

HIDATIDOSIS: EN BUSCA DE NUEVAS ESTRATEGIAS PARA EL TRATAMIENTO

Palabras clave: Hidatidosis, equinococosis quística, *Echinococcus granulosus*, enfermedades desatendidas, cestodos, enzimas modificadoras de histonas, HDACs, microRNA, blancos de fármacos.

Key words: Hydatidosis, cystic echinococcosis, *Echinococcus granulosus*, neglected diseases, cestodes, histone modifying enzymes, HDACs, microRNA, drug targets.

La hidatidosis o equinococosis quística es una zoonosis de importancia en la Salud Pública de nuestro país y la región. Esta enfermedad está incluida entre las 20 enfermedades desatendidas priorizadas por la OMS y es causada por parásitos cestodos del complejo de especies *Echinococcus granulosus sensu lato* (s.l.). Las opciones para el tratamiento quimioterapéutico están prácticamente limitadas al albendazol, que presenta baja eficacia y requiere tratamientos prolongados, causando a menudo efectos secundarios e intolerancia. *E. granulosus* s.l. tiene un ciclo de vida complejo y presenta particularidades en su desarrollo incluyendo una alta plasticidad fenotípica, sugiriendo un control preciso de la expresión génica posiblemente ejercido en varios niveles. En nuestro laboratorio nos enfocamos en el estudio de moléculas de cestodos involucradas en el control de la expresión génica como las enzimas desacetilasas de histonas (HDACs) y los microRNAs (miRNAs). La integración de estrategias bioinformáticas y experimentales, incluyendo la implementación de una plataforma para la evaluación de potenciales fármacos, permitió la identificación y caracterización de las HDACs y los miRNAs de varias especies de cestodos, así como la evaluación de su potencial como blancos farmacológicos. Los resultados obtenidos sugieren que estas moléculas cumplen papeles importantes en el desarrollo y supervivencia en el hospedero de estos parásitos, y que podrían ser blancos de fármacos selectivos para tratar enfermedades tropicales desatendidas como la equinococosis quística.

Hydatidosis or cystic echinococcosis is a zoonosis of Public Health importance in Argentina and other countries of the region. This disease is included among the 20 neglected diseases prioritized by the WHO and is caused by cestode parasites of the species complex *Echinococcus granulosus sensu lato* (s.l.). The chemotherapeutic options are practically limited to albendazole, which has low efficacy and requires prolonged treatments, often causing side effects and intolerance. *E. granulosus* s.l. has a complex life cycle and presents particularities in its development including a high phenotypic plasticity, suggesting a precise control of gene expression possibly exerted at different levels. In our laboratory we focus on the study of cestode molecules involved in the control of gene expression such as histone deacetylase enzymes (HDACs) and microRNAs (miRNAs). The integration of bioinformatics and experimental strategies, including the implementation of a platform for the evaluation of potential drugs, allowed the identification and characterization of HDACs and miRNAs from several cestode species, as well as the evaluation of their potential as pharmacological targets. The results obtained suggest that these molecules play important roles in the development and survival of these parasites in the host, and that they could be targets of selective drugs to treat neglected tropical diseases such as cystic echinococcosis.

■ **María del Pilar Cevasco Contreras^{1,2}, Andrés Grecco^{1,2}, Ana Maria Celentano^{1,2}, Hugo Rolando Vaca^{1,2}*, Mara Cecilia Rosenzvit^{1,2*}**

1. Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

2. Instituto de Investigaciones en Microbiología y Parasitología Médica (IMPAM, UBA-CONICET), Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

&. Dirección actual: Université de Strasbourg, CNRS, INSERM, Institut de Génétique et de Biologie Moléculaire et Cellulaire, UMR 7104, U 1258, 67404 Illkirch, France; IGBMC, Department of Integrated Structural Biology, 1 rue Laurent Fries, B.P. 10142, 67404 Illkirch Cedex, France.

*E-mail: mrosenzvit@fmed.uba.ar

■ 1. LA HIDATIDOSIS Y SU AGENTE ETIOLÓGICO

1.1. LA HIDATIDOSIS

La hidatidosis o equinococosis quística es una zoonosis causada por parásitos cestodos del complejo de

especies *Echinococcus granulosus sensu lato* (s.l.). Desde hace años se la reconoce como un problema de salud humana y animal, con una mayor ocurrencia de casos en zonas rurales de producción de ganado ovino, bovino, porcino y caprino, donde el perro, hospedero esencial

del ciclo biológico, constituye un elemento distintivo ligado al manejo animal y al grupo familiar y, generalmente, en comunidades con economías de subsistencia (PANAFTOSA/SPV, OPS/OMS, 2022).

Actualmente, la Organización Mundial de la Salud (OMS), considera a esta enfermedad una prioridad en América y la ha incluido en el Plan de Acción para el Control de las Enfermedades Infecciosas Desatendidas para el período 2021-2030, prestando atención a la vigilancia, el diagnóstico, el manejo y la prevención de casos humanos (OMS, 2020). La hidatidosis quística está distribuida a nivel mundial en países de Europa y África que rodean el Mediterráneo, en Sudán y otros países de África, y en países de Asia Central como Kazajistán, China y Mongolia (Craig y col., 2007) y es endémica o hiperendémica en América del Sur, especialmente en Argentina, el sur de Brasil, Uruguay, Chile y regiones montañosas de Perú y Bolivia (Cucher y col., 2016).

En Argentina, la equinocosis quística es de denuncia obligatoria. Tiene mayor prevalencia en las zonas rurales, tradicionalmente en las de cría de ovinos y caprinos (Patagonia y precordillera) con infraestructura sanitaria deficiente (sin salas de faena, redes de agua potable, pozos para la eliminación de vísceras, etc.), escaso conocimiento de la enfermedad y una población de perros sin atención veterinaria (Álvarez y col., 2017). Actualmente se detecta también como un problema sanitario en Argentina en las zonas rurales de la Pampa húmeda con cría de bovinos y porcinos, con elevada prevalencia de casos humanos reportados en la Provincia de Buenos Aires y Córdoba (OPS/OMS, 2022).

En los seres humanos, la enfermedad puede ser grave, en ocasiones mortal, y el tratamiento es prolongado y costoso. La infección humana suelen adquirirla los niños por geofagia o por contacto con perros. Las localizaciones más frecuentes de los quistes hidatídicos son la hepática (67-89%) y la pulmonar

(10-15%). Las manifestaciones clínicas de la enfermedad son variadas y están determinadas por el lugar, el tamaño y la condición de los quistes. Por ejemplo, los quistes hepáticos crecen lentamente y suelen ser asintomáticos durante muchos años, aun cuando desarrollen un tamaño importante, en cambio en el pulmón el quiste puede crecer relativamente rápido con la aparición de síntomas en un alto porcentaje de los casos (Ministerio de Salud, 2012). En la equinocosis primaria, el metacestodo se desarrolla a partir de una oncosfera que se ha establecido con éxito en el órgano/tejido afectado. Por el contrario, en la equinocosis secundaria el tejido larvario se propaga desde el sitio primario de establecimiento a otras partes del cuerpo. La equinocosis secundaria es la formación de múltiples quistes hidatídicos, cada uno a partir de un protoescólex, que ocurre por la liberación de protoescolices por la rotura espontánea o inducida por traumatismo de un quiste o de manera accidental durante el proceso quirúrgico (Thompson, 2017).

Con respecto al tratamiento, existen tres posibilidades: cirugía tradicional, quimioterapia con benzimidazoles e intervenciones percutáneas como el PAIR (punción, aspiración, inyección, reaspiración). Además, en quistes asintomáticos y no complicados se puede hacer seguimiento expectante (*watch and wait*) a través de análisis por imágenes (Brunetti y col., 2010). La remoción quirúrgica de los quistes hidatídicos intactos, cuando es posible, es el tratamiento más efectivo para la cura de la enfermedad, aunque no garantiza que no se produzca recurrencia. Asimismo, la cirugía es el tratamiento de preferencia cuando los quistes en el hígado son grandes (más de 10 centímetros de diámetro), están infectados de manera secundaria o están localizados en

órganos como el cerebro, el pulmón o el riñón (Moro y col., 2009). Por otro lado, la quimioterapia pre y post intervención quirúrgica ofrece la ventaja de reducir el riesgo de recurrencia de la enfermedad y la infección intraperitoneal que podría desarrollarse a partir de la ruptura del quiste, ya sea de manera espontánea o durante la cirugía o drenaje (Smego y col., 2005). Además, un tercio de los pacientes tratados con benzimidazoles se han curado e incluso porcentajes más altos (30-50%) han demostrado una reducción significativa del tamaño del quiste y alivio de los síntomas, mientras que el 40% de los casos no responde favorablemente. En general, los quistes pequeños (de menos de 7 mm de diámetro) y aislados responden mejor, mientras que los quistes con múltiples compartimentos, o con quistes secundarios o membranas calcificadas, son relativamente refractarios al tratamiento. La técnica PAIR consiste de: (1) punción percutánea guiada por ecografía, (2) aspiración del contenido líquido, (3) inyección de un agente protoescolicida adecuado (solución hipersalina o etanol al 70%), y (4) reaspiración del contenido luego de 15-20 minutos. Esta técnica está indicada para pacientes que no pueden someterse a cirugías y para aquellos que se rehúsan a una operación y tienen uno o múltiples quistes en el hígado, la cavidad abdominal, el pulmón, el riñón o los huesos. La posibilidad de una equinocosis secundaria como resultado de un derrame accidental durante este procedimiento puede ser minimizada con un tratamiento combinado con benzimidazoles. De hecho, el tratamiento combinado puede dar mejores resultados que ambos tratamientos por separado (Moro y col., 2009).

Los benzimidazoles son un grupo de antihelmínticos llamados así por su estructura básica (heterociclo

compuesto por un núcleo imidazol y un grupo benceno). El mecanismo de acción descrito es que a partir de su unión a la beta-tubulina de helmintos inhibe la polimerización de la misma y por lo tanto la formación de microtúbulos, afectando secundariamente funciones dependientes del citoesqueleto como la captación de glucosa (nutriente esencial en cestodos). Para tratar la hidatidosis quística, dentro de los benzimidazoles, el albendazol es el de elección porque presenta mayor absorción gastrointestinal y posee mayor biodisponibilidad en tejidos que el mebendazol. El metabolito activo es el albendazol sulfóxido. El tratamiento de la hidatidosis con albendazol requiere de uno a seis meses de administración, pudiendo afectar las funciones hepáticas. Se recomienda no administrar a pacientes con cirrosis y realizar monitoreo de la función hepática durante el tratamiento (Keiser y col., 2022).

Debido a la escasa disponibilidad de tratamientos para tratar la equinococosis quística y las limitaciones que cada uno de ellos presenta, es necesaria la búsqueda de nuevas terapias que permitan tratar la enfermedad de una manera más eficaz y con un mayor porcentaje de éxito. En nuestro grupo, a partir del estudio de microRNAs y de enzimas desacetilasas de histonas (HDACs), buscamos nuevos blancos terapéuticos que permitan ampliar el abanico de posibilidades a la hora de tratar la enfermedad.

