

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E  
MOLECULARBIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR  
MESTRADO EM BIOLOGIA CELULA E MOLECULAR

AMARANTA RANGEL RAMOS

**ANÁLISE *IN SILICO* DA DEPENDÊNCIA METABÓLICA ENTRE  
*ANGIOSTRONGYLUS* SPP. E SEUS HOSPEDEIROS**

Porto Alegre

2017

PÓS-GRADUAÇÃO - *STRICTO SENSU*



Pontifícia Universidade Católica  
do Rio Grande do Sul

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA CELULAR E MOLECULAR

AMARANTA RANGEL RAMOS

*Análise in silico* da dependência metabólica entre *Angiostrongylus* spp. e seus  
hospedeiros

Porto Alegre

2017

AMARANTA RANGEL RAMOS

Análise *in silico* da dependência metabólica entre *Angiostrongylus*  
spp. e seus hospedeiros

Dissertação de mestrado  
apresentado como  
requisito parcial para  
obtenção do título de  
Mestre em Biologia  
Celular e Molecular pela  
Pontifícia Universidade  
Católica do Rio Grande  
do Sul.

Orientador:

Prof Dr. Carlos Graeff-Teixeira

Coorientador:

Dr. Leandro de Mattos Pereira

Porto Alegre

2017

### Ficha Catalográfica

R175a Ramos, Amaranta Rangel

Análise in silico da dependência metabólica entre  
Angiostrongylus spp. e seus hospedeiros / Amaranta Rangel Ramos.  
– 2017.

54 f.

Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em  
Biologia Celular e Molecular, PUCRS.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Graeff Teixeira.

Coorientador: Prof. Dr. Leandro de Mattos Pereira.

1. Metabolic dependence. 2. parasitism. 3. angiostrongylus spp. I.  
Teixeira, Carlos Graeff. II. Pereira, Leandro de Mattos. III. , . IV.  
Título.

## RESUMO

Duas espécies de *Angiostrongylus*, *A. cantonensis* e *A. costaricensis*, são conhecidas por causar meningite eosinofílica, devido à presença do parasita na fase larval no cérebro, e angiostrongilíase abdominal, pela à presença de vermes adultos na artéria mesentérica, em humanos que foram acidentalmente infectados. A capacidade dos parasitos de permanecerem no hospedeiro pode estar relacionada à capacidade de obter nutrientes e utilizar moléculas fundamentais para o desenvolvimento do parasito, porém, tais respostas podem ser diferentes de acordo com o gênero do hospedeiro. Com a premissa de que o parasito utiliza moléculas sintetizadas por seu hospedeiro para complementar seu próprio metabolismo, o presente estudo visa avaliar através da anotação de vias metabólicas utilizando os programas AnEnPi e KAAS a dependência metabólica de duas espécies de *Angiostrongylus* spp. em seus hospedeiros. Ao analisar os proteomas, foram identificadas nove enzimas apenas em *A. cantonensis* e uma em *A. costaricensis*, bem como a presença de 13 enzimas com a mesma função nos parasitas e seus hospedeiros. Encontramos 156 enzimas que mostraram uma possível dependência metabólica entre *A. cantonensis* e *A. costaricensis* e seus hospedeiros *Rattus norvegicus*, *Mus musculus*, *Biomphalaria glabrata* e *Homo sapiens*. Dentre as enzimas que possivelmente representam dependência metabólica foram encontradas sete enzimas com letalidade característica, e uma enzima que também não estava presente em todos os organismos parasitas analisados.

Palavras-chave: Dependência metabólica, parasitismo, *Angiostrongylus* spp.

## ABSTRACT

Two species of *Angiostrongylus*, *A. cantonensis* and *A. costaricensis*, are known to cause eosinophilic meningitis, due to the presence of the parasite in the larval stage in the brain, and abdominal angiostrongyliasis, due to the presence of adult worms in the mesenteric artery, in humans that were accidentally infected. The capability of the parasites to remain within the host may be related to the ability to obtain nutrients and to utilize molecules fundamental for the development of the parasite, however, such responses may be different according to host genus. With the premise that the parasite uses molecules synthesized by its host to complement its own metabolism, the present study aims to evaluate through the annotation of metabolic pathways using AnEnPi and KAAS programs the metabolic dependence of two species of *Angiostrongylus spp.* in their hosts. When analyzing the proteomes, nine enzymes were identified only in *A. cantonensis* and one in *A. costaricensis*, as well the presence of 13 enzymes with the same function in the parasites and their hosts. We found 156 enzymes that showed a possible metabolic dependence between *A. cantonensis* and *A. costaricensis* and their hosts *Rattus norvegicus*, *Mus musculus*, *Biomphalaria glabrata* and *Homo sapiens*. Among the enzymes that possibly represent metabolic dependence were found seven enzymes with characteristic lethality, and one enzyme that also was not present in all the parasite organism analyzed.

Key words: Metabolic dependence, parasitism, *Angiostrongylus spp.*

## Sumário

Introdução	7
1.1 <i>Angiostrongylus cantonensis</i>	9
1.2 <i>Angiostrongylus costaricensis</i>	9
1.3. Vias metabólicas	10
2. Artigo	16
3. Discussão geral	50
4. Considerações finais	53
5. Referências	54

## 1. INTRODUÇÃO

O parasitismo pode ser definido como uma relação íntima entre dois organismos heteroespecíficos na qual o parasito costuma ser o menor dos organismos. A maioria dos parasitos necessitam de seus hospedeiros durante todo o seu ciclo de vida, entretanto alguns possuem alguma fase de desenvolvimento na qual são capazes de viver fora do organismo do hospedeiro, sendo então classificados como facultativos, como por exemplo *Strongyloides* spp., *Cochliomyia macellaria*, *Phaenicia* spp. (PESSOA, 1977).

Os hospedeiros são passíveis de classificação de acordo com a fase de desenvolvimento do parasito, sendo que a fase de reprodução sexuada ocorre no hospedeiro definitivo e as fases de reprodução assexuadas ou estágios de desenvolvimento larvais/imaturos são encontradas no hospedeiro intermediário (CHENG, 1986). Muitos desses parasitos apresentam ciclos de vida complexos envolvendo diferentes hospedeiros nas fases adulta e larval. Há ainda os hospedeiros considerados acidentais, onde o parasito pode não obter o seu desenvolvimento completo ou causar a morte do hospedeiro, diminuindo as chances de transmissão e perpetuação da espécie. Nesta condição algumas premissas do processo infeccioso não serão contempladas e a infecção será autolimitada. O parasito pode, por exemplo, penetrar em seu hospedeiro, porém não atingir seu local de parasitismo. Isso é o que acontece, por exemplo, quando o *Ancylostoma caninum*, parasito intestinal habitual de cães, infecta humanos causando uma síndrome clínica chamada larva *migrans* cutânea (LMC). A LMC se caracteriza pela retenção da larva nos tecidos da pele, impedindo que essas cheguem na corrente sanguínea e migrem pela circulação até atingir os pulmões e ascender pela via respiratória e ser deglutida para chegar ao local definitivo de parasitismo, o duodeno (BRUSCA e BRUSCA, 2007). Outra reação à infecção acidental é a interferência exacerbada do sistema de defesa do hospedeiro, ocasionando a retenção das formas reprodutivas ou o impedimento da maturação. Esse é o caso da infecção por *Angiostrongylus costaricensis* e *Angiostrongylus cantonensis* em humanos (GRAEFF- TEIXEIRA, 2001).

O *Angiostrongylus* apresenta capacidade de infectar diferentes gêneros de roedores (CHEN, 2011; GRAEFF-TEIXEIRA 1990). O *Angiostrongylus cantonensis* tem como hospedeiros definitivos diferentes espécies de *Rattus* e como hospedeiros acidentais *Mus musculus* e *Suncus murinus* (CHENG, 2011). Já o *Angiostrongylus costaricensis* possui como hospedeiros definitivos camundongos *Oligoryzomys nigripes*, *Akodon serrensis*, *Oxymuceterus judex* (GRAEFF-TEIXEIRA, 1990). Existe uma diferença na mortalidade e



na taxa de número de vermes por roedores infectados entre espécies diferentes de um mesmo gênero, em *Oryzomys ratticeps* somente um verme adulto de *A. costaricensis* foi encontrado em um estudo que avaliou 73 animais enquanto que *Oligoryzomys nigripes* foram 42 vermes. Isso também se observou em hospedeiros acidentais, quando diferentes linhagens de camundongos *Mus musculus* apresentaram ratio total de vermes recuperados por animal infectado muito baixa enquanto a taxa de mortalidade elevada, chegando a 58% na linhagem *Swiss* (SANTOS; PINTO; GRAEFF-TEIXEIRA, 1996). Embora essa diferença seja evidente, ainda não é bem entendido o mecanismo pelo qual o parasito apresenta maior sucesso de desenvolvimento em determinada espécie de hospedeiro.

