545-06>.

NOTIFICAÇÃO COMPULSÓRIA. [S. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/svs/notificacao-compulsoria>. Acesso em: 4 nov. 2022.

ODOM, A. *et al.* Calcineurin is required for virulence of *Cryptococcus neoformans*. **The EMBO journal**, [s. l.], v. 16, n. 10, p. 2576–2589, 1997. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/emboj/16.10.2576>.

OLSZEWSKI, Michal A. *et al.* Urease expression by *Cryptococcus neoformans* promotes microvascular sequestration, thereby enhancing central nervous system invasion. **The American journal of pathology**, [s. l.], v. 164, n. 5, p. 1761–1771, 2004. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9440\(10\)63734-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0002-9440(10)63734-0).

O'MEARA, Teresa R.; ALSPAUGH, J. Andrew. The *Cryptococcus neoformans* capsule: a sword and a shield. **Clinical microbiology reviews**, [s. l.], v. 25, n. 3, p. 387–408, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/CMR.00001-12>.

PARK, Benjamin J. *et al.* Estimation of the current global burden of cryptococcal meningitis among persons living with HIV/AIDS. **AIDS**, [s. l.], v. 23, n. 4, p. 525–530, 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/QAD.0b013e328322ffac>.

PEREIRA, Irina *et al.* Linalool bioactive properties and potential applicability in drug delivery systems. **Colloids and surfaces. B, Biointerfaces**, [s. l.], v. 171, p. 566–578, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.08.001>.

PERFECT, John R. *Cryptococcus neoformans*: the yeast that likes it hot. **FEMS yeast research**, [s. l.], v. 6, n. 4, p. 463–468, 2006. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1111/j.1567-1364.2006.00051.x>.

POWERS, Chelsea N. *et al.* Antifungal and Cytotoxic Activities of Sixty Commercially-Available Essential Oils. **Molecules**, [s. l.], v. 23, n. 7, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules23071549>.

POWERS, Chelsea N. *et al.* Bigger Data Approach to Analysis of Essential Oils and Their Antifungal Activity against *Aspergillus niger*, *Candida albicans*, and *Cryptococcus neoformans*. **Molecules**, [s. l.], v. 24, n. 16, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24162868>.

PRASHAR, A.; LOCKE, I. C.; EVANS, C. S. Cytotoxicity of lavender oil and its major components to human skin cells. **Cell proliferation**, [s. l.], v. 37, n. 3, p. 221–229, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2184.2004.00307.x>.

RAFAT HUSAIN, S.; CILLARD, Josiane; CILLARD, Pierre. Hydroxyl radical scavenging activity of flavonoids. **Phytochemistry**, [s. l.], v. 26, n. 9, p. 2489–2491, 1987. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0031942200838601>.

RAJASINGHAM, Radha *et al.* Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. **The Lancet infectious diseases**, [s. l.], v. 17, n. 8, p. 873–881, 2017. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30243-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30243-8).

RAJPUT, Sandeep B.; KARUPPAYIL, S. Mohan. Small molecules inhibit growth, viability and ergosterol biosynthesis in *Candida albicans*. **SpringerPlus**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 26, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/2193-1801-2-26>.

REIS-FILHO, João Baptista dos *et al.* O líquido cefalorraquiano inicial nas meningencefalites por *Cryptococcus neoformans*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo**, [s. l.], v. 27, n. 4, p. 173–178, 1985. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rimts/a/5B99QyYhRxnQGMps76Gkmnb/abstract/?lang=pt>. Acesso em: 2 nov. 2022.

ROBBINS, Nicole; WRIGHT, Gerard D.; COWEN, Leah E. Antifungal Drugs: The Current Armamentarium and Development of New Agents. **Microbiology spectrum**, [s. l.], v. 4, n. 5, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0002-2016>.

RODRIGUES, Marcio L.; CASADEVALL, Arturo; ZARAGOZA, Oscar. The architecture and antigenic composition of the polysaccharide capsule. *Em: CRYPTOCOCCUS*. Washington, DC, USA: ASM Press, 2014. p. 43–54. *E-book*. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1128/9781555816858.ch4>.

RODRIGUES, Marcio Lourenço; OTHERS. Saúde Amanhã: Textos para Discussão 36: Negligenciadas entre a Negligenciadas: perspectiva de prevenção, controle e diagnóstico de doenças causadas por fungos. [s. l.], 2019. Disponível em: <http://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/52059>.



RODRÍGUEZ, Esteban M.; BLÁZQUEZ, Juan L.; GUERRA, Montserrat. **The design of barriers in the hypothalamus allows the median eminence and the arcuate nucleus to enjoy private milieus: The former opens to the portal blood and the latter to the cerebrospinal fluid.** [*s. l.*: *s. n.*], 2010. Disponible em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.peptides.2010.01.003>.

ROSAS, A. L.; CASADEVALL, A. Melanization affects susceptibility of *Cryptococcus neoformans* to heat and cold. **FEMS microbiology letters**, [*s. l.*], v. 153, n. 2, p. 265–272, 1997. Disponible em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.1997.tb12584.x>.

ROSAS, A. L.; CASADEVALL, A. Melanization decreases the susceptibility of *Cryptococcus neoformans* to enzymatic degradation. **Mycopathologia**, [*s. l.*], v. 151, n. 2, p. 53–56, 2001. Disponible em: <http://dx.doi.org/10.1023/a:1010977107089>.

ROSAS, A. L.; NOSANCHUK, J. D.; CASADEVALL, A. Passive immunization with melanin-binding monoclonal antibodies prolongs survival of mice with lethal *Cryptococcus neoformans* infection. **Infection and immunity**, [*s. l.*], v. 69, n. 5, p. 3410–3412, 2001. Disponible em: <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.69.5.3410-3412.2001>.

RUTHERFORD, Julian C. The emerging role of urease as a general microbial virulence factor. **PLoS pathogens**, [*s. l.*], v. 10, n. 5, p. e1004062, 2014. Disponible em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1004062>.

SALAZAR-ROA, María; MALUMBRES, Marcos. Fueling the Cell Division Cycle. **Trends in cell biology**, [*s. l.*], v. 27, n. 1, p. 69–81, 2017. Disponible em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tcb.2016.08.009>.

SALYER, W. R.; SALYER, D. C.; BAKER, R. D. Primary complex of *Cryptococcus* and pulmonary lymph nodes. **The Journal of infectious diseases**, [*s. l.*], v. 130, n. 1, p. 74–77, 1974. Disponible em: <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/130.1.74>.

SAMIE, Shakier *et al.* The antifungal and *Cryptococcus neoformans* virulence attenuating activity of *Pelargonium sidoides* extracts. **Journal of ethnopharmacology**, [*s. l.*], v. 235, p. 122–132, 2019. Disponible em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2019.02.008>.

SANTI, Lucélia *et al.* Proteomic profile of *Cryptococcus neoformans* biofilm reveals changes in metabolic processes. **Journal of proteome research**, [*s. l.*], v. 13, n. 3, p. 1545–1559, 2014. Disponible em: <http://dx.doi.org/10.1021/pr401075f>.

SANTIAGO-TIRADO, Felipe H. *et al.* Trojan Horse Transit Contributes to Blood-Brain Barrier Crossing of a Eukaryotic Pathogen. **mBio**, [*s. l.*], v. 8, n. 1, 2017. Disponible em: <http://dx.doi.org/10.1128/mBio.02183-16>.

SETO-YOUNG, D. *et al.* Exploring an antifungal target in the plasma membrane H(+)-ATPase of fungi. **Biochimica et biophysica acta**, [*s. l.*], v. 1326, n. 2, p. 249–256, 1997. Disponible em: [http://dx.doi.org/10.1016/s0005-2736\(97\)00028-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0005-2736(97)00028-x).

SHAHINA, Zinnat *et al.* *Cinnamomum zeylanicum* bark essential oil induces cell wall

remodelling and spindle defects in *Candida albicans*. **Fungal biology and biotechnology**, [s. l.], v. 5, p. 3, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s40694-018-0046-5>.

SHARIFI-RAD, Javad *et al.* Biological Activities of Essential Oils: From Plant Chemoecology to Traditional Healing Systems. **Molecules**, [s. l.], v. 22, n. 1, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/molecules22010070>.

SHARMA, Neeta; TRIPATHI, Abhishek. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem. **Microbiological research**, [s. l.], v. 163, n. 3, p. 337–344, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.micres.2006.06.009>.

SHOURIAN, Mitra; QURESHI, Salman T. Resistance and Tolerance to Cryptococcal Infection: An Intricate Balance That Controls the Development of Disease. **Frontiers in immunology**, [s. l.], v. 10, p. 66, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2019.00066>.

SICHEL, G. *et al.* In vitro scavenger activity of some flavonoids and melanins against O<sub>2</sub>-(.). **Free radical biology & medicine**, [s. l.], v. 11, n. 1, p. 1–8, 1991. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/0891-5849\(91\)90181-2](http://dx.doi.org/10.1016/0891-5849(91)90181-2).

SINGH, Arpita *et al.* Factors required for activation of urease as a virulence determinant in *Cryptococcus neoformans*. **mBio**, [s. l.], v. 4, n. 3, p. e00220–13, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/mBio.00220-13>.

SORRELL, T. C. *Cryptococcus neoformans* variety *gattii*. **Medical mycology: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology**, [s. l.], v. 39, n. 2, p. 155–168, 2001. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11346263>.

SPADARI, Cristina de Castro *et al.* New Approaches for Cryptococcosis Treatment. **Microorganisms**, [s. l.], v. 8, n. 4, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/microorganisms8040613>.

SPECTOR, D.; LABARRE, J.; TOLEDANO, M. B. A genetic investigation of the essential role of glutathione: mutations in the proline biosynthesis pathway are the only suppressors of glutathione auxotrophy in yeast. **The Journal of biological chemistry**, [s. l.], v. 276, n. 10, p. 7011–7016, 2001. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M009814200>.

SRICHATRAPIMUK, Sirawat; SUNGKANUPARPH, Somnuek. Integrated therapy for HIV and cryptococcosis. **AIDS research and therapy**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 42, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s12981-016-0126-7>.

TAKAGI, H. *et al.* Proline accumulation by mutation or disruption of the proline oxidase gene improves resistance to freezing and desiccation stresses in *Saccharomyces cerevisiae*. **FEMS microbiology letters**, [s. l.], v. 184, n. 1, p. 103–108, 2000. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6968.2000.tb08998.x>.

- THANGAMANI, Shankar *et al.* Ebselen exerts antifungal activity by regulating glutathione (GSH) and reactive oxygen species (ROS) production in fungal cells. **Biochimica et Biophysica Acta, General Subjects**, [s. l.], v. 1861, n. 1 Pt A, p. 3002–3010, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbagen.2016.09.029>.
- TIAN, Jun *et al.* In vitro and in vivo activity of essential oil from dill (*Anethum graveolens* L.) against fungal spoilage of cherry tomatoes. **Food control**, [s. l.], v. 22, n. 12, p. 1992–1999, 2011. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956713511002192>.
- TRILLES, Luciana *et al.* Regional pattern of the molecular types of *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* in Brazil. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 103, n. 5, p. 455–462, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/s0074-02762008000500008>.
- TROFA, David; CASADEVALL, Arturo; NOSANCHUK, Joshua D. Melanin: Structure, Function, and Biosynthesis in *Cryptococcus*. *Em: CRYPTOCOCCUS*. Washington, DC, USA: ASM Press, 2014. p. 55–66. *E-book*. Disponível em: <http://doi.wiley.com/10.1128/9781555816858.ch5>.
- TUCKER, Stephanie C.; CASADEVALL, Arturo. Replication of *Cryptococcus neoformans* in macrophages is accompanied by phagosomal permeabilization and accumulation of vesicles containing polysaccharide in the cytoplasm. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [s. l.], v. 99, n. 5, p. 3165–3170, 2002. Disponível em: <https://www.pnas.org/doi/abs/10.1073/pnas.052702799>.
- ULETT, Kimberly B. *et al.* Cerebral cryptococcoma mimicking glioblastoma. **BMJ case reports**, [s. l.], v. 2017, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1136/bcr-2016-218824>.
- VAIRINHOS, Jessica; MIGUEL, Maria Graça. Essential oils of spontaneous species of the genus *Lavandula* from Portugal: a brief review. **Zeitschrift fur Naturforschung. C, Journal of biosciences**, [s. l.], v. 75, n. 7-8, p. 233–245, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1515/znc-2020-0044>.
- VANBREUSEGHEM, R.; DE VROEY, C. Geographic distribution of dermatophytes. **International journal of dermatology**, [s. l.], v. 9, n. 2, p. 102–109, 1970. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-4362.1970.tb04587.x>.
- VARTIVARIAN, S. E. *et al.* Regulation of cryptococcal capsular polysaccharide by iron. **The Journal of infectious diseases**, [s. l.], v. 167, n. 1, p. 186–190, 1993. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/infdis/167.1.186>.
- VASIREDDY, Lakshmi; BINGLE, Lewis E. H.; DAVIES, Mark S. Antimicrobial activity of essential oils against multidrug-resistant clinical isolates of the *Burkholderia cepacia* complex. **PloS one**, [s. l.], v. 13, n. 8, p. e0201835, 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0201835>.
- VIOLLON, C.; CHAUMONT, J. P. Antifungal properties of essential oils and their main

components upon *Cryptococcus neoformans*. **Mycopathologia**, [s. l.], v. 128, n. 3, p. 151–153, 1994. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/BF01138476>.

VU, Kiem *et al.* *Cryptococcus neoformans* promotes its transmigration into the central nervous system by inducing molecular and cellular changes in brain endothelial cells. **Infection and immunity**, [s. l.], v. 81, n. 9, p. 3139–3147, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/IAI.00554-13>.

VU, Kiem; GARCIA, Javier A.; GELLI, Angie. Cryptococcal Meningitis and Anti-virulence Therapeutic Strategies. **Frontiers in microbiology**, [s. l.], v. 10, p. 353, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2019.00353>.

WANG, Yina *et al.* Inositol Metabolism Regulates Capsule Structure and Virulence in the Human Pathogen *Cryptococcus neoformans*. **mBio**, [s. l.], v. 12, n. 6, p. e0279021, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1128/mBio.02790-21>.

WANG, Kaili *et al.* Investigating proteome and transcriptome response of *Cryptococcus podzolicus* Y3 to citrinin and the mechanisms involved in its degradation. **Food chemistry**, [s. l.], v. 283, p. 345–352, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.01.052>.

WANG, Linqi; ZHAI, Bing; LIN, Xiaorong. The link between morphotype transition and virulence in *Cryptococcus neoformans*. **PLoS pathogens**, [s. l.], v. 8, n. 6, p. e1002765, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1002765>.

WEI, Jie; LI, Xiang-Yu; ZHANG, Yue. Central nervous system *Cryptococcoma* mimicking demyelinating disease: a case report. **BMC neurology**, [s. l.], v. 20, n. 1, p. 1–4, 2020. Disponível em: <https://bmcnneurol.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12883-020-01880-4>. Acesso em: 2 nov. 2022.

WIZRAH, Maha S. I. *et al.* AICAR transformylase/IMP cyclohydrolase (ATIC) is essential for de novo purine biosynthesis and infection by *Cryptococcus neoformans*. **The Journal of biological chemistry**, [s. l.], v. 298, n. 10, p. 102453, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbc.2022.102453>.

WOLLSCHLAEGER, Carolin *et al.* Distinct and redundant roles of exonucleases in *Cryptococcus neoformans*: implications for virulence and mating. **Fungal genetics and biology: FG & B**, [s. l.], v. 73, p. 20–28, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fgb.2014.09.007>.

WU, Xiu-Zhen *et al.* Effect of plagiocin E, an antifungal macrocyclic bis(bibenzyl), on cell wall chitin synthesis in *Candida albicans*. **Acta pharmacologica Sinica**, [s. l.], v. 29, n. 12, p. 1478–1485, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1745-7254.2008.00900.x>.

XIE, Steve *et al.* Difference in *Cryptococcus neoformans* cellular and capsule size in sequential pulmonary and meningeal infection: a postmortem study. **Diagnostic**

**microbiology and infectious disease**, [s. l.], v. 73, n. 1, p. 49–52, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.01.008>.

XING, Xinrui *et al.* Effect of Nicotinamide Against *Candida albicans*. **Frontiers in microbiology**, [s. l.], v. 10, p. 595, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2019.00595>.

XIONG, Xiaolin *et al.* Antifungal mechanisms of lavender essential oil in the inhibition of rot disease caused by *Monilinia fructicola* in postharvest flat peaches. **Canadian journal of microbiology**, [s. l.], v. 67, n. 10, p. 724–736, 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1139/cjm-2020-0484>.

XUE, Chaoyang *et al.* The human fungal pathogen *Cryptococcus* can complete its sexual cycle during a pathogenic association with plants. **Cell host & microbe**, [s. l.], v. 1, n. 4, p. 263–273, 2007. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chom.2007.05.005>.

YAN, Yu *et al.* Nicotinamide potentiates amphotericin B activity against *Candida albicans*. **Virulence**, [s. l.], v. 13, n. 1, p. 1533–1542, 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/21505594.2022.2119656>.

YANG, Shun-Kai *et al.* Lavender essential oil induces oxidative stress which modifies the bacterial membrane permeability of carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae*. **Scientific reports**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 819, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-019-55601-0>.