1.2. CICLO DE VIDA DE *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS SENSU LATO*

La equinococosis quística es causada por el estadio larval de *E. granulosus sensu lato* (s.l.). Este complejo de especies pertenece a la Clase Cestoda, dentro del Phylum

Platyhelminthes. Los miembros de la Clase Cestoda, llamados comúnmente cestodos, son endoparásitos que no tienen tubo digestivo y están rodeados por un tegumento que les permite realizar el intercambio metabólico.

E. granulosus s.l. requiere dos hospederos mamíferos para completar su ciclo de vida: un hospedero definitivo (usualmente perros u otros cánidos) y un hospedero intermediario (mamíferos de ganadería o salvajes) (Cucher y col., 2016). En el hospedero definitivo ocurre el desarrollo del parásito adulto con capacidad de reproducción sexual, mientras que en el hospedero intermediario el parásito se reproduce de manera asexual. El humano se considera como un hospedero intermediario accidental, no contribuyendo a la transmisión (Thompson y col., 2001) (**Figura 1**).

El ciclo de vida de este parásito se inicia con el estadio de desarrollo adulto, que habita el intestino delgado de un carnívoro (el hospedero definitivo). El parásito adulto es el encargado de producir los huevos. Los huevos de los cestodos tienen forma ovoide y un tamaño que ronda los 30-40 µm. Poseen una capa externa estriada (marrón en forma de empaizada), gruesa, impermeable, muy resistente, llamada embrióforo que protege al interior (Sapunar, 2013). En el interior del huevo se encuentra el embrión denominado oncosfera. La estructura básica de la oncosfera consiste en un pequeño núcleo de células germinativas que darán origen al metacestodo, un par de glándulas de penetración, tres pares de ganchos accionados por un complejo sistema de músculos, un sistema nervioso primitivo y un fino epitelio que recubre lo antes mencionado, el cual posee también extensiones citoplasmáticas (Smyth y col., 2007).

Los huevos son liberados entonces, junto con las heces, del tracto intestinal del hospedero carnívoro hacia el ambiente. Son muy resistentes, ya que pueden sobrevivir en el ambiente hasta un año, pero también son sensibles a la desecación y temperaturas de 60°C. Los huevos en el ambiente contaminan el pelo del perro, suelo, verduras, agua de bebida y de allí, por lo general son ingeridos por un herbívoro, el hospedero intermediario. Tras la ingestión, la oncosfera que está rodeada de una membrana protectora se libera y migra a través de la pared intestinal, accediendo a través del torrente sanguíneo a varios órganos. Se ha propuesto que los ganchos podrían ayudar a romper los tejidos del hospedero, movilizados por la acción de los músculos presentes en la oncosfera (Holcman y col., 1997). Los órganos más cercanos a la circulación sanguínea desde el intestino y en los cuales más frecuentemente se establece y desarrolla la oncosfera son el hígado y, en segundo lugar, los pulmones. Allí, la oncosfera pasa al estadio de desarrollo larval o metacestodo (llamado también quiste hidatídico). El metacestodo produce por división asexual numerosos protoescolices (estadio larvario del parásito), cada uno con el potencial de desarrollarse en un parásito adulto después de ser ingerido por el hospedero definitivo apropiado. El quiste hidatídico, en realidad, consta de la capa adventicia, que es una capa externa fibrosa compuesta principalmente por colágeno, producida por el hospedero, y del metacestodo en su interior. El metacestodo, a su vez, consta de una vesícula de interior líquido rodeada por dos capas propias: una externa o laminar, acelular integrada por láminas superpuestas, compuesta por glicoproteínas y hexaquisfosfato de inositol y una capa interna de naturaleza celular (capa germinal) que es una

fina lámina granulosa y polinucleada, a partir de la cual se originan por brotación cápsulas prolíferas y protoescólices. La cavidad quística está ocupada por un líquido transparente, denominado líquido hidatídico, que es antigénico y en el que flotan pequeñas vesículas prolíferas que contienen dos o más protoescólices y ganchos sueltos, lo que se llama la arenilla hidatídica (Smyth y col., 2007, Díaz y col., 2011, Thompson y col., 2017).

El hospedero definitivo carnívoro (cánido) se infecta al ingerir vísceras

de animales con quistes hidatídicos fértiles, con protoescólices viables, que son miles en un solo quiste, y cada uno puede originar un parásito adulto. Los protoescólices se evaginan generalmente después de unas seis horas, pero pueden demorarse hasta más de tres días; se fijan en el intestino y tardan aproximadamente seis a diez semanas en alcanzar la madurez sexual. El gusano adulto es de pequeño tamaño (2-10 mm de longitud), posee un escólex (cabeza) con doble corona de ganchos y cuatro ventosas; y un cuerpo formado por tres proglótides. En los hospederos definitivos viven

de cinco a ocho meses en promedio; unos pocos pueden sobrevivir más de dos años. La infección del perro suele ser intensa, pero generalmente *E. granulosus* s.l. no le produce molestias ni lesiones muy importantes a pesar de tener miles de parásitos (Apt Baruch, 2013). Sin embargo, los perros deben ser tratados para interrumpir la transmisión del parásito a animales y al hombre, así como la dispersión de huevos de *E. granulosus* s. l. en alimentos (verduras) y agua de consumo y en el ambiente (suelos).

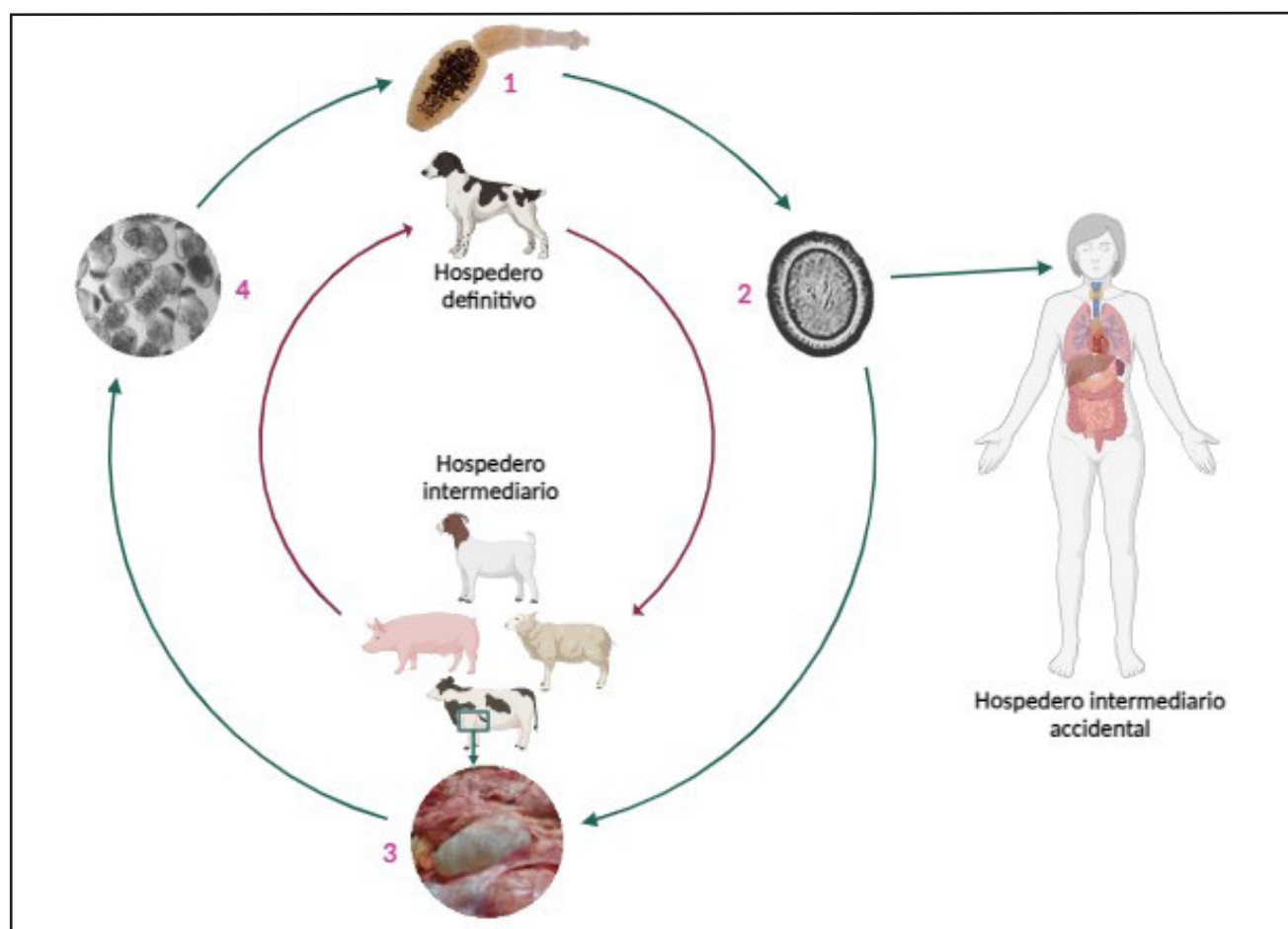


Figura 1: En el esquema se muestran los diferentes estadios de desarrollo del parásito *E. granulosus* s.l. y los hospederos en los que ingresan y se desarrollan cada uno de ellos. Los estadios son: (1) parásito adulto, (2) huevo (que contiene a la oncosfera), (3) quiste hidatídico (metacestodo) y (4) protoescólex. Dentro del hospedero definitivo, el protoescólex se desarrolla a parásito adulto, el cual produce los huevos por reproducción sexual. Los huevos son liberados junto con las heces y son ingeridos por el hospedero intermediario, donde cada oncosfera contenida en un huevo tiene el potencial de convertirse en un quiste hidatídico.

1.3. ESPECIES Y GENOTIPOS DEL COMPLEJO *ECHINOCOCCUS GRANULOSUS SENSU LATO*

El complejo *E. granulosus* s.l. está compuesto por numerosas variantes o cepas, que difieren en características tales como el rango de hospederos intermediarios y el período prepatente. La aplicación de métodos moleculares ha permitido asignarle genotipos a cada cepa. Hasta la fecha han sido descritos ocho genotipos (G1, G3-G8, G10) y la "cepa león", sólo hallada en hospederos salvajes. En los últimos años, el análisis filogenético mitocondrial permitió clasificar a la mayoría de los genotipos como nuevas especies. La nueva clasificación indica que *Echinococcus granulosus sensu stricto* (s.s.) agrupa a los genotipos G1 y G3. El genotipo G1, particularmente, es el más frecuente a nivel mundial, produce quistes hidatídicos fértiles principalmente en ovejas y es aislado frecuentemente de humanos. *Echinococcus equinus* (genotipo G4) tiene diferencias notables a nivel morfológico y desarrollo con el genotipo G1 y se ha encontrado en caballos y otros equinos. Si bien hasta el momento este genotipo se consideraba no infectivo para el hombre, recientemente se identificó un caso humano en Turquía (Macin y col., 2021). *Echinococcus ortleppi* (genotipo G5) produce quistes fértiles principalmente en ganado vacuno y se han descrito algunos casos humanos. *Echinococcus canadensis* incluye los genotipos G6, G7, G8 y G10. Para el genotipo G6, los principales hospederos intermediarios son los camellos y las cabras, cerdos para el genotipo G7 y cérvidos para los genotipos G8 y G10. Todos estos últimos genotipos se han aislado de humanos. La capacidad del genotipo G6 de infectar humanos fue descrita por nuestro grupo (Rosenzvit y col., 1999), siendo este genotipo responsable del 36.1% de la hidati-

dosis humana en nuestro país (Cucher y col., 2016). En resumen, el complejo de especies *E. granulosus* s.l. está compuesto por: *E. granulosus* s.s. (G1/G3), *E. equinus* (G4), *E. ortleppi* (G5), *E. canadensis* (G6/G7/G8/G10) y *E. felidis* ("cepa león") (Cucher y col., 2016).