A infecção e permanência de *Trypanosoma cruzi* em seus hospedeiros definitivos, por exemplo, são sustentadas pelas redes metabólicas do hospedeiro, assim como suas vias de sinalização celular (GENOVESIO et al., 2011). Já foi demonstrado que há uma interligação nas redes metabólicas do hospedeiro com o aumento na produção de energia a partir da oxidação lipídica, metabolismo de nucleotídeos e biossíntese de pteridina como sendo processos chave para a obtenção de energia intracelular ao longo do processo de desenvolvimento de *T. cruzi*. (CARADONNA et al., 2013).

Outra associação conhecida com dependência metabólica entre parasitos e seus hospedeiros é o caso das *Leishmania* spp., as quais não possuem genes codificantes para síntese de heme, indispensáveis para o crescimento do parasito, dependendo, portanto, das moléculas heme sintetizadas pelos hospedeiros vertebrados (LOWFF, 1951; SALZMAN, 1982; SALZMAN, 1985). Ainda não completamente elucidado, o mecanismo pelo qual as *Leishmania* spp. utilizam estas moléculas parece ser através do catabolismo e resgate de hemoproteínas provenientes de macrófagos (GALBRAITH e MCEL RATH, 1988).

Além dos componentes iônicos, os parasitos necessitam obter os nutrientes diretamente de seus hospedeiros, podendo ser pela ingestão do conteúdo celular, como da hemoglobina, e/ou pela absorção de nutrientes já digeridos. As tênias, por exemplo, não sintetizam suas próprias enzimas digestivas (DOGEL, 1964) e *Cryptosporidium parvum* e *Plasmodium falciparum* parecem promover alterações na expressão de vias metabólicas de seus hospedeiros relacionadas com o metabolismo de gorduras e do ácido pantotênico o que favorecem o desenvolvimento e nutrição do parasito (XU et al., 2010).

Assim, o estudo das diferentes condições metabólicas disponíveis em diferentes

hospedeiros, bem como da identificação das possíveis necessidades metabólicas de seus respectivos parasitos, poderá trazer maior clareza no entendimento da relação parasito-hospedeiro, tanto nos aspectos de desenvolvimento como maturidade sexual

### 1.1. *Angiostrongylus cantonensis*

Nematódeo parasito que causa meningite eosinofílica em humanos. Caracteriza-se por apresentar corpo filiforme tendo comprimento de 20-25 mm os vermes machos e 22-24 mm as fêmeas. Os machos apresentam bursa copulatória com tamanho aproximado de 50 µm contendo pares de raios e espículas, estes são caracteres importantes para determinação da espécie. A fêmea possui dois tubos digestivos e um tubo reprodutor de cor vermelha, os três em disposição helicoidal, visíveis através do tegumento parcialmente transparente. Possui como hospedeiros definitivos roedores silvestres e moluscos terrestres pulmonados como intermediários (AJELLO et al, 1998; MORASSUTTI e TEIXEIRA, 2015). Seu ciclo de vida está representado na figura 1 (CDC, 2015.a).

A meningite eosinofílica é ocasionada devido à migração das larvas presentes no sangue para o sistema nervoso central. Ocorre, conseqüentemente, uma intensa reação inflamatória e ocasionalmente a morte das larvas. Os indivíduos infectados apresentam síndrome de meningite aguda ou sub-clínica, caracterizada por cefaleia, letargia, febre e rigidez na nuca (MORASSUTTI; GRAEFF-TEIXEIRA, 2015; BATISTA; IGREJA, 2001).

### 1.2 *Angiostrongylus costaricensis*

Encontrado naturalmente nas artérias mesentéricas de roedores, possui dois hospedeiros no seu ciclo conforme demonstrado na figura 1 (CDC, 2015.a). Apresenta morfologia similar ao *Angiostrongylus cantonensis*, sendo diferenciado devido ao comprimento e largura do macho, 15-18 mm e 0,28 mm, respectivamente, presença de seis pares de papilas sensoriais ordenadas em círculos e bursa copulatória de tamanho médio, com dois espículos delgados. As fêmeas possuem comprimento entre 24-27 mm e largura de 0,30 mm (MORERA; CÉSPEDES, 1971; SANTOS, 1985).

A infecção no homem ocorre de forma acidental, através do consumo de moluscos infectados, malcozidos ou crus, água, ou alimentos contaminados com o terceiro estágio larval, mal lavados e crus. A angiostrongilíase abdominal é marcada pela presença dos vermes adultos nas artérias mesentéricas de humanos acarretando uma reação inflamatória

devido a secreção de antígenos e a presença de ovos nos capilares. Na maioria dos casos o indivíduo infectado não apresenta sintomatologia, porém quando há manifestação ocorre na forma de quadros agudos de dor abdominal no quadrante inferior direito e febre (GRAEFF-TEIXEIRA; AGOSTINI; RODRIGUES, 2014).

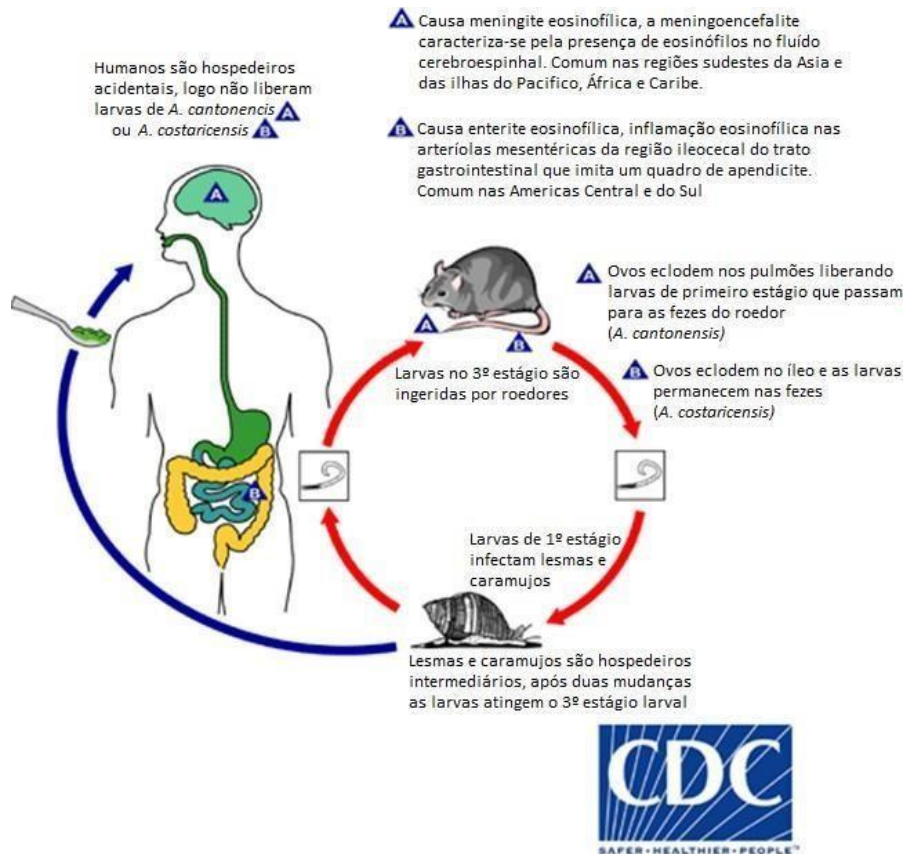


Figura 1: Ciclo de vida *Angiostrongylus cantonensis* e *Angiostrongylus costaricensis*.