YAO, Ziting *et al.*  $\Delta(1)$ -pyrroline-5-carboxylate/glutamate biogenesis is required for fungal virulence and sporulation. **PLoS one**, [s. l.], v. 8, n. 9, p. e73483, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0073483>.

YORK, J. D. *et al.* An expanded view of inositol signaling. **Advances in enzyme regulation**, [s. l.], v. 41, p. 57–71, 2001. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/s0065-2571\(00\)00025-x](http://dx.doi.org/10.1016/s0065-2571(00)00025-x).

YUTANI, Masahiro *et al.* Morphological changes of the filamentous fungus *Mucor mucedo* and inhibition of chitin synthase activity induced by anethole. **Phytotherapy research: PTR**, [s. l.], v. 25, n. 11, p. 1707–1713, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/ptr.3579>.

ZARAGOZA, Oscar. Basic principles of the virulence of *Cryptococcus*. **Virulence**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 490–501, 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/21505594.2019.1614383>.

ZARAGOZA, Oscar *et al.* Capsule enlargement in *Cryptococcus neoformans* confers resistance to oxidative stress suggesting a mechanism for intracellular survival. **Cellular microbiology**, [s. l.], v. 10, n. 10, p. 2043–2057, 2008. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1462-5822.2008.01186.x>.

ZAVALA, Sofia; BADDLEY, John W. Cryptococcosis. **Seminars in respiratory and**

**critical care medicine**, [s. l.], v. 41, n. 1, p. 69–79, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0039-3400280>.

ZHAO, Xueru *et al.* Effects of 5'-3' Exonuclease Xrn1 on Cell Size, Proliferation and Division, and mRNA Levels of Periodic Genes in *Cryptococcus neoformans*. **Genes**, [s. l.], v. 11, n. 4, 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/genes11040430>.

ZHU, Xudong; WILLIAMSON, Peter R. Role of laccase in the biology and virulence of *Cryptococcus neoformans*. **FEMS yeast research**, [s. l.], v. 5, n. 1, p. 1–10, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.femsyr.2004.04.004>.

ZUZARTE, M. *et al.* Antifungal activity of phenolic-rich *Lavandula multifida* L. essential oil. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology**, [s. l.], v. 31, n. 7, p. 1359–1366, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-011-1450-4>.

ZUZARTE, Mónica *et al.* Chemical composition and antifungal activity of the essential oils of *Lavandula viridis* L'Her. **Journal of medical microbiology**, [s. l.], v. 60, n. Pt 5, p. 612–618, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1099/jmm.0.027748-0>.

**Material suplementar 1: Classificação de todas as proteínas em função molecular e processo biológico.** Todas as proteínas tabuladas atingiram um limiar de corte de duas vezes para expressão diferencial.

	<b>N° ptn</b>	<b>Nome</b>	<b>Função Molecular (FM)</b>	<b>Hierarquia<sup>c</sup> FM</b>	<b>Processo Biológico (PB)</b>	<b>Hierarquia PB</b>
<b>Down<sup>a</sup></b>	CNAG_00020	Protein HID1	x	x	x	x
	CNAG_00415	Cmgc/cdk/pits Ire protein kinase	Ion Binding; Transferase Activity; Kinase Activity	Binding; Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Cell Cycle; Cell Division;	Metabolic Process; Cellular Process
	CNAG_00775	Kda trp-asp repeats containing protein	Heterocyclic Compound Binding; Organic Cyclic Compound Binding; RNA Binding	Binding	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Biosynthetic Process; Cellular Component Organization Or Biogenesis; Ribosome Biogenesis	Metabolic Process; Cellular Process
	CNAG_01092	Hip. ptn	x	x	Nitrogen Compound Metabolic Process	Metabolic Process
	CNAG_01952	Aryl-alcohol dehydrogenase	Oxidoreductase Activity	Catalytic Activity	x	x
	CNAG_02609	Ubiquinone biosynthesis O-methyltrans	Transferase Activity; Methyltransferase Activity	Catalytic Activity	Biosynthetic Process; Small Molecule Metabolic Process	Metabolic Process

	ferase, mitochondrial				
CNAG_02662	Cysteine protease ATG4	Hydrolase Activity; Catalytic Activity, Acting On A Protein; Peptidase Activity	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Catabolic Process; Establishment Of Localization; Macromolecule Localization; Cell Cycle; Process Utilizing Autophagic Mechanism; Autophagy; Protein Transport	Metabolic Process; Cellular Process; Localization
CNAG_02704	MICOS complex subunit MIC12	x	x	Cellular Component Organization Or Biogenesis; Membrane Organization; Cristae Formation	Cellular Process
CNAG_02811	40S RIBOSOMAL PROTEIN S29	Ion Binding; Structural Constituent Of Ribosome; Heterocyclic Compound Binding; Organic Cyclic Compound Binding; Hydrolase Activity; ATP Hydrolysis Activity; Transmembrane Transporter Activity; RNA Binding	Binding; Catalytic Activity; Cellular Process; Transporter Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Translation OR Protein Biosynthesis	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_02997	Protein STU1	Protein Binding; Cytoskeletal Protein Binding	Binding	Cellular Component Organization Or Biogenesis; Cell Cycle; Cell Division; Cytoskeleton Organization;	Cellular Process



				Cellular Component Assembly; Mitotic Nuclear Division	
CNAG_03198	40S ribosomal protein S8	Structural Constituent Of Ribosome	Cellular Process	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Cellular Component Organization Or Biogenesis; Translation Or Protein Biosynthesis; Ribosome Biogenesis	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_03238	Dioxygenase subfamily protein	Ion Binding; Oxidoreductase Activity; Dioxygenase Activity	Catalytic Activity	x	x
CNAG_04011	60s ribosomal protein	Structural Constituent Of Ribosome	Cellular Process	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Translation Or Protein Biosynthesis	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_04196	Actin binding protein	Ion Binding; Protein Binding; Cytoskeletal Protein Binding	Binding	Cellular Component Organization Or Biogenesis; Establishment Of Localization; Vesicle-Mediated Transport; Cytoskeleton Organization;	Cellular Process; Localization

				Protein-Containing Complex Assembly	
CNAG_04889	Plant basic secretory protein (BSP) family protein	x	x	x	x
CNAG_04902	MMS2 (SEL1 protein)	x	x	x	x
CNAG_05631	NADH-ubiquinone oxidoreductase	Oxidoreductase Activity	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Generation Of Precursor Metabolites And Energy	Cellular Process
CNAG_05740	Protein-farnesyl transferase beta chain	Ion Binding; Transferase Activity	Binding; Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Cellular Protein Modification Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_06350	Hip. ptn	Transferase Activity; Methyltransferase Activity	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Cellular Protein Modification Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_06664	Sorting nexin MVPI	Lipid Binding	Binding	Establishment Of Localization; Macromolecule Localization;	Cellular Process; Localization

					Vesicle-Mediated Transport; Protein Transport	
Up <sup>b</sup>	CNAG_00061	Citrate synthase	Transferase Activity; Acyltransferase Activity	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Small Molecule Metabolic Process; Carbohydrate Metabolic Process; Generation Of Precursor Metabolites And Energy	Metabolic Process; Cellular Process
	CNAG_00098	Palmitoyl-prot ein thioesterase	x	x	Cellular Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Small Molecule Metabolic Process; Cellular Protein Modification Process; Catabolic Process; Protein Depalmitoylation	Metabolic Process; Cellular Process
	CNAG_00099	ATP dependent DNA helicase	Ion Binding; Heterocyclic Compound Binding; Organic Cyclic Compound Binding; Hydrolase Activity; ATP Hydrolysis Activity; Catalytic Activity, Acting On A Protein; Helicase Activity; DNA Binding	Binding; Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Cellular Component Organization Or Biogenesis; Response To Stress; Cell Cycle; DNA Metabolic Process;	Metabolic Process; Cellular Process; Response To Stimulus

				Chromosome Organization; Protein-Containing Complex Assembly	
CNAG_00190	Hip. ptn	x	x	x	x
CNAG_00247	Saccharopine dehydrogenase	Oxidoreductase Activity	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Small Molecule Metabolic Process; Catabolic Process; Cellular Amino Acid Metabolic Process; Sulfur Compound Metabolic Process; Cellular Nitrogen Compound Metabolic Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_00301	Hip. ptn	x	x	x	x
CNAG_00390	Myotubularin	Phosphatase Activity	Catalytic Activity	Cellular Protein Modification Process; Lipid Metabolic Process	Metabolic Process
CNAG_00417	Elongation factor 1-gamma	Heterocyclic Compound Binding; Organic Cyclic Compound Binding; Translation Regulator Activity, Nucleic Acid	Binding; Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Sulfur Compound Metabolic Process	Cellular Process

			Binding; Translation Factor Activity, RNA Binding		
CNAG_00441	IMP dehydrogenase		Ion Binding; Oxidoreductase Activity; Translation Regulator Activity, Nucleic Acid Binding	Binding; Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Biosynthetic Process; Small Molecule Metabolic Process; Cellular Nitrogen Compound Metabolic Process
CNAG_00513	Nucleolar protein 53		Heterocyclic Compound Binding; Organic Cyclic Compound Binding; Translation Regulator Activity, Nucleic Acid Binding; Translation Factor Activity, RNA Binding; Rrna Binding	Binding; Catalytic Activity	Cellular Component Organization Or Biogenesis; Ribonucleoprotein Complex Assembly; Ribosome Biogenesis
CNAG_00534	ATP synthase subunit K	x		x	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Biosynthetic Process; Small Molecule Metabolic Process; Establishment Of Localization; Transmembrane Transport; Biosynthetic Process
CNAG_00537	Carnitine acetyltransferase		Transferase Activity	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process

CNAG_00654	Sulfiredoxin	Ion Binding; Oxidoreductase Activity	Binding; Catalytic Activity	Response To Stress	Response To Stimulus
CNAG_00656	60s ribosomal protein l7	Structural Constituent Of Ribosome; Heterocyclic Compound Binding; Protein Binding; Organic Cyclic Compound Binding; RNA Binding	Binding; Cellular Process	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Cellular Component Organization Or Biogenesis; Ribosome Biogenesis	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_00676	Vps28 protein	x	x	Catabolic Process; Establishment Of Localization; Macromolecule Localization; Vesicle-Mediated Transport; Vacuolar Transport; Protein Transport	Catabolic Process; Metabolic Process; Localization
CNAG_00700	Bifunctional purine biosynthesis protein PURH	Hydrolase Activity	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Biosynthetic Process; Small Molecule Metabolic Process;	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_00832	D-hydroxyacid dehydrogenase	Oxidoreductase Activity	Catalytic Activity	x	x
CNAG_01137	Aconitase	Ion Binding; Heterocyclic Compound Binding; Organic Cyclic Compound Binding; Lyase Activity; DNA Binding	Binding; Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Cellular Component Organization Or Biogenesis; Generation Of Precursor	Cellular Process

				Metabolites And Energy; Mitochondrion Organization	
CNAG_01166	Urease accessory protein	Ion Binding; Chaperone Binding	Binding	Nitrogen Compound Metabolic Process	Metabolic Process
CNAG_01184	UPF0052 domain-containing protein	x	x	mRNA Splicing, Via Spliceosome	Cellular Process
CNAG_01200	Pre-mRNA-splicing factor 38A	x	x	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; mRNA Processing	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_01253	Protein transporter	Ion Binding	x	Cellular Component Organization Or Biogenesis; Establishment Of Localization; Macromolecule Localization; Cellular Localization; Protein Targeting; Mitochondrion Organization; Membrane Organization	Cellular Process; Localization
CNAG_01281	Hip. ptn	x	x	x	x
CNAG_01607	Thioredoxin	x	x	x	x

CNAG_01636	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase-like 1	Isomerase Activity	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Protein Folding; Cellular Protein Modification Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_01764	Cytoplasmic protein	Hydrolase Activity; Acting On Carbon-Nitrogen (But Not Peptide) Bonds	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Sulfur Compound Metabolic Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_01780	Cytoplasmic protein	Ion Binding	Binding	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Response To Stress; Translation Or Protein Biosynthesis	Metabolic Process; Cellular Process; Response To Stimulus
CNAG_01823	Myo-inositol monophosphat ase	Ion Binding; Hydrolase Activity; Phosphatase Activity	Binding; Catalytic Activity	Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Small Molecule Metabolic Process; Catabolic Process; Regulation Of Cellular Process; Cellular Response To Stimulus; Cell Communication; Signal Transduction; Carbohydrate	Metabolic Process; Biological Regulation



				Metabolic Process; Lipid Metabolic Process; Signal Transduction	
CNAG_01880	Hip. ptn	x	x	x	x
CNAG_01884	Large subunit ribosomal protein L3	Structural Constituent Of Ribosome; Heterocyclic Compound Binding; Protein Binding; Organic Cyclic Compound Binding; RNA Binding	Binding; Cellular Process	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Cellular Component Organization Or Biogenesis; Translation OR Protein Biosynthesis; Ribonucleoprotein Complex Assembly; Ribosome Biogenesis	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_02006	Deamidase	Hydrolase Activity; Hydrolase Activity, Acting On Carbon-Nitrogen (But Not Peptide) Bonds	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Catabolic Process; Cellular Protein Modification Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_02056	Hip. ptn	x	x	x	x
CNAG_02104	Hosphatidylin ositol transporter	Ion Binding	Binding	Cellular Component Organization Or Biogenesis; Establishment Of Localization;	Cellular Process; Localization

				Macromolecule Localization; Vesicle-Mediated Transport; Protein Transport	
CNAG_02394	Coenzyme Q-binding protein COQ10, START	x	x	Cellular Metabolic Process; Biosynthetic Process; Small Molecule Metabolic Process; Generation Of Precursor Metabolites And Energy	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_02419	Trafficking protein particle complex II-specific subunit 65	x	x	Establishment Of Localization; Vesicle-Mediated Transport	Localization
CNAG_02512	DNA repair protein rad16	Ion Binding; Hydrolase Activity; ATP Hydrolysis Activity	Binding; Catalytic Activity	x	x
CNAG_02605	TBC 1 domain family protein	Enzyme Regulator Activity	Catalytic Activity	Establishment Of Localization; Macromolecule Localization; Protein Transport	Cellular Process; Localization
CNAG_02883	Small GTPase (rho family protein)	Ion Binding; Protein Binding; Hydrolase Activity; Gtpase Activity; Enzyme Binding	Binding; Catalytic Activity	Cellular Component Organization Or Biogenesis; Regulation Of Cellular Process; Cellular Response To Stimulus; Cell Communication; Signal Transduction; Cell	Biological Regulation; Developmental Process

---

				Morphogenesis; Cytoskeleton Organization	
CNAG_02896	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase	Transferase Activity; Acyltransferase Activity	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Small Molecule Metabolic Process; Lipid Metabolic Process; Sulfur Compound Metabolic Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_02897	Inositol hexaphosphate kinase 1	Transferase Activity; Kinase Activity	Catalytic Activity	Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Small Molecule Metabolic Process; Lipid Metabolic Process	Metabolic Process
CNAG_02915	AGC/PDK1 protein kinase	Ion Binding; Transferase Activity; Kinase Activity	Binding; Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Response To Stress; Regulation Of Cellular Process; Cellular Response To Stimulus; Cell Communication; Signal Transduction; Cellular Protein Modification Process; Lipid	Metabolic Process; Cellular Process; Response To Stimulus; Biological Regulation

---

					Metabolic Process; Cell Wall Organization Or Biogenesis
CNAG_02986	Phosphoribosyl-ATP diphosphatase	x		x	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Small Molecule Metabolic Process
CNAG_03165	Ribosomal protein S27/S33, mitochondrial	Structural Constituent Of Ribosome	Cellular Process	x	x
CNAG_03225	Malate dehydrogenase, NAD-dependent	Oxidoreductase Activity	Catalytic Activity		Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Cellular Component Organization Or Biogenesis; Carbohydrate Metabolic Process; Generation Of Precursor Metabolites And Energy; Small Molecule Metabolic Process
CNAG_03343	Translin	Heterocyclic Compound Binding; Organic Cyclic Compound Binding; DNA Binding; RNA Binding	Binding		Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process
					Metabolic Process; Cellular Process

CNAG_03348	Regulation of budding-related protein, putative	x	x	Catabolic Process	Metabolic Process
CNAG_03466	RNA-dependent RNA polymerase	Transferase Activity; Heterocyclic Compound Binding; Organic Cyclic Compound Binding; RNA Binding; Nucleotidyltransferase Activity	Binding; Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Biosynthetic Process; Cellular Component Organization Or Biogenesis; Biosynthetic Process; Cellular Component Assembly; Chromosome Organization	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_03476	Chimeric spermidine synthase/saccharopine dehydrogenase	Oxidoreductase Activity	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Small Molecule Metabolic Process; Cellular Amino Acid Metabolic Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_03564	Abhydrolase_3 domain-containing protein	Hydrolase Activity	Catalytic Activity	x	x
CNAG_03861	Cytochrome-c oxidase chain VI	Ion Binding; Oxidoreductase Activity; Transmembrane Transporter Activity	Binding; Catalytic Activity; Transporter Activity	Cellular Metabolic Process; Generation Of Precursor Metabolites And Energy	Cellular Process

