



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de Ciencias e Ingeniería

“Caracterización de la expresión de genes marcadores de posición anteroposterior de la vía de señalización Wnt durante el desarrollo de *Taenia solium* desde huevecillo hasta cisticerco evaginado *in vitro*”

Trabajo de Investigación para optar el Grado de Bachiller en Ciencias con
mención en Biología

Autores:

Ana Claudia Palacios Ochoa

Asesor:

Mg. Juan Blume La Torre

Lima – Perú

2023

Caracterización de la expresión de genes marcadores de posición anteroposterior de la vía de señalización Wnt durante el desarrollo de *Taenia solium* desde huevecillo hasta cisticerco evaginado in vitro

INFORME DE ORIGINALIDAD

11%	8%	6%	1%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	hdl.handle.net Fuente de Internet	4%
2	Muñoz Bello Jesús Omar. "Regulación de la vía de señalización celular WNT/ β -catenina por las proteínas E6 y E6*I del VPH-18 a través del factor transcripcional TCF-4", TESIUNAM, 2019 Publicación	2%
3	Submitted to Universidad Peruana Cayetano Heredia Trabajo del estudiante	1%
4	Ana Isabel Ospina Caicedo, David Andrés Ballesteros, María Consuelo Romero Sánchez, Juan Carlos Munevar Niño. "La proteína Dickkopf-1 y el lupus eritematoso sistémico: nuevos campos en investigación", Revista Colombiana de Reumatología, 2016 Publicación	<1%

Tabla de contenido

Resumen	1
Abstract	2
Estado del arte... ..	3
1. La vía de señalización Wnt.....	3
1.1 Vía canónica vs no canónica	3
1.2 Papel en la especificación del eje anteroposterior durante el desarrollo embrionario en metazoos.....	4
2. Papel de la vía Wnt en la especificación del eje anteroposterior durante diferentes estadios de desarrollo larvales en platelmintos parásitos.....	5
2.1 Morfología y desarrollo de los platelmintos parásitos... ..	5
2.2 Conservación de los genes de la vía Wnt que especifican el eje anteroposterior durante el desarrollo del metacéstode <i>E. multilocularis</i> e <i>H. microstoma</i>	6
2.3 Expresión de los genes de la vía Wnt durante el proceso de estrobilación en <i>H. microstoma</i> y <i>Moniezia expansa</i>	7
3. El papel de la vía de señalización Wnt en estadios de desarrollo de <i>T. solium</i>	
3.1 Ciclo de vida de <i>T. solium</i>	8
3.2 Estudios sobre los genes wnt en Taeniidae... ..	9
3.3 Métodos de estudio in vitro de la forma postoncosferal y del cisticerco evaginado	9
Problema y justificación... ..	10
Estrategia de investigación... ..	11
Anexos... ..	12
Referencias Bibliográficas	16

Resumen:

La vía de señalización Wnt se encarga de especificar el eje anteroposterior (genes de control de posición) durante la embriogénesis y es una vía conservada en metazoos (1). En las planarias, platelmintos de vida libre, hay genes de la vía que mantienen el eje anteroposterior durante la regeneración y el recambio de tejidos. Se ha visto una expresión diferenciada de los genes *wnt1*, *wnt11-a*, *wnt11-b* y del receptor frizzled 4 en la parte posterior de la planaria, así como de los inhibidores de Wnt; *sfrp* y *sfl* en la parte anterior (2,3). La expresión regionalizada de estos genes se ha conservado en platelmintos parásitos de la clase Cestoda como en *Echinococcus multilocularis* e *Hymenolepis microstoma* durante su etapa larval (4,5). Además de la expresión durante el desarrollo, los genes de la vía Wnt en *H. microstoma* también especifican el eje anteroposterior durante la estrobilación del gusano adulto (4). *Taenia solium*, otro platelminto parásito de la clase Cestoda, causa la neurocisticercosis y teniasis en humanos, sin embargo, se sabe muy poco sobre su desarrollo (6). El presente trabajo tiene como objetivo identificar genes homólogos de la vía Wnt (*wnt1*, *wnt11-a*, *wnt11-b*, *wnt2* y *fz4*) y caracterizar su expresión durante el desarrollo de *T. solium* desde huevecillo hasta cisticerco evaginado. Este trabajo es importante porque permitiría entender la implicancia de la vía Wnt en el desarrollo de este parásito y utilizar esta información para buscar nuevos blancos terapéuticos que prevengan su propagación en humanos.

