

UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

FACULTAD DE CIENCIAS Y FILOSOFÍA

“Alberto Cazorla Talleri”



Cambios en la expresión de transportadores de glucosa de *Taenia solium* asociados al proceso de evaginación

Tesis para optar al título de Licenciado en Biología

David Castañeda Carpio

Lima – Perú

2021

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	3
ABSTRACT	4
I. INTRODUCCIÓN	5
1. <i>Taenia solium</i> : Generalidades	5
1.1. <i>Taenia solium</i> es un platelminto parásito de importancia en salud pública que infecta cerdos y humanos	5
1.2. La evaginación de <i>Taenia solium</i> es importante en su desarrollo.....	6
2. <i>Metabolismo de Taenia solium</i>	7
2.1. El metabolismo de parásitos es versátil y permite aprovechar los metabolitos generados por su hospedero	7
2.2. Los platelmintos parásitos dependen del metabolismo de carbohidratos y presentan múltiples adaptaciones fisiológicas y metabólicas	7
2.3. <i>Taenia solium</i> es un parásito que depende de la vía glicolítica	8
3. <i>Metabolismo de Taenia solium durante la proliferación celular</i>	8
3.1. <i>Taenia solium</i> posee un linaje celular totipotente	8
3.2. La proliferación celular requiere de determinadas condiciones metabólicas	8
3.3. Existen elementos moleculares de expresión diferenciada en el estadio larval y adulto de <i>Taenia solium</i>	9
4. <i>La proliferación celular durante y después del proceso de evaginación va acompañada de cambios de expresión de elementos moleculares asociados al metabolismo</i>	10
II. HIPÓTESIS, PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN Y OBJETIVOS	12
III. MATERIALES Y MÉTODOS	13
1. <i>Diseño general</i>	13
2. <i>Material parasitario y tratamientos</i>	13
3. <i>Medición de la porción evaginada de Taenia solium</i>	15
4. <i>Identificación y caracterización in silico de secuencias correspondientes al transportador SGLT1 en Taenia solium</i>	15
5. <i>Extracción de ARN</i>	16
6. <i>Diseño de primers</i>	17
7. <i>RT-PCR</i>	17
8. <i>RT-qPCR</i>	17
9. <i>Aspectos éticos</i>	18

IV. RESULTADOS	19
1. <i>La evaginación ocurrió espontáneamente e inducida por AT</i>	19
2. <i>Existen secuencias homólogas al transportador de sodio/glucosa en Taenia solium</i>	21
3. <i>El transportador SGLT1 es detectable en quistes vesiculares de T. solium antes y después de evaginar</i>	26
4. <i>Existe una secuencia homóloga de la proteína SGLT1 (SLC5A1) en Taenia solium</i>	28
5. <i>El transportador TGTP1 es detectable en quistes vesiculares de T. solium antes y después de evaginar</i>	31
6. <i>El transportador SGLT1 aumenta en mayor grado su expresión que TGTP1 en cisticercos tratados con AT</i>	33
V. DISCUSIÓN	35
1. <i>Las tendencias de los cambios de expresión de los genes tgtp1 y sgl1 pueden ser producto de las condiciones previas al experimento y podrían representar el estado nutricional del parásito a nivel molecular</i>	35
2. <i>Señales extrínsecas son capaces de modular la expresión de genes metabólicos a nivel del transporte de glucosa durante la proliferación celular propia del desarrollo del parásito</i>	37
3. <i>Se requiere estudiar vías de señalización asociadas a metabolitos y reguladores maestros del metabolismo en células en proliferación en el parásito</i>	38
4. <i>Los transportadores SGLT1 y TsSLC5A1 podrían ser de importancia en la proliferación celular y desarrollo, por lo que requieren ser caracterizados</i> .	41
VI. CONCLUSIONES	43
VII. ANEXOS	44
VIII. REFERENCIAS	57

RESUMEN

El platelminto *Taenia solium* se desarrolla y reproduce como gusano adulto exclusivamente en el intestino humano, generando huevecillos que se eliminan en las heces y contaminan agua y alimentos. La evaginación del escólex de los parásitos ingeridos y la consecuente proliferación celular son procesos clave en su desarrollo y ciclo de vida.

Cambios en el metabolismo y transporte de glucosa en tejidos proliferativos y durante el proceso de regeneración se ha reportado en otros platelmintos. En *T. solium* se han identificado los transportadores de glucosa TGTP1 y TGTP2. Asimismo, un transportador hipotético de tipo *SGLT1* ha sido encontrado en una forma aberrante e hiperproliferativa del parásito. Sin embargo, se desconoce si estos transportadores cumplen una función importante en el desarrollo del parásito.

En este trabajo, mediante RT-qPCR se encontraron variaciones en los niveles de mRNA de dos transportadores de glucosa en cisticercos de *T. solium* (extraídos de tejido muscular de cerdos infectados) incubados en el 0.1% de ácido taurocólico (AT), un inductor de evaginación. Se identificó una secuencia de un hipotético cotransportador de sodio-glucosa *SGLT1* homólogo a otros transportadores de carbohidratos de la superfamilia MFS en otros platelmintos. Este transportador mostró mayores niveles de expresión a las 24 h y 120 h en el grupo incubado con AT en comparación al grupo no incubado. Los niveles de mRNA respecto al transportador TGTP1 evidenciaron un ligero incremento en el grupo incubado con AT. Finalmente, se identificó una secuencia correspondiente a otro transportador tipo *SGLT1* en *T. solium* que es homólogo a los transportadores de la superfamilia SLC5-6 presente en humanos.

Este trabajo es un primer paso en comprender cómo el metabolismo de la glucosa está involucrado en el desarrollo de *T. solium*. Se propone evaluar la expresión de proteínas de la vía glicolítica y el ciclo del ácido cítrico. Finalmente, el estudio de vías de señalización asociadas a regulación metabólica permitiría obtener más información respecto a los requerimientos nutricionales durante el desarrollo del parásito.

Palabras clave: Metabolismo, *Taenia solium*, evaginación

ABSTRACT

Taenia solium develops into a sexually mature flatworm exclusively in the human gut; its eggs are excreted with the host's feces, contaminating water, soil, and food. The evagination of the scolex from the ingested larval cyst and the consequent cellular proliferation are critical processes for the parasite's development and growth into the adult form.

Changes in the metabolism and glucose transport in proliferating tissues and during regeneration have been reported for other flatworm species. In *T. solium*, glucose transporters TGTP1 and TGTP2 have been identified, as well as a hypothetical SGLT1-like sodium-glucose cotransporter in an aberrant, hyperproliferative larval form. However, it is not known if these transporters play a significant role in the parasite's metamorphosis.

We found variations at the mRNA level of glucose transporters using RT-qPCR on *T. solium* cysts obtained from pig muscle and incubated with taurocholic acid 0.1% (TA), a bile component that induces evagination. First, we identified the sequence for a *T. solium* SGLT1-like transporter homologous to transporters of the MFS superfamily from different species of flatworms. This transporter showed higher mRNA levels 24 h and 120 h after the incubation with TA, compared with cysts incubated without the inducer. The mRNA levels of TGTP1 also had a slight increase after incubation with TA. Furthermore, we identified a sequence for another SGLT1-like transporter in *T. solium*, homologous to transporters of the mammalian SLC5-6 superfamily.

This work is a first step in understanding how glucose metabolism is involved in *T. solium* development. We propose to evaluate the expression of proteins related to the glycolytic pathway and the TCA cycle. Finally, the study of signaling pathways associated with metabolic regulation would provide more information about the nutritional requirements during parasite development.

Keywords: Metabolism, *Taenia solium*, evagination

I. INTRODUCCIÓN

1. *Taenia solium*: Generalidades.

1.1. *Taenia solium* es un platelminto parásito de importancia en salud pública que infecta cerdos y humanos.

Taenia solium es un organismo perteneciente al phylum Platyhelminthes. Estos organismos poseen simetría bilateral, carecen de celoma (cavidad interna), órganos circulatorios y respiratorios, y poseen un sistema digestivo simple. Este phylum se subdivide en organismos pertenecientes al grupo Neodermata, Catenulida y Rhabditophora (1). Estos dos últimos son conocidos como turbelarios, organismos de vida libre. Neodermata evolucionó desde Turbellaria y agrupa organismos parásitos de la clase Cestoda (caracterizados por poseer escólex, un órgano de fijación), Trematoda y Monogenea (Figura 1). La mayoría de estos organismos carecen de aparato digestivo y basan su alimentación mediante tejidos especializados en su cutícula, la cual presenta células ciliadas (1,2).

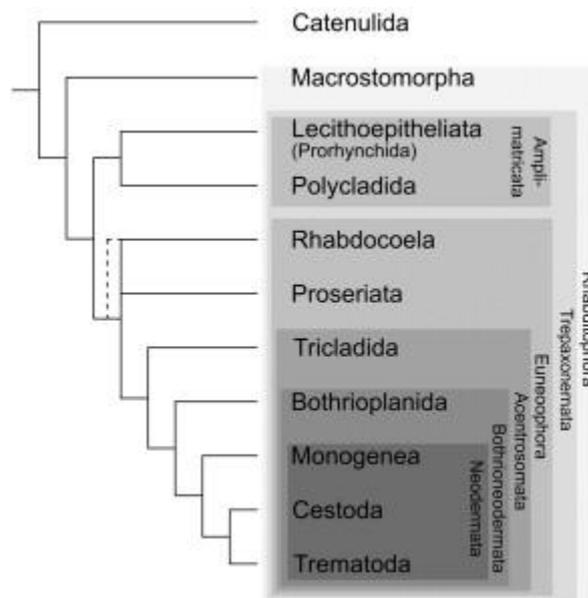


Figura 1. Filogenia del phylum Platyhelminthes. Adaptado de Egger *et al.* (1)

T. solium es un cestodo parásito cuyo hospedero intermediario es el cerdo y su hospedero definitivo es el humano. Los estadios infecciosos del parásito son el huevo embrionado (oncósfera) y la larva (quiste cisticerco o

metacestode). La ingesta accidental de huevos microscópicos del parásito conduce al desarrollo de cisticercos en diferentes tejidos. La infección con larvas de *T. solium* en músculo esquelético se conoce como cisticercosis, mientras que la infección cerebral por este estadio es conocida como neurocisticercosis. Estas se manifiestan tanto en humanos como en el cerdo (3,4).

Por otra parte, la infección por el estadio adulto del parásito es conocida como teniasis y se da únicamente en el humano. Esta ocurre por el consumo de carne de cerdo infectada con cisticercos. Cuando uno de estos se expone a sales biliares y enzimas digestivas, se estimula la evaginación del escólex o cabeza, lo cual permitirá que el parásito se adhiera al epitelio intestinal mediante sus ganchos y ventosas. Posteriormente, a partir del cuello, se desarrollará el estróbilo del parásito, formado por cientos de proglótides sucesivas. Estas proglótides contienen los genitales masculinos y femeninos, los cuales producirán huevos por autofecundación. Estos últimos son liberados al ambiente junto con las heces del portador teniásico (4).

Los casos de infección por *T. solium* existen en todo el mundo. Principalmente, estas enfermedades son endémicas en Latinoamérica, Asia y África (5).

1.2. La evaginación de *Taenia solium* es importante en el desarrollo.

Un proceso crítico en el desarrollo de *T. solium* es la evaginación, pues da lugar a la forma con la que el parásito se disemina. Sin embargo, este evento está poco explorado. Existen estudios que describen la morfología del proceso (6), el cual estaría asociado a componentes moleculares liberados por el hospedero. Ejemplos de esto son la similitud entre receptores de progesterona del parásito y los del humano y la dependencia de insulina para el desarrollo de platelmintos del género *Echinococcus* (7–9).

Por otra parte, vías de señalización como Notch, Wnt y Hedgehog participan en el desarrollo de diferentes organismos en procesos bastante conservados. Por ejemplo, la determinación del eje anteroposterior, formación de segmentos (10,11), reproducción sexual (oogénesis) y asexual (gemación) (12,13), mantenimiento de células madre y neurogénesis (11,12). Elementos de algunas de estas vías se encuentran sobreexpresados en diferentes

platelmintos; por ejemplo, en planarias, cuando se regeneran (14), en *Schistosoma mansoni*, durante la oogénesis (12), en la capa germinal de quistes hidatídicos de *Echinococcus granulosus* (15) y en *Hymenolepis microstoma*, al formar su estróbilo (16).

2. Metabolismo de *Taenia solium*

2.1. El metabolismo de los parásitos es versátil y les permite aprovechar los metabolitos producidos por sus hospederos.

Los parásitos obligados requieren de un hospedero para completar su ciclo de vida; han desarrollado mecanismos para sobrevivir en sus diferentes estadios de desarrollo a expensas de sus hospederos. Por ejemplo, la mayoría de los protistas parásitos prescinden de la vía de síntesis de purinas y recurren al transporte de moléculas ya sintetizadas por su hospedero (17,18). Por otro lado, en protistas del género *Plasmodium*, el estado de la activación de vías como el ciclo del ácido cítrico y la síntesis de glutamina varía dependiendo del estadio del parásito (19). *T. solium* es un parásito obligado con dos hospederos, y por ende su metabolismo se regula de acuerdo con las transiciones de un estadio a otro.

2.2. Los platelmintos parásitos dependen del metabolismo de carbohidratos y presentan múltiples adaptaciones fisiológicas y metabólicas.

En platelmintos parásitos se conoce que los carbohidratos constituyen la fuente energética más importante para su desarrollo y supervivencia. Estos organismos pueden encontrarse en medios muy diversos en cuanto a presencia de O₂, desde ausente (como en el lumen intestinal) hasta muy abundante (como en el torrente sanguíneo). En cuanto al metabolismo de la glucosa, en algunas especies se aprecia preferencia por la ruta aeróbica en larvas y la anaeróbica en adultos (20). Por otra parte, en el caso de los céstodos existen similitudes entre la estructura del epitelio intestinal humano y el tegumento del parásito, lo cual le permite a este último competir con su hospedero por nutrientes esenciales como los carbohidratos (2).

2.3. *Taenia solium* es un parásito que depende de la vía glicolítica.

T. solium, al ser un parásito obligado, prescinde por completo de algunas rutas metabólicas y se vale en gran medida del metabolismo del hospedero. Su fuente de energía principal es la glucosa, lo cual se refleja en que la vía glicolítica es de las únicas que se mantienen íntegras, junto a la fermentación láctica y dismutación del malato (21). Se reportó que el estadio larval (en cerebro o músculo esquelético) tiene una producción elevada de lactato, lo que indica que este estadio tendría preferencia por la vía anaeróbica de fermentación láctica (22).

3. Metabolismo de *Taenia solium* durante la proliferación celular

3.1. *Taenia solium* posee un linaje celular totipotente.

En *T. solium*, un linaje de células proliferativas totipotentes cumple un rol fundamental en el desarrollo. Estas se localizan en la base del escólex, donde además existe una mayor incorporación de nutrientes (23,24). La forma conocida como racemosa del cisticerco es una manifestación aberrante del parásito. Esta posee un crecimiento desmesurado en el cerebro humano y genera cuadros epilépticos graves e hidrocefalia (25). El cisticerco racemoso posee, anormalmente, células proliferativas en la pared vesicular (26). Estas células también se han aislado y caracterizado en *Echinococcus* y en planarias; en estos organismos reciben el nombre de neoblastos o células germinativas (27–30).

3.2. La proliferación celular requiere de determinadas condiciones metabólicas.

La proliferación celular requiere captar nutrientes continuamente, mantener intermediarios metabólicos y regenerar moléculas energéticas. Una de las rutas que mejor satisface estos requerimientos es la glicólisis (31). Esta vía permitiría mantener la proliferación de neoblastos en platelmintos. Por ejemplo, en platelmintos de vida libre como las planarias *Dugesia dorotocephala*, la tasa glicolítica aumenta durante la regeneración. Otro caso

es el de *Echinococcus granulosus*, en el cual las células de la capa germinativa del quiste hidatídico tienen preferencia por la vía de fermentación láctica acoplada a la vía glicolítica (32,33).

A pesar de los estudios existentes en análisis del genoma completo de *T. solium* (21), la ausencia de líneas de laboratorio y modelos de fácil manejo dificulta el estudio del metabolismo del parásito. Aún no se ha establecido cómo es que este parásito regula la captación y utilización de glucosa.

3.3. La distribución de distintos transportadores de glucosa es diferente según el estadio de *Taenia solium*.

El proceso de evaginación del parásito se acompaña de proliferación y crecimiento (31). Por ello es lógico sugerir que la incorporación constante de glucosa es importante para la metamorfosis de larva a adulto. La literatura sobre transportadores de glucosa en *T. solium* es escasa; existe un reporte que identifica abundantemente epítopes de un transportador de sodio-glucosa (asociado a transporte activo) en el estadio racemoso de *T. solium* y en proglótides de *Taenia saginata* (34). Sin embargo, no hay reportes de este transportador en el estadio de larva (o quiste) vesicular regular de ningún otro platelminto parásito. Por otra parte, transportadores de glucosa TGTP ("*Taenia Glucose Transporter Protein*"), homólogos a los GLUT1, 3 y 4 (presentes en músculo y cerebro humano) se distribuyen de manera distinta en larva y adulto de *T. solium*. Ambas formas se asocian a transporte facilitado de glucosa y se ha determinado que TGTP2 es característico de la larva, mientras que TGTP1 se encuentra en todos los estadios del ciclo de vida del parásito (35,36). Sin embargo, no se ha cuantificado su expresión.

En el caso de otro cestode, *Hymenolepis diminuta*, el tratamiento con florizina y floretina (inhibidores del transporte activo y facilitado de glucosa, respectivamente), demostró que en el estadio larval predomina el transporte facilitado, y en el adulto, el transporte activo (37).

4. La proliferación celular durante y después del proceso de evaginación se acompaña de cambios de expresión asociados al metabolismo.

Las características metabólicas de *T. solium* en diferentes estadios no han sido exploradas por completo. Aunque existe información sobre la fisiología y bioquímica del parásito adulto, además de cómo se comportan los diferentes tejidos de este para nutrirse (19,20), las necesidades nutricias de sus diferentes estadios y los cambios metabólicos que podría sufrir el parásito durante la transición de un estadio a otro han sido poco descritos. Se sabe que el nutriente de mayor importancia para mantener la viabilidad del parásito es la glucosa. Esto se refleja en la ausencia de gran parte de las vías metabólicas a excepción de la vía glicolítica, la cual es de las pocas que el parásito conserva íntegramente (21). Además, el tegumento de diferentes platelmintos en estadio adulto posee transportadores dependientes de sodio que permiten captar carbohidratos con bastante eficiencia y son muy similares a los del intestino humano (2).