CNAG_03886	ELYS domain-containing protein	x	x	x	x
CNAG_03940	Elongator complex protein 2	Protein Binding; Cytoskeletal Protein Binding	Binding	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; tRNA Metabolic Process; Cellular Protein Modification Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_04009	Leucyl aminopeptidase 2	Ion Binding; Hydrolase Activity; Catalytic Activity, Acting On A Protein; Peptidase Activity	Binding; Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Catabolic Process; Catabolic Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_04062	WD repeat-containing protein	x	x	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Cellular Component Organization Or Biogenesis; Ribosome Biogenesis	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_04067	Haloacid dehalogenase, type II	Hydrolase Activity	Catalytic Activity	x	x
CNAG_04099	6-phosphoglucuronate dehydrogenase	Oxidoreductase Activity	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance	x

	, decarboxylatin g 1			Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Small Molecule Metabolic Process; Catabolic Process; Carbohydrate Metabolic Process; Generation Of Precursor Metabolites And Energy	
CNAG_04208	Ataxin-3	Hydrolase Activity; Catalytic Activity, Acting On A Protein; Peptidase Activity	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Cellular Protein Modification Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_04235	39S ribosomal protein L43/54S ribosomal protein L51	Structural Constituent Of Ribosome; Protein Binding	Binding; Cellular Process	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Cellular Component Organization Or Biogenesis; Regulation Of Biological Quality; Translation Or Protein Biosynthesis; Mitochondrion Organization; Homeostatic Process	Metabolic Process; Cellular Process; Biological Regulation
CNAG_04315	RCC2 protein	Ion Binding; Metal Ion Binding	Binding	x	x

CNAG_04352	Zinc-finger protein	Heterocyclic Compound Binding; Organic Cyclic Compound Binding; DNA-Binding Transcription Factor Activity; DNA Binding	Binding; Cellular Process	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Biosynthetic Process; Cellular Nitrogen Compound Metabolic Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_04353	C2H2-type domain-containing protein	x	x	x	x
CNAG_04437	Nicotinamide riboside kinase	Ion Binding; Transferase Activity; Kinase Activity	Binding; Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Biosynthetic Process; Small Molecule Metabolic Process; Cellular Nitrogen Compound Metabolic Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_04467	Succinate-semialdehyde dehydrogenase	Oxidoreductase Activity	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Small Molecule Metabolic Process; Catabolic Process; Cellular Amino Acid Metabolic Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_04588	Hip. ptn	Ion Binding; Heterocyclic Compound Binding; Organic Cyclic Compound Binding; DNA-Binding Transcription	Binding; Cellular Process	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Biosynthetic Process; Response To Stress; Cellular	Metabolic Process; Cellular Process; Response To Stimulus



		Factor Activity; DNA Binding		Nitrogen Compound Metabolic Process; Response To Stress	
CNAG_04629	Mob1 family protein	x	x	x	x
CNAG_04740	Hip. ptn	x	x	x	x
CNAG_04753	Lactonohydrolase	x	x	x	x
CNAG_04789	Hip. ptn	x	x	x	x
CNAG_04959	Syntaxin 16	x	x	Cellular Component Organization Or Biogenesis; Establishment Of Localization; Macromolecule Localization; Vesicle-Mediated Transport; Protein Transport	Cellular Process; Localization
CNAG_05113	Aldehyde dehydrogenase	Oxidoreductase Activity	Catalytic Activity	x	x
CNAG_05187	Hip. ptn	x	x	Cellular Component Organization Or Biogenesis; Establishment Of Localization; Macromolecule Localization; Vesicle-Mediated Transport	Cellular Process; Localization
CNAG_05221	Histone H2A.4	Heterocyclic Compound Binding; Organic Cyclic	Binding	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance	Metabolic Process; Cellular Process

		Compound Binding; DNA Binding		Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Cellular Component Organization Or Biogenesis; Catabolic Process; Cell Cycle; Nucleobase-Containing Compound Catabolic Process; Chromosome Organization; Protein-Containing Complex Assembly	
CNAG_05398	Phosphoserine transaminase	Ion Binding	Binding	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Small Molecule Metabolic Process; Cellular Amino Acid Metabolic Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_05502	Hip. ptn	x	x	x	x
CNAG_05534	Pyridoxal reductase	Oxidoreductase Activity	Catalytic Activity	x	x
CNAG_05595	Hip. ptn	x	x	x	x
CNAG_05602	1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase	Oxidoreductase Activity	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary	Metabolic Process; Cellular Process

---

				Metabolic Process; Biosynthetic Process; Small Molecule Metabolic Process; Cellular Amino Acid Metabolic Process; Catabolic Process	
CNAG_05623	Chorismate synthase	Ion Binding; Lyase Activity	Binding; Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Small Molecule Metabolic Process; Cellular Amino Acid Metabolic Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_05690	Histone deacetylase 2	Ion Binding; Hydrolase Activity; Hydrolase Activity, Acting On Carbon-Nitrogen (But Not Peptide) Bonds	Binding; Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Cellular Component Organization Or Biogenesis; Catabolic Process; Cell Cycle; Reproduction; DNA Metabolic Process; Cellular Protein Modification Process; Autophagy; Cellular Component Assembly; Chromosome Organization	Metabolic Process; Cellular Process

---

CNAG_05770	Proteasome component pts1	Hydrolase Activity; Catalytic Activity, Acting On A Protein; Peptidase Activity	Catalytic Activity	Catabolic Process	Metabolic Process
CNAG_05797	5'-3' exoribonuclease 2	Ion Binding; Heterocyclic Compound Binding; Organic Cyclic Compound Binding; Hydrolase Activity; RNA Binding; Nuclease Activity	Binding; Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Cellular Component Organization Or Biogenesis; Catabolic Process; mRNA Processing; Nucleobase-Containing Compound Catabolic Process; Ribosome Biogenesis	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_05829	Nonsense-mediated mRNA decay protein Nmd2/UPF2	Heterocyclic Compound Binding; Organic Cyclic Compound Binding; RNA Binding	Binding	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Catabolic Process; Nucleobase-Containing Compound Catabolic Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_06007	U3 small nucleolar RNA-associated protein 23	Heterocyclic Compound Binding; Organic Cyclic Compound Binding; Rrna Binding	Binding	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Cellular Component Organization Or Biogenesis; Ribosome Biogenesis	Metabolic Process; Cellular Process

CNAG_06008	Asparaginase	Hydrolase Activity; Hydrolase Activity, Acting On Carbon-Nitrogen (But Not Peptide) Bonds	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Small Molecule Metabolic Process; Cellular Amino Acid Metabolic Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_06064	Protein tyrosine phosphatase	Hydrolase Activity; Phosphatase Activity	Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Cellular Protein Modification Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_06144	Cytoplasmic protein	Ion Binding	Binding	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Translation Or Protein Biosynthesis	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_06206	ATP-dependen t RNA helicase DBP9	Ion Binding; Heterocyclic Compound Binding; Organic Cyclic Compound Binding; Hydrolase Activity; ATP Hydrolysis Activity; Catalytic Activity, Acting	Binding; Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Organic Substance Metabolic Process; Primary Metabolic Process; Biosynthetic Process; Ribosome Biogenesis	Metabolic Process; Cellular Process

		On A Protein; Helicase Activity; RNA Binding			
CNAG_06224	Nuclear movement protein nudC	Protein Binding; Unfolded Protein Binding	Binding	Protein Folding	Cellular Process
CNAG_06589	Endoribonuclease L-PSP	Lipid Binding	Binding	x	x
CNAG_06621	Biotin synthase	Ion Binding; Transferase Activity; Methyltransferase Activity	Binding; Catalytic Activity	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Biosynthetic Process; Small Molecule Metabolic Process; Sulfur Compound Metabolic Process	Metabolic Process; Cellular Process
CNAG_06750	Endoplasmic reticulum junction formation protein lunapark	Ion Binding; Metal Binding	Binding	x	x
CNAG_06820	Hip. ptn	x	x	x	x
CNAG_07506	RING finger protein	Ion Binding; Heterocyclic Compound Binding; Organic Cyclic Compound Binding; DNA-Binding Transcription Factor Activity	Binding; Cellular Process	Cellular Metabolic Process; Nitrogen Compound Metabolic Process; Biosynthetic Process	Metabolic Process; Cellular Process

---

CNAG_07595	Hip. ptn	x	x	x
CNAG_07775	Hip. ptn	x	x	x

---

Down<sup>a</sup>: proteínas exclusivas do controle + proteínas down reguladas

Up<sup>b</sup>: proteínas exclusivas da lavanda + proteínas up reguladas

Hierarquia<sup>c</sup>: origem ancestral

Hip. ptn = proteína hipotética

**Material suplementar 2: Vias metabólicas alteradas, sua hierarquia e as proteínas alteradas de *C. neoformans* encontradas em cada uma delas.** As proteínas em verde são proteínas reguladas negativamente, as demais são proteínas reguladas positivamente.

Nome da via	Código KEGG	Hierarquia	Nº ptn	Código ptn	Código enzima	Nome enzima
Alanine, aspartate and glutamate metabolism	ko00250	Amino acid metabolism	3	CNAG_04467	EC:1.2.1.16; EC:1.2.1.24; EC:1.2.1.79	Succinate-semialdehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Succinate-semialdehyde dehydrogenase (NAD(+)); Succinate-semialdehyde dehydrogenase (NADP(+))
				CNAG_05602	EC:1.2.1.88; EC:1.5.1	L-glutamate gamma-semialdehyde dehydrogenase; Acting on the CH-NH group of donors
				CNAG_06008	EC:3.5.1.1	Asparaginase
Arginine and proline metabolism	ko00330	Amino acid metabolism	2	CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))
				CNAG_05602	EC:1.2.1.88; EC:1.5.1	L-glutamate gamma-semialdehyde dehydrogenase; Acting on the CH-NH group of donors
Cysteine and methionine metabolism	ko00270	Amino acid metabolism	2	CNAG_03225	EC:1.1.1.37	Malate dehydrogenase
				CNAG_05398	EC:2.6.1.52	Phosphoserine transaminase
Lysine degradation	ko00310	Amino acid metabolism	2	CNAG_00247	EC:1.5.1.8; EC:1.5.1.9	Saccharopine dehydrogenase (NADP(+), L-lysine-forming); Saccharopine dehydrogenase (NAD(+), L-glutamate-forming)
				CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))
Tyrosine metabolism	ko00350	Amino acid metabolism	2	CNAG_04467	EC:1.2.1.16; EC:1.2.1.24; EC:1.2.1.79	Succinate-semialdehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Succinate-semialdehyde dehydrogenase (NAD(+)); Succinate-semialdehyde dehydrogenase (NADP(+))
				CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))
Valine, leucine and isoleucine degradation	ko00280	Amino acid metabolism	2	CNAG_02896	EC:2.3.3.10	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase
				CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))



Glycine, serine and threonine metabolism	ko00260	Amino acid metabolism	1	CNAG_05398	EC:2.6.1.52	Phosphoserine transaminase
Histidine metabolism	ko00340	Amino acid metabolism	1	CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))
Phenylalanine metabolism	ko00360	Amino acid metabolism	1	CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))
Phenylalanine, tyrosine and tryptophan biosynthesis	ko00400	Amino acid metabolism	1	CNAG_05623	EC:4.2.3.5	Chorismate synthase
Tryptophan metabolism	ko00380	Amino acid metabolism	1	CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))
Ascorbate and aldarate metabolism	ko00053	Carbohydrate metabolism	3	CNAG_01952	EC:1.1.1.122	D-threo-aldose 1-dehydrogenase
				CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))
				CNAG_05534	EC:1.1.1.122	D-threo-aldose 1-dehydrogenase
Citrate cycle (TCA cycle)	ko00051	Carbohydrate metabolism	3	CNAG_00061	EC:2.3.3.1	Citrate (Si)-synthase
				CNAG_01137	EC:4.2.1.3	Aconitate hydratase
				CNAG_03225	EC:1.1.1.37	Malate dehydrogenase
Glyoxylate and dicarboxylate metabolism	ko00630	Carbohydrate metabolism	3	CNAG_00061	EC:2.3.3.1	Citrate (Si)-synthase
				CNAG_01137	EC:4.2.1.3	Aconitate hydratase
				CNAG_03225	EC:1.1.1.37	Malate dehydrogenase
Pyruvate metabolism	ko00620	Carbohydrate metabolism	3	CNAG_00832	EC:1.1.1.28	D-lactate dehydrogenase
				CNAG_03225	EC:1.1.1.37	Malate dehydrogenase
				CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))
Butanoate metabolism	ko00650	Carbohydrate metabolism	2	CNAG_02896	EC:2.3.3.10	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase

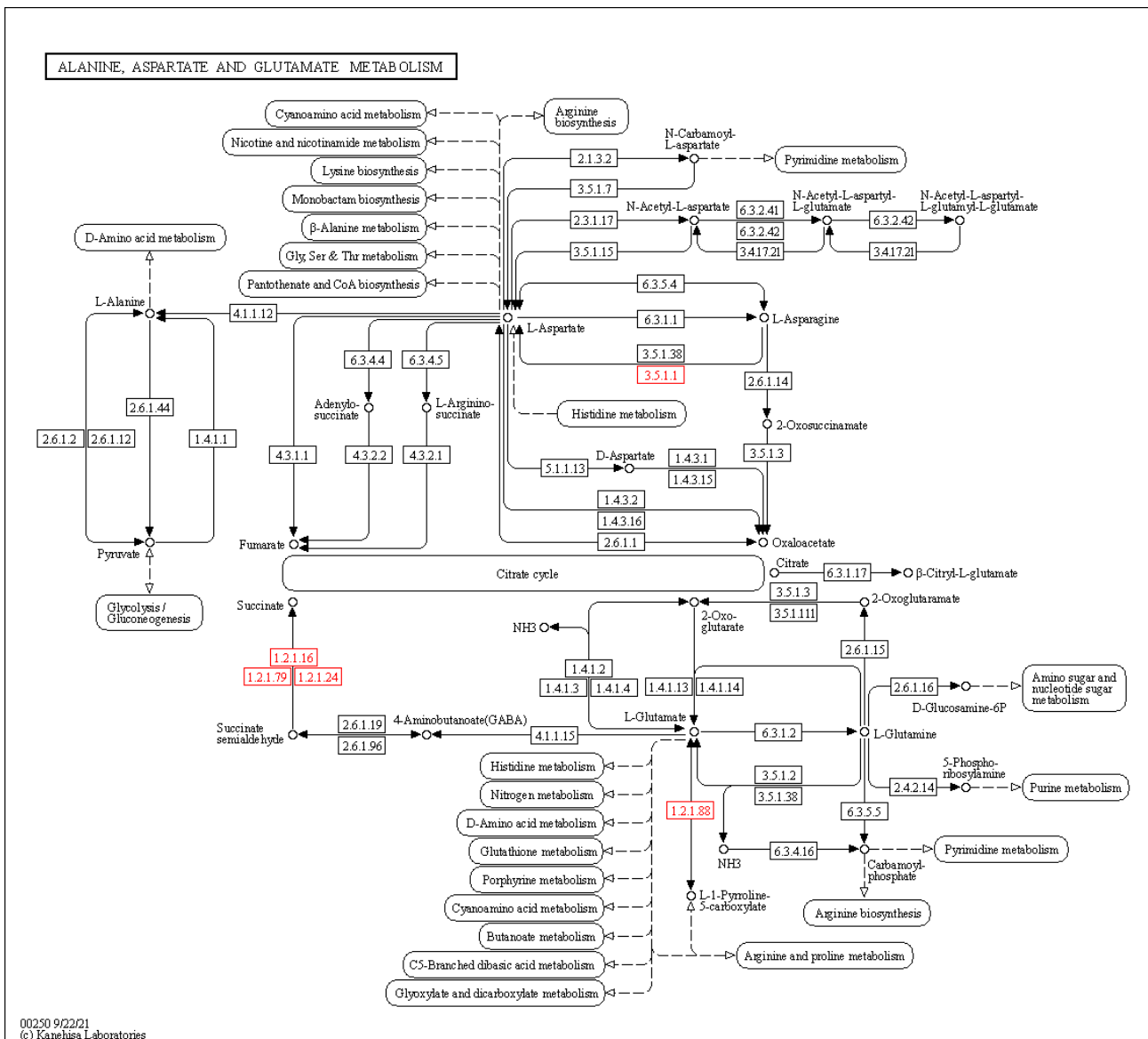
				CNAG_04467	EC:1.2.1.16; EC:1.2.1.24; EC:1.2.1.79	Succinate-semialdehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Succinate-semialdehyde dehydrogenase (NAD(+)); Succinate-semialdehyde dehydrogenase (NADP(+))
Fructose and mannose metabolism	ko00051	Carbohydrate metabolism	2	CNAG_01952	EC:1.1.1.122	D-threo-aldose 1-dehydrogenase
				CNAG_05534	EC:1.1.1.122	D-threo-aldose 1-dehydrogenase
Inositol phosphate metabolism	ko00562	Carbohydrate metabolism	2	CNAG_00390	EC:3.1.3.48; EC:3.1.3.64	Protein-tyrosine-phosphatase; Phosphatidylinositol-3-phosphatase
				CNAG_01823	EC:3.1.3.25	Inositol-phosphate phosphatase
Glycolysis / Gluconeogenesis	ko00010	Carbohydrate metabolism	1	CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))
Pentose phosphate pathway	ko00030	Carbohydrate metabolism	1	CNAG_04099	EC:1.1.1.44	Phosphogluconate dehydrogenase (NADP(+)-dependent, decarboxylating)
Methane metabolism	ko00680	Energy metabolism	3	CNAG_01184	EC:2.7.1; EC:2.7.8.28	Transferring phosphorus-containing groups; 2-phospho-L-lactate transferase
				CNAG_03225	EC:1.1.1.37	Malate dehydrogenase
				CNAG_05398	EC:2.6.1.52	Phosphoserine transaminase
Oxidative phosphorylation	ko00190	Energy metabolism	2	CNAG_03861	EC:1.9; EC:7.1.1.9	Acting on a heme group of donors; Cytochrome-c oxidase
				CNAG_05631	EC:7.1.1.2; EC:1.6.5.11; EC:1.6.5.2	NADH:ubiquinone reductase (H(+)-translocating); NADH dehydrogenase (quinone); NAD(P)H dehydrogenase (quinone)
Fatty acid degradation	ko00071	Lipid metabolism	1	CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))
Fatty acid elongation	ko00062	Lipid metabolism	1	CNAG_00098	EC:3.1.2.22	Palmitoyl-protein hydrolase
Glycerolipid metabolism	ko00561	Lipid metabolism	1	CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))
Nicotinate and nicotinamide metabolism	ko00760	Metabolism of cofactors and vitamins	2	CNAG_04437	EC:2.7.1.22	Ribosylnicotinamide kinase