■ 2. CARACTERÍSTICAS DE LOS CESTODOS E IMPORTANCIA DE LA REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN GÉNICA

Los cestodos tienen ciclos de vida complejos, que involucran dos o más hospederos (Figura 1). Estos parásitos, al pasar de un hospedero al siguiente sufren grandes transformaciones morfológicas y fisiológicas. Además, algunos estadios parasitarios, como el estadio de protoescólex de *E. granulosus* s.l. (ver Figura 1) tienen la capacidad de diferenciarse en dos direcciones, pudiendo desarrollar un parásito adulto en el intestino del hospedero definitivo o un nuevo quiste en el hospedero intermediario, al ser accidentalmente liberado del quiste hidatídico. Asimismo, presentan una capacidad de reproducción asexual prácticamente ilimitada, reflejada en el caso de *E. granulosus* s.l., en el crecimiento continuo del quiste hidatídico, y en la formación continua de nuevas proglótides en el parásito adulto. Todas estas características sugieren un control preciso de la expresión génica posiblemente ejercido en varios niveles. En nuestro laboratorio estudiamos enzimas involucradas en el control transcripcional de la expresión génica, como las desacetilasas de histonas y ARNs regulatorios que intervienen en el control post-transcripcional, como los microRNAs. La comprensión de los mecanismos particulares de desarrollo parasitario podría llevar a identificar nuevas estrategias terapéuticas.

■ 3. ENZIMAS DESACETILASAS DE HISTONAS Y ESTUDIO DE SU POTENCIAL COMO BLANCOS FARMACOLÓGICOS

3.1. DESACETILASAS DE HISTONAS

En las células eucariotas el ADN se encuentra altamente compactado por las histonas y otras proteínas, formando la estructura nuclear denominada cromatina, la cual se encuentra organizada en nucleosomas. Las interacciones electrostáticas entre las cargas negativas del ADN y las cargas positivas de las proteínas histónicas en los nucleosomas mantienen a la cromatina en una estructura muy organizada y compacta, la cual, sin embargo, no es estática sino dinámica. Las colas de las histonas son susceptibles a modificaciones químicas que pueden aumentar o disminuir su interacción con el ADN y en consecuencia alterar la capacidad de transcripción de un gen o grupo de genes. Estas modificaciones son catalizadas por las enzimas modificadoras de histonas, entre las cuales las acetilasas y desacetilasas de histonas son las más importantes desde el punto de vista cuantitativo (Carrier, 2013). Las desacetilasas de histonas (HDACs) forman una familia de enzimas evolutivamente conservadas, implicadas en el control de la expresión génica mediante la remoción de grupos acetilo de las histonas y otras proteínas no histónicas (de Ruijter y col., 2003) por lo que tienen influencia directa en la estructura de la cromatina, regulando así la transcripción génica y otros procesos celulares. En mamíferos, se han descrito 18 miembros agrupados en dos subfamilias: las HDACs clásicas, que tienen un dominio catalítico dependiente del Zn^{2+} (HDAC 1-11, clases I, II y IV) y las Sirtuinas (SIRTs), que tienen un dominio catalítico dependientes del cofactor NAD^+ (SIRT 1-7, clase III).

3.2. ANTECEDENTES

Debido a sus importantes funciones en la regulación de la transcripción génica y otros procesos celulares, las HDACs han sido ampliamente estudiadas y validadas como blancos farmacológicos para el tratamiento de distintas enfermedades como el cáncer (Mottamal y col., 2015), con una serie de fármacos aprobados por la FDA (Beyer y col. 2019; Nebbioso y col. 2017); diabetes, enfermedades autoinmunes y desórdenes neurológicos (Helin y Dhanak, 2013). En los últimos años, se ha mostrado la importancia de estas enzimas en parásitos protozoos y helmintos causantes de enfermedades tropicales desatendidas y se ha investigado su potencial como blancos farmacológicos (Chakrabarti y col., 2015, Fioravanti y col., 2020, Noce y col., 2022). Además, se han reportado resultados promisorios en el tratamiento antiparasitario con compuestos comerciales contra las HDACs utilizados contra el cáncer (Chua y col., 2017). Estas enzimas intervienen en numerosos procesos de diferenciación y proliferación, siendo relevantes para la supervivencia y desarrollo parasitario. En trematodos, las HDACs han sido bien caracterizadas como blancos farmacológicos en *Schistosoma mansoni*. Varias de estas enzimas fueron validadas como blancos farmacológicos en estudios *in vitro* e *in vivo* y mediante la supresión de genes específicos por medio de ARN de interferencia, demostrándose que juegan un papel importante en la diferenciación, reproducción e interacción con el hospedero (Chakrabarti y col., 2015). En cuanto a cestodos, estas enzimas y su potencial como blancos farmacológicos, recién ha comenzado a estudiarse. En primer lugar, describiremos los métodos que utilizamos en el laboratorio para la identificación de nuevos fármacos en cestodos y a continua-

ción reseñaremos los avances en el estudio de HDACs en estos parásitos y su potencial en el tratamiento de la equinococosis y otras cestodiasis.

3.3. PLATAFORMA DE EVALUACIÓN DEL EFECTO DE FÁRMACOS EN PARÁSITOS CESTODOS

En nuestro laboratorio, hemos implementado una plataforma para poder evaluar nuevos fármacos contra las enfermedades causadas por cestodos. Para ello, utilizamos el estadio larval de tetratiridio (TTy), del modelo de laboratorio de cestodos *Mesocostoides vogae*.

Una de las principales limitaciones de la investigación en cestodos es la baja disponibilidad de material parasitario. Algunos cestodos zoonóticos, como *E. granulosus* s. l., no pueden reproducirse de manera continua en modelos experimentales y sólo pueden obtenerse a partir de infecciones naturales, dificultando la puesta a punto de estudios sistemáticos de evaluación de fármacos. *M. vogae* es un cestodo cuyo estadio larval de tetratiridio (TTy) se puede multiplicar de manera continua en animales de laboratorio, proveyendo una fuente continua y reproducible de material para ensayos biológicos (Figura 2). Además, es fácilmente cultivable *in vitro* y es considerado no-zoonótico por lo que puede manipularse de manera segura (Thompson y col., 1982; Hřčková y col., 1998). Este parásito ha sido validado como modelo de laboratorio (Hemphill, 2010), siendo utilizado para estudios de desarrollo (Saldaña y col., 2001; Koziol y col., 2010, Grecco y col., 2023), y para la identificación de nuevos compuestos cestocidas en estudios farmacológicos (Maggiore y Elisondo, 2014; De Lange y col., 2019).

Para la evaluación de compuestos con potencial cestocida utilizamos 3

métodos independientes: medición de actividad metabólica, medición de movilidad y observación al microscopio. El ensayo de actividad metabólica se basa en el empleo de un indicador azul no fluorescente (la resazurina, forma oxidada) que es convertido, en una reacción de reducción mediada por las células metabólicamente activas, en un indicador rojo altamente fluorescente (la resofurina, forma reducida). Este indicador, además de emitir fluorescencia sólo en su forma reducida, presenta máximos de absorción en diferentes longitudes de ondas para su forma oxidada y reducida, lo que permite la determinación de la viabilidad tanto por mediciones de fluorescencia como de absorbancia. Por otra parte, la medición de la movilidad se basa en el movimiento que realizan los parásitos que es una indicación de que se encuentran vitales. La movilidad del parásito, la determinamos mediante el equipo de fabricación nacional Worm Microtracker (Simonetta y Golombek, 2007), que detecta el movimiento de parásitos helmintos por dispersión de un haz infrarrojo (Figura 2). Ambos sistemas de medición han sido adaptados a parásitos cestodos, como *M. vogae* y *E. granulosus* s.l. (Camicia y col., 2013; Camicia y col., 2018; Vaca y col., 2019). En ambos casos, los parásitos junto con el compuesto se colocan en los pocillos de placas de 96 pocillos, y se determina la actividad metabólica o la movilidad en cada pocillo. Si un determinado compuesto tiene poder cestocida, va a registrarse una disminución en ambos parámetros. Estos métodos permiten la evaluación simultánea de un alto número de compuestos, de manera objetiva y cuantitativa. Además, el ensayo de movilidad tiene la ventaja de permitir un sistema de medición continuo, en tiempo real y no invasivo a diferencia de otros métodos. Estas características permiten evaluar la

viabilidad parasitaria sobre una misma placa durante todo el periodo de ensayo. Asimismo, el método tiene un menor costo, lo cual es un factor muy importante a considerar en la evaluación de un alto número de compuestos. Por último, se realizan observaciones al microscopio óptico y electrónico a fin de determinar cambios en la morfología parasitaria general, así como en estructuras específicas, tras el tratamiento.

3.4. ESTUDIOS Y AVANCES RECIENTES DE DESACETILASAS DE HISTONAS EN PARÁSITOS CESTODOS

En los cestodos, las enzimas HDACs y su potencial como blancos farmacológicos, recién ha comenzado a estudiarse. Utilizando datos genómicos (Tsai y col., 2013; Zheng y col., 2013, Maldonado y col., 2017), y herramientas bioinformáticas, nuestro grupo ha identificado

y caracterizado en varios cestodos, incluyendo *E. granulosus* s.s. y *E. canadensis* G7, tanto HDACs clásicas (Vaca y col., 2019, 2021) como SIRTs (Vaca y col., 2022). Además, hemos mostrado, en estudios *in vitro*, que el inhibidor común de varias clases de HDAC Tricostatina A (TSA) produce una disminución de la viabilidad parasitaria, alteraciones en el tegumento y la morfología y un aumento de los niveles de acetilación de las proteínas totales, incluyendo la histona H4 en *M. vogae* (Vaca y col., 2019). El tegumento de los cestodos es una cubierta de naturaleza celular que recubre a los estadios adultos y larvales. Los cestodos carecen de aparato digestivo, por lo que el tegumento es la estructura que permite la absorción de nutrientes y eliminación de desechos. Además de las funciones mencionadas, el tegumento protege al parásito del pH ácido y de las enzimas del hospedero (Bogitsh y col., 2013).

