

Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Centro de Biotecnologia
Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Molecular

**Estudo das vias de síntese de nucleotídeos como alvos para
reposicionamento de fármacos como anti-helmínticos**

Dissertação de Mestrado

Marcelo Pasa Panesso

Porto Alegre, dezembro de 2021

**Estudo das vias de síntese de nucleotídeos como alvos para
reposicionamento de fármacos como anti-helmínticos**

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

Prof. Dr. Henrique Bunselmeyer Ferreira

Orientador

Dr. Martin Cancela Sehabiague

Coorientador

Porto Alegre, dezembro de 2021

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Genômica Estrutural e Funcional e no Laboratório de Biologia Molecular de Cestódeos do Centro de Biotecnologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, com apoio financeiro de Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (Fapergs) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Sumário

Lista de figuras	7
Lista de abreviaturas, símbolos e unidades	8
Lista de tabelas	9
Resumo	10
Abstract	11
1. Introdução	12
1.1.1. Platelmintos e cestódeos.....	12
1.1.2. Taxonomia de <i>Echinococcus granulosus</i> sensu lato (s.l.)	14
1.2.1. Cestodíases e a saúde humana	14
1.2.2. Epidemiologia de equinococoses e cisticercoses	15
1.2.3 <i>Echinococcus granulosus</i> como modelo para o estudo de cestódeos	16
1.3.1 Diagnóstico e tratamento de cestodíases viscerais.....	16
1.3.2. Perspectivas para o desenvolvimento de novos anti-helmínticos.....	18
1.4.1. Vias de síntese de nucleotídeos	21
1.4.2. Via de recuperação de nucleotídeos	21
2. Justificativa	24
3. Objetivos	28
3.1. Objetivo geral	28
3.2. Objetivos específicos	28
4. Materiais e métodos	29
4.1. Identificação das enzimas de recuperação de nucleotídeos em <i>E. granulosus</i> s.s.	29
4.2. Identificação de domínios proteicos	29
4.3. Identificação de peptídeos-sinal e predições de localização subcelular.....	29
4.4. Recuperação de dados de expressão das enzimas de recuperação de nucleotídeos	30
4.5. Análise da drogabilidade das enzimas de recuperação de nucleotídeos ...	30
4.6. Análises filogenéticas e de seleção positiva.....	31
5. Resultados	33
5.1. Identificação das enzimas da via de recuperação de nucleotídeos	33
5.2. Análise da drogabilidade das enzimas da via de recuperação de nucleotídeos	36
5.3. Análises evolutivas	38
6. Discussão	44
7. Conclusões e perspectivas	55

Referências bibliográficas	55
Apêndice 1: Árvores filogenéticas	66
Apêndice 2: Enzimas da via de síntese de nucleotídeos de <i>E. granulosus</i>	83
Apêndice 3: Expressão de genes codificadores de enzimas da via de recuperação de purinas	97
Apêndice 4: Expressão de genes codificadores de enzimas da via de recuperação de pirimidinas	99
Apêndice 5: Ortólogos das enzimas da via de recuperação de nucleotídeos em cestódeos	101
Apêndice 6: Parálogos das enzimas da via de recuperação de nucleotídeos em cestódeos	103
Apêndice 7: Análise de drogabilidade das enzimas da via de recuperação de nucleotídeos de <i>E. granulosus</i>.....	106
Apêndice 8: Enzimas da via de recuperação de nucleotídeos ranqueadas de acordo com sua drogabilidade	110
Apêndice 9: Análise de seleção positiva das enzimas da via de recuperação de nucleotídeos	112
Apêndice 10: Curriculum Vitae resumido	120

Lista de figuras

Figura 1: Ciclo de vida de <i>E. granulosus</i>	13
Figura 2: Via de recuperação de purinas de <i>E. granulosus</i>	34
Figura 3 Via de recuperação de pirimidinas de <i>E. granulosus</i>	35
Figura 4: Árvore filogenética IMP-desidrogenase.....	66
Figura 5:Árvore filogenética de HGPRT.....	67
Figura 6 Árvore filogenética de GMP-sintase.....	68
Figura 7 Árvore filogenética de adenosina-desaminase.....	69
Figura 8: Árvore filogenética de adenilossuccinato-sintase.....	70
Figura 9: Árvore filogenética de AMP-desaminase.....	71
Figura 10: Árvore filogenética de APRT.....	72
Figura 11: Árvore filogenética de UMP-sintase.....	73
Figura 12: Árvore filogenética de UMP-CMP-quinase.....	74
Figura 13: Árvore filogenética de timidilato-sintase.....	75
Figura 14: Árvore filogenética de desoxicitidilato-desaminase.....	76
Figura 15: Árvore filogenética de timidina-fosforilase.....	77
Figura 16: Árvore filogenética de citidina-desaminase.....	78
Figura 17: Árvore filogenética de timidilato-quinase.....	79
Figura 18: Árvore filogenética de dUTP-pirofosfatase.....	80
Figura 19: Árvore filogenética de RNR1.....	81
Figura 20: Árvore filogenética de RNR2.....	82

Lista de abreviaturas, símbolos e unidades

TTD	<i>Therapeutic Target Database</i>
TDR	<i>Tropical Disease Research</i>
s.l.	sensu lato
s.s.	sensu stricto
IMP	inosina-5'-monofosfato
AMP	adenosina-5'-monofosfato
GMP	guanosina-5'-monofosfato
CMP	citidina-5'-monofosfato
UMP	uridina-5'-monofosfato
OMP	orotidina-5'-monofosfato
NTPs	nucleotídeos trifosfatados
CTP	citosina-5'-trifosfato
APRT	adenina-fosforribosil-transferase
HGPRT	hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferase
RNR	Ribonucleotídeo-redutase
RNR1	subunidade maior da ribonucleotídeo-redutase
RNR2	subunidade menor da ribonucleotídeo-redutase
DALYs	<i>Disability-adjusted life years</i>
BEB	<i>Bayes Empirical Bayes</i>
NEB	<i>Naive Empirical Bayes</i>
RPKM	<i>Reads per kilobase per million reads</i>
FPKM	<i>Fragments per kilobase per million reads</i>
ω	Razão entre mutações não-sinônimas e sinônimas

Lista de tabelas

Tabela 1: Enzimas melhor classificadas na análise de drogabilidade.....	36
Tabela 2: Enzima com inibidores comercialmente disponíveis e seus parálogos em cestódeos.....	38

Resumo

As helmintíases são doenças causadas por helmintos parasitas, sendo de grande importância para a saúde humana. O tratamento dessas doenças é realizado com fármacos anti-helmínticos, no entanto o risco do surgimento de resistência a eles faz com que novas alternativas sejam necessárias. Vários parasitos dependem exclusivamente da recuperação de nucleotídeos do hospedeiro, sendo esse processo alvo de vários fármacos utilizados no tratamento de doenças infecciosas e câncer possibilitando o reposicionamento de fármacos como anti-helmínticos. Neste trabalho foram identificadas as enzimas que compõe a via de recuperação de purinas e pirimidinas de *Echinococcus granulosus* (Platyhelminthes, Cestoda). Utilizando bancos de dados de drogabilidade as enzimas foram comparadas com alvos farmacológicos conhecidos e aquelas que apresentaram maior potencial foram selecionadas para análises evolutivas. Os resultados encontrados sugerem que a via de recuperação de purinas de *E. granulosus* utiliza principalmente as enzimas fosforribosiltransferase e nucleosídeo-fosforilase para a captação de bases nitrogenadas (diretamente) e nucleosídeos (indiretamente) além de ser incapaz de converter GMP em AMP. A via de recuperação de pirimidinas mostra que *E. granulosus* pode captar nucleosídeo e bases nitrogenadas com o uso das enzimas fosforribosiltransferase e nucleosídeo-quinase. As enzimas IMP-desidrogenase, adenosina-desaminase, ribonucleotídeo-redutase e timidilato-sintase estão entre as mais drogáveis aqui encontradas. As análises evolutivas mostraram o potencial dessas enzimas como alvos de anti-helmínticos de amplo espectro. Os dados aqui gerados permitem selecionar alvos para estudos posteriores para a obtenção de novos anti-helmínticos.

Abstract

Helminthiasis are diseases caused by parasitic helminths and are of great significance to human health. These diseases are treated by using anthelmintic drugs but the risk of emergence of resistance causes the need for new alternatives. Many parasites rely solely on salvaging the host's nucleotides, this process is targeted by many drugs used in the treatment of cancer and infectious diseases allowing the possibility of repositioning these drugs as anthelmintics. In this work the enzymes that compose the *Echinococcus granulosus* (Platyhelminthes, Cestoda) purine and pyrimidine salvaging pathway were identified. The enzymes were then compared to known pharmacological targets in druggability databanks and those that showed more potential were selected for evolutionary analysis. The data suggests that the *E. granulosus* purine salvaging pathway rely mostly on the phosphoribosyl transferase and nucleotide phosphorylase enzymes for salvaging free nitrogen bases (directly) and nucleosides (indirectly) as well as being able to convert GMP in AMP. The pyrimidine salvaging pathway showed that *E. granulosus* can uptake nucleosides and nitrogen bases with phosphoribosyl transferase and nucleoside kinase. The enzymes IMP dehydrogenase, ribonucleotide reductase and thymidylate synthase were among the most druggable targets in our analysis. The evolutionary analysis showed the potential of these enzymes as targets for broad spectrum anthelmintics. The data produced here allows us to select targets for further studies for obtaining new anthelmintics.

1. Introdução

1.1. Platelminhos e cestódeos

O filo Platyhelminthes é composto por uma diversidade de espécies de vermes com simetria bilateral e achatados dorsoventralmente (COLLINS, 2017). Este filo é dividido em seis classes, das quais 3 são compostas por organismos parasitas. Os platelmintos parasitas são membros do grupo monofilético neodermata e podem ser divididos em três classes: a classe Monogenea (ectoparasitas) e as classes Trematoda e Cestoda (endoparasitas). Vários desses organismos têm como hospedeiros os vertebrados e, em alguns casos, os seres humanos. Os platelmintos de maior relevância para a saúde humana pertencem as classes Cestoda e Trematoda, entre os quais destacam-se os cestódeos *Echinococcus* spp. e *Taenia* spp, causadores de equinococoses e cisticercoses/teníases respectivamente; entre os trematódeos podemos destacar *Schistosoma* spp. e *Fasciola hepatica*, causadores de esquistossomoses e fasciolose, respectivamente (ANISUZZAMAN; TSUJI, 2020; WEBB; CABADA, 2017).

Os cestódeos apresentam grandes adaptações para o parasitismo (KOZIOL, 2017). Nestes organismos, semelhante a outros parasitos, houve a perda de diversas vias de biossíntese, como, por exemplo, a via de síntese de colesterol e ácidos graxos (TSAI; ZAROWIECKI; HOLROYD; GARCIARRUBIO *et al.*, 2013). Outras adaptações desses parasitos são a ausência de sistema digestório e os ciclos de vida complexos com dois ou mais hospedeiros (THOMPSON, 2017). O verme adulto reside no intestino de um hospedeiro definitivo vertebrado. Seu corpo é composto por uma região anterior contendo estruturas de fixação, o escólex, e pelo estróbilo, conjunto de segmentos contendo as estruturas reprodutoras, as proglótides, cujo número varia de acordo com a espécie. As estruturas reprodutoras masculinas e femininas são responsáveis pela produção dos ovos. Quando as proglótides grávidas se separam do corpo do parasito, os ovos são liberados no ambiente junto com as fezes do hospedeiro. Os ovos então são ingeridos pelo hospedeiro intermediário a oncosfera eclode sendo então liberada no organismo. Nos ciclos de vida que

envolvem apenas dois hospedeiros a oncosfera dá origem ao metacestódeo, a fase larval do parasito. Quando ocorre a predação do hospedeiro intermediário pelo hospedeiro definitivo o metacestódeo também é ingerido. Após a ingestão o metacestódeo se desenvolve no verme adulto finalizando o ciclo. Seres humanos são hospedeiros de, as vezes acidentais, de cestódeos de forma que infecções causadas por metacestódeos são de grande importância para a saúde humana. No caso de *E. granulosus* o metacestódeo é um cisto com três camadas preenchido por líquido hidático, composto por produtos de secreção e excreção do parasito bem como proteínas do hospedeiro (Fig.1) (THOMPSON, 2017). O cisto é composto por uma camada interna, a camada germinativa, uma camada intermediária, chamada de camada laminar, e uma camada externa, chamada de camada adventícia. A camada germinativa é composta por células do parasito e dá origem às formas pré-adultas, chamadas protoescólices. A camada laminar é de origem parasitária, acelular e rica em carboidratos, a camada adventícia é formada por um infiltrado de células do sistema imune do hospedeiro.

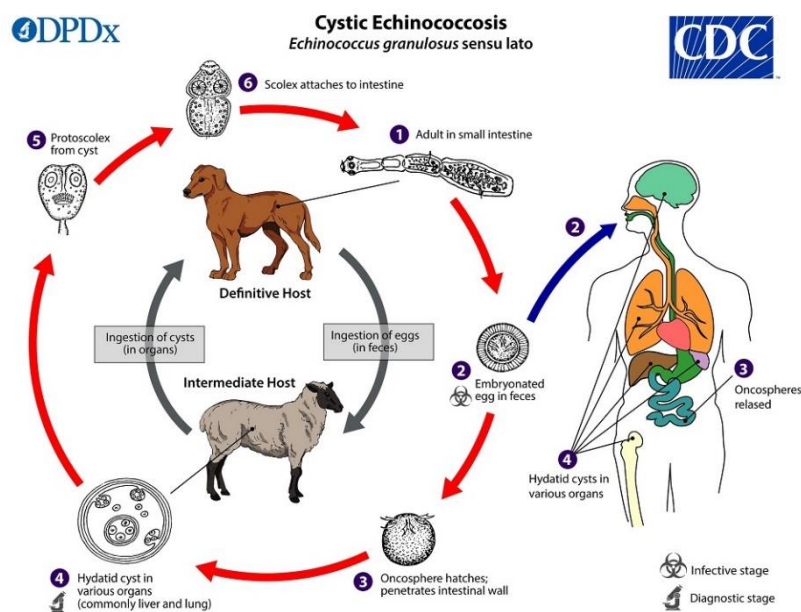


Figura 1: Ciclo de vida de *E. granulosus*

1.1.2. Taxonomia de *Echinococcus granulosus sensu lato* (s.l.)

Echinococcus granulosus s.l. é um complexo de espécies crípticas causadoras de equinococose cística (WOOLSEY; MILLER, 2021). O complexo é um grupo parafilético que engloba cinco espécies e onze genótipos (G1-G10 e o genótipo de leão) (LYMBERY, 2017). Atualmente, aceita-se que o complexo é composto pelas espécies *E. granulosus sensu stricto* s.s. (genótipos G1-G3), *Echinococcus equinus* (G4), *Echinococcus ortleppi* (G5), *Echinococcus canadensis* (genótipos G6/G7, G8 e G10) e *Echinococcus felidis* (genótipo/linhagem de leão) (WOOLSEY; MILLER, 2021).

1.2.1. Cestodíases e a saúde humana

Cestódeos são responsáveis por algumas das helmintíases de maior relevância para a saúde humana, especialmente em zonas endêmicas (DEPLAZES; RINALDI; ALVAREZ ROJAS; TORGERSON *et al.*, 2017; SARATSIS; SOTIRAKI; BRAAE; DEVLEESSCHAUWER *et al.*, 2019). Apesar de cestódeos adultos, em alguns casos, serem capazes de infectar seres humanos, as doenças mais graves são causadas por metacestódeos (fases larvais), que causam cestodíases viscerais. As cestodíases viscerais mais importantes são as equinococoses e as cisticercoses, todas consideradas doenças tropicais negligenciadas segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS) (MOLYNEUX; SAVIOLI; ENGELS, 2017). A equinococose cística é causada por *E. granulosus sensu lato* (s.l.) e a equinococose alveolar é causada por *Echinococcus multilocularis*. Estima-se que juntas, estas equinococoses sejam responsáveis por cerca de 19.300 mortes anualmente no mundo (TORGERSON; DEVLEESSCHAUWER; PRAET; SPEYBROECK *et al.*, 2015). As cisticercoses humanas são causadas por *Taenia solium* (GARCIA; GONZALEZ; GILMAN, 2020). A neurocisticercose (infecção no sistema nervoso central) é a mais importante causa de epilepsia adquirida no mundo, sendo responsável por cerca de um terço dos casos de epilepsia em regiões endêmicas.

1.2.2. Epidemiologia de equinococoses e cisticercoses

As equinococoses e as cisticercoses são zoonoses crônicas de distribuição mundial (DEPLAZES; RINALDI; ALVAREZ ROJAS; TORGERSON *et al.*, 2017; SARATSIS; SOTIRAKI; BRAAE; DEVLEESSCHAUWER *et al.*, 2019). As espécies causadoras dessas doenças, *Echinococcus* spp. e *T. solium* respectivamente, necessitam de dois hospedeiros para completar seu ciclo de vida. Tanto a equinococose quanto a cisticercose são causadas pelo estágio larval dos parasitos. O ciclo de vida desses parasitos normalmente ocorre tendo ungulados domésticos ou outros mamíferos silvestres como hospedeiros intermediários. As cisticercoses e equinococoses humanas são resultado da infecção acidental de seres humanos pelo metacestódeo. A equinococose cística é endêmica no Cone Sul da América do Sul, na região mediterrânea, na Ásia central, na China ocidental e na África Oriental (DEPLAZES; RINALDI; ALVAREZ ROJAS; TORGERSON *et al.*, 2017). Estima-se que a equinococose cística tenha uma incidência de 50 casos por 100.000 pessoas em áreas endêmicas e, em áreas hiper endêmicas, prevalência podendo chegar entre 5% e 10% (AGUDELO HIGUITA; BRUNETTI; MCCLOSKEY, 2016). A maior parte das infecções em humanos (72,9%) é causada por apenas um genótipo (G1) da espécie *E. granulosus* s.s. (CUCHER; MACCHIAROLI; BALDI; CAMICIA *et al.*, 2016). A equinococose alveolar é endêmica nas regiões norte e central da Eurásia e nas regiões norte e nordeste da América do Norte (DEPLAZES; RINALDI; ALVAREZ ROJAS; TORGERSON *et al.*, 2017; GESSESE, 2020). A equinococose alveolar apresentou incidência de 0,26 por 100.000 habitantes nos anos de 2001 a 2005 na Suíça, de 2,6 casos por 100.000 habitantes no Quirguistão e de 67 casos por 100.000 habitantes na província chinesa de Qinghai (DEPLAZES; RINALDI; ALVAREZ ROJAS; TORGERSON *et al.*, 2017; ECKERT; THOMPSON, 2017). A cisticercose é causada por *T. solium*, um cestódeo endêmico em regiões da América Latina, África subsaariana, subcontinente Indiano e partes da China (GARCIA; GONZALEZ; GILMAN, 2020). Há poucos dados sobre a incidência de cisticercose em humanos, no entanto estima-se que 7 milhões pessoas são afetadas pela neurocisticercose na China, e que no Vietnã a cisticercose

apresenta uma prevalência de 13% em seres humanos (BIZHANI; HASHEMI HAFSHEJANI; MOHAMMADI; REZAEI *et al.*, 2020).

1.2.3 *Echinococcus granulosus* como modelo para o estudo de cestódeos

Echinococcus granulosus s.s., além de ser um dos cestódeos de maior importância para a saúde humana, é um modelo para o estudo da ação de fármacos contra trematódeos e cestódeos (HEMPHILL; STADELMANN; SCHOLL; MÜLLER *et al.*, 2010). Protoescólices de *E. granulosus* s.s podem ser mantidos em cultura e existem modelos de infecção experimental em camundongos (FABBRI; MAGGIORE; PENSEL; DENEGRÍ *et al.*, 2016; HEMPHILL; LUNDSTROEM-STADELMANN, 2021; THOMPSON; JENKINS, 2014). O uso de *E. granulosus* s.s como modelo para testes de novos anti-helmínticos permite que os novos fármacos já sejam testados em uma espécie de grande importância para a saúde humana.

1.3.1 Diagnóstico e tratamento de cestodíases viscerais

As infecções por metacestódeos (cestodíases viscerais) são de difícil diagnóstico em seres humanos devido a inespecificidade dos sintomas resultando em diagnósticos tardios e acidentais (BRUNETTI; KERN; VUITTON; WHO-IWGE, 2010; GARCIA; GONZALEZ; GILMAN, 2020; KERN; MENEZES DA SILVA; AKHAN; MÜLLHAUPT *et al.*, 2017). Os sintomas são causados pelo dano aos tecidos adjacentes decorrente do crescimento do metacestódeo, portanto são dependentes da localização e do tamanho do metacestódeo. As cisticercoses são, na maioria dos casos, assintomáticas, no entanto a neurocisticercose é com frequência detectada em pacientes que sofrem de sintomas neurológicos, como convulsões (GARCIA; GONZALEZ; GILMAN, 2020). A equinococose alveolar apresenta um período de incubação assintomático de 5-15 anos, de forma que o diagnóstico geralmente é tardio e ocorre durante a investigação de sintomas

como fadiga, perda de peso e hepatomegalia (BRUNETTI; KERN; VUITTON; WHO-IWGE, 2010). A equinococose cística geralmente é diagnosticada de forma acidental já que cistos se mantêm assintomáticos por longos períodos, e mesmo nos casos sintomáticos há grande variação do quadro clínico (KERN; MENEZES DA SILVA; AKHAN; MÜLLHAUPT *et al.*, 2017). Na maioria dos casos o diagnóstico ocorre com o uso de métodos de imagem capazes de apontar a presença do cisto, mas não sua etiologia, sendo necessários exames adicionais para corroborar o diagnóstico (GARCIA; GONZALEZ; GILMAN, 2020; KERN; MENEZES DA SILVA; AKHAN; MÜLLHAUPT *et al.*, 2017). O principal método é o teste sorológico que detecta a presença de anticorpos contra o parasito no soro do paciente, mas outras alternativas são a detecção de DNA de *T. solium* no fluido cérebro-espinhal ou a detecção direta de protoescolices após a aspiração do líquido do metacestódeo (BRUNETTI; KERN; VUITTON; WHO-IWGE, 2010; GARCIA; GONZALEZ; GILMAN, 2020).

O tratamento dessas cestodíases é complexo e depende de vários fatores, como o número de metacestódeos bem como sua localização e tamanho (GARCIA; GONZALEZ; GILMAN, 2020; KERN; MENEZES DA SILVA; AKHAN; MÜLLHAUPT *et al.*, 2017). A abordagem cirúrgica consiste na remoção do metacestódeo e, portanto, sua viabilidade depende da localização do parasito. No caso da equinococose alveolar, o tratamento cirúrgico é a abordagem preferencial, sendo recomendado que a cirurgia siga as regras para cirurgia radical de tumores. A abordagem quimioterápica é a única alternativa quando a abordagem cirúrgica não é viável e é a abordagem preferida para o tratamento de neurocisticercose (ECKERT; THOMPSON, 2017; GARCIA; GONZALEZ; GILMAN, 2020). Os principais fármacos utilizados são os benzimidazóis, principalmente albendazol e mebendazol, que atuam sobre a beta-tubulina inibindo processos dependentes de microtúbulos (FENNELL; NAUGHTON; BARLOW; BRENNAN *et al.*, 2008). No caso das equinococoses os anti-helmínticos são utilizados durante o período pós-operatório para impedir a recaída da doença, porém para a equinococose cística o tratamento quimioterápico também é realizado no período pré-operatório (KERN; MENEZES DA SILVA; AKHAN; MÜLLHAUPT *et al.*, 2017). Para as equinococoses uma alternativa terapêutica são as abordagens

percutâneas que consistem na punção e aspiração do conteúdo do metacestódeo de forma não cirúrgica (TAMAROZZI; VUITTON; BRUNETTI; VUITTON *et al.*, 2014). No caso da equinococose cística, existe a técnica de punção, aspiração, injeção e reaspiração (PAIR) que, como o nome indica, consiste na punção do cisto e aspiração do líquido hidático, injeção de solução protoescolicida e reaspiração da solução (ECKERT; THOMPSON, 2017). A abordagem terapêutica escolhida depende de vários fatores e, portanto, costuma ser decidida caso a caso.

1.3.2. Perspectivas para o desenvolvimento de novos anti-helmínticos

Os helmintos de maior relevância para a saúde humana são com frequência alvos de programas de administração em massa de anti-helmínticos, como nematódeos transmitidos pelo solo, filárias e esquistossomos; por essa razão a procura por novos anti-helmínticos é direcionada principalmente para a busca de compostos com ação contra esses organismos (GEARY, 2012; LIU; PANDA; LUYTEN, 2020). Esses fármacos atuam sobre diversos alvos como por exemplo os receptores GABA, inibidos por compostos heterocíclicos, polimerização de microtúbulos, alvo de benzimidazóis, receptores nicotínicos de acetilcolina, alvo de tetrahydro-pirimidinas, imidazotiazóis, derivados de aminoacetonitrila, espiroindóis e aminofenilamidinas, canais de cloreto regulados por glutamato, alvos de lactonas macrocíclicas, e uma via dependente do canal de potássio slo-1, alvo de ciclo octadepsi peptídeos (LIU; PANDA; LUYTEN, 2020). Praziquantel é anti-helmíntico cujo mecanismo de ação ainda não é completamente compreendido, no entanto, é sabido que envolve canais de transporte de íons resultando no influxo de cálcio nas células do parasito (JEZIORSKI; GREENBERG, 2006; PARK; FRIEDRICH; YAHYA; ROHR *et al.*, 2021). Desde os anos 2000 apenas três novos anti-helmínticos foram desenvolvidos para uso em animais, a emodepsida, um ciclooctapsipeptideo, o monepantel, uma aminoacetonitrila, e o derquantel, um esporpindo, mas nenhum dos três é utilizado atualmente em humanos.

Atualmente várias abordagens estão sendo utilizadas em tentativas para a obtenção de novos anti-helmínticos, dentre elas podemos destacar a prospecção de compostos naturais, a busca por alvos a partir da análise de genomas e o reposicionamento de fármacos com ação anti-helmíntica (LIU; PANDA; LUYTEN, 2020; PENSEL; ELISSONDO; GAMBINO; GAMBOA *et al.*, 2017; TSAI; ZAROWIECKI; HOLROYD; GARCIARRUBIO *et al.*, 2013). Outras abordagens consistem em aumentar a eficiência ou a biodisponibilidade dos tratamentos atuais através do uso de modificações químicas dos fármacos, novos métodos de administração e de combinações de fármacos (MOSER; SCHINDLER; KEISER, 2019; NASERI; AKBARZADEH; SPOTIN; AKBARI *et al.*, 2016; PARTRIDGE; FORMAN; BATAILLE; WYNNE *et al.*, 2020). A prospecção de compostos naturais já resultou na descoberta de anti-helmínticos de amplo espectro como a avermectina, uma lactona macrocíclica originalmente isolada de *Streptomyces avermitilis* (BURG; MILLER; BAKER; BIRNBAUM *et al.*, 1979; LIU; PANDA; LUYTEN, 2020). Atualmente há vários estudos mostrando a ação anti-helmíntica de extratos de plantas, no entanto, na maioria dos casos a identificação do composto ativo não foi realizada (LIU; PANDA; LUYTEN, 2020; NIXON; WELZ; WOODS; COSTA-JUNIOR *et al.*, 2020). Apesar de vários extratos vegetais apresentarem potencial anti-helmíntico pouca continuidade é dada a esses estudos, de forma que os resultados práticos obtidos são limitados.

A análise do genoma de um organismo permite a identificação de possíveis alvos para novos anti-helmínticos, como enzimas ou vias essenciais para o parasito e com isso buscar compostos com ação específica sobre esses alvos (HEMPHILL; STADELMANN; RUFENER; SPILIOTIS *et al.*, 2014; TSAI; ZAROWIECKI; HOLROYD; GARCIARRUBIO *et al.*, 2013). Após a identificação dos alvos, pode-se buscar moléculas com ação sobre o alvo, incluindo fármacos já existentes (LARSON; DENG; KRUMM; NAPULI *et al.*, 2008). O reposicionamento de fármacos consiste em utilizar fármacos já existentes para aplicações diferentes daquelas para as quais eles foram originalmente desenvolvidos (JOURDAN; BUREAU; ROCHAIS; DALLEMAGNE, 2020). No caso de fármacos aprovados para uso humano já houve a realização dos estudos sobre a segurança destes fármacos de forma que há uma economia de tempo e

de recursos necessários para a obtenção de novos medicamentos (PANIC; DUTHALER; SPEICH; KEISER, 2014). Apesar dos estudos de segurança e biodisponibilidade já terem sido realizados ainda é necessário identificar a dosagem terapêutica e a melhor via de administração de forma que essa abordagem reduz o tempo necessário para obter novos medicamentos, mas não o elimina completamente. O uso das informações obtidas a partir da análise dos genomas dos parasitos permite identificar alvos para os quais já existam fármacos disponíveis para reposicionamento permitindo a rápida obtenção de novos anti-helmínticos.

A busca por anti-helmínticos contra cestódeos prioriza compostos com ação contra os metacestódeos, já que esta fase é responsável pelas doenças mais graves (HEMPHILL; STADELMANN; RUFENER; SPILLOTIS *et al.*, 2014). A disponibilidade do genoma de *E. granulosus* s.s., *E. multilocularis* e *T. solium*, bem como de outros helmintos, permite a busca por novos alvos para anti-helmínticos de amplo espectro (CONSORTIUM, 2018; TSAI; ZAROWIECKI; HOLROYD; GARCIARRUBIO *et al.*, 2013; ZHENG; ZHANG; ZHANG; ZHANG *et al.*, 2013). Metacestódeos de *E. multilocularis* são frequentemente comparados a câncer devido ao seu crescimento descontrolado e capacidade de invasão de tecidos (PENSEL; ALBANI; GAMBOA; BENOIT *et al.*, 2014). Devido a essa semelhança alguns trabalhos avaliam a ação de fármacos utilizados no tratamento de câncer e de outras doenças infecciosas contra metacestódeos (LI; WANG; YAO; WANG *et al.*, 2020; LUNDSTRÖM-STADELMANN; RUFENER; HEMPHILL, 2020; PENSEL; ALBANI; GAMBOA; BENOIT *et al.*, 2014; PENSEL; ELISSONDO; GAMBINO; GAMBOA *et al.*, 2017). Outra abordagem consiste em aumentar a eficiência dos tratamentos atuais, como por exemplo o aumento da permeabilidade do metacestódeo a albendazol (NASERI; AKBARZADEH; SPOTIN; AKBARI *et al.*, 2016; TORABI; DOBAKHTI; FAGHIHZADEH; HANILOO, 2018). Tanto a busca por novos alvos quanto o reposicionamento de fármacos são importantes para obtenção de novos anti-helmínticos.

1.4.1. Vias de síntese de nucleotídeos

A síntese de nucleotídeos é de vital importância para todos os organismos devido a sua importância na síntese de ácidos nucleicos (BERENS; KRUG; MARR, 1995). A síntese de nucleotídeos ocorre por duas vias, a via *de novo*, que sintetiza nucleotídeos a partir de precursores simples, e a via de recuperação que recicla nucleosídeos e bases nitrogenadas.

A via *de novo* utiliza vários passos enzimáticos e diversos substratos para a síntese de nucleotídeos (LANE; FAN, 2015). No caso da síntese de purinas a base nitrogenada é sintetizada sobre 5-fosforribose-1-pirofosfato e utilizada para a síntese dos outros nucleotídeos. Após diversos passos metabólicos ocorre a síntese de inosina-5'-monofosfato (IMP) que então é utilizada para a produção dos demais nucleotídeos de purinas. No caso das pirimidinas vários passos são necessários para a síntese de orotato que então é utilizado para a síntese de uridina-5'-monofosfato (UMP) em dois passos consecutivos catalisados pela mesma enzima. UMP então é utilizada para a produção dos demais nucleotídeos de pirimidinas.