				CNAG_04467	EC:1.2.1.16; EC:1.2.1.24; EC:1.2.1.79	Succinate-semialdehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Succinate-semialdehyde dehydrogenase (NAD(+)); Succinate-semialdehyde dehydrogenase (NADP(+))
Ubiquinone and other terpenoid-quinone biosynthesis	ko00130	Metabolism of cofactors and vitamins	2	CNAG_02609	EC:2.1.1.64; EC:2.1.1.114	3-demethylubiquinol 3-O-methyltransferase; Polyprenyldihydroxybenzoate methyltransferase
				CNAG_05631	EC:7.1.1.2; EC:1.6.5.11; EC:1.6.5.2	NADH:ubiquinone reductase (H(+)-translocating); NADH dehydrogenase (quinone); NAD(P)H dehydrogenase (quinone)
Biotin metabolism	ko00780	Metabolism of cofactors and vitamins	1	CNAG_06621	EC:2.8.1.6; EC:2.1.1	Biotin synthase; Transferring one-carbon groups
Pantothenate and CoA biosynthesis	ko00770	Metabolism of cofactors and vitamins	1	CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))
Vitamin B6 metabolism	ko00750	Metabolism of cofactors and vitamins	1	CNAG_00098	EC:3.1.2.22	Palmitoyl-protein hydrolase
Glutathione metabolism	ko00480	Metabolism of other amino acids	2	CNAG_01764	EC:3.5.2.9	5-oxoprolinase (ATP-hydrolyzing)
				CNAG_04099	EC:1.1.1.44	Phosphogluconate dehydrogenase (NADP(+)-dependent, decarboxylating)
beta-Alanine metabolism	ko00410	Metabolism of other amino acids	1	CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))
Cyanoamino acid metabolism	ko00460	Metabolism of other amino acids	1	CNAG_06008	EC:3.5.1.1	Asparaginase
Terpenoid backbone biosynthesis	ko00900	Metabolism of terpenoids and polyketides	2	CNAG_02896	EC:2.3.3.10	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase
				CNAG_05740	EC:2.5.1.58	Protein farnesyltransferase

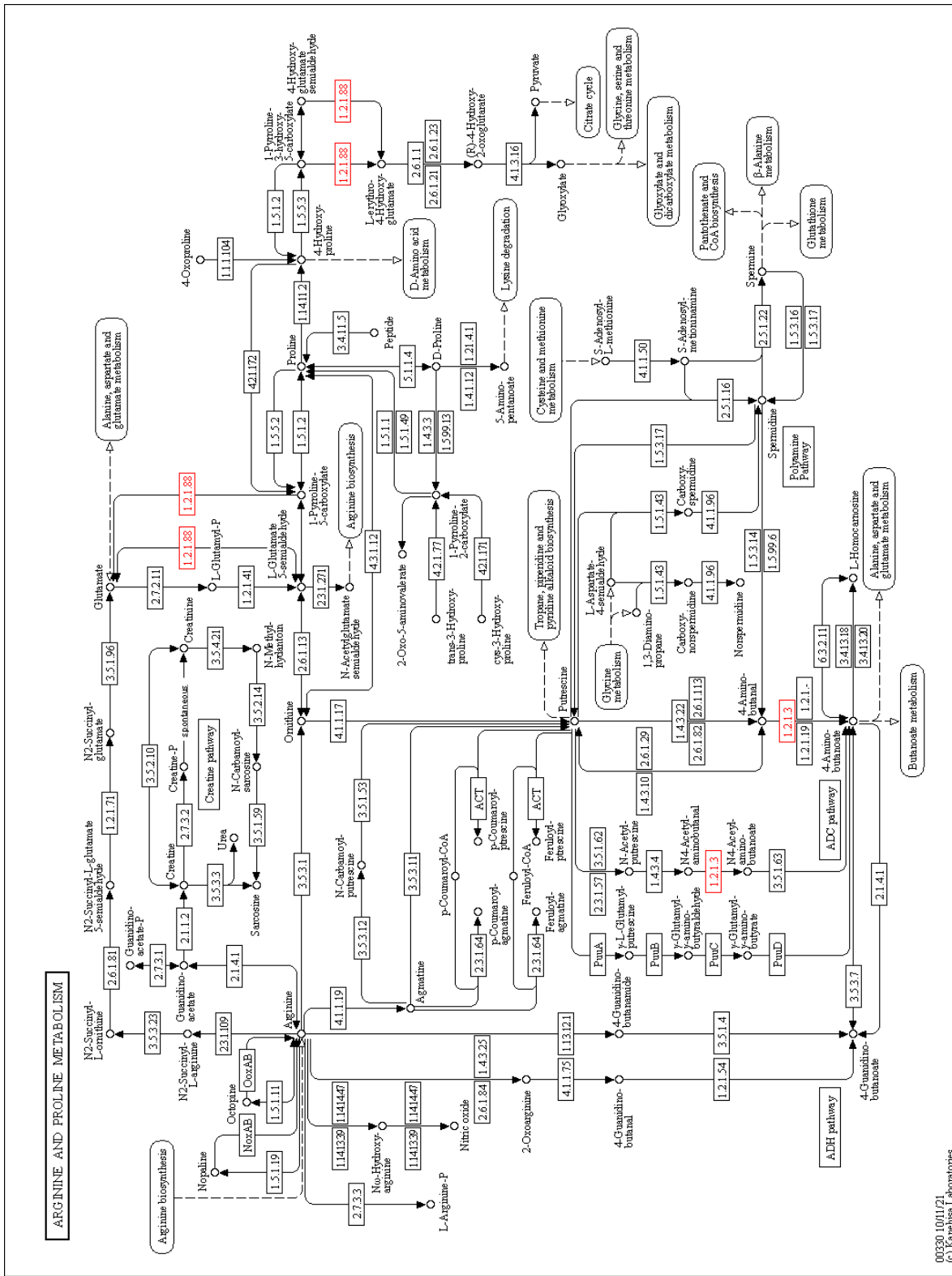
Limonene and pinene degradation	ko00903	Metabolism of terpenoids and polyketides	1	CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))
Purine metabolism	ko00230	Nucleotide metabolism	3	CNAG_00441	EC:1.1.1.205	IMP dehydrogenase
				CNAG_00700	EC:3.5.4.10; EC:2.1.2.3	IMP cyclohydrolase; Phosphoribosylaminoimidazolecarboxamide formyltransferase
				CNAG_02986	EC:3.6.1.13	ADP-ribose diphosphatase
Chloroalkane and chloroalkene degradation	ko00625	Xenobiotics biodegradation and metabolism	1	CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))
Drug metabolism - cytochrome P450	ko00982	Xenobiotics biodegradation and metabolism	1	CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))
Drug metabolism - other enzymes	ko00983	Xenobiotics biodegradation and metabolism	1	CNAG_00441	EC:1.1.1.205	IMP dehydrogenase
Metabolism of xenobiotics by cytochrome P450	ko00980	Xenobiotics biodegradation and metabolism	1	CNAG_05113	EC:1.2.1.5; EC:1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD(P)(+)); Aldehyde dehydrogenase (NAD(+))
Synthesis and degradation of ketone bodies	ko00072	Lipid metabolism	1	CNAG_02896	EC:2.3.3.10	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase

### Material suplementar 3: Vias metabólicas envolvidas no metabolismo de aminoácidos. Os retângulos em vermelho representam as proteínas reguladas positivamente no *C. neoformans*