Fonte: <http://www.cdc.gov/parasites/angiostrongylus/biology.html>

### 1.3 VIAS METABÓLICAS

As vias metabólicas são uma série de reações químicas, catalisadas por enzimas, nas quais um ou mais precursores ou substratos são convertidos em produtos através de intermediários metabólicos (LEHNINGER, 2002). As enzimas presentes nestas vias são classificadas de acordo com a “Nomenclature Committee of the International Union of Biochemistry and Molecular Biology” (NC-IUBMB, <http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme>), a qual atribui a cada atividade enzimática um nome e um EC (“Enzyme Commission”) de acordo com a reação catalisada pela enzima, conforme apresentado na tabela 1. Esta numeração possui uma ordenação hierárquica composta por quatro números, o primeiro descreve a reação química geral, ou seja, a classe à qual

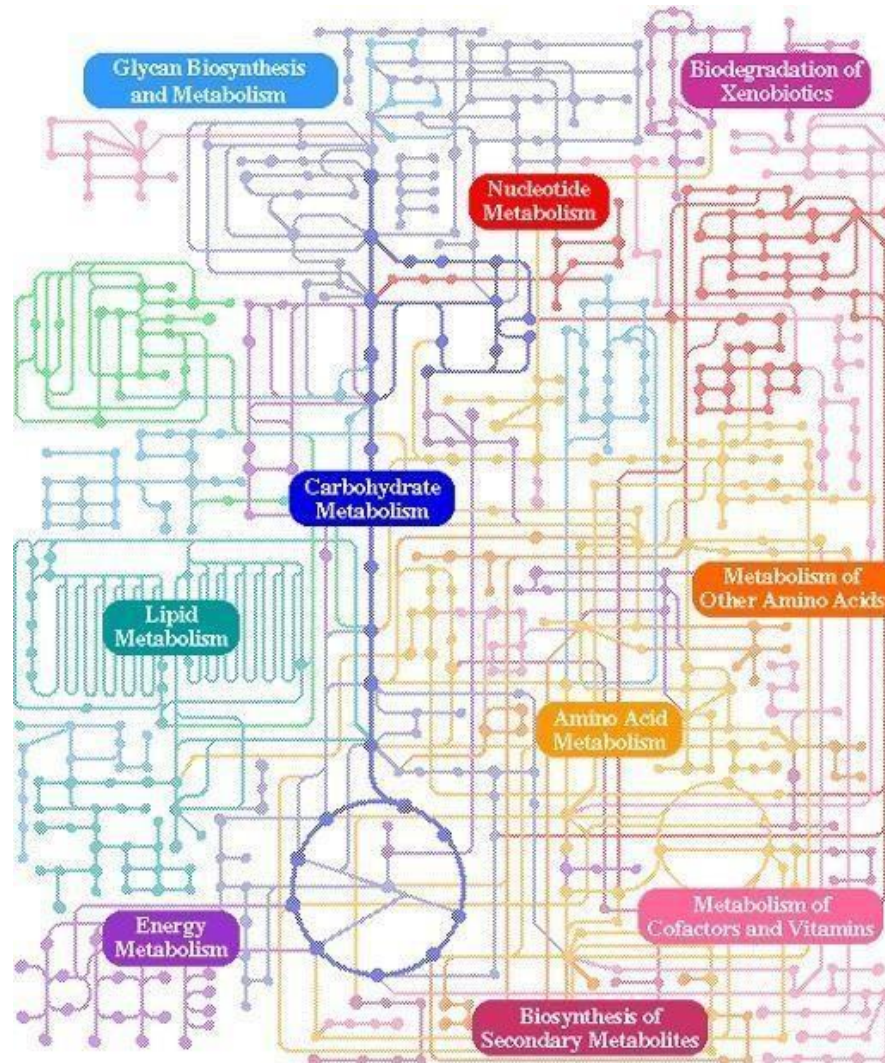
pertence, o segundo indica a subclasse, o terceiro a sub-subclasse e por último o quarto número indica a especificidade da reação, definindo o substrato/produto ou cofatores específicos utilizados (IUPAC, 2016). A classificação das enzimas de acordo com o EC gera a associação entre a genômica e a química, uma vez que este representa as reações químicas (informação química), assim como um identificador de enzimas e de genes codificantes de enzimas (informação genômica) (KOTERA, 2004).

**Tabela 1:** Grupos enzimáticos e sua classificação de acordo com a União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular

Grupo enzimático	Reação catalisada	Exemplo
EC1: Oxidorredutases	Transferência de átomos ou moléculas de hidrogênio e oxigênio de um substrato para outro, ou associados às reações de oxidação	Desidrogenases e oxidases
EC2: Transferases	Transferência de um grupo específico (fosfato, metil, etc) de um substrato para outro.	Transaminases e cinases
EC3: Hidrolases	Hidrólise de um substrato	Enzimas digestivas
EC4: Liases	Remoção não hidrolítica de um grupo ou adição de um grupo ao substrato.	Aldolases
EC5: Isomerasas	Mudança na forma molecular de um substrato	Fumarases
EC6: Ligases	Junção de duas moléculas pela formação de novas ligações.	Sintetases

O metabolismo dos seres vivos pode ser representado bidimensionalmente por um gráfico de redes contendo várias centenas de reações e metabólitos, como demonstrado na figura 2 (Mapa 01100, 2016). A representação das vias metabólicas através de partes independentes mostrando as enzimas que as compõem viabiliza a identificação da sua rede de genes codificantes, o que permite propor hipóteses a respeito da relação entre genes e uma doença, por exemplo (JEONG et al., 2000; SCHOMBURG et al 2004; WINGENDER, 2007). O número de reações que as vias metabólicas abrangem, assim como sua definição varia de acordo com os bancos de dados, por exemplo, no WIT (*What Is There*) as vias são compostas por dez ou menos reações, já o KEGG (*Kioto Encyclopedia of Genes and Genomes*) utiliza dezenas de reações (KANEHISA; GOTO, 2000; OVERBEEK et al., 2000). A partir do estudo destas é possível compreender as modificações que acontecem dentro de uma célula ou organismo (LEHNINGER, 2002), assim como inferir as vias ou enzimas compartilhadas entre diferentes organismos, tais como parasitos e hospedeiros.

Figura 2: Esquema bidimensional das vias metabólicas. Fonte: [http://www.genome.jp/kegg-bin/show\\_pathway?map01100](http://www.genome.jp/kegg-bin/show_pathway?map01100)



### **Objetivo geral:**

Estudar a ocorrência de dependência metabólica entre *Angiostrongylus cantonensis* e *Angiostrongylus costaricensis* e seus hospedeiros através de análises “in silico”.

### **Objetivos específicos:**

- Identificar e anotar as atividades enzimáticas de 41 vias metabólicas em *Angiostrongylus* spp, assim como dos hospedeiros *Biomphalaria glabrata*, *Mus musculus*, *Rattus norvegicus* e *Homo sapiens*.
- Assinalar potenciais casos de atividades enzimáticas que caracterizem possível dependência metabólica entre os parasitos e seus respectivos hospedeiros através do padrão de presença/ausência da enzima nos proteomas dos organismos avaliados.

## Justificativa

O sucesso evolutivo que permitiu o estabelecimento do parasitismo e sua especificidade a determinados hospedeiros pode ter envolvido o encontro de substâncias que são produzidas apenas pelos seus hospedeiros, mas que são essenciais à sobrevivência e desenvolvimento do parasito (XU et al., 2010), caracterizando uma dependência metabólica espécie específica.

A utilização das informações disponíveis nos bancos de dados especializados em vias metabólicas tais como: *KEGG* (KANEHISA, 2000) e *Metacyc* (CASPI, et al, 2008) juntamente com as ferramentas de identificação de ortólogos tais como: *BLAST* (ALTSCHUL et al., 1990), *OrthoMCL* (LI, STOECKERT, ROOS, 2003) e *OrthoFinder* (EMMS, KELLY, 2015) e anotação funcional de vias metabólicas, tais como *AnEnPi* (Otto et al., 2008), possibilitam o mapeamento de vias metabólicas, anotação funcional e a identificação de atividades funcionais (ECs) compartilhadas entre diferentes organismos.

Durante a história evolutiva dos organismos, estes podem ganhar ou perder genes resultado de processos adaptativos, pressões seletivas e interações com o ambiente ou com outros organismos, logo é comum identificar vias metabólicas incompletas em alguns parasitos, entretanto as atividades enzimáticas que complementam tais vias podem ser encontradas em seus respectivos hospedeiros. A análise das diferenças entre os metabolismos permite a identificação de atividades enzimáticas que podem indicar dependência metabólica, e assim melhorar a compreensão da evolução de especificidade de hospedeiros, da co-evolução do parasitismo e da adaptação metabólica que influencia na permissividade de infecção e/ou fatores de virulência.