Los resultados obtenidos con TSA sugirieron que las HDACs constituyen potenciales blancos farmacológicos y nos estimularon a evaluar un alto número de inhibidores. En este contexto, mediante modelos de estructuras tridimensionales basados en homología, hemos demostrado que algunas enzimas HDACs y SIRTs de cestodos presentan características estructurales particulares que las diferencian de sus homólogas de *Homo sapiens* (Vaca y col., 2019). Estas características son similares a las reportadas para una de las HDACs de *S. mansoni* (Marek y col., 2013) y permitieron el diseño de inhibidores específicos contra la HDAC parasitaria (Heimbürg y col., 2016; Marek y col., 2018, Ghazy y col., 2021). Estos inhibidores mostraron un bajo efecto en la actividad de las enzimas humanas; así como muy baja o nula toxicidad en líneas celulares humanas (Heimbürg y col., 2016). Basados en estos resul-

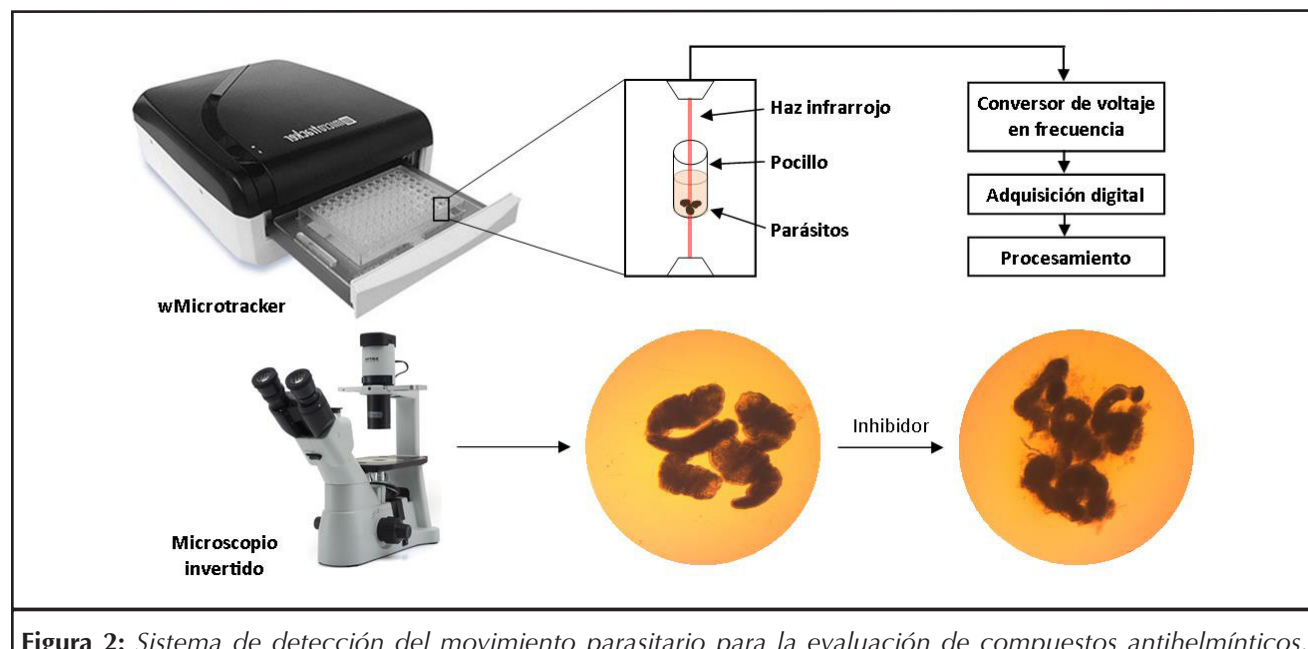


Figura 2: Sistema de detección del movimiento parasitario para la evaluación de compuestos antihelmínticos. El dispositivo empleado (wMicrotracker) emite un haz infrarrojo en el centro del pocillo, el cual es bloqueado por los parásitos cuando éstos se mueven. Este bloqueo es captado por el sistema de detección y convertido en frecuencias produciéndose la adquisición digital de datos, para su posterior procesamiento. El sistema permite la evaluación de un gran número de compuestos, mediante una medición cuantitativa, continua y en tiempo real. Dicho sistema fue adaptado para el modelo de laboratorio de cestodos *Mesocostoides vogae*. Los resultados de movilidad se validan por microscopía mediante un microscopio invertido.

tados, hemos incluido varias clases de estos inhibidores con selectividad hacia las enzimas parasitarias, sumados a inhibidores comerciales, en la evaluación de compuestos con potencial cestocida.

Los resultados de la prueba inicial, en la que se probaron 4 inhibidores contra cada una de las clases de HDACs, mostraron que 2 inhibidores contra HDAC de clase I, y uno contra SIRTs tuvieron efectos cestocidas. Dentro de los inhibidores de HDAC de clase I se encuentra el entinostat, una benzamida que está siendo evaluada en ensayos clínicos para tratamiento de distintos tipos de cáncer (Hu y col., 2003). Asimismo, se encuentra en dicho grupo el TH65, un compuesto derivado del 3-aminobenzohidroxamato perteneciente a la serie TH que comprende compuestos diseñados como inhibidores selectivos de la HDAC8 de *S. mansoni*. Estos compuestos mostraron muy baja toxicidad relativa en la línea HEK 293 de células epiteliales de riñón humano (Heimburg y col., 2016). Los resultados en cestodos mostraron una disminución significativa de la viabilidad parasitaria para ambos compuestos.

Debido al potente efecto cestocida observado para TH65, se evaluaron otros 10 compuestos de la serie TH. Además, se evaluaron otros 11 inhibidores selectivos de la HDAC8 de *S. mansoni*. El compuesto TH92 mostró el efecto cestocida más potente, produciendo la muerte parasitaria a una concentración relativamente baja (20 μ M) en tan sólo 3 días de incubación (Figura 3). En coincidencia con las mediciones de movilidad, pudo observarse mediante microscopía óptica que los inhibidores que causaron disminución significativa de la movilidad parasitaria produjeron efectos fenotípicos a las mismas concentraciones y tiempos

de tratamiento (Figura 3). Los cambios fenotípicos observados fueron alteraciones en el tegumento parasitario, pérdida de la morfología general, presencia de pequeñas ampollas e infiltraciones del medio de cultivo en diferentes zonas de los TTy de *M. corti*. Por último, también se observaron restos celulares en el medio de cultivo, posiblemente debido a la destrucción de parte de los TTy.

De los 33 compuestos evaluados, se seleccionaron los 4 que presentaron el mayor efecto cestocida para una caracterización adicional. Los compuestos seleccionados fueron los inhibidores de HDAC de clase I entinostat, TH65 y TH92, y el inhibidor de SIRTs Mz25. Mediante microscopía electrónica de barrido, se demostró una pérdida completa de la morfología general de los TTy, dado que no fue posible identificar ningún elemento característico como la región posterior, cuello y región anterior con las ventosas. Asimismo, se observaron vesículas de alrededor de 10 μ m de diámetro a lo largo del tegumento parasitario. A mayor aumento (1200X) es posible observar en los TTy del grupo control (DMSO 1%) la presencia de microtricas, que son extensiones citoplasmáticas de las células tegumentarias en forma de un césped homogéneo y continuo a lo largo del tegumento y que proveen una gran capacidad de absorción al mismo. Sin embargo, en los TTy tratados con los compuestos ensayados se observa la pérdida completa de estas estructuras de gran importancia para la absorción de nutrientes (Figura 3).

Asimismo, para los compuestos seleccionados, se determinó la IC₅₀, que es la concentración de compuesto que produce un 50% de inhibición de la viabilidad parasitaria.

Se observaron potentes efectos cestocidas con valores de IC₅₀ del orden micromolar para estos compuestos. El menor IC₅₀ fue obtenido para entinostat (1.22 μ M), siendo menor que el determinado para albendazol (20,58 μ M). Asimismo, el efecto fue irreversible, dado que no se observó aumento en la viabilidad parasitaria luego de la eliminación de los compuestos del medio de cultivo, mediante cambio de medio.

Por último, como un paso inicial para evaluar la factibilidad de combinar los compuestos seleccionados con ABZ, se determinó el efecto cestocida *in vitro* de combinaciones de a pares con el ABZ y de los compuestos seleccionados entre sí. Para ello, se determinaron los índices de efecto proporcional para las diferentes combinaciones de compuestos. Este parámetro indica si el efecto de la combinación varía respecto al valor obtenido para los compuestos individuales, pudiéndose diferenciar este efecto de un efecto meramente aditivo. Las diferentes combinaciones mostraron índices altos, sugiriendo posibles interacciones positivas entre los compuestos.

En conclusión, los análisis y resultados obtenidos sugieren que las enzimas modificadoras de histonas, en particular HDACs y SIRTs, resultan potenciales blancos farmacológicos para el tratamiento de enfermedades desatendidas causadas por cestodos, como la hidatidosis. Asimismo, proveen una base para la optimización de compuestos a través de estudios de estructura-actividad (SAR) y de eficacia y toxicidad en modelos experimentales *in vivo* de parásitos zoonóticos como *E. granulosus* s.l.

■ 4. MICRORNAS: SU IMPORTANCIA EN EL DESARROLLO Y EN EL ESTABLECIMIENTO DE LA INFECCIÓN PARASITARIA.

4.1 LOS MICRORNAS

Los microRNAs (miRNAs) pertenecen a una clase de pequeños ARNs no codificantes (ncARNs) evolutiva-

mente conservados que regulan la expresión génica de manera post-transcripcional mediante complementariedad de bases con regiones específicas del ARN mensajero (ARNm) de sus genes objetivo. Esta clase de ncARNs fue descubierta en el nematode *Caenorhabditis elegans* (Lee y col., 1993), a partir de entonces, se han descrito y estudiado va-

rios miRNAs en animales y plantas, así como también su importancia en la regulación génica en el marco de procesos fisiológicos y patológicos. Los miRNAs ejercen una fina regulación sobre la expresión de sus genes objetivo a nivel post-transcripcional, para lo cual guían al Complejo de Silenciamiento Inducido por miRNAs (miRISC) hacia sus ARNm objetivo,