#### Via 1) Metabolismo da Alanina, Aspartato e Glutamato

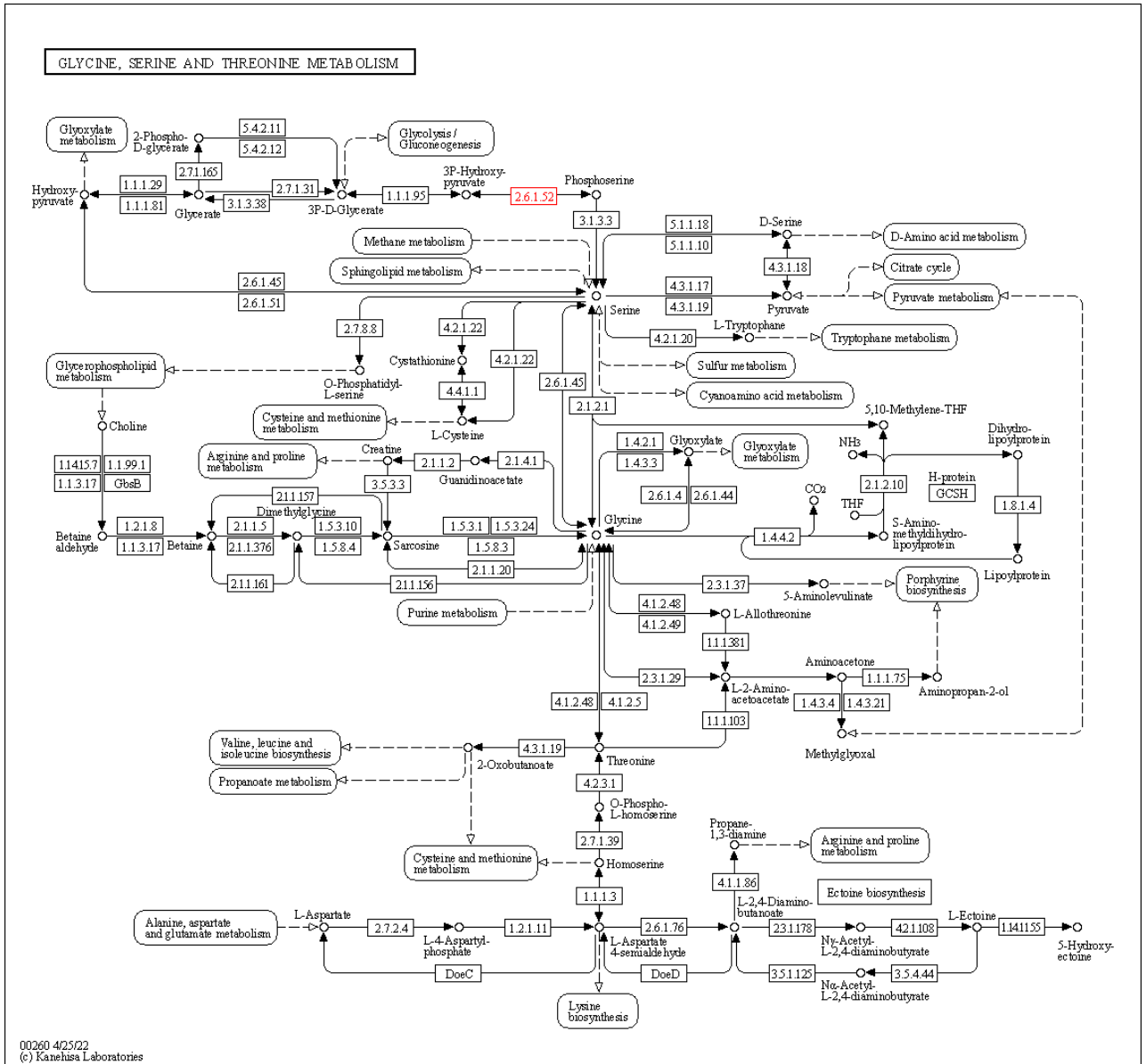


## Via 2) Metabolismo da Arginina e Prolina



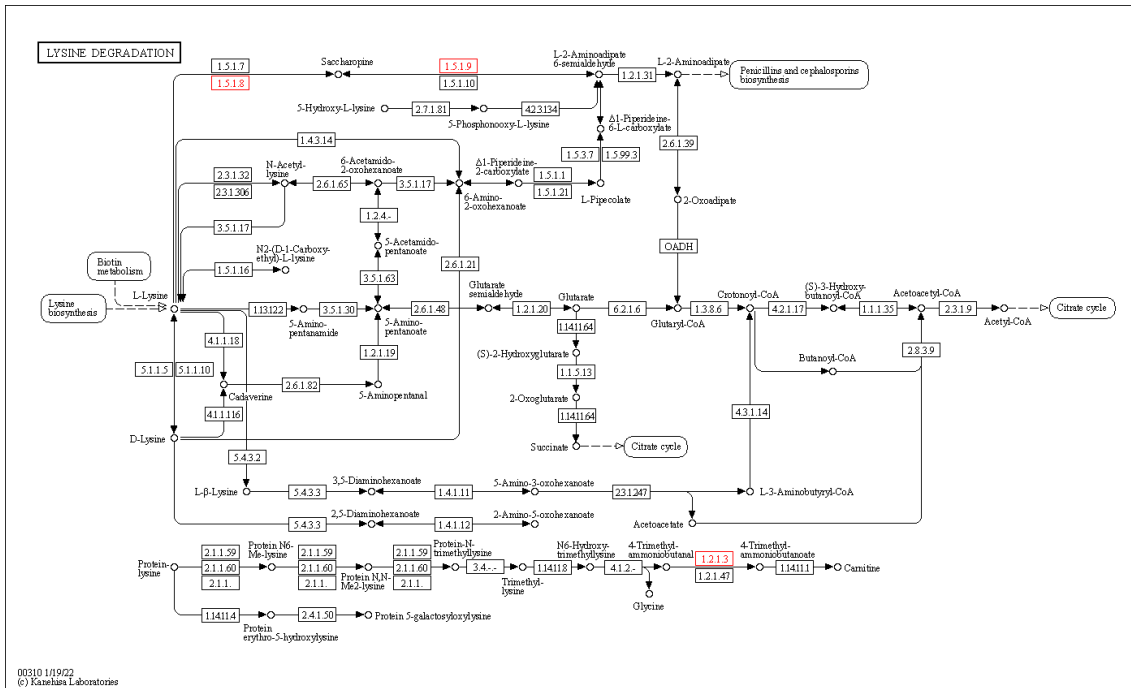


Via 4) Metabolismo da Glicina, Serina e Metionina

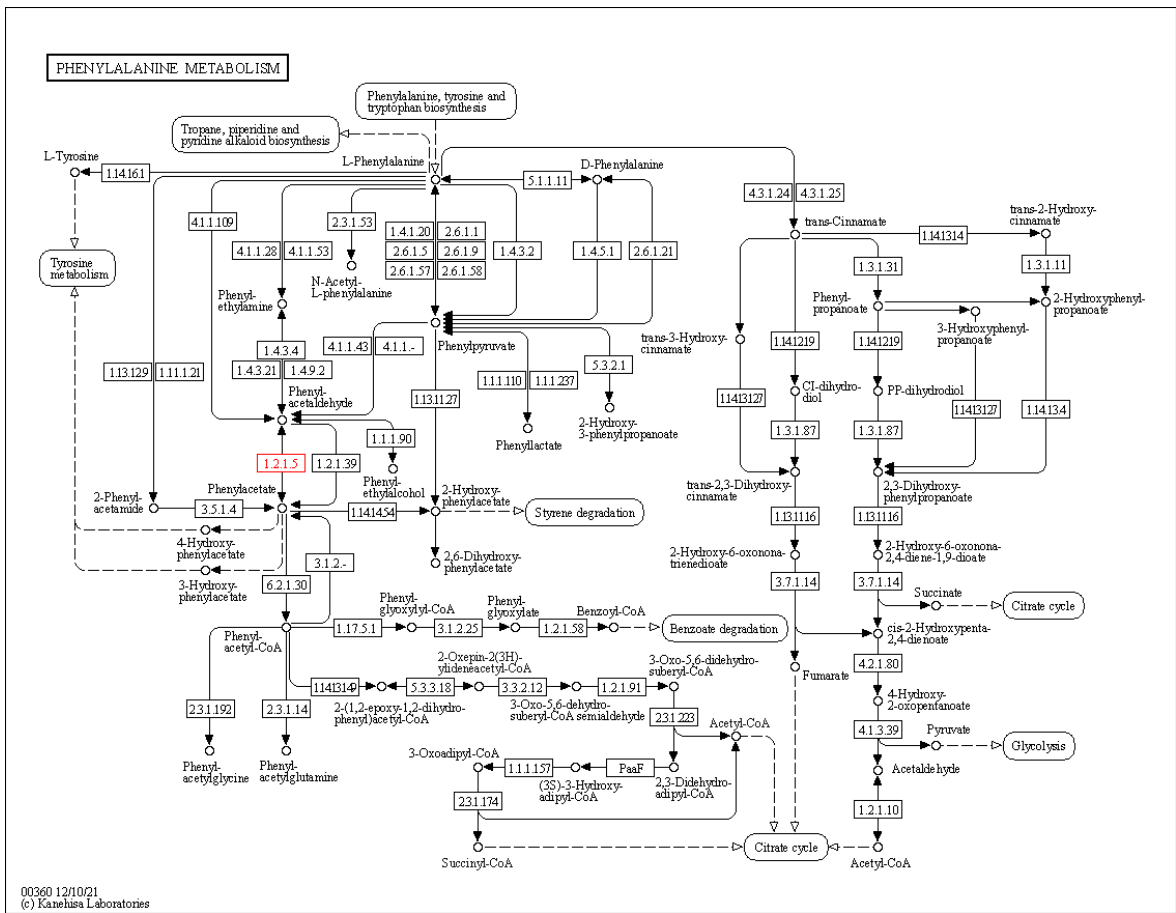




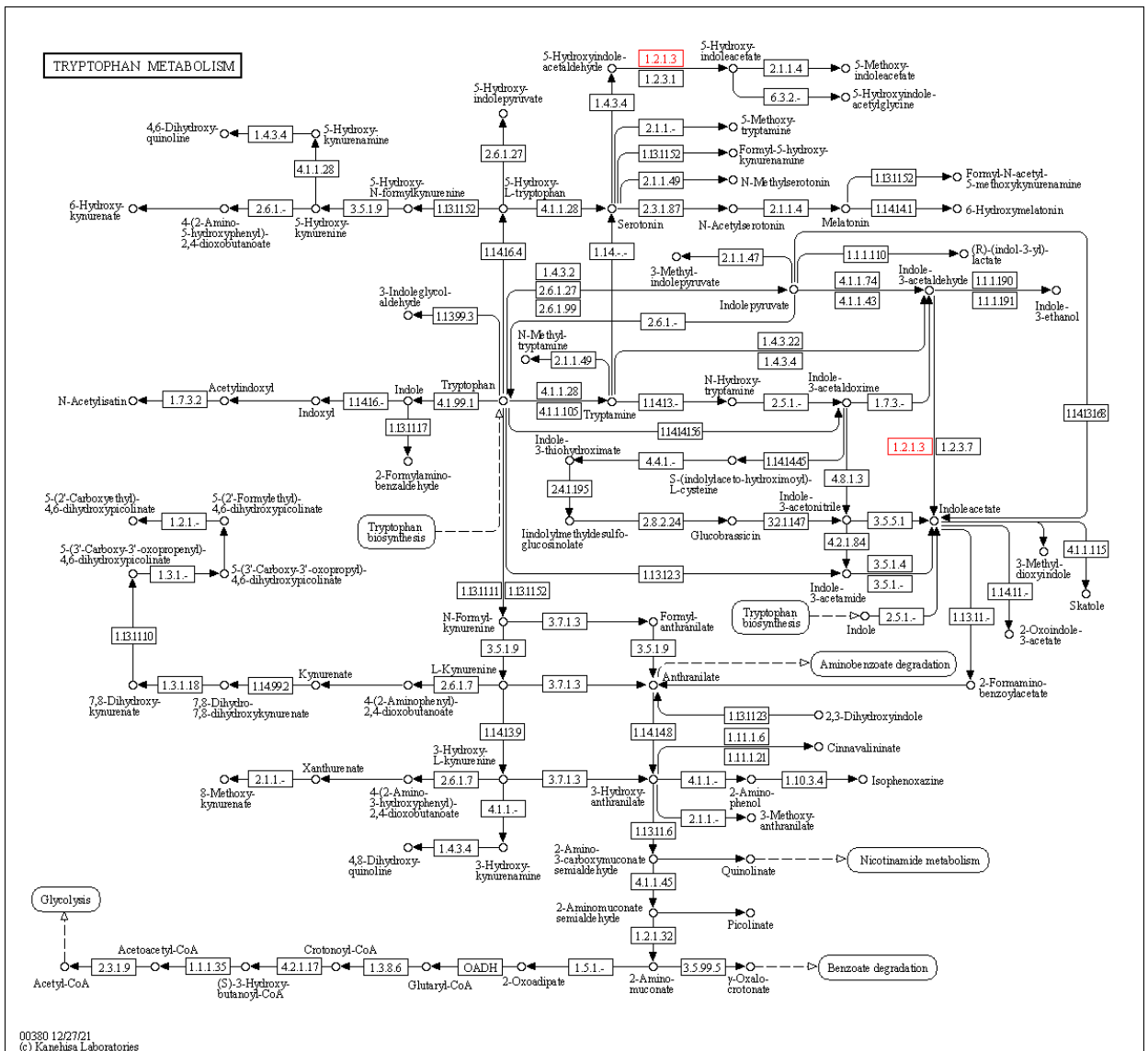
## Via 5) Degradação da Lisina



## Via 6) Metabolismo da Fenilalanina

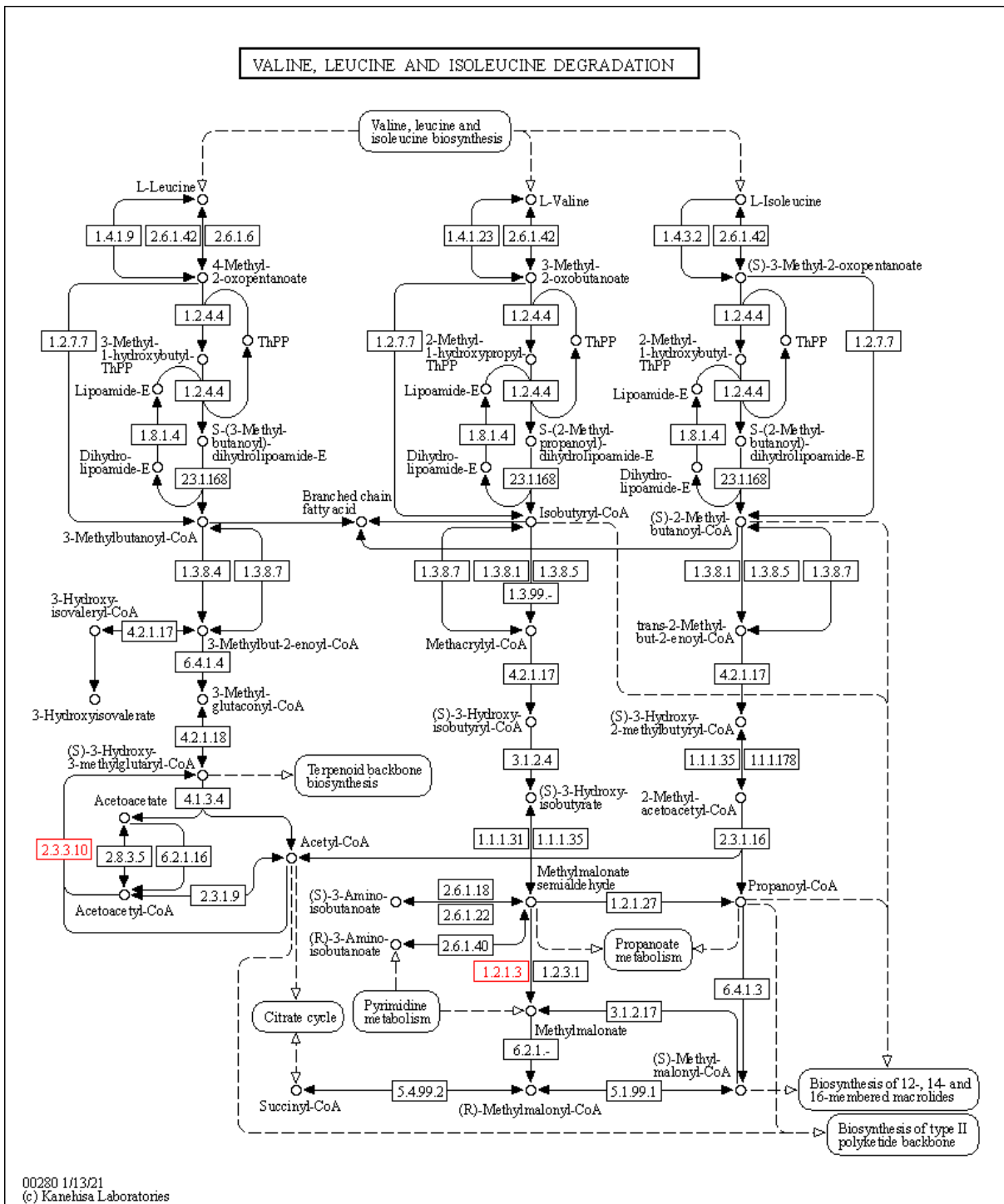


## Via 7) Metabolismo do Triptofano



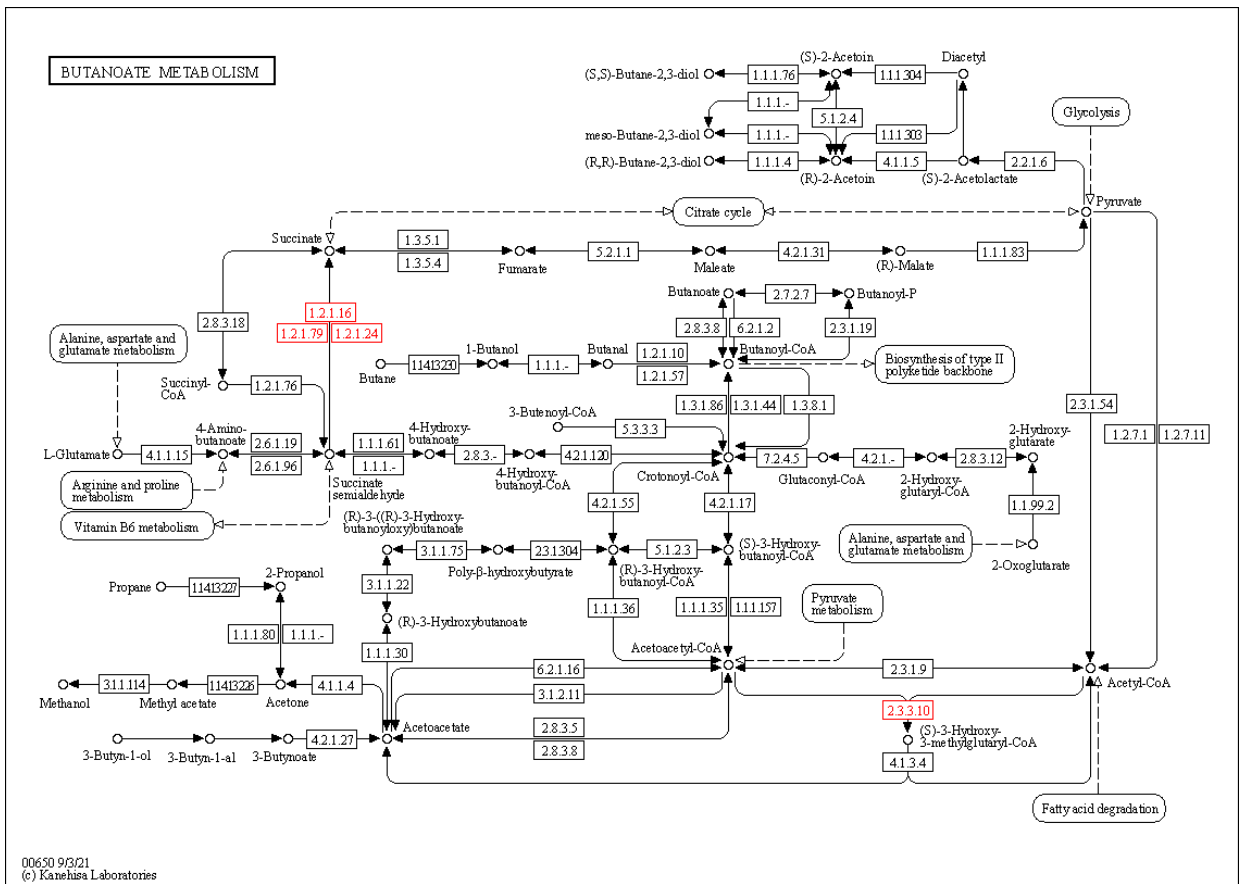