En la larva de *T. solium* se desconoce cómo operan los diferentes mecanismos de incorporación de glucosa y qué factores podrían alterarlos. Sin embargo, se sabe que durante este estadio se requiere degradar constantemente este nutriente. Estudios de metabolómica detallan que la vía de fermentación láctica (la cual depende inicialmente de la glicólisis) es preferida por el estadio larval (22). Por otro lado, la expresión diferencial de TGTP1 y 2 en diferentes estadios de vida de *T. solium* (35,36) podría sugerir un cambio metabólico en el requerimiento energético de este organismo para poder transformarse en adulto. El desarrollo de *T. solium* tampoco se ha estudiado a profundidad. Se desconoce a nivel bioquímico y molecular qué ocurre en las transiciones de un estadio a otro. Algunos eventos, como la evaginación, que inicia la transición de larva a adulto, han sido descritos a nivel morfológico (6). Este proceso depende en gran medida de factores propios del hospedero (7–9). Las células proliferativas, las cuales permitirán el crecimiento del parásito posteriormente a la evaginación, se encuentran depositadas en la base del escólex (23). Estas células son bastante estudiadas en planarias y también en cestodos, como por ejemplo *Ecchinococcus*, del cual se han logrado mantener *in vitro* (26–28). Se conoce que las células en proliferación utilizan de manera preferente la glicólisis (31).

Sin embargo, los factores metabólicos y la actividad de incorporación y degradación de glucosa durante la evaginación no han sido estudiados.

Además de procesos de crecimiento y proliferación organizados que ocurren durante la metamorfosis del parásito a su estadio adulto, un caso particular es el del quiste racemoso. Esta forma larval aberrante de *T. solium* expresa abundantemente un transportador de sodio-glucosa, el cual se ha encontrado también en el tegumento del estróbilo en *Taenia saginata* adulta (34). Sin embargo, no existen reportes sobre este transportador en el estadio larval regular o en el adulto de *T. solium*. Adicionalmente, el transportador de sodio-glucosa encontrado en cisticercos racemosos de *T. solium* no se encuentra anotado ni tampoco caracterizado bioquímicamente como en el caso de los transportadores TGTP1 y 2.

La glucosa es un nutriente importante para mantener la proliferación en *T. solium*. Es lógico por tanto sugerir que la constante incorporación de glucosa durante la evaginación, en la que hay proliferación celular y crecimiento del parásito, es clave para la metamorfosis de larva a adulto. Sin embargo, no se conoce el papel de cada transportador de glucosa reportado (SGLT1, TGTP1 y TGTP2) durante este proceso. El antecedente más cercano a este problema se describió en *H. diminuta* (37).

La evaginación de *T. solium* no se ha caracterizado a nivel metabólico hasta el momento. Dado que la evaginación inicia el desarrollo del estadio adulto reproductivo, entender los factores que la sustentan es importante para identificar posibles blancos para fármacos que interrumpan el ciclo de vida del parásito.

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. Hipótesis

El proceso de evaginación de *T. solium* requiere aumentar la captación de glucosa debido a la mayor demanda energética que implica la proliferación con respecto a la larva quiescente. Asimismo, se conoce que en otros cestodos (*H. diminuta*) existe un cambio en el mecanismo de transporte de glucosa. Por tanto, se propone:

El cambio de actividad proliferativa y por tanto metabólica que acompaña la transición del estadio larval al adulto, marcada por la evaginación del escólex, determina una expresión diferencial de las proteínas transportadoras de glucosa. Es decir, se regularía el paso de transporte facilitado (mediado por TGTP1/2) a uno predominantemente asociado a transporte activo (mediado por un transportador de sodio-glucosa y por TGTP1).

2. Objetivos

2.1. Objetivo general:

Comparar, según el estado de evaginación del escólex, los cambios en la expresión a nivel de ARN de los genes de los transportadores de glucosa en cisticercos de *T. solium*.

2.2. Objetivos específicos:

- a. Identificar *in silico* secuencias correspondientes al transportador SGLT1 en *Taenia solium* y conocer sus características.
- b. Diseñar primers eficientes y específicos para los genes *tgtp1* y *sglt1*, correspondientes a los transportadores de glucosa.
- c. Estimar mediante RT-qPCR la expresión de los transportadores de glucosa de cisticercos no evaginados y cisticercos evaginados por inducción con ácido taurocólico.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Diseño general:

Para confirmar que los mecanismos de transporte de glucosa de *T. solium* son regulados según su estadio (larva o adulto), se propuso determinar la expresión de los transportadores de glucosa de *T. solium*, tanto reportados como identificados mediante bioinformática, en diferentes momentos del proceso de evaginación. Por tratarse de un primer acercamiento para detectar los transportadores antes y después de evaginar, se trabajó con cisticercos enteros, sin aislar las células proliferativas o neoblastos, las cuales se consideran responsables del desarrollo y crecimiento del parásito.

2. Material parasitario y tratamientos:

Se recolectaron cisticercos de *Taenia solium* de un cerdo infectado para el proyecto “Vía Notch en el desarrollo del céstodo *Taenia solium*” (SIDISI 103796; Juan Blume La Torre, tesis de Maestría en Bioquímica y Biología Molecular, UPCH). Estos quistes se mantuvieron en PBS con antibióticos después de su extracción durante 1-2 días para su transporte, y al llegar al laboratorio, se cultivaron durante 16 horas en medio RPMI suplementado (descrito más abajo) para estabilizarlos.

Posteriormente, los quistes se repartieron en dos grupos (ver figura 2). Los tiempos de extracción de ARN toman como punto de partida (tiempo 0) el final de las 16h de estabilización.

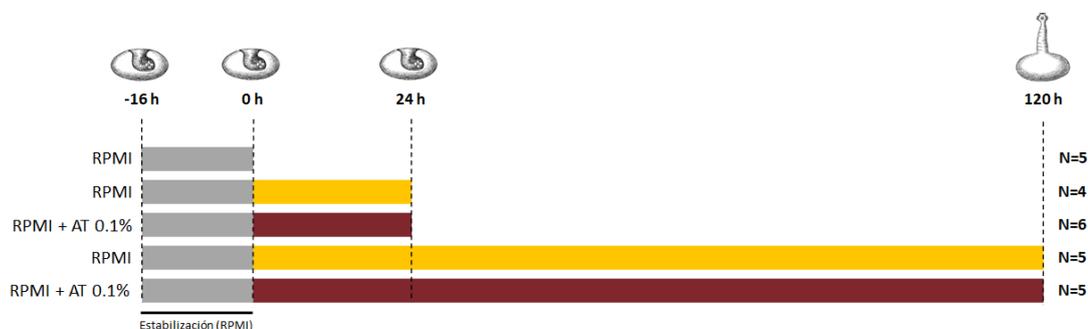


Figura 2. Esquema experimental y repartición de muestras para análisis de expresión por RT-qPCR. AT: ácido taurocólico.

El cultivo, mantenimiento de los quistes y los respectivos tratamientos fueron realizados de manera paralela a este trabajo como se detalla a continuación. Los quistes, para el estudio mencionado y el presente trabajo, fueron equilibrados por 16 horas a 37°C y 5% CO₂ en una placa de cultivo de 12 pozos de 3.5 cm², con 5 quistes/pozo en 2 mL de medio RPMI 1640 (Gibco 23400, Thermofisher Scientific, Waltham, MA), pH 7.4, suplementado con L-glutamina 0.2 mM, 0.06 mM D-glucosa, piruvato de sodio 1 mM, aminoácidos no esenciales 0.01 mM, β-mercaptoetanol 1.6 μM, 24 mM NaHCO₃, suero fetal bovino al 10% y HEPES 25 mM, además de antibióticos (100 U/mL de penicilina, 100 μg/mL de estreptomicina y 0.25 μg/mL de anfotericina B). El medio se cambió cada 24h.

Después de la estabilización se seleccionaron quistes traslúcidos y no coloidales. Un mínimo de 20 quistes se mantuvo en pozos con únicamente este medio durante todo el experimento (grupo "RPMI" de aquí en adelante), mientras que más de 20 quistes de otros pozos fueron tratados con ácido taurocólico (AT) 0.1%, una sal biliar que se conoce que induce la evaginación del parásito (39) (grupo "RPMI+AT").

En el tiempo 0, se retiraron 5 quistes del grupo RPMI para extraer ARN. Pasados 1 y 5 días (24 h y 120 h), se tomaron 5 quistes de cada grupo para extraer ARN. Como en el grupo RPMI+AT hubo quistes evaginados y no evaginados a las 24h, en este punto se tomaron 6 quistes, 3 en cada estadio. Se tomó en cuenta el tiempo final de 120h dado que la mayoría de los parásitos logró al menos iniciar la evaginación en ese lapso.

3. Medición de la porción evaginada de *Taenia solium*.

A fin de comparar los resultados con la morfología de los quistes según su evaginación de una manera cualitativa, se midió la porción evaginada (cuello, escólex) usando el software ImageJ (National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA). Para ello, se colocaron los parásitos en placas Petri con etanol absoluto y se tomaron fotos. Para el análisis de resultados se realizó un ANOVA de una vía. Se obtuvieron también las significancias estadísticas de las comparaciones entre grupos.

Para el grupo RPMI+AT se tomaron 13 cisticercos a las 24 h. A las 120 h, se tomaron 8 cisticercos para el grupo RPMI y 19 cisticercos para el grupo RPMI+AT. No se midió porción evaginada a las 24 h en cisticercos del grupo únicamente cultivado en medio RPMI dado que no se encontraron cisticercos evaginados en este momento. Los cisticercos utilizados para estas mediciones no corresponden a los cisticercos a los cuales se les extrajo ARN para ensayos de expresión.

4. Identificación y caracterización *in silico* de secuencias correspondientes al transportador SGLT1 en *Taenia solium*

Dado que no existe una secuencia anotada para el transportador SGLT1 de *Taenia solium*, se realizó una búsqueda en la base de datos WormBase Parasite (<https://parasite.wormbase.org/index.html>). Esta base de datos contiene información obtenida mediante secuenciación de genomas de diferentes helmintos parásitos. En el caso de *Taenia solium*, la base contiene información del artículo de Tsai y colaboradores (21).

Se utilizó el buscador por defecto y se ingresó la palabra clave “sodium glucose transporter”. La secuencia obtenida (TsM_000722000) fue traducida *in silico* con la herramienta Translate del SIB Bioinformatics Resource Portal (ExpASy). La secuencia de aminoácidos fue evaluada en la base de datos de dominios conservados (CDD) del National Center for Biotechnology Information (NCBI) (40).

Adicionalmente, se utilizó la herramienta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) del NCBI para buscar secuencias homólogas de aminoácidos en otros organismos del phylum Platyhelminthes (41) en base a una matriz de sustitución BLOSUM62 (BLOcks SUBstitution Matrix usada por defecto para BLAST de proteínas), para establecer una puntuación de los alineamientos establecidos entre las secuencias (42,43). Se filtraron los resultados de proteínas hipotéticas o desconocidas.

Mediante el programa MEGA (67) se realizó un alineamiento múltiple basado en la herramienta ClustalW (68,69) (<https://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalo/>). A partir de esto se generó un árbol filogenético mediante el método de máxima verosimilitud y el modelo de Jones, Taylor y Thornton (44).

Se incluyó también una búsqueda en base a la secuencia de aminoácidos de la proteína SLC5A1, correspondiente al cotransportador de sodio/glucosa 1 humano, la cual fue obtenida de la base de datos UniProt (45) (<https://www.uniprot.org/>) con el número de acceso P13866. Mediante la herramienta BLAST se identificó una proteína homóloga en la base de datos de secuencias de *T. solium* en el servidor WormBase Parasite, con una matriz de sustitución BLOSUM62.

Finalmente, dado que no existe una estructura de la proteína SLC5A1, se utilizó la herramienta de visualización Protter (46) (<http://wlab.ethz.ch/protter/start/>), la cual permite definir y visualizar la topología de proteínas transmembrana.

5. Extracción de ARN

Se extrajo ARN de quistes evaginados después de 24 h (T24) y 120 h (T120) a partir de 5 quistes de cada grupo y adicionalmente 5 quistes no evaginados a 0h (T0). La extracción se realizó mediante Trizol-fenol/cloroformo. Se cuantificó posteriormente con NanoDrop (Anexo 1). Las muestras correspondientes a los controles con medio RPMI a 0 y 120 horas fueron extraídas en un proyecto paralelo por Juan Blume (81).

6. Diseño de primers

Se diseñaron primers para los genes *tgtp1* y *sglt1* mediante el software online *Primer3* (<http://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>). La calidad del oligonucleótido diseñado fue evaluada mediante el software online *Oligo Analyzer* (<https://www.idtdna.com/calc/analyzer>). Se tomó en cuenta la formación de homodímeros y heterodímeros en la evaluación. La secuencia del gen *sglt1* se obtuvo como se describió más arriba. La secuencia del gen *tgtp1* se obtuvo desde la publicación de Rodríguez-Contreras y colaboradores (36).

7. RT-PCR

Se utilizó el kit *High Capacity cDNA reverse transcription kit* (Thermoscientific) para generar cDNA por transcripción reversa del ARN de 5 muestras de cada grupo. Para la normalización, cada reacción utilizó 100 ng de ARN. El protocolo de ciclado se realizó en el termociclador *PTC 200 Thermal Cycler* (MJ Research). Este consistió en 25 °C durante 10 minutos, 37 °C durante 120 minutos y 85 °C durante 5 minutos.

8. qPCR.

Para comparar la expresión genética de *tgtp1* y *sglt1* entre los grupos se utilizó el kit *PowerUp SYBR Green Master mix* (Thermoscientific) en reacciones de 10 µL (*PowerUp SYBR Green Master Mix* 1X, primers a 500 nM, cDNA). Se utilizó un termociclador *PikoReal Real Time PCR system* (Thermoscientific). El protocolo de ciclado fue de 50°C por 2 minutos; 95°C por 2 minutos; 40 ciclos de 95°C por 15 segundos y 60°C por 30 segundos. Se normalizó con el gen de Citocromo Oxidasa 1 (*cox1*), validado en el laboratorio como gen de referencia para *T. solium* en desarrollo, (Juan Blume, tesis de Maestría en Bioquímica y Biología Molecular, UPCH 2020). Estos genes candidatos fueron identificados como estables en *Echinococcus spp.* (47).

La especificidad y eficiencia de los primers se evaluó mediante un análisis de temperatura de melting. Este consiste en observar un patrón específico del cambio de fluorescencia con respecto al aumento de temperatura para cada amplicón generado en la reacción. La presencia de varios picos señala inespecificidad de los primers.

Los niveles de expresión se calcularon en base al antilogaritmo en base 2 de las diferencias del ciclo de cuantificación (C_q) entre los grupos experimentales en relación al C_q de un gen control de referencia, $2^{-\Delta\Delta C_q}$ (doble normalización respecto al gen de referencia, y luego respecto al control experimental - T=0h) (48,49). Finalmente, dada la distribución de los datos, la prueba estadística realizada fue la prueba no paramétrica de la U de Mann-Whitney.

9. Aspectos éticos

El presente trabajo está inscrito con registro SIDISI 104670, fue exonerado de revisión por la Dirección Universitaria de Investigación Ciencia y Tecnología (DUICT). Está vinculado al proyecto amplio SIDISI 102861 (“Caracterización de procesos biológicos de la larva de *Taenia solium*”), el cual regula el sacrificio de cerdos infectados bajo sedación para coleccionar larvas de *Taenia solium* que fue aprobado por el Comité Institucional de Ética Animal (CIEA) de la UPCH.

IV. RESULTADOS

1. La evaginación ocurrió espontáneamente e inducida por AT.

Se midió la porción evaginada del parásito bajo los diferentes tratamientos (Figura 3). A 0h no se observa evaginación (Figura 3, 0H RPMI); el escólex está íntegramente en el interior de la vesícula. En el grupo sin AT, a las 24 h las observaciones fueron similares a 0h. A 120 h (0.083 a 0.577 cm) se observa salida del escólex o parte del cuello en los 8 ejemplares (Figura 3, 120 H RPMI). En presencia de AT, desde las 24 h (0.09 cm a 0.639 cm) se observa la salida del cuello del parásito en n=13/21 (Figura 3, 24H RPMI), y tras 120 h (0.074 cm a 1.586 cm), la evaginación y crecimiento del cuello, completamente liberado, son evidentes en n=19/20 (Figura 3, 120H RPMI). Cabe tomar en cuenta que el valor mínimo observado a 120 h AT corresponde a un cisticerco aún en proceso de evaginación con solamente el escólex liberado.

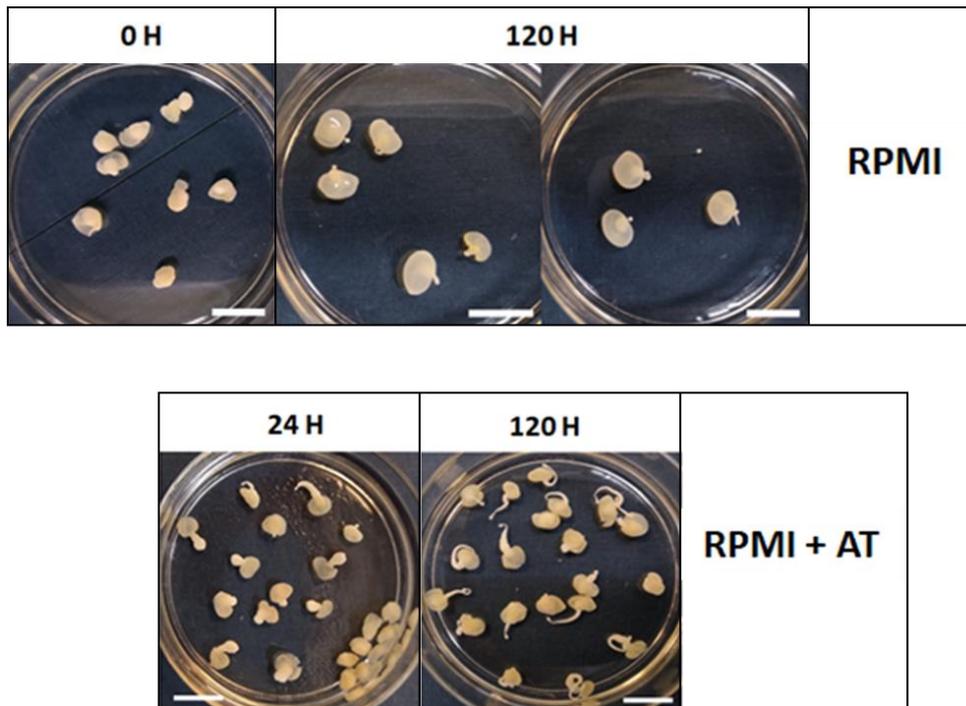


Figura 3. Tamaño del cuello del parásito. 0 h y 120 h en medio RPMI (arriba). 24 h y 120 h en medio RPMI y 0.1% de ácido taurocólico (abajo). La barra de escala equivale a 1 cm. Los quistes del grupo RPMI a las 0 h sirven para comparaciones en ambos grupos.