Portanto, a análise *in silico* do compartilhamento de atividades enzimáticas e vias metabólicas na relação parasito-hospedeiro de duas espécies de *Angiostrongylus* por meio da anotação das atividades enzimáticas e o mapeamento das vias metabólicas individuais, auxiliará a identificação de diferenças e semelhanças entre os metabolismos de parasitos e seus hospedeiros podendo servir de base para estudos futuros que tenham como objetivo identificar os mecanismos moleculares envolvidos no parasitismo, alvos farmacológicos, ou diagnósticos.

O presente artigo será submetido à revista *International Parasitology*

In silico analysis of the metabolic dependence of *Angiostrongylus cantonensis* and *A. costaricensis* of their hosts

Amaranta Rangel Ramos, Leandro de

Mattos, Alessandra Morassutti, and

Carlos Graeff-Teixeira

Grupo de Parasitologia Biomédica, Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS)

Corresponding author: Amaranta Ramos (amaranta.r.amos@gmail.com)



## ABSTRACT

Two species of *Angiostrongylus*, *A. cantonensis* and *A. costaricensis*, are known to cause eosinophilic meningitis, due to the presence of the parasite in the larval stage in the brain, and abdominal angiostrongyliasis, due to the presence of adult worms in the mesenteric artery, in humans that were accidentally infected. The capability of the parasites to remain within the host may be related to the ability to obtain nutrients and to utilize molecules fundamental for the development of the parasite, however, such responses may be different according to host genus. With the premise that the parasite uses molecules synthesized by its host to complement its own metabolism, the present study aims to evaluate through the annotation of metabolic pathways using AnEnPi and KAAS programs the metabolic dependence of two species of *Angiostrongylus spp.* in their hosts. When analyzing the proteomes, nine enzymes were identified only in *A. cantonensis* and one in *A. costaricensis*, as well the presence of 13 enzymes with the same function in the parasites and their hosts. We found 156 enzymes that showed a possible metabolic dependence between *A. cantonensis* and *A. costaricensis* and their hosts *Rattus norvegicus*, *Mus musculus*, *Biomphalaria glabrata* and *Homo sapiens*. Among the enzymes that possibly represent metabolic dependence were found seven enzymes with characteristic lethality, and one enzyme that also was not present in all the parasite organism analyzed.

Key words: Metabolic dependence, parasitism, *Angiostrongylus spp.*

1

## 2 1. INTRODUCTION

3 The etymology of the word "parasite" descends from latin "parasitus" and derives from  
4 greek (parasites) which designates "the one who eats at the table of others." The term  
5 compound in greek means for, "together, beside" and situs "food" (Gurgel-Gonçalves, et. al.,  
6 2007). The concept of parasitism has been modified over the years. First parasitism was  
7 considered as a relation between two organisms of different species, in which one serves as  
8 "environment" for the other (Ferreira apud Levine, 1968). The body of a superior animal,  
9 therefore, is able to provide niches for other organisms. These organisms invade the body with  
10 the objective of acquiring nutrients and as a form of protection (Barreto, 1967), and its presence  
11 can lead to changes, beneficial or harmful to the host, considering that the boundaries between  
12 the different outcomes can be determined by the needs of the parasites and by the physiological  
13 responses of the host (Ferreira, 1973).

14 In the late 90s it is emphasized that the parasite develops at the expense of its host causing  
15 some type of damage, emphasizing the presence of metabolic dependence of the parasites with  
16 the hosts and ecological interactions between them (Rey, 2002). It is also known that the  
17 presence of the parasite may lead to decreased fitness in the host due to the consumption of  
18 nutritional resources and the effects of infection on the affected tissue as well as the dispersion  
19 (Levri, 1999). There is also an idea that intimate interactions like parasitism and symbiosis would  
20 be associated with morphological and functional simplification, and even losses of genes or  
21 protein expression. Loss of genes coding non-essential amino acid biosynthesis has documented  
22 for symbionts (Wernegreen, 2012) and some parasites (Payne and Loomis, 2006), e.g.,  
23 *Leishmania*, *Plasmodium* and *Cryptosporidium*. Some bacterial symbionts and parasitic  
24 organisms tend to present a reduction in size of their incomplete genomes and metabolic  
25 pathways, possibly resulting from loss of non-essential genes during the process of coevolution  
26 and adaptation to their hosts.

27 Several parasites require a passage through different host species to complete their life  
28 cycle such as *Plasmodium* spp (Rénia and Goh, 2016), *Dyphillobotrium* spp (Kuchta, et al.,  
29 2013) and *Fasciola* spp (Moazeni and Ahmadi, 2016) suggesting different metabolic needs  
30 according the different stages of parasite development. The trypanosomatids *Leishmania* and  
31 *Trypanosoma*, as well as the anaerobic protozoan parasites *Giardia*, *Trichomonas*, and  
32 *Entamoeba*, do not have several enzymes necessary to perform heme biosynthesis (Anzaldi

33 and Skaar, 2010; Kořený et al., 2013). *Leishmania donovani* uses host molecules to complete  
34 the heme synthesis pathway (Krishnamurthy et al., 2005), which is crucial for cytochromes in  
35 the respiratory chain and acts as an essential cofactor for hemoproteins, such as those involved in  
36 the biosynthesis of polyunsaturated fatty acids and sterols (Tripodi et al., 2011).

37 The long-term persistence of *Trypanosoma cruzi* in their definitive hosts, for example,  
38 are supported by the host metabolic networks, as well as their cell signaling pathways  
39 (Genovesio et al., 2011). It has already been shown that there is an interconnection in the  
40 metabolic networks of the host with the increase in energy production from lipid oxidation,  
41 nucleotide metabolism and pteridine biosynthesis as key processes to obtain intracellular energy  
42 throughout the development process of *T. Cruzi* (Caradonna et al., 2013).

43 Species of *Angiostrongylus spp.* infect different rodent taxa. *A. cantonensis* has as  
44 definitive hosts different *Rattus* species and *Mus musculus* and *Suncus murinus* as accidental  
45 hosts (Cheng, 2011). However, *A. costaricensis* has as final hosts *Oligoryzomys nigripes* and  
46 *O. ratticeps* (Teixeira, 1990). There is a difference in mortality and number of worms produced  
47 by rodents from different mice strains (Santos et al., 1996). Although this difference is evident,  
48 the mechanism by which the parasite shows the greatest developmental success in each host  
49 species is not well understood.

50 The aim of the present work is to collect evidences of metabolic dependence of  
51 two metastrongylid nematodes (*A. cantonensis* and *A. costaricensis*) from *in silico* exploration of  
52 metabolic pathways, both of parasites and their hosts (*Homo sapiens*, *Biomphalaria glabrata*,  
53 *Rattus norvegicus* e *Mus musculus*). “Metabolic dependence” was defined as enzymatic  
54 activities (ECs) and metabolic pathways involved with the acquisition of nutrients that are  
55 incomplete in parasites, but not in hosts.

## 56 2. MATERIAL AND METHODS

57 The predicted proteome sequences were obtained from the databases described in  
58 Table 1, and sequences less than 60 amino acids were removed as they may represent protein  
59 fragments. In order to annotate functional enzymatic activities present in predicted proteome  
60 (Table 1), we employed the methodologies described in previous studies (Otto et al., 2008;  
61 Gomes, 2011). Briefly, sequences of all functional enzymatic activities (ECs) were obtained  
62 from KEGG version 71.3 and separated according to their functional activity, and identified as  
63 proposed by the International Union of Biochemistry and Molecular Biology, with the Enzyme

64 Commission (EC) number. Subsequently, the sequences were clustered according to their  
 65 enzymatic activity by all against all Blastp using a similarity score described by Galperin et al.,  
 66 (1998). Functional enzymatic activities for the predicted proteome were confirmed with the  
 67 AnEnPi's module, which classifies the enzymes in accordance to the EC number. This  
 68 classification is obtained after parsing the results of Blastp, using the data set of predicted  
 69 proteins as query and the clustering groups obtained as subjects. A restrictive e-value of  $10^{-20}$   
 70 was used as threshold (Alves-Ferreira et al., 2009, Capriles et al., 2010, Tschoeke et al., 2014) to  
 71 include a primary structure in a group or cluster. In parallel, the KAAS  
 72 (<http://www.genome.jp/kegg/kaas>) was used to functional annotation of enzyme activities  
 73 and metabolic reconstruction by annotating of orthologs groups (KO).