## Via 9) Degradação da Valina, Leucina e Isoleucina

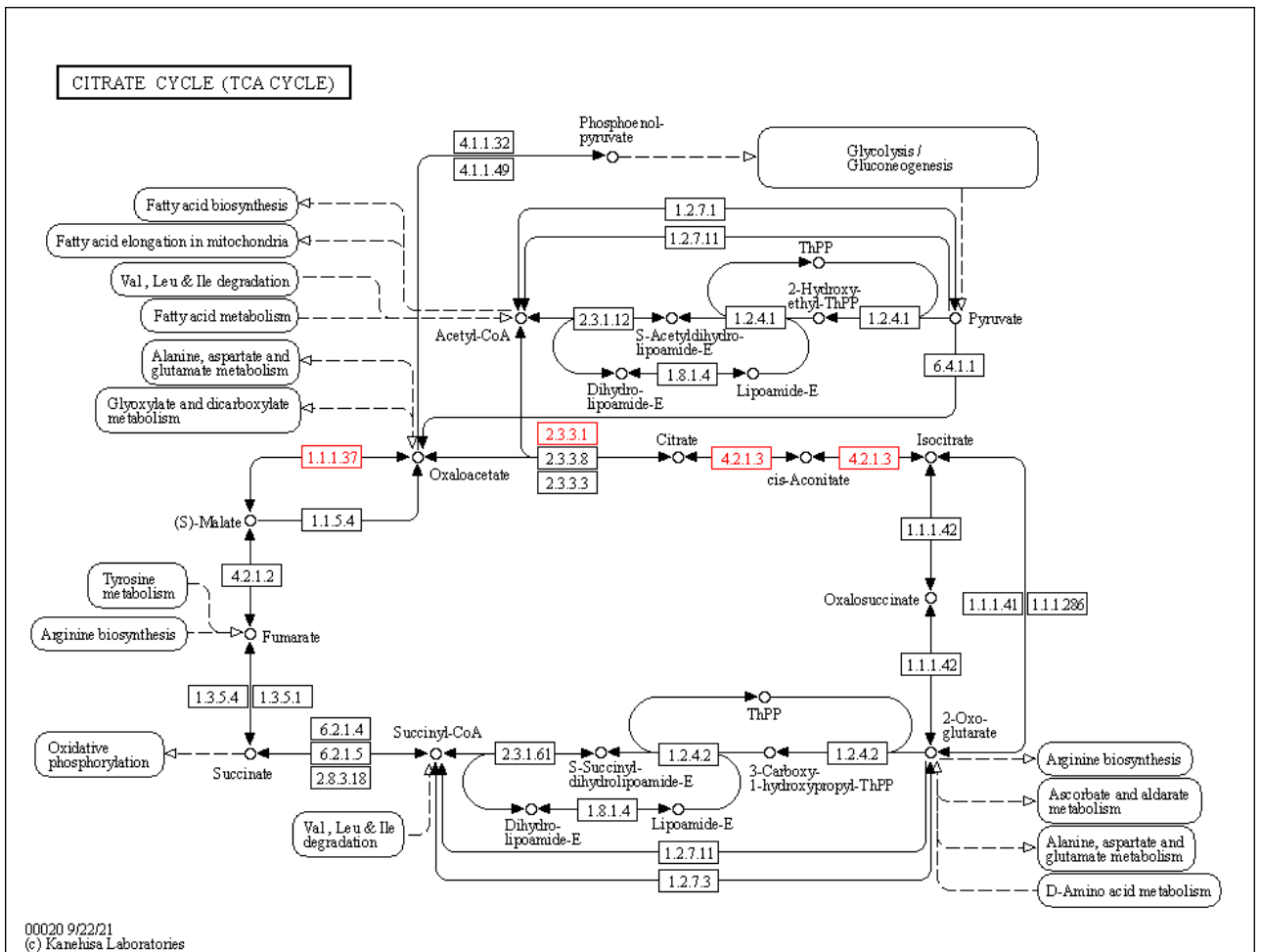




## Via 2) Metabolismo do Butanoato

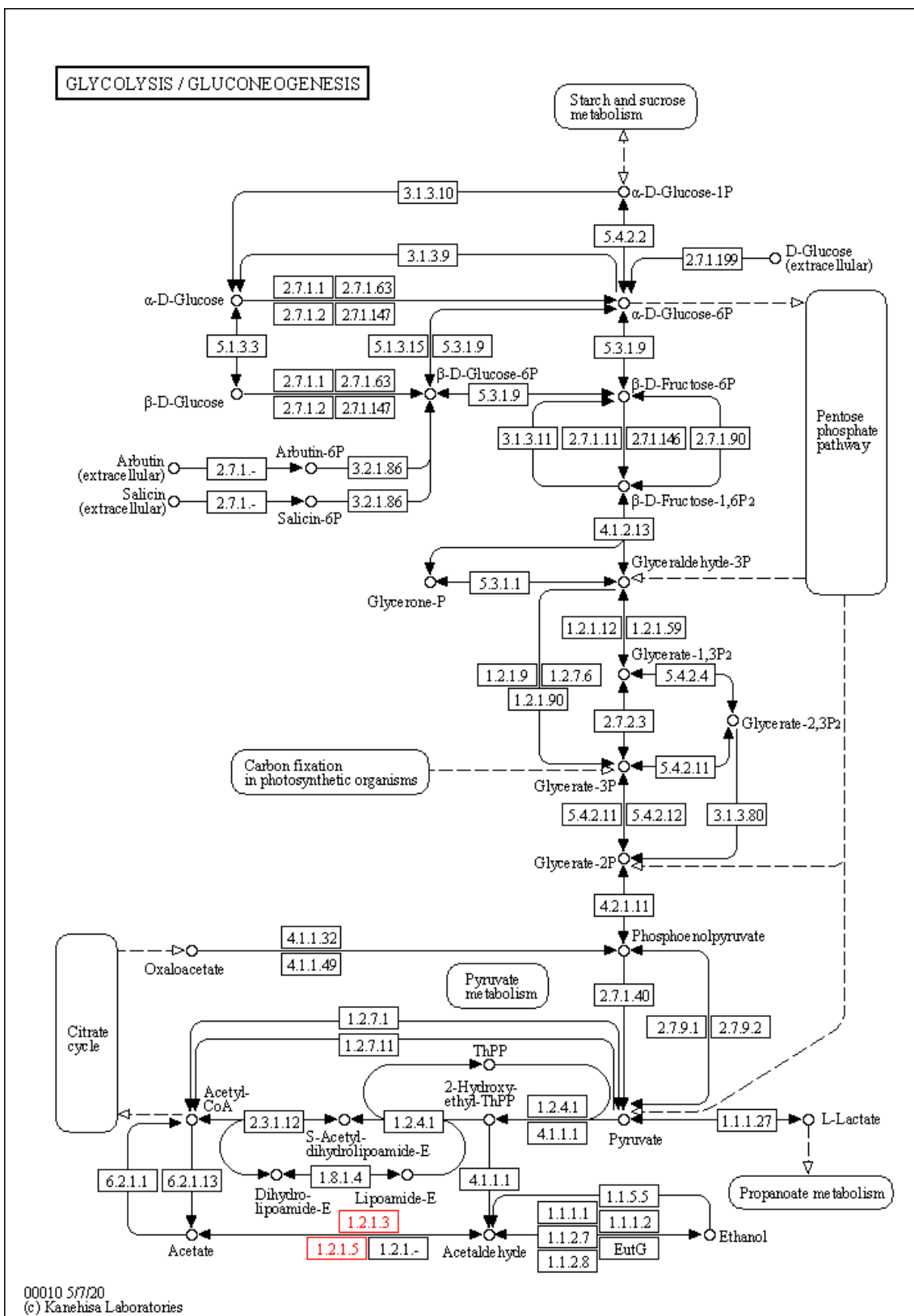


Via 3) Ciclo do Citrato

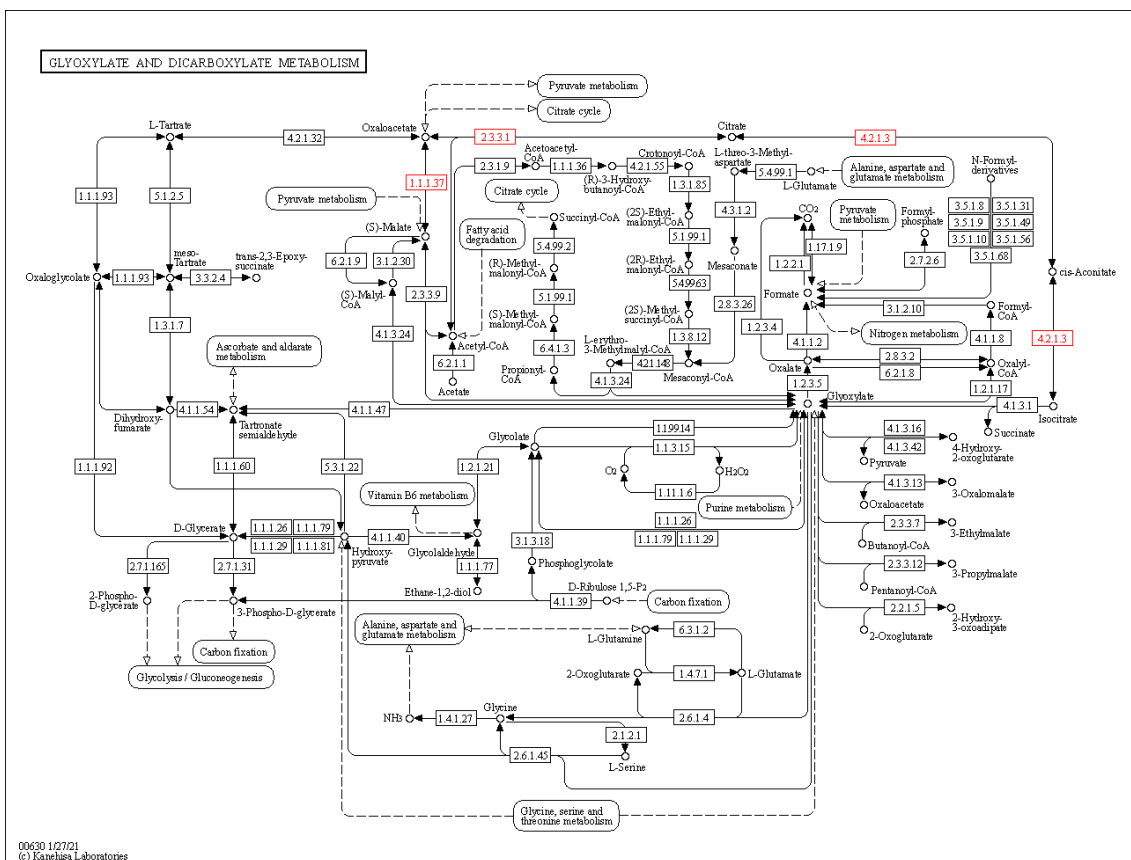




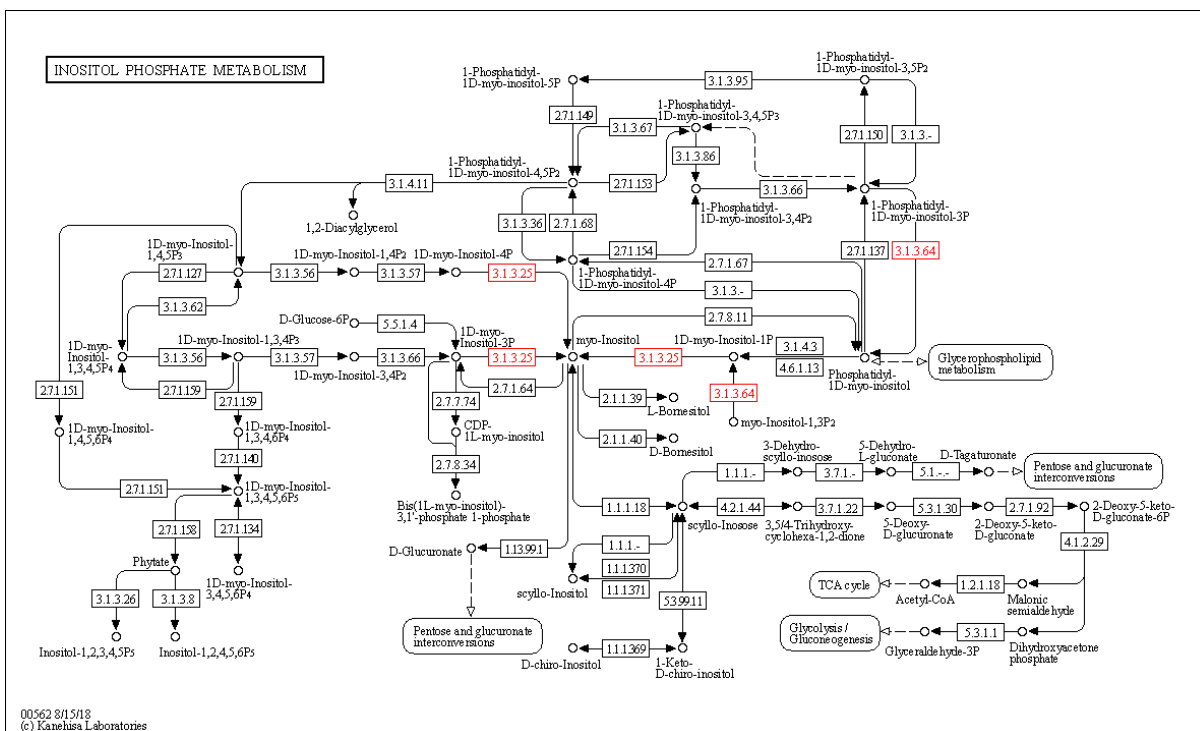
Via 4) Glicólise e Gliconeogênese



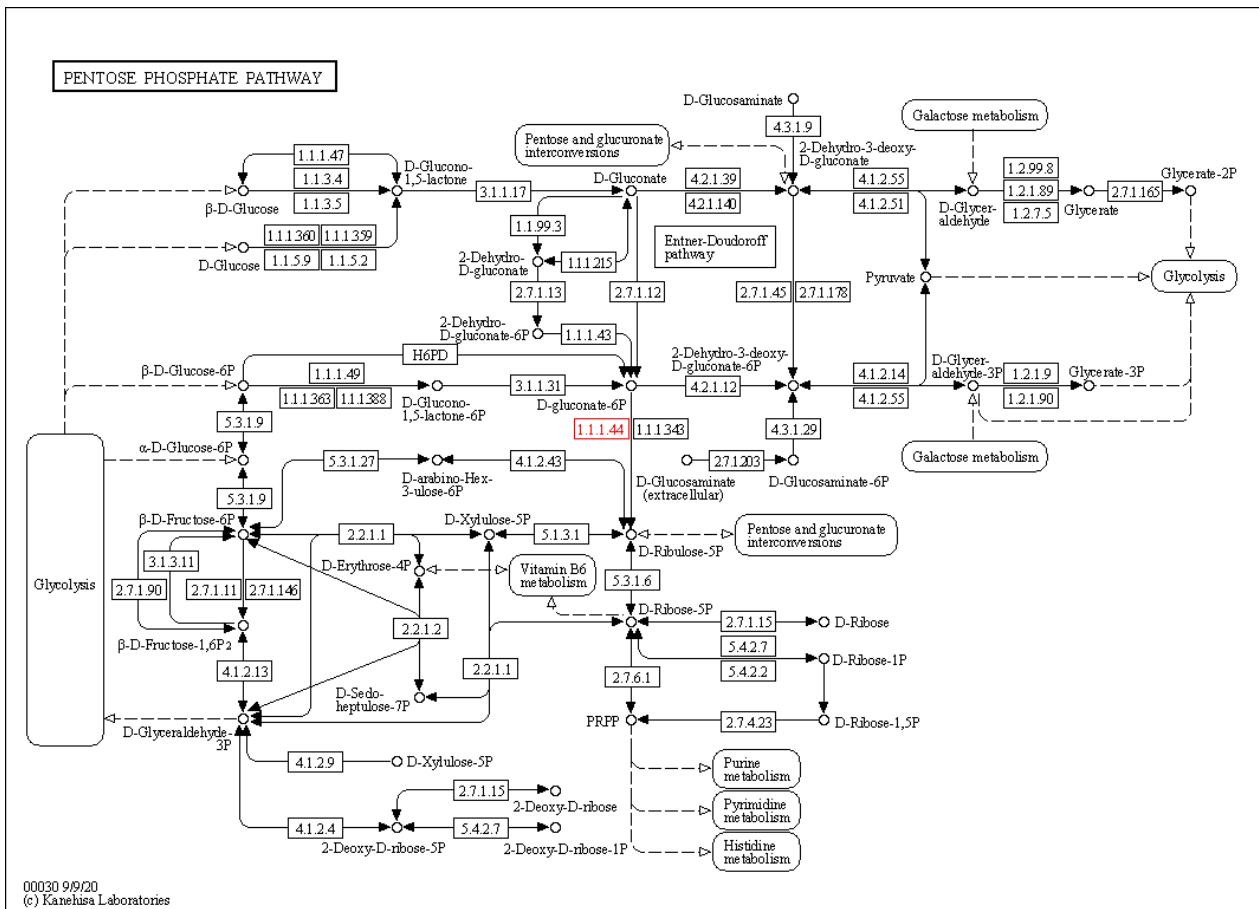
## Via 5) Metabolismo do Glioxilato e Dicarboxilato



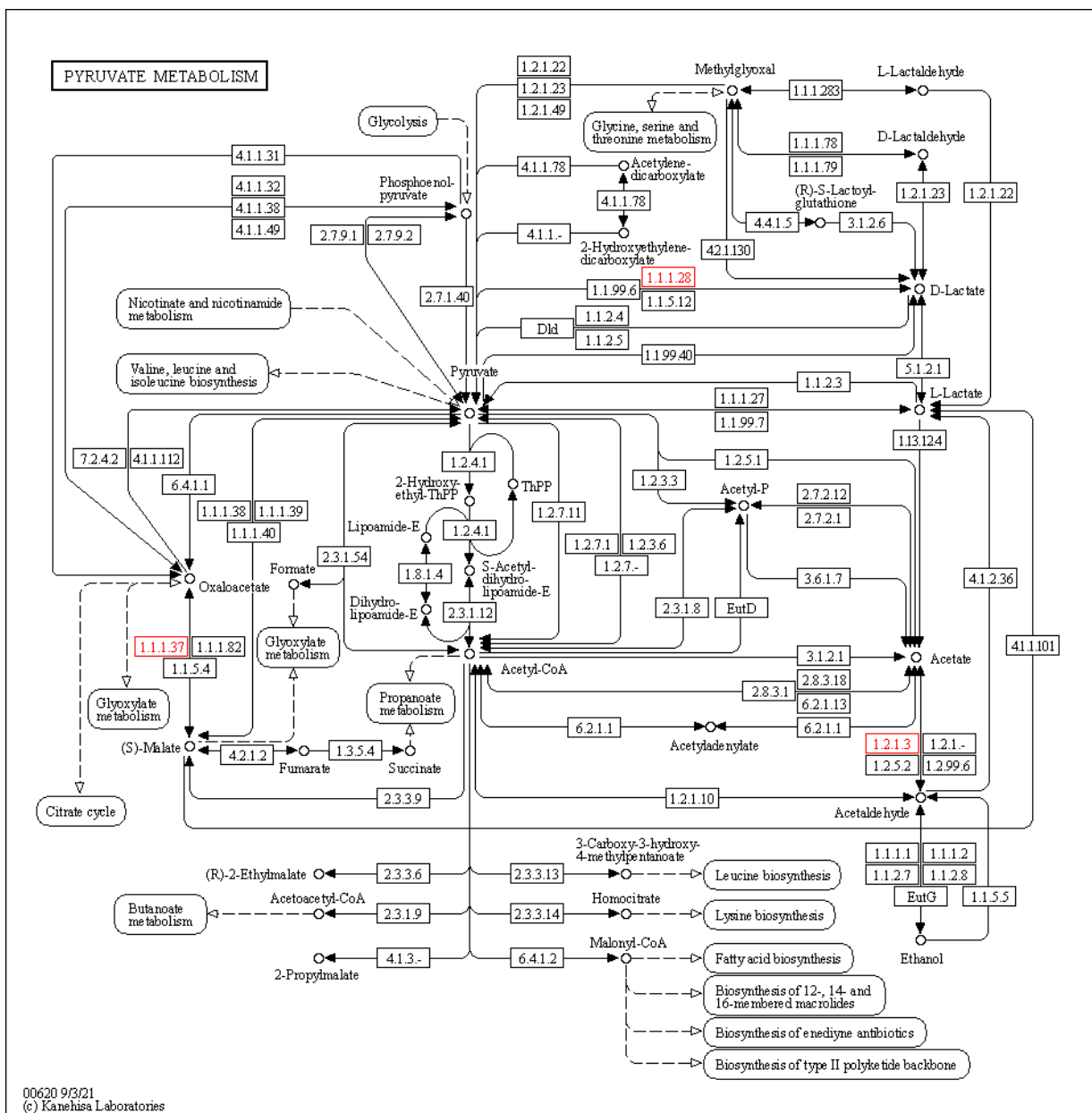
## Via 6) Metabolismo do Inositol Fosfato