Palabras clave: Vía Wnt, eje anteroposterior, platelmintos parásitos, huevecillo, cisticerco

Abstract:

The Wnt signaling pathway is responsible for specifying the anteroposterior axis (position control genes) during embryogenesis and is a conserved pathway in metazoans (1). In planarians, free-living flatworms, there are genes of the pathway that maintain the anteroposterior axis during regeneration and tissue turnover. Differential expression of the genes *wnt1*, *wnt11-a*, *wnt11-b* and frizzled receptor 4 has been seen in the posterior part of the planarian, as well as Wnt inhibitors; *sfrp* and *sfl* in the anterior part (2,3). Regionalized expression of these genes has been conserved in parasitic flatworms of the Cestoda class such as *Echinococcus multilocularis* and *Hymenolepis microstoma* during their larval stage (4,5). In addition to expression during development, Wnt pathway genes in *H. microstoma* also specify the anteroposterior axis during adult worm strobilation (4). *Taenia solium*, another parasitic flatworm of the class Cestoda, causes neurocysticercosis and taeniasis in humans; however, little is known about its development (6). The present work aims to identify homologous genes of the Wnt pathway (*wnt1*, *wnt11-a*, *wnt11-b*, *wnt2* and *fz4*) and to characterize their expression during the development of *T. solium* from egg to evaginated cysticercus. This work is important because it would allow us to understand the implication of the Wnt pathway in the development of this parasite and to use this information to search for new therapeutic targets to prevent its spread in humans.

Key words: Wnt pathway, anteroposterior axis, parasitic flatworms, egg, cysticercus

Estado del arte

1. La vía de señalización Wnt

La vía de señalización Wnt es una vía de comunicación celular de corto alcance (10). Esta vía incluye genes de la propia vía y sus inhibidores, que se pueden unir a sus receptores como a los ligandos de la vía (4). Durante la embriogénesis cumple diversas funciones en procesos como la diferenciación celular, establecimiento de los ejes corporales, proliferación celular, migración y apoptosis (4). La vía Wnt apareció con la multicelularidad en los metazoos y es muy conservada, principalmente en su función de establecer el eje anteroposterior (9,10).

1.1 Vía canónica vs no canónica

La vía Wnt incluye ligandos, receptores de membrana, componentes intracelulares e inhibidores. Se han identificado dos formas de la vía Wnt de acuerdo con la activación o no de la β -catenina (4). La primera y la más estudiada es la vía canónica o dependiente de β -catenina. Esta vía se activa cuando los ligandos Wnt se unen al complejo del receptor Frizzled (Fz) y al co-receptor Lrp5/6 que transmiten la señal hacia el interior de la célula. La proteína Dishevelled (Dvl) es reclutada e interactúa con el complejo de destrucción que incluye a las quinasas GSK3 y CK1, que se encargan de fosforilar a la β -catenina y, por lo tanto, promueven su degradación (4). Sin embargo, cuando se inactivan, la β -catenina se transloca al núcleo y junto con factores de transcripción como Tcf/Lef promueven la transcripción de genes blancos que incluye a genes propios de la vía (4,9).

La segunda vía es la no canónica, que es independiente de β -catenina. De igual forma que la anterior se activa cuando los ligandos se unen al receptor Fz, se recluta a Dvl, pero se activan otras proteínas como RhoA, JNK y vías dependientes de Ca^{2+} (10). En las vías no canónicas, los ligandos también se pueden unir a otros receptores como ROR o RYC (11). A pesar de que se

definen como vías separadas no se excluyen mutuamente tanto en funciones como en componentes (11).

1.2 Papel en la especificación del eje anteroposterior durante el desarrollo embrionario en metazoos

La vía Wnt se encarga de especificar el eje primario durante el desarrollo de los metazoos, dependiendo del animal puede ser oral-aboral, animal-vegetal, anteroposterior o dorsoventral (10). Se ha documentado la conservación de los genes *Wnt* en diferentes metazoos (10) **Anexo 1**. En los pre-bilaterales, los genes *Wnt* se expresan en la región posterior y en los bilaterales de forma polarizada a lo largo del eje primario (1).

En los metazoos pre-bilaterales como el cnidario *Nematostella*, el eje primario es oral-aboral. En estos animales, se ha encontrado la expresión de los genes Wnt en la región oral y la expresión de sus inhibidores en la zona aboral (1). En estos metazoos basales la función de la vía Wnt consiste en especificar la región posterior del eje primario (10). En el caso de protostomados y deuterostomados, la vía Wnt se encarga de especificar el eje anteroposterior en los diversos tejidos durante el desarrollo como la identidad posterior de las células del neuroectodermo en *Xenopus* (1).

En las planarias, platelmintos de vida libre, los genes *Wnt* se expresan predominantemente en la región posterior y sus inhibidores en la región anterior durante la regeneración y el recambio de tejidos (1-3). Estos datos nos muestran que la vía Wnt a lo largo de la evolución se ha visto involucrada en controlar la identidad posicional del eje anteroposterior en los diversos animales (1).