El tamaño de la porción evaginada del parásito se cuantificó mediante el software ImageJ. Los resultados de las mediciones y las comparaciones se observan en la Figura 4. No se midieron porciones evaginadas en el grupo de 24 h sin AT porque no presentó diferencias de evaginación con respecto a las 0 h (no evaginados).

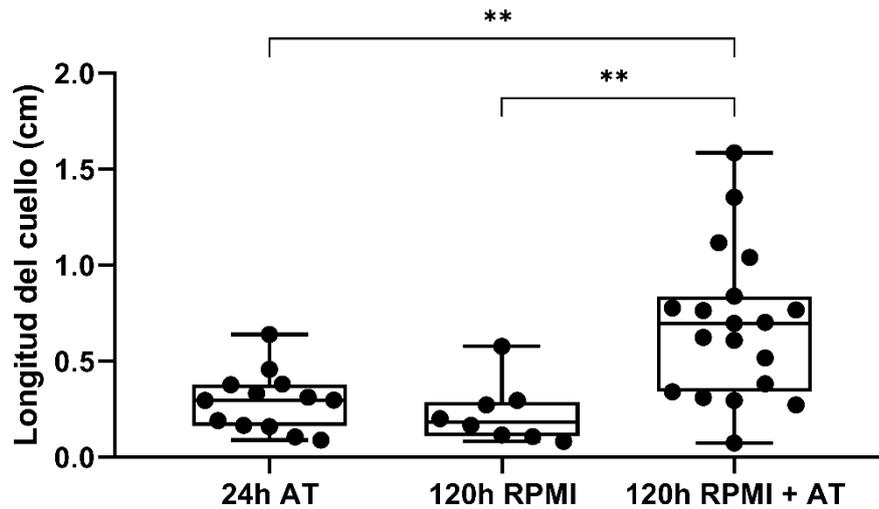


Figura 4. Medición de la longitud del cuello. Se tomaron los grupos de 24 h con inductor de evaginación (n=13), 120 h con medio RPMI (n=8) y 120 h con inductor de evaginación (n=19). Las comparaciones se realizaron mediante ANOVA de una vía. *, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

La longitud del cuello difiere tanto respecto al tiempo como según la presencia de AT. Los parásitos tratados 24h con AT no se diferencian de aquellos cultivados por 120 h con solo RPMI.

2. Existen secuencias homólogas del transportador de sodio/glucosa en *Taenia solium*

Al realizar la búsqueda por las palabras clave “sodium glucose transporter” en la base de datos WormBase Parasite se obtuvo la secuencia identificada con el número de acceso TsM_000722000 (Anexo 2, nombrada como SGLT1 a lo largo de este trabajo). Sin embargo, este resultado no garantiza que dicha secuencia corresponde a una proteína con la función esperada. Por esta razón, se obtuvo la secuencia de aminoácidos mediante la herramienta Translate del servidor ExPASy (Anexo 2).

A partir de esta secuencia se realizó la búsqueda mediante la herramienta pBLAST del NCBI para organismos del phylum Platyhelminthes. Se obtuvieron 51 entradas (Figura 5).

Distribution of the top 54 Blast Hits on 51 subject sequences

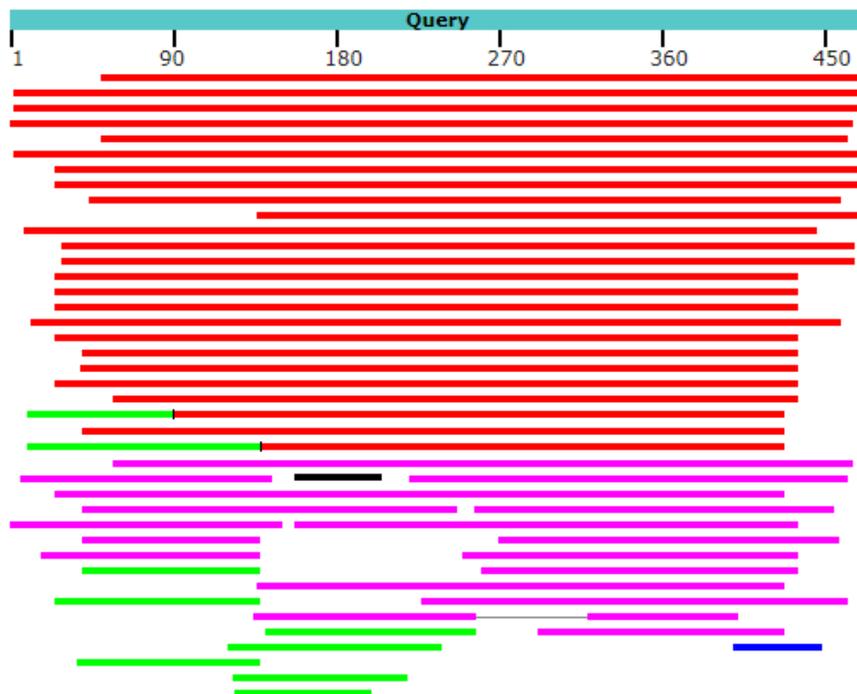


Figura 5. Alineamiento de las 51 secuencias obtenidas mediante la búsqueda por pBLAST. En rojo se muestran secuencias con un puntaje de alineamiento alto (mayor a 200). En fucsia secuencias con un puntaje medio-alto (entre 80 y 200). En verde secuencias con puntaje medio (50-80). En azul secuencias con puntaje medio-bajo (40-50). En negro secuencias con puntaje bajo (menor a 40).

De este grupo de secuencias, se descartaron secuencias de proteínas hipotéticas, no nombradas o con un puntaje de alineamiento que no fuera alto. Las secuencias que se mantuvieron en el análisis se encuentran descritas en el Anexo 3.

A partir de los resultados de alineamiento se realizó una búsqueda en la base de datos de dominios conservados (Conserved Domains Database, CDD; <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi>). Los resultados de este análisis se observan en la figura 6.

Mediante esta búsqueda se demuestra *in silico* la posible actividad de transporte de carbohidratos (glucosa) de la secuencia encontrada para el transportador de *T. solium*. Esto se evidencia en que la superfamilia MFS (Major Facilitator Superfamily) corresponde a proteínas cuya función principal es la de transporte de solutos (50). Los aminoácidos asociados a bolsillos de unión a sustrato se especifican en la tabla 1. Esta familia de proteínas está presente en gran número de los organismos del planeta.

Algunos transportadores de sodio/glucosa reportados en humanos, como el SLC5A1 (de interés en este trabajo), no forman parte de la superfamilia MFS pero sí pertenecen a la superfamilia APC (*aminoacid-polyamine-organocation*) (51). Sin embargo, que existan secuencias homólogas en otros platelmintos de transportadores de sodio/glucosa de la superfamilia MFS es suficiente para determinar la importancia de la secuencia encontrada mediante esta búsqueda.

Mediante un análisis filogenético se estableció el origen y relación de la secuencia encontrada respecto a otros transportadores de sodio/glucosa en otros parásitos del phylum Platyhelminthes. El árbol obtenido (Figura 7) muestra dos grupos mayores; uno agrupa las secuencias de los organismos de la clase Trematoda y el otro agrupa las secuencias de la clase Cestoda. El mayor número de sustituciones por sitio se encuentra en este último grupo. Se puede observar que la secuencia encontrada para *T. solium* comparte ancestría con miembros de la superfamilia MFS en el género *Echinococcus*. Todo este grupo está emparentado con una secuencia de la superfamilia MFS en *Hymenolepis microstoma*.

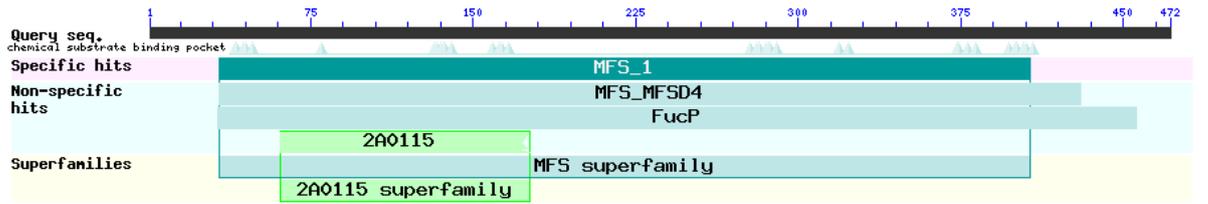


Figura 6. Análisis de dominios conservados realizado en CDD. Se observa correspondencia de la proteína encontrada con dominios de la superfamilia MFS.

Tabla 1. Posición de aminoácidos correspondientes a un bolsillo de unión a sustrato obtenidos en el análisis de base de datos en CDD.

AMINOÁCIDO	POSICIÓN
L	40
G	41
A	44
E	45
G	48
H	132
G	133
M	135
T	136
A	137
N	140
H	159
Y	162
G	163
A	166
Y	278
L	281
V	282
E	285
R	286
V	287
K	290
F	319
R	323
F	373
K	374
F	378
L	382
F	397
N	400
L	401
S	404
V	405
S	408

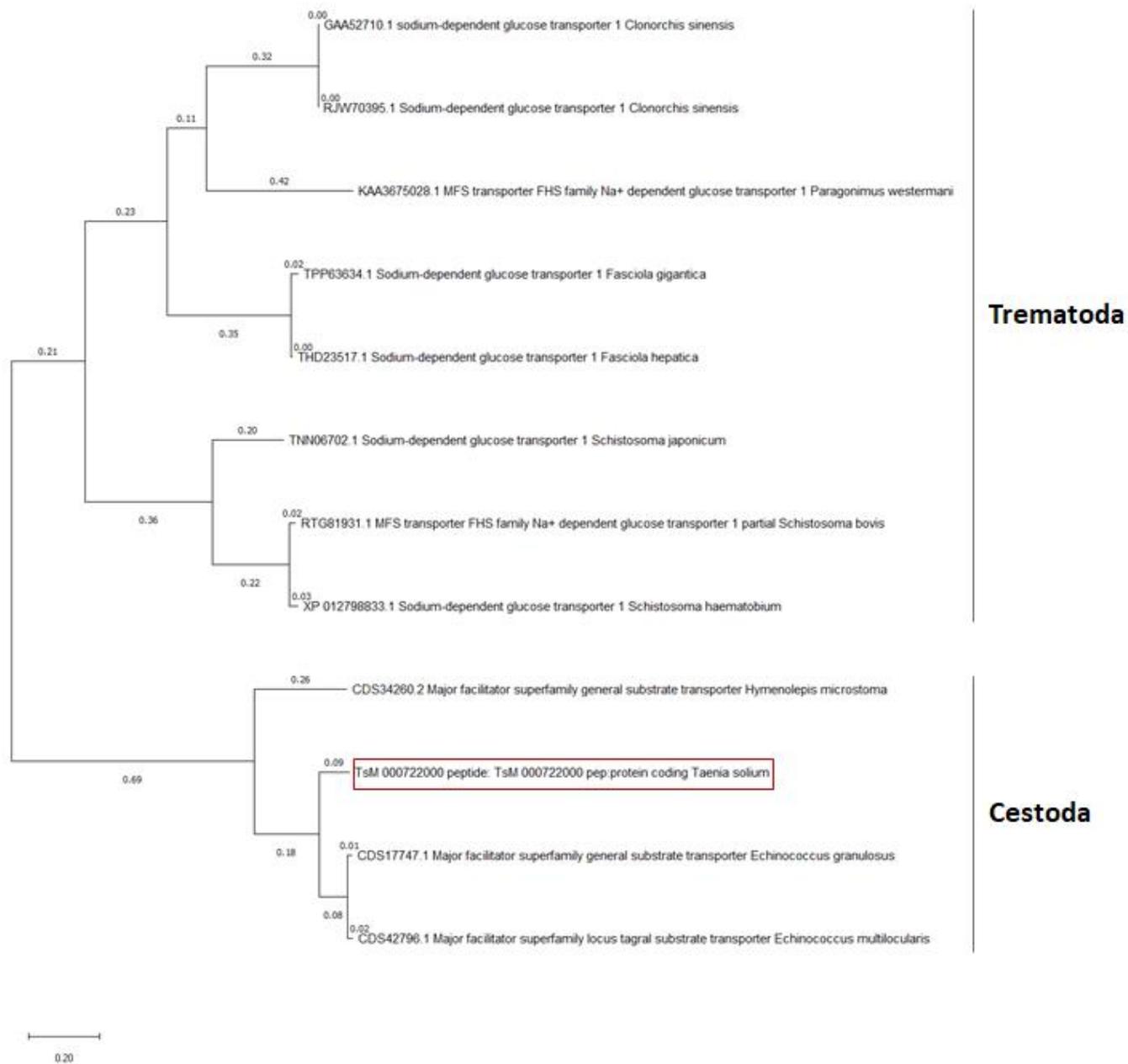


Figura 7. Árbol filogenético de la secuencia obtenida por la búsqueda en WormBase Parasite y las encontradas por alineamiento en pBLAST. El valor de *log likelihood* para este árbol es de -8101.81. Los valores observados en cada rama corresponden al número de sustituciones por sitio. Se evaluaron 720 posiciones en las 12 secuencias.

3. El transportador SGLT1 es detectable en quistes vesiculares de *T. solium* antes y después de evaginar.

Se determinó la expresión del transportador *sgl1* (secuencia obtenida mediante el análisis anterior) a las 0, 24 y 120 h en RPMI, y a las 24 y 120 h en RPMI con AT. Estos resultados se resumen en la Figura 8.

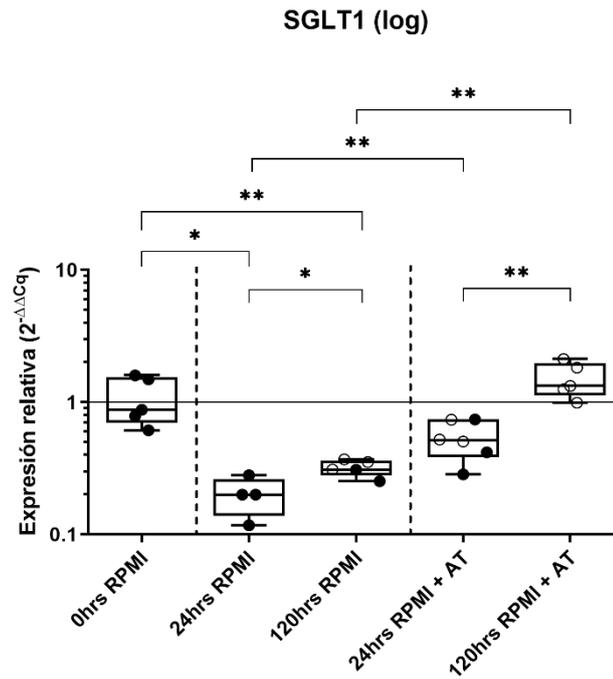


Figura 8. Gráfica de *fold-change* del gen *sgl1* en quistes de *T. solium* a los tiempos indicados, con y sin ácido taurocólico (AT). *, P < 0.05; **, P < 0.01. Puntos oscuros: Cisticercos no evaginados. Puntos blancos: Cisticercos evaginados.

En el eje de las abscisas se ubica cada grupo de tratamiento. Las ordenadas indican el valor de *fold change*, que corresponde al valor de $2^{-\Delta \Delta Cq}$ calculado respecto al gen de referencia, *cox1*. Dado que los datos se normalizan respecto a dicho gen, los valores cercanos a 1 corresponden a niveles de expresión similares a los del gen de referencia.

En cuanto a los grupos de parásitos cultivados solo con RPMI, se observa que la media de expresión del gen *sgl1* a las 0h (quistes sin evaginar) es similar al gen de referencia (valores en torno a 1.0). Luego de 24 h se observa que la expresión del gen *sgl1* es aproximadamente 4 veces menor que a las 0h (p=0.0159), y a las 120 h, aunque la expresión aumenta, se mantiene menor que

a 0h ($p=0.0079$). En este punto, la evaginación ya ha comenzado en la mayoría o todos los individuos, de acuerdo con las mediciones en otro grupo de quistes cultivados en paralelo con los del experimento.

En cuanto a los grupos de parásitos tratados con ácido taurocólico al 0.1% (AT), la expresión del gen *sglt1* a las 24 h es menor que a 0 h ($p=0.0173$), pero se advierte que es mayor que al mismo tiempo sin AT ($p=0.0095$). Luego de 120 h de tratamiento con AT, la expresión de *sglt1* es claramente mayor que en el grupo que no recibió AT ($p=0.0079$). No existen diferencias entre el grupo de quistes evaginados tras 120 h con AT y los quistes no evaginados a 0 h ($p=0.2222$).

Las significancias estadísticas se resumen en la tabla 2.

Tabla 2. Test U de Mann-Whitney entre los grupos 0 h, 24 h, 120 h, 24 h + AT, 120h + AT, para la expresión del gen *sglt1*.

Grupo	0h	24h	120h	24h + AT	120h + AT
24h	0.0159	-----	0.0317	0.0095	0.0159
120h	0.0079	0.0317	-----	0.0519	0.0079
24h + AT	0.0173	0.0095	0.0519	-----	0.0043
120h + AT	0.2222	0.0159	0.0079	0.0043	-----

4. Existe una secuencia homóloga del transportador de sodio-glucosa humano (SLC5A1) en *Taenia solium*

En el reporte de Cornford y colaboradores (34), usando antisuero contra el transportador de sodio-glucosa humano (SLC5A1), se localizaron *in situ* epítopes de este tanto en el tegumento de un cisticerco racemoso (*T. solium*) como en proglótides de *Taenia saginata*. Sin embargo, la actividad y presencia de este transportador en el parásito no se especifica. En el artículo se sugiere que la presencia de estos transportadores en el parásito no sería inesperada.