74 Table 1: Databases from parasites, their hosts and a free-living organism, and  
 75 their generic characterization: name, number of proteins and genome size covered by the project.

Organism	Data base	Bioproject	Number of proteins	Genome size (Mb)
<b>Parasites</b>				
<i>Angiostrongylus cantonensis</i>	Wormbase	PRJEB493	14.520	253.243
<i>Angiostrongylus costaricensis</i>	Wormbase	PRJEB494	13.417	262.783
<i>Schistosoma mansoni</i>	Uniprot	GCA_000237925.2	10.772	364.538
<i>Trichinella spiralis</i>	Uniprot	GCA_000181795.2	16.380	63.5254
<b>Hosts</b>				
<i>Biomphalaria glabrata</i>	NCBI	GCF_0000457365.1	36.675	916.388
<i>Mus musculus</i>	NCBI	GCF_00001635.24	50.305	2807.72
<i>Rattus norvegicus</i>	NCBI	GCF_00001895.5	29.795	48.7205
<i>Homo sapiens</i>	NCBI	GCF_00001405.31	70.952	3241.95
<b>Free-living</b>				
<i>Caenorhabditis elegans</i>	Uniprot	GCF_00002985.6	26.725	100.286

76

77 In order to compare the number of activities annotated between AnEnPi and KAAS,  
 78 the ec-mapper script (<https://github.com/milenepegj/ec-mapper>) was used to compare the list  
 79 of Ecs annotated both by AnEnPi and KAAS. It also makes it possible to compare the number  
 80 of enzymatic activities shared between two organisms, to infer the number of shared ECs and  
 81 to identify the Ecs absent in one of these organisms. This script was applied in the annotation

82 results from AnEnPi and KAAS in the proteomes of *A. cantonensis*, *A. costaricensis*, *R.*  
83 *norvegicus*, *M. musculus*, *H. sapiens*, *B. glabrata* and *C. elegans* against the KAAS database.

#### 84 2.1. Identification of metabolic dependence between parasites and hosts

85 The cases of metabolic dependence were characterized by the absence of the enzymes  
86 in the parasite to complete their metabolic pathway, while it was found in their respective host  
87 (Xu et al., 2010; Tyagy et al., 2015). To identify potential cases of metabolic dependence  
88 between parasite and host, we analyzed the metabolic pathways involved in the acquisition,  
89 degradation and metabolism of nutrients (Supplementary Table 1) present in parasites (*A.*  
90 *cantonensis*, *A. costaricensis*) and hosts (*B. glabrata*, *M. musculus*, *R. norvegicus* and *H.*  
91 *sapiens*).

#### 92 2.2. Reconstruction of metabolic pathways of catabolism and anabolism

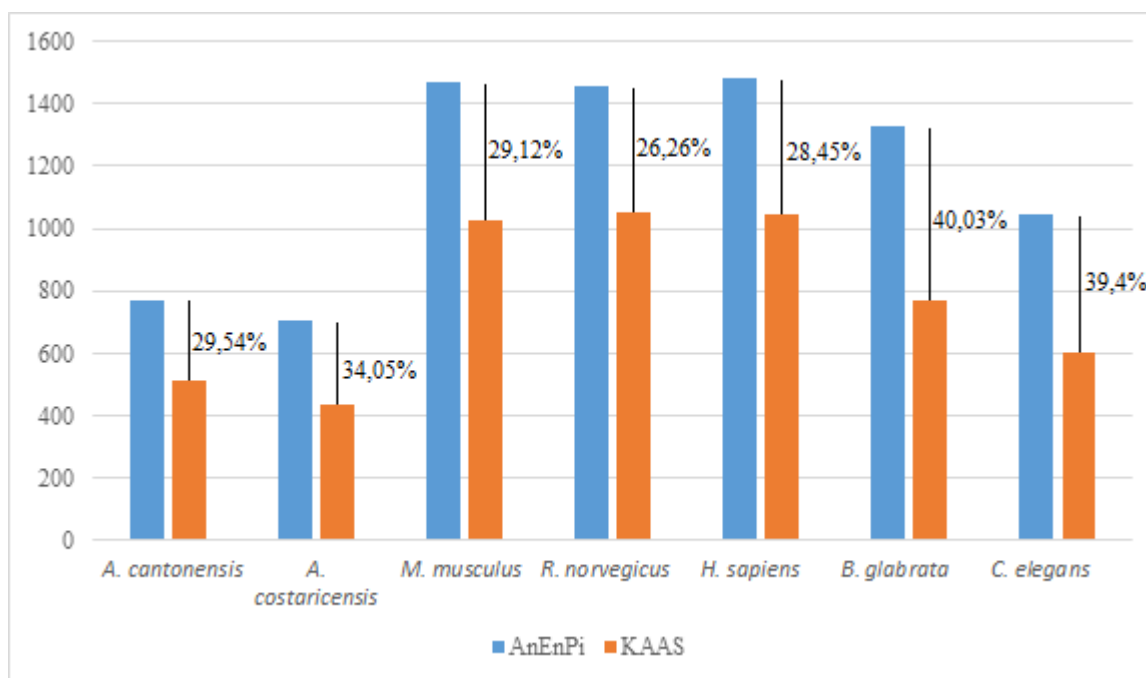
93 For the ECs identified as potentially involved in events of metabolic dependence, the  
94 Ecs present in one or more of the hosts and absent in *A. cantonensis* and / or *A costaricensis*  
95 and in at least one of the parasites (*Schistosoma mansoni* and *Trichinella spiralis*), were  
96 generated metabolic pathways using KEGGMapper tools (<http://www.genome.jp/kegg/mapper.html>), and selected for study subjects those related to the metabolism of proteins,  
97 carbohydrates, lipids, purine, pyrimidine and hormones.  
98

### 99 3. RESULTS

100 The analysis with AnEnPi of the proteome data from nine organisms (Table 1) identified  
101 1727 enzymatic activities, in different categories: 387 (EC 1), 537 (EC 2), 551 (EC 3) 117 (EC  
102 4) 71 (EC 5) and 83 (EC 6). The comparison between the total number of enzymes annotated  
103 by AnEnPi and KAAS demonstrated a larger number of enzymatic activities was achieved with  
104 AnEnPi and their consequent reduction when the KAAS tool was employed: 29.54% for *A.*  
105 *cantonensis* genome, 34.05% for *A. costaricensis*, 29.12% for *M. musculus*, 26.26% for *R.*  
106 *norvegicus*, 28.45% for *H. sapiens*, 40.03% for *B. glabrata* and 39.4% for *C. elegans*,  
107 demonstrated that a greater number of enzymatic activities annotated with AnEnPi. (Figure 1).

108

**Figure 1:** Comparison of the annotation of enzymatic activities using AnEnPi and the KASS tool on



109

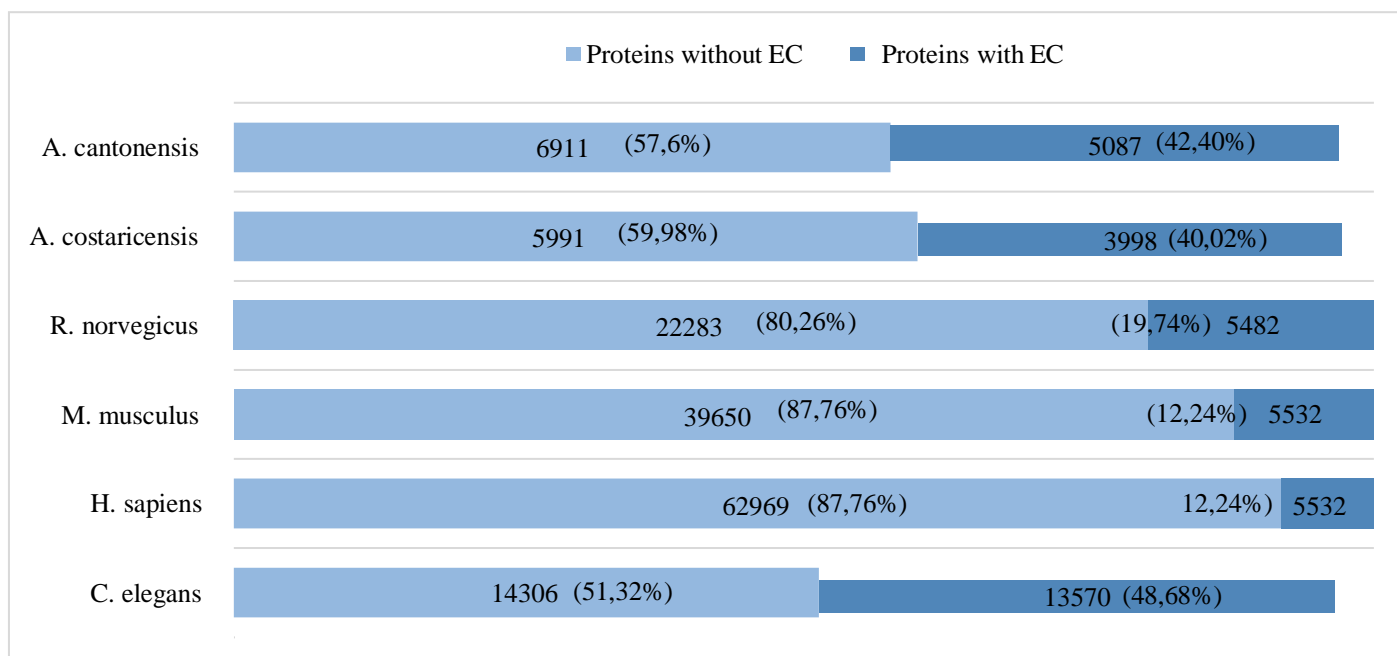
proteomic data from several parasites and their host