2. Papel de la vía Wnt en la especificación del eje anteroposterior durante diferentes estadios de desarrollo en platelmintos parásitos

2.1 Morfología y desarrollo de los platelmintos parásitos

Los platelmintos de la clase Cestoda son endoparásitos que necesitan a más de un hospedero para completar su ciclo de vida (4). El gusano adulto se encuentra en el hospedero definitivo y es sexualmente maduro conformado por segmentos o proglótides que contienen un sistema reproductivo femenino y masculino completo (15,11). Presenta un órgano anterior de fijación, el escólex, con ventosas y ganchos que le permiten adherirse a la pared intestinal del hospedero (4,11,12) **Anexo 2**. Este es seguido por una región germinativa (cuello) y los segmentos, que tienen diferente grado de maduración sexual (11). Los segmentos inmaduros se encuentran cerca al cuello y no contienen órganos sexuales; los maduros con órganos sexuales están en el centro del cuerpo y los grávidos, en la parte distal y final, contienen los huevos (4,12). Los últimos 4 a 8 segmentos son liberados diariamente junto con las heces del hospedador (12).

El estadio larval se desarrolla en el hospedero intermediario (4). Los embriones pasan diferentes etapas de desarrollo larval, de oncosferas a metacestodes (4). Las oncosferas de la subclase Eucestoda tiene seis ganchos en la región anterior. Mediante metamorfosis la oncosfera se desarrolla en metacestode. El metacestode está cubierto por un quiste, por lo que también se le denomina cisticerco. En este estadio se forma el escólex, que antes de infectar al hospedero definitivo está retraído o invaginado. Una vez dentro del intestino el escólex se evagina para poder fijarse a la mucosa intestinal. La especificación del eje anteroposterior se forma durante el paso de oncosfera a metacestode (4,5).

Dentro de los eucestodes del orden Cyclophyllidea se encuentran las familias Hymenolepididae y Taeniidae. Durante el desarrollo del metacestode de estas familias se forma una cavidad interna llamada la laguna primaria, que está cubierta por una capa germinal. Es dentro de la cavidad que el escólex se invagina o retrae (4). La similitud entre estas dos familias es la formación de un único escólex que se retrae o invagina hacia la laguna primaria, el cual es considerado la región

anterior del metacestode mientras que la capa germinal o quiste (dependiendo del estadio del desarrollo) es la región posterior (5).

En el caso del metacestode de *Equinococcus multilocularis* se le denomina cisticerco modificado (12,13), ya que, de la capa germinal se forman numerosos protoscoleces que luego van a invaginar hacia la cavidad interna. Sin embargo, la polaridad se mantiene, ya que, los protoscoleces se consideran las regiones anteriores, mientras que, la capa germinal, la región posterior (5). A pesar de las diferencias en la morfología de los metacestodes la polaridad se mantiene.

2.2 Conservación de los genes de la vía Wnt que especifican el eje anteroposterior durante el desarrollo del metacestode en *E. multilocularis* e *H. microstoma*

Los platelmintos presentan 5 subfamilias de los genes *Wnt*: *wnt1*, *wnt2*, *wnt4*, *wnt5* y *wnt11a-wnt11b* (9). Durante el desarrollo del metacestode se ha evidenciado la conservación de la expresión a lo largo del eje anteroposterior de algunos de los genes de la vía *wnt*, así como sus antagonistas *Sfrp* y *Sfl*. Hay estudios sobre la expresión polarizada de estos genes en *E. multilocularis* e *H. microstoma* (5). En la **Tabla 1** se resume la conservación de algunos de los genes de la vía y su expresión espacial.

Los genes inhibidores de la vía Wnt, como *sfrp* y *sfl*, se expresan en la zona anterior de los metacestodes. En *E. multilocularis* estos se expresan en el protoescólex en desarrollo y en *H. microstoma* en la región anterior que dará lugar al escólex (9). Por otro lado, los ligandos Wnt (*Wnt1*, *Wnt11a* y *Wnt11b*) como el receptor *Fz4* se expresan de manera posterior. En *E. multilocularis*, los ligandos se expresan en la capa germinal y en la cápsula de los protoscoleces y en *H. microstoma* en el tejido posterior del quiste (4,9).

Interesantemente, el gen *wnt2* se diferencia de otros ligandos Wnt porque este se expresa en la región anterior de manera lateral (4,9), lo que sugiere que el estudio de la expresión de cada uno de los genes de la vía de señalización Wnt puede ayudar a entender nuevos detalles de cómo estos genes confieren la determinación

de ejes y posibles modos no canónicos de establecer el eje anteroposterior u otro eje de desarrollo.

En resumen, a pesar de las diferencias morfológicas y de desarrollo entre *H. microstoma* y *E. multilocularis*, la expresión de los ligandos Wnt y del receptor Fz4 mantiene su expresión en la región posterior, a excepción del gen *wnt2*; y los antagonistas en la región anterior, por lo tanto, los genes analizados participan en la especificación del eje anteroposterior de estos platelmintos parásitos como se observó en otros metazoos.