En base a una búsqueda por pBLAST en la base de datos WormBase Parasite, a partir de la secuencia de aminoácidos de la proteína SLC5A1 (número de acceso P13866), se identificó otra secuencia (descrita en el anexo 5 y nombrada como TsSLC5A1 a lo largo de este trabajo).

Mediante el análisis de dominios conservados en el CDD para esta nueva secuencia (Figura 9) se observa correspondencia con la superfamilia SLC5-6, y dentro de este grupo, con la familia SSS (Sodium Solute Symporter) de transportadores dependientes de gradiente de sodio. Estos poseen entre 11 y 15 segmentos transmembrana (52).

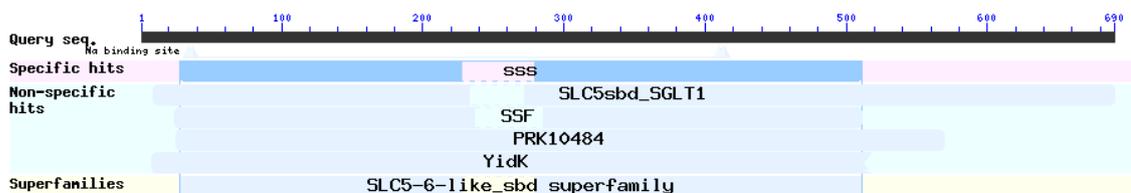


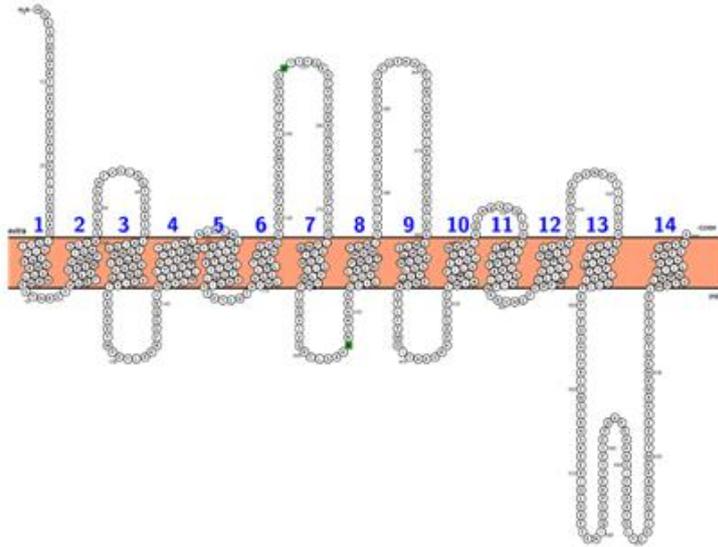
Figura 9. Análisis de dominios conservados realizado en CDD. Se observa correspondencia de la proteína encontrada con dominios de la superfamilia SLC5-6 y la familia SSS. A34, I37 son residuos clave en el sitio de unión a sodio.

En cuanto a las características estructurales, dado que no existe una proteína cristalizada para esta proteína, se obtuvo un modelo de la posible topología de esta secuencia y se la comparó con la topología de la proteína humana (Figura 10).

Según el modelo, ambas proteínas contienen 14 segmentos transmembrana. Ambas poseen dos regiones extracelulares grandes entre los segmentos 6-7 y 8-9. En el caso de *T. solium*, el bucle entre los segmentos 6-7 posee mayor tamaño y dos sitios de N-glicosilación. En el caso de la versión humana, el extremo N-terminal posee un mayor tamaño y los dos sitios de N-glicosilación separados por el segmento 7. Ambos poseen un bucle intracelular grande entre el segmento 13-14.

En SLC5A1 humano, se han identificado mutaciones que causan malabsorción congénita de glucosa/galactosa. Esta enfermedad autosómica recesiva produce una diarrea grave que puede llegar a ser fatal y requiere eliminar glucosa y galactosa de la dieta (53). Las posiciones de los aminoácidos mutados pueden ser de importancia en la actividad del transportador. Una de estas consiste en la mutación de Asp28 (53,54). En la proteína humana, este residuo se encuentra al inicio del primer segmento transmembrana. En el caso de la proteína hipotética de *T. solium*, el Asp10 conserva esta posición. También mutaciones en Ala468 están asociadas a esta deficiencia. En la proteína hipotética de *T. solium*, esta posición corresponde a Ala488. Estas posiciones se encuentran en el segmento transmembrana 11.

SLC5A1



TsSLC5A1

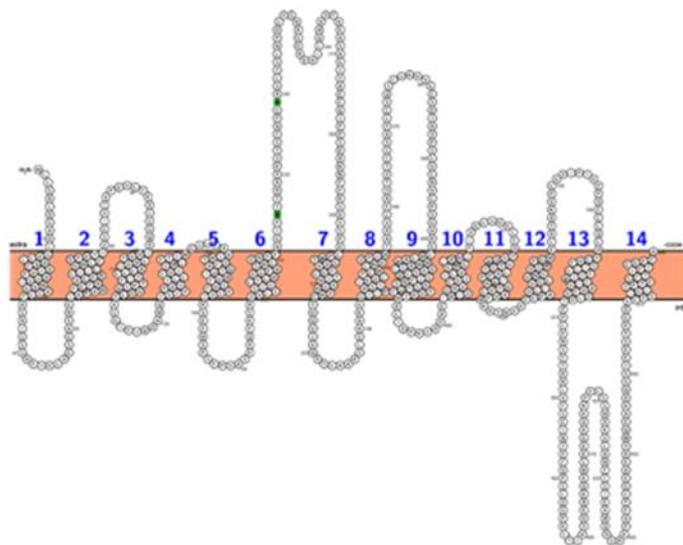


Figura 10. Modelo de topología de los transportadores transmembrana SLC5A1 y el transportador hipotético TsSLC5A1. En verde se marcan aminoácidos en los que puede darse una glicosilación enlazada a N. Región superior: espacio extracelular. Región inferior: espacio intracelular.

5. El gen del transportador TGTP1 se expresa en quistes vesiculares de *T. solium* antes y después de evaginar

Se determinó la expresión del gen *tgtp1* en quistes mantenidos con y sin AT, a las 24 y 120h. Los resultados se resumen en la Figura 11.

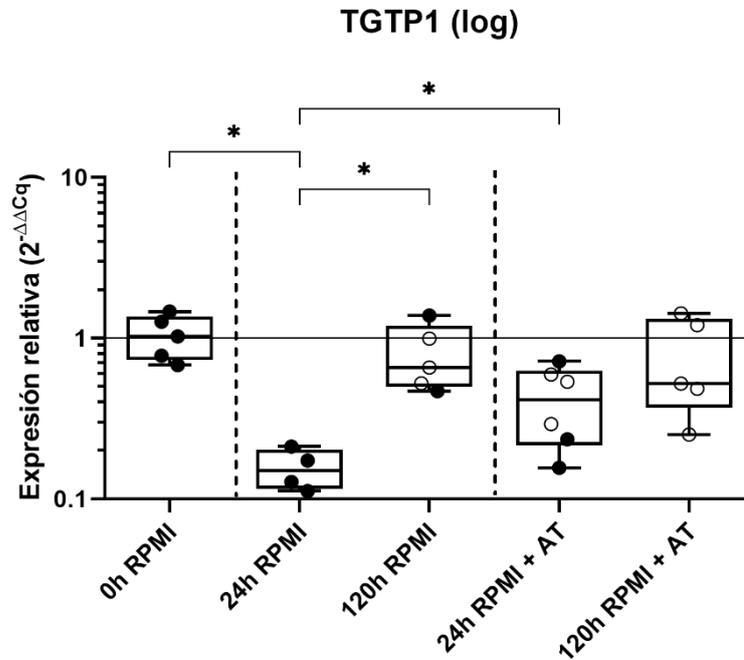


Figura 11. Gráfica de *fold-change* del gen *tgtp1* en parásitos a tiempo 0h, 24h y 120h, sin y con ácido taurocólico 0.1%. *, $P < 0.05$. Puntos oscuros: Cisticercos no evaginados. Puntos blancos: Cisticercos evaginados.

Las tendencias que se observaron previamente para las comparaciones entre grupos del gen *sglt1* se mantienen para la expresión del gen *tgtp1*. A las 24h, la expresión de *tgtp1* disminuye en relación con las 0 h, ya sea en los parásitos tratados con AT ($p=0.0087$) o únicamente tras mantenerse en medio de cultivo ($p=0.0159$). Esta expresión es mayor con el inductor de evaginación que sin él ($p=0.0381$). A las 120h, con ($p=0.3095$) o sin AT ($p=0.2222$), con evaginación incipiente o notable, no se observa diferencia en la expresión con respecto a los quistes no evaginados de las 0h. En presencia de AT, la expresión de *tgtp1* fue similar en ambos puntos de tiempo comparados ($p=0.4242$), a diferencia de lo observado en los parásitos cultivados únicamente con medio RPMI, los cuales a 24h tenían una expresión muy reducida. Las significancias estadísticas se observan en la tabla 3.

Tabla 3. Test U de Mann-Whitney entre los grupos 0 h, 24h, 120h, 24h + AT, 120h + AT, para la expresión del gen *tgtp1*.

Grupo	0h	24h	120h	24h + AT	120h + AT
24h	0.0159	-----	0.0159	0.0381	0.0159
120h	0.2222	0.0159	-----	0.1775	0.8016
24h + AT	0.0087	0.0381	0.1775	-----	0.4242
120h + AT	0.3095	0.0159	0.8016	0.4242	-----

6. El transportador SGLT1 aumenta en mayor grado su expresión que TGTP1 en cisticercos tratados con AT

Se calculó la razón del valor de expresión relativa de un transportador respecto a otro (*sgl1/tgtp1*), lo cual permite evaluar la tasa de expresión del transportador *sgl1* en relación con *tgtp1* respecto a un grupo calibrador. Dado que el grupo 0h RPMI es el grupo calibrador, los valores observados para este tienen una media de 1.

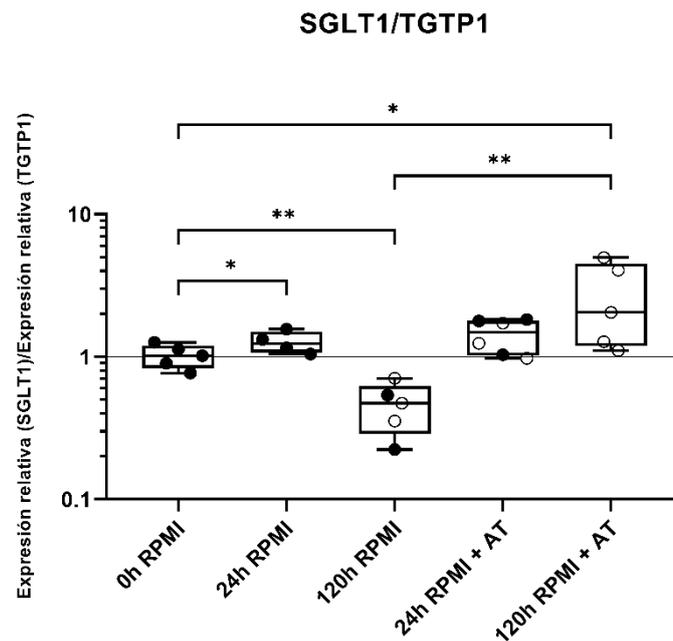


Figura 12. Gráfica de *fold-change* de *sgl1* respecto al *fold-change* de *tgtp1* en parásitos a tiempo 0h, 24h y 120h, sin y con ácido taurocólico 0.1%. *, $P < 0.05$. Puntos oscuros: Cisticercos no evaginados. Puntos blancos: Cisticercos evaginados.

En los grupos no tratados, se observa que a las 24h la razón de expresión de *sgl1* en relación con la de *tgtp1* es mayor que en el grupo calibrador (0h). Pero, a las 120h hay mayor tasa de expresión de *tgtp1* en relación con *sgl1* (razón de expresiones relativas inferior a 1). En los grupos tratados con AT, se observa que a las 24h no hay diferencias significativas en cuanto al aumento de la tasa de expresión de *sgl1* respecto a *tgtp1*. Esto se debe a la distribución de datos más dispersa para el grupo de 24h tratado con AT respecto al grupo no tratado. Sin embargo, se observa un aumento en esta tasa a las 120h.

Tabla 4. Test U de Mann-Whitney entre los grupos 0 h, 24h, 120h, 24h + AT, 120h + AT, para la razón de la expresión relativa entre *splt1* y *tgtp1*

Grupo	0h	24h	120h	24h + AT	120h + AT
24h	0.0159	-----	0.0159	0.7619	0.2857
120h	0.0079	0.0159	-----	0.0043	0.0079
24h + AT	0.1255	0.7619	0.0043	-----	0.1775
120h + AT	0.0317	0.2857	0.0079	0.1775	-----

V. DISCUSIÓN

1. Las tendencias de los cambios de expresión de los genes *tgtp1* y *sglt1* pueden ser producto de las condiciones previas al experimento y podrían representar el estado nutricional del parásito a nivel molecular

El propósito de este trabajo es determinar si existe un cambio en la expresión de genes asociados a diferentes mecanismos de transporte de glucosa (*tgtp1* y *sglt1*) durante el proceso de evaginación de *T. solium*. Si en efecto el tipo de transporte de glucosa cambiase de acuerdo con el estadio del parásito, se espera evidenciar una transición desde el uso de sistemas de transporte facilitado de glucosa hacia un sistema de transporte activo. Esta transición ocurriría en paralelo con la evaginación del escólex, pues este proceso marca el cambio de estadio larval a adulto. Como resultado del trabajo, se encontró que, a lo largo del tiempo de evaginación, la expresión de estos genes tiende a disminuir a las 24 horas y retornar a valores iniciales a las 120 horas.

De acuerdo con lo reportado por Rodríguez-Contreras et al. (36), se esperaba encontrar niveles estables de expresión del gen del transportador de glucosa *tgtp1* en la transición de larva a adulto. Sin embargo, en el presente reporte se encuentra que la expresión de este gen disminuye solo de manera transitoria (24 h de cultivo con o sin ácido taurocólico) y luego vuelve a sus niveles basales de expresión, los observados en quistes no evaginados, tras solo un periodo de estabilización post colecta de algunas horas en el laboratorio.

Asimismo, con base en la evidencia del cambio en el mecanismo de transporte de glucosa en *H. diminuta* (37), se esperaba mayor expresión del gen del transportador SGLT1 en la larva evaginada que en la larva sin evaginar, considerando la primera como un estadio "pre-adulto". Esto debido a que el parásito evaginado, al igual que la forma aberrante racemosa, depende de la proliferación celular para crecer (23). Los resultados para la expresión de este gen a las 120 h con el tratamiento de ácido taurocólico van de acuerdo con esta predicción. Sin embargo, no explican la drástica caída de la expresión a las 24 h en ambas condiciones de cultivo.

Se podría establecer que la disminución temporal de expresión es un artefacto propio del diseño experimental por las siguientes razones: Tras la colecta del material parasitario a partir de músculo de cerdo donde estaban enquistados, todos los parásitos estuvieron entre uno y dos días en PBS, sin nutrientes disponibles. Posteriormente, estos se estabilizaron por aproximadamente 16h en medio RPMI, rico en nutrientes y entre ellos, glucosa. Inmediatamente después de la estabilización se establece el tiempo 0 h. Este cambio a un medio con glucosa posiblemente gatilló la expresión de transportadores de glucosa, ya sean los TGTP1 o SGLT1, para permitir al parásito alimentarse de la mayor cantidad de nutrientes posible después de un periodo de estrés. Posteriormente, a las 24 h la expresión de transportadores disminuiría debido a la gran cantidad de estos, y su disponibilidad y actividad se regularían a nivel de proteína y no de expresión genética. Esto desencadenaría una disminución en el nivel de transcritos por retroalimentación negativa, lo cual coincide con las observaciones a las 0 y 24 h. Finalmente, como se observa, a las 120 h una buena proporción de parásitos han evaginado, de modo que las células del cuello proliferarían para permitir el crecimiento, lo cual requeriría el aumento de expresión de los transportadores respecto a las 24 h. Esta explicación se sostiene con la diferencia notable en el tamaño del cuello entre los grupos a 24 h y los parásitos cultivados por 120 h con AT, lo cual podría indicar que el crecimiento del cuello del parásito fue estimulado por el inductor de evaginación. Sin embargo, se requiere aumentar el número de individuos (quistes) y hacer comparaciones en puntos de menor tiempo de tratamiento (entre 0 y 24 h). Como la proliferación celular depende en gran manera del metabolismo de glucosa (31), el parásito requiere aumentar la expresión de los transportadores. El transportador que mejor exhibe este comportamiento es el identificado como SGLT1 de la superfamilia MFS (figuras 5 y 7), probablemente por su posible papel como transportador asociado a células hiperproliferativas (como las del cisticerco racemoso). Posiblemente, dado que los cambios de expresión de *tctp1* no son dramáticos como los observados para *sglt1*, estos son insensibles al tratamiento con AT, pero sí responden al evento de evaginación (Figura 11, 24 h RPMI vs. 24 h RPMI + AT).