110

The annotation of the metabolic potential of seven representative proteomes resulted in

111

varied proportions of proteins with or without enzymatic activity (Figure 2).



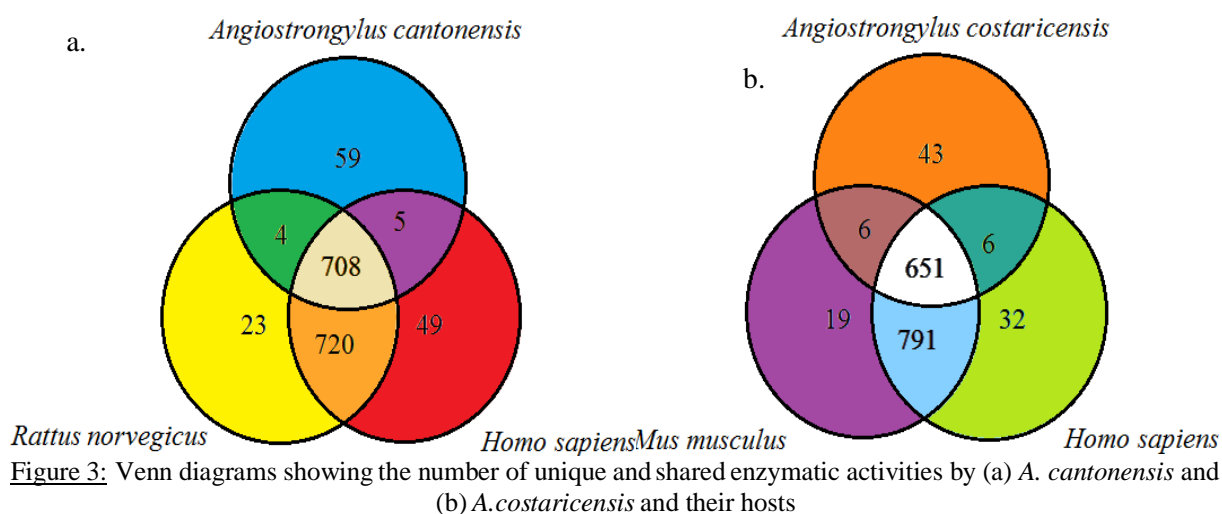
112

**Figure 2:** Number (and proportion) of proteins without (light blue) and with (dark blue) enzymatic activity after analysis of 7 proteomic data from several parasites and their host

113

114

115 The Venn diagram (Figure 3a) demonstrates the number of enzymes unique to *A.*  
 116 *cantonensis* (59), *R. norvegicus* (23) e *H. sapiens* (49), shared enzymes by *A. cantonensis* and  
 117 *R. norvegicus* (4); *A. cantonensis* and *H. sapiens* (5); *R. norvegicus* and *H. sapiens* (720)  
 118 and 708 are shared by all organisms. Figure 3b shows the number of enzymatic activities  
 119 unique to *A. costaricensis* (43), *M. musculus* (19) and *H. sapiens* (32); shared enzymatic  
 120 activities by *A. costaricensis* and *M. Musculus* (6), *A. costaricensis* and *H. sapiens* (6), between  
 121 *M. musculus* and *H. sapiens* (791); and 651 were shared by all organisms.



122 **Figure 3:** Venn diagrams showing the number of unique and shared enzymatic activities by (a) *A. cantonensis* and  
 123 (b) *A. costaricensis* and their hosts

124 We verified that of the 59 enzymes exclusive to *A. cantonensis* in the Venn diagram  
 125 (Figure 3), 9 enzymes are not present in the other analyzed organisms (*A. costaricensis*, *R.*  
 126 *norvegicus*, *M. musculus*, *B. glabrata*, *H. sapiens*, *S. mansoni*, *T. spiralis* e *C. elegans*).  
 127 However, only 4 enzymes are represented in the KEEGMapper. The enzyme 1.1.1.133 (dTDP-  
 128 4-dehydrorhamnose reductase) participates in the pathways of streptomycin biosynthesis,  
 129 polyketide sugar unit biosynthesis, biosynthesis of antibiotics. 1.1.1.244 (Methanol  
 130 dehydrogenase) acts on the methane metabolism and pathway of microbial metabolism in  
 131 diverse environments. 2.1.1.143 (24-methylenesterol C- methyltransferase) involved in the  
 132 biosynthesis of secondary metabolites and steroid biosynthesis. 2.3.1.32 (Lysine N-  
 133 acetyltransferase) participates in lysine degradation. Of the 43 unique enzymes presented by  
 134 *A. costaricensis* in the Venn diagram (Figure 3), only one enzyme was presented exclusively  
 135 when weighted the other organisms. 1.1.1.169 (2-dehydropantoate 2-reductase) which acts on  
 136 the pathways of biosynthesis of secondary metabolites and pantothenate and CoA  
 137 biosynthesis.

138 A number of enzymatic activities is shared by the parasites and each of their hosts (21  
 139 ECs): (i) 4 by *A. cantonensis* and *R. norvegicus* (green area, Fig 3a); (ii) 5 by *A. cantonensis* and

140 *H.sapiens* (purple area, Fig 3a); 6 by *A.costaricensis* and *M.musculus* (brown area, Fig  
 141 3b); and 6 by *A.costaricensis* and *H.sapiens* (dark green area, Fig 3b). From these 21 ECs, 3  
 142 had their EC number modified and 1 had an incomplete EC and they are not listed in  
 143 supplementary Tables 1 and 2.

144 The name of the enzymes shared between parasites and their host are shown in Table  
 145 2. In this table is showed the name according to ENZYME (<http://enzyme.expasy.org/>), the  
 146 metabolic pathway in which they act according to Indicated by the KEGG Mapper, and  
 147 the organism. Complementary to the table 1 the Supplementary Table 1 present the  
 148 sequence ID, fold and superfamily classification of the proteins sequence obtained in the data  
 149 base Superfamily.

150 Table 2: Enzymatic activities shared by several host-parasite couples and the metabolic pathways  
 151 these enzymatic activities have a role

<b>EC</b>	<b>Enzyme</b>	<b>Metabolic pathway</b>	<b>Organism</b>
1.1.1.81	<i>Hydroxypyruvate reductase</i>	<i>Biosynthesis of secondary metabolites</i> <i>Glyoxylate e dicarboxylate metabolism</i> <i>Glycine, serine, e threonine metabolism</i> <i>Metabolic pathways</i>	<i>A. cantonensis</i> <i>H. sapiens</i>
1.1.1.188	<i>Prostaglein-F synthase</i>	<i>Arachidonic acid metabolism</i>	<i>A. costaricensis</i> <i>H. sapiens</i>
1.3.1.33	<i>Protochlorophyllide reductase</i>	<i>Biosynthesis of secondary metabolites</i> <i>Porphyrin e chlorophyll metabolism</i> <i>Metabolic pathways</i>	<i>A. cantonensis</i> <i>H. sapiens</i>
1.4.1.13	<i>Glutamate synthase(NADPH)</i>	<i>Nitrogen metabolism</i> <i>Biosynthesis of antibiotics</i> <i>Microbial metabolism in diverse environments</i>	<i>A. cantonensis</i> <i>R. norvegicus</i>
1.6.1.2	<i>NAD(P)(+) transhydrogenase (Re/Si-specific)</i>	<i>Nicotinate e nicotinamide metabolism</i> <i>Metabolic pathways</i>	<i>A. costaricensis</i> <i>H. sapiens</i>
2.4.1.25	<i>4-alpha-glucanotransferase</i>	<i>Metabolic pathways</i> <i>Starch e sucrose metabolism</i>	<i>A. cantonensis</i> <i>A. costaricensis</i> <i>H. sapiens</i>