1.4.2. Via de recuperação de nucleotídeos

A via de recuperação de nucleotídeos também é de grande importância para os seres vivos devido ao seu papel na manutenção dos níveis de nucleotídeos (BERG; VAN DER VEKEN; GOEMINNE; HAEMERS *et al.*, 2010). Essa via é especialmente importante para alguns organismos parasitas, como helmintos e protozoários, devido a incapacidade destes de realizar a síntese *de novo*. Esta via se inicia com a síntese de nucleotídeos monofosfatados a partir de nucleosídeos ou bases nitrogenadas livres (BERENS; KRUG; MARR, 1995). Os nucleosídeos são fosforilados por uma quinase específica, no caso dos mamíferos as quinases de nucleosídeos conhecidas são adenosina-quinase, desoxiguanosina-quinase, timidina-quinase, uridina-citidina-quinase e desoxicitidina-quinase (BOISON; YEGUTKIN, 2019; DEVILLE-BONNE; EL AMRI; MEYER; CHEN *et al.*, 2010; MALAMI; ABDUL, 2019). As bases nitrogenadas livres são recicladas através da ação das enzimas fosforribosil-transferases,

sendo que essas enzimas utilizam uma ribose-1'fosfato e as bases nitrogenadas para catalisar a síntese de nucleotídeos (LI; HUANG; CHEN; YANG *et al.*, 2007; YIN; REN; HUANG; DENG *et al.*, 2018). Em mamíferos estão presentes as enzimas adenina-fosforribosil-transferase (APRT), hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferase e uracil-fosforribosil-transferase (YIN; REN; HUANG; DENG *et al.*, 2018). A partir desta etapa as enzimas da via de recuperação são as mesmas da via *de novo* (BERENS; KRUG; MARR, 1995). Nesta via também estão presentes enzimas que permitem a interconversão entre as bases nitrogenadas, no caso da síntese de purinas a interconversão faz uso de diversos intermediários como nucleotídeos de inosina e hipoxantina e adenilosuccinato. Os nucleotídeos monofosfatados resultantes são fosforilados por quinases específicas, AMP-quinase e GMP-quinase para purinas e UMP-CMP-quinase e TMP-quinase para pirimidinas (VAN ROMPAY; JOHANSSON; KARLSSON, 2000). Os nucleosídeos difosfatados podem então ser convertidos em nucleosídeos trifosfatados (NTPs) por nucleosídeo-difosfato-quinase ou convertidos em desoxirribonucleotídeos pela ação da enzima ribonucleotídeo-redutase (FASULLO; ENDRES, 2015; GEORGESCAULD; SONG; DAUTANT, 2020). Os desoxirribonucleotídeos também podem ser fosforilados por nucleosídeo-difosfato-quinase produzindo nucleotídeos trifosfatados que podem então ser utilizados para a síntese de ácidos nucleicos.

A síntese de nucleotídeos é de extrema importância para todos os seres vivos e várias enzimas são conservadas em organismos evolutivamente distantes (BERENS; KRUG; MARR, 1995). Ribonucleotídeo-redutase e nucleosídeo-difosfato-quinase são necessárias para a síntese de desoxirribonucleotídeos de purinas e pirimidinas, e, portanto, estão presentes em uma diversidade de organismos de bactérias a animais, com poucas exceções (BAUM; BERENS; MARR; HARRINGTON *et al.*, 1989). No caso da via de recuperação de purinas, as enzimas necessárias para a captação de nucleosídeos e bases nitrogenadas estão conservadas em mamíferos, helmintos e protozoários (BERENS; KRUG; MARR, 1995). As enzimas adenosina-quinase e adenina-fosforribosil-transferase são conservadas nos três grupos, a hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferase no entanto é conservada em vários organismos, mas em alguns protozoários as

atividades de fosforribosil-transferase para hipoxantina e guanina são realizadas por enzimas diferentes (SHI; MUNAGALA; WANG; LI *et al.*, 2000). As enzimas necessárias para converter IMP em nucleotídeos de outras purinas são conservadas, mas as enzimas que convertem AMP, adenilossuccinato-sintase e adenilossuccinato-liase, e GMP, GMP-redutase, em IMP não estão presentes com a mesma frequência. *Plasmodium falciparum* não apresenta nenhuma das três enzimas enquanto *Toxoplasma gondii* apresenta as enzimas adenilossuccinato-sintase e adenilossuccinato-liase, mas não GMP-redutase e *Leishmania donovani* apresenta as três enzimas (BOITZ; JARDIM; ULLMAN, 2016; CHEVIET; LEFEBVRE-TOURNIER; WEIN; PEYROTTE, 2019).

A via de recuperação de pirimidinas é mais conservada do que a de purinas e muitos organismos incapazes de sintetizar purinas podem realizar síntese *de novo* de pirimidinas (BAUM; BERENS; MARR; HARRINGTON *et al.*, 1989). A habilidade de utilizar nucleosídeos de uracila, bem como a uracila livre, é conservada em vários organismos. Alguns organismos como *Toxoplasma gondii* são capazes de captar apenas uracila, enquanto nucleosídeos de citosina são desaminados para sintetizar nucleosídeos de uracila que então são captados. Outros protozoários, como *Trypanosoma brucei*, apresentam as enzimas timidina-quinase e timidilato-sintase e, portanto, são capazes de sintetizar TMP utilizando timidina e UMP de forma semelhante a mamíferos; no entanto, a timidilato-quinase de *T. brucei* também apresenta a função de dihidrofolato-redutase (LEIJA; RIJO-FERREIRA; KINCH; GRISHIN *et al.*, 2016)

2. Justificativa

As helmintíases são algumas das doenças mais comuns no mundo e de grande relevância para a saúde pública de diversas populações (JOURDAN; LAMBERTON; FENWICK; ADDISS, 2018). Estima-se que um quarto da população mundial é afetada por helmintos parasitas dentre os quais podemos destacar os agentes causadores de várias das doenças tropicais negligenciadas listadas pela OMS (MOLYNEUX; SAVIOLI; ENGELS, 2017). Entre os helmintos de maior importância estão alguns nematódeos transmitidos pelo solo como *Trichuris trichiura*, *Necator americanus* e *Ancylostoma duodenale*, alguns platelmintos como os trematódeos *Schistosoma* spp. e os cestódeos *Echinococcus* spp. e *Taenia* spp. As cestodíases apresentam distribuição mundial e são de grande importância em regiões endêmicas gerando diversos problemas de saúde.

Várias helmintíases são doenças crônicas responsáveis por grandes impactos na saúde humana que, no entanto, não são facilmente estimados (COLLABORATORS, 2016; YAP; FÜRST; MÜLLER; KRIEMLER *et al.*, 2012). Uma forma de mensurar o impacto de doenças além da mortalidade é o uso de *disability-adjusted life years* (DALYs) que permite a comparação entre doenças que causam alta mortalidade e baixa deficiência com doenças que geram deficiência, mas causam poucas mortes (WHO, 2013). DALYs são calculados utilizando anos de vida perdidos devido à morte prematura e os anos de vida perdidos por deficiência, anos vividos em um estado de saúde inferior a saúde plena. Somando ambas as perdas um DALY então é definido como a perda de um ano de vida de saúde plena. Como as cestodíases são doenças crônicas os DALYs são uma medida de grande importância para avaliar o impacto dessas doenças. As equinococoses, além das 19.300 mortes anuais, são responsáveis por perdas de cerca de 871.000 DALYs anualmente. Estima-se que a cisticercose afete entre 2,56 e 8,30 milhões de pessoas de forma que *T. solium* é responsável por perdas de 2,8 milhões de DALYs, demonstrando os grandes danos à saúde humana causados pelas cestodíases (TORGERSON; DEVLEESSCHAUWER; PRAET; SPEYBROECK *et al.*, 2015).

Atualmente o tratamento das helmintíases é feito com o uso de anti-helmínticos, mas apenas um pequeno número de fármacos vem sendo utilizado ao longo das décadas para esse fim (TAMAN; AZAB, 2014). Este quadro propicia o surgimento de resistência a anti-helmínticos como já foi observado em diversas espécies. Resistência aos principais anti-helmínticos de amplo espectro utilizados atualmente como benzimidazóis, lactonas macrocíclicas e tetra-hidropirimidinas já foi reportado em vários helmintos parasitas ao redor do mundo (FURTADO; DE PAIVA BELLO; RABELO, 2016; LIU; PANDA; LUYTEN, 2020). No caso específico dos benzimidazóis já foi observada a seleção de populações resistentes em todos os continentes com exceção da Antártida e em helmintos de relevância clínica (KRÜCKEN; FRAUNDORFER; MUGISHA; RAMÜNKE *et al.*, 2017; MONDRAGÓN-ANCELMO; OLMEDO-JUÁREZ; REYES-GUERRERO; RAMÍREZ-VARGAS *et al.*, 2019; ORR; QUAGRAINE; SUWONDO; GEORGE *et al.*, 2019). A seleção de várias populações de helmintos resistentes a anti-helmínticos faz com que o desenvolvimento de novos anti-helmínticos seja de extrema importância.

O uso de benzimidazóis é o tratamento padrão de cestodíases apesar de ser apenas parcialmente efetivo (ECKERT; THOMPSON, 2017). A natureza cística dessas doenças diminui a acessibilidade do medicamento reduzindo sua eficiência e torna necessário tratamentos mais longos. No caso da equinococose alveolar o tratamento com benzimidazóis é capaz apenas de suprimir o crescimento do metacestódeo (KERN; MENEZES DA SILVA; AKHAN; MÜLLHAUPT *et al.*, 2017). No caso da equinococose cística o tratamento é capaz de inativar o metacestódeo no entanto é longo e pouco eficiente. Já foi estimado que mesmo dois anos após o início do tratamento 40% dos cistos hidáticos permanecem ativos ou se reativam (ECKERT; THOMPSON, 2017). Os benzimidazóis são bem tolerados por seres humanos, no entanto apresentam efeitos colaterais como toxicidade hepática e hematológica que podem ser preocupantes quando considerados os longos períodos de tratamento necessários para essas doenças. A resistência a benzimidazóis ainda não foi observada em cestódeos, no entanto o risco seleção de helmintos resistentes faz com que novas abordagens terapêuticas sejam necessárias. A baixa eficiência do

tratamento bem como o risco de seleção de resistência faz com que a busca por novos tratamentos contra cestodíases seja de extrema importância.

Os cestódeos, como outros parasitos dependem da captação de diversos nutrientes e substratos para sua sobrevivência (CONSORTIUM, 2018). Análises de genomas de vários cestódeos demonstraram que cestódeos não são capazes de realizar síntese *de novo* de purinas e de pirimidinas de forma que esses organismos dependem exclusivamente da via de recuperação de nucleotídeos. Algumas das enzimas dessa via foram sugeridas como alvos contra *E. multilocularis*, porém a via foi pouco estudada em cestódeos (TSAI; ZAROWIECKI; HOLROYD; GARCIARRUBIO *et al.*, 2013). Os estudos disponíveis demonstram a capacidade de parasitos-modelo, como *Mesocestoides corti* e *Hymenolepis diminuta*, assimilarem substratos dessa via e incorporá-los ao seu DNA e a atividade de enzimas da via em *E. multilocularis* (HEATH, 1970; MACINNIS; FISHER; READ, 1965; SUCHAIL; SARCIRON; PETAVY, 1998). As vias de recuperação de nucleotídeos foram muito estudadas como alvo em outros organismos, principalmente protozoários, mas também em alguns helmintos (BERG; VAN DER VEKEN; GOEMINNE; HAEMERS *et al.*, 2010). O protozoário *P. falciparum* apresenta diferenças na sua via de recuperação de purinas que podem ser exploradas para o desenvolvimento de novos fármacos (ZHENG; TRAN; MANIVANNAN; WEN *et al.*, 2016). A via de recuperação de pirimidinas já foi sugerida como alvo para anti-helmínticos em *S. mansoni*, pois apesar do parasito ser capaz de síntese *de novo* de pirimidinas a via de recuperação é de grande importância para sua sobrevivência (EL KOUNI, 2017). Os dados disponíveis sugerem que as vias de recuperação de nucleotídeos são promissoras como alvos para novos fármacos anti-helmínticos.

As vias de síntese de nucleotídeos são alvos de diversos inibidores já aprovados para utilização em seres humanos e utilizados para o tratamento de doenças como câncer e doenças infecciosas (LUENGO; GUI; VANDER HEIDEN, 2017) (BERG; NØTTRUP; ROED, 2019; SINGH; XU, 2016; WANG; WANG; XU; ZHOU *et al.*, 2016). Metacestódeos de *E. multilocularis* são frequentemente comparados ao câncer devido a sua capacidade de proliferação e de invasão de tecidos sendo que, por causa dessa similaridade, várias drogas antiproliferativas

foram testadas contra *Echinococcus* spp. (HEMPHILL; STADELMANN; RUFENER; SPILIOTIS et al., 2014). Várias drogas antiproliferativas atuam sobre a síntese de nucleotídeos e uma delas, a 5-fluoruracila, apresentou resultados promissores contra *E. granulosus* s.s em combinação com albendazol (PENSEL; ALBANI; GAMBOA; BENOIT et al., 2014; PENSEL; ELISSONDO; GAMBINO; GAMBOA et al., 2017). A disponibilidade de inibidores que atuam sobre várias etapas da síntese de nucleotídeos oferece a possibilidade de reposicionamento desses fármacos para o tratamento de helmintíases.

3. Objetivos

3.1. Objetivo geral

Identificação das enzimas que compõem as vias de recuperação de nucleotídeos de *E. granulosus* s.s. e avaliação de seu potencial como alvos para reposicionamento de fármacos como anti-helmínticos.

3.2. Objetivos específicos

- (i) Identificação dos componentes das vias de síntese de purinas e pirimidinas de *E. granulosus* s.s.
- (ii) Identificação de alvos drogáveis nessas vias para reposicionamento de fármacos
- (iii) Avaliação da conservação dessas enzimas em platelmintos parasitas e em hospedeiros mamíferos.

4. Materiais e métodos

4.1. Identificação das enzimas de recuperação de nucleotídeos em *E. granulosus* s.s.

Para a identificação de ortólogos das enzimas da via de recuperação de nucleotídeos em *E. granulosus* s.s. foram utilizadas as sequências de aminoácidos das enzimas humanas. As sequências humanas são utilizadas como *query* para a ferramenta *Basic Local Alignment Search Tool (Blastp)* (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) contra as sequências deduzidas de aminoácidos do genoma de *E. granulosus* s.s. (TSAI; ZAROWIECKI; HOLROYD; GARCIARRUBIO *et al.*, 2013; ZHENG; ZHANG; ZHANG; ZHANG *et al.*, 2013). As sequências humanas foram recuperadas do banco de dados Uniprot (<https://www.uniprot.org/>) e as sequências de *E. granulosus* s.s. foram recuperadas dos bancos de dados Gene DB (www.genedb.org) e WormBase (<https://parasite.wormbase.org/index.html>).

4.2. Identificação de domínios proteicos

Para confirmar a anotação das sequências obtidas na seção anterior foram utilizadas as ferramentas Interpro (<https://www.ebi.ac.uk/interpro/>) e Pfam (<http://pfam.xfam.org/>) utilizando as configurações padrão. As sequências que foram anotadas com a mesma função que o domínio identificado foram utilizadas para as análises posteriores. Nos casos em que houve discrepâncias as sequências foram analisadas utilizando o programa MatGat e a similaridade com a sequência humana foi utilizada para identificar a enzima (CAMPANELLA; BITINCKA; SMALLEY, 2003).

4.3. Identificação de peptídeos-sinal e predições de localização subcelular

Para a identificação de peptídeos-sinal foi utilizado o software online SignalP com parâmetros padrão e foi selecionado o grupo de organismos eukarya (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?SignalP-5.0>). A localização

subcelular das enzimas foi predita usando os softwares online CELLO (<http://cello.life.nctu.edu.tw/>) (YU; CHEN; LU; HWANG, 2006) e TargetP (<https://services.healthtech.dtu.dk/service.php?TargetP-2.0>). A análise no TargetP foi realizada com parâmetros padrão e selecionando o grupo de organismos não-planta. A análise no software CELLO foi realizada utilizando parâmetros padrão e selecionando o organismo utilizado como eucarioto.

4.4. Recuperação de dados de expressão das enzimas de recuperação de nucleotídeos

Os dados de expressão das enzimas de recuperação de nucleotídeos em nível transcricional e de proteínas foram recuperados da literatura. Os dados de RNA-seq de *E. granulosus* s.s nos estágios de ovo, oncosfera, protoescolex, metacestódeo e verme adulto foram recuperados (Tsai et al., 2013; Zheng et al., 2013). Os dados de proteômica também foram recuperados (DEBARBA; MONTEIRO; MOURA; BARR *et al.*, 2015; HIDALGO; GARCÍA; STOORE; RAMÍREZ *et al.*, 2016; LORENZATTO; KIM; NTAI; PALUDO *et al.*, 2015; MONTEIRO; DE CARVALHO; ZAHA; FERREIRA, 2010; TSAI; ZAROWIECKI; HOLROYD; GARCIARRUBIO *et al.*, 2013; ZHENG; ZHANG; ZHANG; ZHANG *et al.*, 2013).

4.5. Análise da drogabilidade das enzimas de recuperação de nucleotídeos

Para a identificação dos alvos mais promissores entre as enzimas de recuperação de nucleotídeos de *E. granulosus* s.s foi realizada uma análise de drogabilidade. Para isso foram utilizados bancos de dados de drogabilidade e análises de drogabilidade previamente publicadas (TSAI; ZAROWIECKI; HOLROYD; GARCIARRUBIO *et al.*, 2013). A similaridade das sequências de *E. granulosus* s.s com alvos conhecidos foi avaliada utilizando as sequências de *E. granulosus* s.s como *query* nos bancos de dados TTD (*Therapeutic Target Database*) (<http://db.idrblab.net/ttd/>), Drugbank (<https://go.drugbank.com/>), ChEMBL (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/>) e TDR (*Tropical Disease Research*) targets (<https://tdrtargets.org/>) utilizando parâmetros padrão. As enzimas foram

ranqueadas de acordo com os resultados obtidos nos quatro bancos de dados e aquelas que obtiveram como *hit* a enzima equivalente em seres humanos ou em outros organismos nos quatro bancos de dados foram consideradas as mais promissoras. Os bancos de dados TDR e TTD apresentam informações extras quanto ao potencial de drogabilidade das enzimas, as informações desses bancos de dados também foram utilizadas para ranquear as enzimas. Esses bancos de dados também mostram moléculas que interagem com o alvo de várias formas. Aquelas listadas como inibidores foram recuperadas e as que apresentaram inibidores comerciais também foram consideradas nas análises.

A ferramenta de busca de ortólogos e parálogos do WormBase foram utilizadas para avaliar a presença de parálogos em cestódeos. Para separar parálogos de origem ancestral e de funções distintas de parálogos recentes que apresentam a mesma função foi realizado um alinhamento de sequências e utilizado o software MatGat para analisar a identidade e similaridade das sequências e assim avaliar a semelhança entre elas. As enzimas foram classificadas de acordo com o número de espécies de cestódeos com parálogos e o número de parálogos. Quando as enzimas não apresentam parálogos em cestódeos foram consideradas as melhores ranqueadas, enquanto as que apresentaram parálogos em várias espécies foram as piores ranqueadas.

4.6. Análises filogenéticas e de seleção positiva

Para as análises evolutivas, as enzimas identificadas (seção 4.1) foram utilizadas para identificar ortólogos em platelmintos e nematóides usando a ferramenta de busca de ortólogos do Wormbase (<https://parasite.wormbase.org/index.html>). No caso de obter uma baixa quantidade de sequências de trematódeos ou nematódeos, as sequências foram recuperadas utilizando a ferramenta Blastp (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>). As sequências das enzimas dos hospedeiros mamíferos e de outros cordados bem como as sequências de moluscos, anelídeos, artrópodes e equinodermos foram obtidas do banco de dados do NCBI (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>). O conjunto de dados obtidos foi avaliado utilizando a similaridade e identidade com a sequência de *E. granulosus* s.s como parâmetros. As sequências foram

analisadas usando o software MatGat para gerar a matriz de identidade das sequências e as que obtiveram similaridade e identidade igual ou superior a 50% e a 30% respectivamente foram selecionadas para a análise (CAMPANELLA; BITINCKA; SMALLEY, 2003). Também foram geradas árvores filogenéticas apenas para platelmintos para a análise de seleção positiva. O alinhamento das sequências de aminoácidos foi realizado utilizando alinhador MUSCLE com parâmetros padrão executado no software MEGAX (EDGAR, 2004; KUMAR; STECHER; LI; KNYAZ *et al.*, 2018). Quando necessário os alinhamentos foram editados manualmente. MEGAX foi utilizado para identificar o melhor modelo de substituição para cada enzima. Os parâmetros selecionados foram deleção parcial de gaps/informação faltando com *cut-off* de 75% de cobertura. Foi utilizado o método de máxima verossimilhança e o teste de *bootstrap* foi realizado utilizando 2000 repetições para todas as análises. A inferência de árvore foi realizada utilizando o método heurístico *Nearest Neighbor Interchange* e a árvore inicial foi gerada automaticamente utilizando os parâmetros padrão. As árvores geradas foram visualizadas utilizando o software Figtree (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>). Para avaliar as árvores geradas nodos com valor de *bootstrap* maior ou igual a 80% foram considerados relevantes para nossa análise.

As sequências de nucleotídeos de platelmintos foram recuperadas do WormBase e utilizadas para a obtenção do retroalinhamento. Para obter o alinhamento de códons a partir do alinhamento de aminoácidos foi utilizado o software PAL2NAL (<http://www.bork.embl.de/pal2nal/>). As árvores filogenéticas de platelmintos e o alinhamento de códons foram utilizados para a análise de seleção positiva no software codeml do pacote PAML (Yang, 2007). Foram utilizados os modelos M1a, M2a, M7 e M8 com a abordagem *Naive Empirical Bayes* (NEB) e *Bayes Empirical Bayes* (BEB) para identificar sítios sob seleção positiva. Seleção positiva foi detectada quando $\omega > 1$ em que “ ω = mutação não-sinônima/ mutação silenciosa” de forma que $\omega > 1$ significa seleção positiva diversificante (YANG; NIELSEN; GOLDMAN; PEDERSEN, 2000).

5. Resultados

5.1. Identificação das enzimas da via de recuperação de nucleotídeos

As vias de recuperação de purinas e pirimidinas de *E. granulosus* s.s estão apresentadas nas Figuras 1, 2 e Apêndice 2. As únicas enzimas não identificadas foram a xantina-oxidase e GMP-redutase na via das purinas, e desoxicitidina-quinase na via das pirimidinas. A análise pelo Blastp da xantina-oxidase humana contra trematódeos e cestódeos não retornou nenhum resultado e para a GMP-redutase humana retorna um resultado em *E. granulosus* s.s, mas a enzima encontrada apresenta maior similaridade com a IMP-desidrogenase. Como essas enzimas são similares é provável que *E. granulosus* s.s não apresente uma enzima GMP-redutase e, portanto, não possa converter GMP em IMP. Os *E-value* obtidos com o blast da enzima humana contra *E. granulosus* s.s apresentaram grande variação entre as enzimas, os valores obtidos variaram de 0.0 a 2.6E-5. Todas as enzimas analisadas apresentaram o domínio proteico correto de acordo com a sua anotação, a única exceção foram as timidina-quinase, cujo domínio foi identificado apenas como nucleosídeo-quinase. As enzimas adenilato-quinase e nucleosídeo-difosfato-quinase já foram detectadas em análises proteômicas (Apêndices 3 e 4). A nucleosídeo-difosfato-quinase foi identificada entre as proteínas recém-sintetizadas após a indução de estrobilização. Todos os genes encontrados apresentam níveis de transcrição detectáveis em pelo menos um dos estágios do ciclo de vida do parasito (Apêndices 3 e 4). Já foi observado que alguns desses genes são expressos diferencialmente entre os estágios do ciclo de vida. Um dos genes de HGPRT é sobre expresso no estágio de oncosfera enquanto um gene de nucleosídeo-difosfato-quinase tem sua expressão reduzida no mesmo estágio. Dois genes de purina-nucleosídeo-fosforilase e adenilato-quinase são sobre expressos no estágio adulto. A via de recuperação de purinas de *E. granulosus* s.s apresenta tanto a enzima adenosina-quinase como as enzimas adenina-fosforribosiltransferase (APRT) e hipoxantina-guanina-fosforribosiltransferase (HGPRT) indicando que o parasita pode captar tanto nucleosídeos quanto bases nitrogenadas livres. A adenosina-quinase, no entanto, aparenta ser expressa apenas no verme adulto enquanto as duas HGPRT são

transcritas em todas as etapas do ciclo de vida do parasito e a APRT teve sua expressão detectada na oncosfera, no verme adulto e, em outro estudo, em protoescolícos. A via de recuperação de pirimidinas apresenta a capacidade de captar bases nitrogenadas e nucleotídeos. A enzima uracil-fosforribosiltransferase permite a captação de uracila enquanto as enzimas timidina-quinase e uridina-citidina-quinase permitem a captação de nucleosídeos. *Echinococcus granulosus* s.s também possui a enzima UMP-sintase, uma enzima bifuncional com função de orotato-fosforribosiltransferase e orotidina-descarboxilase, sugerindo que o parasito também é capaz de captar orotato e convertê-lo em UMP. As enzimas CTP-sintase e timidilato-sintase permitem a síntese de CTP e TMP, respectivamente, a partir de nucleotídeos de uracila. As enzimas citidina-desaminase e desoxicitidilato-desaminase permitem a síntese de nucleosídeos de uridina a partir de nucleosídeos de citidina. Esses dados mostram uma grande capacidade de conversão entre nucleotídeos de pirimidinas nesta via.

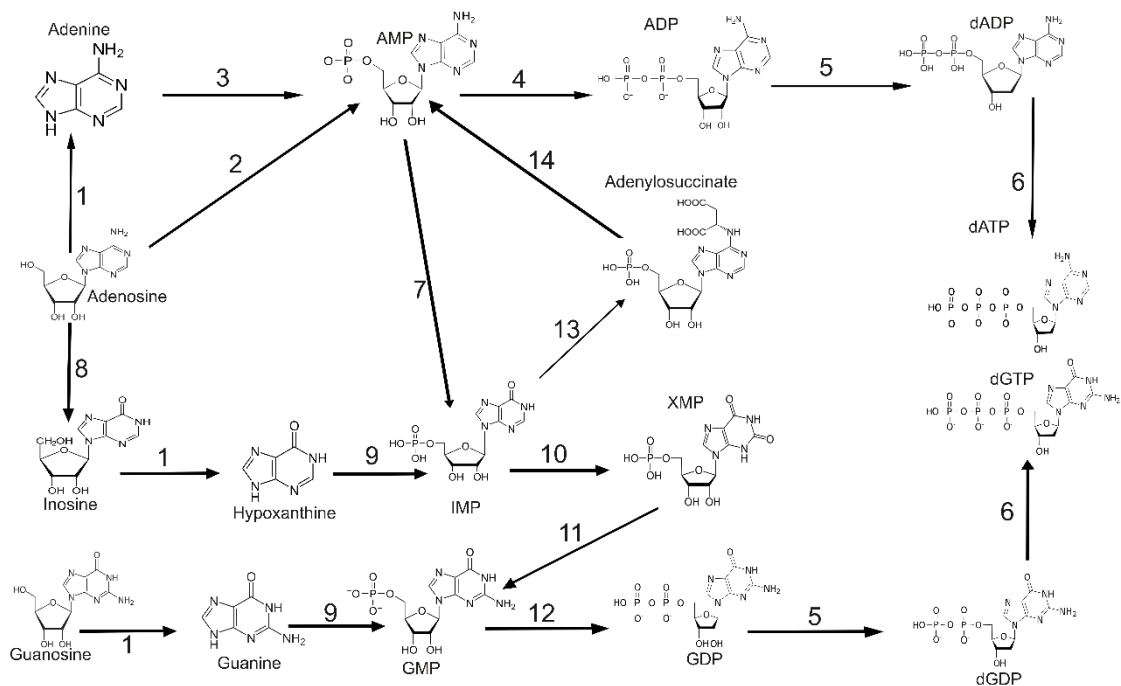


Figura 2: Via de recuperação de purinas de *E. granulosus*: 1) nucleosídeo-fosforilase; 2) adenosina-quinase; 3) adenina-fosforribosiltransferase; 4) adenilato-quinase; 5) 34ibonucleotideo-redutase; 6) nucleosídeo-difosfato-quinase; 7) AMP-desaminase; 8) adenosina-desaminase; 9) hipoxantina-guanina-fosforribosiltransferase; 10) IMP-desidrogenase; 11) GMP-sintase; 12) guanilato-quinase; 13) adenilossuccinato-sintase; 14) adenilossuccinato-liase.

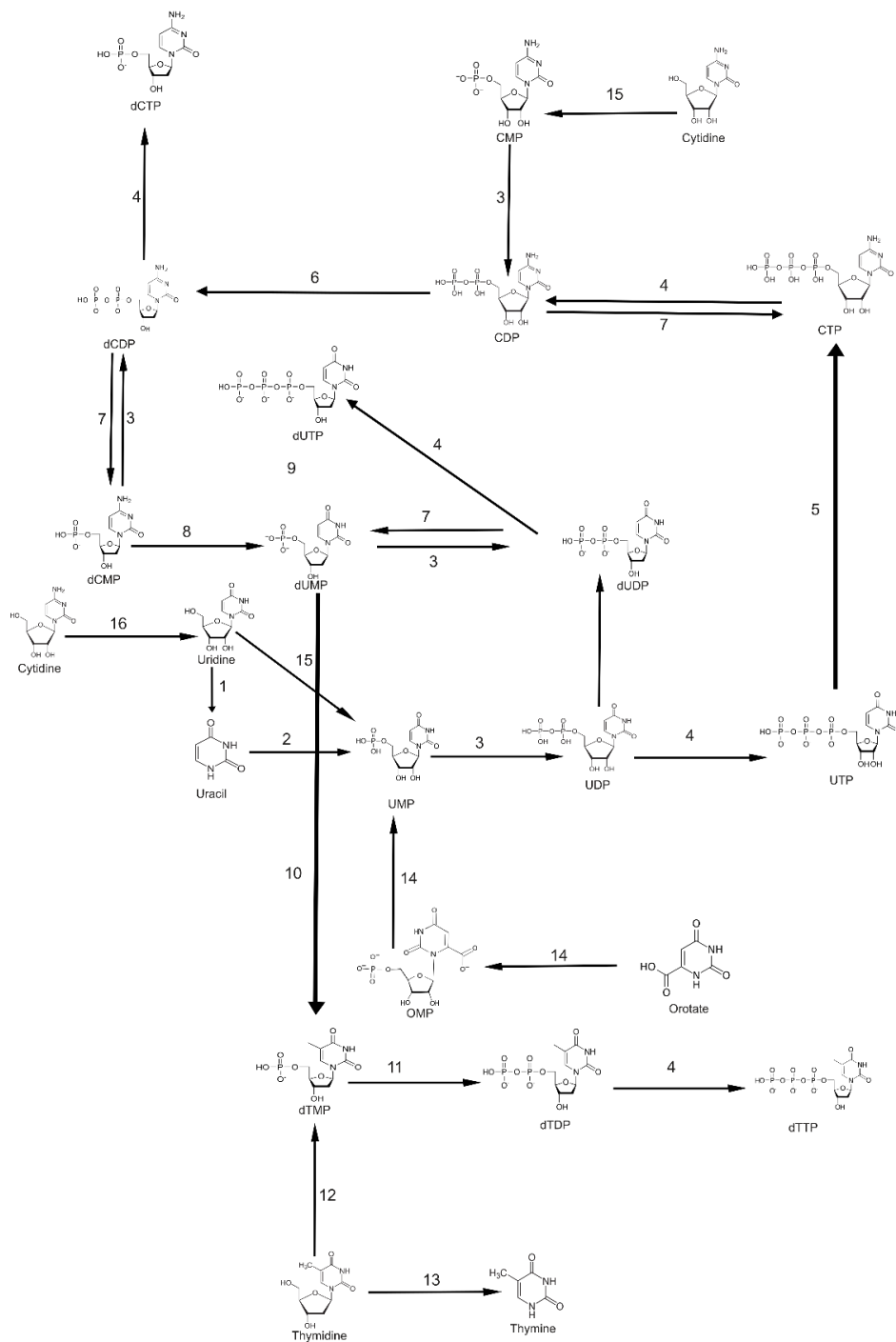


Figura 3 Via de recuperação de pirimidinas de *E. granulosus*: 1) uridina-fosforilase; 2) uracila-fosforribosiltransferase; 3) UMP-CMP-quinase; 4) 35b nucleot-difosfate-quinase; 5) CTP-sintase; 6) 35b nucleotideo -redutase; 7) fosfatase; 8) desoxiCMP-desaminase; 9) desoxiuridina-trifosfato-hidrolase; 10) timidilato-sintase; 11) timidilato-quinase; 12) timidina-quinase; 13) timidina-fosforilase; 14) UMP-sintase; 15) uridina-citidina-quinase; 16) citidina-desaminas.