Una evidencia que puede apoyar el mecanismo propuesto es la diferencia en los niveles de expresión de los transportadores entre los parásitos cultivados únicamente con RPMI y los expuestos además a ácido taurocólico. Se podría proponer al ácido taurocólico no solo como un inductor de evaginación, sino

también como un probable inductor de proliferación celular, reflejada en los mayores tamaños de los cuellos luego del tratamiento con ácido taurocólico. Funcionalmente, no se conoce si el ácido taurocólico es capaz de inducir la proliferación en el parásito de manera directa o si la proliferación se estimula al inducir la evaginación. Para ello, se propone identificar y analizar la expresión de secuencias homólogas en *T. solium* de genes previamente caracterizados en proliferación celular de planarias (*Schmidtea mediterranea*) como lo son *smedwi-2*, *vasa-1* o *soxP-1* (55). También, sería posible asociar el efecto del ácido taurocólico directamente con el metabolismo de glucosa mediante receptores de ácidos biliares (56), aún por identificar en *T. solium*. Para discriminar si el efecto es propio de la evaginación o de la inducción de proliferación, se debe evaluar el rol del ácido taurocólico sobre la proliferación en *T. solium* antes y después de la evaginación. Para ello, se puede evaluar el comportamiento de otros marcadores de proliferación a lo largo del tiempo. El marco de 5 días resulta adecuado, de acuerdo con el presente trabajo. Una sugerencia importante es reducir el tiempo en PBS, por ejemplo, utilizando RPMI para el transporte al laboratorio si este necesita ser de tiempo prolongado. Sin embargo, al menos para el transporte, debería usarse RPMI sin el suplemento de suero fetal bovino, ya que contiene factores de crecimiento que harían difícil interpretar resultados.

2. Señales extrínsecas son capaces de modular la expresión de genes metabólicos a nivel del transporte de glucosa durante la proliferación celular propia del desarrollo del parásito

Otra de las observaciones importantes es que, ya sea a causa del tratamiento o el cambio de medio, existe un cambio en la expresión de estos genes. Esta es evidencia de que, a nivel celular, señales extrínsecas son capaces de regular la expresión de genes asociados al metabolismo a nivel transcripcional o post-transcripcional. Este evento requiere de igual manera ser caracterizado a nivel post-traducciona. Se necesitaría generar anticuerpos contra estas proteínas en *T. solium*, pues no se encuentran disponibles comercialmente.

3. Se requiere estudiar vías de señalización asociadas a metabolitos y reguladores maestros del metabolismo en células en proliferación en el parásito

El estudio de la regulación de la expresión génica por señales asociadas a nutrientes y factores de crecimiento es un área de la biología celular que últimamente muestra gran actividad. Principalmente, estos estudios se centran en entender patologías como obesidad, cáncer y diabetes a nivel celular. Las vías de señalización que actúan como sensores nutricionales toman fuerte importancia en la progresión de estas dolencias (57,58).

Hasta el momento, el estudio de células madre pluripotentes humanas (PSCs), células madre hematopoyéticas de ratón (HSCs) y células madre intestinales de *Drosophila melanogaster* (ISCs) abarcan gran parte de la información conocida para el estudio del metabolismo durante proliferación celular (59). Se ha encontrado que el mantenimiento del estado pluripotente y diferenciación en PSCs está asociado a la actividad de la vía glicolítica. Esto debido al aumento de intermediarios metabólicos como acetil-CoA (también proveniente de la dismutación del malato (38)) y α -cetoglutarato (α -KG), este último proveniente del ciclo de ácidos tricarbóxicos (TCA). Estos metabolitos actúan como sustratos de enzimas que regulan histonas: acetiltransferasas (HAT) y demetilinas (HDM) las cuales modulan la expresión de genes asociados a proliferación celular y metabolismo (60). Las enzimas HAT han sido reportadas en cestodos y su inhibición tiene consecuencias en el desarrollo de estos parásitos (61). Además, el ciclo TCA y la dismutación del malato son importantes para generar metabolitos indispensables para el anabolismo y es de las pocas rutas metabólicas que se conservan en *T. solium* (21, 38). Estas características permiten sugerir su posible rol en la proliferación celular (59).

También debe considerarse el papel de la quinasa mTOR en este grupo de células. La serina/treonina quinasa mTORC1 es conocida como el regulador maestro del metabolismo celular y se encarga de integrar señales tanto de factores de crecimiento (mediante la vía PI3K/AKT) como de metabolitos propios de la célula (mediante complejos proteicos que actúan como sensores moleculares) (62). Dada su relevancia a nivel celular, fisiológica, evolutiva (ya que esta quinasa se encuentra conservada en todo el reino animal), y en la

homeostasis de tejidos y diferenciación, esta quinasa es de importancia en el desarrollo de cualquier organismo animal (63). Hasta el momento, en *T. solium* la proteína mTOR no se encuentra anotada ni caracterizada bioquímicamente. Asimismo, las vías de señalización asociadas a esta quinasa no han sido estudiadas en el parásito.

Las planarias, por pertenecer al phylum Platyhelminthes, se encuentran fuertemente emparentadas con *T. solium*. En estos organismos existen estudios a nivel de la vía mTOR y la implicancia de este sensor de nutrientes en la longevidad del organismo y la regulación de la actividad de los neoblastos. Precisamente, dietas de restricción calórica que inhiben la vía mTOR favorecen la longevidad en planarias al favorecer la estabilidad genómica mediante el mantenimiento de la longitud de los telómeros (64). Además, la eliminación de la quinasa mTOR mediante ARNi impide la regeneración de regiones amputadas y afecta la tasa de apoptosis y división celular propias de la homeostasis de tejidos (65). Se demostró también que la inhibición de esta vía resulta en defectos en la proliferación celular dependiente de nutrientes, lo cual resulta en el mal mantenimiento de estructuras y proporciones (66).

Considerando el rol del ácido taurocólico para la activación del proceso de evaginación del parásito, es importante explorar su contribución a nivel de vías de señalización y proliferación celular. En patologías como la cirrosis se ha descrito que el ácido taurocólico promueve la proliferación celular y la expresión de factores asociados a citoesqueleto y matriz extracelular en células hepáticas (77). Por otro lado, se conocen transportadores de taurocolato en células hepáticas como el cotransportador sodio-taurocolato (NTCP) (78). Asimismo, el receptor X farnesoide (FXR) es activado a nivel intracelular por ácidos biliares (79). Adicionalmente, se ha reportado que receptores acoplados a proteína G de esfingosina 1-fosfato son activados por ácido taurocólico e inducen la activación de AKT, relacionado con la activación de mTOR (72-74). Existen reportes de incorporación de ácidos biliares a nivel del tegumento de céstodos adultos (80). Por otra parte, se ha identificado y caracterizado un receptor de estrógeno en *T. solium*. De manera similar al efecto del ácido taurocólico, es posible inducir la evaginación del parásito mediante esta hormona (7). Sin embargo, ninguno de estos receptores de taurocolato y vías asociadas, así como la relación de estos con la evaginación mediada por estrógeno están caracterizadas en el estadio

pre-adulto del parásito, por lo que su estudio resulta fundamental para comprender el mecanismo de evaginación de *T. solium*.

Dados estos antecedentes, existe la posibilidad de la regulación metabólica y celular por parte de la vía mTOR y regulación epigenética por parte de derivados del metabolismo de glucosa en *Taenia solium*. La figura 12 resume las ideas postuladas en base al presente trabajo para explicar la relación entre metabolismo y proliferación en el desarrollo de *T. solium*. Para definir mejor este modelo, se requiere evaluar la contribución de la glucosa sobre otros nutrientes en la activación de estas vías de señalización. También se necesita estudiar la expresión de otros marcadores metabólicos y su relación con la proliferación celular durante el desarrollo del parásito.

La relevancia de conocer más sobre estos aspectos en la biología de los cestodos se refleja en publicaciones recientes de proteómica y transcriptómica en torno a cestodos modelo como *Mesocestoides corti* (70) e *Hymenolepis* (71), los cuales pueden mantenerse en el laboratorio con mucha mayor facilidad que *T. solium* - aunque no tienen tanto impacto como este en la salud pública.

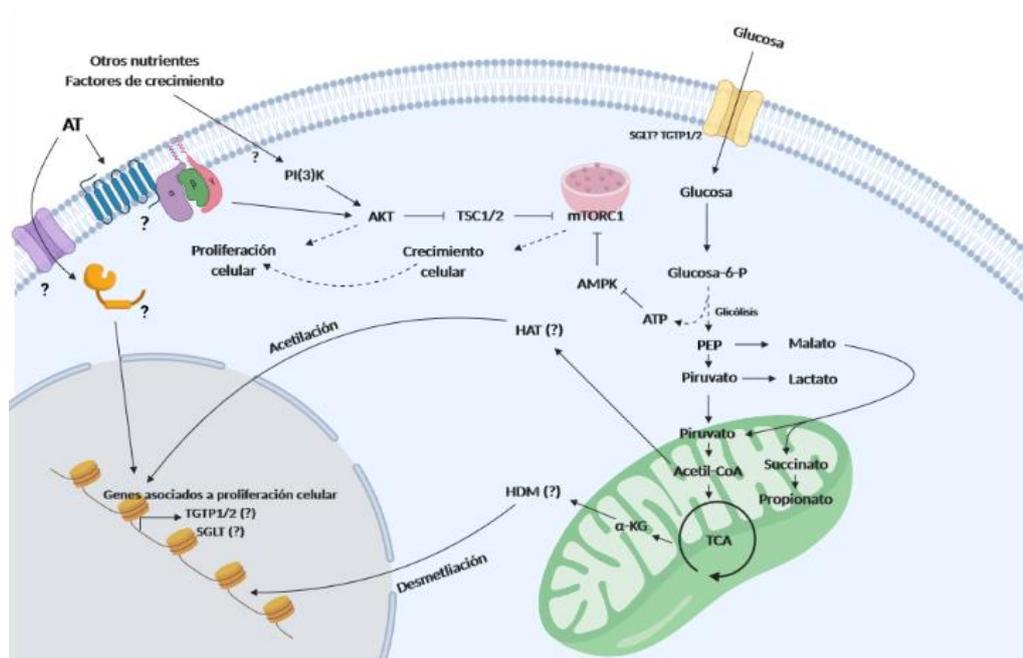


Figura 13. Modelo propuesto para la relación metabolismo-proliferación en *T. solium*. La glucosa ingresaría a las células por medio de los transportadores TGTP1/2 o SGLT1. Por medio de la vía glicolítica, el ciclo TCA y la dismutación del malato se producirían los intermediarios acetil-CoA y α -KG, los cuales mediante las enzimas HAT y HDM provocarían cambios en la expresión de genes (posiblemente asociados a proliferación y los de los propios transportadores, TGTP1/2, SGLT1). A su vez, el ATP producido por el metabolismo de glucosa inhibiría la quinasa AMPK, lo cual, junto a la activación de la vía PI(3)K/AKT por nutrientes, factores de crecimiento o AT, permitiría la activación de la quinasa mTORC1. Esto, en coordinación con otras rutas de señalización probablemente asociadas al ácido taurocólico, estimularía el crecimiento celular, proliferación y eventual diferenciación. (Imagen creada en BioRender.com)

4. Los transportadores SGLT1 y TsSLC5A1 podrían ser de importancia en la proliferación celular y desarrollo, por lo que requieren ser caracterizados

Para demostrar las diferencias a nivel de expresión de genes entre el transportador SGLT1 y TGTP1 se requeriría realizar una cuantificación absoluta. La regulación transcripcional de estos genes es evidente y el conjunto de factores que influyen el estado metabólico del parásito requiere estudiarse a mayor profundidad. Además, al comparar las razones de la expresión relativa

entre ambos genes (Figura 12, *sglt1/tgtp1*) se puede observar que la tasa de expresión de *sglt1* en relación con *tgtp1* aumenta al inducir evaginación con AT. Esto sugiere la importancia de este tipo de transportadores durante el desarrollo y proliferación celular. Sin embargo, aunque se puede apreciar que la tasa de expresión de *sglt1* varía más que la de *tgtp1* con respecto a la evaginación, la abundancia de transcritos de cada transportador no puede ser determinada por los métodos descritos en este trabajo.

Se ha reportado recientemente que transportadores de sodio glucosa están involucrados en la activación de la vía PI3K/AKT/mTOR asociada a proliferación celular en patologías como cáncer (75,76). Se requiere evaluar también la expresión del transportador TsSLC5A1. Asimismo, se sospecha que el aumento en la expresión de *tgtp1* no depende directamente de la inducción con AT, pero sí del evento de evaginación (ya sea espontánea o inducida).

Se han identificado dos genes con potencial de ser transportadores de glucosa dependientes de sodio de dos superfamilias diferentes (uno ortólogo a otros platelmintos y uno homólogo al transportador SLC5A1 humano). Sin embargo, dado que el transportador TsSLC5A1 fue identificado cuando ya contábamos con los primers para el estudio, no fue posible evaluar su expresión. Por otro lado, para la caracterización bioquímica de estos dos nuevos transportadores identificados se propone clonar y expresar estas proteínas en ovocitos de *Xenopus laevis* o *Danio rerio* y evaluar su actividad con el análogo fluorescente de glucosa 2-NBDG. Asimismo, sería interesante su identificación *in situ* mediante WMISH o inmunofluorescencia.

VI. CONCLUSIONES

- a. Se ha identificado y caracterizado *in silico* una secuencia correspondiente a un transportador de sodio-glucosa (SGLT1) de la superfamilia MFS en *T. solium*. Asimismo, se ha identificado y evaluado mediante herramientas bioinformáticas un transportador en *T. solium* que es homólogo al transportador de sodio-glucosa humano (TsSLC5A1).
- b. Los primers diseñados permitieron evaluar los niveles de expresión a nivel de ARN de dos transportadores de glucosa, TGTP1 y SGLT1, en cisticercos no evaginados y evaginados; el segundo no se ha detectado antes en este estadio de *T. solium* y requiere ser caracterizado bioquímicamente para ser validado.
- c. Se determinó que la expresión de ambos transportadores es regulada a nivel temporal y dependiente de factores extrínsecos como el ácido taurocólico o los niveles de glucosa en el medio. Existe evidencia de que el transportador SGLT1 tiene una mayor tasa de expresión que el transportador TGTP1 en respuesta a la inducción con AT con respecto al grupo a 0h RPMI.

Se requiere evaluar la expresión del transportador anotado TGTP2 y el transportador TsSLC5A1. Este último también requiere ser caracterizado bioquímicamente.

Estos resultados contribuyen a esclarecer cómo es que *Taenia solium* integra señales exógenas sobre la disponibilidad de nutrientes, especialmente glucosa, para favorecer la proliferación celular y su desarrollo.

VII. ANEXOS

1. Concentración y calidad de ARN extraído

TRATAMIENTO	ESTADO	TIEMPO	CONCENTRACIÓN (ng/ μ L)	A _{260/230}	A _{260/280}
Sin tratamiento	No evaginado	24h	64	0.81	1.74
Sin tratamiento	No evaginado	24h	103.8	0.48	1.7
Sin tratamiento	No evaginado	24h	60.4	0.58	1.74
Sin tratamiento	No evaginado	24h	78.6	0.93	1.77
Sin tratamiento	No evaginado	24h	42	0.87	1.74
Ácido taurocólico 0.1%	No evaginado	24h	132	1.37	1.77
Ácido taurocólico 0.1%	No evaginado	24h	84.5	0.99	1.79
Ácido taurocólico 0.1%	No evaginado	24h	158.3	0.73	1.83
Ácido taurocólico 0.1%	Evaginado	24h	99.2	1.04	1.81
Ácido taurocólico 0.1%	Evaginado	24h	93.6	0.86	1.77
Ácido taurocólico 0.1%	Evaginado	24h	35.6	1.03	1.79
Ácido taurocólico 0.1%	Evaginado	120h	48.1	0.9	1.73
Ácido taurocólico 0.1%	Evaginado	120h	102.9	1.35	1.77
Ácido taurocólico 0.1%	Evaginado	120h	76.6	1.05	1.77
Ácido taurocólico 0.1%	Evaginado	120h	59.6	0.89	1.79
Ácido taurocólico 0.1%	Evaginado	120h	73.4	1.12	1.76

2. Secuencia hipotética del gen *splt1* de *Taenia solium* y traducción *in silico*

>TsM_000722000 [ARNm]

```
ATGGATATGACCGTAGAAGCAGAGGTGAACAGTTTAGAATCTGGTCCTTTTAATAA
AAATGCTGACCTTGGATGCCGCATTATGAAGACAGTGGCGCTTTTTCTGTGTTGGT
GTTGTTTGGGTTTGTGCGCAGAGGTGTTAGGACCCTCAATGCAGACGTACATAGA
CGTGACCAACTCGGACACGGAGCAGTTAGGCACGTGTCTCTCGATGCGTGAGTT
GGGTATGTTCTTCGGTTCGTTGATGGGTGCTTTCCTGGCTGACCGCTTTGTACAG
TGGAGGCACTTTGTTATGGCCGGTGGCCTTGTACTCGGAGCTACCACAAACGGC
GCTGTGCCGTGGTGCACCACCGTGGCTTCCCTCTCTGCCACCTTCTTCTTCCG
GCTGCGCTCACGGCACTATGACTGCCAGTGGTAATCCGCTGCTGAATTCGATTTG
GCTGGAGAAGTCGGGTGGACCCTTCACTTCATGCATTCGGGCTACGGCGTGGG
CGCCGCCGTGGCCCCTGGTCTGTTGGCACCTTTTACCTTCGCTCAGGAGAAAGTC
CTCGCCAACGGGACGGTAGTTAAGAATAGACTAATCAATCTCACCGCGCCCTACT
TCATCGTCAGTGGTCTCTGCTGCGTCTGTGCCTGTCTCTTTTGCAGCTTCAGCTTC
TGTCAACCATCCAAGAGGAGACCTCCGAAGCAACCACGGCAAAGGACAAAGAT
GACAGCTCTACCGAGTTCGAAGTTGCAAAAGTAGAGACTAAAAGGTCCGCCCTAT
TGCAAGCGCTGGCAGCTCAAAGAGGGTACTCCTCTACATAATAGTGCCAATCTT
CCTGCTCTATGCAGCTCTAGTGGGAAACGAGCGTGTCTTCTCCAAGTACCTCTTT
GTCTTCGCCAATGAAGGACCTGCTCACTTGCCAGAGAGCGATTGCTTTCTTCTCA
ACAGCGTCTACTGGATTGTTTTTGCCTCGCCCGGTTGCCACGGTGGTCGTCAG
CTTGATCGTTCCCTGCCTATCCTCTTCGCCATTCAGCTGGTTGGCGCGTGGGCA
ATGGCTCTAGGTCTCTACCTCGCGCCTGCCAGCCGCACTGTCTACCTGGCCTTCA
CGACATGCTTTGGCCTCTTCAAGAGTCTCTCTTCCCCACGGGCCTTGGAGTGGT
CAGCTTGGCTTACCAGTCACGGGAATCATCATCTTCTTTGTCAACCTTGGCAGCT
CCGTGGGTGCAAGTGTACTCCAGGCAGTGGGGGGCATGGTGCTCAATCGTCAAG
GCAGACAAGCCTTCCCTCTCTTGGTCATGATCTCGGCTCTTACTCATTTTCATC
GGCGCTGGGCTCATCGCCACCACCTACATTTATCGAAAGCGACACCGATCGAATT
TGAACCCGAACCGGAACCGGAGGCCGCTAGCCTCTCTGCATAA
```