Via 7) Via das Pentoses Fosfato

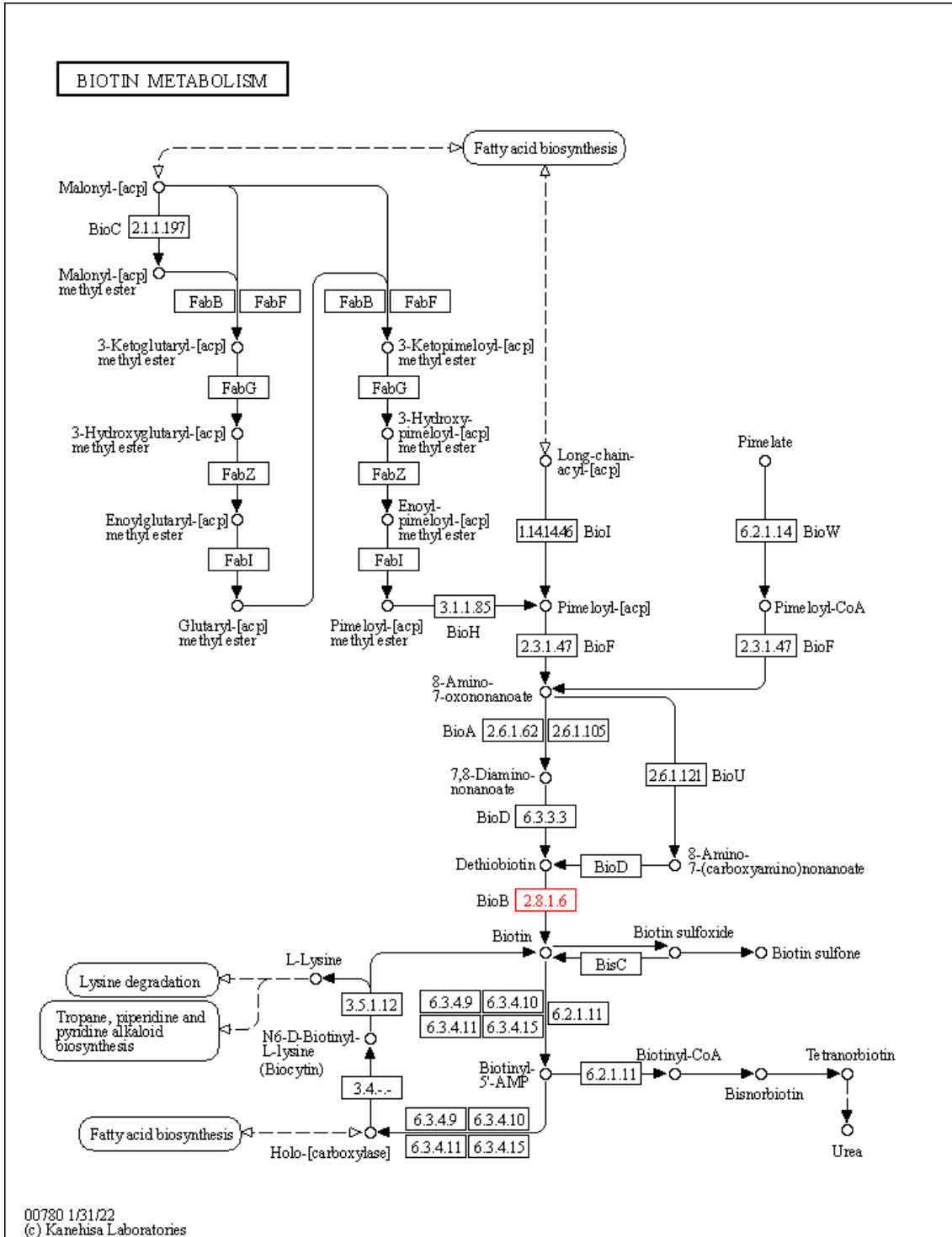


## Via 8) Metabolismo do Piruvato

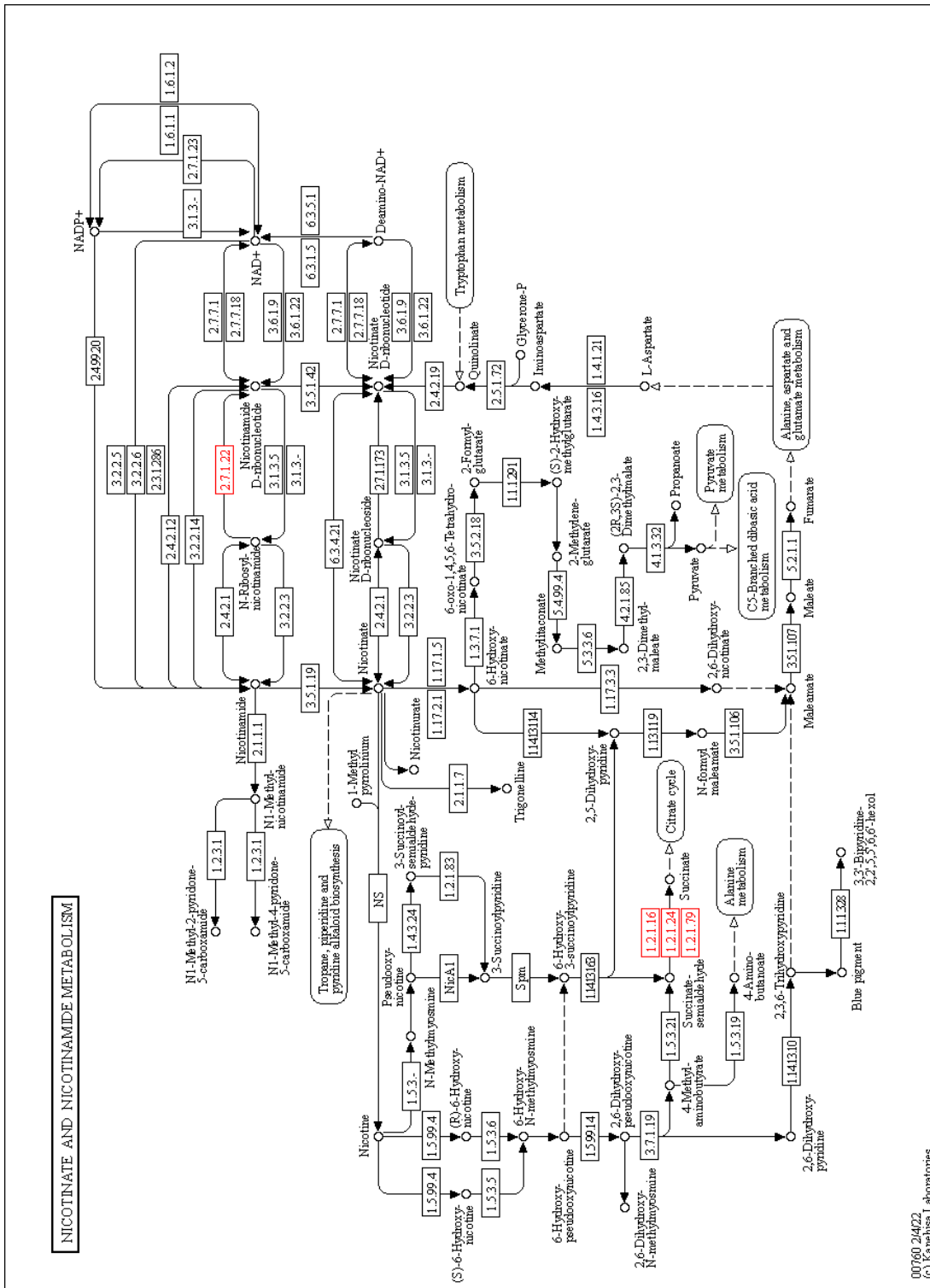


**Material suplementar 5: Vias metabólicas envolvidas no metabolismo de cofatores e vitaminas.** Os retângulos em vermelho representam as proteínas reguladas positivamente reguladas negativamente no *C. neoformans*.

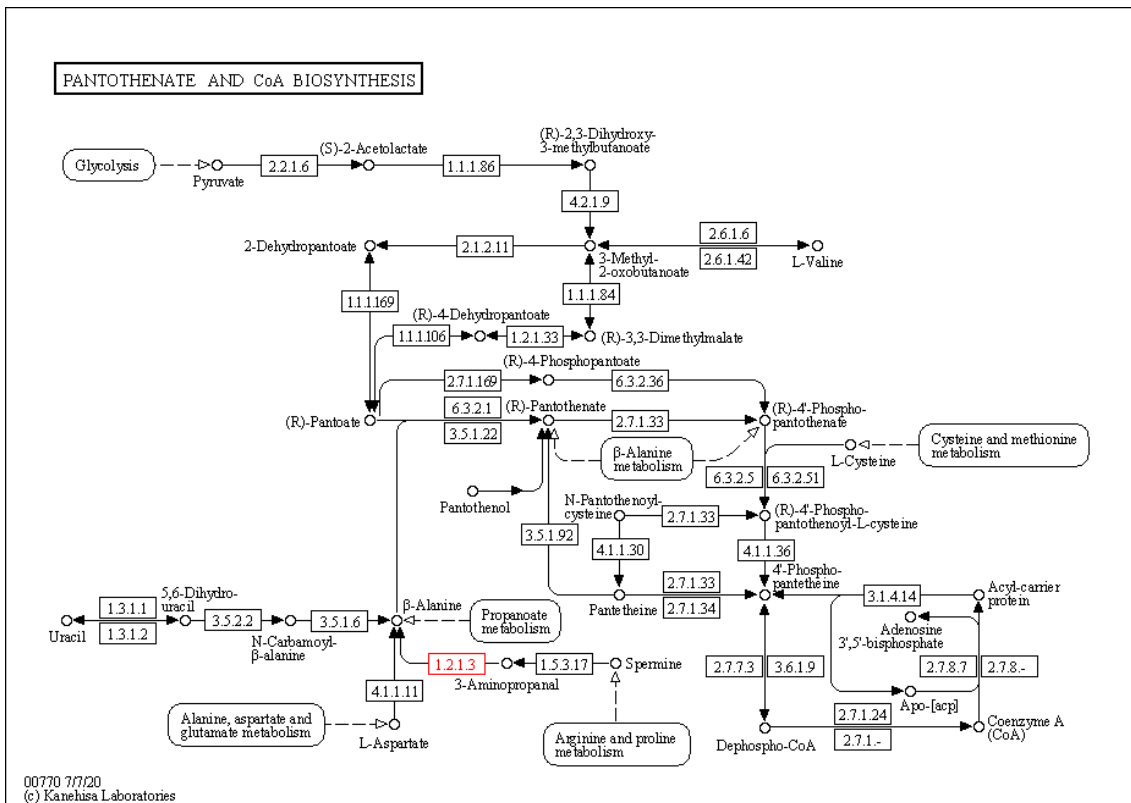
Via 1) Metabolismo da Biotina



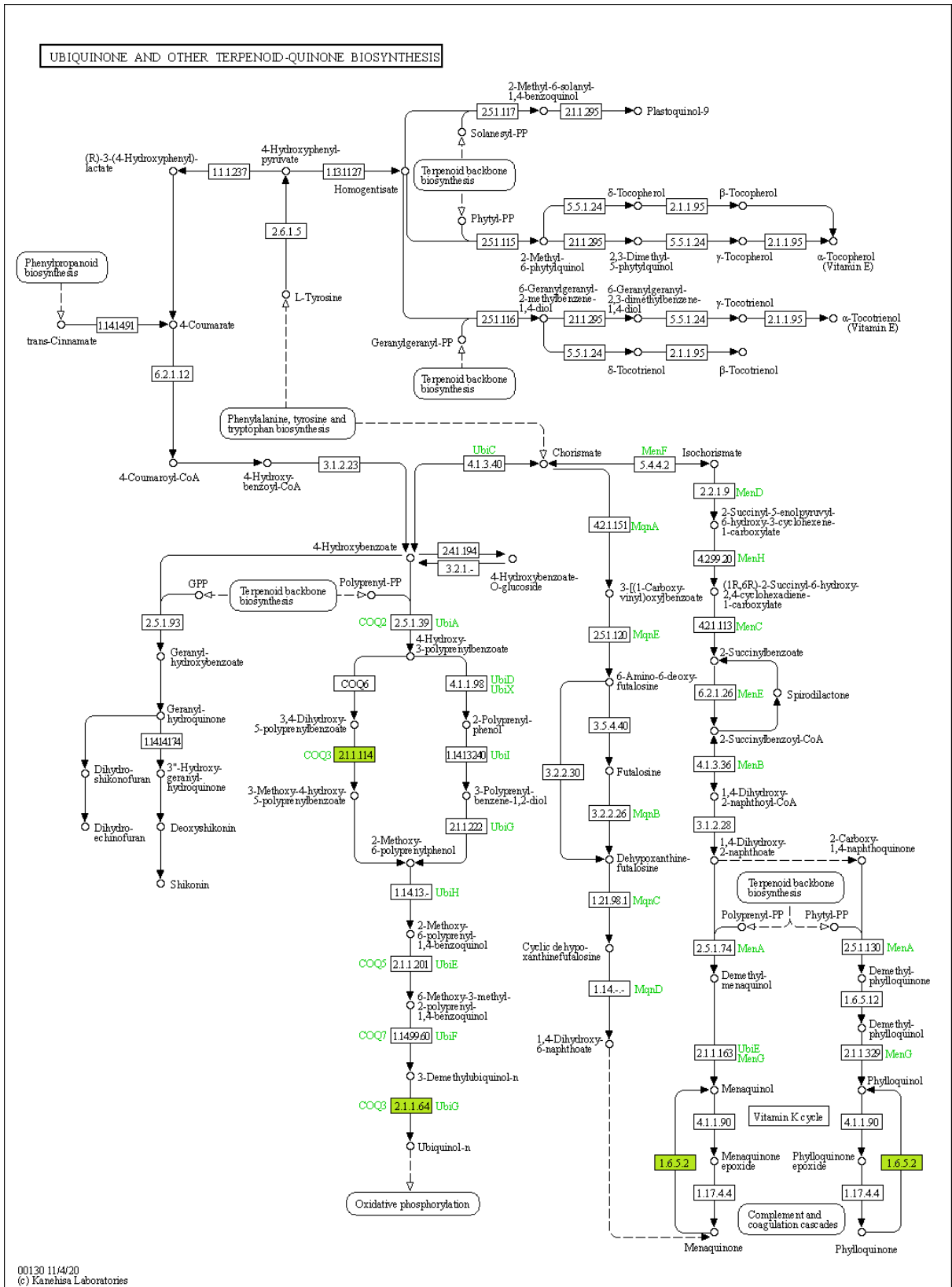
## Via 2) Metabolismo Nicotinato e Nicotinamida