2.3 Expresión de los genes de la vía Wnt durante el proceso de estrobilación en *H. microstoma* y *Moniezia expansa*

Los platelmintos parásitos, como ya se mencionó, en sus formas adultas tienen una repetición de órganos reproductores a lo largo del cuerpo, que se le denomina proglotización (4). A pesar de la discusión en torno a si los platelmintos se consideran metazoos segmentados, se ha determinado que estas proglótides pueden ser llamadas segmentos. Consistente con esta idea, los genes de la vía Wnt también cumplen funciones en la segmentación de los artrópodos, anélidos y en la somitogénesis de los vertebrados (4).

La estrobilación se refiere a la división externa de estos segmentos, que ocurre durante el desarrollo inicial, así como durante la renovación continua en el gusano adulto (4). En *H. microstoma* se ha confirmado la participación de algunos de los genes de la vía Wnt en la estrobilación y, por lo tanto, en la especificación del eje anteroposterior de cada segmento. El gen *wnt11a* se expresa en un patrón de escalera en la parte posterior durante la formación de cada segmento. Una vez que la expresión de *wnt11a* se activa, los genes *sfl* y *wnt1*, que antes se coexpresaban, empiezan a polarizarse, Sfl en la región anterior y Wnt en el polo posterior. Esta expresión polarizada se mantiene en cada segmento a lo largo del cuerpo especificando así el eje anteroposterior de cada segmento (4,9). **Anexo 3**

Se ha observado en *Moniezia expansa*, que pertenece a la familia Taeniidae, una elevada expresión de los genes *wnt11* y *fz* en las regiones del escólex y el cuello

(14). Debido a que la formación de nuevos segmentos se produce a partir del cuello, se podría hipotetizar que estos genes de la vía Wnt son necesarios para el proceso de estrobilación. Esto podría sugerir que en Taeniidae también hay una definición por parte de la vía Wnt de ejes anteroposteriores en cada proglótide.

3. El papel de la vía de señalización Wnt en estadios de desarrollo de *T. solium*

3.1. Ciclo de vida de *T. solium*

T. solium es un platelminto parásito que necesita dos hospedadores para completar su ciclo de vida. Su hospedero intermediario es el cerdo donde se desarrolla en metacestode o cisticerco y su hospedero definitivo es el ser humano, en el que completa su desarrollo (15). Sin embargo, también se ha encontrado en diferentes mamíferos como monos, conejos, perros y ratas, así como en ratones inmunosuprimidos (14).

T. solium cuenta con los siguientes estadios de desarrollo: el huevo, la oncosfera, la forma postoncosferal, el cisticerco, el preadulto y el adulto (14) **Anexo 4**. Los huevos contienen a la oncosfera que es el embrión y está cubierta por una capa (embrióforo), la cual es digerida en el intestino del hospedero intermediario (14, 15). Las oncosferas que son liberadas al medio externo están en diferentes estadios de desarrollo (algunas maduras y otras inmaduras). Una vez maduras son capaces de infectar a los cerdos y en el intestino delgado son activadas por sales biliares (14, 15). Las oncosferas se adhieren y atraviesan la pared del intestino y se distribuyen por la vía sanguínea a los tejidos blandos (20). En los tejidos blandos la oncosfera se desarrolla a metacestode o a postoncosfera que es una vesícula cubierta de líquido y que contiene células que se desarrollarán en un escólex invaginado (14). El estadio larval final del metacestode es el cisticerco que contiene una membrana protectora (14,12). El consumo de carne de cerdo infectada mal cocinada por el humano produce que el cisticerco en el intestino delgado evagine, pierda su pared protectora y se desarrolle hasta adulto, que es el estadio sexualmente maduro (14,15).

3.2. Estudios sobre los genes wnt en Taeniidae

Hou *et al* estudiaron la expresión del gen *wnt4* en metacestodes invaginados y evaginados de *T. solium*. Se encontró una mayor expresión del gen *wnt4* en cisticercos evaginados, específicamente en la pared de la vesícula, es decir, en la región posterior. Se concluyó que la expresión de *wnt4* se relaciona con el crecimiento de la larva y podría utilizarse la expresión de este gen como marcador del metacestode evaginado (6).

Por otro lado, se tiene el análisis genómico de *T. solium*, en el que se identificaron los genes homólogos de la vía Wnt (16). En *Taenia pisiformis* se realizó un análisis transcripcional de los estadios larvales y adultos. Se encontró mayor activación de los genes de la vía Wnt en la etapa adulta (17). Sin embargo, eso no quiere decir que los genes de la vía Wnt no se expresen en estadios larvales, en este caso se necesita más investigación sobre este tema.

3.3. Métodos de estudio *in vitro* de la forma postoncosferral y del cisticerco evaginado

Todavía no se ha establecido un modelo *in vitro* de desarrollo del gusano adulto de *T. solium*, sin embargo, se han desarrollado técnicas para estudiar estadios larvales como las postoncosferas y el cisticerco evaginado. En este trabajo se analizará la expresión de los genes de la vía Wnt en los diferentes estadios de desarrollo larval (pre-adulto): huevo, oncosferas, postoncosferas y cisticercos evaginados.