>TsM_000722000 [protein]

```
MDMTVEAEVNSLESFPFNKNADLGCRIMKTVALFLCWCCGLGLCAEVLGPSMQTYIDV
TNSDTEQLGTCLSMRELGMFFGSLMGAFLADRFVQWRHFVMAGGLVLGATTNGAVP
WCTTVASLSATFFFSGCAHGTMTASGNPLLNSIWLEKSGGPFNFMHSGYGVGAAVA
PGLLAPFTFAQEKVLANGTVVKNRLINLTAPYFIVSGLCCVCACLFCFSFCQPSKEET
SEATTAKDKDDSSTEFEVAKVETKRSALLQALAAQKRVLLYIIVPIFLLYAALVGNRVF
SKYLFVFNANEGPAHLPESDCFLNSVYWIVFALARVATVVVSLIVPLPILFAIQLVGAWA
MALGLYLAPASRTVYLAFTTCFGLFKSPLFPTGLGVVSLASPVTGIIIFVNLGSSVGAS
VLQAVGGMVLRQGRQAFPLLVMISALLLIFIGAGLIATTYIYRKRHRNSNLEPEPEPEAA
SLSA
```

3. Secuencias homólogas de *sglt1* del phylum Platyhelminthes evaluadas

>GAA52710.1 sodium-dependent glucose transporter 1 [Clonorchis sinensis]
MTSKEQVTQEVLIVSRKPKHGSWEKYAKTVVLVYSWSCLGLYSEILGPTLPTLMYQTG
AGYREIGTALSIRAVGMFCGSLIGGWSSDKWAYARSFQIALALLVAAVTNMLIPQARSI
PVLSTILFWAGCSHGYLTTNGNPLLGSIWESKASGPFSLMHAGYGLGGALAPMLVAP
FTIHTDSNKTENISISLMVNDYINGGTETALIDPNAPYNLVAAILFSCALCFIPFSGLKN
CPSRRSCLAGGSHRCSCLAKDVAQSQVSRVVSALSNSCPIRIRDAFHTLCSTTRHYF
GSLRAKTKRTDVLLITATFIIYFAVVGNERVFGKFMFTYAIAGPVGMSPPANGYILNLLYW
VFFGGARVLTFFLALCIPANPMLLLVTIGTILVSIALTVIPSTEPWFFAFTCLFSLFKSPLF
PATLAAINQSYEITGLLVLVNLGSACGASLLQFTAGSLIDTYGQHIFPYLVCGSAVVVL
VTVTLVVLLRYMGNRFTQRVETVELADSDAKDETGGKLLFPET

>RJW70395.1 Sodium-dependent glucose transporter 1 [Clonorchis sinensis]
MTSKEQVTQEVLIVSRKPKHGSWEKYAKTVVLVYSWSCLGLYSEILGPTLPTLMYQTG
AGYREIGTALSIRAVGMFCGSLIGGWSSDKWAYARSFQIALALLVAAVTNMLIPQARSI
PVLSTILFWAGCSHGYLTTNGNPLLGSIWESKASGPFSLMHAGYGLGGALAPMLVAP
FTIHTDSNKTENISISLMVNDYINSGTETALIDPNAPYNLVAAILFSCALCFIPFSGLKN
PSPRRSCLAGGSHRCSCLAKDVAQSQVSRVVSALSNSCPIRIRDAFHTLCSTTRHYFG
SLRAKTKRTDVLLITATFIIYFAVVGNERVFGKFMFTYAIAGPVGMSPPANGYILNLLYW
VFFGGARVLTFFLALCIPANPMLLLVTIGTILVSIALTVIPSTEPWFFAFTCLFSLFKSPLFP
ATLAAINQSYEITGLLVLVNLGSACGASLLQFTAGSLIDTYGQHIFPYLVCGSAVVVLV
VTVTLVVLLRYMGNRFTQRVETVELADSDAKDETGGKLLFPET

>CDS17747.1 Major facilitator superfamily general substrate transporter [Echinococcus granulosus]
MEQEADRNNQGFsfynrkadfgcrviktvalflcwccclglyaevlgpslqtyidvtn
SNTEQIGTCLSMRELGmffgslvgafldrfrvwrhfvvagglvlgavtigavpwct
TVASLSATLFFSGCAHGTMTASGNPLLNSIWLEKSGGPFNFMHSGYGVGASVAPGLL
ASFTFAQEKFVANGTVVKNRIISLTPYFIVGGGLCCGCACLFCCFSFCQPSKEETTEATI
SKGEDSCSAEEFEDVKVGVKKFALLQALAAQERVLLYVTVPIFLLYAALVGNERVFSK
YLFVFANEGPAHLPESDCFLNSVYVWIVFALARVVTVPVSLIVPLPILFAIQLVGAWAMA
LGFYLAPSNRTVYLAFTVCFGLFKSPLFPTGLGVVSMASPVSGVITFFVNLGSSVGAS
ALQAVGGMVLRQGRQAFPLLVMISALVLIFFGVGLIVTTLYRKRHRPNSEPKPEVS
SLSA

>CDS42796.1 Major facilitator superfamily locus tagral substrate transporter [Echinococcus multilocularis]
MEQEADRNNQGFsfynrkvdfgccviktvalflcwccclglcaevlgpslqtyidvtn
SNTEQIGTCLSMRELGmffgslvgafldrfrvqwrhfvvagglvlgavtigavpwct
TVASLSATLFFSGCAHGTMTASGNPLLNSIWLEKSGGPFNFMHSGYGVGASVAPGLL
APFTFAQEKFVANGTVIKNRIISLTPYFIVGGGLCCGCACLFCCFSFCQPSKEETAESI
SKGEDSCSAEEFEDVKVGVKKFALLQALAAQKRVLLYVTVPIFLLYAALVGNERVFSK
YLFVFANEGPAHLPESDCFLNSVYVWIVFALARVVTVPVSLIVPLPILFAIQLVGSWAMA
LGFYLAPANRTVYLAFTVCFGLFKSPLFPTGLGVVSMASPVSGVITFFVNLGSSVGAS

ALQAVGGMVLNRQGRQAFPLLVMISAIVLIFFGFLIVTTYLYRKRHRPNLEPKPEVSS
LSA

>TPP63634.1 Sodium-dependent glucose transporter 1 [Fasciola gigantica]
MSYIRNPENRRVKGCFSCAKNSWAIYAKTAALVYSWTSGLYSEILGPTLPTLMFQTN
SNYEQVGLALSIRSVGLLSGSLVGGLASDKWKQQR AFLIVASLGVAALTNAVIPWIRTL
AGLATVLYVAGFSHG FHTTSGNPLLGSVWGLHAAGPFSLMHAGYGLGAAVAPLLVAP
FTIRPDETNHTDPDNTTTTLNDPLQVGLNPITALLTNTTESAIIRPAVPYNVAVILLCA
ACFIFFNGFPNDCQMCHSRSTSDRSTRKRPKTSKDDSSNPIRAAHYRTKRLLISLRAT
FYTINRYDVFLVLGTFIIYFAVVGNERVFGKFMFTYALYGPIQMNTLRYVLHAYWVG
FGLARILTCFLALIIPARMMLGMLAVGTLLVSVGLILIPSTSAWFFFTCLFSLFKSPLFP
STLAAINLSHEITGLLVLVNLSGACGATLLQYTAGTLIQHYGQFVFPYLVCGSACVLL
TAFGLIFVLRVMGDRCAHNPNPKPDPVDNLIASESDEIQVLRKKSESVDNLSVPA

>CDS34260.2 Major facilitator superfamily general substrate transporter [Hymenolepis
microstoma]
MENKGTGDVVSALNFEDVVTENSKNKQIKNFLLNVAKTVVLFFSWCCLGLYAEVLGPSL
QTYINVTGTNSEEISHCFMRELMFFGSLVGAFFADRFVRYRNLTMAS TLILGAVTIG
AVPFCFDVLSLSATFFFSGCAHGAMTANGNPLLNSIWLEKSGGPFNFMHSGYGVGAA
IAPGLLAPYTYSDVRFLPNGSTVNTTLIHLHTPYIYVAGLCCFVACLFCSFNFCFPKKEH
SNDNSLLKTDGDDEISFHQDEL TMDNASPRSFKKIPKWWQTVASQSKVILYVFPFTLL
FGALVGNERVFSKFIFVFANEGPAKLSKDDCLLLTG VYWIVFALARVITVPVSLIPLPILF
AIQLVGAWAMALGLYLGPATRMAYLAFTICFGLFKSPLFP TALGLISMATPITGVIVFFV
NLGSSLGASGLQAMAGAVLHRKGRHMFP LLVMISGAVLIFIGVALIAATHLYKKKYGSP
SDIRVKVKPNEENEMTSQSA

>THD23517.1 Sodium-dependent glucose transporter 1 [Fasciola hepatica]
MSYTRNPENRRMKGCFSCVKNSWAIYAKTAALVYSWTSGLYSEILGPTLPTLMYQT
NSNYEQVGLALSIRSVGLLSGSLVGGLASDKWKQQR AFLIVASLGVAALTNAVIPWIRTL
LAGLATVLYVAGFSHG FHTTSGNPLLGSVWGLHAAGPFSLMHAGYGLGAAVAPLLVA
PFTIRPDETNHTDPDNTTTTLNDPLQVGLNPITALLTNTTESAIIRPAVPYNVAVILLSC
AACFVFFNGFPNGCQMCHSRISDRSTRKRPKTSKDDSSNPIRAAHYRTKRLLISLRA
TFHTINRYDVFLVLGTFIIYFAVVGNERVFGKFMFTYALYGPIQMNTLRYVLHAYWV
GFGLARILTCFLALIIPARMMLGMLAVGTLLVSVGLILIPSTSAWFFFTCLFSLFKSPLF
PSTLAAINLSHEITGLLVLVNLSGACGATLLQYTAGTLIQHYGQFVFPYLVCGSACVLL
LTAFLIFVLRVMGDRCAQNPNPEPDPVDNLITSE SDEIQVLQKKSESVDNLSVPA

>KAA3675028.1 MFS transporter, FHS family, Na⁺ dependent glucose transporter 1 [Paragonimus westermani]

MVMHPEMSPYEPQQPASPVKVLMPLPKYAKTAALIYSWFCLGLYSEILGPTLPTLMKQTD
IDYQQMGTALSLRSVGLFSGSLIGGWTSRWAWLPGQLSLALLVAAVTNVLPWVR
TLPILCVVLCVAGCSHGFLTNGNPLLASIWGSEASGPFSLMHAGYGLGAAIAPLLAAP
FTIHEESNTTENETINVEKNLIALYSNTSDSAIIDPTIPYNLVALILLVCCGCFATFGGLQQ
CRIQCIRSRKSSKPGRCQLQGNFGNDAQTESCIAQIWRRIQRLYLRTTRDVFLLLVCV
FIMYFTIVGNERVFGKFMFSYAIFGPIQMSAQKGYLLNLIYWIGFGLARVVTCLAFVMP
VQLLLGLVVLGTVFASVGLIFIPRTDSWFFAFTCVFSLFKSPLFPVTLAAINRSYAITGLL
VLIVNVGSASGASLLQYAAGSLINIYGQSAFPYLVFATACVVLVAVILLILRKLGDRTL
NKDQKNRKGVSFPQQDLNMLENKLTPGGSGIVESSRI

>RTG81931.1 MFS transporter, FHS family, Na⁺ dependent glucose transporter 1, partial [Schistosoma bovis]

GLYSEILGPTLPTLMYNTKSNYEQIGMALSTRGIGLLFGSLIGLLSDRYKSLRSLFIML
SLIIGAITTLIIPWCINIILLTIILFIAGFSHGFLTTSNPNLLASVWEEKAAGPFSLMHSGYG
MGAALAPLLVKPFTIPSTSANNTTTNNHSLATNIATKQDNSTELVIVNAVIPYSIVAGIV
LFCVFYFLIIMCIDHSTDPEHNGILSLTFFFTIVGNERVFGKFMFTYALYGPIQLTIKDSYLI
NLIYWLCFCIGRILLFLAIWIQATILLVLCIGTLCSSIGLILPYKKLWFYLCITLFLGFKS
PLFPITLATINYSYEINGFLIIVNFGSSFGATLLQFITGYLINQYQQLIFPYLVSTSLLLLIT
SIILIFSLHIGNRFKHLNHIRIDTINESINENNQYITNTNTTTNNNDNDNDTSPITILPRS
KVIQSKFNKQINSINNNNNNEKL

>XP_012798833.1 Sodium-dependent glucose transporter 1 [Schistosoma haematobium]

MHLINLSFWKTKKQKRIHLKGLSIWQIIQSNFIVVMNELDESLTTNQQKSNYLRFHKP
FHVQIAKTSALCYTWISLGLYSEILGPTLPTLMYNTKSNYEQIGMALSTRGIGLLFGSLI
GGILSDRYKSLQIDNATYQYLRYSTDPFDEKKPKYFTIILFVVVVVGLYSEILGPTLPTL
MYNTKSNYEQIGMALSTRGIGLLFGSLIGGILSDRYKSLRSLFIMLSLIIGAITTLIIPWCIN
IIILTIILFIAGFSHGFLTTSNPNLLASVWEEKAAGPFSLMHSGYGMGAALAPLLVKPFTI
PSTSVNNITNNHSLATNIATKQDNSTELVIVNAVIPYSIVAGIVLFCVFYFLIIMCIDHST
NPEHNGIMSLRNNNNSKITSSSWKQFFTKHLFHSIKFIQSIICQKCHTIKKIHLIIISCTFI
AFFTIVGNERVFGKFMFTYALYGPIQLNIKDSYLINLIYWLCFCIGRILLFLLALWIKATILL
LVLCIGTLCSSIGLILPYEKLWFYLCITLFLGFKSPLFPITLATINYSYEINGFLIIVNFGSS
FGATLLQFITGYLIHQYGMIFPYLVSTSLLLLITSIILIFSLHIGNRFKHLNHIIDTMNE
SINENNQYTTNTINTNTTTNTTTTNNNDNDNDNTSPITILPRSKVIQSKFNKQINSINNN
NNNEKL

>TNN06702.1 Sodium-dependent glucose transporter 1 [Schistosoma japonicum]

MKKSkgilHSIHfHKVfHAKLAKTSVLCYAWISLGLYSEVLGPTLPTLMHNTNSDYDQI
GMALSTRAIGLLFGSLIGGFLSDRYKALRAIFIMISLGVGAIITLIIPWCTNVIILTIVLFIAG
LSHGFLTNGNPLLASIWEEKAAGPFSLMHSGYGMGAAIAPLLAKPFTISFNSSINNHSI
VSNGTNSTELVLVNAVIPYSIIAGIILFNVLVLYFLFVLCIDHSTSLRYNGITSVKSNDKITSSL
NEIKKKLKLFFSKFITLLHNNNNNNIKCSNINKSFILVCCTFITFFSIVGNERVFGKFM
FTYALYGPIQLSSTDSYLINLIYWLCFCFARIFIFFISLILSSSIILLLLSIGTLCSSIGLCLLP

YKKLWFYLCILFSLFKSPLFPVTLACINHSYEITGFLVIIIINFGSSFGATLLQFTVGQLIH
YYGQIVFPYLV TATSCLLVITVILLIIGLKYIGNRFQHVNNNMIIDAISSINDNTTQQ

>TsM_000722000 peptide: TsM_000722000 pep:protein_coding [Taenia solium]
MDMTVEAEVNSLESGPFNKNADLGCRIMKTVALFLCWCCGLCAEVLGPSMQTYIDV
TNSDTEQLGTCLSMRELGMFFGSLMGAFLADRFVQWRHFVMAGGLVLGATTNGAVP
WCTTVASLSATFFFSGCAHGTMTASGNPLLNSIWLEKSGGPFNFMHSGYGVGAAVA
PGLLAPFTFAQEKVLANGTVVKNRLINLTAPYFIVSGLCCVCACLFCFSFCQPSKEET
SEATTAKDKDDSSTEFVAKVETKRSALLQALAAQKRVLLYIIVPIFLLYAALVGNERVF
SKYLFVFANEGPAHLPESDCFLLNSVYWIVFALARVATVVVSLIVPLPILFAIQLVGAWA
MALGLYLAPASRTVYLAFTTCFGLFKSPLFPTGLGVVSLASPVGTGIIFFVNLGSSVGAS
VLQAVGGMVLNRQGRQAFPLLVMISALLLIFIGAGLIATTYIYRKRHRSNLEPEPEPEAA
SLSA