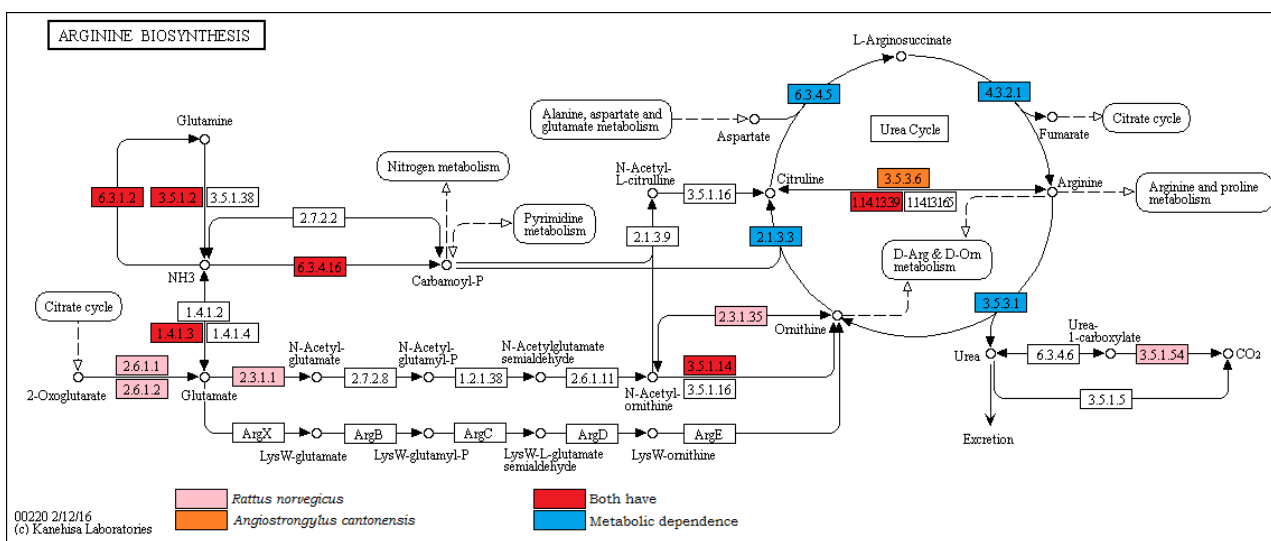


2.4.1.65	<i>3-galactosyl-N-acetylglucosaminide 4-alpha-L-fucosyltransferase</i>	<i>Metabolic pathways Various types of N-glycan biosynthesis Glycosphingolipid biosynthesis - lacto e neolacto series</i>	<i>A. costaricensis H. sapiens</i>
3.5.2.3	<i>Dihydroorotase</i>	<i>Metabolic pathways Pyrimidine metabolism</i>	<i>A. cantonensis H. sapiens</i>
3.5.2.17	<i>Hydroxyisourate hydrolase</i>	<i>Microbial metabolism in diverse environments Purine metabolism Metabolic pathways</i>	<i>A. cantonensis R. norvegicus A. costaricensis M. musculus</i>
3.6.3.19	<i>Maltose-transporting ATPase</i>		<i>A. costaricensis M. musculus</i>
3.6.3.40	<i>Teichoic-acid-transporting ATPase</i>		<i>A. costaricensis M. musculus</i>
4.1.2.5	<i>L-threonine aldolase</i>	<i>Glycine, serine and threonine metabolism</i>	<i>A. cantonensis R. norvegicus A. costaricensis M. musculus</i>
5.3.1.22	<i>Hydroxypyruvate isomerase</i>	<i>Glyoxylate e dicarboxylate metabolism Metabolic pathways</i>	<i>A. costaricensis H. sapiens</i>

152 EC 4.1.2.5 (L-threonine aldolase) and EC 3.5.2.17 (Hydroxyisourate hydrolase) are  
 153 present in the two species of *Angiostrongylus* and their respective definitive hosts, while EC  
 154 2.4.1.25 (4- Alpha- glucanotransferase) is shared by *A. cantonensis*, *A. costaricensis* and *H.*  
 155 *sapiens* (Table 2).

156 Supplementary Table 2 presents the metabolic pathways related to the metabolism of  
 157 proteins, carbohydrates, lipids and hormones, as well as the ECs. When evaluating the 41  
 158 maps composed of 330 ECs described in the Supplementary Table 2 and after the conference  
 159 with the maps generated from the KAAS annotation, 156 ECs were identified to represent  
 160 metabolic dependence, being those described in the Supplementary Table 3.

161 Figure 4 presents the metabolic map of arginine biosynthesis, which presents two  
 162 enzymes that indicate metabolic dependence of *A. cantonensis* towards its definitive host *R.*  
 163 *norvegicus*. It can be observed that *A. cantonensis* transforms arginine into citrulline and vice  
 164 versa through the enzymes arginine deaminase (EC 3.5.3.6) and / or nitric oxide synthase (EC  
 165 1.14.13.39), but it can not continue the urea cycle. Why the goal of increase the availability  
 166 of arginine *A. cantonensis* possibly uses the enzymes, argininosuccinate synthase (EC 6.3.4.5)  
 167 which transforms citrulline into L-arginosuccinate and argininosuccinate lyase (EC 4.3.2.1) es  
 168 which converts L-arginosuccinate into fumarate synthesized by its host *R. norvegicus*.



169 **Figure 4:** Illustration of metabolic dependence in the arginine biosynthesis pathway between *A.*  
 170 *cantonensis* and *R. Norvegicus*.

171 Source: Map adapted from <http://www.genome.jp/kegg/pathway/map/map00220.html>  
 172

173 A total of 43 ECs (Table 3) was identified as possible *loci* of metabolic dependence; *C.*  
 174 *Elegans* has 34 out of these 43 ECs while they are absent in parasitic organisms, *S. mansoni*  
 175 and *T. spiralis*. 8 ECs presented lethal embryogenic phenotype described in WormBase, and  
 176 characterized by eggs that fail to hatch when applied large-scale RNAi screenings. We found  
 177 an EC 3.7.1.2 present only in *C.selegans* with lethal phenotype.

178 Of the 34 enzymes present only in *C. elegans*, 29 are present in all hosts (*R.*  
 179 *norvegicus*, *M. musculus*, *H. sapiens* and *B. glabrata*). Of these 29, 14 are involved in  
 180 metabolic dependence of both two species of *Angiostrongylus*, 13 only in *A. costaricensis*  
 181 and two in *A. cantonensis*. Four were present only from in the data from definitive hosts (*R.*  
 182 *norvegicus*, *M. musculus*) and in *H. sapiens*, 3 of these possibly involved with metabolic  
 183 dependence exclusively for *A. costaricensis* and one in both *Angiostrongylus*. One enzyme  
 184 is present only in the intermediate host (*B. glabrata*), representing possible metabolic

185 dependence only for *A. cantonensis*. EC 2.1.1.49 (amine N-methyltransferase) represents a  
186 possible metabolic dependence in both species of *Angiostrongylus*, which is synthesized only  
187 by definitive hosts (*R. norvegicus*, *M. musculus*) and *H. sapiens*. It is active in the metabolism  
188 of tryptophan in two reactions: the transformation of serotonin to N-methylserotonin and  
189 the transformation of tryptophan into N-methyltryptamine by the transfer of a methylated  
190 amine.

191 Beta-glucosidase (EC 3.2.1.21) is detected only in the intermediate host proteome  
192 (*B. glabrata*), and is probably involved in metabolic dependence for *A. cantonensis*. This  
193 enzyme participates in the metabolism of starch and sucrose. Its enzymatic activity acts in  
194 the hydrolysis of non-reducing terminal beta-D-glucosyl residues with release of beta-D-  
195 glucose. This function transforms the substrates cellobiose and  $\beta$ -D-glucoside into D-glucose.