### Via 3) Biossíntese de Pantotenato e CoA

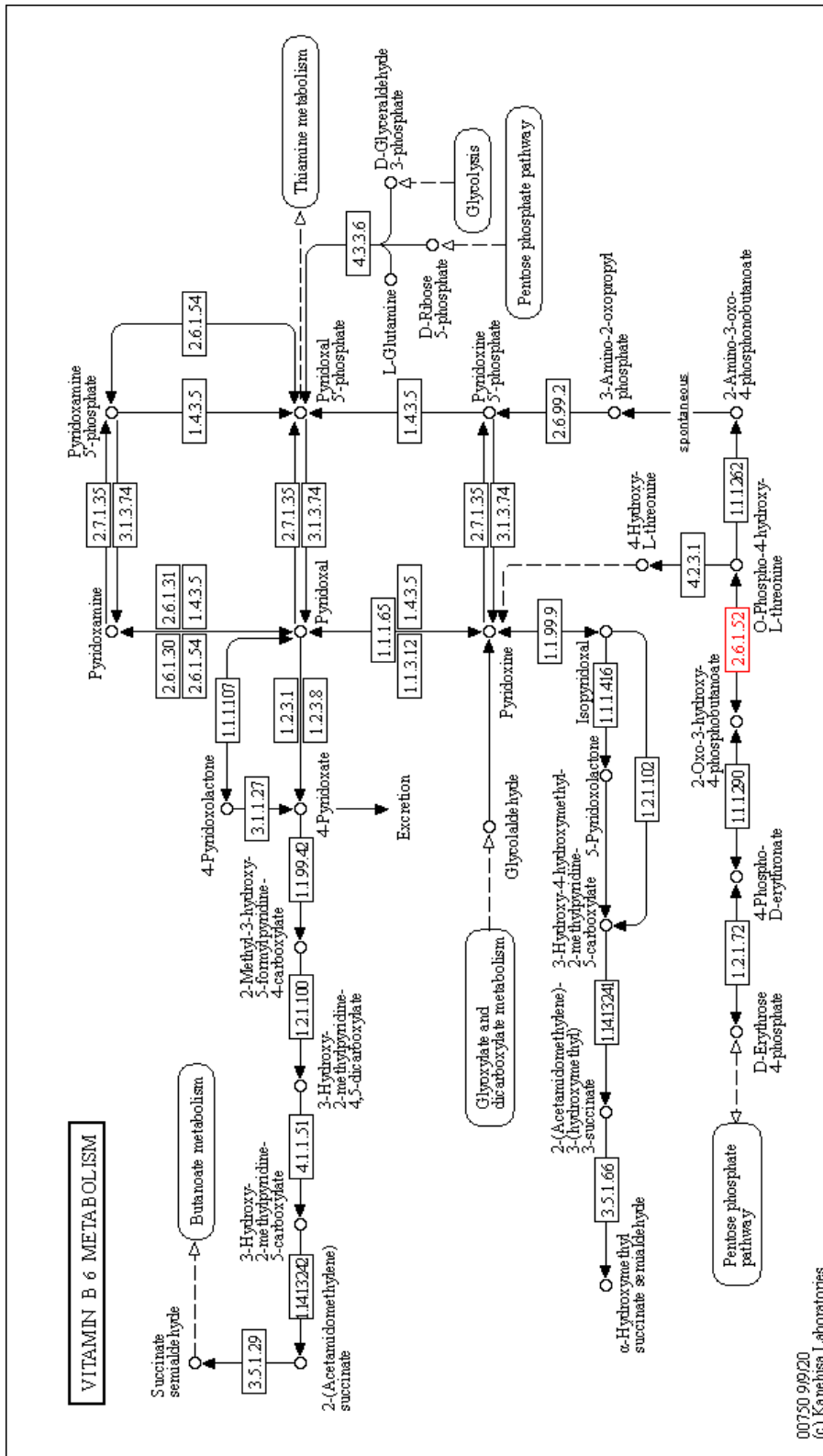


Via 4) Ubiquinona e outros terpenóides-quinona biossíntese



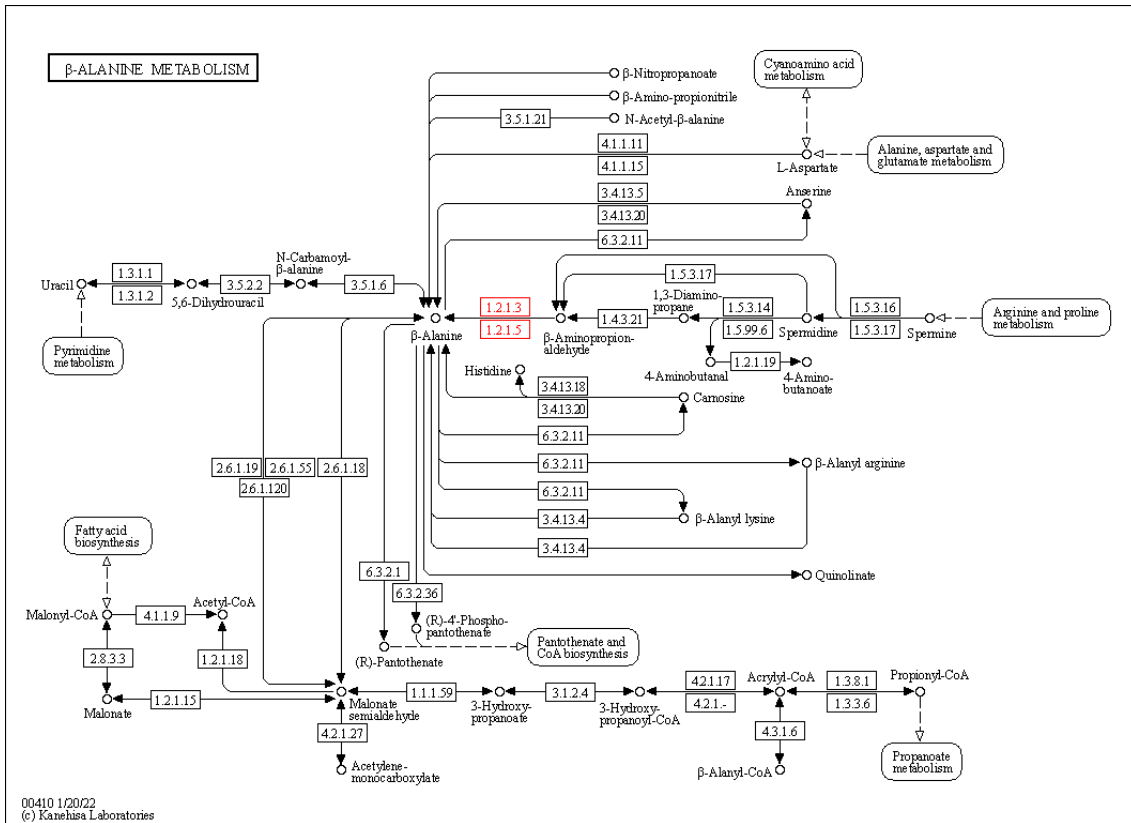


# Via 5) Metabolismo da Vitamina B6

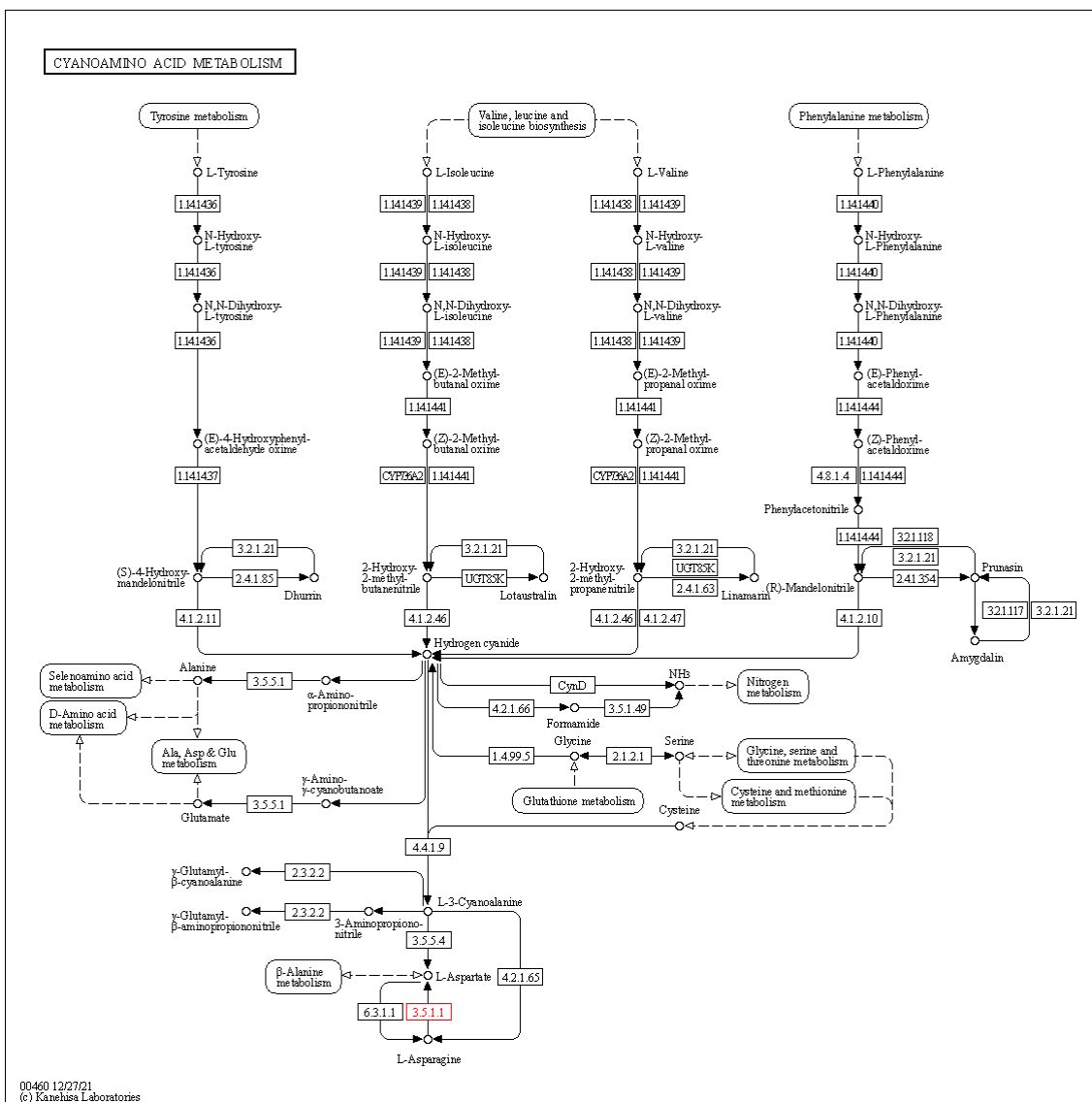


**Material suplementar 6: Vias metabólicas envolvidas no metabolismo de outros aminoácidos.** Os retângulos em vermelho representam as proteínas reguladas positivamente no *C. neoformans*.

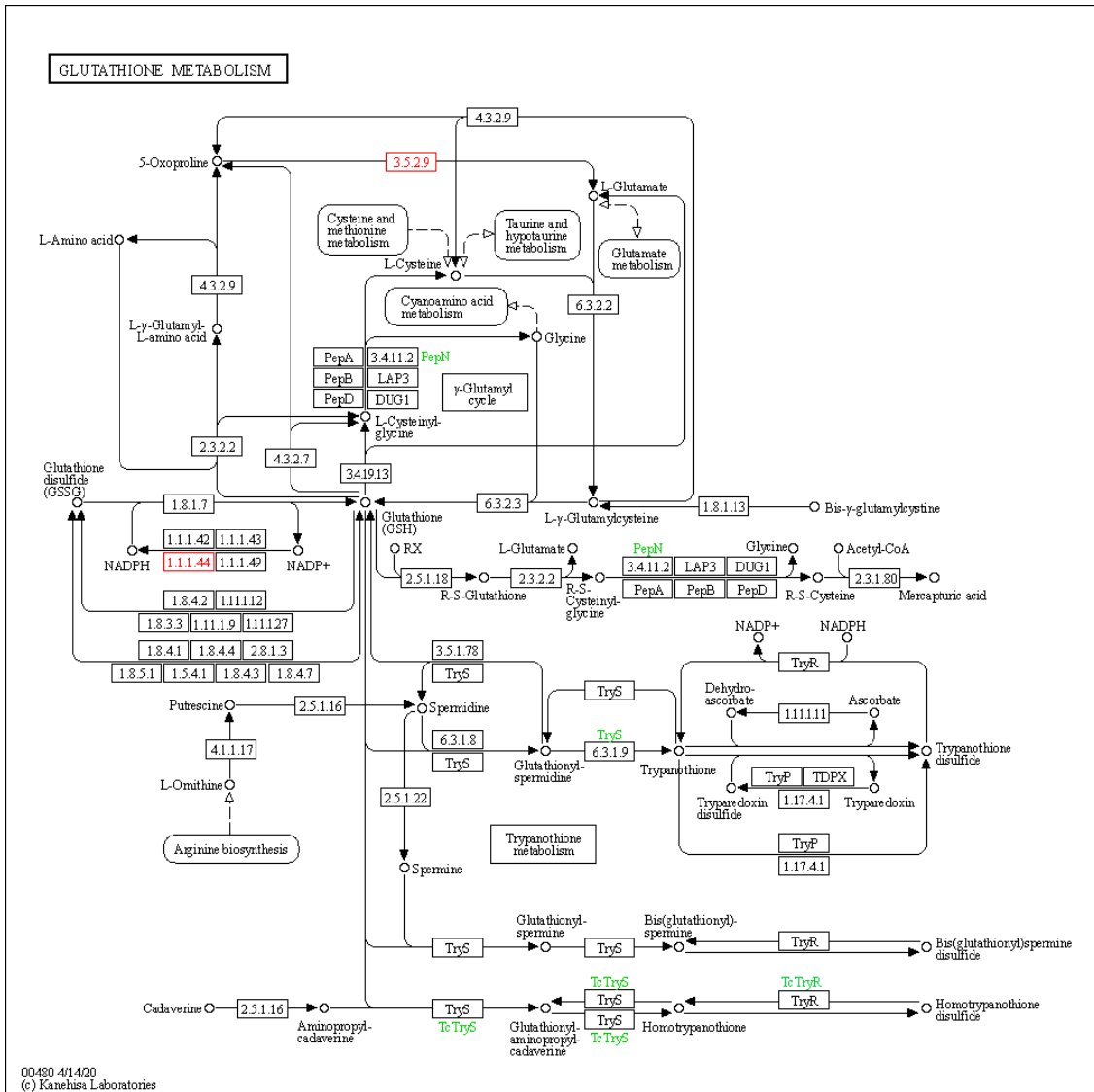
Via 1) Metabolismo da beta-alanina



## Via 2) Metabolismo do ácido cianoamino



### Via 3) Metabolismo da glutationa



## CURRICULUM VITÆ

Alves, Y. P. C.

### 1. DADOS PESSOAIS

**Nome:** Yohana Porto Calegari Alves

**Local e data de nascimento:** Canoas, Rio Grande do Sul, Brasil, 26 de Dezembro de 1997

**Endereço profissional:** Avenida Ipiranga, 2752- Faculdade de Farmácia UFRGS- Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

**Telefone:** (51) 98519-1744

**E-mail:** calegari.yohanap@gmail.com

### 2. FORMAÇÃO

**Curso de graduação:** Química Bacharelado (Universidade Federal de Santa Maria, 2017-2020)

### 3. ESTÁGIOS

**Estágio:** Central de Tutoria do CCNE (Centro de Ciências Naturais e Exatas)

Bolsa (indicar agência de fomento): UFSM

Período: 12/2020 a 03/2021

Orientador: Daíse dos Santos Vargas

**Estágio:** Central de Tutoria do CCNE (Centro de Ciências Naturais e Exatas)

Bolsa (indicar agência de fomento): UFSM

Período: 03/2020 a 10/2020

Orientador: Daíse dos Santos Vargas

**Estágio:** Embrapa Uva e Vinho

Bolsa (indicar agência de fomento): Voluntário

Período: 12/2019 a 02/2020

Orientador: Gildo Almeida da Silva

**Estágio:** Central de Tutoria do CCNE (Centro de Ciências Naturais e Exatas)

Bolsa (indicar agência de fomento): UFSM

Período: 03/2019 a 12/2019

Orientador: Daíse dos Santos Vargas

**Estágio:** Grupo de Estudos de Predição e Potencial de Contaminação de Elementos em Solos (GEPACES)

Bolsa (indicar agência de fomento): CNPq

Período: 08/2017 a 12/2018

Orientador: Gustavo Brunetto

**Estágio:** Reitoria Universidade Estadual do Rio Grande do Sul (UERGS)

Bolsa (indicar agência de fomento): CNPq e Fapergs

Período: 03/2016 a 07/2016; 08/2016 a 07/2017

Orientador: Erli Schneider Costa

#### **4. ARTIGOS COMPLETOS PUBLICADOS**

Vargas, D. S. ; Campos, M.A.A ; Facco, M ; Silveira, R. B. ; ALVES, Y. P. C. ; Bisognin, C . Tutoring as a Learning Strategy in Graduation Courses at UFSM. CIÊNCIA E NATUREA , v. 42, p. 1-12, 2019.

ALVES, Y. P. C. ; Facco, M ; Campos, M.A.A ; Vargas, D. S. ; Bisognin, C . ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DO VINHO VERDE: UMA APLICAÇÃO DO MODELO DE REGRESSÃO BETA. In: Yohana Porto Calegari Alves, Maicon Facco, Marco Antônio de Azevedo de Campos, Daíse dos Santos Vargas, Cleber Bisognin. (Org.). ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO QUÍMICAS DO VINHO VERDE: UMA APLICAÇÃO DO MODELO DE REGRESSÃO BETA. 1ed.: , 2019, v. 1, p. 101-110.

#### **5. RESUMOS E TRABALHOS APRESENTADOS EM CONGRESSOS**

Alves, Y. P. C., G. A. da Silva, B. C. Agustini, and N. G. Penna. 2020. "Caracterização de Leveduras Isoladas Do Mosto de Uvas 'Cabernet Franc' Da

Região de Bento Gonçalves-RS.” Bento Gonçalves. Anais... Bento Gonçalves: Embrapa Uva E Vinho, P 19. <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/1131428>.

ALVES, Y. P. C. ; GONCALVES, T. S. ; COSTA, E. S. ; SILVA, R. A. . UM ESTUDO DE GÊNERO SOBRE DISCENTES DOS CURSOS DE GRADUAÇÃO E BOLSISTAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UERGS. In: VI Salão Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão & Ila Jornada de Pós-graduação da UERGS, 2016, Bagé. VI Salão Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão & Ila Jornada de Pós-graduação da UERGS. UERGS: UERGS, 2016. p. 01-04.

ALVES, Y. P. C. ; COSTA, E. S. . PERFIL DO ALUNO INGRESSANTE NO CURSO DE GESTÃO AMBIENTAL NA UNIDADE DE SOLEDADE DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL. In: VI Salão Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão & Ila Jornada de Pós-graduação da UERGS, 2016, Bagé. VI Salão Integrado de Ensino, Pesquisa e Extensão & Ila Jornada de Pós-graduação da UERGS. UERGS: UERGS, 2016. p. 01-01.

ALVES, Y. P. C. ; BATISTA, V. O. ; AUMOND, A. C. F. ; SILVA, S. S. M. ; COSTA, E. S. ; PIUCO, R. C. . CAMINHOS DA UVA: DO PLANTIO A MESA DO CONSUMIDOR. In: IV Simpósio da APECS-Brasil: 'Legado e perspectivas do Protocolo de Madrid: 25 anos de história e os próximos 25 anos' Leia mais: <http://www.apecsbrasil.com/simpoiv/>, 2016, Brasília. IV Simpósio da APECS-Brasil:. APECS BRASIL: APECS BRASIL, 2016. p. 32-32.

ALVES, Y. P. C. ; COSTA, E. S. ; GONCALVES, T. S. ; SILVA, R. A. . Um levantamento sobre gênero nos cursos de graduação da UERGS. 2016. (Apresentação de Trabalho/Outra).