5.2. Análise da drogabilidade das enzimas da via de recuperação de nucleotídeos

Após a identificação dos componentes da via de recuperação de purinas e pirimidinas de *E. granulosus* s.s foi realizada uma análise da drogabilidade das enzimas para identificar aquelas que apresentam potencial como alvos para anti-helmínticos. As enzimas foram avaliadas de acordo com a presença de inibidores, resultado da busca em bancos de dados de drogabilidade (Tabela 1 e 2, Apêndice 7 e 8) e presença de parálogos em cestódeos (Apêndice 5 e 6). As melhor classificadas foram utilizadas para as análises posteriores. Várias enzimas apresentaram potencial drogável, no entanto, para algumas delas, como purina-nucleosídeo-fosforilase e nucleosídeo-difosfato-quinase, a presença de vários parálogos as tornam pouco atrativas como alvos, apesar de estarem entre os alvos mais drogáveis. Várias das enzimas mais drogáveis também apresentam inibidores comerciais, o que as torna alvos especialmente interessantes (Tabela 2). Alguns dos inibidores encontrados atuam sobre mais de uma enzima como a 6-mercaptopurina, na via das pirimidinas, e a gencitabina, na via das purinas. A 6-mercaptopurina é um inibidor de HGPRT e de inosina-5'-monofosfato-desidrogenase, ambos alvos promissores em nossas análises. A gencitabina atua sobre as enzimas UMP-CMP-quinase, timidilato-sintase e ribonucleotídeo redutase, as três enzimas são consideradas alvos potenciais.

Tabela 1: Enzimas melhor classificadas na análise de drogabilidade

Enzima	Gene <i>E. granulosus</i> s.s
Ribonucleotídeo-redutase RNR2	EgrG_000437000
Adenosina-desaminase	EgrG_000536400
IMP-desidrogenase	EgrG_000120200
Timidina-fosforilase	EgrG_000672400
Timidilato-sintase	EgrG_000260100
Purina-nucleosídeo-fosforilase	EgrG_000635700
	EgrG_000635200
	EgrG_000636100

	EgrG_000636000
Citidina-desaminase	EgrG_000572800
Adenosina-quinase	EgrG_000125200
GMP-sintase	EgrG_001198000
UMP-sintase	EgrG_000392000
dUTP-nucleotídeo-hidrolase	EgrG_000119100
Timidina-quinase	EgrG_000154500
	EgrG_000154250
	EgrG_000154200
Nucleosídeo-difosfato-quinase	EgrG_001145100
	EgrG_001117000

Tabela 2: Enzima com inibidores comercialmente disponíveis e seus parálogos em cestódeos

Enzima	Inibidor	Parálogos em cestódeos
UMP-CMP-quinase	Gencitabina	0
Citidina deaminase	Cedazuridina	0
Ribonucleotídeo-redutase (RNR2)	Gencitabina; Hidroxiureia; Clofarabina; Fludarabina; Cladribina	1 parálogo em 1 espécie
Timidina-fosforilase	Tipiracil	1 parálogo em 1 espécie
Timidilato-sintase	Raltitrexed; Pemetrexed; Capecitabina; Gencitabina; Trifluridina	3 parálogos em 1 espécie
Ribonucleotídeo-redutase (RNR1)	Cladribina; nitrato de gálio	2 parálogos em 2 espécies
Adenosina-deaminase	Dipiridamol; pentostatina; teofilina; ácido edético, erdosteína; edetato dissódico anidro	2 parálogos em 2 espécies
IMP-desidrogenase	Ácido micofenólico; mofetil micofenolato; Ribavirina; Mercaptopurina	2 parálogos em 2 espécies
HGPRT	Mercaptopurina	1 parálogo em várias espécies (incluindo <i>E. granulosus</i> S.S)

5.3. Análises evolutivas

Para avaliar a conservação das enzimas de recuperação de nucleotídeos entre helmintos parasitas e seus hospedeiros foram construídas árvores filogenéticas das enzimas mais promissoras. O grau de conservação das enzimas entre diferentes espécies de helmintos é um indicativo de seu potencial como alvo para anti-helmínticos de amplo espectro. A conservação entre as enzimas de helmintos e de mamíferos sugere que inibidores com ação sobre as enzimas humanas podem apresentar ação contra as enzimas dos helmintos. Com base nos dados gerados na seção anterior foram selecionadas as enzimas com maior potencial como alvo de anti-helmínticos com base no número de parálogos, potencial drogável e disponibilidade de inibidores. As enzimas escolhidas para as análises evolutivas foram a APRT, adenosina-desaminase, adenilossuccinato-sintetase, AMP-desaminase, IMP-desidrogenase, HGPRT e GMP-sintase, da via de recuperação de purinas, e dUTP-pirofosfatase, citidina-desaminase, desoxicitidilato-desaminase, UMP-CMP-quinase, timidina-fosforilase, timidilato-quinase, timidilato-sintase e UMP-sintase, da via de recuperação de pirimidinas, bem como ambas as subunidades da ribonucleotídeo-redutase.

Quanto à via de recuperação de purinas foi observado que as árvores de IMP-desidrogenase (Fig.4, Apêndice 1), HGPRT (Fig.5, Apêndice 1), GMP-sintase (Fig. 6, Apêndice 1) e adenosina-desaminase (Fig. 7, Apêndice 1) apresentaram um clado de platelmintos com alto suporte estatístico. Nas árvores em que não apresentam um clado de platelmintos se observa que os platelmintos de vida livre não se agrupam com os outros platelmintos. Quando analisada apenas a conservação entre cestódeos e trematódeos na maior parte dos casos observa-se a formação de clados distintos com alto suporte estatístico. As árvores das enzimas IMP-desidrogenase (Fig.4, Apêndice 1), adenosina-desaminase (Fig.7, Apêndice 1), GMP-sintase (Fig.6, Apêndice 1), adenilossuccinato-sintase (Fig.8, Apêndice 1) e AMP-desaminase (Fig.9, Apêndice 1) apresentaram um clado de cestódeos com alto suporte estatístico. Os trematódeos formaram um clado nas enzimas IMP-desidrogenase (Fig.4, Apêndice 1), GMP-sintase (Fig.6, Apêndice 1), adenosina-desaminase (Fig.7, Apêndice 1) e adenilossuccinato-sintase (Fig.8, Apêndice 1). As árvores das enzimas que não apresentaram o clado de cestódeos, HGPRT (Fig.5, Apêndice

1) e APRT (Fig.10, Apêndice 1) apresentam essas espécies agrupadas de formas diferentes. Na árvore de HGPRT pode-se observar dois clados de cestódeos devido a presença de parálogos. Os dois clados de cestódeos não formam um clado entre si, apenas com os outros platelmintos parasitas. No caso da APRT observa-se a formação de um clado da ordem Cyclophyllidea, a qual pertencem a maior parte das sequências aqui incluídas. Das sequências remanescentes, três sequências pertencentes a *Schistocephalus solidus* e *Dibothriocephalus latus*, formam o clado da ordem Diphylobothriidea. As árvores de APRT e HGPRT também não apresentaram clados de trematódeos. No caso de HGPRT há um clado da família Schistosomatidae com sequências de *Schistosoma mansoni*, *Schistosoma japonicum* e *Trichobilharzia regenti*. Também há um clado do gênero *Opisthorchis* com sequências de *Opisthorchis viverrine* de *Opisthorchis felineus*, no entanto vários parálogos de *O. felineus* estão presentes, mas não se agrupam com as outras sequências de trematódeos. Várias sequências, incluindo parálogos das enzimas de outros trematódeos, não cumpriram o critério para ser incluídos na análise. No caso da APRT há um clado da família Schistosomatidae, um clado para a família Opisthorchiidae, composto por sequências de *O. felineus*, *O. viverrine* e *Clonorchis sinensis*, e um clado da superfamília Echinostomatoidea, composto por sequências de *Echinostoma caproni* e *Fasciola hepática*. A árvore de AMP-desaminase (Fig.9, Apêndice 1) também não apresentou um clado de trematódeos, mas isso ocorre porque nenhuma sequência de trematódeos cumpriu os critérios para a inclusão na análise. Os nematódeos formaram um clado nas árvores das enzimas IMP-desidrogenase (Fig.4, Apêndice 1), GMP-sintase (Fig.6, Apêndice 1), adenosina-desaminase (Fig.7, Apêndice 1) e AMP-desaminase (Fig.9, Apêndice 1). Em duas dessas exceções, a adenilossuccinato-sintase (Fig.8, Apêndice 1) e a APRT (Fig.10, Apêndice 1), há um clado de nematódeos da classe Chromadorea, de forma que a única espécie de nematódeo que não forma um clado com as demais é *T. trichiura*. O gênero *Trichuris* é pertencente a classe Enoplea o que explica essa divergência entre as sequências e sua não inclusão no clado. No caso da HGPRT nenhuma sequência de nematódeos foi incluída na análise (Fig.5, Apêndice 1). Os vertebrados, mamíferos e *Danio rerio*, formaram um clado em cinco das sete árvores. As árvores de AMP-desaminase (Fig.9, Apêndice 1) e

de APRT e (Fig.10, Apêndice 1) não apresentam um clado de vertebrados, mas a APRT apresenta um clado de mamíferos de forma que apensar a AMP-desaminase não apresenta um clado de mamíferos. Vertebrados apresentaram parálogos para as enzimas IMP-desidrogenase (Fig.4, Apêndice 1), adenilossuccinato-sintase (Fig.7, Apêndice 1) e AMP-deaminase (Fig.9, Apêndice 1). Nas árvores de adelinossuccinato-sintase e em IMP-desidrogenase os parálogos formam um único clado de vertebrados enquanto no caso de AMP-desaminase as sequências foram agrupadas separadamente.

Das oito árvores construídas para as enzimas de recuperação de pirimidinas apenas uma árvore da via de recuperação de pirimidinas apresentou um clado de platelmintos, a enzima UMP-sintase (Fig.11, Apêndice 1). No caso de platelmintos parasitas apenas duas árvores, UMP-CMP-quinase (Fig.12, Apêndice 1) e timidilato-sintase (Fig.13, Apêndice 1) apresentam um clado para esses organismos. Apenas cinco apresentaram um clado de cestódeos, as enzimas UMP-sintase (Fig.11, Apêndice 1), timidilato-sintase (Fig.13, Apêndice 1), deoxicidilato-deaminase (Fig.14, Apêndice 1), timidina-fosforilase (Fig.15, Apêndice 1) e citidina-desaminase (Fig.16, Apêndice 1). Na árvore de UMP-CMP-quinase (Fig.12, Apêndice 1) foram incluídas seis sequências de membros da família Taeniidae e apenas duas sequências de membros de outras famílias, *M. corti*, da família Mesocestoididae, e *H. diminuta*, da família Hymenolepididae. Os membros da família Taeniidae formam um clado com *M. corti*, no entanto *H. diminuta* não forma um clado com os outros cestódeos. Nas árvores de timidilato-quinase (Fig. 17, Apêndice 1) e dUTP-pirofosfatase (Fig.18, Apêndice 1) há um clado da ordem Cyclophyllidea e um clado da ordem Diphyllobotridea, no entanto a árvore de dUTP-pirofosfatase contém apenas duas espécies da ordem Diphyllobotridea. Quando foi avaliada a conservação de sequências de trematódeos apenas três árvores apresentaram um clado para essa classe, as árvores de UMP-CMP-quinase (Fig.12, Apêndice 1), desoxicidilato-desaminase (Fig.14, Apêndice 1) e timidilato-sintase (Fig.17, Apêndice 1). Na árvore de dUTP-pirofosfatase (Fig.18, Apêndice 1) estão presentes quatro sequências de trematódeos. Três delas pertencem a membros da família Schistosomatidae, e formam um clado, a quarta pertence a *O. felineus*, da família Opisthorchiidae, que não formou um

clado com as outras. Na árvore de timidilato-quinase (Fig.17, Apêndice 1) há um clado de sequências da família Schistosomatidae com sequências de *O. felineus* e *O. viverrini*, no entanto esse conjunto corresponde a menos da metade das sequências de trematódeos da árvore. Várias sequências, em sua maioria parálogos, não são agrupadas com outras, de forma que não se observa clado de trematódeos. Nenhuma sequência de trematódeos cumpriu os critérios para a inclusão nas árvores de UMP-sintase (Fig.11, Apêndice 1), UMP-CMP-quinase (Fig. 12, Apêndice 1) e timidilato-sintase (Fig. 13, Apêndice 1). Apenas uma árvore apresentou um clado de nematódeos, a árvore de timidilato-sintase (Fig.13, Apêndice 1). Na árvore de timidilato-quinase foi observado um clado da sub-classe Spiruria, as sequências de *Caenorhabditis elegans*, da sub-ordem Rhabditina, e de *Necator americanus*, da sub-ordem Strongylida, não foram agrupadas com os outros nematódeos. Nas árvores de UMP-CMP-quinase (Fig.12, Apêndice 1), desoxicitidilato-desaminase (Fig.14, Apêndice 1) e dUTP-pirofosfatase (Fig.18, Apêndice 1) foram observados clados de filárias. A família Ancylostomatidae, *N. americanus* e *Ancylostoma duodenale*, também formou um clado nas árvores de desoxicitidilato-desaminase (Fig.14, Apêndice 1) e dUTP-pirofosfatase (Fig.18, Apêndice 1). Nenhuma sequência de nematódeos foi incluída nas árvores de UMP-sintase (Fig.11, Apêndice 1) e de timidina-fosforilase (Fig.15, Apêndice 1). Os mamíferos formaram um clado em todas as árvores da via de pirimidinas. Nas árvores de timidina-fosforilase (Fig.15, Apêndice 1) e de dUTP-pirofosfatase (Fig.18, Apêndice 1) *D. rerio* não foi agrupado com os demais vertebrados de forma que seis árvores apresentam um clado de vertebrados.

Os platelmintos não formaram um clado nas árvores das subunidades da ribonucleotídeo-redutase (Fig.19 e Fig.20, Apêndice 1), no entanto na árvore da subunidade maior (RNR1) (Fig.19, Apêndice 1) há um clado de platelmintos parasitas. Ambas as subunidades de ribonucleotídeo redutase apresentam um clado para cestódeos, mas não um clado para trematódeos. Em ambas as árvores há clados das famílias Schistosomatidae, Opisthorchiidae e Echinostomatidae. No caso da subunidade menor (RNR2) (Fig.20, Apêndice 1) *Protopolystoma xenopodis*, um ectoparasita da classe Monogenea, é agrupado junto com os trematódeos com alto suporte estatístico. Em ambas as árvores

os nematódeos formam um clado. Os vertebrados formaram um clado na árvore de RNR1, mas na árvore de RNR2 ocorre a formação de dois cladogramas devido a presença de parálogos em vertebrados.

Nenhuma enzima apresentou sítios com > 99% de chance de seleção positiva na análise BEB, portanto nenhuma foi considerada como estando sobre seleção positiva (Apêndice 9, Apêndice 1). As enzimas desoxicitidilato-deaminase e UMP-CMP-quinase apresentam sítios com 95% de probabilidade de seleção positiva em BEB e as enzimas HGPRT, desoxicitidilato-desaminase e dUTP-pirofosfatase apresentam sítios com probabilidade de 99% de seleção positiva na análise NEB.

6. Discussão

Uma diversidade de espécies de helmintos parasitas é incapaz de realizar a síntese *de novo* de nucleotídeos e por isso dependem da captação de nucleosídeos e bases nitrogenadas produzidos pelo hospedeiro. Dada a importância dos nucleotídeos na síntese e reparo de DNA, várias enzimas da via de captação de nucleotídeos são alvos de fármacos utilizados no tratamento do câncer e doenças infecciosas o que oferece a possibilidade de reposicionar estes fármacos para o tratamento de helmintíases. Neste trabalho foi realizada a identificação das enzimas que compõem as vias de recuperação de nucleotídeos em *E. granulosus* s.s. Após sua identificação, as enzimas tiveram seu potencial de drogabilidade avaliado e aquelas mais drogáveis foram então analisadas quanto a sua conservação entre helmintos parasitas e seus hospedeiros. Os dados aqui gerados nos permitem compreender o metabolismo de nucleotídeos em cestódeos e nos permitem selecionar as enzimas das vias de recuperação de nucleotídeos que apresentam maior potencial como alvos para o reposicionamento de fármacos como anti-helmínticos.

O reposicionamento de fármacos consiste na utilização de medicamentos já disponíveis para novas aplicações (JOURDAN; BUREAU; ROCHAIS; DALLEMAGNE, 2020). Essa abordagem diminui consideravelmente o tempo e recursos necessários para a obtenção de novos tratamentos. Essa abordagem é especialmente interessante para a busca de novos tratamentos para doenças negligenciadas já que há pouco incentivo econômico para o desenvolvimento de novos tratamentos para elas (HERNANDEZ; SOEUNG; ZORN; ASHOURA *et al.*, 2018). Alguns dos exemplos de sucesso do reposicionamento de fármacos são o uso da talidomida para tratamento de complicações da hanseníase e o uso do ácido acetilsalicílico como anticoagulante (GROUP, 1997; JOURDAN; BUREAU; ROCHAIS; DALLEMAGNE, 2020; SAMPAIO; KAPLAN; MIRANDA; NERY *et al.*, 1993). As helmintíases são consideradas doenças negligenciadas, mas que afetam milhões de pessoas no mundo de forma que o reposicionamento de fármacos é uma abordagem promissora para a obtenção de novos anti-helmínticos

(ENGELS; ZHOU, 2020). As vias de recuperação de nucleotídeos são alvos de diversos inibidores o que torna possível o reposicionamento de fármacos com ação sobre essas vias como anti-helmínticos. Neste trabalho foram identificados novos alvos bem como vários inibidores contra eles que podem ser reposicionados para o tratamento de helmintíases (Tabela 2).

Todas as enzimas presentes nas vias de recuperação de nucleotídeos de mamíferos foram identificadas em *E. granulosus* s.s com exceção de xantina-oxidase e GMP-redutase, da via de recuperação de purinas, e a desoxicitidina-quinase, da via das pirimidinas. A desoxicitidina-quinase não foi identificada em *E. granulosus* s.s, no entanto foram identificadas três enzimas timidina-quinase. Os mamíferos apresentam apenas duas enzimas timidina-quinase e uma desoxicitidina-quinase, logo é possível que uma das enzimas identificadas em *E. granulosus* s.s seja uma desoxicitidina-quinase anotada incorretamente uma vez que o domínio proteico identificado é apenas de nucleosídeo-quinase (ARNÉR; ERIKSSON, 1995). A xantina-oxidase é a enzima responsável pelo catabolismo de purinas, ela também é conhecida por seu papel na degradação de alguns fármacos, análogos de purinas e sua ausência em platelmintos endoparasitas já foi observada anteriormente (BERENS; KRUG; MARR, 1995) (BATTELLI; POLITO; BORTOLOTTI; BOLOGNESI, 2016). A ausência dessa enzima indica que cestódeos e trematódeos não apresentam um mecanismo para degradar purinas e seus análogos de purinas. o que os tornaria mais suscetíveis aos efeitos de fármacos análogos de purinas uma vez que eles não apresentam a enzima capaz de degradá-los. A enzima nucleosídeo-difosfato-quinase foi identificada entre as proteínas recém sintetizadas após a indução da estrobilização (DEBARBA; MONTEIRO; MOURA; BARR *et al.*, 2015). Esta enzima catalisa a síntese de nucleotídeos trifosfatados a partir de nucleotídeos difosfatados, ou seja, é um dos últimos passos da síntese de nucleotídeos e por isso de grande importância para a síntese de ácidos nucleicos. Sua síntese nessas circunstâncias possivelmente se deve ao aumento da demanda de nucleotídeos para que o processo de estrobilização ocorra. A única quinase de nucleosídeos na via de recuperação de nucleotídeos, a adenosina-quinase, teve sua expressão detectada apenas no verme adulto, no entanto é possível

que essa enzima seja induzida em outras circunstâncias. Esses dados sugerem que a via em *E. granulosus* s.s utiliza principalmente bases nitrogenadas livres. A presença de cinco enzimas purina-nucleosideo-fosforilase reforça essa hipótese, já que essas enzimas catalisam a conversão de nucleosídeos em bases nitrogenadas livres e ribose-5'-fosfato, os substratos de APRT e HGPRT. *Echinococcus granulosus* s.s, portanto é capaz de recuperar diretamente as bases nitrogenadas adenina, guanina e hipoxantina e a apresenta a capacidade de recuperar adenosina diretamente e guanosina e inosina indiretamente. A presença de AMP-desaminase e adenosina-desaminase significa que nucleosídeos de adenosina podem ser utilizados para a síntese de guanosina, mas a ausência de GMP-redutase impede que guanosina seja utilizada para a síntese de adenosina. A via de recuperação das pirimidinas apresenta capacidade de utilizar nucleosídeos e bases livres, incluindo orotato e OMP. É sabido que cestódeos não sintetizam purinas e pirimidinas (CONSORTIUM, 2018), mas percebe-se que a via de recuperação de pirimidinas é capaz de utilizar uma gama maior de substratos do que a de purinas. UMP-sintase é, em seres humanos, uma enzima bifuncional que atua como orotato-fosforribosiltransferase e OMP-descarboxilase. Em *E. granulosus* s.s ambos os domínios foram identificados sugerindo que o parasito é capaz de utilizar orotato para sintetizar UMP. As enzimas identificadas permitem que *E. granulosus* s.s utilize orotato, timidina, uracila, citidina e uridina. O trematódeo *S. mansoni* também apresenta a capacidade de recuperação de bases nitrogenadas e nucleosídeos. Nesse organismo foi observado que a ação das enzimas fosforribosiltransferase aparenta ser mais importante para a recuperação de uracil/UMP do que as quinases de nucleosídeos (EL KOUNI, 2017). É possível que algo semelhante ocorra em *E. granulosus* s.s, sendo necessários mais estudos para identificar quais substratos são preferencialmente incorporados pelo parasito e por quais vias. A identificação dos substratos preferencialmente incorporados pode ser utilizada para identificar moléculas inibidoras que sejam captadas preferencialmente pelo parasito. É sabido que vários passos da síntese *de novo* de purinas estão ausentes em grande parte dos helmintos parasitas, tanto platelmintos quanto nematódeos, mas que síntese *de novo* de pirimidinas, está presente em uma parcela maior desses organismos (CONSORTIUM, 2018). Os trematódeos

como *S. mansoni*, por exemplo, são incapazes de sintetizar purinas, mas são capazes de sintetizar pirimidinas, no entanto a via de recuperação parece ser essencial para a sobrevivência de *S. mansoni* (EL KOUNI, 2017). Esses dados indicam que a via de recuperação de purinas é a mais promissora como alvos de anti-helmínticos de amplo espectro, mas que a via de síntese de pirimidina também apresenta potencial.

Os dados de drogabilidade aqui gerados permitiram selecionar alguns alvos para serem avaliados quanto ao seu potencial para o reposicionamento de fármacos como anti-helmínticos. Algumas das enzimas encontradas em nossa análise já foram sugeridas como alvos anteriormente. IMP-desidrogenase, ribonucleotídeo-redutase, HGPRT, UMP-CMP-quinase e purina-nucleosídeo-fosforilase estão entre os alvos propostos anteriormente que também foram identificados em nosso estudo (TSAI; ZAROWIECKI; HOLROYD; GARCIARRUBIO *et al.*, 2013). A purina-nucleosídeo-fosforilase foi desconsiderada em nossa análise devido ao alto número de parálogos em cestódeos, cinco estão presentes em *E. granulosus* s.s. Esta enzima catalisa a conversão de nucleosídeos em bases nitrogenadas livres e ribose-1'-fosfato, os substratos das fosforribosiltransferase. A importância das fosforribosiltransferase e o grande número de parálogos de purina-nucleosídeo-fosforilase sugerem que esta enzima é de grande importância para *E. granulosus* s.s, mas pouco promissora como alvo para inibidores. A adenosina-desaminase (Fig.7, Apêndice 1) também esteve entre as enzimas mais drogáveis em nossa análise e apresenta vários inibidores contra ela. Essa enzima é alvo de quimioterapia para o tratamento de câncer e já foi sugerida para o tratamento de outras doenças (SAUTER; LAMANNA; WEISS, 2008). A adenosina-desaminase já foi sugerida como alvo para o tratamento da malária, causada pelo protozoário *P. falciparum*, e seu inibidor pentostatina foi sugerido para o tratamento da tripanossomíase causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* (DO CARMO; DE SÁ; GRANDO; GRESSLER *et al.*, 2019; LARSON; DENG; KRUMM; NAPULI *et al.*, 2008). A árvore de adenosina-desaminase mostra que esta enzima é conservada entre platelmintos e apresenta clados de cestódeos e trematódeos sugerindo que ela apresenta grande potencial como alvo para anti-helmínticos. As fosforribosiltransferase, HGPR e APRT, parecem

alvos promissores por serem enzimas exclusivas da via de recuperação, mas nenhuma delas estava entre os alvos mais drogáveis em nossa análise. A árvore de APRT apresentou clados para as famílias dos platelmintos sem um clado para este filo (Fig.10, Apêndice 1). As espécies do gênero *Schistosoma* são responsáveis por mais da metade das sequências de trematódeos na árvore de APRT. É possível que essa desproporcionalidade entre os gêneros de trematódeos presentes na árvore seja a responsável pela ausência de um clado para esse grupo. Enquanto a árvore de HGPRT mostra conservação entre platelmintos, mas também que os parálogos formam um grupo a parte (Fig.5, Apêndice 1). A presença de parálogos de outros platelmintos não incluídos na análise pode afetar a formação desses clados, é possível que uma mudança no critério de inclusão/exclusão de sequências possa alterar a conservação das sequências de trematódeos na árvore de HGPRT. A presença de parálogos dessa enzima é um empecilho, pois é possível que as enzimas respondam de forma diferente a inibidores, no entanto, a presença desses inibidores contra a enzima a torna atrativa para mais estudos. A IMP-desidrogenase foi uma das enzimas mais drogáveis em nossa análise, apresenta poucos parálogos em cestódeos e vários inibidores disponíveis sendo por isso uma das enzimas mais promissoras aqui analisadas. Nossa análise evolutiva mostrou que a IMP-desidrogenase é conservada em platelmintos, com clados de cestódeos e trematódeos, e em nematódeos sugerindo que inibidores desta enzima apresentam potencial como anti-helmínticos de amplo espectro (Fig.4, Apêndice 1). A IMP-desidrogenase é um alvo conhecido para o tratamento de doenças virais e já foi sugerida como alvo para tratamento de doenças causadas por protozoários (CUNY; SUEBSUWONG; RAY, 2017; FOTIE, 2018). Um dos inibidores desta enzima, o antineoplásico a 6-mercaptopurina, também é um inibidor de HGPRT e sua utilização tornaria possível inibir ambas as enzimas de recuperação de guanina com apenas um inibidor (O'CONNOR; QASIM; O'MORÁIN, 2010). Uma ressalva ao uso desses medicamentos é a ação imunomoduladora de alguns inibidores dessas enzimas apesar disso eles são utilizados como antineoplásicos e no tratamento de doenças virais, então é possível que eles possam ser utilizados no tratamento de cestodíases (BRADFORD; SHIH, 2011; CUNY; SUEBSUWONG; RAY, 2017). Tanto a adenosina-desaminase e a IMP-

desidrogenase são conservadas em platelmintos, estão entre as enzimas mais drogáveis e são alvos de vários inibidores comerciais. Todos esses dados demonstram o potencial dessas enzimas como alvos para anti-helmínticos. A enzima adenosina-quinase também esteve entre as enzimas mais drogáveis, mas devido a sua expressão não ter sido detectada em protoescólices ou no metacestódeo, ela não foi considerada para mais análises. A GMP-sintase atua na síntese de GMP a partir de XMP e apresenta potencial como alvo para inibidores, mas não foram encontrados inibidores para essa enzima. Além de um clado de platelmintos e um de nematódeos a árvore de GMP-sintase (Fig.6, Apêndice 1) mostra nematódeos e platelmintos agrupados com alto suporte estatístico apesar desses organismos serem evolutivamente distantes portanto inibidores que a tenham como alvo poderiam ser utilizados para tratar helmintíases causadas por membros dos dois grupos. Apesar de seu potencial como alvo, GMP-sintase é menos promissora que outras enzimas da síntese de GMP, IMP-desidrogenase e HGPRT, fazendo de GMP-sintase um alvo secundário.

As enzimas de interconversão de purinas podem ser alvos para tratamento de helmintíases, mas o parasito poderia compensar a inibição dessas enzimas através da captação direta de ambas as purinas. A adenilossuccinate-sintetase é responsável pela síntese de adenilossuccinato a partir de IMP, um dos passos para a síntese de AMP. Ela participa tanto da síntese *de novo* quanto da de recuperação de nucleotídeos e já foi sugerida como alvo para o tratamento de doenças causadas por protozoários como *Leishmania donovani* e *Plasmodium falciparum* (BOITZ; STRASSER; YATES; JARDIM *et al.*, 2013; EAAZHISAI; JAYALAKSHMI; GAYATHRI; ANAND *et al.*, 2004; NUGRAHA; FARATISHA; MARDHIYYAH; ARIEL *et al.*, 2020). Apesar da árvore da adenilossuccinate-sintetase não apresentar um clado de platelmintos há um clado de cestódeos e poucos parálogos nesse clado (Apêndice 5 e 6) (Fig.8, Apêndice 1). Outra enzima de conversão de nucleotídeos é a AMP-desaminase que catalisa a reação de desaminação de AMP em IMP, um passo necessário para a síntese de GMP a partir de AMP. Essa enzima já foi estudada em *P. falciparum* como um possível alvo, mas foi considerada um alvo secundário uma vez que sua importância para a sobrevivência do parasito

se dá durante a inibição de adenosina-desaminase e em condições de abundância de AMP (CASSERA; HAZLETON; RIEGELHAUPT; MERINO *et al.*, 2008; NAGAPPA; SINGH; DEY; KUMAR *et al.*, 2019). Os mamíferos apresentam três isozimas dessa enzima enquanto cestódeos apresentam apenas uma. As enzimas de cordados AMP-desaminase 1 e 3 são agrupadas junto com os platelmintos enquanto as AMP-desaminase 2 formam um grupo a parte (Fig.9, Apêndice 1). Essa semelhança entre as enzimas dos parasitos e dos hospedeiros indica que inibidores que atuem sobre as enzimas humanas apresentem ação contra o parasito. Para avaliar o potencial destas enzimas é necessário primeiro entender sua importância para a síntese de nucleotídeos em cestódeos e seu papel para a sobrevivência do parasito no *in vivo*.