Los huevos se pueden obtener de muestras de pacientes infectados con *T. solium*. En el caso de las oncosferas, estas se liberan y activan con fluido intestinal y la forma postoncosferral se puede obtener *in vitro* al cultivar las oncosferas en una monocapa de células de la línea celular HCT-8 (18,19) . Además, para obtener cisticercos evaginados los quistes se cultivan con bilis porcina; también se pueden utilizar proteasas intestinales como la tripsina y hormonas como la progesterona y gonadotropina (20, 21).

Problema y justificación

Taenia solium es un parásito que tiene como hospederos al hombre y al cerdo. El hombre alberga el estadio adulto mientras que el cerdo el estadio larval. En humanos la presencia de este gusano en el intestino causa la teniasis que puede provocar síntomas moderados como dolor abdominal, náuseas, diarrea o estreñimiento (22). Sin embargo, la neurocisticercosis que se produce por el consumo de huevos de *T. solium* puede causar epilepsia y otros problemas neurológicos. Estos problemas de salud son comunes en regiones en desarrollo, como el Perú, por las inadecuadas condiciones de saneamiento (15). En el Perú el 65% de la carne de cerdo consumida no es supervisada. Además, es un problema económico porque la carne de cerdo contaminada es confiscada (15). A pesar de ser un problema vigente en ciertas regiones, se tiene poco conocimiento sobre cómo este parásito se desarrolla por lo que no existe una estrategia para frenarlo efectivamente.

Se sabe que la vía Wnt es necesaria durante el desarrollo en todos los metazoos (1, 10, 11). Hay estudios de la implicancia de esta vía en el desarrollo de platelmintos de vida libre como parásitos. Además, la importancia de estudiar la vía Wnt radica en su función de organizar el eje primario, sin el cual el resto del cuerpo no podría formarse. La vía Wnt cumple esta función que es anterior a la aparición de los genes Hox y otras vías de señalización encargadas del patrón corporal (10).

En la actualidad, para la teniasis se utilizan diversos fármacos como niclosamida, praziquantel y albendazol, pero estos tienen limitaciones. La niclosamida se absorbe deficientemente en el tracto gastrointestinal, por lo que es eficiente contra el parásito intestinal mas no contra el cisticerco (23). Tanto el praziquantel como el albendazol se utilizan como tratamiento inicial para controlar los síntomas de la neurocisticercosis, sin embargo, se tiene cautela en su uso porque el tratamiento puede intensificar los síntomas de forma aguda (24, 25). Además, existen algunos reportes que sugieren que podría generarse resistencia por el uso de estos fármacos en regiones endémicas (26). Por eso, conocer la implicancia de la vía Wnt en *T. solium* puede ayudar a establecer nuevos blancos terapéuticos que puedan actuar en diferentes estadios de su desarrollo. Finalmente, hay poca información sobre el desarrollo biológico de los parásitos (4), por lo cual es importante que se realicen más estudios sobre este tema. Por todas estas razones, se busca caracterizar la expresión de genes marcadores de posición anteroposterior de la

vía de señalización Wnt durante el desarrollo de *T. solium* desde huevecillo hasta cisticerco evaginado *in vitro*.

Estrategia de Investigación

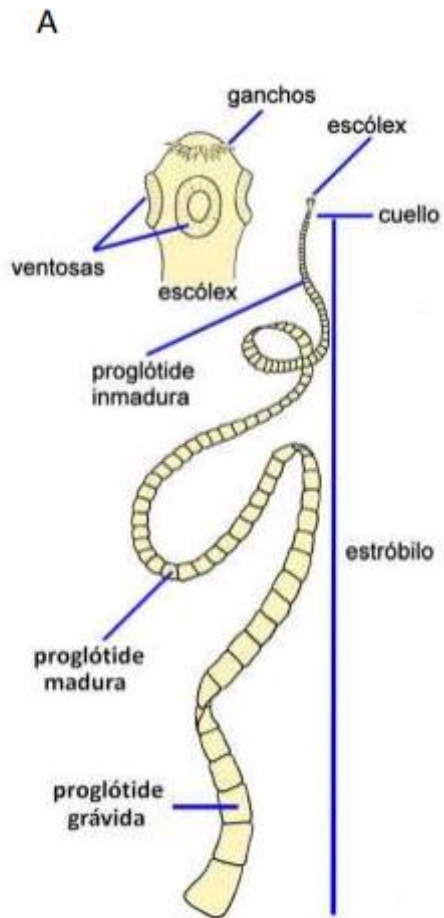
Se va a necesitar obtener las siguientes muestras: huevecillos, los cuales se obtendrán de pacientes infectados con *T. solium*. Las oncosferas se activarán incubándolas a 37° por 45 minutos con fluido intestinal artificial (1g de pancreatina, 200 mg Na₂CO₃ y 1ml de bilis porcina). Para la obtención de las formas postoncosferales, las oncosferas se cultivarán en una monocapa de células HCT-8 y INT-407 por dos semanas (19). Se confirmará que se han desarrollado a postoncosferas si aumenta el número de células, aumenta el tamaño, hay una pérdida de los ganchos, se forma la cavidad interior y no se observa ningún cambio morfológico del escólex (18). Los cisticercos se obtendrán de cerdos infectados y se utilizará ácido taurocólico de bilis de buey y tripsina porcina para inducir la evaginación (21). Para la confirmación de que las muestras son viables se utilizarán marcadores de proliferación como EdU+, asimismo, se identificará movimiento de las larvas usando microscopía (27).