4. Diseño de primers utilizados para evaluar la expresión del gen *sglt1* y *tgtp1* de *Taenia solium*

>TsM_000722000 – *sglt1* [ARNm]

```
ATGGATATGACCGTAGAAGCAGAGGTGAACAGTTTAGAATCTGGTCCTTTTAATAA
AAATGCTGACCTTGGATGCCGCATTATGAAGACAGTGGCGCTTTTTCTGTGTTGGT
GTTGTTTGGGTTTGTGCGCAGAGGTGTTAGGACCCTCAATGCAGACGTACATAGA
CGTGACCAACTCGGACACGGAGCAGTTAGGCACGTGTCTCTCGATGCGTGAGTT
GGGTATGTTCTTCGGTTCGTTGATGGGTGCTTTCCTGGCTGACCGCTTTGTACAG
TGGAGGCACTTTGTTATGGCCGGTGGCCTTGTACTCGGAGCTACCACAAACGGC
GCTGTGCCGTGGTGCACCACCGTGGCTTCCCTCTCTGCCACCTTCTTCTCTCCG
GCTGCGCTCACGGCACTATGACTGCCAGTGGTAATCCGCTGCTGAATTCGATTTG
GCTGGAGAAGTCGGGTGGACCCTTCAACTTCATGCATTCGGGGCTACGGCGTGGG
CGCCGCCGTGGCCCTGGTCTGTTGGCACCTTTTACCTTCGCTCAGGAGAAAGTC
CTCGCCAACGGGACGGTAGTTAAGAATAGACTAATCAATCTCACCGCGCCCTACT
TCATCGTCAGTGGTCTCTGCTGCGTCTGTGCCTGTCTCTTTTGCAGCTTCAGCTTC
TGTCAACCATCCAAAGAGGAGACCTCCGAAGCAACCACGGCAAAGGACAAAGAT
GACAGCTCTACCGAGTTCGAAGTTGCAAAAGTAGAGACTAAAAGGTCCGCCCTAT
TGCAAGCGCTGGCAGCTCAAAGAGGGTACTCCTCTACATAATAGTGCCAATCTT
CCTGCTCTATGCAGCTCTAGTGGGAAACGAGCGTGTCTTCTCCAAGTACCTCTTT
GTCTTCGCCAATGAAGGACCTGCTCACTTGCCAGAGAGCGATTGCTTTCTTCTCA
ACAGCGTCTACTGGATTGTTTTGCCCTCGCCCGGTTGCCACGGTGGTCGTCAG
CTTGATCGTTCCCCTGCCTATCCTCTTCGCCATTCAGCTGGTTGGCGCGTGGGCA
ATGGCTCTAGGTCTCTACCTCGCGCCTGCCAGCCGCACTGTCTACCTGGCCTTCA
CGACATGCTTTGGCCTCTTCAAGAGTCTCTCTTCCCCACGGGCCTTGGAGTGGT
CAGCTTGGCTTCACCAGTCACGGGAATCATCATCTTCTTTGTCAACCTTGGCAGCT
CCGTGGGTGCAAGTGTACTCCAGGCAGTGGGGGGCATGGTGCTCAATCGTCAAG
GCAGACAAGCCTTCCCTCTTGGTCATGATCTCGGCTCTTACTCATTTTTCATC
GGCGCTGGGCTCATCGCCACCACCTACATTTATCGAAAGCGACACCGATCGAATT
TGAACCCGAACCGGAACCGGAGGCCGCTAGCCTCTCTGCATAA
```

Forward: AAAATGCTGACCTTGGATGC

Reverse: TGCCTAACTGCTCCGTGTC

>U39197.1 *Taenia solium* facilitated diffusion glucose transporter TGTP1 ARNm, complete cds

```
CCTACTGGAGATGAAAGGCATATCTGGCCCACTAGTTTTAGCAATCTTCACGACAT
GTTTTGGCTCATCATTTCTCTTGGGCTACAACCTGGGCGTCGCAAATCTGCCTGG
AGATAACATCAAGAAATTTCTGGTTAACTACTACAAGCCGGACAACCTCATCTGCTT
TGAATGCCAACTTCTCTACGGACAGGTAACCTCCGTGCTGGTCATCTGTGCCGC
CATTGCAGCCTTCACGTGTGGTTGGGTTGCTGACGGCCTGGGCAGAAAGCGCAG
TCTGATGGTGAACAACGGCATTGGCATTGTGGGATCAGTAATCTCCTCTGTGTGT
GTGGTGGCAAATCAGCCTGCTTTGCTGTATGTGGGACGTGCGATCAGTGGTCTGA
ACAGCGGTCTGAGCATTGGCATCGCAGCGATGTTCTCACGGAGATTGCGCCAC
GCCATCTGCGGGGCATGATTGGAGCCTGCAACCAACTGGCTATCACCATCGGCA
TTGTCATCTCCTACGTGCTCACGCTGTGCGACCTTCTGAACACACCTACCCTCTG
GCCAGTCGCCATGGGCGTCGGCGCCATTCTGCTGTGATCGCTCTCATATTTCC
CCCTTACCGTTGAGTCGCCGCGTTGGCTCTACCTCAAGAAGAAGGATGAGAAAG
CTGCGCGCGAAGCCTTCGCTCGCATCAATGGCTCCGAGAATGTGGATATGTTTCA
CGCCGAGATGCGTGAAGAGCTAGAGGTAGCCCAGAACCAACCAGAGTTCAAATTT
ACTGAGCTCTTCCGTCGCAGAGATCTTCGCATGCCTGTCATCATAGCGGTTCTCA
TTCAAGTCATGCAGCAACTCTCAGGAATTAATGCTGTGGTTGCGAATTCCTCGGA
GATGTTGAAAAGTGCCAAGGTGTCGCCAGACATGCTGGAGTACTTTGTGGTAGGT
CTGGGCTGCTCAACGTATCTGCACAATCGTGGCGCTGCCGCTGCTGGAAAAG
GCGGGTTCGGCGCACCCCTTCTGTTATGGCCTTCCCTCGTAGTGGCAATAATACTGC
TGCTTCTGGTGATCTTCGTCAATATCGCCAACTACGGAGGCGTCGTAAACAAGAC
GCCCTTCGTTCTCGTTTCTGCCGTCCTCGTCTTCATTTATGTCGCCGCTTTCGCCA
TGGGTCTTGGCCCAATGCCTGCGCTCATCGTCGCCGAAATCTTCCGTCAGGGTCC
TCGCGCCGCGCCTATTCCCTCAGTCAAAGCATTGAGTGGGCTGCAATCTCATT
GTCGTAGCCTCATTTCCCTTCGCTCAACGAGCTATTAAGGGCTACGTTTATCTGCC
GTATCTGGTTGTGGTGGCAGTTTGTGGTGGTATTCTTCTTCTTCATGCCGGAG
ACAAAGAATCGCACCTTTGATGAGGTGGCACGGGATCTGGCCTTCGGGAGCATC
GTGGTGGGTAAACGCACTGCGGGCGCTACAAGCTCCCGTCTTCACCAAGGAGGAC
GAGGAGGCCGCTACCGCCCTCCGCCGACGACGAAGAGGACGCCAAGGTCTGA
CGCCTAGACTACTCTCTTCACTTTTCCCCCTTCTCATCTCTTCATAAAGTGCTG
CACTCCCTCCTGTTGTTTGTGTCTCCGTTTTCCCCATTACGCATTCACTTGCCT
TCCATCTTTTTTACTCAACCTCCGTAGACAAGGTTACTGCGAGGCCAACTCTTCC
CTCTCCATTCTTCTATAGATGCGGAAGGTGAGTCAGGATTTACCCATAGTTTTTG
ATGATGAAAAAAAAA
```

Forward: GCAGTTTGCTGGGTGGTATT

Reverse: CTCGTCCTCCTTGGTGAAGA

5. Secuencia homóloga del gen SLC5A1 en *Taenia solium*

>TsM_001018400:TsM_001018400 cds:protein_coding

```
ATGTTACTGGGAAACCTGGACGGAGCAGACCTCGGAGTCCTTCTTGCCTACTTCCG
TAATCGTCTTCGCCGTGGGAATTTGGGTGGGAGCCTCTCTATTTGCCAGCAACAT
TGGGTGCGGGGCACTTCATCGGTCTGGCTGGCTCGGGCGCCTCCAACGGCATTGC
AATCGCCATGTTTGAGTTCAACGCCTGCTTTGTGCTTATTATCCTCGGGTGGCTAT
TCGTGCCTGTCTACATCGTCTCCGGCATCGTAACAGTCCCCGAATACCTTTGCAA
ACGGCTGGGCGGTCAAAGAATTCGAGTCTACCTGGCGGTGATAGCTCTCCTTCTC
TACATTTTTACAAAATTTCCGGCTGACTTATATGCAGGTGGCATTTCATCCAACAA
GCCATGCAAATCTCTATCTACCCCGCGGTATCCTACTTCTTGTATCTCTGCTCT
CTTCACCATTATGGGTGGTCTGACTGCTGTATCTGGACGGACTTTGCTCAAACC
ATTATCATGGTCTTTGGCGCCTTTTATCTCTCCATCAGGAGTGAGTTTATGTCGCC
TTCTTTTCCATCTGCAAGCAAGCGGCAATTCAAAGTTCGAGTTGTTCTCTTTCAA
TAGGCCTGTACCTAATGGGAGGTTTCAATTCAATGTTAGTCAACTACTTCAATGGT
ATTCAAACACAACGCGAGCGTATAAAAGTACGTCTTCAACCCTGAAAACCGTTC
ACTAACCTCTCTAAATCCCAGCTCTACGGTAATCGTGGAGATCGCGAAGCCATT
CTTCAAATGGCCGACTTTGAGAGGCGAGCGCTGGCATATATGCGGAGTGTGAG
ATACCTCCATCCGACGCGATGAATTTCTTCAAATCTGTCTCCAGTCCCGATCTTCC
CTGGACTGGAGCCGTGTTTGGTCTCACCATCAATGCTGTGTGGTACTGGTGCACG
GATCAGGTGATCGTCCAGCGGACTCTGGCTGCTAAGAGCCTCTCACATGCCAAAG
GTGGCATTATCTTAGCTTCCATCATCAAAGTTCTTCCACTCTGGCTTATGGTTGTG
CCAGGCATGACAGCTCGAGTGCTCTTTGCAGACACAGTCACTTGTGGATCCGCTC
CGCTGTGCTCCCAAATCTGTGGCAAGGCTGTGGGCTGTTCCGGACATTGCCTATCC
CTCCTTAGTTTTGAATGTCTACCCTCGGGAGCTAGGGGTCTCATGCTGGCCGTC
ATGATGGCGTCGTTGGTCTTAGTCTGACTAGCATATTCAATTCCGGCCTCCACGAT
TTTTACTGTTGATATATGGCGACTGATTCGGCCTAAAAGCCGTGATGCCGAAATCA
TGATTGTCGGCAGGGTTTGTGTCATTATTCTGGTGGGAGTTGGCATCGCCTGGAT
ACCGATTGTTGAGTTAAGCGACGAGTTGTTGACTATGTCCAGTCAGTCACCGGC
TACCTCGCACCGCCCATCTGTGCTGTCTACGTTTTAGCCGTGTTCTGGAAACGAA
CCAACGAAAAGGGATGTTTTGCGGCCCTGATCGTTGGTCTAGTTATGGGAGTGGG
TCGTTTTGGTTGGGAAGTGGCCTACGCGAAGGTGCCATGTGGAGACATTCCCATC
GACCCACCACACTTCCTGCTCCAGCTTCACTACCTCCATTTTTCCATCCTCCTCTT
TATTATACCCTTCATCGTAGCTGTTTGTGTTAGTCTTGTGACTCCGCCTCTGCCAA
ATTCTTTTACTCGTCGCCTCGTCTTCTCCGAAATAAATACACCCTTTGATCCAAGTT
TGGACGGACCTAAACTCACCATTGTCTCCGATGAGGCGAAGCAGGAGTGGCTGG
AAGAAGGAAAAGTAAAGAAACCCGAACTATCGGGGTGGCGGAAAGTCTGAATTG
GTTCTGTGGAATCGAGGCGATGCAGGACTCCAGGGAGCCAGTTTTTACACTGGGT
GAGGCGGAGAGATACATGCAAGAGGCAAAGCGTCAGAGTAGCATTGAGGAGAGC
ACGAAAGGCCGAGTTCTCACCTCAATTGGCATCACTTTTACGTTTTCTTACCAT
CTTCATTTGTGGCTTCTTTGCTTAA
```

>TsM_001018400:TsM_001018400 peptide: TsM_001018400 pep:protein_coding

MLLGNLDGADLGVLLAYFVIVFAVGIWVGASLFASNIGSGHFIGLAGSGASNGIAIAMF
EFNACFVLIILGWLFVPVYIVSGIVTVPEYLCKRLGGQRIRVYLAVIALLLYIFTKISADLY
AGGIFIQQAMQISIYPAVILLLVISALFTIMGGLTAVIWTDFQAQTIIMVFGAFYLSIRSEFMS
PSFPSASKRQFKSRVVLSSIGLYLMGGFNSMLVNYFNGIPNTTRAYKSTSFNPENRSL
TSLNPDLYGNRGDREAILQMADFAEASAGIYAECQIPPSDAMNFFKSVSSPDLPWTG
AVFGLTINAVWYWCTDQVIVQRTLAAKSLSHAKGGIILASIIVLPLWLMVVPGMTARV
LFADTVTCGSAPLCSQICGKAVGCSDIAYPSLVLVNVLPSGARGLMLAVMMASLVSSLT
SIFNSASTIFTVDIWRIRPKSRDAEIMIVGRVCVILVGVGIAWIPIVQLSDELFDYVQSV
TGYLAPPICAVYVLAVFWKRTNEKGCFAALIVGLVMGVGRFGWELAYAKVPCGDIPID
PPHFLLQLHYLHFSILLFIIPFIVAVCVSLVTPPLPNSFTRRLVFSEINTPFDPPLDGPKLTI
VSDEAKQEWLEEGKVKKPELSGWRKVLNWFCGIEAMQDSREPVFTLGEAERYMQE
AKRQSSIEESTKGRVLTSIGITFTFSFTIFICGFFA

6. Datos y análisis por método de Livak de C_q de *cox1*, *sglt1* y *tgtp1*

EVAGINACIÓN	CÓDIGO	<i>cox1</i>			
		Cq1	Cq2	Cq3	Prom Cq
NO	0A1	27.52	27.44	28.37	27.7766667
NO	0A2	25.56	26.07	25.89	25.84
NO	0A3	27.16	27.1	27.07	27.11
NO	0A4	25.99	26.32	26.04	26.1166667
NO	0A5	25.27	25.51	25.51	25.43
SI	120A1	28.13	28.17	28.21	28.17
SI	120A2	23.71	24.01	23.94	23.8866667
SI	120A3	25.09	25.29	25.46	25.28
NO	120A4	26.99	26.65	27.11	26.9166667
NO	120A5	26.33	25.97	26.22	26.1733333
NO	24A1	25.46	25.73	25.12	25.4366667
NO	24A2	23.59	24.06	24.28	23.9766667
NO	24A4	24.14	24.43	24.75	24.44
NO	24A5	22.61	22.29	22.8	22.5666667
SI	24B1	24.41	24.24	24.96	24.5366667
SI	24B2	23.75	23.94	24.6	24.0966667
SI	24B3	24.46	24.62	25.14	24.74
NO	24B4	23.34	23.79	24.14	23.7566667
NO	24B5	25.24	25.47	25.37	25.36
NO	24B6	24.44	24.77	24.98	24.73
SI	120B1	24.23	23.86	24.12	24.07
SI	120B2	25.93	26.45	26.47	26.2833333
SI	120B3	26.57	27.02	27.04	26.8766667
SI	120B4	24.91	25.47	25.72	25.3666667
SI	120B5	26.2	26.44	27.53	26.7233333

EVAGINACIÓN	CÓDIGO	sglt1						
		Cq1	Cq2	Cq3	Prom Cq	ΔCq	ΔΔCq	2 ^Δ -ΔΔCq
NO	0A1	29.21	29.6	29.99	29.6	1.823333333	-0.574666667	1.489333314
NO	0A2	28.13	28.52	28.64	28.43	2.59	0.192	0.87539133
NO	0A3	28.97	29	28.54	28.83666667	1.726666667	-0.671333333	1.592544111
NO	0A4	28.9	28.65	29.03	28.86	2.743333333	0.345333333	0.787126091
NO	0A5	28.32	29.04	28.25	28.53666667	3.106666667	0.708666667	0.61188538
SI	120A1	31.54	32.54	32.14	32.07333333	3.903333333	1.505333333	0.352248793
SI	120A2	28.02	28.01	27.89	27.97333333	4.086666667	1.688666667	0.310213491
SI	120A3	28.68	29.35	29.31	29.11333333	3.833333333	1.435333333	0.369761434
NO	120A4	30.77	31.2	31.06	31.01	4.093333333	1.695333333	0.308783307
NO	120A5	29.93	30.83	30.91	30.55666667	4.383333333	1.985333333	0.252554502
NO	24A1	29.53	29.81	29.67	29.67	4.233333333	1.835333333	0.280226766
NO	24A2	28.53	28.9	28.66	28.69666667	4.72	2.322	0.199990032
NO	24A4	29.83	29.75	30.21	29.93	5.49	3.092	0.11727765
NO	24A5	27.25	27.46	27.15	27.28666667	4.72	2.322	0.199990032
SI	24B1	27.04	27.35	27.73	27.37333333	2.836666667	0.438666667	0.737816181
SI	24B2	27.24	27.49	27.72	27.48333333	3.386666667	0.988666667	0.503943302
SI	24B3	28.05	28.05	28.13	28.07666667	3.336666667	0.938666667	0.521714825
NO	24B4	27.21	-	27.62	27.415	3.658333333	1.260333333	0.417447498
NO	24B5	27.85	28.37	28.35	28.19	2.83	0.432	0.741233505
NO	24B6	28.34	29.19	29.29	28.94	4.21	1.812	0.284795844
SI	120B1	26.29	26.46	26.69	26.48	2.41	0.012	0.991716731
SI	120B2	27.47	27.64	27.69	27.6	1.316666667	-1.081333333	2.115990768
SI	120B3	28.16	28.43	28.64	28.41	1.533333333	-0.864666667	1.820918897
SI	120B4	27.41	27.49	27.43	27.44333333	2.076666667	-0.321333333	1.249484785
SI	120B5	28.68	28.54	28.92	28.71333333	1.99	-0.408	1.326845141
					Prom. ΔCq	2.398		