A ribonucleotídeo-redutase é responsável pela conversão de ribonucleotídeos em desoxirribonucleotídeos sendo de extrema importância para a síntese e reparo de DNA em todos os organismos (GUARINO; SALGUERO; KEARSEY, 2014). A importância da ribonucleotídeo-redutase para células em replicação faz dela um alvo muito estudado para tratamento de câncer com vários inibidores disponíveis comercialmente e já foi sugerida como alvo contra *E. multilocularis* (AYE; LI; LONG; WEISS, 2015; SINGH; XU, 2016; TSAI; ZAROWIECKI; HOLROYD; GARCIARRUBIO *et al.*, 2013). Essa enzima está entre as mais drogáveis em nossa análise e a enzima de *E. granulosus* s.s, bem como a enzima humana, é composta por duas subunidades RNR1 e duas subunidades RNR2. As árvores filogenéticas aqui construídas mostram que ambas as subunidades apresentam conservação entre cestódeos e a subunidade maior apresenta conservação entre platelmintos parasitas (Fig.19 Fig.20, Apêndice 1). A grande disponibilidade de inibidores e a conservação desta enzima em cestódeos faz desta enzima um alvo promissor para anti-helmínticos contra cestódeos.

Diferentemente do que ocorre com a síntese de purinas, vários helmintos são capazes de síntese *de novo* de pirimidinas (CONSORTIUM, 2018). Cestódeos e filárias não apresentam síntese *de novo* de pirimidinas enquanto trematódeos e outros nematódeos apresentam essa capacidade. Duas enzimas da via de recuperação de purinas se destacaram em nossa análise, a timidina-fosforilase e a timidilato-sintase. A timidilato-sintase é um

alvo para tratamento de câncer e por isso apresenta inibidores disponíveis para o reposicionamento de fármacos tornando-a um alvo promissor (BERG; NØTTRUP; ROED, 2019; VODENKOVA; BUCHLER; CERVENA; VESKRNOVA *et al.*, 2020). A árvore filogenética de timidilato-sintase mostra a conservação entre platelmintos parasitas com clados definidos de cestódeos e trematódeos, um clado de nematódeos também é observado. A conservação em helmintos, poucos parálogos e disponibilidade inibidores demonstram o potencial dessa enzima um alvo para anti-helmínticos. Já foram realizados estudos testando um inibidor de timidilato-sintase, 5-fluoruracil, em combinação com albendazol contra *E. granulosus* s.s *in vitro* e *in vivo* com resultados promissores (PENSEL; ALBANI; GAMBOA; BENOIT *et al.*, 2014; PENSEL; ELISSONDO; GAMBINO; GAMBOA *et al.*, 2017). A timidina-fosforilase estava entre as enzimas mais drogáveis na nossa análise, no entanto ao analisar sua árvore filogenética percebe-se que várias sequências estão ausentes (Fig.15, Apêndice 1). A árvore mostrou um clado de cestódeos e um clado de mamíferos, mas apenas uma sequência de nematódeos foi incluída na análise e nenhuma enzima de trematódeos foi incluída. Mesmo sequências de mamíferos como *Mus musculus* e *Bos taurus* estão ausentes sugerindo que isso se deva a erros de anotação dessa sequência nos genomas depositados nos bancos de dados utilizados. O tipiracil é um inibidor desta enzima utilizado no tratamento de câncer, no entanto ele é utilizado em combinação com a trifluriridina para aumentar a biodisponibilidade dela, um inibidor de timidilato-sintase, impedindo sua degradação pela timidina-fosforilase (KANG; DHILLON; DEEKS, 2019). A enzima também é pouco expressa em *E. granulosus* s.s nos estágios adulto e metacestódeo, o que indica que ela não é de grande importância para a sobrevivência do parasito (TSAI; ZAROWIECKI; HOLROYD; GARCIARRUBIO *et al.*, 2013; ZHENG; ZHANG; ZHANG; ZHANG *et al.*, 2013). A citidina-desaminase catalisa a desaminação de citidina em uridina e também é capaz de degradar fármacos análogos de pirimidinas, por isso seu inibidor cedazuridina é utilizado para aumentar a biodisponibilidade de decitabina (FRANCES; CORDELIER, 2020; KANG; DHILLON; DEEKS, 2019). . Outra enzima capaz de inativar análogos de pirimidinas é a desoxicitidilato-desaminase que catalisa a síntese de dUMP a partir de dCMP (GILBERT; SALAVAGGIONE; JI; PELLEYMOUNTER *et al.*,

2006; LI; NG; COLÓN; DRAPKIN *et al.*, 2019). A presença de ambas as enzimas indica que o parasito é capaz de degradar alguns dos inibidores da síntese de pirimidinas. Ambas as enzimas são conservadas entre cestódeos sugerindo que, se necessário, seria possível desenvolver tratamentos contra cestódeos utilizando um inibidor da síntese de pirimidinas e um inibidor da degradação do fármaco. A UMP-CMP-quinase já foi sugerida como alvo para o desenvolvimento de anti-helmínticos contra *E. multilocularis* (TSAI; ZAROWIECKI; HOLROYD; GARCIARRUBIO *et al.*, 2013). Apesar da presença de parálogos dessa enzima eles parecem ter a função de adenilato-quinase portanto não há outras cópias de UMP-CMP-quinase em *E. granulosus* s.s. A árvore de UMP-CMP-quinase (Fig.13) mostra um clado de platelmintos parasitas, bem como um clado de trematódeos enquanto os cestódeos não formaram um clado, mas apenas porque *H. diminuta* não foi agrupada com os outros cestódeos. Apesar desses dados indicarem que a UMP-CMP-quinase é um alvo promissor ela não está entre os melhores alvos em nossa análise de drogabilidade, no entanto a enzima é alvo do fármaco antineoplásico gencitabina (BERG; NØTTRUP; ROED, 2019; LIOU; DUTSCHMAN; LAM; JIANG *et al.*, 2002). Esse inibidor também atua sobre outras enzimas da síntese de pirimidinas, a ribonucleotídeo-redutase e timidilato-sintase, logo o seu uso permite inibir várias etapas da síntese de pirimidinas com um único fármaco (Tabela 2). A timidilato-quinase é a única quinase capaz de fosforilar TMP em TDP e por isso já foi estudada como alvo para o tratamento de diversas doenças como câncer e doenças infecciosas causadas por bactérias, protozoários e vírus (ABO-SALEM; ABD EL SALAM; ABDEL-AZIEM; ABDEL-AZIZ *et al.*, 2021; CHEN; FUCCI; SINHA; RULE, 2020). Nossa análise evolutiva mostrou que apesar desta enzima apresentar pouca conservação entre platelmintos ela é conservada entre os cestódeos pertencentes a mesma ordem. Não foi observado um clado de trematódeos, mas vários parálogos foram encontrados em *Schistosoma* spp. que, no entanto, não foram agrupados em um clado. É possível que essa enzima tenha um papel particular em trematódeos o que explicaria a presença de parálogos nestes organismos (Fig,17, Apêndice 1). A UMP-sintase é um dos passos finais da síntese *de novo* de pirimidinas (Fig.3, Apêndice 1) (BERENS; KRUG; MARR, 1995). A árvore de UMP-sintase foi pouco informativa devido ao baixo número de sequências

incluídas por causa da baixa identidade/similaridade com a sequência de *E. granulosus* s.s tanto que apenas uma sequência de trematódeos foi incluída, sugerindo variação mesmo entre platemintos (Fig.11, Apêndice 1). Os trematódeos apresentam síntese *de novo* de pirimidinas enquanto cestódeos apenas a via de recuperação logo é possível que as diferenças entre as enzimas se devam a pressões seletivas diferentes sobre os dois grupos. A dUTP-pirofosfatase é a enzima que catalisa a desfosforilação de dUTP em dUMP e já foi sugerida como alvo para o tratamento de malária e câncer (NYÍRI; MERTENS; TIHANYI; NAGY *et al.*, 2018) (NYÍRI; MERTENS; TIHANYI; NAGY *et al.*, 2018; PÉREZ-MORENO; SÁNCHEZ-CARRASCO; RUIZ-PÉREZ; JOHANSSON *et al.*, 2019). A árvore filogenética mostrou conservação na família Schistosomatidae e na ordem Cyclophyllidea indicando que há potencial para o desenvolvimento de fármacos com ação contra vários cestódeos (Fig.18, Apêndice 1).

Os genes sob seleção positiva podem divergir significativamente na forma como se comportam em doenças quando comparados com seus ortólogos (VAMATHEVAN; HASAN; EMES; AMRINE-MADSEN *et al.*, 2008). No caso da nossa análise isso poderia significar diferenças entre a enzima do parasito e do hospedeiro que poderiam impedir o reposicionamento de fármacos. Como nenhuma enzima aqui analisada apresentou sítios sobre seleção positiva este não foi um fator limitante na escolha de novos alvos.

Algumas das árvores aqui apresentadas contém vários nós com baixo suporte estatístico o que pode ser explicado pela baixa representação de alguns organismos e a presença de parálogos. No caso da timidina-fosforilase, poucas sequências ortólogas foram encontradas no banco de dados. No da UMP-sintase, foram encontradas várias sequências de baixa identidade e que, portanto, foram excluídas da análise. As sequências de UMP-sintase apresentaram grande variação de tamanho em cestódeos mesmo entre os dois genomas de *E. granulosus* s.s reforçando a hipótese de que se trata de erros na anotação. Neste caso é possível que uma nova análise filogenética com mais sequências, mas alinhando apenas o domínio da enzima, possa oferecer dados mais informativos. Em alguns casos foi possível adicionar mais sequências, resultando em um maior suporte estatístico para as árvores de

IMP-desidrogenase, citidina-desamionase e UMP-CMP-quinase. É possível que outras árvores aqui construídas possam ser melhoradas com a adição de novas sequências, mas para isso provavelmente seria necessário alterar os critérios de inclusão de sequências para a análise. A maioria das árvores geradas não permite a avaliação da conservação entre os filós analisados, no entanto todas as enzimas foram selecionadas de acordo com sua semelhança com a enzima de *E. granulosus* s.s. Isso sugere que há alguma conservação entre a enzimas humana e a de *E. granulosus* s.s sugerindo que os inibidores para uso humano devem apresentar ação contra a enzima do parasito.

Vários alvos identificados neste trabalho apresentam inibidores que podem ser reposicionados para o tratamento de helmintíases. Uma possível limitação desses tratamentos é a toxicidade para o hospedeiro já que vários desses inibidores são análogos de nucleosídeos. Esse risco poderia ser mitigado com o uso de inibidores da síntese de nucleotídeos juntamente com fármacos que atuem inibindo os transportadores do hospedeiro, mas não os do parasito (EL KOUNI; MESSIER; CHA, 1987). A natureza cística dos metacestódeos é um dos principais fatores que limitam a eficiência dos tratamentos quimioterápicos uma vez que o metacestódeo apresenta baixa permeabilidade a bezimidazois resultando em uma baixa concentração do fármaco em seu interior o que por sua vez reduz a eficiência do tratamento (GARCÍA-LLAMAZARES; ALVAREZ-DE-FELIPE; REDONDO-CARDEÑA; PRIETO-FERNÁNDEZ, 1998). A dependência do metacestódeo de nucleotídeos do hospedeiro sugere que ele deve ser permeável a eles, e conseqüentemente, a seus análogos. Se o cisto apresentar maior permeabilidade a esses fármacos não serão necessárias concentrações altas dos mesmos, para que se observe efeito sobre o parasito. Essa hipótese é reforçada pelo efeito observado pelo uso de 5-fluoruracil contra *E. granulosus* s.s em camundongos, já que a concentração equivalente em humanos à utilizada em camundongos é menor do que a concentração convencionalmente usada deste medicamento (PENSEL; ELISSONDO; GAMBINO; GAMBOA *et al.*, 2017). Há várias opções de fármacos para reposicionamento, mas são necessários mais estudos para avaliar seu efeito sobre o parasita e posteriormente a dosagem terapêutica adequada.

7. Conclusões e perspectivas

No presente trabalho foi realizada uma abordagem *in silico* com o intuito de identificar novos alvos para drogas anti-helmínticas entre as enzimas da via de recuperação de nucleotídeos de *E. granulosos*. Após a identificação dos componentes da via foram realizadas análises evolutivas e de drogabilidade para selecionar os alvos mais promissores. Entre os alvos sugeridos aqui estão as enzimas IMP-desidrogenase e adenosina-desaminase da via de recuperação de purinas, a timidilato-sintase da via de recuperação de pirimidinas e a ribonucleotídeo-redutase que atua em ambas as vias. Também foram identificados inibidores que podem ser reposicionados para o tratamento de helmintíases. Após a identificação de alvos é necessária a validação deles. Estudos de *docking* podem ser realizados para identificar inibidores que interajam com as enzimas de *E. granulosus* s.s e avaliar a afinidade de ligação do inibidor com a enzima do parasito em relação a enzima humana. Os alvos que mostrarem potencial *in vitro* podem então ser clonados e expressados. Após a obtenção da proteína recombinante será possível avaliar os parâmetros cinéticos e de inibição da enzima. Os inibidores das enzimas-alvo também poderão ser avaliados quando a seu efeito anti-helmíntico em ensaios com parasitos em sistemas de cultivo *in vitro* e em modelos de infecção experimental em modelos animais.

Referências bibliográficas

ABO-SALEM, H. M.; ABD EL SALAM, H. A.; ABDEL-AZIEM, A. M.; ABDEL-AZIZ, M. S. *et al.* Synthesis, Molecular Docking, and Biofilm Formation Inhibitory Activity of Bis(Indolyl)Pyridines Analogues of the Marine Alkaloid Nortopsentin. **Molecules**, 26, n. 14, Jul 06 2021.

AGUDELO HIGUITA, N. I.; BRUNETTI, E.; MCCLOSKEY, C. Cystic Echinococcosis. **J Clin Microbiol**, 54, n. 3, p. 518-523, Mar 2016.

ANISUZZAMAN; TSUJI, N. Schistosomiasis and hookworm infection in humans: Disease burden, pathobiology and anthelmintic vaccines. **Parasitol Int**, 75, p. 102051, Apr 2020.

ARNÉR, E. S.; ERIKSSON, S. Mammalian deoxyribonucleoside kinases. **Pharmacol Ther**, 67, n. 2, p. 155-186, 1995.

AYE, Y.; LI, M.; LONG, M. J.; WEISS, R. S. Ribonucleotide reductase and cancer: biological mechanisms and targeted therapies. **Oncogene**, 34, n. 16, p. 2011-2021, Apr 2015.

BATTELLI, M. G.; POLITO, L.; BORTOLOTTI, M.; BOLOGNESI, A. Xanthine Oxidoreductase in Drug Metabolism: Beyond a Role as a Detoxifying Enzyme. **Curr Med Chem**, 23, n. 35, p. 4027-4036, 2016.

BAUM, K. F.; BERENS, R. L.; MARR, J. J.; HARRINGTON, J. A. *et al.* Purine deoxynucleoside salvage in *Giardia lamblia*. **J Biol Chem**, 264, n. 35, p. 21087-21090, Dec 1989.

BERENS, R. L.; KRUG, E. C.; MARR, J. J. 6 - Purine and Pyrimidine Metabolism. *In*: MARR, J. J. e MÜLLER, M. (Ed.). **Biochemistry and Molecular Biology of Parasites**. San Diego: Academic Press, 1995. p. 89-117.

BERG, M.; VAN DER VEKEN, P.; GOEMINNE, A.; HAEMERS, A. *et al.* Inhibitors of the Purine Salvage Pathway: A Valuable Approach for Antiprotozoal Chemotherapy? **Curr Med Chem**, 17, n. 23, p. 2456-2481, 2010.

BERG, T.; NØTTRUP, T. J.; ROED, H. Gemcitabine for recurrent ovarian cancer - a systematic review and meta-analysis. **Gynecol Oncol**, 155, n. 3, p. 530-537, 12 2019.

BIZHANI, N.; HASHEMI HAFSHEJANI, S.; MOHAMMADI, N.; REZAEI, M. *et al.* Human Cysticercosis in Asia: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Iran J Public Health**, 49, n. 10, p. 1839-1847, Oct 2020.

BOISON, D.; YEGUTKIN, G. G. Adenosine Metabolism: Emerging Concepts for Cancer Therapy. **Cancer Cell**, 36, n. 6, p. 582-596, 12 09 2019.

BOITZ, J. M.; JARDIM, A.; ULLMAN, B. GMP reductase and genetic uncoupling of adenylate and guanylate metabolism in *Leishmania donovani* parasites. **Mol Biochem Parasitol**, 208, n. 2, p. 74-83, 08 2016.

BOITZ, J. M.; STRASSER, R.; YATES, P. A.; JARDIM, A. *et al.* Adenylosuccinate synthetase and adenylosuccinate lyase deficiencies trigger growth and infectivity deficits in *Leishmania donovani*. **J Biol Chem**, 288, n. 13, p. 8977-8990, Mar 29 2013.

BRADFORD, K.; SHIH, D. Q. Optimizing 6-mercaptopurine and azathioprine therapy in the management of inflammatory bowel disease. **World J Gastroenterol**, 17, n. 37, p. 4166-4173, Oct 07 2011.

BRUNETTI, E.; KERN, P.; VUITTON, D. A.; WHO-IWGE, W. P. F. T. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. **Acta Trop**, 114, n. 1, p. 1-16, Apr 2010.

BURG, R. W.; MILLER, B. M.; BAKER, E. E.; BIRNBAUM, J. *et al.* Avermectins, new family of potent anthelmintic agents: producing organism and fermentation. **Antimicrob Agents Chemother**, 15, n. 3, p. 361-367, Mar 1979.

CAMPANELLA, J. J.; BITINCKA, L.; SMALLEY, J. MatGAT: an application that generates similarity/identity matrices using protein or DNA sequences. **BMC Bioinformatics**, 4, p. 29, Jul 2003.

CASSERA, M. B.; HAZLETON, K. Z.; RIEGELHAUPT, P. M.; MERINO, E. F. *et al.* Erythrocytic adenosine monophosphate as an alternative purine source in *Plasmodium falciparum*. **J Biol Chem**, 283, n. 47, p. 32889-32899, Nov 21 2008.

CHEN, M. D.; FUCCI, I. J.; SINHA, K.; RULE, G. S. dGMP Binding to Thymidylate Kinase from. **Biochemistry**, 59, n. 5, p. 694-703, 02 11 2020.

CHEVIET, T.; LEFEBVRE-TOURNIER, I.; WEIN, S.; PEYROTTE, S. Plasmodium Purine Metabolism and Its Inhibition by Nucleoside and Nucleotide Analogues. **J Med Chem**, 62, n. 18, p. 8365-8391, 09 2019.

COLLABORATORS, G. D. A. H. Global, regional, and national disability-adjusted life-years (DALYs) for 315 diseases and injuries and healthy life expectancy (HALE), 1990-2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. **Lancet**, 388, n. 10053, p. 1603-1658, 10 08 2016.

COLLINS, J. J. Platyhelminthes. **Curr Biol**, 27, n. 7, p. R252-R256, Apr 2017.

CONSORTIUM, I. H. G. Comparative genomics of the major parasitic worms. **Nat Genet**, Nov 2018.

CUCHER, M. A.; MACCHIAROLI, N.; BALDI, G.; CAMICIA, F. *et al.* Cystic echinococcosis in South America: systematic review of species and genotypes of *Echinococcus granulosus sensu lato* in humans and natural domestic hosts. **Trop Med Int Health**, 21, n. 2, p. 166-175, Feb 2016.

CUNY, G. D.; SUEBSUWONG, C.; RAY, S. S. Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase (IMPDH) inhibitors: a patent and scientific literature review (2002-2016). **Expert Opin Ther Pat**, 27, n. 6, p. 677-690, Jun 2017.

DEBARBA, J. A.; MONTEIRO, K. M.; MOURA, H.; BARR, J. R. *et al.* Identification of Newly Synthesized Proteins by *Echinococcus granulosus* Protoscoleces upon Induction of Strobilation. **PLoS Negl Trop Dis**, 9, n. 9, p. e0004085, Sep 2015.

DEPLAZES, P.; RINALDI, L.; ALVAREZ ROJAS, C. A.; TORGERSON, P. R. *et al.* Global Distribution of Alveolar and Cystic Echinococcosis. **Adv Parasitol**, 95, p. 315-493, 2017.

DEVILLE-BONNE, D.; EL AMRI, C.; MEYER, P.; CHEN, Y. *et al.* Human and viral nucleoside/nucleotide kinases involved in antiviral drug activation: structural and catalytic properties. **Antiviral Res**, 86, n. 1, p. 101-120, Apr 2010.

DO CARMO, G. M.; DE SÁ, M. F.; GRANDO, T. H.; GRESSLER, L. T. *et al.* Cordycepin (3'-deoxyadenosine) and pentostatin (deoxycoformycin) against *Trypanosoma cruzi*. **Exp Parasitol**, 199, p. 47-51, Apr 2019.

EAAZHISAI, K.; JAYALAKSHMI, R.; GAYATHRI, P.; ANAND, R. P. *et al.* Crystal structure of fully ligated adenylosuccinate synthetase from *Plasmodium falciparum*. **J Mol Biol**, 335, n. 5, p. 1251-1264, Jan 30 2004.

ECKERT, J.; THOMPSON, R. C. Historical Aspects of Echinococcosis. **Adv Parasitol**, 95, p. 1-64, 2017.

EDGAR, R. C. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. **Nucleic Acids Res**, 32, n. 5, p. 1792-1797, 2004.

EL KOUNI, M. H. Pyrimidine metabolism in schistosomes: A comparison with other parasites and the search for potential chemotherapeutic targets. **Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol**, 213, p. 55-80, Nov 2017.

EL KOUNI, M. H.; MESSIER, N. J.; CHA, S. Treatment of schistosomiasis by purine nucleoside analogues in combination with nucleoside transport inhibitors. **Biochem Pharmacol**, 36, n. 22, p. 3815-3821, Nov 15 1987.

ENGELS, D.; ZHOU, X. N. Neglected tropical diseases: an effective global response to local poverty-related disease priorities. **Infect Dis Poverty**, 9, n. 1, p. 10, Jan 2020.

FABBRI, J.; MAGGIORE, M. A.; PENSEL, P. E.; DENEGRİ, G. M. *et al.* In vitro and in vivo efficacy of carvacrol against *Echinococcus granulosus*. **Acta Trop**, 164, p. 272-279, Dec 2016.

FASULLO, M.; ENDRES, L. Nucleotide salvage deficiencies, DNA damage and neurodegeneration. **Int J Mol Sci**, 16, n. 5, p. 9431-9449, Apr 2015.

FENNELL, B.; NAUGHTON, J.; BARLOW, J.; BRENNAN, G. *et al.* Microtubules as antiparasitic drug targets. **Expert Opin Drug Discov**, 3, n. 5, p. 501-518, May 2008.

FOTIE, J. Inosine 5'-Monophosphate Dehydrogenase (IMPDH) as a Potential Target for the Development of a New Generation of Antiprotozoan Agents. **Mini Rev Med Chem**, 18, n. 8, p. 656-671, 2018.

FRANCES, A.; CORDELIER, P. The Emerging Role of Cytidine Deaminase in Human Diseases: A New Opportunity for Therapy? **Mol Ther**, 28, n. 2, p. 357-366, 02 05 2020.

FURTADO, L. F.; DE PAIVA BELLO, A. C.; RABELO, É. Benzimidazole resistance in helminths: From problem to diagnosis. **Acta Trop**, 162, p. 95-102, Oct 2016.

GARCIA, H. H.; GONZALEZ, A. E.; GILMAN, R. H. Taenia solium Cysticercosis and Its Impact in Neurological Disease. **Clin Microbiol Rev**, 33, n. 3, 06 2020.

GARCÍA-LLAMAZARES, J. L.; ALVAREZ-DE-FELIPE, A. I.; REDONDO-CARDEÑA, P. A.; PRIETO-FERNÁNDEZ, J. G. Echinococcus granulosus: membrane permeability of secondary hydatid cysts to albendazole sulfoxide. **Parasitol Res**, 84, n. 5, p. 417-420, May 1998.

GEARY, T. G. Are new anthelmintics needed to eliminate human helminthiasis? **Curr Opin Infect Dis**, 25, n. 6, p. 709-717, Dec 2012.

GEORGESCAULD, F.; SONG, Y.; DAUTANT, A. Structure, Folding and Stability of Nucleoside Diphosphate Kinases. **Int J Mol Sci**, 21, n. 18, Sep 16 2020.

GESSESE, A. T. Review on Epidemiology and Public Health Significance of Hydatidosis. **Vet Med Int**, 2020, p. 8859116, 2020.

GILBERT, J. A.; SALAVAGGIONE, O. E.; JI, Y.; PELLEYMOUNTER, L. L. *et al.* Gemcitabine pharmacogenomics: cytidine deaminase and deoxycytidylate deaminase gene resequencing and functional genomics. **Clin Cancer Res**, 12, n. 6, p. 1794-1803, Mar 15 2006.

GROUP, I. S. T. C. The International Stroke Trial (IST): a randomised trial of aspirin, subcutaneous heparin, both, or neither among 19435 patients with acute ischaemic stroke. International Stroke Trial Collaborative Group. **Lancet**, 349, n. 9065, p. 1569-1581, 1997.

GUARINO, E.; SALGUERO, I.; KEARSEY, S. E. Cellular regulation of ribonucleotide reductase in eukaryotes. **Semin Cell Dev Biol**, 30, p. 97-103, Jun 2014.

HEATH, R. L. Biosynthesis de novo of purines and pyrimidines in Mesocestoides (Cestoda). I. **J Parasitol**, 56, n. 1, p. 98-102, Feb 1970.

HEMPHILL, A.; LUNDSTROEM-STADELMANN, B. - the model cestode parasite. **Parasitology**, p. 1-18, Jun 2021.

HEMPHILL, A.; STADELMANN, B.; RUFENER, R.; SPILIOTIS, M. *et al.* Treatment of echinococcosis: albendazole and mebendazole--what else? **Parasite**, 21, p. 70, 2014.

HEMPHILL, A.; STADELMANN, B.; SCHOLL, S.; MÜLLER, J. *et al.* Echinococcus metacestodes as laboratory models for the screening of drugs against cestodes and trematodes. **Parasitology**, 137, n. 3, p. 569-587, Mar 2010.

HERNANDEZ, H. W.; SOEUNG, M.; ZORN, K. M.; ASHOURA, N. *et al.* High Throughput and Computational Repurposing for Neglected Diseases. **Pharm Res**, 36, n. 2, p. 27, Dec 17 2018.

HIDALGO, C.; GARCÍA, M. P.; STOORE, C.; RAMÍREZ, J. P. *et al.* Proteomics analysis of Echinococcus granulosus protoscolex stage. **Vet Parasitol**, 218, p. 43-45, Mar 2016.

JEZIORSKI, M. C.; GREENBERG, R. M. Voltage-gated calcium channel subunits from platyhelminths: potential role in praziquantel action. **Int J Parasitol**, 36, n. 6, p. 625-632, May 31 2006.

JOURDAN, J. P.; BUREAU, R.; ROCHAIS, C.; DALLEMAGNE, P. Drug repositioning: a brief overview. **J Pharm Pharmacol**, 72, n. 9, p. 1145-1151, Sep 2020.

JOURDAN, P. M.; LAMBERTON, P. H. L.; FENWICK, A.; ADDISS, D. G. Soil-transmitted helminth infections. **Lancet**, 391, n. 10117, p. 252-265, 01 2018.

KANG, C.; DHILLON, S.; DEEKS, E. D. Trifluridine/Tipiracil: A Review in Metastatic Gastric Cancer. **Drugs**, 79, n. 14, p. 1583-1590, Sep 2019.

KERN, P.; MENEZES DA SILVA, A.; AKHAN, O.; MÜLLHAUPT, B. *et al.* The Echinococcoses: Diagnosis, Clinical Management and Burden of Disease. **Adv Parasitol**, 96, p. 259-369, 2017.

KOZIOL, U. Evolutionary developmental biology (evo-devo) of cestodes. **Exp Parasitol**, 180, p. 84-100, Sep 2017.

KRÜCKEN, J.; FRAUNDORFER, K.; MUGISHA, J. C.; RAMÜNKE, S. *et al.* Reduced efficacy of albendazole against *Ascaris lumbricoides* in Rwandan schoolchildren. **Int J Parasitol Drugs Drug Resist**, 7, n. 3, p. 262-271, Dec 2017.

KUMAR, S.; STECHER, G.; LI, M.; KNYAZ, C. *et al.* MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms. **Mol Biol Evol**, 35, n. 6, p. 1547-1549, 06 2018.

LANE, A. N.; FAN, T. W. Regulation of mammalian nucleotide metabolism and biosynthesis. **Nucleic Acids Res**, 43, n. 4, p. 2466-2485, 02 2015.

LARSON, E. T.; DENG, W.; KRUMM, B. E.; NAPULI, A. *et al.* Structures of substrate- and inhibitor-bound adenosine deaminase from a human malaria parasite show a dramatic conformational change and shed light on drug selectivity. **J Mol Biol**, 381, n. 4, p. 975-988, Sep 2008.

LEIJA, C.; RIJO-FERREIRA, F.; KINCH, L. N.; GRISHIN, N. V. *et al.* Pyrimidine Salvage Enzymes Are Essential for De Novo Biosynthesis of Deoxypyrimidine Nucleotides in *Trypanosoma brucei*. **PLoS Pathog**, 12, n. 11, p. e1006010, Nov 2016.

LI, J.; HUANG, S.; CHEN, J.; YANG, Z. *et al.* Identification and characterization of human uracil phosphoribosyltransferase (UPRTase). **J Hum Genet**, 52, n. 5, p. 415-422, 2007.

LI, J.; WANG, W.; YAO, J.; WANG, T. *et al.* Old drug repurposing for neglected disease: Pyronaridine as a promising candidate for the treatment of *Echinococcus granulosus* infections. **EBioMedicine**, 54, p. 102711, Apr 2020.

LI, L.; NG, S. R.; COLÓN, C. I.; DRAPKIN, B. J. *et al.* Identification of DHODH as a therapeutic target in small cell lung cancer. **Sci Transl Med**, 11, n. 517, 11 06 2019.

LIU, J. Y.; DUTSCHMAN, G. E.; LAM, W.; JIANG, Z. *et al.* Characterization of human UMP/CMP kinase and its phosphorylation of D- and L-form deoxycytidine analogue monophosphates. **Cancer Res**, 62, n. 6, p. 1624-1631, Mar 15 2002.

LIU, M.; PANDA, S. K.; LUYTEN, W. Plant-Based Natural Products for the Discovery and Development of Novel Anthelmintics against Nematodes. **Biomolecules**, 10, n. 3, 03 2020.

LORENZATTO, K. R.; KIM, K.; NTAI, I.; PALUDO, G. P. *et al.* Top Down Proteomics Reveals Mature Proteoforms Expressed in Subcellular Fractions of the *Echinococcus granulosus* Preadult Stage. **J Proteome Res**, 14, n. 11, p. 4805-4814, Nov 2015.

LUNDSTRÖM-STADELMANN, B.; RUFENER, R.; HEMPHILL, A. Drug repurposing applied: Activity of the anti-malarial mefloquine against *Echinococcus multilocularis*. **Int J Parasitol Drugs Drug Resist**, 13, p. 121-129, 08 2020.

LYMBERY, A. J. Phylogenetic Pattern, Evolutionary Processes and Species Delimitation in the Genus *Echinococcus*. **Adv Parasitol**, 95, p. 111-145, 2017.