Para la medición de la expresión de los genes de la vía Wnt se van a utilizar los siguientes genes: *wnt1*, *wnt2*, *wnt11a*, *wnt11b*, *fz4* y *sfrp*, los cuales se seleccionaron debido a su expresión conservada en *E. multilocularis* e *H. microstoma*. Se analizarán los genes reportados por Tsai (16) comparándolos con genes de otras especies de céstodos y verificando los dominios de las proteínas mediante softwares como BLAST, Clustal e Interpro (16). Posteriormente se realizará el diseño de los primers para la cuantificación relativa de estos genes por Reverse Transcription qPCR (RT qPCR) utilizando el método Livak (28). Cabe mencionar que se realizará una comparación de la expresión de los genes seleccionados entre los diferentes estadios de desarrollo: huevecillo, postoncosfera, cisticerco y cisticerco evaginado. Asimismo, para el análisis de la expresión espacial de estos genes se utilizará la técnica de hibridación *in situ* de ARN mensajero. Para la confirmación de la activación de la vía se usarán anticuerpos contra la proteína Frizzled, que cuando la vía Wnt se activa, es internalizada hacia el citosol, también se hará uso de anti-B-catenina, ya que servirá como medida de activación de la vía canónica Wnt (29).

Anexos:

	N	Wnt1	Wnt2	Wnt3	Wnt4	Wnt5	Wnt6	Wnt7	Wnt8	Wnt9	Wnt10	Wnt11	Wnt16	WntA	n.d.	
Choanoflagellata	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
Placozoa	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	
Radiata	Porifera	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1(0)	1(2)	1(0)	0	0	
	Ctenophora	1	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0	
	Cnidaria	2	1	1	1	1(0)	1	1	1	1(2)	0	1(3)	1	1	1	0
	Mollusca	2	1	2	0	1(0)	1(0)	1(0)	1(0)	0	1(0)	1	1(0)	1(0)	1	0
Lophotrochozoa	Annelida	3	1	1	0	1	1(2)	1	1	1(0)	1(0)	1	1(3)	1(2)	1(0)	0
	Platyhelminthes	4	1	1	0	1(3)	1	0	0	0	0	1(2)	0	0	0	0
Ecdysozoa	Nematoda	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0
	Chelicerata	2	1	1	0	1	1	1	1(2)	1	1	0	1(2)	1	1(0)	0
	Crustacea/Myriapoda	2	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0
	Insecta	6	1	0	0	0	1	1(0)	1(0)	1(0)	1(0)	1(0)	1(0)	1(0)	1(0)	0
Deuterostomia	Echinodermata	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0
	Hemichordata	1*	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	Urochordata	1	1	1	1	2	1	1	2	0	1	1	0	1	0	0
	Cephalochordata	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0
	Vertebrata	>10	1(2)	2(5)	2(3)	1(2)	2	1(2)	2(3)	2(3)	1(3)	2(3)	1(3)	1	0	0