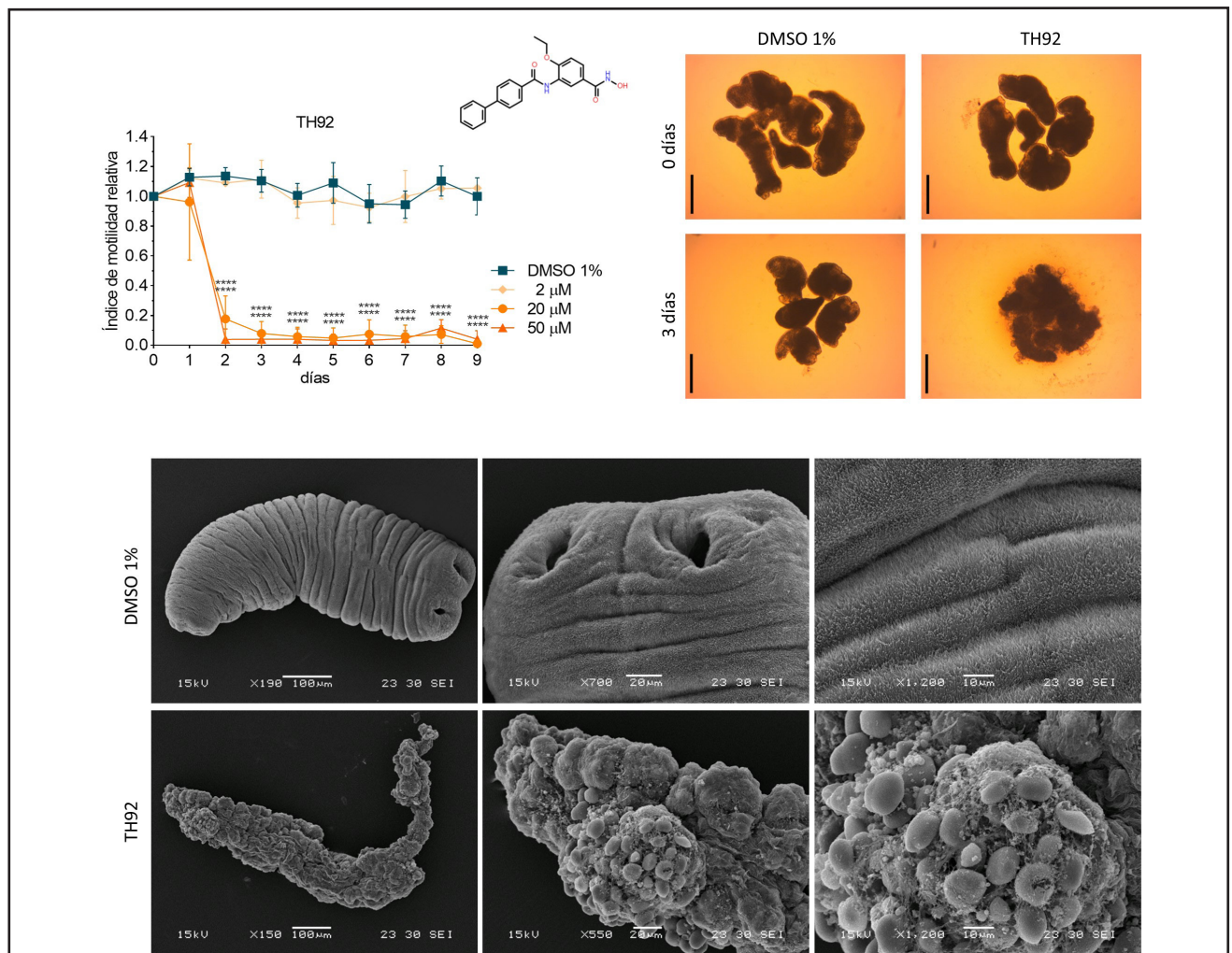


Figura 3: Se muestra el efecto antihelmíntico del inhibidor de las enzimas histonas deacetilasas TH92. En el panel superior izquierdo se muestra la fórmula química de TH92 y el efecto en la motilidad parasitaria. Se puede observar que TH92 produce una gran disminución en la motilidad parasitaria para las concentraciones 20 μM y 50 μM, en comparación con el grupo control (DMSO 1%) y la concentración más baja 2 μM. Asimismo, en el panel superior derecho se puede observar el efecto en la morfología parasitaria. TH92 produce una gran alteración de la morfología general, comparado con el grupo control. Se pueden observar infiltraciones del medio de cultivo en los parásitos, así como la ruptura del tegumento parasitario con varias ampollas alrededor del mismo. Para estas imágenes las barras de escala representan 100 μm. En el panel inferior se pueden observar con mayor detalle las alteraciones producidas por TH92 en el tegumento parasitario. Estas imágenes fueron tomadas mediante microscopía electrónica de barrido. La escala y el aumento empleado se muestran en cada imagen.

lo que conduce a la desestabilización y/o degradación de los mismos. Dado este mecanismo de acción, resulta esencial identificar el o los genes objetivo de un miRNA para comprender sus funciones (Rosenzvit y col., 2013), ya que generalmente la regulación sobre estos genes suele ser sutil y es considerada esencial para permitir una respuesta rápida ante desafíos ambientales (Macchiaroli y Rosenzvit, 2014). El estudio funcional de miRNAs se puede llevar a cabo mediante varios métodos de silenciamiento o sobreexpresión (Thomas y col., 2010). La alteración o interferencia en el nivel de expresión de un único miRNA puede proporcionar información valiosa para comprender sus funciones. Dado que los miRNAs ejercen un efecto inhibitorio sobre la expresión de sus genes objetivo, la inhibición mediada por un miRNA conduciría a un aumento en la expresión de los mismos. Por el contrario, si un miRNA se sobreexpresa, sus genes objetivo mostrarían una menor expresión (Bartel, 2018). Analizar la variación de la expresión génica, alterando la expresión de miRNAs proporciona información relevante sobre genes objetivo potenciales. Además, el fenotipo observado después de la interferencia de un miRNA puede ayudar a dilucidar su función. Debido a que diferentes aspectos de algunas enfermedades podrían derivar de desregulaciones o niveles alterados de miRNAs, y que a menudo surgen o se ven influenciadas por la desregulación de múltiples genes, la intervención o modificación en el nivel de un miRNA desregulado proporciona potencialmente una herramienta terapéutica novedosa. Por otro lado, considerando que un miRNA puede regular la expresión de varios genes codificadores de proteínas, sería posible dirigirse o afectar la traducción de varias proteínas inhibiendo un solo miRNA. Esto confiere una ventaja importan-

te a las terapias basadas en miRNAs en comparación con los enfoques clásicos de inhibición de una sola proteína (Bonneau y col., 2019). En esta sección se detallan y explican los antecedentes y hallazgos observados en el estudio de los miRNAs de parásitos cestodos. Estos avances no sólo resultan relevantes en el campo de la investigación básica, sino que también establecen las bases para abordar y proponer nuevos enfoques terapéuticos basados en la interferencia de los miRNAs.

4.2 ANTECEDENTES

Como se ha mencionado previamente, la expresión aberrante de un solo miRNA puede afectar negativamente la traducción de varias proteínas dentro de una célula y puede dar lugar a diversas enfermedades y trastornos. Los métodos de interferencia de miRNAs están siendo estudiados y desarrollados como un enfoque terapéutico novedoso. Existen estudios relacionados a enfermedades infecciosas o neoplásicas que han sido llevados a cabo bajo esta temática. Uno de los ejemplos más relevantes es el basado en la inhibición de miR-122. Este miRNA se encuentra altamente y casi exclusivamente expresado en el hígado de todos los vertebrados (Jopling, 2012), y es esencial para el mantenimiento de la homeostasis hepática y la regulación de la replicación del Virus de la Hepatitis C (VHC) (Elmen y col., 2008). Otro ejemplo es el estudio llevado a cabo para el tratamiento del linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) que consiste en el uso de oligonucleótidos inhibidores de miR-155. Este miRNA oncológico (OncomiR) es un biomarcador potencial de diagnóstico y pronóstico, ya que se expresa en gran medida en tumores malignos de células B y es fundamental tanto para la iniciación como para la progresión de la enfermedad (Due y col., 2016).

4.3 ESTUDIOS Y AVANCES RECIENTES EN PARÁSITOS CESTODOS

Los parásitos helmintos, necesitan mecanismos precisos de regulación génica para poder llevar a cabo distintas adaptaciones morfológicas y metabólicas necesarias para su desarrollo y para el establecimiento de la infección en distintos hospederos, por lo que se considera que la regulación mediada por microRNAs podría tener un rol esencial en estos aspectos. Dentro de esta temática, nuestro grupo ha sido pionero en mostrar la existencia de miRNAs en parásitos cestodos (Cucher y col., 2011; Rosenzvit y col., 2013), así como también ha analizado su perfil de expresión por estrategias de alto rendimiento en *E. granulosus* s. l. (*E. canadensis* G7 y *E. granulosus* s.s. G1) (Macchiaroli y col., 2015), *Echinococcus multilocularis* (Cucher y col., 2015; Pérez y col., 2019; Macchiaroli y col., 2021). A su vez, hemos analizado el repertorio y perfil transcripcional de miRNAs de *M. vogae* (Basika y col., 2016), *Taenia crassiceps* y *Taenia solium* (Pérez y col., 2017), e *Hymenolepis microstoma* (Macchiaroli y col., 2019). Nuestros objetivos más recientes se orientan hacia el estudio de sus funciones. Para abordar este enfoque, hemos estudiado las funciones de algunos miRNAs mediante la predicción de sus genes objetivo en *Echinococcus* (Macchiaroli y col., 2017; Macchiaroli y col., 2021). Estos trabajos han mostrado que los miRNAs son los ARNs silenciadores preponderantes en todos los cestodos analizados y que la expresión diferencial de ciertos miRNAs a lo largo del ciclo de vida y los genes objetivo predichos sugiere que tendrían un rol en procesos de desarrollo. Se han identificado miRNAs parasitarios altamente expresados en cestodos que están ausentes o divergen en secuencia con los miRNAs homólogos del hospede-

dero mamífero. Entre ellos, miR-71 resultó ser uno de los miRNAs más expresados en todos los cestodos estudiados, con gran expresión en estadios de relevancia clínica, como el metacestode o quiste hidatídico, y en células claves para su desarrollo (células germinales), siendo además el que presenta mayor número de genes objetivo en *Echinococcus*, y encontrándose ausente en los hospederos vertebrados. Todas estas características hacen que este miRNA parasitario pueda ser considerado como un potencial candidato blanco de fármacos selectivos y se lo ha seleccionado para el análisis de sus funciones y relevancia biológicas por medio de estrategias de interferencia de miRNAs. Entre todas las estrategias disponibles, se decidió llevar a cabo el silenciamiento o inhibición de miRNAs mediante la transfección de oligonucleótidos con secuencia complementaria al miRNA de interés, conocidos como ASOs (oligonucleótidos antisentido), anti-miRNAs o anti-miRs. Estos oligonucleótidos bloquean la función del miRNA, probablemente mediante unión a los miRNAs maduros en los complejos miRISCs (Horwich y Zamore, 2008), compitiendo así con la unión al ARNm objetivo. Los anti-miRs son susceptibles a degradación por endonucleasas por lo que se decidió incorporar ciertas modificaciones químicas en su estructura a fin de conferirles mayor estabilidad y resistencia. Se incluyeron modificaciones en todas las posiciones en los enlaces fosfodiéster, como la modificación fosforotioato (PS), que aumenta la resistencia del oligonucleótido a las nucleasas además de mejorar la captación celular (Eckstein, 2014). Por otro lado, se incluyeron modificaciones 2'-O-metilo en todas las posiciones, que aumentan la afinidad de unión con el ARNm objetivo y confieren mayor resistencia y estabilidad ante

diversas RNAsas (Lennox y Behlke, 2011).

Recientemente hemos demostrado mediante el silenciamiento con anti-miRs, que el miRNA parasitario miR-71 es necesario para el desarrollo temprano de *E. multilocularis* en cultivo celular primario y que regularía genes parasitarios relacionados con procesos de desarrollo (Pérez y col., 2019). El silenciamiento, llevado a cabo mediante la administración de oligonucleótidos antisentido modificados con PS y 2'OMe, llevó a la detención del desarrollo de la larva metacestode del parásito *in vitro*. Dado que el metacestode de *E. multilocularis* constituye la etapa clínicamente relevante de la equinococosis alveolar, una enfermedad parasitaria potencialmente mortal, proponemos que miR-71 podría ser considerado como un posible blanco farmacológico y estamos llevando a cabo estudios adicionales para determinar su potencial como tal utilizando modelos animales de infección *in vivo*.