MACINNIS, A. J.; FISHER, F. M.; READ, C. P. MEMBRANE TRANSPORT OF PURINES AND PYRIMIDINES IN A CESTODE. **J Parasitol**, 51, p. 260-267, Apr 1965.

MALAMI, I.; ABDUL, A. B. Involvement of the uridine cytidine kinase 2 enzyme in cancer cell death: A molecular crosstalk between the enzyme and cellular apoptosis induction. **Biomed Pharmacother**, 109, p. 1506-1510, Jan 2019.

MOLYNEUX, D. H.; SAVIOLI, L.; ENGELS, D. Neglected tropical diseases: progress towards addressing the chronic pandemic. **Lancet**, 389, n. 10066, p. 312-325, 01 2017.

MONDRAGÓN-ANCELMO, J.; OLMEDO-JUÁREZ, A.; REYES-GUERRERO, D. E.; RAMÍREZ-VARGAS, G. *et al.* Detection of Gastrointestinal Nematode Populations Resistant to Albendazole and Ivermectin in Sheep. **Animals (Basel)**, 9, n. 10, Oct 2019.

MONTEIRO, K. M.; DE CARVALHO, M. O.; ZAHA, A.; FERREIRA, H. B. Proteomic analysis of the *Echinococcus granulosus* metacestode during infection of its intermediate host. **Proteomics**, 10, n. 10, p. 1985-1999, May 2010.

MOSER, W.; SCHINDLER, C.; KEISER, J. Drug Combinations Against Soil-Transmitted Helminth Infections. **Adv Parasitol**, 103, p. 91-115, 2019.

NAGAPPA, L. K.; SINGH, D.; DEY, S.; KUMAR, K. A. *et al.* Biochemical and physiological investigations on adenosine 5' monophosphate deaminase from *Plasmodium* spp. **Mol Microbiol**, 112, n. 2, p. 699-717, 08 2019.

NASERI, M.; AKBARZADEH, A.; SPOTIN, A.; AKBARI, N. A. *et al.* Scolicidal and apoptotic activities of albendazole sulfoxide and albendazole sulfoxide-loaded PLGA-PEG as a novel nanopolymeric particle against *Echinococcus granulosus* protoscoleces. **Parasitol Res**, 115, n. 12, p. 4595-4603, Dec 2016.

NIXON, S. A.; WELZ, C.; WOODS, D. J.; COSTA-JUNIOR, L. *et al.* Where are all the anthelmintics? Challenges and opportunities on the path to new anthelmintics. **Int J Parasitol Drugs Drug Resist**, 14, p. 8-16, 12 2020.

NUGRAHA, R. Y.; FARATISHA, I. F.; MARDHIYYAH, K.; ARIEL, D. G. *et al.* Antimalarial Properties of Isoquinoline Derivative from. **Biomed Res Int**, 2020, p. 6135696, 2020.

NYÍRI, K.; MERTENS, H. D. T.; TIHANYI, B.; NAGY, G. N. *et al.* Structural model of human dUTPase in complex with a novel proteinaceous inhibitor. **Sci Rep**, 8, n. 1, p. 4326, 03 12 2018.

O'CONNOR, A.; QASIM, A.; O'MORÁIN, C. A. The long-term risk of continuous immunosuppression using thioguanides in inflammatory bowel disease. **Ther Adv Chronic Dis**, 1, n. 1, p. 7-16, Jan 2010.

ORR, A. R.; QUAGRAINE, J. E.; SUWONDO, P.; GEORGE, S. *et al.* Genetic Markers of Benzimidazole Resistance among Human Hookworms (**Am J Trop Med Hyg**, 100, n. 2, p. 351-356, 02 2019).

PANIC, G.; DUTHALER, U.; SPEICH, B.; KEISER, J. Repurposing drugs for the treatment and control of helminth infections. **Int J Parasitol Drugs Drug Resist**, 4, n. 3, p. 185-200, Dec 2014.

PARK, S. K.; FRIEDRICH, L.; YAHYA, N. A.; ROHR, C. M. *et al.* Mechanism of praziquantel action at a parasitic flatworm ion channel. **Sci Transl Med**, 13, n. 625, p. eabj5832, Dec 22 2021.

PARTRIDGE, F. A.; FORMAN, R.; BATAILLE, C. J. R.; WYNNE, G. M. *et al.* Anthelmintic drug discovery: target identification, screening methods and the role of open science. **Beilstein J Org Chem**, 16, p. 1203-1224, 2020.

PENSEL, P. E.; ALBANI, C.; GAMBOA, G. U.; BENOIT, J. P. *et al.* In vitro effect of 5-fluorouracil and paclitaxel on Echinococcus granulosus larvae and cells. **Acta Trop**, 140, p. 1-9, Dec 2014.

PENSEL, P. E.; ELISSONDO, N.; GAMBINO, G.; GAMBOA, G. U. *et al.* Experimental cystic echinococcosis therapy: In vitro and in vivo combined 5-fluorouracil/albendazole treatment. **Vet Parasitol**, 245, p. 62-70, Oct 2017.

PÉREZ-MORENO, G.; SÁNCHEZ-CARRASCO, P.; RUIZ-PÉREZ, L. M.; JOHANSSON, N. G. *et al.* Validation of Plasmodium falciparum dUTPase as the target of 5'-tritylated deoxyuridine analogues with anti-malarial activity. **Malar J**, 18, n. 1, p. 392, Dec 03 2019.

SAMPAIO, E. P.; KAPLAN, G.; MIRANDA, A.; NERY, J. A. *et al.* The influence of thalidomide on the clinical and immunologic manifestation of erythema nodosum leprosum. **J Infect Dis**, 168, n. 2, p. 408-414, Aug 1993.

SARATSIS, A.; SOTIRAKI, S.; BRAAE, U. C.; DEVLEESSCHAUWER, B. *et al.* Epidemiology of Taenia saginata taeniosis/cysticercosis: a systematic review of the distribution in the Middle East and North Africa. **Parasit Vectors**, 12, n. 1, p. 113, Mar 2019.

SAUTER, C.; LAMANNA, N.; WEISS, M. A. Pentostatin in chronic lymphocytic leukemia. **Expert Opin Drug Metab Toxicol**, 4, n. 9, p. 1217-1222, Sep 2008.

SHI, W.; MUNAGALA, N. R.; WANG, C. C.; LI, C. M. *et al.* Crystal structures of Giardia lamblia guanine phosphoribosyltransferase at 1.75 Å. **Biochemistry**, 39, n. 23, p. 6781-6790, Jun 2000.

SINGH, A.; XU, Y. J. The Cell Killing Mechanisms of Hydroxyurea. **Genes (Basel)**, 7, n. 11, Nov 2016.

SUCHAIL, S.; SARCIRON, M. E.; PETAVY, A. F. Purine metabolism in Echinococcus multilocularis. **Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol**, 120, n. 4, p. 633-637, Aug 1998.

TAMAN, A.; AZAB, M. Present-day anthelmintics and perspectives on future new targets. **Parasitol Res**, 113, n. 7, p. 2425-2433, Jul 2014.

- TAMAROZZI, F.; VUITTON, L.; BRUNETTI, E.; VUITTON, D. A. *et al.* Non-surgical and non-chemical attempts to treat echinococcosis: do they work? **Parasite**, 21, p. 75, 2014.
- THOMPSON, R. C. Biology and Systematics of Echinococcus. **Adv Parasitol**, 95, p. 65-109, 2017.
- THOMPSON, R. C.; JENKINS, D. J. Echinococcus as a model system: biology and epidemiology. **Int J Parasitol**, 44, n. 12, p. 865-877, Oct 2014.
- TORABI, N.; DOBAKHTI, F.; FAGHIHZADEH, S.; HANILOO, A. In vitro and in vivo effects of chitosan-praziquantel and chitosan-albendazole nanoparticles on Echinococcus granulosus Metacestodes. **Parasitol Res**, 117, n. 7, p. 2015-2023, Jul 2018.
- TORGERSON, P. R.; DEVLEESSCHAUWER, B.; PRAET, N.; SPEYBROECK, N. *et al.* World Health Organization Estimates of the Global and Regional Disease Burden of 11 Foodborne Parasitic Diseases, 2010: A Data Synthesis. **PLoS Med**, 12, n. 12, p. e1001920, Dec 2015.
- TSAI, I. J.; ZAROWIECKI, M.; HOLROYD, N.; GARCIARRUBIO, A. *et al.* The genomes of four tapeworm species reveal adaptations to parasitism. **Nature**, 496, n. 7443, p. 57-63, Apr 2013.
- VAMATHEVAN, J. J.; HASAN, S.; EMES, R. D.; AMRINE-MADSEN, H. *et al.* The role of positive selection in determining the molecular cause of species differences in disease. **BMC Evol Biol**, 8, p. 273, Oct 2008.
- VAN ROMPAY, A. R.; JOHANSSON, M.; KARLSSON, A. Phosphorylation of nucleosides and nucleoside analogs by mammalian nucleoside monophosphate kinases. **Pharmacol Ther**, 87, n. 2-3, p. 189-198, 2000 Aug-Sep 2000.
- VODENKOVA, S.; BUCHLER, T.; CERVENA, K.; VESKRNOVA, V. *et al.* 5-fluorouracil and other fluoropyrimidines in colorectal cancer: Past, present and future. **Pharmacol Ther**, 206, p. 107447, 02 2020.
- WEBB, C.; CABADA, M. M. Intestinal cestodes. **Curr Opin Infect Dis**, 30, n. 5, p. 504-510, Oct 2017.
- WHO. **WHO methods and data sources for the global burden of disease estimates 2000–2011**. 2013. Disponível em: http://www.who.int/healthinfo/statistics/GlobalDALYmethods_2000_2011.pdf?ua=1 . Acesso em: 18/07/21.
- WOOLSEY, I. D.; MILLER, A. L. Echinococcus granulosus sensu lato and Echinococcus multilocularis: A review. **Res Vet Sci**, 135, p. 517-522, Mar 2021.

YANG, Z.; NIELSEN, R.; GOLDMAN, N.; PEDERSEN, A. M. Codon-substitution models for heterogeneous selection pressure at amino acid sites. **Genetics**, 155, n. 1, p. 431-449, May 2000.

YAP, P.; FÜRST, T.; MÜLLER, I.; KRIEMLER, S. *et al.* Determining soil-transmitted helminth infection status and physical fitness of school-aged children. **J Vis Exp**, n. 66, p. e3966, Aug 22 2012.

YIN, J.; REN, W.; HUANG, X.; DENG, J. *et al.* Potential Mechanisms Connecting Purine Metabolism and Cancer Therapy. **Front Immunol**, 9, p. 1697, 2018.

YU, C. S.; CHEN, Y. C.; LU, C. H.; HWANG, J. K. Prediction of protein subcellular localization. **Proteins**, 64, n. 3, p. 643-651, Aug 2006.

ZHENG, H.; ZHANG, W.; ZHANG, L.; ZHANG, Z. *et al.* The genome of the hydatid tapeworm *Echinococcus granulosus*. **Nat Genet**, 45, n. 10, p. 1168-1175, Oct 2013.

ZHENG, Z.; TRAN, H. A.; MANIVANNAN, S.; WEN, X. *et al.* Novel nucleoside-based antimalarial compounds. **Bioorg Med Chem Lett**, 26, n. 12, p. 2861-2865, 06 2016.

Apêndice 1: Árvores filogenéticas

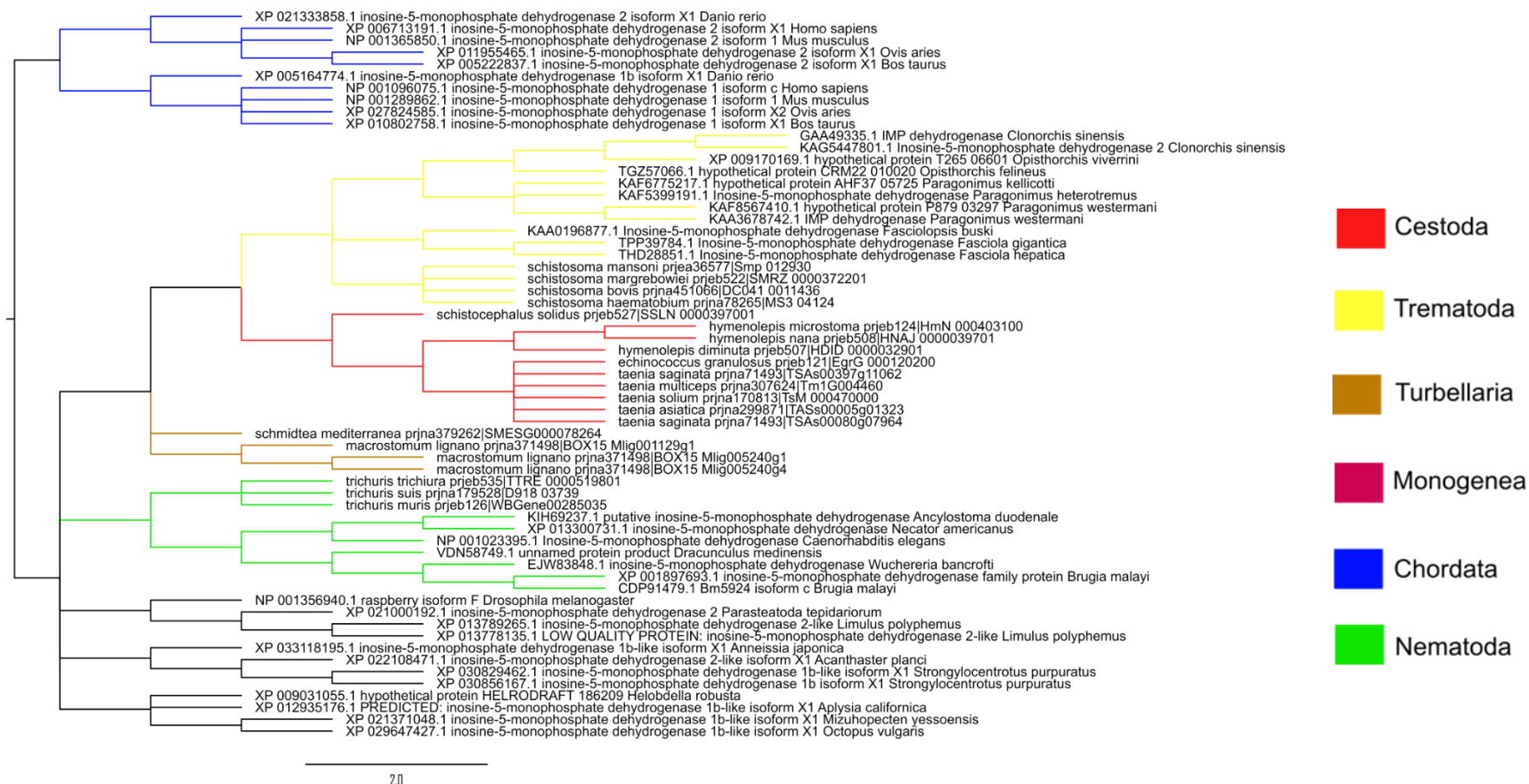


Figura 4: Árvore filogenética IMP-desidrogenase. Nós com suporte inferior a 80% foram colapsados. Enraizado em vertebrados

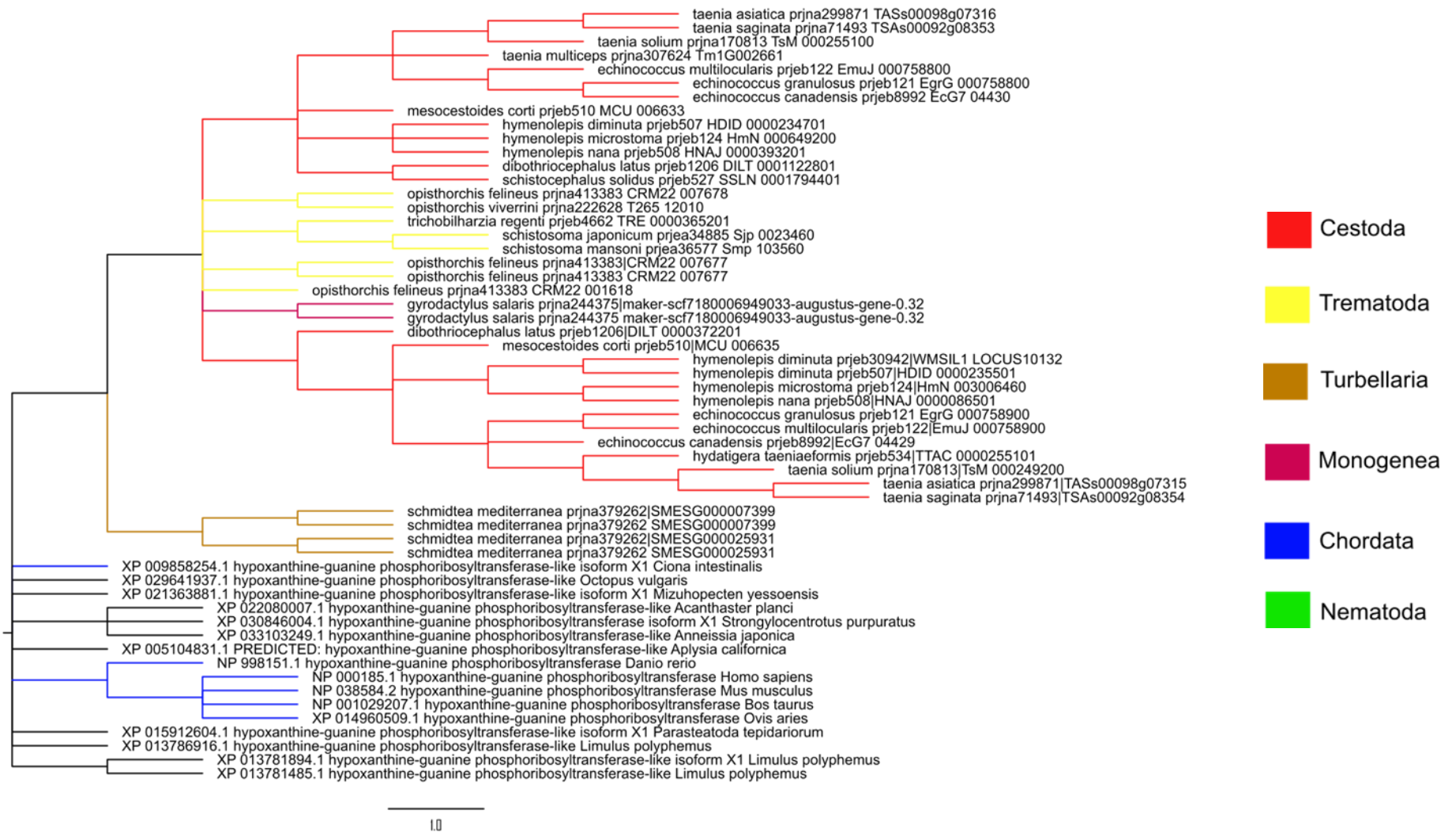


Figura 5:Árvore filogenética de HGPRT. Nós com suporte inferior a 80% foram colapsados

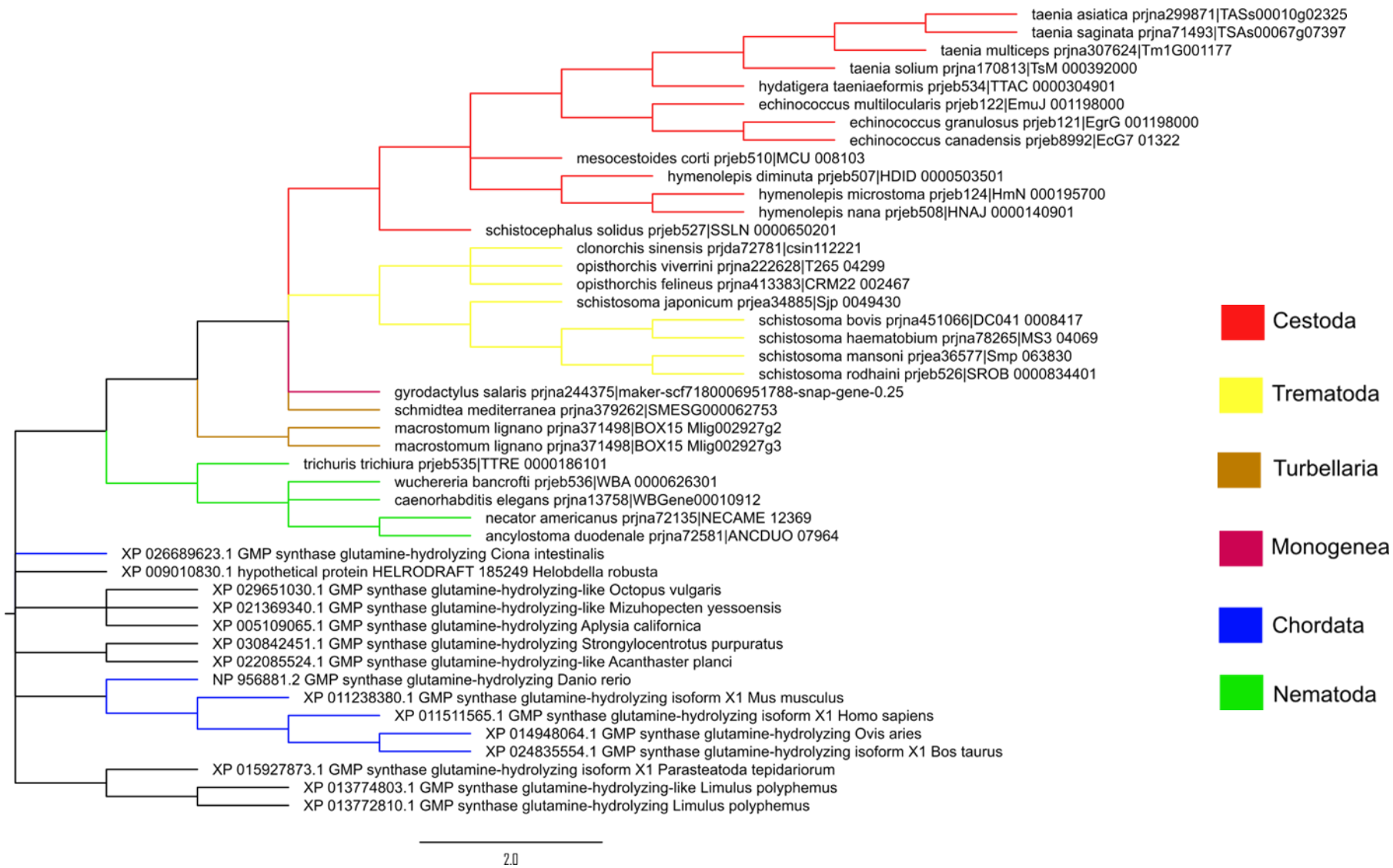
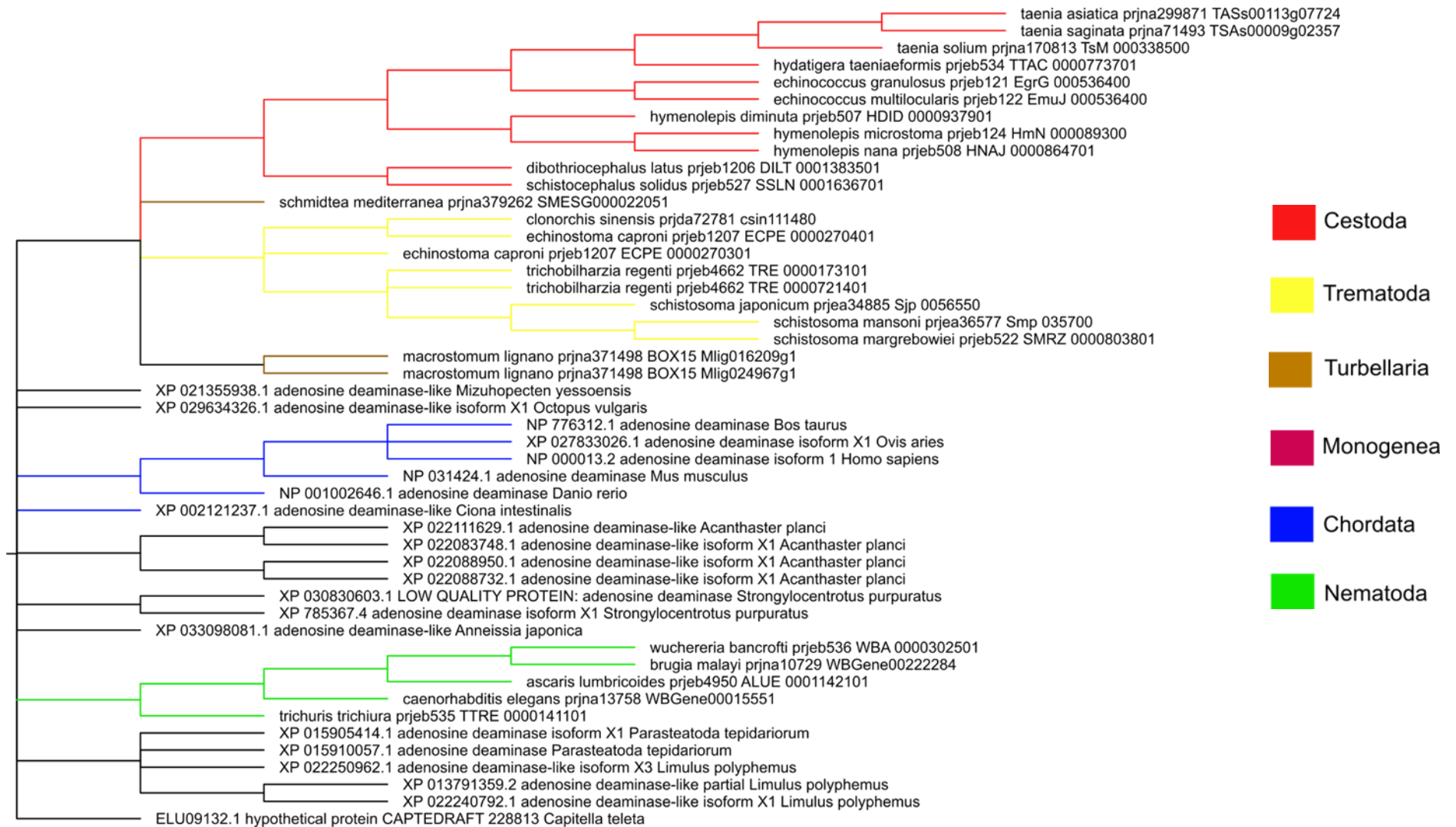


Figura 6 Árvore filogenética de GMP-sintase. Nós com suporte inferior a 80% foram colapsados



0.9

Figura 7 Árvore filogenética de adenosina-desaminase. Nós com suporte inferior a 80% foram colapsados

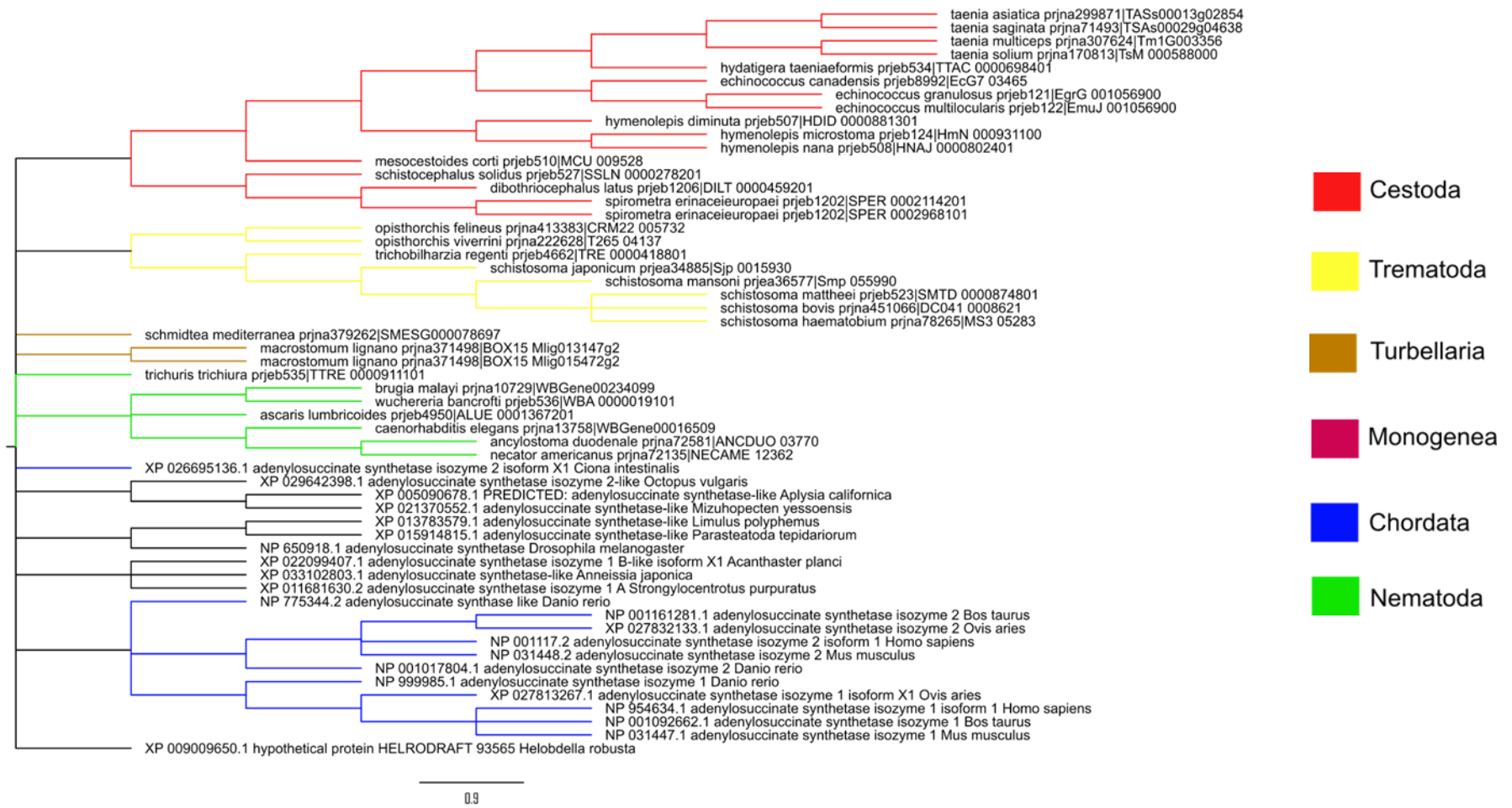


Figura 8: Árvore filogenética de adenilossuccinato-sintase. Nós com suporte inferior a 80% foram colapsados