EVAGINACIÓN	CÓDIGO	t _{gtp1}						
		Cq1	Cq2	Cq3	Prom Cq	ΔCq	ΔΔCq	2 ^Δ -ΔΔCq
NO	0A1	25.76	25.44	25.54	25.58	-2.19666667	-0.54866667	1.46273322
NO	0A2	24.93	24.29	24.45	24.55666667	-1.28333333	0.36466667	0.7766483
NO	0A3	25.11	25.01	25.25	25.12333333	-1.98666667	-0.33866667	1.26458733
NO	0A4	24.26	24.57	24.47	24.43333333	-1.68333333	-0.03533333	1.02479357
NO	0A5	24.43	24.27	24.32	24.34	-1.09	0.558	0.67924314
SI	120A1	26.32	26.44	26.83	26.53	-1.64	0.008	0.99447017
SI	120A2	23.08	22.79	22.67	22.84666667	-1.04	0.608	0.65610563
SI	120A3	24.41	24.74	24.55	24.56666667	-0.71333333	0.93466667	0.52316333
NO	120A4	24.85	24.65	24.9	24.8	-2.11666667	-0.46866667	1.38382995
NO	120A5	25.97	25.55	25.33	25.61666667	-0.55666667	1.09133333	0.46932742
NO	24A1	25.73	26.39	25.96	26.02666667	0.59	2.238	0.21197999
NO	24A2	25.15	25.23	25.51	25.29666667	1.32	2.968	0.12780357
NO	24A4	25.8	25.94	26.11	25.95	1.51	3.158	0.11203334
NO	24A5	23.51	23.45	23.38	23.44666667	0.88	2.528	0.17337887
SI	24B1	23.57	23.59	23.76	23.64	-0.89666667	0.75133333	0.59405428
SI	24B2	24.27	24.26	24.14	24.22333333	0.12666667	1.77466667	0.29226183
SI	24B3	23.96	24.03	23.99	23.99333333	-0.74666667	0.90133333	0.5353917
NO	24B4	24.01	24.27	24.32	24.2	0.44333333	2.09133333	0.23466371
NO	24B5	24.11	24.23	24.24	24.19333333	-1.16666667	0.48133333	0.7163153
NO	24B6	25.6	25.85	25.83	25.76	1.03	2.678	0.15625779
SI	120B1	23.19	23.25	23.96	23.46666667	-0.60333333	1.04466667	0.4847569
SI	120B2	25.47	25.64	25.61	25.57333333	-0.71	0.938	0.52195596
SI	120B3	24.54	24.83	24.78	24.71666667	-2.16	-0.512	1.42602572
SI	120B4	25.6	25.68	25.85	25.71	0.34333333	1.99133333	0.25150634
SI	120B5	24.73	24.71	24.98	24.80666667	-1.91666667	-0.26866667	1.20469394
					Prom. ΔCq	-1.648		

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Egger B, Lapraz F, Tomiczek B, Müller S, Dessimoz C, Girstmair J, et al. A transcriptomic-phylogenomic analysis of the evolutionary relationships of flatworms. *Curr Biol*. 2015 May 18;25(10):1347–53.
2. Smyth JD, McManus DP. The adult cestode: special structural features relevant to its physiology. In: *The Physiology and Biochemistry of Cestodes*. 2009.
3. Carpio A. Neurocysticercosis: An update. Vol. 2, *Lancet Infectious Diseases*. Elsevier; 2002. p. 751–62.
4. Garcia HH, Rodriguez S, Friedland JS. Immunology of *Taenia solium* taeniasis and human cysticercosis. Vol. 36, *Parasite Immunology*. NIH Public Access; 2014. p. 388–96.
5. Román G, Sotelo J, Del Brutto O, Flisser A, Dumas M, Wadia N, et al. A proposal to declare neurocysticercosis an international reportable disease. *Bull World Health Organ*. 2000;78(3):399–406.
6. Rabiela MT, Hornelas Y, García-Allan C, Rodríguez-del-Rosal E, Flisser A. Evagination of *Taenia solium* cysticerci: A histologic and electron microscopy study. *Arch Med Res*. 2000 Dec;31(6):605–7.
7. Escobedo G, Camacho-Arroyo I, Hernández-Hernández OT, Ostoa-Saloma P, García-Varela M, Morales-Montor J. Progesterone induces scolex evagination of the human parasite *taenia solium*: Evolutionary implications to the host-parasite relationship. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010.
8. Aguilar-Díaz H, Nava-Castro KE, Escobedo G, Domínguez-Ramírez L, García-Varela M, Del Río-Araiza VH, et al. A novel progesterone receptor membrane component (PGRMC) in the human and swine parasite *Taenia solium*: Implications to the host-parasite relationship. *Parasites and Vectors*. 2018;11(1):161.
9. Hemer S, Konrad C, Spiliotis M, Koziol U, Schaack D, Förster S, et al. Host insulin stimulates *Echinococcus multilocularis* insulin signalling pathways and larval development. *BMC Biol*. 2014 Jan 27;12(1):5.
10. Hannibal RL, Patel NH. What is a segment? *Evodevo*. 2013 Dec 17;4(1):35.
11. Liao B-K, Oates AC. Delta-Notch signalling in segmentation. *Arthropod Struct Dev*. 2017 May;46(3):429–47.
12. Magalhães LG, Morais ER, Machado CB, Gomes MS, Cabral FJ, Souza JM, et al. Uncovering Notch pathway in the parasitic flatworm *Schistosoma mansoni*. *Parasitol Res*. 2016 Oct 25;115(10):3951–61.

13. Münder S, Käsbauer T, Prexl A, Aufschneider R, Zhang X, Towb P, et al. Notch signalling defines critical boundary during budding in Hydra. *Dev Biol.* 2010 Aug 1;344(1):331–45.
14. Wenemoser D, Lapan SW, Wilkinson AW, Bell GW, Reddien PW. A molecular wound response program associated with regeneration initiation in planarians. *Genes Dev.* 2012 May 1;26(9):988–1002.
15. Koziol U, Lalanne AI, Castillo E. Hox Genes in the Parasitic Platyhelminthes *Mesocestoides corti*, *Echinococcus multilocularis*, and *Schistosoma mansoni*: Evidence for a Reduced Hox Complement. *Biochem Genet.* 2009 Feb 22;47(1–2):100–16.
16. Olson PD, Zarowiecki M, James K, Baillie A, Bartl G, Burchell P, et al. Genome-wide transcriptome profiling and spatial expression analyses identify signals and switches of development in tapeworms. *Evodevo.* 2018 Dec 9;9(1):21.
17. Hassan HF, Coombs GH. Purine and pyrimidine metabolism in parasitic protozoa. *FEMS Microbiol Lett.* 1988;54(1):47–83.
18. De Koning HP, Bridges DJ, Burchmore RJS. Purine and pyrimidine transport in pathogenic protozoa: From biology to therapy. Vol. 29, *FEMS Microbiology Reviews.* Oxford University Press; 2005. p. 987–1020.
19. Srivastava A, Philip N, Hughes KR, Georgiou K, MacRae JI, Barrett MP, et al. Stage-Specific Changes in Plasmodium Metabolism Required for Differentiation and Adaptation to Different Host and Vector Environments. Odom AR, editor. *PLoS Pathog.* 2016 Dec 27;12(12):e1006094.
20. Komuniecki R, Harris BG. Carbohydrate and Energy Metabolism in Helminths. In: *Biochemistry and Molecular Biology of Parasites.* Elsevier; 1995. p. 49–66.
21. Tsai IJ, Zarowiecki M, Holroyd N, Garcarrubio A, Sanchez-Flores A, Brooks KL, et al. The genomes of four tapeworm species reveal adaptations to parasitism. *Nature.* 2013;496(7443):57–63.
22. Chawla S, Kumar S, Garg M, Kumar R, Roy R, Gupta RK. Metabolite pattern of *Cysticercus cellulosae* metacestode from different predilection sites of swine using proton magnetic resonance spectroscopy. *Parasite.* 2004 Jun 22;11(2):161–7.
23. Orrego-Solano MÁ, Cangalaya C, Nash TE, Guerra-Giraldez C. Identification of proliferating cells in *Taenia solium* cysts. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2014;31(4):702–6.
24. Cornford EM. Regional modulations in tegumental glucose transporter kinetics in the rat tapeworm. *Exp Parasitol.* 1991 Nov 1;73(4):489–99.

25. Bickerstaff ER, Cloake PCP, Hughes B, Smith WT. The racemose form of cerebral cysticercosis. *Brain*. 1952 Mar;75(1):1–18.
26. Orrego Solano MA. Distribución de células germinativas y perfil de expresión de genes asociados a proliferación en quistes racemosos de *Taenia solium*. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2017.
27. Rossi L, Salvetti A, Batistoni R, Deri P, Gremigni V. Molecular and cellular basis of regeneration and tissue repair: Planarians, a tale of stem cells. Vol. 65, *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2008. p. 16–23.
28. Koziol U, Brehm K. Recent advances in *Echinococcus* genomics and stem cell research. Vol. 213, *Veterinary Parasitology*. Elsevier; 2015. p. 92–102.
29. Wenemoser D, Reddien PW. Planarian regeneration involves distinct stem cell responses to wounds and tissue absence. *Dev Biol*. 2010 Aug 15;344(2):979–91.
30. Sánchez Alvarado A. Planarian regeneration: Its end is its beginning. Vol. 124, *Cell*. Elsevier; 2006. p. 241–5.
31. Lunt SY, Vander Heiden MG. Aerobic Glycolysis: Meeting the Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2011 Nov 10;27(1):441–64.
32. Osuma EA, Riggs DW, Gibb AA, Hill BG. High throughput measurement of metabolism in planarians reveals activation of glycolysis during regeneration. *Regeneration*. 2018 Mar;5(1):78–86.
33. Parkinson J, Wasmuth JD, Salinas G, Bizarro C V., Sanford C, Berriman M, et al. A Transcriptomic Analysis of *Echinococcus granulosus* Larval Stages: Implications for Parasite Biology and Host Adaptation. Jones MK, editor. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012 Nov 29;6(11):e1897.
34. Cornford EM, Cornford ME, Wright EM, Bruckner DA, Sampogna S, Hirayama BA. Human cerebral cysticercosis: immunolocalization of a sodium-dependent glucose cotransporter (SGLT1) in larval and adult tapeworms. *J Parasitol*. 2001 Jun;87(3):510–21.
35. Willms K, Presas AMF, Jiménez JA, Landa A, Zurabián R, Ugarte MEJ, et al. Taeniid tapeworm responses to in vitro glucose. *Parasitol Res*. 2005 Jul 26;96(5):296–301.
36. Rodríguez-Contreras D, Skelly PJ, Landa A, Shoemaker CB, Laclette JP. Molecular and functional characterization and tissue localization of 2 glucose transporter homologues (TGTP1 and TGTP2) from the tapeworm *Taenia solium*. *Parasitology*. 1998 Dec;117(6):579–88.

37. Rosen R, Uglem GL. Localization of facilitated diffusion and active glucose transport in cysticercoids of *Hymenolepis diminuta* (Cestoda). *Int J Parasitol.* 1988 Jul 1;18(5):581–4.
38. Smyth JD, McManus DP. *The Physiology and Biochemistry of Cestodes. The Physiology and Biochemistry of Cestodes.* Cambridge: Cambridge University Press; 1989.
39. Campbell WC. The Efficacy of Surface-Active Agents in Stimulating the Evagination of Cysticerci In vitro. *J Parasitol.* 2006 Feb;49(1):81.
40. Lu S, Wang J, Chitsaz F, Derbyshire MK, Geer RC, Gonzales NR, et al. CDD/SPARCLE: The conserved domain database in 2020. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(D1):D265–8.
41. Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. *J Mol Biol.* 1990;215(3):403–10.
42. Altschul SF, Wootton JC, Gertz EM, Agarwala R, Morgulis A, Schäffer AA, et al. Protein database searches using compositionally adjusted substitution matrices. Vol. 272, *FEBS Journal.* 2005. p. 5101–9.
43. Karolewski Z, Fitt BDL, Latunde-Dada AO, Foster SJ, Todd AD, Downes K, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Plant Pathol.* 2006;55(3):3389–402.
44. Jones DT, Taylor WR, Thornton JM. The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences. *Bioinformatics.* 1992;8(3):275–82.
45. UniProt Consortium T. UniProt: the universal protein knowledgebase. *Nucleic Acids Res.* 2018;46(5):2699–2699.
46. Omasits U, Ahrens CH, Müller S, Wollscheid B. Protter: Interactive protein feature visualization and integration with experimental proteomic data. *Bioinformatics.* 2014;30(6):884–6.
47. Espínola SM, Ferreira HB, Zaha A. Validation of suitable reference genes for expression normalization in *Echinococcus* spp. larval stages. *PLoS One.* 2014;9(7):102228.
48. Bustin SA, Benes V, Garson JA, Hellemans J, Huggett J, Kubista M, et al. *The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments.* 2009;
49. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ Method. *Methods.* 2001 Dec;25(4):402–8.

50. Reddy VS, Shlykov MA, Castillo R, Sun EI, Saier MH. The major facilitator superfamily (MFS) revisited. *FEBS J.* 2012 Jun;279(11):2022–35.
51. Perland E, Fredriksson R. Classification Systems of Secondary Active Transporters. Vol. 38, *Trends in Pharmacological Sciences.* Elsevier Ltd; 2017. p. 305–15.
52. Jung H. The sodium/substrate symporter family: Structural and functional features. Vol. 529, *FEBS Letters.* No longer published by Elsevier; 2002. p. 73–7.
53. Turk E, Zabel B, Mundlos S, Dyer J, Wright EM. Glucose/galactose malabsorption caused by a defect in the Na⁺/glucose cotransporter. *Nature.* 1991;350(6316):354–6.
54. Turk E, Martín MG, Wright EM. Structure of the human Na⁺/glucose cotransporter gene SGLT1. *J Biol Chem.* 1994;
55. Wagner DE, Ho JJ, Reddien PW. Genetic regulators of a pluripotent adult stem cell system in planarians identified by RNAi and clonal analysis. *Cell Stem Cell.* 2012;
56. Ahmad TR, Haeusler RA. Bile acids in glucose metabolism and insulin signalling — mechanisms and research needs. *Nature Reviews Endocrinology.* Nature Publishing Group; 2019.
57. Harachi M, Masui K, Okamura Y, Tsukui R, Mischel PS, Shibata N. mTOR complexes as a nutrient sensor for driving cancer progression. Vol. 19, *International Journal of Molecular Sciences.* MDPI AG; 2018.
58. Mao Z, Zhang W. Role of mTOR in glucose and lipid metabolism. Vol. 19, *International Journal of Molecular Sciences.* MDPI AG; 2018.
59. Chandel NS, Jasper H, Ho TT, Passequé E. Metabolic regulation of stem cell function in tissue homeostasis and organismal ageing. *Nature Cell Biology.* 2016.
60. Kaelin WG, McKnight SL. Influence of metabolism on epigenetics and disease. Vol. 153, *Cell.* Elsevier; 2013. p. 56–69.
61. Vaca HR, Celentano AM, Macchiaroli N, Kamenetzky L, Camicia F, Rosenzvit MC. Histone deacetylase enzymes as potential drug targets of Neglected Tropical Diseases caused by cestodes. *Int J Parasitol Drugs Drug Resist.* 2019 Apr 1;9:120–32.
62. Saxton RA, Sabatini DM. mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease. *Cell.* 2017.
63. Lund-Ricard Y, Cormier P, Morales J, Boutet A. mTOR signaling at the crossroad between metazoan regeneration and human diseases. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences.* MDPI AG; 2020.

64. Iglesias M, Felix DA, Gutiérrez-Gutiérrez Ó, De Miguel-Bonet M del M, Sahu S, Fernández-Varas B, et al. Downregulation of mTOR Signaling Increases Stem Cell Population Telomere Length during Starvation of Immortal Planarians. *Stem Cell Reports*. 2019 Aug 13;13(2):405–18.
65. Peiris TH, Weckerle F, Ozamoto E, Ramirez D, Davidian D, García-Ojeda ME, et al. TOR signaling regulates planarian stem cells and controls localized and organismal growth. *J Cell Sci*. 2012 Apr 1;125(7):1657–65.
66. Tu KC, Pearson BJ, Sánchez Alvarado A. TORC1 is required to balance cell proliferation and cell death in planarians. *Dev Biol*. 2012 May 15;365(2):458–69.
67. Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol*. 2018
68. Sievers F, Wilm A, Dineen D, Gibson TJ, Karplus K, Li W, et al. Fast, scalable generation of high-quality protein multiple sequence alignments using Clustal Omega. *Mol Syst Biol*. 2011
69. Goujon M, McWilliam H, Li W, Valentin F, Squizzato S, Paern J, et al. A new bioinformatics analysis tools framework at EMBL-EBI. *Nucleic Acids Res*. 2010.
70. Camargo de Lima J, Floriani MA, Debarba JA, Paludo GP, Monteiro KM, Moura H, et al. Dynamics of protein synthesis in the initial steps of strobilation in the model cestode parasite *Mesocestoides corti* (syn. *vogae*). *J Proteomics*. 2020;
71. Rozario T, Quinn EB, Wang J, Davis RE, Newmark PA. Region-specific regulation of stem cell-driven regeneration in tapeworms. *Elife*. 2019
72. Wang Y, Aoki H, Yang J, Peng K, Liu R, Li X, et al. The role of sphingosine 1-phosphate receptor 2 in bile-acid-induced cholangiocyte proliferation and cholestasis-induced liver injury in mice. *Hepatology*. 2017;
73. Zhou H, Hylemon PB. Bile acids are nutrient signaling hormones. *Steroids*. 2014.
74. Cao R, Cronk ZX, Zha W, Sun L, Wang X, Fang Y, et al. Bile acids regulate hepatic gluconeogenic genes and farnesoid X receptor via Gai-protein-coupled receptors and the AKT pathway. *J Lipid Res*. 2010;
75. Liu H, Ertay A, Peng P, Li J, Liu D, Xiong H, et al. SGLT1 is required for the survival of triple-negative breast cancer cells via potentiation of EGFR activity. *Mol Oncol*. 2019;
76. Wang J, Ji H, Niu X, Yin L, Wang Y, Gu Y, et al. Sodium-Dependent Glucose Transporter 1 (SGLT1) Stabled by HER2 Promotes Breast Cancer Cell Proliferation by Activation of the PI3K/Akt/mTOR Signaling Pathway in HER2+ Breast Cancer. *Dis Markers*. 2020;
77. Liu Z, Zhang Z, Huang M, Sun X, Liu B, Guo Q, et al. Taurocholic acid is an active

- promoting factor, not just a biomarker of progression of liver cirrhosis: Evidence from a human metabolomic study and in vitro experiments. *BMC Gastroenterol.* 2018;
78. Hagenbuch B, Meier PJ. Molecular cloning, chromosomal localization, and functional characterization of a human liver Na⁺/bile acid cotransporter. *J Clin Invest.* 1994;
 79. Wang H, Chen J, Hollister K, Sowers LC, Forman BM. Endogenous bile acids are ligands for the nuclear receptor FXR/BAR. *Mol Cell.* 1999;
 80. Surgan MH, Roberts LS. Adsorption of bile salts by the cestodes, *Hymenolepis diminuta* and *H. microstoma*. *J Parasitol.* 1976;
 81. Blume La Torre J. La inhibición de la gamma secretasa altera la expresión de genes de la vía de señalización Notch en el cisticerco de *Taenia solium* y reprime la evaginación del escólex. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Universidad Peruana Cayetano Heredia; 2020.