Hasta el momento se había logrado silenciar la expresión de este miRNA en cultivos celulares parasitarios, y recientemente hemos logrado su silenciamiento en parásitos enteros en cultivo utilizando también un oligonucleótido antisentido. El silenciamiento de miR-71 fue evaluado mediante RT-qPCR evidenciando una disminución de un 64% en la expresión de este miRNA luego de una única transfección con anti-miR-71. En este caso los controles negativos se realizaron utilizando un oligonucleótido que presentaba los mismos nucleótidos que el anti-miR pero en diferente orden, al que denominamos "scrambled". Esta técnica nos ha permitido evaluar los efectos del silenciamiento en el desarrollo parasitario y en la expresión de algunos de sus genes obje-

tivo. Mediante el silenciamiento de miR-71 en cultivos parasitarios de larvas de *M. vogae*, se observó una mayor tasa de estrobilización tras la inducción con taurocolato de sodio en aquellos cultivos tratados con anti-miR-71 en comparación a los cultivos control (Figura 4). Esto podría verse relacionado con la sobreexpresión de genes objetivo de este miRNA que podrían estar relacionados con el desarrollo parasitario, como por ejemplo factores de transcripción. Por otro lado, se realizó la inoculación intraperitoneal en ratones de parásitos sometidos al silenciamiento de miR-71. Al cabo de 26 días de infección se evidenció una carga parasitaria significativamente menor en los grupos de ratones inoculados con tetratiridios tratados con anti-miR-71, lo que podría sugerir que la expresión disminuida de miR-71 impediría el establecimiento adecuado y/o la progresión de la infección (Grecco y col., 2023). Dentro de los pasos siguientes en el estudio de microRNAs parasitarios nos proponemos realizar el silenciamiento en parásitos cestodos, modelo y zoonóticos *in vivo* en modelos murinos de infección, evaluando los efectos en el curso de la infección, así como también las metodologías de transfección más apropiadas.

El desafío de descifrar los numerosos roles de miRNAs involucrados en procesos de desarrollo y celulares, así como en distintas enfermedades, necesita nuevos enfoques experimentales dirigidos a estudiar estos aspectos tanto *in vitro* como *in vivo*. En esta línea, los métodos de interferencia de los miRNAs se han convertido en un enfoque novedoso y ampliamente utilizado para el estudio funcional tanto de miRNAs individuales como de familias completas de miRNAs. A pesar de los resultados prometedores en diversos ensayos clínicos, el uso de oligonu-

cleótidos antisentido como agentes terapéuticos aún necesita estudios específicos para evaluar citotoxicidad, especificidad y estabilidad en las uniones entre los mismos y los miRNAs objetivo. Por este motivo, resulta primordial asociar los resultados obtenidos *in vitro* con estudios posteriores *in vivo* con la finalidad de validar estas estrategias como métodos terapéuticos eficientes y seguros para el tratamiento de diversas enfermedades, entre las que

se incluyen aquellas enfermedades desatendidas causadas por parásitos cestodos.

■ 5. CONCLUSIÓN GENERAL

La integración de estrategias bioinformáticas y experimentales permitió la identificación y caracterización de las HDACs y los miRNAs de cestodos. Los resultados obtenidos sugieren que estas moléculas cumplen papeles importantes en el desa-

rollo y supervivencia en el hospedero de estos parásitos, y que podrían ser blancos de fármacos selectivos para tratar enfermedades tropicales desatendidas como la equinococosis quística.

■ GLOSARIO

Análisis filogenético mitocondrial: análisis del ADN mitocondrial en busca de relaciones de parentesco entre distintos grupos de seres vivos.

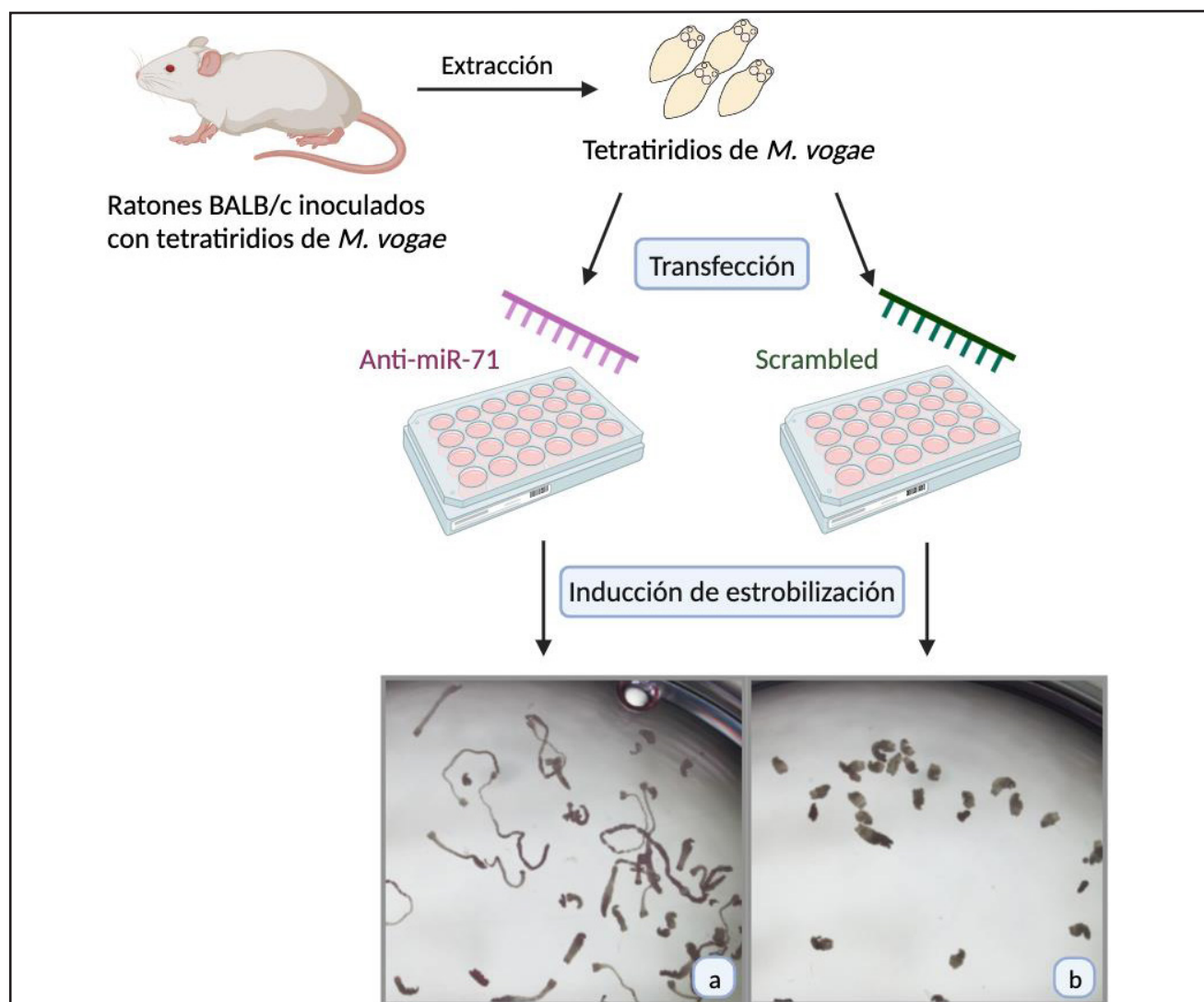


Figura 4: Esquema de trabajo llevado a cabo para la transfección de oligonucleótidos antisentido para silenciar el microRNA parasitario miR-71 y posterior inducción de la estrobilización con taurocolato de sodio a cultivos parasitarios de tetratiridios de *M. vogae*. Como resultado se observa una mayor tasa de estrobilización en los cultivos tratados con anti-miR-71 (a) respecto a los controles tratados con oligonucleótido scrambled (b) luego de 17 días de incubación, (6.3X).

Antihelmíntico: medicina utilizada en el tratamiento de infecciones causadas por helmintos.

ARN de interferencia: ARN pequeño que suprime la expresión de un gen específico al que reconoce mediante complementariedad de bases.

ARNm (ARN mensajero): ARN de cadena única que resulta del proceso de transcripción del ADN y que al unirse con los ribosomas inicia el proceso de traducción que da como resultado la síntesis de una proteína.

Biomarcador: Es aquella característica biológica, bioquímica o fisiológica, objetivamente mensurable, que permite identificar procesos fisiológicos o patológicos.

Blanco farmacológico: macromolécula o el complejo macromolecular en las células con los que interactúa el fármaco para provocar una respuesta celular.

Cepa: grupo de microorganismos que pertenecen a la misma especie y comparten ciertas características que no se encuentran en otros miembros de la especie.

Cestocida: sustancia con capacidad de matar cestodos.

Cestodo: gusano que pertenece al grupo de los platelmintos, clase Cestoda.

Citotoxicidad: Conjunto de efectos adversos que se suceden en todas las células que impiden el funcionamiento, supervivencia y proliferación celular.

Cofactor: compuesto químico no proteico necesario para la actividad catalítica de una enzima.

Control post-transcripcional de la expresión génica: regulación de la

expresión génica a nivel del ARN, que ocurre en cualquier etapa después de la transcripción, incluido el corte y empalme de ARN, el transporte nuclear y la estabilidad del ARN.

Control transcripcional de la expresión génica: medio por el cual una célula regula la conversión de ADN en ARN (transcripción), determinando así la actividad génica.

Dominio catalítico: Región de una enzima que interactúa con su sustrato para producir la reacción enzimática.

Endonucleasa: Enzima que cataliza la hidrólisis de enlaces internos y en consecuencia produce la degradación de moléculas de ARN o ADN.

Especie: conjunto de organismos o poblaciones naturales capaces de entrecruzarse y producir descendencia fértil, aunque -en principio- no con miembros de poblaciones pertenecientes a otras especies.

Estrobilización: Forma de reproducción asexual que se da por la división del cuerpo en segmentos transversales denominados proglótides.

Expresión génica: proceso por el cual la información codificada por un gen se usa para producir moléculas de ARN que codifican para proteínas o para producir moléculas de ARN no codificantes que cumplen otras funciones.

Gen objetivo: es la secuencia de ADN que se transcribe en un ARN mensajero capaz de ser reconocido por un microRNA.

Genotipo: conjunto de los genes y la información genética que conforman a un individuo de cualquier especie.

Geofagia: ingestión de tierra.

Helminto: término operacional que comprende distintos grupos de animales como los nematodos o gusanos redondos y los platelmintos o gusanos planos.

Homóloga: secuencia de nucleótidos o aminoácidos que presenta similitud con otra debido a que comparten un origen evolutivo común.

Hospedero: organismo que da albergue y/o alimento a otro individuo.

Microtúbulos: filamento intracelular y hueco, formado por polímeros de la proteína tubulina, que forma parte del citoesqueleto y de otros orgánulos.

Perfil de expresión: conjunto de genes expresados, a nivel de transcripción, en determinadas circunstancias, o en una célula o tejido específico que provee un panorama global de la función celular

Período prepatente: etapa de la infección parasitaria comprendida desde el momento de la infección hasta la demostración de la presencia del parásito.

Protoescólex: pequeño gusano inmaduro, que consiste en el escólex (cabeza) del futuro gusano adulto, que se origina en el interior de las vesículas prolíferas que son producidas por la capa germinal del metacestodo.

Protoescolicida: agente que es capaz de eliminar protoescólices.