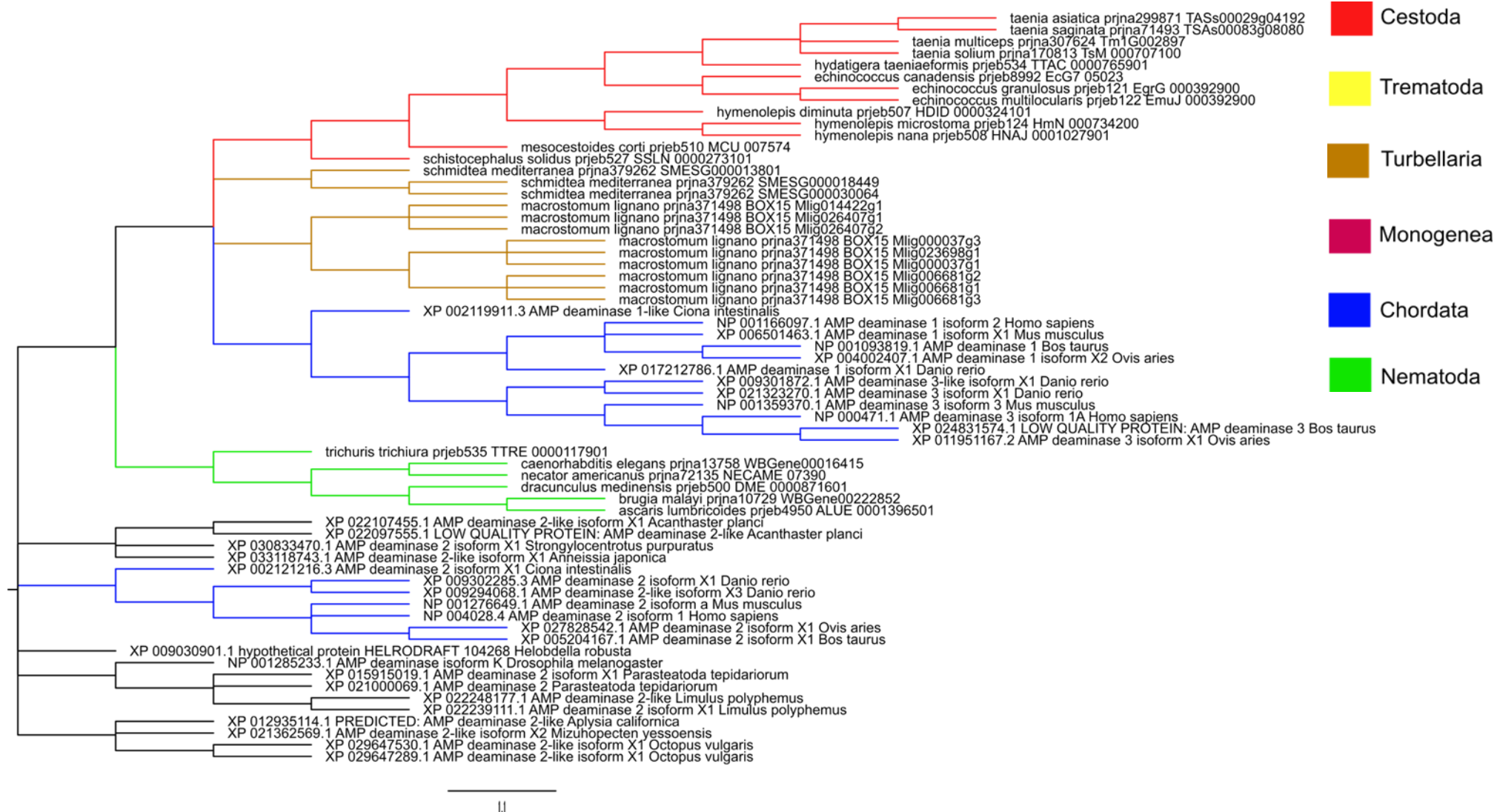


Figura 9: Árvore filogenética de AMP-desaminase. Nós com suporte inferior a 80% foram colapsados

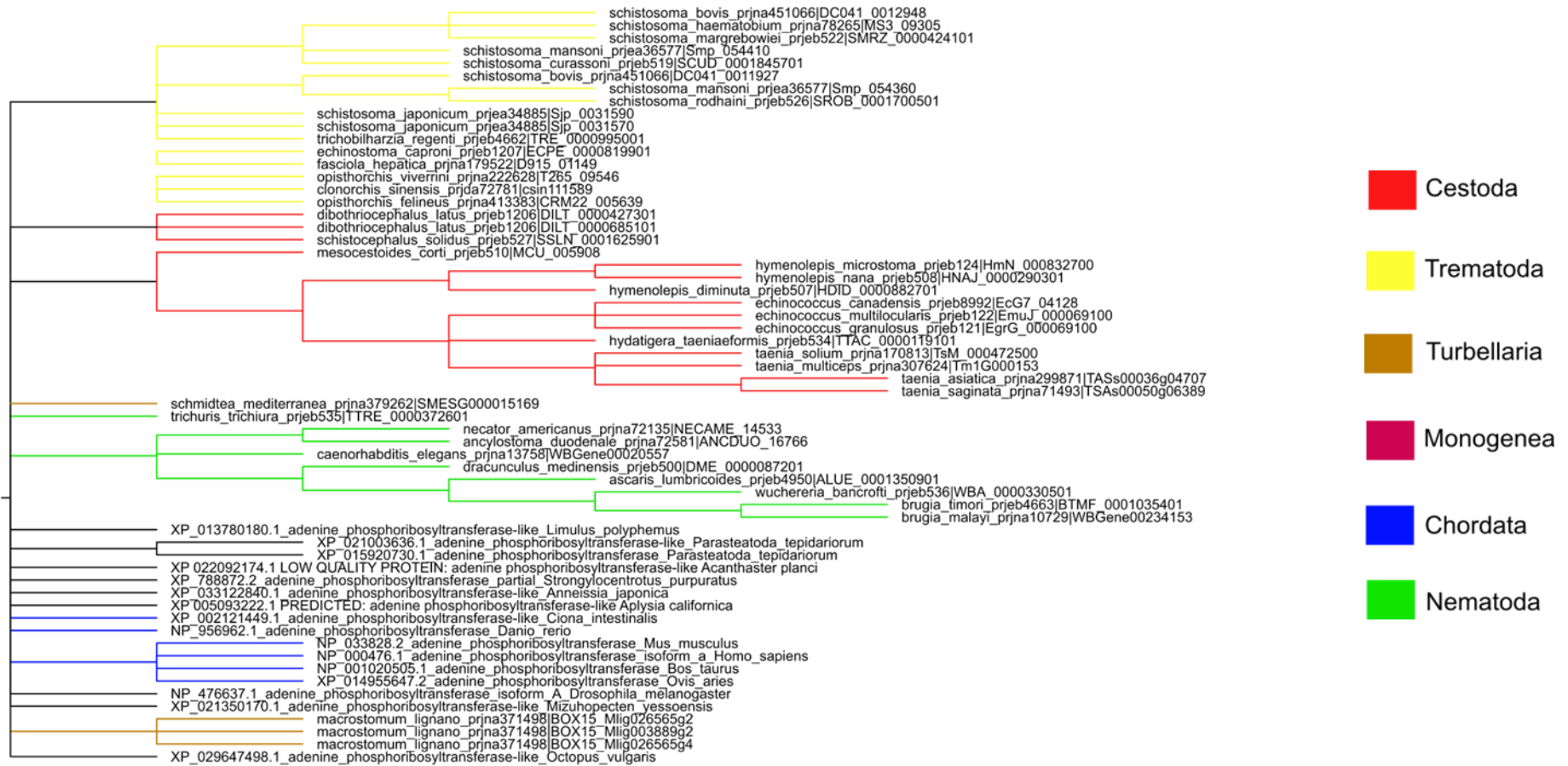


Figura 10: Árvore filogenética de APRT. Nós com suporte inferior a 80% foram colapsados



Figura 11: Árvore filogenética de UMP-sintase. Nós com suporte inferior a 80% foram colapsados



Figura 12: Árvore filogenética de UMP-CMP-quinase. Nós com suporte inferior a 80% foram colapsados

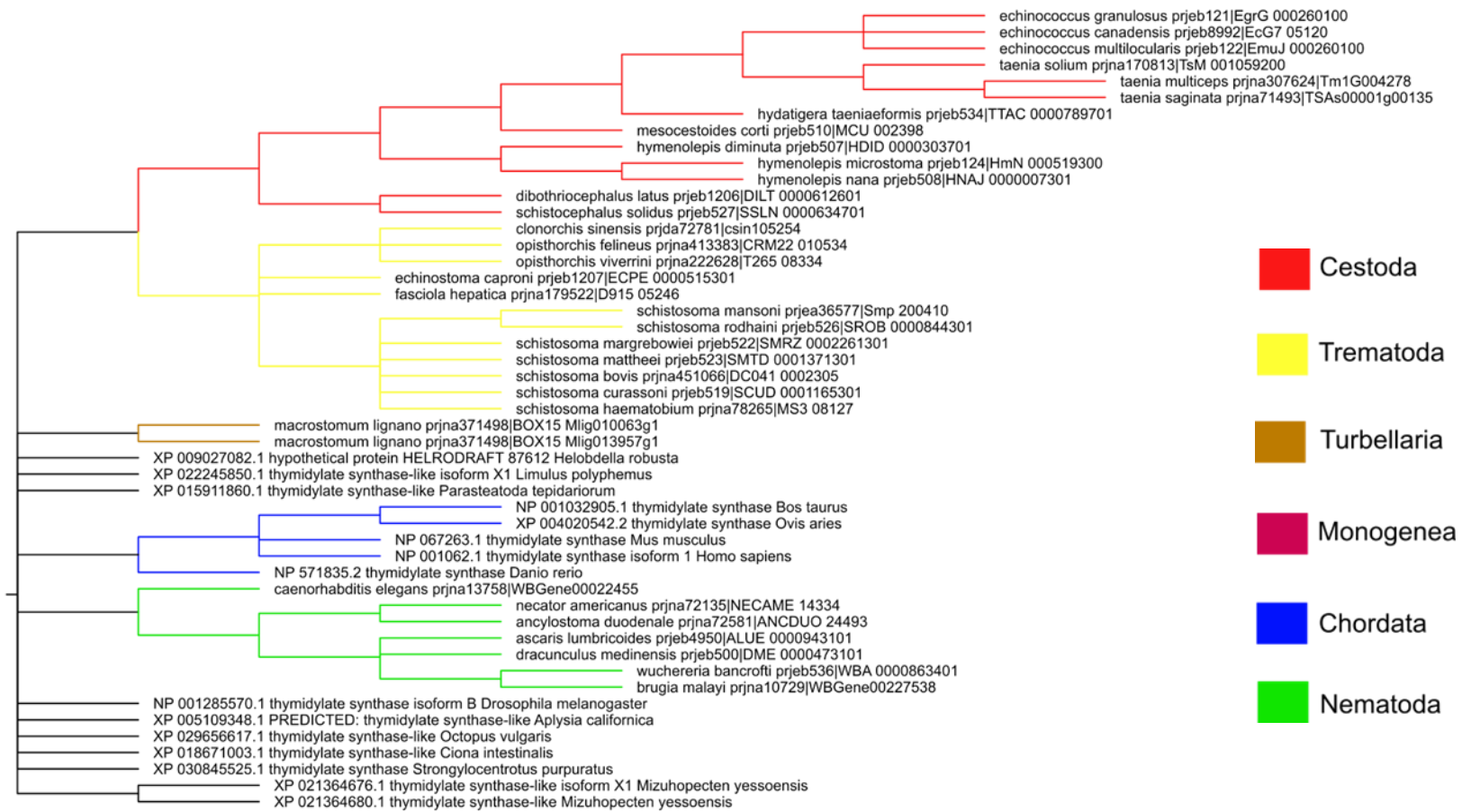


Figura 13: Árvore filogenética de timidilato-sintase. Nós com suporte inferior a 80% foram colapsados

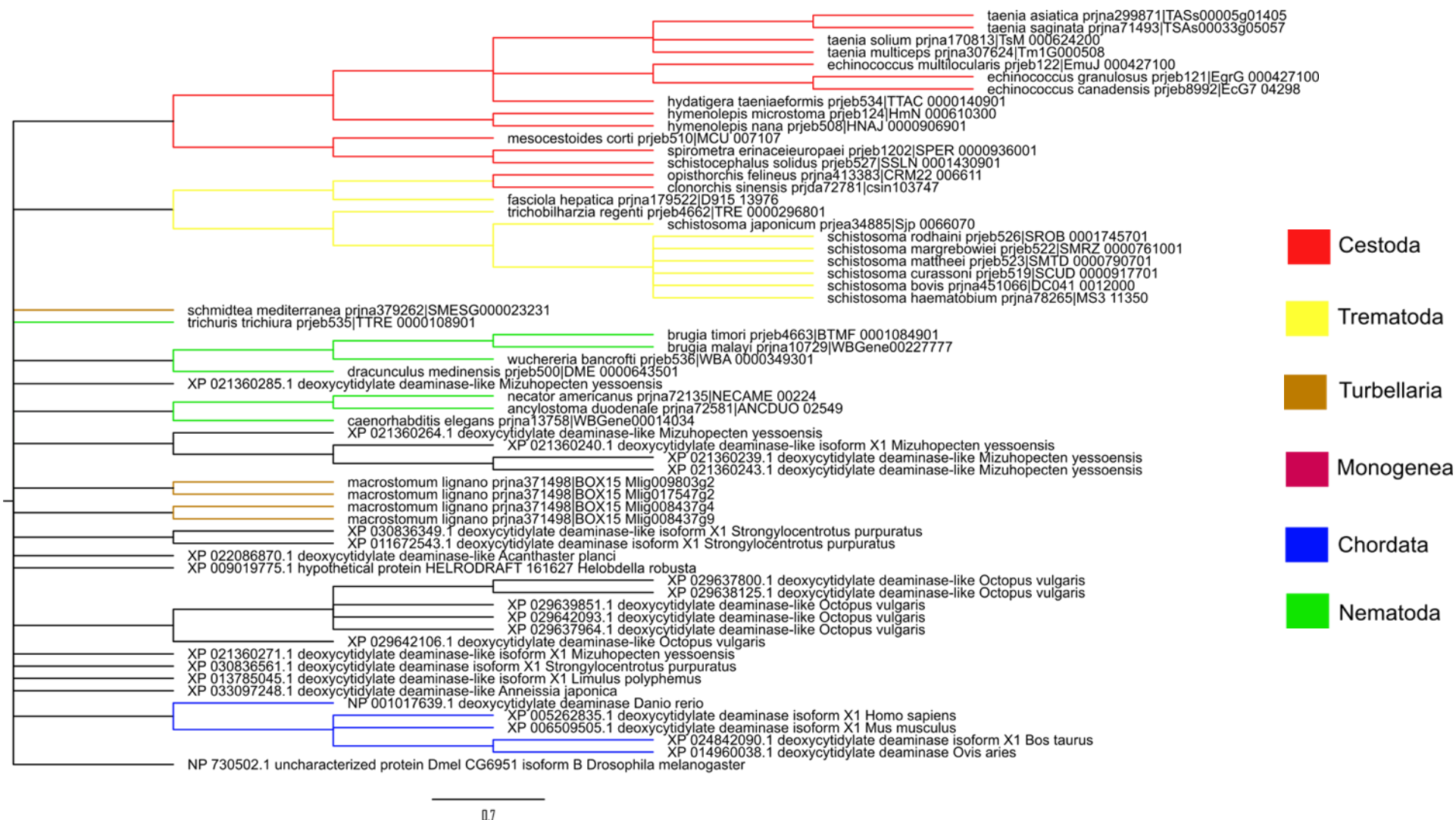


Figura 14: Árvore filogenética de desoxicitidilato-desaminase. Nós com suporte inferior a 80% foram colapsados

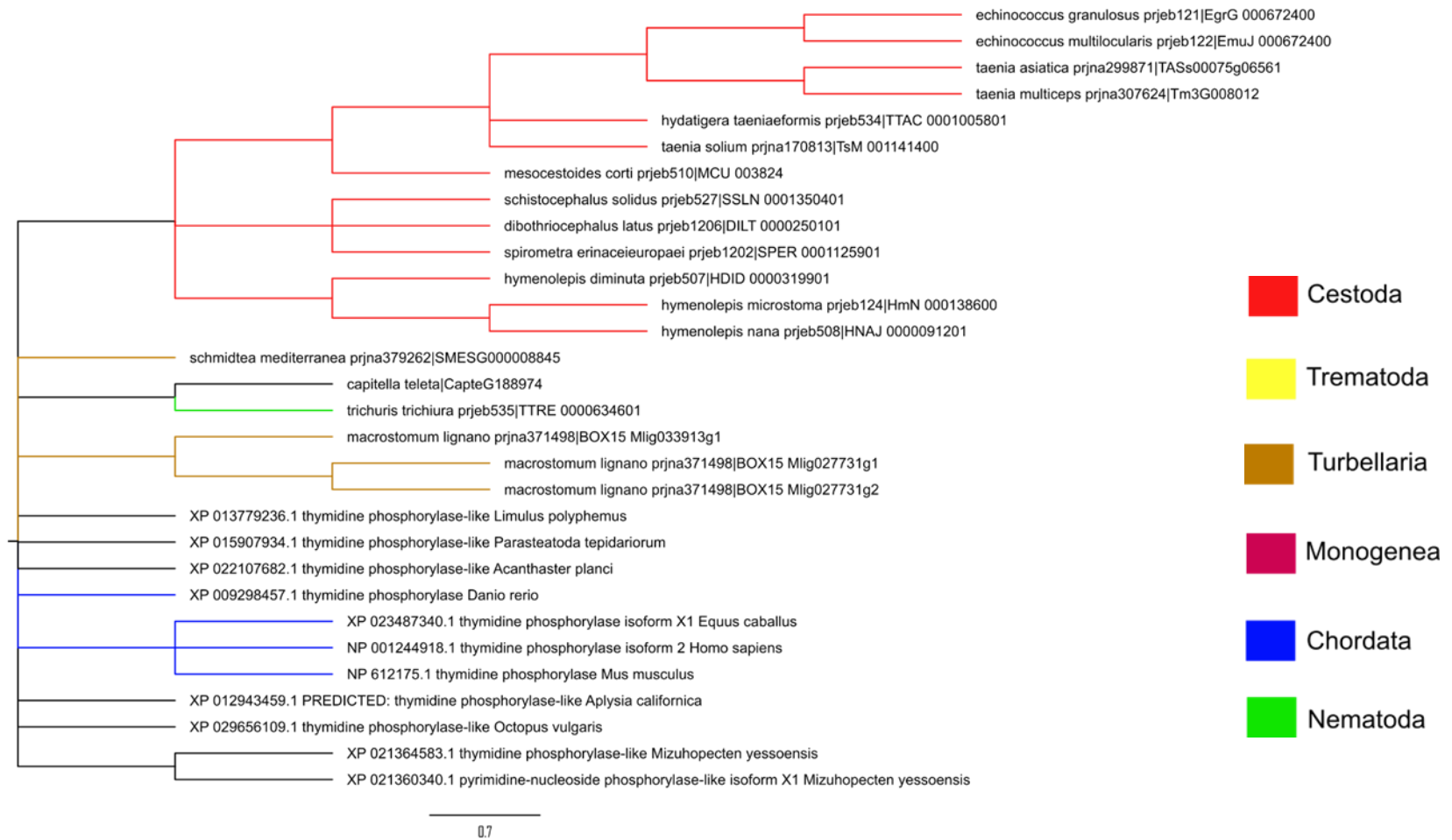


Figura 15: Árvore filogenética de timidina-fosforilase. Nós com suporte inferior a 80% foram colapsados



Figura 16: Árvore filogenética de citidina-desaminase. Nós com suporte inferior a 80% foram colapsados

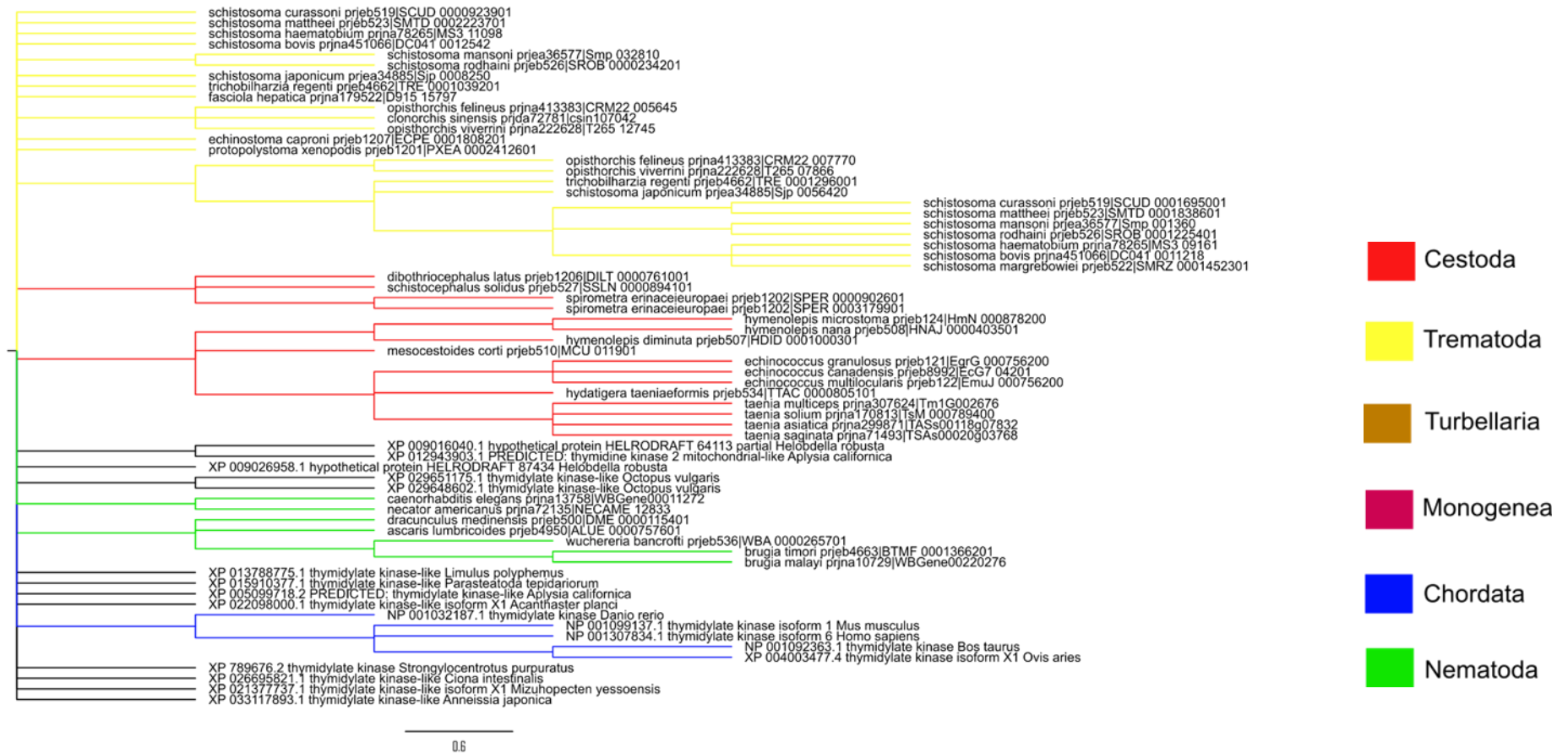


Figura 17: Árvore filogenética de timidilato-quinase. Nós com suporte inferior a 80% foram colapsados

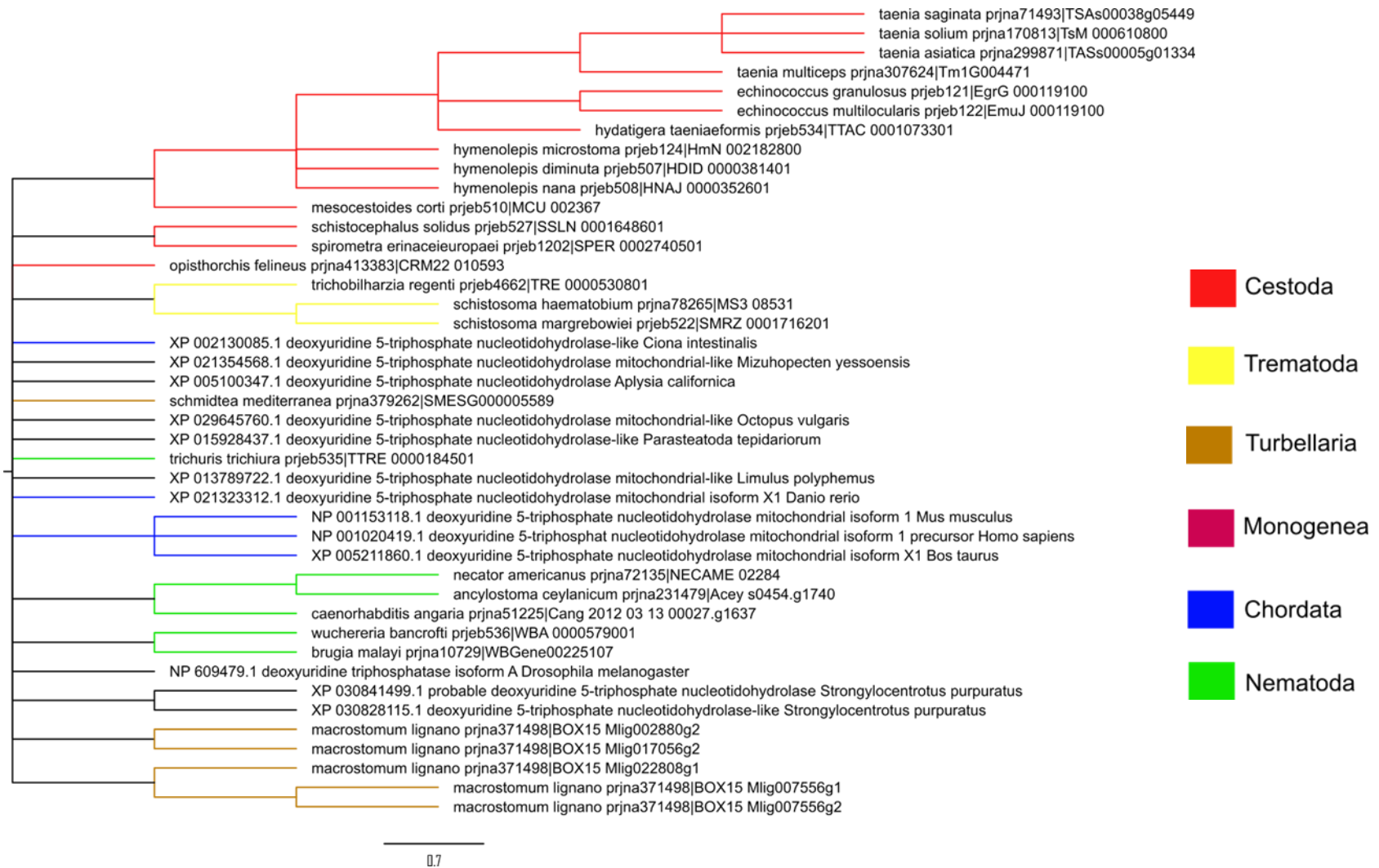


Figura 18: Árvore filogenética de dUTP-pirofosfatase. Nós com suporte inferior a 80% foram colapsados

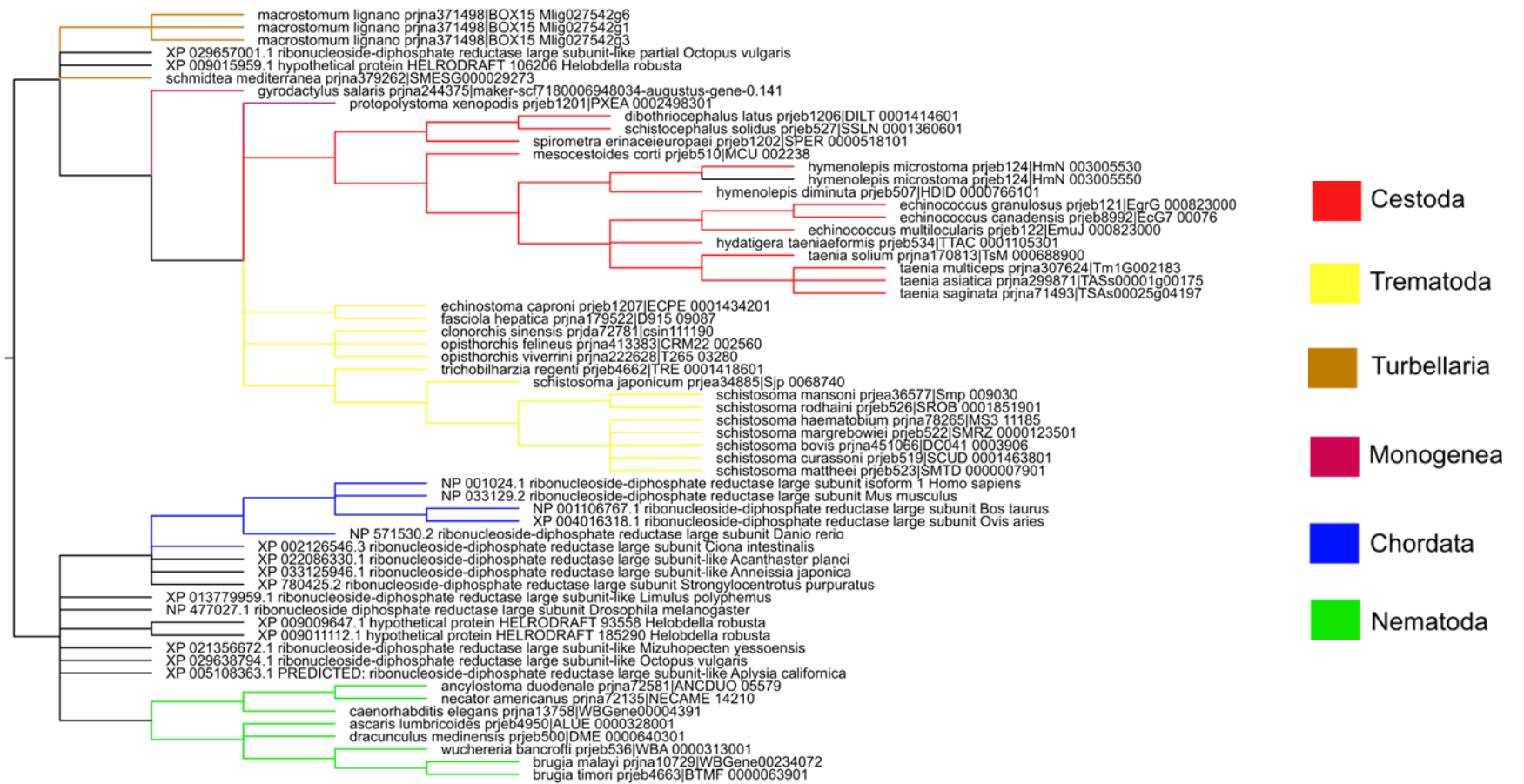


Figura 19: Árvore filogenética de RNR1: Nós com suporte inferior a 80% foram colapsados



Figura 20: Árvore filogenética de RNR2. Nós com suporte inferior a 80% foram colapsados

Apêndice 2: Enzimas da via de síntese de nucleotídeos de *E. granulosus*

Nucleotide salvage enzymes in <i>E.granulosus</i> s.s.						
Name	Access code human	Gene <i>E. granulosus</i>	<i>E value</i>	Protein domain	Subcellular location	Signal peptide <i>E.granulosus</i>
Adenosine deaminase	P00813	EgrG_000536400	6.1E-16	Pfam 10-340 E-value: 1.6e-59 adenosine/AMP deaminase interpro: 10 - 340 Adenosine/AMP deaminase domain 10 - 343 Metal-dependent hydrolase	CELLO: Cytoplasmic RELIABILITY 3.625 * TargetP: other 0.840 RC: 2	NO
		EGR_07260	6.1E-16	Pfam: 10-338 e-value 9.4e-59 interpro:10 - 338 Adenosine/AMP deaminase domain 10 - 336 Metal-dependent hydrolase	CELLO: Cytoplasmic RELIABILITY 3.135 * TargetP: other 0.840 RC: 2	NO
Adenine phosphoribosyltransferase	P07741	EgrG_000069100	4.3E-27	Pfam: 67-181 e-value 2.4e-14 Interprot: 33 – 206 Phosphoribosyltransferase domain	CELLO:PlasmaMembrane RELIABILITY: 2.132 * TargetP: SP 0.732 RC: 3	YES (not detected in the human sequence)
		EGR_09920	6.6E-28	Pfam: Phosphoribosyl transferase domain e-value 1.6e-14 40-150; Interpro Phosphoribosyl transferase 40-160	CELLO Cytoplasmic 2.078 ;TargetP other 0.888	NO

Hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase	P00492	EGR_06015	6.6E-37	Pfam: 66-218 e-value 3.3e-15 interpro: 24 – 235 Phosphoribosyltransferase domain	CELLO: Cytoplasmic RELIABILITY: 1.708 * Nuclear 1.295 * TargetP: other 0.753 RC: 3	NO
		EgrG_000758800	7.5E-54	Pfam: 85-244 e-value 1.7e-18 Interpro: 52 – 261 Phosphoribosyltransferase domain	CELLO: PlasmaMembrane Reliability: 2.455 * TargetP: SP 0.912 RC: 2	YES (not detected in the human sequence)
		EGR_06016	5.0E-31	Pfam: 48-206 e-value 2.3e-22 interpro: 19 – 225 Phosphoribosyltransferase domain	CELLO: PlasmaMembrane Reliability: 1.688 * TargetP: 0.927 RC: 1	NO
		EgrG_000758900	3.5E-30	Pfam 85 -244 e-value 1.7e-18 interpro: 52 – 261 Phosphoribosyltransferase domain	CELLO: Cytoplasmic Reliability: 2.635 * TargetP: other 0.885 RC: 2	NO
Purine nucleoside phosphorylase	V9HWH6	EGR_05171	1.7E-12	Pfam:127-221 e-value 1.7e-13 interpro: 58 – 114 127 – 221 nucleoside phosphorylase domain	CELLO: Cytoplasmic Reliability: 3.388 * TargetP: other 0.927 RC: 1	NO
		EgrG_001124500	1,10E-64	Pfam: 24-273 e-value 3.1e-39 interpro: 2 – 273 nucleoside phosphorylase domain	CELLO; Cytoplasmic Reliability: 2.735 * TargetP: other 0.719 RC: 3	NO
	P00491	EGR_10182	1.8E-51	Pfam: 24-155 e-value 1.3e-23 interpro: 3 – 183 Nucleoside phosphorylase domain	CELLO: Cytoplasmic Reliability: 1.531 * PlasmaMembrane 1.447 * TargetP: other 0.933 RC: 1	NO

				CELLO: PlasmaMembrane Reliability 1.684 *, InnerMembrane Reliability 1.593 * TargetP:other 0.939 RC: 1	NO	
		EgrG_000636000	1.8E-45	Pfam : 24-148 e-value 3.1e-17 interpro: 2 – 151 Nucleoside phosphorylase domain		
		EgrG_000635200	1.7E-97	Pfam: 24-276 e-value:1.7e- 45 interpro: 2 – 279 nucleoside phosphorilase domain	CELLO: Cytoplasmic Reliability 2.590 * TargetP: other 0.894 RC: 2	NO
		EGR_01914	2.0E-88	Pfam: 24-266 e-value: 2.9e-43 interpro:3 - 279 Nucleoside phosphorylase domain	CELLO: Cytoplasmic Reliability 2.648 * TargetP: other 0.937 RC:1	NO
		EGR_01911	5.8E-84	Pfam: 24-266 e-value: 2.9e-43 interpro: 3 – 279 nucleoside phosphorilase domain	CELLO: Cytoplasmic Reliability 1.293 * TargetP: other 0.941 RC: 1	NO
		EGR_01912	3.4E-86	Pfam: 24-257 e-value: 3.9e-47 interpro: 2 – 276 nucleoside phosphorilase domain	CELLO: Mitochondrial Reliability 1.990 * TargetP: other 0.939 RC: 1	NO
		EgrG_000635700	1.0E-81	Pfam 24-248 e-value: 3.2e- 43 interpro: 3 – 248 nucleoside phosphorilase domain	CELLO: Cytoplasmic Reliability 2.454 * TargetP: other 0.942 RC: 1	NO
		EgrG_000636100	9.1E-68	Pfam: 40-236 4.3e-42 interpro: 2 – 240 nucleoside phosphorilase domain	CELLO: Cytoplasmic Reliability 1.099 * TargetP: other 0.894 RC: 2	NO

Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase	P12268	EgrG_000120200	0	Pfam: 22-497 e-value 1.2e-131 interpro: 17-503 IMP dehydrogenase/GMP reductase	CELLO: Cytoplasmic Realiability: 1.547 Mitochondrial 1.693 TargetP: other 0.914 RC 2	NO
		EGR_04088	0	Pfam: IMP dehydrogenase/GMP synthase domain 22-497; Interpro: IMPDH 22-486	CELLO: Cytoplasmic 1.788*, Mitochondrial 1.666*; TargetP: other 0.9999	NO
Nucleoside diphosphate kinase	O75414	EgrG_001145100	6,30E-29	Pfam: 6-144 e-value 1.4e-30 Interpro: 8 – 146 nucleoside diphosphate kinase	CELLO: Cytoplasmic Realiability 2.131 Target: other 0.542 RC 4	NO
	NP_000260.1	EgrG_001117000	4,00E-35	Pfam: 9-92 e-value 4.4e-31 Interpro: 8-127 nucleoside diphosphate kinase	CELLO: PlasmaMembrane 1.781 Mitochondrial 1.217 TargetP: other 0.780 RC 3	NO
			1,00E-34			
	NP_002503.1	EGR_02422	0.0019	Pfam: Nucleoside diphosphate kinase 109-205 2.8e-06 e 243-393 1.6e-21 ; Interpro: Nucleoside diphosphate kinase-like domain 109 - 193 e 242 - 400	CELLO: PlasmaMembrane 1.364; Nuclear 1.346; Cytoplasmic 1.115 TargetP: other 0.704	NO
		NP_001273364.1	EGR_01942	0.068	Pfam: Nucleoside diphosphate kinase 26-161 e-value 2e-16 Interpro: Nucleoside diphosphate kinase-like domain 25 - 163	Cytoplasmic CELLO: Cytoplasmic 2.114 TargetP: other 0.924
	1,00E-30					

Nucleoside diphosphate kinase 5	P56597	EgrG_000638900	3.2e-9	Pfam: 9-39 e-value 1.4e-12 Interpro:10 – 38 Dpy-30 motif	CELLO: Nuclear Realiability 2.578 TargetP: other 0.858 RC 2	NO
		EGR_05582	2,60E-06	Pfam: Nucleoside diphosphate kinase 96-230 e-value 6.7e-54; Interpro: NDK-like domain 95-232	CELLO: Chloroplast 2.092*; TargetP: other 0.999	NO
Adenosine kinase	P55263	EGR_04160	1.3E-14	Pfam: 41-347 e-value: 1.3e-46 pfkB family carbohydrate kinase Interpro: 47-342 Carbohydrate kinase PfkB	CELLO: Cytoplasmic 1.601 PlasmaMembrane 1.270 TargetP: secretory pathway 0.754	NO
		EgrG_000125200	2.6E-5	Pfam: pfkB family carbohydrate kinase 41- 347 e-value 1.4e-46 Interpro: Carbohydrate kinase PfkB 47 - 342	CELLO: Cytoplasmic CELLO: Cytoplasmic 1.601 TargetP secreção	YES
Adenylosuccinate lyase	P30566	EGR_08614	2.6E-85	Pfam: Lyase 93-299 e- value 1.1e-27 Adenylosuccinate lyase C- terminus 374-457 e-value: 3.3e-13 Interpro Fumarate lyase, N-terminal 93 - 299 Adenylosuccinate lyase C- terminal 373 - 458	CELLO: Cytoplasmic 1.507 TargetP other: 0.844	NO
		EgrG_000054350	2.6E-85	Pfam: Lyase 23-288 1.1e- 27 Adenylosuccinate lyase C-terminus 354-437 5.3e- 13 Interpro: Fumarate lyase, N-terminal 73-279 Adenylosuccinate lyase C- terminal 353-438	Cytoplasmic CELLO: Cytoplasmic 1.482 TargetP: mitochondrial 0.550	YES

Adenylosuccinate synthetase	Q8N142	EGR_03221	4.8E-82	Pfam: Adenylosuccinate synthetase 6-415 e-value: 2.7e-162	CELLO: Cytoplasmic 2.479 TargetP: 0.861 other	NO
		EgrG_001056900	4.8E-82	Pfam: Adenylosuccinate synthetase 6-406 e-value 1.5e-157	CELLO: Cytoplasmic 1.840 TargetP: 0.861 other	NO
AMP deaminase	P23109	EgrG_000392900	2.3E-149	Pfam: Adenosine/AMP deaminase 365-773 e-value: 6.3e-108 Interpro: Adenosine/AMP deaminase domain 365 - 773	CELLO: Nuclear 2.203 TargetP: 0.766	NO
		EGR_08262	1.7E-97	Pfam: Adenosine/AMP deaminase 356-750 e-value: 1.7e-95 Interpro: Adenosine/AMP deaminase domain 356 - 750	CELLO: Nuclear 1.706 Cytoplasmic 1.560 TargetP: 0.913 other	NO
GMP synthase	P49915	EgrG_001198000	3.1E-93	Pfam: Glutamine amidotransferase class-I 7-186 e-value: 2.5e-35 NAD synthase 209-275 e-value: 2.7e-07 GMP synthase C terminal domain 668-730 e-value 2.3e-11 Interpro: GMP synthase, glutamine amidotransferase 4 - 193 NAD/GMP synthase 194 - 465 GMP synthase, C-terminal 668 - 730	CELLO: Cytoplasmic 2.580 TargetP: 0.841 other	NO

		EGR_08435	7.1E-87	Pfam: Glutamine amidotransferase class-I 20-189 e-value 5.9e-33 NAD synthase 212-278 e-value 3.6e-07 GMP synthase C terminal domain 671-733 e-value 2.3e-11 Interpro: GMP synthase, glutamine amidotransferase 4 - 196 GMP synthetase ATP pyrophosphatase domain 197 - 468 GMP synthase, C-terminal 671 - 733	CELLO: Cytoplasmic 2.615 Other 0.806	NO
Guanylate kinase	Q16774	EGR_02947	7.2E-50	Pfam: Guanylate kinase 28-210 e-value: 3.9e-57 Interpro: Guanylate kinase/L-type calcium channel beta subunit 26-212, Guanylate kinase-like domain 27-209	CELLO: Cytoplasmic 2.050 TargetP: other 0.798	NO
		EGR_10122	4.1E-38	Pfam: Guanylate kinase 5-192 e-value: 4.5e-58 Interpro: Guanylate kinase/L-type calcium channel beta subunit 3-194, Guanylate kinase-like domain 4-191	CELLO: Nuclear 1.622 TargetP: mitochondrial 0.631	NO
		EgrG_000170300	6.6E-30	Pfam: Guanylate kinase 5-89 e-value: 1.1e-31, Guanylate kinase 136-238 e-value: 1.2e-18, Interpro: Guanylate kinase/L-type calcium channel beta subunit 3-240, Guanylate kinase-like domain 4-237	CELLO: Nuclear 1.446 Cytoplasmic 1.090 TargetP: mitochondrial 0.666	NO

		EgrG_001029200=EGR_294 7		Pfam: Guanylate kinase 26-211 4.2e-57; Interpro: Guanylate kinase 27-209	CELLO: Cytoplasmic 2.050 TargetP: other 0.9997	NO
Thymidine kinase	Q8IZR3	EgrG_000154200	3.3E-41	Pfam: 10-196 2.7e-47 interpro: 4 - 206 Deoxynucleoside kinase domain	CELLO: Cytoplasmic Reliability 2.136 * TargetP: other 0.904 RC: 2	NO
		EGR_09860	6.2E-7	Pfam: 72-114 5.5e-09 interprot: 69 - 127 Deoxynucleoside kinase domain	CELLO: PlasmaMembrane 1.628 *TargetP: other 0.723 RC 4	NO
		EgrG_000154250	9.5E-29	Pfam: 3-126 1.7e-27 interprot: 3 - 145 Deoxynucleoside kinase domain	CELLO: Nuclear Reliability 2.742 TargetP: other 0.237 RC: 3	NO
Thymidine kinase 2 mitochondrial	O00142	EgrG_000154500	1.6E-5	Pfam 5-128 4.2e-28 interpro: 5 - 142 Deoxynucleoside kinase domain	CELLO: Nuclear Reliability 1.689 * Extracellular 1.123 * TargetP: mTP 0.776 RC: 3	NO
		EGR_10731	9.2E-28	Pfam Deoxynucleoside kinase 9-215 e-value 2e-44 Interpro 9-201 Deoxynucleoside kinase domain	CELLO: Cytoplasmic 1.783 e Nuclear 1.552; TargetP: other 0.904	NO
		EGR_10732	5.4E-23	Pfam: Deoxynucleoside kinase 23-182 e-value 5.9e-38 Intepro: Deoxynucleoside kinase domain 24-176	CELLO: plasma membrane 1.391 cytoplasmic 1.078; TargetP SP	NO

		EGR_10734	5.9E-25	Pfam: Deoxynucleoside kinase 7-165 e-value 1.1e-40 Interpro: Deoxynucleoside kinase domain 8 - 161	CELLO: Nuclear 1.243 TargetP other 0.711	NO
Thymidylate synthase	Q53Y97	EgrG_000260100	1,10E-138	Pfam: 52-333 e-value 1.3e-109 interpro 49 – 333 Thymidylate synthase/dCMP hydroxymethylase domain	CELLO: Cytoplasmic Reliability 2.853 TargetP: mTP 0.595 RC.4	YES
	P04818		1,10E-138			
	Q53FB7		6,20E-138			
	A8K9A5		1,80E-137			
UMP CMP kinase	B2R6S5	EgrG_001107800	4,30E-48	Pfam: 20-180 e-value 9.2e-37 interpro: 17 – 202 P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolase	CELLO: Cytoplasmic Reliability: 2.338 TargetP: other 0.841 RC 2	NO
	P30085		1.7e-48			
cytidine deaminase	P32320	EGR_09582	4,60E-29	Pfam: 7-109 e-value 3.2e-12 interpro: 7 – 138 Cytidine and deoxycytidylate deaminases, zinc-binding	TargetP: other 0.773	NO
deoxycytidylate deaminase	P32321	EgrG_000427100	6.2e-58	Pfam: 31-147 e-value 2.3e-26 Interpro: 32 – 156 Cytidine and deoxycytidylate deaminases, zinc-binding	CELLO: Cytoplasmic Reliability 1.294, Nuclear 1.566, Mitochondrial 1.114 TargetP: other 0.814 RC 2	NO
cytidine and deoxycytidylate deaminase	Q9BWV3	EgrG_000801700		Pfam: 294-430 e-value 2.2e-08 Interpro: 289 – 458 Cytidine and deoxycytidylate deaminases, zinc-binding	CELLO: Nuclear Reliability 2.857 TargetP: other 0.905 RC 1	NO

Deoxyuridine 5'-triphosphate nucleotidohydrolase	P33316	EgrG_000119100	7.9E-59	Pfam: 19-147 e-value: 9.8e-44 Interpro: 6 – 148 dUTPase-like	CELLO: Cytoplasmic Reliability 1.431 mitochondrial 1.142 TargetP: other 0.601 RC 5	NO
		EGR_04076	7.9E-59	Pfam: dUTPase 78-206 3.1e-43 Interpro: dUTPase-like 81-206	CELLO: plasmamembrane 2.069 TargetP: mTP 0.502NO	NO
Thymidylate kinase	P23919	EgrG_000756200	6.3E-22	Pfam: Thymidylate kinase 98-264 e-value 3.4e-30 Interpro: Thymidylate kinase-like domain 98-264	CELLO: Extracellular 1.380 PlasmaMembrane 1.141 TargetP 0.902 other	NO
		EGR_05989	6.3E-22	Pfam: Thymidylate kinase 28-195 e-value 1.5e-30; Interpro: Thymidylate kinase-like domain 28-198	CELLO: Cytoplasmic 1.846 TargetP 0.827 other	NO
CTP synthase	P17812	EgrG_000849200	1.3E-78	Pfam: CTP synthase N-terminus 2-272 e value 1.7e-119 Glutamine amidotransferase class-I 310-569 4e-32 Interpro: CTP synthase, N-terminal 2-271 Glutamine amidotransferase 300-621	CELLO: Cytoplasmic 2.049 TargetP: other 0.649	NO
		EGR_01526	1.3E-78	Pfam: CTP synthase N-terminus 2-272 e-value: 1.5e-120 Glutamine amidotransferase class-I 311-564 e-value 1.6e-31 Interpro CTP synthase, N-terminal 2 - 272 CTP synthase GATase domain 300 - 621	CELLO: Nuclear 3.354 TargetP: 0.649 other	NO

Uracil phosphoribosyltransferase	Q96BW1	EGR_08921	4.7E-48	Pfam: Uracil phosphoribosyltransferase 54-236 e-value 4.7e-46 Interpro: Phosphoribosyltransferase domain 118 - 221	CELLO: PlasmaMembrane 1.157 Mitochondrial 1.109 TargetP: 0.924 other	NO
		EgrG_000167100	5.5E-27	Pfam: Uracil phosphoribosyltransferase 51-242 e-value 3.5e-46 Interpro: Phosphoribosyltransferase domain 118-221	CELLO: Plasma Membrane 1.503 TargetP: other 0.924	NO
Thymidine phosphorylase	P19971	EgrG_000672400	5.9E-69	Pfam: Glycosyl transferase family, helical bundle domain 17-44 e-value: 1.9e-09 Glycosyl transferase family, a/b domain 56-286 e-value: 8e-35 Pyrimidine nucleoside phosphorylase C-terminal domain 343-407 e-value: 7.4e-18	TargetP: other 0.591	NO
		EGR_04394	5.9E-69	Pfam: Glycosyl transferase family, helical bundle domain 9-66 e-value: 9.7e-15 Glycosyl transferase family, a/b domain 78-287 e-value: 9.8e-33 Pyrimidine nucleoside phosphorylase C-terminal domain 383-447 e-value: 8.5e-18 Interpro: 9-66 Glycosyl transferase family 3, N-terminal domain, 78-287 Glycosyl transferase, family 3, 383-457	TargetP: 0.865	NO

				Pyrimidine nucleoside phosphorylase, C-terminal		
Uridine phosphorylase	Q16831	EgrG_000734400	1.3E-35	Pfam: Phosphorylase superfamily 91-338 e-value: 3.1e-27 Interpro: Nucleoside phosphorylase domain 91-338	CELLO: Cytoplasmic 2.200 TargetP: 0.951 secretory pathway	YES
		EGR_06363	7.4E-31	Pfam: Phosphorylase superfamily 78-337 e-value: 3.4e-25 Interpro: Nucleoside phosphorylase domain 78 - 337	CELLO: Cytoplasmic 2.973 TargetP: other 0,900	NO
Deoxycytidine kinase	P27707	EGR_10731	5.5E-5	Pfam: Deoxynucleoside kinase 9-215 e-value 2e-44 Interpro: Deoxynucleoside kinase domain 9-201	CELLO: Cytoplasmic 1.783 Nuclear 1.552; TargetP 0.904	NO
		EGR_10734	4.3E-6	Pfam: Deoxynucleoside kinase 7-165 e-value 1.1e-40 Interpro: Deoxynucleoside kinase domain 8-161	CELLO: nuclear 1.243; TargetP: other 0.711	NO
		EGR_10732	5.9E-6	Pfam: Deoxynucleoside kinase 23-182 e-value 5.9e-38 Interpro: Deoxynucleoside kinase domain 24-176	CELLO: plasma membrane 1.391 e Cytoplasmic 1.078 TargetP: SP 0.583	NO

		EGR_09862	1.0E-8	<p>Pfam: Deoxynucleoside kinase 8-52 e-value 2.2e-08; Deoxynucleoside kinase 46-184 e-value 8.9e-27</p> <p>Interpro:Deoxynucleoside kinase domain 8-47; Deoxynucleoside kinase domain 51-167</p>	<p>CELLO: nuclear 1.386 e cytoplasmic 1.140</p> <p>TargetP: 0.643 other</p>	NO
Uridine-cytidine kinase	Q9HA47	EgrG_000188900	1.5E-29	<p>Pfam: Phosphoribulokinase / Uridine kinase fam 72-260 e-value 8.6e-52 e Uracil phosphoribosyltransferase 360-566 7.4e-65; Interpro: Phosphoribulokinase/uridine kinase 72-259 e Phosphoribosyltransferase domain 428-542</p>	<p>CELLO: cytoplasmic 0.991</p> <p>TargetP: 0.967 other</p>	NO
		EGR_04818	1.5E-29	<p>Pfam: Phosphoribulokinase / Uridine kinase fam 147-335 e-value 1.2e-51 e Uracil phosphoribosyltransferase 435-685 e-value 7.9e-61; Intepro: Phosphoribulokinase/uridine kinase 147-334</p>	<p>CELLO: plasma membrane 2.772</p> <p>TargetP: 0.887 other</p>	NO
		EGR_03828	1.1E-15	<p>Pfam: Phosphoribulokinase / Uridine kinase fam 11-204 e-value 7.8e-39; Interpro: Phosphoribulokinase/uridine kinase 11-204</p>	<p>CELLO: cytoplasmic 1.476 nuclear 1.431;</p> <p>TargetP: other 0.662</p>	NO

		EgrG_000751300	1.1E-15	Pfam: Phosphoribulokinase / Uridine kinase fam 11-204 e-value 7.8e-39; Interpro: Phosphoribulokinase/uridine kinase 11-204	CELLO: Cytoplasmic 1.476 Nuclear: 1.431 ; TargetP: 0.662 other	NO
Uridine 5'-monophosphate synthase	P11172	EgrG_000392000	1.5e-25	Pfam: Phosphoribosyl transferase domain 54-168 e-value 3.9e-13; Orotidine 5'-phosphate decarboxylase / HUMPS family 246-400 e-value 2.2e-16; Interpro:Orotate phosphoribosyltransferase v 24-189; OMP decarboxylase 246-400	CELLO: Cytoplasmic 1.035*; TargetP:other 0.9948	NO
		EGR_05388	1.5e-25	Pfam: Phosphoribosyl transferase domain 1009-1148 e-value 2.1e-12; Orotidine 5'-phosphate decarboxylase / HUMPS family 1205-1376 e-value 1.4e-15; Interpro:Orotate phosphoribosyltransferase v 983-1148; OMP decarboxylase 1205-1359	CELLO: Nuclear 2.369*; TargetP: 0.9999 other	NO

Apêndice 3: Expressão de genes codificadores de enzimas da via de recuperação de purinas

Expression of purine synthesis genes at the transcription level							
Enzyme	Gene ID ¹	Gene ID 2	Gene expression RPKM 5				Gene expression. FPKM 6
			Adult	Oncosphere	Cyst	Protoscolex	Protoscolex
Adenine phosphoribosyltransferase	EgrG_000069100	EGR_09920	217	316	0	0	119
Adenosine deaminase	EgrG_000536400	EGR_07260	134	0	105	40	12
Adenosine kinase	EgrG_000125200	EGR_04160	13	0	0	0	0
Adenylate kinase	EgrG_000114000	EGR_04123	819	117	54	213	356
	EgrG_000421600	EGR_02376	47	22	46	33	102
	EgrG_000873200	EGR_06692	104	10	51	199	37
	EgrG_000229900						11
Adenylosuccinate lyase	EgrG_000054350	EGR_08614	18	15	37	83	35
Adenylosuccinate synthetase	EgrG_000054350	EGR_03221	111	17	103	26	35
AMP deaminase	EgrG_000392900	EGR_08262	31	17	39	21	13
GMP synthase	EgrG_001198000	EGR_08435	54	0	73	113	70
Guanylate kinase	EgrG_001029200	EGR_02947	0	164	11	98	51
	EgrG_000170300	EGR_10122	180	124	109	124	38
hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase	EgrG_000758800	EGR_06015	138	564	69	70	116
	EgrG_000758900	EGR_06016	235	30	104	118	65
inosine-5'-monophosphate dehydrogenase	EgrG_000120200	EGR_04088	39	57	80	121	109
nucleoside diphosphate kinase		EGR_02422	55	0	25	63	
	EgrG_000638900	EGR_01942	57	0	22	0	2112

	EgrG_001117000	EGR_05582	4283	297	4925	2295	2913
	EgrG_001145100						8
Purine nucleoside phosphorylase	EgrG_001124500	EGR_05171	8	0	9	91	42
	EgrG_000635700	EGR_10182	222	0	27	95	2
	EgrG_000635200	EGR_01914	412	52	18	52	19
	EgrG_000636100	EGR_01911	8	0	0	0	0
	EgrG_000636000	EGR_01912	349	0	9	39	78
Ribonucleoside reductase large	EgrG_000823000	EGR_01293	24	87	58	44	19
Ribonucleoside reductase small	EgrG_000437000	EGR_02227	179	174	197	76	135

1. According to Tsai, Zarowiecki et al. 2013
2. According to Zheng et al. 2013
3. Debarba et al. 2015
4. Lorenzatto et al. 2015
5. RNA-seq data in RPKM according to Tsai, Zarowiecki et al. 2013 except column H
6. RNA-seq data in FPKM according to Zheng et al. 2013

Up regulated in the adult stage 2
Up regulated in the oncosphere stage 2
Down regulated in the oncosphere stage 2
Newly Synthesized upon Induction of Strobilation 3
Identified in botton up and top down mass spectrometry 4

Apêndice 4: Expressão de genes codificadores de enzimas da via de recuperação de pirimidinas

Expression of pyrimidine synthesis genes at the transcriptional level							
Enzyme	Gene ID 1	Gene ID 2	Gene expression 3				
			Adult	Oncosphere	Protoscolex	Cyst	Protoscolex 4
cytidine deaminase	EgrG_000572800	EGR_09582	566	1238	36	26	387
CTP synthase	EgrG_000849200	EGR_01526	10	15	44	41	33
cytidine and deoxycytidylate deaminase	EgrG_000801700						30
Deoxycytidine kinase		EGR_10731	129	0	91	16	
		EGR_10734	0	0	76	0	
		EGR_10732	12	0	41	0	
		EGR_09862	177	39	27	0	
deoxycytidylate deaminase	EgrG_000427100						94
Deoxyuridine 5'-triphosphate nucleotidohydrolase		EGR_04076	85	140	49	35	
	EgrG_000119100						49
Thymidine kinase	EGR_09860	0	0	0	0	0	
	EgrG_000154200						50
Thymidine kinase 2 mitochondrial	EGR_10731	129	0	91	16		
	EgrG_000154500						290

	EgrG_000154250	EGR_10732	12	0	41	0	3
	EgrG_000154200	EGR_10734	0	0	76	0	50
Thymidine phosphorylase	EgrG_000672400	EGR_04394	47	0	0	0	4
Thymidylate kinase	EgrG_000756200	EGR_05989	9	0	54	0	52
Thymidylate synthase	EgrG_000260100	EGR_05276	19	0	81	0	30
UMP CMP kinase	EgrG_001107800						127
Uracil phosphoribosyltransferase	EgrG_000167100	EGR_08921	88	29	223	87	106
Uridine-cytidine kinase	EgrG_000188900	EGR_04818	26	0	7	21	9
	EgrG_000751300	EGR_03828	167	58	20	115	60
Uridine phosphorylase	EgrG_000734400	EGR_06363	507	0	176	42	
Uridine 5' monophosphate synthase	EgrG_000392000	EGR_05388	42	15	56	66	43

1. According to Tsai, Zarowiecki et al. 2013
2. According to Zheng et al. 2013
3. RNA-seq data in RPKM according to Tsai, Zarowiecki et al. 2013 except column H
4. RNA-seq data in FPKM according to Zheng et al. 2013

Apêndice 5: Ortólogos das enzimas da via de recuperação de nucleotídeos em cestódeos

Orthologs in cestodes 1															
Enzyme	orthologes in cestodes														
	<i>E. granulosus</i>	<i>E. multilocularis</i>	<i>Echinococcus canadensis</i>	<i>Taenia asiatica</i>	<i>Taenia saginata</i>	<i>Taenia solium</i>	<i>Taenia multiceps</i>	<i>Hydatigera taeniaeformis</i>	<i>Hymenolepis diminuta</i>	<i>Hymenolepis nana</i>	<i>hymenolepis microstoma</i>	<i>schistocophalus solidus</i>	<i>mesocostoides corti</i>	<i>dibothriocophalus latus</i>	<i>Spirometra erinaceieuropaei</i>
cytidine deaminase	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	1
cytidine and deoxycytidylate deaminase	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1
deoxycytidylate deaminase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Uridine phosphorylase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1
dUTP pyrophosphatase	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
UMP CMP kinase	1	1	0	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1
Uridine 5' monophosphate synthase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3
Thymidine phosphorylase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2
Thymidylate kinase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2
Thymidylate synthase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4
Ribonucleoside reductase large subunit	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1
Uracil phosphoribosyltransferase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	3
Adenine phosphoribosyltransferase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	0
Adenylosuccinate lyase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1
Adenylosuccinate synthetase	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	2
AMP deaminase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	3
GMP synthase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	2	2

Adenosine deaminase	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	2	2	1
Ribonucleoside reductase small subunit	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	2	1	1	1
CTP synthase	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	1	1	2	2	1
inosine-5'-monophosphate dehydrogenase	1	0	0	1	2	1	1	0	1	1	1	1	0	0	2
Adenosine kinase	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	2	0
Guanylate kinase	2	1	1	1	1	1		1	0	1	1	0	1	0	0
Uridine-cytidine kinase	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2
hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase	2	1	1		1	1	1	2	1	1	1	1	1	1	0
Adenylate kinase	4	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	2	0	0
Thymidine kinase	4	1	0	1	1	1	2	0	1	1	1	2	1	0	0
nucleoside diphosphate kinase	3	1	1	1	1		1	1	1	1	1	1	1	1	2
Purine nucleoside phosphorylase	5	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	0	2	0	0

single genes in cestodes
multiple genes in 1 cestode species
paralogs in 2 cestode species
multiple genes in 2 cestode species (2 in <i>E. granulosus</i>)
multiple genes in 2 cestode species (multiple in <i>E. granulosus</i>)
multiple genes in 5 cestode species (multiple genes in <i>E. granulosus</i>)

Apêndice 6: Parálogos das enzimas da via de recuperação de nucleotídeos em cestódeos

Paralogs in cestodes 2															
Enzyme	Paralogs in Cestodes														
	<i>E. granul</i> <i>osus</i>	<i>E. multiloc</i> <i>ularis</i>	<i>Echinoc</i> <i>occus</i> <i>canaden</i> <i>sis</i>	<i>Tae</i> <i>nia</i> <i>asiat</i> <i>ica</i>	<i>Taen</i> <i>ia</i> <i>sagi</i> <i>nata</i>	<i>Tae</i> <i>nia</i> <i>solim</i> <i>um</i>	<i>Taeni</i> <i>a</i> <i>multic</i> <i>eps</i>	<i>Hydatig</i> <i>era</i> <i>taeniaef</i> <i>ormis</i>	<i>Hymen</i> <i>olepis</i> <i>diminut</i> <i>a</i>	<i>Hymen</i> <i>olepis</i> <i>nana</i>	<i>hymen</i> <i>olepis</i> <i>microst</i> <i>oma</i>	<i>schistoce</i> <i>phalus</i> <i>solidus</i>	<i>mesoces</i> <i>toides</i> <i>corti</i>	<i>dibothrioc</i> <i>ephalus</i> <i>latus</i>	<i>Spirometr</i> <i>a</i> <i>erinaceie</i> <i>uropaei</i>
dUTP pyrophosphatase	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
Adenine phosphoribosyltransferase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	0
Ribonucleoside reductase large subunit	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1
Thymidine phosphorylase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2
Uridine 5' monophosphate synthase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3
Thymidylate kinase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2
Adenosine deaminase	1	1	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	3	2	1
Adenylosuccinate synthetase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	1	2
AMP deaminase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	5
inosine-5'-monophosphate dehydrogenase	1	0	0	1	2	1	1	0	1	1	1	1	0	0	2