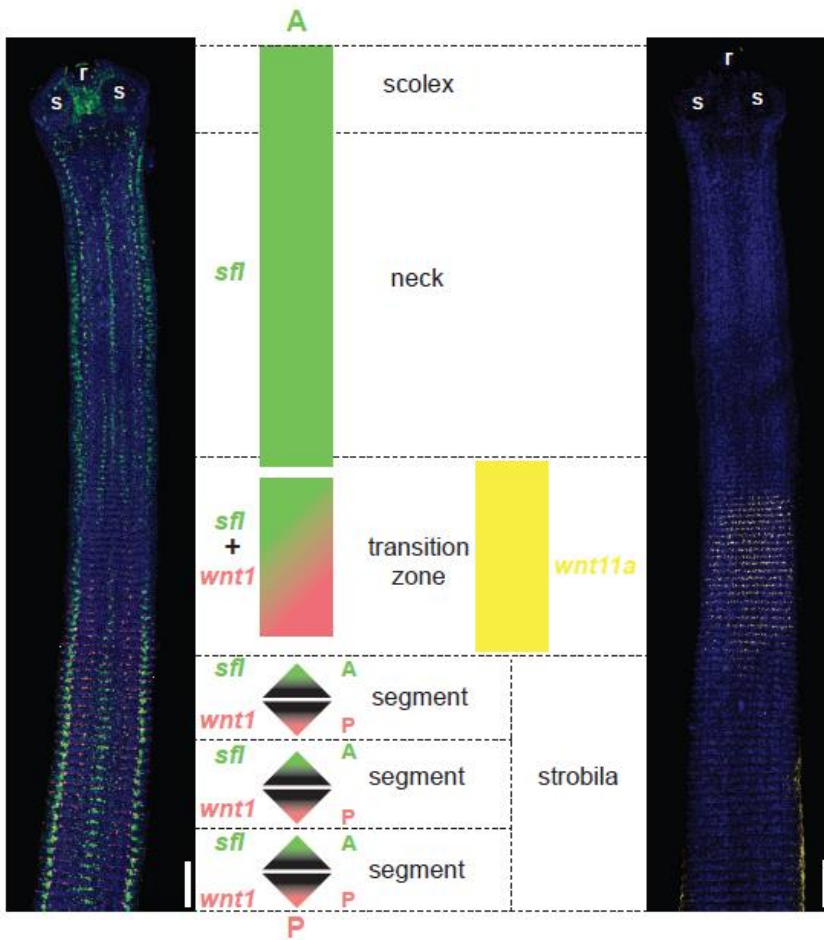
Anexo 1. Distribución de los genes wnt en los metazoos. Adaptado de Holstein, 2012 (10)



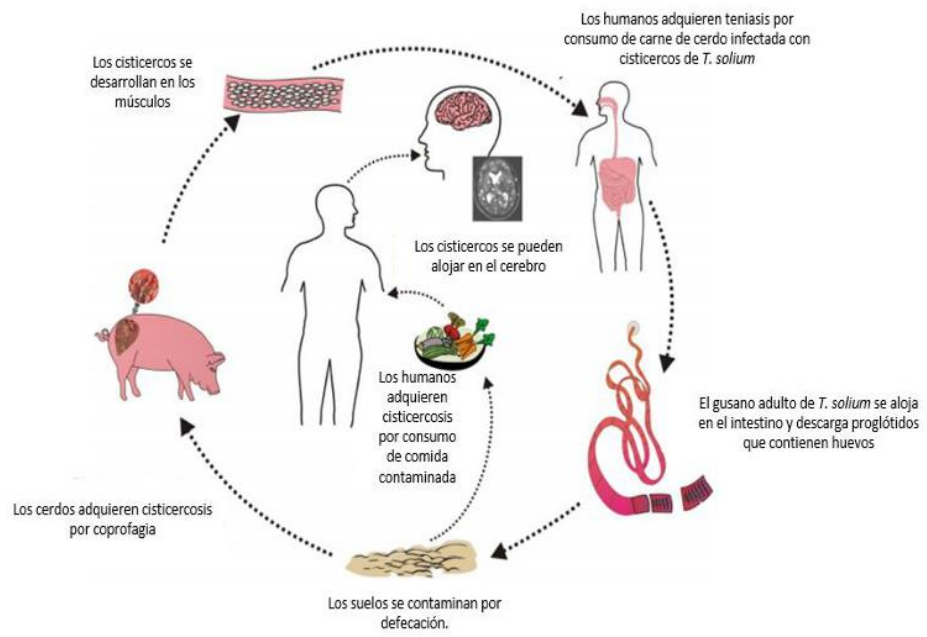
Anexo 2. Morfología del gusano adulto *T. solium*. Adaptado de Yupari, 2017 (21).

	<i>Echinococcus multilocularis</i>	<i>Hymenolepis microstoma</i>
Wnt 1	expresión posterior	expresión posterior
Wnt 11a		
Wnt 11b		
Wnt 2	antero-lateral	antero-lateral
Receptor Frizzled (fz4)	Durante la mayor parte del desarrollo: expresión posterior	expresión posterior
SFRP	Anterior	Anterior

Tabla 1. Genes Wnt conservados en platelmintos parásitos y su región de expresión (4,5)



Anexo 3. Expresión polarizada de los genes de la vía wnt en la estróbila. Adaptado de Jarero, 2018 (4)



Anexo 4. Ciclo de vida de *T. solium*. Adaptado de Singhi & Gahlot, 2016 (30)