Quimioterapia: tratamiento farmacológico de una enfermedad con sustancias químicas.

Quiste hídático: Estructura producida en el hospedero intermediario que consta del metacestodo de ori-

gen parasitario formado por la capa laminar, la capa germinal, las vesículas prolíferas conteniendo protoescólices y el líquido hidatídico; y de la capa adventicia formada por el hospedero.

Reproducción asexual: forma de reproducción de un ser viviente en la que a partir de una célula o un grupo de células de un solo individuo, se desarrolla un nuevo individuo completo, genéticamente idéntico al primero.

RT-qPCR: Técnica cuantitativa que detecta el nivel de ARNs específicos en una condición determinada, por ejemplo, en respuesta a un tratamiento.

Tegumento: cubierta de naturaleza celular que poseen los cestodos que permite la absorción de nutrientes, eliminación de desechos y brinda protección del pH ácido y de las enzimas del hospedero.

Transcripción: proceso por el cual se produce una copia de ARN a partir de la secuencia de ADN de un gen.

Tubulina: Proteína que compone los microtúbulos que, a su vez, constituyen una parte integrante del citoesqueleto con funciones esenciales en el transporte de componentes celulares dentro de la célula y en la división celular. Tiene dos subunidades: alfa y beta.

Vesícula prolígera: pequeña vesícula que se forma a partir de la capa germinativa de un quiste hidatídico y contiene protoescólices en su interior.

Zoonosis: enfermedad infecciosa que ha pasado de un animal a humanos. Los patógenos zoonóticos pueden ser bacterias, virus, parásitos o agentes no convencionales y propagarse a los humanos por contacto

directo o a través de los alimentos, el agua o el medio ambiente.

■ REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Álvarez, P., Castigliones, N., Moreno, S., Bolpe, J. (2017). Hidatidosis en niños de la Provincia de Buenos Aires. Archivos Argentinos de Pediatría. dx.doi.org/10.5546/aap.2018.e476

Apt Baruch, W. (2013). Parasitología humana. McGraw-Hill.

Bartel, D.P. (2018). Metazoan micrnas. Cell, 173(1), 20-51. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.006>

Basika, T., Macchiaroli, N., Cucher, M., Espínola, S., Kamenetzky, L., Zaha, A., Rosenzvit, M., & Ferreira, H. B. (2016). Identification and profiling of microRNAs in two developmental stages of the model cestode parasite *Mesocostoides corti*. Molecular and biochemical parasitology, 210(1-2), 37-49. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2016.08.004>

Beyer, M., Romanski, A., Mustafa, A.M., Pons, M., Buchler, I., Vogel, A., Pautz, A., Sellmer, A., Schneider, G., Bug, G., et al. (2019). HDAC3 activity is essential for human leukemic cell growth and the expression of beta-catenin, MYC, and WT1. Cancers 11, <https://doi.org/10.3390/cancers11101436>.

Bogitsh, B.B., Carter, C.E., Oeltmann, T.T. (2013). Human Parasitology. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/C2010-0-65681-1>

Bonneau E., Neveu B., Kostantin E., Tsongalis G.J., De Guire V. (2019) How close are miRNAs from clinical practice? A perspective on the diagnostic and therapeutic

market. Electronic Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.

Brunetti E., Kernb P., Vuittonc D.A., Writing Panel for the WHO-IWGE (2010). Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. Acta Tropica. 114: 1-16. doi:10.1016/j.actatropica.2009.11.001.

Camicia, F., Celentano, A.M., Johns, M.E., Chan, J.D., Maldonado, L., Vaca, H., Di Siervi, N., Kamenetzky, L., Gamio, A.M., Ortega-Gutierrez, S., Martin-Fontecha, M., Davio, C., Marchant, J.S., Rosenzvit, M.C., (2018). Unique pharmacological properties of serotonergic G-protein coupled receptors from cestodes. Public Library of Science Neglected Tropical Diseases. 12, e0006267. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006267>.

Camicia, F., Herz, M., Prada, L.C., Kamenetzky, L., Simonetta, S.H., Cucher, M.A., Bianchi, J.I., Fernández, C., Brehm, K., Rosenzvit, M.C., (2013). The nervous and pre-nervous roles of serotonin in *Echinococcus* spp. International Journal for Parasitology. 43, 647-659. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.03.006>.

Carrier F. (2013). Chromatin Modulation by Histone Deacetylase Inhibitors: Impact on Cellular Sensitivity to Ionizing Radiation. Molecular and Cellular Pharmacology. 5(1):51-59. PMID: 24648865

Chakrabarti, A., Oehme, I., Witt, O., Oliveira, G., Sippl, W., Romier, C., Pierce, R.J., Jung, M. (2015). HDAC8: a multifaceted target for therapeutic interventions. Trends

- in Pharmacological Sciences. 36, 481–492. <https://doi.org/10.1016/J.TIPS.2015.04.013>.
- Chua, M.J., Arnold, M.S.J., Xu, W., Lancelot, J., Lamotte, S., Späth, G.F., Prina, E., Pierce, R.J., Fairlie, D.P., Skinner-Adams, T.S., Andrews, K.T. (2017). Effect of clinically approved HDAC inhibitors on *Plasmodium*, *Leishmania* and *Schistosoma* parasite growth. International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance. 7, 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2016.12.005>.
- Craig, P.S., McManus, D.P., Lightowers, M.W., Chabalgoity, J.A., Garcia, H.H., Gavidia, C.M., Gilman, R.H., Gonzalez, A.E., Lorca, M., Naquira, C., Nieto, A., Schantz, P.M. (2007) Prevention and control of cystic echinococcosis. The Lancet Infectious Diseases 7 (June): 385–394 <http://infection.thelancet.com>
- Cucher, M., Macchiaroli, N., Kamenetzky, L., Maldonado, L., Brehm, K., Rosenzvit, M. C. (2015). High-throughput characterization of *Echinococcus* spp. metacestode miRNomes. International Journal for Parasitology, 45(4), 253–267. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2014.12.003>
- Cucher, M., Prada, L., Mourglia-Etlin, G., Dematteis, S., Camicia, F., Asurmendi, S., & Rosenzvit, M. (2011). Identification of *Echinococcus granulosus* microRNAs and their expression in different life cycle stages and parasite genotypes. International Journal for Parasitology, 41(3-4), 439–448. <https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2010.11.010>
- Cucher, M.A., Macchiaroli, N., Baldi, G., Camicia, F., Prada, L., Maldonado, L., Avila, H.G., Fox, A., Gutiérrez, A., Negro, P., López, R., Jensen, O., Rosenzvit, M., Kamenetzky, L. (2016). Cystic echinococcosis in South America: systematic review of species and genotypes of *Echinococcus granulosus sensu lato* in humans and natural domestic hosts. Tropical Medicine and International Health. <https://doi.org/10.1111/tmi.12647>
- De Lange, A., Mahanty, S., Raimondo, J. V. (2019). Model systems for investigating disease processes in neurocysticercosis. Parasitology. Cambridge University Press. pp. 553–562. <https://doi.org/10.1017/S0031182018001932> PMID: 30430955
- Díaz, A., Casaravilla, C., Irigoín, F., Lin, G., Previato, J.O., Ferreira, F. (2011). Understanding the laminated layer of larval *Echinococcus* I: structure. Trends in Parasitology. doi: 10.1016/j.pt.2010.12.012
- Due, H., Svendsen, P., Bødker, J.S., Schmitz, A., Bøgsted, M., Johnsen, H.E., El-Galaly, T.C., Roug, A.S., Dybkær, K. (2016). miR-155 as a Biomarker in B-Cell Malignancies. BioMed Research International.
- Eckstein, F. (2014). Phosphorothioates, essential components of therapeutic oligonucleotides. Nucleic acid Therapeutics. 24(6):374–87.
- Elmen, J., Lindow, M., Silahatoglu, A., Bak, M., Christensen, M., Lind-Thomsen, A., Hedtjærn, M., Hansen, J.B., Hansen, H.F., Straarup, E.M., McCullagh, K. (2008) Antagonism of microRNA-122 in mice by systemically administered LNA-antimiR leads to up-regulation of a large set of predicted target mRNAs in the liver. Nucleic acids Research. 36(4):1153–62.
- Fioravanti, R., Mautone, N., Rovere, A., Rotili, D., Mai, A., (2020). Targeting histone acetylation/deacetylation in parasites: an update (2017–2020). Current Opinion in Chemical Biology 57, 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2020.05.008>.
- Ghazy, E., Heimbürg, T., Lancelot, J., Zeyen, P., Schmidt-kunz, K., Truhn, A., Darwish, S., Simoben, C.V., Shaik, T.B., Erdmann, F., Schmidt, M., Robaa, D., Romier, C., Jung, M., Pierce, R., Sippl, W. (2021). Synthesis, structure-activity relationships, cocrystallization and cellular characterization of novel smHDAC8 inhibitors for the treatment of schistosomiasis. European Journal of Medicinal Chemistry. 225:113745. doi: 10.1016/j.ejmech.2021.113745.
- Grecco, A., Macchiaroli, N., Pérez, M. G., Casulli, A., Cucher, M. A., & Rosenzvit, M. C. (2023). microRNA silencing in a whole worm cestode model provides insight into miR-71 function. International Journal for Parasitology, 53(13), 699–710.
- Heimbürg, T., Chakrabarti, A., Lancelot, J., Marek, M., Melesina, J., Hauser, A-T, Shaik, T.B., Duclaud, S., Robaa, D., Erdmann, F., Schmidt, M., Romier, C., Pierce, R.J., Jung, M., Sippl, W. (2016). Structure-Based Design and Synthesis of Novel Inhibitors Targeting HDAC8 from *Schistosoma mansoni* for the Treatment of Schistosomiasis. Journal of Medicinal Chemistry. 59:2423–35. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem>
- Helin, K., Dhanak, D. (2013). Chromatin proteins and modifications