Ribonucleoside reductase small subunit	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	2	1	1	1
cytidine deaminase	1	1	0	1	1	1	0	1	1	2	2	0	1	1	1	1
deoxycytidylate deaminase	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1
Adenosine kinase	3	3	3	3	3	3	1	3	5	4	4	3	0	4	0	0
Adenylate kinase	7	6	8	0	0	9	0	0	6	0	5	0	9	0	0	0
Adenylosuccinate lyase	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	1	3	2	2
CTP synthase	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	1	1	2	2	2	3
cytidine and deoxycytidylate deaminase	2	2	0	2	2	2	1	2	2	2	0	2	1	0	0	3
Thymidine kinase	4	4	0	4	3	4	3	0	2	3	3	3	4	0	0	0
Thymidylate synthase	2	2	2	2	2	2	1	1	2	2	2	1	2	1	1	6
UMP CMP kinase	8	9	0	6	6	10	6	0	7	7	0	0	9	0	0	0
Uracil phosphoribosyltransferase	3	3	3	3	3	3	3	3	4	6	6	3	3	0	0	10
Uridine-cytidine kinase	3	3	3	3	3	3	3	3	4	6	6	3	3	3	3	10
Uridine phosphorylase	2	2	1	1	1	2	2	2	2	0	2	2	2	2	0	1
GMP synthase	1	1	1	1	1	1	1	2	1	1	1	2	1	2	2	2
Guanylate kinase	2	2	2	2	2	2	0	2	0	2	2	0	2	0	0	0
hypoxanthine guanine	5	5	5	5	5	5	4	7	5	5	5	3	5	8	0	0

phosphoribosyl transferase															
nucleoside diphosphate kinase	4	4	4	5	4	4	4	4	4	4	6	5	4	5	4
Purine nucleoside phosphorylase	10	8	8	8	7	8	8	7	6	9	6	0	8	0	0

Apêndice 7: Análise de drogabilidade das enzimas da via de recuperação de nucleotídeos de *E. granulosus*

Druggability analysis												
Gene ID ¹	Ortolog <i>E. multilocularis</i>	Lethal phenotype in <i>caenorhabditis elegans</i> 1	lethal phenotype in <i>mus musculus</i> 1	Druggability score <i>E. multilocularis</i> 1	CHEMBL target	CHEMBL compounds	Drugbank target	drugbank compounds	TTD target	TTD drugs	TDR target	TDR drugs
EgrG_000069100	EmuJ_000069100		MUS_leth	3,45	YES	185	YES	5			DG2	50
EgrG_000536400	EmuJ_000536400	CEL_leth	MUS_leth	2,45	YES	528	YES	23	Successful target	6	DG2	50
EgrG_000125200	EmuJ_000125200		MUS_leth	2,5	YES	801	YES	7	Clinical Trial	5	DG2	468
EgrG_000114000	EmuJ_000114000			0,5	YES	44	YES	3			DG1	0
EgrG_000421600	EmuJ_000421700			1	YES	252	YES	6			DG1	4
EgrG_000873200	EmuJ_000873200			0	YES	44	YES	3			DG1	0
EgrG_000229900	EmuJ_000229900				YES	252	YES	1			DG1	4
EgrG_000054350	EmuJ_000056300	CEL_leth		0		1		2			DG1	0
EgrG_001056900	EmuJ_001056900	CEL_leth		3,35	YES	3	YES	9			DG2	3
EgrG_000392900	EmuJ_000392900			0	YES	40	YES	1			DG2	20
EgrG_001198000	EmuJ_001198000			1,25	YES	6	YES	3	Research target	5	DG2	1
EgrG_0010292	EmuJ_00102920			0,25	YES	5	YES	3			DG2	0

00	0											
EgrG_000170300	EmuJ_000170300			1,6	YES	5	YES	3			DG2	0
EgrG_000758800	EmuJ_000758800		MUS_leth	3,6	YES	264	YES	7			DG2	109
EgrG_000758900	EmuJ_000758900			0,95	YES	6	YES	7			DG2	109
EgrG_000120200	EmuJ_000120200		MUS_leth	4,25	YES	1152	YES	10	Successful target	3	DG2	
EgrG_000638900							NO				DG1	
EgrG_001117000	EmuJ_001117000			1	YES	4	YES	22	Research target			0
EgrG_001145100	EmuJ_001145100			0	YES	4	YES	22			DG1	0
EgrG_001124500	EmuJ_001124500			0,2	YES	34	YES	21	Clinical Trial	1		232
EgrG_000635700	EmuJ_000635700			1,35	YES	34	YES	21	clinical Trial	1	DG2	232
EgrG_000635200	EmuJ_000635200		MUS_leth	2,7	YES	84	YES	21	Clinical Trial	1	DG2	232
EgrG_000636100	EmuJ_002148600				YES	34	YES	21	clinical Trial	1	DG2	
EgrG_000636000	EmuJ_000636000			0,7	YES	34	YES	21	clinical Trial	1	DG2	232
EgrG_000823000	EmuJ_000823000	CEL_leth		2,25	YES	17	YES	8			DG2	83
EgrG_000437000	EmuJ_000437000			4	YES	14	YES	5	Successful target	10	DG2	24
EgrG_000572800	EmuJ_000572800			2,35	YES	59	YES	6	clinical Trial	1	DG2	0

EgrG_000849200	EmuJ_000849200	CEL_leth		1,25			YES	1	clinical Trial	2	DG2	0
EgrG_000801700	EmuJ_000801700			0,1	YES	3	NO				DG2	0
EgrG_000427100	EmuJ_000427100			1	YES	2	YES	1			DG2	0
EgrG_000119100	EmuJ_000119100			1,25	YES	359	YES	2	research target		DG2	217
EgrG_000154200	EmuJ_000154200			1,5	YES	78	YES	3	Research target		DG2	32
EgrG_000154500	EmuJ_000154500			0	YES	35	YES	3			DG2	32
EgrG_000154250	EmuJ_000154250			1	YES	78	YES	3			DG2	32
EgrG_000154200	EmuJ_000154200			1,5		78	YES	3			DG2	32
EgrG_000672400	EmuJ_000672400			0,5	YES	276	YES	7	clinical Trial	24	DG3	94
EgrG_000756200	EmuJ_000756200			1	YES	82	YES	8			DG2	5
EgrG_000260100	EmuJ_000260100	CEL_leth		3,1	YES	9	YES	24	Research target		DG3	492
EgrG_001107800	EmuJ_001107800	CEL_leth		3,1	YES	138	YES	7			DG1	0
EgrG_000167100	EmuJ_000167100			1,15							DG1	1
EgrG_000188900	EmuJ_000188900			-0,1	YES	5	YES	4			DG1	1
EgrG_000751300	EmuJ_000751300			1,5	YES	5	YES	5			DG1	1
EgrG_000734400	EmuJ_000734400			0,45	YES	36	YES	2			DG2	9
EgrG_000392000	EmuJ_000392000			1,2	YES	18	YES	2	Research target	7	DG2	5

According to Tsai, Zarowiecki et al. 2013

no data found
Different target

Apêndice 8: Enzimas da via de recuperação de nucleotídeos ranqueadas de acordo com sua drogabilidade

Targets ranked according to their druggability					
Enzyme	Gene	CHEMBL target	Drugbank target	TTD target	TDR target
Ribonucleoside reductase small	EgrG_000437000	YES	YES	Successful target	DG2
Adenosine deaminase	EgrG_000536400	YES	YES	Successful target	DG2
inosine-5'-monophosphate dehydrogenase	EgrG_000120200	YES	YES	Successful target	DG2
Thymidine phosphorylase	EgrG_000672400	YES	YES	Clinical Trial	DG3
Thymidylate synthase	EgrG_000260100	YES	YES	Research target	DG3
Purine nucleoside phosphorylase	EgrG_000635700	YES	YES	Clinical Trial	DG2
	EgrG_000635200	YES	YES	Clinical Trial	DG2
	EgrG_000636100	YES	YES	Clinical Trial	DG2
	EgrG_000636000	YES	YES	Clinical Trial	DG2
cytidine deaminase	EgrG_000572800	YES	YES	Clinical Trial	DG2
Adenosine kinase	EgrG_000125200	YES	YES	Clinical Trial	DG2
GMP synthase	EgrG_001198000	YES	YES	Research target	DG2
Deoxyuridine 5'-triphosphate nucleotidohydrolase	EgrG_000119100	YES	YES	Research target	DG2
Thymidine kinase 2 mitochondrial	EgrG_000154500	YES	YES	Research target	DG2
Uridine 5' monophosphate synthase	EgrG_000392000	YES	YES	Research target	DG2
Thymidine kinase 2 mitochondrial	EgrG_000154250	YES	YES	Research target	DG2
Thymidine kinase	EgrG_000154200	YES	YES	Research target	DG2
nucleoside diphosphate kinase	EgrG_001145100	YES	YES	Research target	DG1
	EgrG_001117000	YES	YES	Research target	DG1
Purine nucleoside phosphorylase	EgrG_001124500	YES	YES	Clinical Trial	
CTP synthase	EgrG_000849200	NO	YES	Clinical Trial	DG2

Thymidine kinase 2 mitochondrial	EgrG_000154200	NO	YES	Research target	DG2
Adenine phosphoribosyltransferase	EgrG_000069100	YES	YES	No hit	DG2
Adenylosuccinate synthetase	EgrG_001056900	YES	YES	No hit	DG2
AMP deaminase	EgrG_000392900	YES	YES	No hit	DG2
Guanylate kinase	EgrG_001029200	YES	YES	No hit	DG2
	EgrG_000170300	YES	YES	No hit	DG2
hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase	EgrG_000758800	YES	YES	No hit	DG2
	EgrG_000758900	YES	YES	No hit	DG2
Uridine phosphorylase	EgrG_000734400	YES	YES	No hit	DG2
deoxycytidylate deaminase	EgrG_000427100	YES	YES	No hit	DG2
Thymidylate kinase	EgrG_000756200	YES	YES	No hit	DG2
Ribonucleoside reductase large	EgrG_000823000	YES	YES	Different target	DG2
UMP CMP kinase	EgrG_001107800	YES	YES	No hit	DG1
Uridine-cytidine kinase	EgrG_000188900	YES	YES	No hit	DG1
	EgrG_000751300	YES	YES	No hit	DG1
	EgrG_000114000	YES	YES	No hit	DG1
Adenylate kinase	EgrG_000421600	YES	YES	No hit	DG1
	EgrG_000873200	YES	YES	Different target	DG1
	EgrG_000229900	YES	YES	Different target	DG1
	EgrG_000801700	YES	NO	Different target	DG2
cytidine and deoxycytidylate deaminase	EgrG_000801700	YES	NO	Different target	DG2
Uracil phosphoribosyltransferase	EgrG_000167100	Different target	YES	Different target	DG1
Adenylosuccinate lyase	EgrG_000054350	Different target	NO	Different target	DG1

Apêndice 9: Análise de seleção positiva das enzimas da via de recuperação de nucleotídeos

Presence of sites under positive selection				
Table 1. Positive selection of the adenosine deaminase. Results of non-synonymous and synonymous substitutions rates analysis for estimation of ω , and detection of positive selection for sites with $\omega > 1$.				
Model ¹	Estimates of parameters ²	-lnL	BEB ³	NEB ⁴
M1a: nearly neutral (2)	p0=0.71421; p1=0.28579; w0=0.12404; w1=1.00000	-14041.737726	NA	NA
M2a: positive selection (4)	p0=0.71421; p1=0.28579; p2=0.00000; w0=0.12404; w1=1.00000; w2=7.40167	-14041.737726	NA	NA
M7: β (2)	p = 0.82885 q = 4.16384	-13803.628917	NA	NA
M8: β & $\omega > 1$ (4)	p0 = 0.99747; p1 = 0.00253; p = 0.83956; q = 4.28915; w = 1.05984	-13803.501585	0	0
Table 2. Positive selection of the HGPRT. Results of non-synonymous and synonymous substitutions rates analysis for estimation of ω , and detection of positive selection for sites with $\omega > 1$.				
Model ¹	Estimates of parameters ²	-lnL	BEB ³	NEB ⁴
M1a: nearly neutral (2)	p0=0.78917; p1=0.21083; w0=0.08836; w1=1.00000	-13802.718003	NA	NA
M2a: positive selection (4)	p0=0.78917 ; p1= 0.21083; p2=0.00000; w0=0.08836; w1=1.00000; w2=27.09516	-13802.717933	NA	NA
M7: β (2)	p = 0.67347 q = 4.60716	-13498.047503	NA	NA
M8: β & $\omega > 1$ (4)	p0=0.99257; p=0.70379; p1=0.00743; q=5.18796; w= 1.40080	-13494.237013	1	0
Table 3. Positive selection of the RNR1. Results of non-synonymous and synonymous substitutions rates analysis for estimation of ω , and detection of positive selection for sites with $\omega > 1$.				
Model ¹	Estimates of parameters ²	-lnL	BEB ³	NEB ⁴
M1a: nearly neutral (2)	p0=0.94890; p1=0.05110; w0=0.04159; w1=1.00000	-31186.444578	NA	NA
M2a: positive selection (4)	p0= 0.94891; p1=0.05109; p2=0.00000; w0=0.04160; w1=1.00000; w2=1.00000	-31186.444592	NA	NA
M7: β (2)	p = 0.43694 q = 7.26299	-30394.942267	NA	NA
M8: β & $\omega > 1$ (4)	p0=0.99999; p=0.43695; p1=0.00001; q=7.26375; w=1.00000	-30394.946122	0	0
Table 4. Positive selection of the RNR2. Results of non-synonymous and synonymous substitutions rates analysis for estimation of ω , and detection of positive selection for sites with $\omega > 1$.				

Model ¹	Estimates of parameters ²	-lnL	BEB ³	NEB ⁴
M1a: nearly neutral (2)	p0=0.95948; p1=0.04052; w0= 0.02043; w1=1.00000	-13682.779104	NA	NA
M2a: positive selection (4)	p0=0.95948; p1=0.04052; p2=0.00000; w0=0.02043; w1=1.00000; w2=40.19290	-13682.779104	NA	NA
M7: β (2)	p = 0.41347 q = 11.82503	-13371.985593	NA	NA
M8: β & $\omega > 1$ (4)	p0 = 0.99999; p = 0.41348; p1 = 0.00001; q = 11.82569; w = 1.00000	-13371.988176	0	0
Table 5. Positive selection of the thymidine phosphorylase. Results of non-synonymous and synonymous substitutions rates analysis for estimation of ω , and detection of positive selection for sites with $\omega > 1$.				
Model ¹	Estimates of parameters ²	-lnL	BEB ³	NEB ⁴
M1a: nearly neutral (2)	p0=0.79608; p1=0.20392; w0=0.07114; w1=1.00000	-12150.317272	NA	NA
M2a: positive selection (4)	p0=0.79608; p1=0.20392; p2=0.00000; w0=0.07114; w1=1.00000; w2=9.80902	-12150.317272	NA	NA
M7: β (2)	p = 0.50130 q = 2.89324	-11985.397967	NA	NA
M8: β & $\omega > 1$ (4)	p0 =0.98732; p=0.51811; p1= 0.01268; q= 3.19559; w= 1.00000	-11985.043280	0	0
Table 6. Positive selection of the thymidylate synthase. Results of non-synonymous and synonymous substitutions rates analysis for estimation of ω , and detection of positive selection for sites with $\omega > 1$.				
Model ¹	Estimates of parameters ²	-lnL	BEB ³	NEB ⁴
M1a: nearly neutral (2)	p0=0.97090; p1= 0.02910; w0= 0.04619; w1=1.00000	-11061.444238	NA	NA
M2a: positive selection (4)	p0=0.97090; p1=0.02910; p2=0.00000; w0=0.04619; w1=1.00000; w2=8.08778	-11061.444227	NA	NA
M7: β (2)	p = 0.86464 q = 14.02794	-10915.871437	NA	NA
M8: β & $\omega > 1$ (4)	p0= 0.99999; p= 0.86465; p1 = 0.00001; q = 14.02830; w= 1.00000	-10915.872836	0	0
Table 7. Positive selection of the adenylosuccinate synthase. Results of non-synonymous and synonymous substitutions rates analysis for estimation of ω , and detection of positive selection for sites with $\omega > 1$.				
Model ¹	Estimates of parameters ²	-lnL	BEB ³	NEB ⁴
M1a: nearly neutral (2)	p0= 0.87585; p1=0.12415; w0=0.07946; w1=1.00000	-15480.085470	NA	NA
M2a: positive selection (4)	p0=0.87585; p1=0.12415; p2=0.00000; w0=0.07946; w1=1.00000; w2=9.67725	-15480.085471	NA	NA
M7: β (2)	p = 1.03541 q = 7.20259;	-15333.539429	NA	NA

M8: β & $\omega > 1$ (4)	p0 = 0.99999; p = 1.03571; p1 = 0.00001; q= 7.20653; w = 1.00000	-15333.539892	0	0
Table 8. Positive selection of the AMP deaminase. Results of non-synonymous and synonymous substitutions rates analysis for estimation of ω , and detection of positive selection for sites with $\omega > 1$.				
Model ¹	Estimates of parameters ²	-lnL	BEB ³	NEB ⁴
M1a: nearly neutral (2)	p0=0.81855; p1=0.18145; w0=0.07781; w1=1.00000	-25037.221918	NA	NA
M2a: positive selection (4)	p0=0.81855; p1=0.18145; p2=0.00000; w0=0.07781; w1=1.00000; w2=14.89978	-25037.221773	NA	NA
M7: β (2)	p = 0.50991 q = 3.55692	-24599.905771	NA	NA
M8: β & $\omega > 1$ (4)	p0 = 0.97186; p= 0.57000; p1 = 0.02814; q = 4.80055; w= 1.00000;	-24593.136749	0	0
Table 9. Positive selection of the IMPDH. Results of non-synonymous and synonymous substitutions rates analysis for estimation of ω , and detection of positive selection for sites with $\omega > 1$.				
Model ¹	Estimates of parameters ²	-lnL	BEB ³	NEB ⁴
M1a: nearly neutral (2)	p0=0.93825; p1=0.06175; w0= 0.06720; w1=1.00000	-12863.397378	NA	NA
M2a: positive selection (4)	p0=0.93825; p1=0.06175; p2=0.00000; w0= 0.06720; w1=1.00000; w2=28.77937	-19006.728261	NA	NA
M7: β (2)	p = 0.78865 q = 8.14387	-18790.025304	NA	NA
M8: β & $\omega > 1$ (4)	p0 = 0.98842; p=0.85697; p1 =0.01158; q= 9.98395; w= 1.00000	-18782.369103	0	0
Table 10. Positive selection of the APRT. Results of non-synonymous and synonymous substitutions rates analysis for estimation of ω , and detection of positive selection for sites with $\omega > 1$.				
Model ¹	Estimates of parameters ²	-lnL	BEB ³	NEB ⁴
M1a: nearly neutral (2)	p0=0.69133; p1=0.30867; w0=0.14700; w1= 1.00000	-10116.728965	NA	NA
M2a: positive selection (4)	p0=0.69133; p1=0.30867; p2=0.00000; w0=0.14700; w1=1.00000; w2=29.94415	-10116.728970	NA	NA
M7: β (2)	p = 0.83744 q = 2.15357	-10038.021902	NA	NA
M8: β & $\omega > 1$ (4)	p0=0.96216; p=0.89931; p1=0.03784; q= 2.61232; w= 1.86518	-10035.640793	0	0
Table 11. Positive selection of the GMP synthase. Results of non-synonymous and synonymous substitutions rates analysis for estimation of ω , and detection of positive selection for sites with $\omega > 1$.				
Model ¹	Estimates of parameters ²	-lnL	BEB ³	NEB ⁴

M1a: nearly neutral (2)	p0=0.82584; p1=0.17416; w0=0.06947; w1=1.00000	-24941.517252	NA	NA
M2a: positive selection (4)	p0=0.82584; p1=0.17416; p2=0.00000; w0=0.06947; w1=1.00000; w2=10.82640	-24941.517252	NA	NA
M7: β (2)	p = 0.67921 q = 5.31385	-24590.082442	NA	NA
M8: β & $\omega > 1$ (4)	p0=0.99628; p= 0.68740; p1=0.00372; q=5.48682; w=1.00000	-24590.001833	0	0
Table 12. Positive selection of the TMK. Results of non-synonymous and synonymous substitutions rates analysis for estimation of ω , and detection of positive selection for sites with $\omega > 1$.				
Model ¹	Estimates of parameters ²	-lnL	BEB ³	NEB ⁴
M1a: nearly neutral (2)	p0=0.93939; p1=0.06061; w0=0.09857; w1=1.00000	-10366.935531	NA	NA
M2a: positive selection (4)	p0=0.93939; p1=0.03959; p2=0.02102; w0= 0.09857; w1=1.00000; w2=1.00000	-10366.935638	NA	NA
M7: β (2)	p = 0.88820 q = 6.64993	-10195.558068	NA	NA
M8: β & $\omega > 1$ (4)	p0= 0.99999; p= 0.88824; p1= 0.00001; q = 6.65054; w = 1.00000	-10195.558444	0	0
Table 13. Positive selection of the cytidyde deaminase. Results of non-synonymous and synonymous substitutions rates analysis for estimation of ω , and detection of positive selection for sites with $\omega > 1$.				
Model ¹	Estimates of parameters ²	-lnL	BEB ³	NEB ⁴
M1a: nearly neutral (2)	p0=0.87559; p1=0.12441; w0= 0.14056; w1=1.00000	-7019.762530	NA	NA
M2a: positive selection (4)	p0=0.87559; p1=0.12441; p2=0.00000; w0= 0.14056; w1=1.00000; w2=30.92962	-7019.762530	NA	NA
M7: β (2)	p = 0.89890 q = 3.88800	-6910.444643	NA	NA
M8: β & $\omega > 1$ (4)	p0=0.99999; p= 0.89892; p1= 0.00001; q= 3.88820; w= 1.00000	-6910.444860	0	0
Table 14. Positive selection of the deoxycytidylate deaminase. Results of non-synonymous and synonymous substitutions rates analysis for estimation of ω , and detection of positive selection for sites with $\omega > 1$.				
Model ¹	Estimates of parameters ²	-lnL	BEB ³	NEB ⁴
M1a: nearly neutral (2)	p0=0.69917; p1=0.30083; w0= 0.06709; w1=1.00000	-10079.477540	NA	NA
M2a: positive selection (4)	p0=0.69878; p1=0.25807; p2=0.04315; w0=0.06781; w1=1.00000; w2=4.66543	-10076.227294	NA	NA
M7: β (2)	p = 0.46572 q = 2.01915	-9956.899461	NA	NA
M8: β & $\omega > 1$ (4)	p0=0.91555; p= 0.57626; p1=0.08445; q= 4.16507; w = 2.96176	-9938.246199	3	7

Table 15. Positive selection of the UMP-CMP kinase. Results of non-synonymous and synonymous substitutions rates analysis for estimation of ω , and detection of positive selection for sites with $\omega > 1$.				
Model¹	Estimates of parameters²	-lnL	BEB³	NEB⁴
M1a: nearly neutral (2)	p0=0.66926; p1=0.33074; w0=0.10783; w1=1.00000	-8649.094095	NA	NA
M2a: positive selection (4)	p0=0.66319; p1=0.26544; p2=0.07137; w0=0.11226; w1=1.00000; w2=9.77990	-8636.282012	NA	NA
M7: β (2)	p = 0.56435 q = 1.57190	-8544.434611	NA	NA
M8: β & $\omega > 1$ (4)	p0=0.91070; p=0.66010; p1= 0.08930; q=2.66031; w=6.17585	-8520.554303	3	11
Table 15. Positive selection of the dUTP_pyrophosphohatase. Results of non-synonymous and synonymous substitutions rates analysis for estimation of ω , and detection of positive selection for sites with $\omega > 1$.				
Model¹	Estimates of parameters²	-lnL	BEB³	NEB⁴
M1a: nearly neutral (2)	p0=0.87162; p1=0.12838; w0=0.06711; w1=1.00000	-5506.880019	NA	NA
M2a: positive selection (4)	p0=0.87162; p1=0.12838; p2=0.00000; w0=0.06711; w1=1.00000; w2=24.44894	-5506.880019	NA	NA
M7: β (2)	p = 0.47892 q = 3.15374	-5429.314754	NA	NA
M8: β & $\omega > 1$ (4)	p0=0.96696; p= 0.59939; p1=0.03304; q= 5.53408;w= 1.30476	-5420.861260	0	3
² Model estimates of parameters generated by CodeML analysis				
³ Positively selected sites with P>99% estimated by Bayes Empirical Bayes analysis. Parentheses: alignment syte position/aminiacid/posterior probability. N/A: Not allowed, 0: no identification.				
⁴ Positively selected sites with P>99% estimated by Naive Empirical Bayes analysis. Parentheses: alignment syte position/aminiacid/posterior probability. N/A: Not allowed, 0: no identification.				
Sites under positive selection in deoxycytidylate deaminase				
Naive Empirical Bayes (NEB) analysis	Bayes Empirical Bayes (BEB) analysis (Yang, Wong & Nielsen 2005. Mol. Biol. Evol. 22:1107-1118)			
Positively selected sites (*: P>95%; **: P>99%)	Positively selected sites (*: P>95%; **: P>99%)			
(amino acids refer to 1st sequence: echinococcus_granulosus_prjeb121 EgrG_000427100)	(amino acids refer to 1st sequence: echinococcus_granulosus_prjeb121 EgrG_000427100)			

Pr(w>1)	post mean	+ SE for w	Pr(w>1)	post mean	+ SE for w			
227 -	0.888	2.671	227 -	0.659	2.555 +- 1.588			
230 -	0.772	2.360	230 -	0.543	2.183 +- 1.670			
231 -	0.995**	2.948	231 -	0.961*	3.469 +- 1.034			
233 D	0.779	2.382	234 G	0.935	3.394 +- 1.121			
234 G	0.989*	2.934	235 D	0.765	2.843 +- 1.433			
235 D	0.955*	2.845	236 G	0.780	2.869 +- 1.360			
236 G	0.984*	2.920	237 R	0.786	2.914 +- 1.387			
237 R	0.977*	2.904	239 G	0.982*	3.521 +- 0.956			
238 G	0.662	2.083	244 L	0.971*	3.487 +- 0.989			
239 G	0.999**	2.959	245 G	0.806	3.019 +- 1.446			
240 L	0.891	2.681	631 -	0.512	2.073 +- 1.651			
244 L	0.999**	2.959						
245 G	0.929	2.778						
631 -	0.762	2.331						
Sites under positive selection in UMP-CMP kinase								
Naive Empirical Bayes (NEB) analysis			Bayes Empirical Bayes (BEB) analysis (Yang, Wong & Nielsen 2005. Mol. Biol. Evol. 22:1107-1118)					
Positively selected sites (*: P>95%; **: P>99%)			Positively selected sites (*: P>95%; **: P>99%)					
(amino acids refer to 1st sequence: echinococcus_granulosus_prjeb121 EgrG_001107800)			(amino acids refer to 1st sequence: echinococcus_granulosus_prjeb121 EgrG_001107800)					
Pr(w>1)	post mean	+ SE for w	Pr(w>1)	post mean	+ SE for w			
6 -	0.638	6.603	6 -	0.645	6.106 +- 3.938			

7 -	0.679	6.959	7 -	0.668	6.290 +- 3.921			
10 -	0.858	8.535	10 -	0.848	7.752 +- 3.109			
11 -	0.521	5.551	11 -	0.514	5.024 +- 4.115			
14 -	0.928	9.137	14 -	0.911	8.241 +- 2.640			
15 -	0.902	8.915	15 -	0.884	8.036 +- 2.862			
18 -	0.893	8.842	18 -	0.886	8.053 +- 2.815			
19 -	0.944	9.289	19 -	0.940	8.480 +- 2.277			
20 -	0.952*	9.362	20 -	0.949	8.549 +- 2.171			
21 -	0.766	7.673	21 -	0.704	6.536 +- 3.964			
24 -	0.928	9.145	24 -	0.923	8.343 +- 2.470			
25 -	0.740	7.495	25 -	0.735	6.837 +- 3.691			
26 -	0.849	8.442	26 -	0.812	7.455 +- 3.409			
27 -	0.970*	9.519	27 -	0.965*	8.681 +- 1.955			
28 -	0.927	9.140	28 -	0.911	8.271 +- 2.593			
29 -	0.895	8.860	29 -	0.890	8.078 +- 2.785			
284 A	0.765	7.715	284 A	0.799	7.266 +- 3.364			
292 R	0.843	8.400	292 R	0.846	7.712 +- 3.112			
Sites under positive selection in dUTP pyrophosphatase								
Naive Empirical Bayes (NEB) analysis			Bayes Empirical Bayes (BEB) analysis (Yang, Wong & Nielsen 2005. Mol. Biol. Evol. 22:1107-1118)					
Positively selected sites (*: P>95%; **: P>99%)			Positively selected sites (*: P>95%; **: P>99%)					
(amino acids refer to 1st sequence: echinococcus_granulosus_prjeb121 EgrG_000119100)			(amino acids refer to 1st sequence: echinococcus_granulosus_prjeb121 EgrG_000119100)					
Pr(w>1) post mean +- SE for w			Pr(w>1) post mean +- SE for w					
2 A	0.853	1.161	3 T	0.835	1.597 +- 0.713			

3 T	0.995**	1.300	4 A	0.625	1.296 +- 0.529			
4 A	0.990**	1.295	5 V	0.862	1.594 +- 0.610			
5 V	0.998**	1.303						
6 L	0.778	1.086						

Sites under positive selection in HGPRT					
Naive Empirical Bayes (NEB) analysis			Bayes Empirical Bayes (BEB) analysis (Yang, Wong & Nielsen 2005. Mol. Biol. Evol. 22:1107-1118)		
Positively selected sites (*: P>95%; **: P>99%)			Positively selected sites (*: P>95%; **: P>99%)		
(amino acids refer to 1st sequence: dibotheniocephalus_latus_prjeb1206 DILT_0000372201)			(amino acids refer to 1st sequence: dibotheniocephalus_latus_prjeb1206 DILT_0000372201)		
Pr(w>1) post mean +- SE for w			Pr(w>1) post mean +- SE for w		
11 -	0.995**	1.39	11 -	0.808	1.509 +- 0.555

Apêndice 10: Curriculum Vitae resumido

CURRICULUM VITAE PASA PANESSO, MARCELO

Dados pessoais

Nome: Marcelo Pasa Panesso

Local e data de nascimento: Cúcuta, Norte de Santander, Colômbia e 27/09/1997

Endereço profissional: CBiot/UFRGS, Av. Bento Gonçalves, 9500, Bloco IV, prédio 43-421, Sala 204/206, 91501-970, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

Telefone profissional: +55 51 986010957 **E-mail:** marcelopanesso@gmail.com

Formação acadêmica

2015-2019 Graduação em Biotecnologia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Brasil

Trabalho de Conclusão de Curso: Estudo das vias envolvidas na síntese de nucleotídeos em *Echinococcus* spp. (Platyhelminthes, Cestoda) para a identificação de novos alvos para o controle parasitário

2020 Mestrado em andamento em biologia molecular e celular. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS, Brasil.

Título: Estudo das vias de síntese de nucleotídeos como alvos para reposicionamento de fármacos como anti-helmínticos

Orientador: Prof. Dr. Henrique Bunselmeyer Ferreira

Co-orientador: Dr. Martin Cancela Sehabiague

Atividades Científicas e Técnicas

2016-2017 Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Iniciação Científica, Carga horária: 20 h.

2017-2018 Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Iniciação Científica, Carga horária: 20 h.

2018-2019 Vínculo: Bolsista, Enquadramento Funcional: Iniciação Científica, Carga horária: 20 h.