Referencias Bibliográficas

1. Petersen CP, Reddien PW. Wnt Signaling and the Polarity of the Primary Body Axis. *Cell*. 2009; Dec;139(6):1056–68.
2. Reddien PW. The Cellular and Molecular Basis for Planarian Regeneration. *Cell*. 2018; Vol. 175: p. 327–45.
3. Stückemann T, Cleland JP, Werner S, et al. Antagonistic Self-Organizing Patterning Systems Control Maintenance and Regeneration of the Anteroposterior Axis in Planarians. *Developmental Cell*. 2017 Feb 6;40(3):248-263.e4.
4. Jarero F. Wnt, hedgehog and notch signalling in relation to tapeworm anteroposterior polarity and segmentation [thesis]. 2018.
5. Koziol U, Jarero F, Olson PD & Brehm K. Comparative analysis of Wnt expression identifies a highly conserved developmental transition in flatworms. *BMC Biology*. 2016 Mar 4;14(1).
6. Hou J, Luo X, Wang S, Yin C, Zhang S, Zhu X, et al. Sequence analysis and molecular characterization of Wnt4 gene in metacestodes of *Taenia solium*. *Korean Journal of Parasitology*. 2014;52(2):163–8.
7. Riddiford N, Olson PD. Wnt gene loss in flatworms. *Development Genes and Evolution*. 2011 Oct;221(4):187–97.
8. Loh KM, van Amerongen R, Nusse R. Generating Cellular Diversity and Spatial Form: Wnt Signaling and the Evolution of Multicellular Animals. *Developmental Cell*. Cell Press. 2016; vol. 38: p. 643–55.
9. Stanford. The Wnt homepage [Internet]. 2022. Available from: https://web.stanford.edu/group/nusselab/cgi-bin/wnt/target_genes
10. Holstein TW. The evolution of the wnt pathway. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. 2012 Jul;4(7):1–17.
11. Heyneman D. Cestodes. Galveston: Medical Microbiology. 4th ed. Baron S, editor; 1996. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK8399/>
12. Encyclopedia of Parasitology. Springer Berlin Heidelberg; 2016.
13. Chervy L. The terminology of larval cestodes or metacestodes. *Systematic Parasitology*. 2002; vol. 52.
14. Liu Y, Wang Z, Pang S, Zhao W, Kang L, Zhang Y, et al. Evaluation of dynamic developmental processes and the molecular basis of the high body fat percentage of different proglottid types of *Moniezia expansa*. *Parasites and Vectors*. 2019 Aug 5;12(1).
15. Carrillo C, María -Lima J. Serie informes técnicos de investigación Epidemiológica N°025. Ministerio de Salud del Perú Oficina General de Epidemiología. Available from: <http://www.minsa.gob.pe/oge>
16. Tsai IJ, Zarowiecki M, Holroyd N et al. The genomes of four tapeworm species reveal adaptations to parasitism. *Nature*. 2013 Apr 4;496(7443):57–63.

17. Zhang S. Comparative transcriptomic analysis of the larval and adult stages of taenia pisiformis. *Genes (Basel)*. 2019 Jul 1;10(7).
18. Chile N, Clark T, Arana Y et al. In Vitro Study of Taenia solium Postoncospherical Form. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2016 Feb 10;10(2).
19. Palma S, Chile N, Carmen-Orozco RP et al. In vitro model of postoncosphere development, and in vivo infection abilities of Taenia solium and Taenia saginata. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2018 Mar 1;13(3).
20. Orrego-Solano MÁ, Cangalaya C, Nash TE, Guerra-Giraldez C. Taenia solium Identification of proliferating cells in Taenia solium cysts.
21. Winny A, Aguirre Y, Guerra Giraldez C. Detección de microRNAs predichos para Taenia solium en muestras del parásito y sus hospederos Autor: Tesis para optar el título profesional de Licenciado en Biología. 2017.
22. OMS. Teniasis y cisticercosis. 2021. Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/taeniasis-cysticercosis>
23. Pawlowski ZS. Role of chemotherapy of taeniasis in prevention of neurocysticercosis. In: *Parasitology International*. 2006.
24. CDC. Parásitos [Internet]. Available from: <https://www.cdc.gov/parasites/taeniasis/es/hcp/index.html#:~:text=sobre%20la%20teniasis-,Tratamiento,adultos%20y%20en%20los%20ni%C3%B1os>.
25. Saavedra H, Gonzales I, Alvarado MA et al. Diagnóstico y manejo de la Neurocisticercosis en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2010; Vol. 27.
26. Chelladurai JJ, Kifleyohannes T, Scott J, Brewer MT. Praziquantel resistance in the zoonotic cestode Dipylidium caninum. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2018;99(5):1201–5.
27. Sikasunge CS, Johansen M v., Willingham AL, Leifsson PS, Phiri IK. Taenia solium porcine cysticercosis: Viability of cysticerci and persistency of antibodies and cysticercal antigens after treatment with oxfendazole. *Veterinary Parasitology*. 2008 Nov 25;158(1–2):57–66.
28. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*. 2001;25(4):402–8.
29. Chen M, Wang J, Lu J, Bond MC, Ren XR, Lysterly HK, et al. The anti-helminthic niclosamide inhibits Wnt/Frizzled1 signaling. *Biochemistry*. 2009 Nov 3;48(43):10267–74.
30. Singh G, Prabhakar S. Taenia solium Cysticercosis From Basic to Clinical Science. CABI Publishing; 2002.