- as drug targets. *Nature* 502, 480-488. <https://doi.org/10.1038/nature12751>
- Hemphill, A. (2010). Development and applications of cestode and trematode laboratory models. *Parasitology* 137, 329. <https://doi.org/10.1017/S0031182010000132>.
- Holcman, B., Heath, D. (1997). Vaccination against *Echinococcus* in perspective. *Acta Tropica*. doi: 10.1016/s0001-706x(97)00054-5
- Horwich, M.D., Zamore, P.D. (2008) Design and delivery of antisense oligonucleotides to block microRNA function in cultured *Drosophila* and human cells. *Nature protocols*. 3(10):1537.
- Hrčková, G., Velebný, S., Corba, J. (1998). Effects of free and liposomized praziquantel on the surface morphology and motility of *Mesocostoides vogae* tetrathyridia (syn. *M. corti* ; Cestoda: Cyclophyllidae) *in vitro*. *Parasitology Research*. 84, 230–238. <https://doi.org/10.1007/s004360050387>.
- Hu, E., Dul, E., Sung, C.M., Chen, Z., Kirkpatrick, R., Zhang, G.F., Johanson, K., Liu, R., Lago, A., Hofmann, G., Macarron, R., de los Frailes, M., Perez, P., Krawiec, J., Winkler, J., Jaye, M. (2003). Identification of Novel Isoform-Selective Inhibitors within Class I Histone Deacetylases. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 307:720–8. <https://doi.org/10.1124/jpet.103.055541>
- Jopling, C. (2012). Liver-specific microRNA-122: Biogenesis and function. *RNA biology*. 9(2):137-42.
- Keiser, J., McCarthy, J., Hotez, P. (2022). Chapter 68: Chemotherapy of Helminth Infections, Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics, 14ed
- Kozioł, U., Domínguez, M. F., Marín, M., Kun, A., Castillo, E. (2010). Stem cell proliferation during *in vitro* development of the model cestode *Mesocostoides corti* from larva to adult worm. *Frontiers in Zoology*, 7, 1-12. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-7-22>
- Lee, R.C., Feinbaum, R.L., Ambros, V. (1993). The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell*. 75(5):843-54.
- Lennox, K.A., Behlke, M.A. (2011). Chemical modification and design of anti-miRNA oligonucleotides. *Gene Therapy*. 18(12):1111-20.
- Macchiaroli, N., Preza, M., Pérez, M.G., Kamenetzky, L., Cucher, M.A., Kozioł, U., Castillo, E., Berriman, M., Brehm, K., Rosenzvit, M.C. (2021). Expression profiling of *Echinococcus multilocularis* miRNAs throughout metacystode development *in vitro*. *Public Library of Science Neglected Tropical Diseases*. 15(3):e0009297. doi: 10.1371/journal.pntd.0009297
- Macchiaroli N., Rosenzvit M. (2014). Capítulo: MicroARNs en endoparásitos zoonóticos en Libro: Temas de Zoonosis VI. Sánchez Thevenet, P. *Revista Argentina de Parasitología*, 2.
- Macchiaroli, N., Cucher, M., Zarowiecki, M., Maldonado, L., Kamenetzky, L., & Rosenzvit, M. C. (2015). microRNA profiling in the zoonotic parasite *Echinococcus canadensis* using a high-throughput approach. *Parasites & Vectors*, 8, 1-17. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0686-8>
- Macchiaroli, N., Maldonado, L., L., Zarowiecki, M., Cucher, M., Gismondi, M. I., Kamenetzky, L., & Rosenzvit, M. C. (2017). Genome-wide identification of microRNA targets in the neglected disease pathogens of the genus *Echinococcus*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 214, 91-100. <https://doi.org/10.1016/j.molbiopara.2017.04.001>
- Maggiore, M., Elisondo, M.C. (2014). *In Vitro* Cestocidal Activity of Thymol on *Mesocostoides corti* Tetrathyridia and Adult Worms. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases*. 2014:1–8. <https://doi.org/10.1155/2014/268135>
- Maldonado, L.L., Assis, J., Araújo, F.M.G., Salim, A.C.M., Macchiaroli, N., Cucher, M., Camicia, F., Fox, A., Rosenzvit, M., Oliveira, G., Kamenetzky, L. (2017). The *Echinococcus canadensis* (G7) genome: a key knowledge of parasitic platyhelminth human diseases. *BMC Genomics* 18, 204. <https://doi.org/10.1186/s12864-017-3574-0>.
- Ministerio de Salud. Presidencia de la Nación (2012). Hidatidosis. Guía para el equipo de salud.
- Moro, P., Schantz, P.M. (2009). Echinococcosis: a review. *International Journal of Infectious Diseases*. doi:10.1016/j.ijid.2008.03.037
- Mottamal, M., Zheng, S., Huang, T., Wang, G. (2015). Histone deacetylase inhibitors in clinical studies as templates for New Anticancer

- agents. *Molecules* 20, 3898–3941. <https://doi.org/10.3390/molecules20033898>.
- Nebbioso, A., Carafa, V., Conte, M., Tambaro, F.P., Abbondanza, C., Martens, J., Nees, M., Benedetti, R., Pallavicini, I., Minucci, S., et al. (2017). c-Myc modulation and acetylation is a key HDAC inhibitor target in cancer. *Clinical Cancer Research*. 23: 2542–2555.
- Noce, B., Di Bello, E., Zwergel, C., Fioravanti, R., Valente, S., Rotili, D., Masotti, A., Salik Zeya Ansari, M., Trisciungio, D., Chakrabarti, A., Romier, C., Robaa, D., Sippl, W., Jung, M., Häberli, C., Keiser, J., Mai, A. (2023). Chemically Diverse *S. mansoni* HDAC8 Inhibitors Reduce Viability in Worm Larval and Adult Stages. *Chem-MedChem*. 18(3):e202200510. doi: 10.1002/cmdc.202200510.
- PANAFTOSA/SPV, OPS/OMS (2022). Programa regional para la eliminación de la equinococosis quística/hidatidosis 2022-2029.
- Pérez, M.G., Macchiaroli, N., Lichtenstein, G., Conti, G., Asurmendi, S., Milone, D.H., Stegmaier, G., Kamenetzky, L., Cucher, M.A., Rosenzvit, M.C. (2017). microRNA analysis of *Taenia crassiceps* cysticerci under praziquantel treatment and genome-wide identification of *Taenia solium* miRNAs. *International Journal of Parasitology*. 47(10-11):643-653. doi: 10.1016/j.ijpara.2017.04.002
- Pérez, M.G., Spiliotis, M., Rego, N., Macchiaroli, N., Kamenetzky, L., Holroyd, N., Cucher, M.A., Brehm, K., Rosenzvit, M.C. (2019). Deciphering the role of miR-71 in *Echinococcus multilocularis* early development *in vitro*. *Public Library of Science Neglected Tropical Diseases*. 13(12):e0007932. doi: 10.1371/journal.pntd.0007932
- Rosenzvit, M., Cucher, M., Kamenetzky, L., Macchiaroli, N., Prada, L., Camicia, F. (2013). MicroRNAs in Endoparasites. *MicroRNA and Non-Coding RNA: Technology, Developments and Applications* [Internet]. 65-92.
- Rosenzvit, M.C., Zhang, L.-H., Kamenetzky, L., Canova, S.G., Guarnera, E.A., McManus, D.P. (1999). Genetic variation and epidemiology of *Echinococcus granulosus* in Argentina. *Parasitology* 118, 523-530.
- Saldaña, J., Marín, M., Fernández, C., Domínguez, L. (2001). *In vitro* taurocholate-induced segmentation and clustering of *Mesocestoides vogae* (syn. *corti*) tetrathyridia (Cestoda)–inhibition by cestocidal drugs. *Parasitology Research*, 87(4), 281-286 <https://doi.org/10.1007/PL00008579>
- Sapunar, J. (2013) Capítulo 56. Hidatidosis y equinococosis. *Parasitología Humana*. Ed Apt Baruch, W.L. McGraw-Hill.
- Simonetta, S.H., Golombek, D.A. (2007). An automated tracking system for *Caenorhabditis elegans* locomotor behavior and circadian studies application. *Journal of Neuroscience Methods* 161, 273-80. <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2006.11.015>
- Smego R.A., Sebaneg, P. (2005). Treatment options for hepatic cystic echinococcosis. *International Journal of Infectious Diseases*. doi:10.1016/j.ijid.2004.08.001
- Smyth, J.D., McManus, D.P. (2007). The physiology and biochemistry of cestodes. Cambridge University Press.
- Thomas, M., Lieberman, J., Lal, A. (2010). Desperately seeking microRNA targets. *Nature structural & molecular biology*. 17(10):1169.
- Thompson, R. (2017). Biology and Systematics of *Echinococcus*. *Advances in Parasitology*. pp. 65–109. <https://doi.org/10.1016/bs.apar.2016.07.001>
- Thompson, R., McManus, D.P. (2001). Aetiology: parasites and life-cycles. *World Organization for Animal Health*.
- Thompson, R., Jue Sue, L.P., Buckley, S.J. (1982). *In vitro* development of the strobilar stage of *Mesocostoides corti*. *International Journal of Parasitology*. 12, 303–314. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(82\)90033-9](https://doi.org/10.1016/0020-7519(82)90033-9).
- Tsai, I. J., Zarowiecki, M., Holroyd, N., Garcarrubio, A., Sanchez-Flores, A., Brooks, K. L., Tracey, A., Bobes, R.J., Frago, G., Sciutto, E., Aslett, M., Beasley, H., Bennet, H.M., Cai, J., Camicia, F., Clark, R., Cucher, M., De Silva, N., Day, T.A., Deplazes, P., Estrada, K., Fernández, C., Holland, P.W.H., Hou, J., Hu, S., Huckvale, T., Hung, S.S., Kamenetzky, L., Keane, J.A., Kiss, F., Koziol, U., Lambert, O., Liu, K., Luo, X., Luo, Y., Macchiaroli, N., Nichol, S., Paps, J., Parkinson, J., Pouchkina-Stantcheva, N., Riddiford, N., Rosenzvit, M.C., Salinas, G., Wasmuth, J.D., Zamanian, M., Zheng, Y. The *Taenia solium* Genome Consortium, Cai, X., Soberón, X., Olson, P.D., Laclette, J.P., Brehm, K., Berri-

- man, M. (2013). The genomes of four tapeworm species reveal adaptations to parasitism. *Nature*, 496(7443), 57–63. <http://doi.org/10.1038/nature12031>
- Vaca, H. R., Celentano, A. M., Toscanini, M. A., Hauser, A. T., Macchiaroli, N., Cuestas, M. L., Nusblat, A.D., Sippl, W., Elissondo, M.C., Jung, M., Camicia, F., Rosenzvit, M. C. (2022). Identification and characterization of sirtuin enzymes in cestodes and evaluation of sirtuin inhibitors as new cestocidal molecules. *International Journal for Parasitology*, 52(5), 317–329.
- Vaca, H. R., Celentano, A. M., Toscanini, M. A., Heimburg, T., Ghazy, E., Zeyen, P., Hauser, A-T, Olivera, G., Elissondo, M.C., Jung, M., Sippl, W., Camicia, F., Rosenzvit, M. C. (2021). The potential for histone deacetylase (HDAC) inhibitors as cestocidal drugs. *Public Library of Science Neglected Tropical Diseases*, 15(3), e0009226.
- Vaca, H.R., Celentano, A.M, Macchiaroli, N., Kamenetzky, L., Camicia, F., Rosenzvit, M.C. (2019). Histone deacetylase enzymes as potential drug targets of Neglected Tropical Diseases caused by cestodes. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*. 9, 120–132. <https://doi.org/10.1016/j.ijpd-dr.2019.02.003>
- World Health Organization. 2020. Ending the neglect to attain the Sustainable Development Goals: a road map for neglected tropical diseases 2021–2030. World Health Organization, Geneva. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- Zheng, H., Zhang, W., Zhang, L., Zhang, Z., Li, J., Lu, G., Zhu, Y., Wang, Y., Huang, Y., Liu, J., Kang, H., Chen, J., Wang, L., Chen, A., Yu, S., Gao, Z., Jin, L., Gu, W., Wang, Z., Zhao, L., Shi, B., Wen, H., Lin, R., Jones, M.K., Brejova, B., Vinar, T., Zhao, G., McManus, D.P., Chen, Z., Zhou, Y., Wang, S. (2013). The genome of the hydatid tapeworm *Echinococcus granulosus*. *Nature Genetics*. 45, 1168–1175. <https://doi.org/10.1038/ng.2757>