196 EC 1.14.16.1 (Phenylalanine 4-monooxygenase) with lethality phenotype in *C.*  
197 *elegans*, is present in definitive hosts (*R. norvegicus*, *M. musculus*) and in *H. sapiens*,  
198 representing possible metabolic dependence in both species of *Angiostrongylus*. It acts in  
199 the pathways of phenylalanine metabolism and phenylalanine, tyrosine and tryptophan  
200 biosynthesis acting in paired donors, with incorporation or reduction of molecular oxygen,  
201 transforming L-phenylalanine into tyrosine.

202 EC 3.7.1.2 (Fumarylacetoacetate) presents a lethal phenotype in *C. elegans* and is  
203 detected in all hosts here studied (*R. norvegicus*, *M. musculus*, *H. sapiens* and *B. glabrata*). It  
204 acts on the tyrosine metabolism by hydrolyzing the 4-fumarylacetoacetate molecule resulting  
205 in the production of fumarate, which is used in the Citrate cycle (Krebs cycle).

206 Table 3 presents the 42 EC, mentioned above, with their respective names and the  
207 species of *Angiostrongylus* in which metabolic dependence is suspected.





#### 4. DISCUSSION

Parasitic relationships, as well as other forms of interaction between different species, undergo selection pressures, which shape the evolution of each species (Gandon et al, 2008). Consequently, the metabolic pathways undergo modifications, an example of which is the loss of genes responsible for the encoding of enzymes with biosynthetic functions in intracellular parasites, which leads to the dependence of the nutrients produced by their hosts (Edwards and Palsson, 2000; McCutcheon and Moran, 2007).

In analyzing the data shown in Figure 2, it is possible to observe a tendency in the nematodes to present a higher proportion of proteins without enzymatic function than in the hosts. One hypothesis is that not only the intracellular parasites evolved to a reduced metabolic capacity, but tissue dwelling parasites, such as *A. cantonensis* and *A. costaricensis* may also depend not only on their host's nutritional status but also on enzymatic or signaling molecules. The data presented in Figure 1 together with the quality parameters of the genomes shown in table X guarantee some reliability in the data presented in this study.

In the Venn diagram (Figure 3) we can point out that the proportions of enzymes shared between each species of *Angiostrongylus* and its respective definitive host and *H. sapiens*, as well as the unique enzymes of each organism are quite similar to each other. Evidence of metabolic dependence between *A. cantonensis* and *R. norvegicus* was observed in one of the 23 enzymes identified only in *R. norvegicus* (Figure 3). EC 3.2.1.21 (Beta-glucosidase) acts in starch and sucrose metabolism, among other pathways. It is interesting to note that 8 ECs of the 23 found only in *R. norvegicus* are absent both in *M. musculus* and *H. sapiens*. Based on this distinct occurrence we propose that ECs may play a role in the establishment of specificity of parasites for a given host species, since they can promote the success of infection and development of *A. cantonensis* in *R. norvegicus* and explain the lack of development in the other two species. In the same line of reasoning, the enzymes 3-alpha-hydroxysteroid dehydrogenase (Re-specific), cyclopropane-fatty-acyl-phospholipid synthase, amine sulfotransferase and gamma-renin were exclusively found in *M. musculus*, thus could also constitute host specificity factors.

Studies have demonstrated the metabolic dependence between parasites and their hosts. Osman et al., in 2006, showed that *S. mansoni* possesses TGF- $\beta$  receptors but is

239 unable to produce cytosine, thus, it depends of its host for TGF- $\beta$  production. In the case  
240 of *Schistosoma*, TGF- $\beta$  is essential for the regulation and signaling of genes responsible  
241 for egg production in the female gynecophore channel (Osman et al., 2006). As eggs are  
242 a determining factor for the pathogenesis of the disease (Loverde, 2002; Pearce and  
243 MacDonald, 2002), it is very similar to the pathogenesis of *A. costaricensis* infection in  
244 humans, where sexual maturity and oviposition are linked to the increase of the inflammation  
245 (Graeff-Teixeira et al., 2014).

246 Approaches proposed by the present work, with emphasis on the mapping of  
247 metabolic pathways and cell signaling may produce important knowledge in the search for  
248 new targets for the treatment. Examples of these are: (i) inhibition of *A. costaricensis*  
249 oviposition, or (ii) modulation of the migratory behavior of *A. cantonensis* larvae preventing  
250 their passage through brain tissues. At the same time, the identification of essential factors  
251 to the parasite that can serve with indicators of metabolic dependence, will contribute to a  
252 better understanding of the parasite-host interaction.

253 Besides exploring metabolic dependence as markers of parasitism, mapping of  
254 metabolic pathways and cell signaling may also produce important knowledge in the search  
255 for new treatment alternatives. Examples of these are: (i) inhibition of *A. costaricensis*  
256 oviposition, or (ii) modulation of the migratory behavior of *A. cantonensis* larvae preventing  
257 their passage through brain tissues. At the same time, the identification of essential factors  
258 to the parasite that can serve with indicators of metabolic dependence, will contribute to a  
259 better understanding of the parasite-host interaction.

260 In conclusion, this preliminar comparative investigation of the metabolic pathways  
261 in parasites (*A. cantonensis* and *A. costaricensis*) and their hosts described several enzymatic  
262 activities that may indicate metabolic dependence and also factors of parasite-host  
263 specificities. Exploration of these indications in “wet” experiments and extension of these  
264 “*in silico*” analysis may greatly improve our understanding of parasitism.

## REFERENCES

- Alves-Ferreira, M., Guimarães, A. C. R., Capriles, P. V. D. S. Z., Dardenne, L. E., & Degraeve, W. M., 2009. A new approach for potential drug target discovery through in silico metabolic pathway analysis using *Trypanosoma cruzi* genome information. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(8), 1100-1110.
- Anzaldi, L. L., & Skaar, E. P., 2010. Overcoming the heme paradox: heme toxicity and tolerance in bacterial pathogens. *Infection and immunity*, 78(12), 4977-4989.
- Barretto, M. P., 1967. Ecological aspects of the epidemiology of communicable diseases with special reference to zoonoses. *Revista brasileira de malariologia e doenças tropicais. Publicações avulsas*, 19(4), 633-654.
- Capriles, P. V., Guimarães, A. C., Otto, T. D., Miranda, A. B., Dardenne, L. E., & Degraeve, W. M., 2010. Structural modelling and comparative analysis of homologous, analogous and specific proteins from *Trypanosoma cruzi* versus *Homo sapiens*: putative drug targets for chagas' disease treatment. *BMC genomics*, 11(1), 610.
- Caradonna, K. L., Engel, J. C., Jacobi, D., Lee, C. H., & Burleigh, B. A., 2013. Host metabolism regulates intracellular growth of *Trypanosoma cruzi*. *Cell host & microbe*, 13(1), 108-117.
- Chen, D., Zhang, Y., Shen, H., Wei, Y., Huang, D., Tan, Q., Lan, X., Li, Z., Chen, Z., Li, Z., Ou, L., Suen, H., Ding, X., Lou, X., Li, X., & Zhan, X., 2011. Epidemiological survey of *Angiostrongylus cantonensis* in the west-central region of Guangdong Province, China. *Parasitology research*, 109(2), 305-314.
- Combes, C., 1996. Parasites, biodiversity and ecosystem stability. *Biodiversity and Conservation*, 5(8), 953-962.
- Edwards, J. S., & Palsson, B. O., 2000. Robustness analysis of the *Escherichia coli* metabolic network. *Biotechnology Progress*, 16(6), 927-939.
- Ferreira, L. F., 1973. O fenômeno parasitismo. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 7(4), 261-277.
- Ferreira, L. F. apud LEVINE, N. — In *Infectious Blood Diseases of Man and Animals*. Academic Press, 1968.
- Galperin, M. Y., Walker, D. R., & Koonin, E. V., 1998. Analogous enzymes: independent inventions in enzyme evolution. *Genome Research*, 8(8), 779-790.
- Gandon, S., Buckling, A., Decaestecker, E., & Day, T., 2008. Host-parasite coevolution and patterns of adaptation across time and space. *Journal of evolutionary biology*, 21(6), 1861-1866.
- Garnick, E., 1992. Parasite virulence and parasite-host coevolution: a reappraisal. *The Journal of parasitology*, 78(2), 381-386.



- Genovesio, A., Giardini, M. A., Kwon, Y. J., de Macedo Dossin, F., Choi, S. Y., Kim, N. Y., Kim, H. C., Jung, S. Y., Schenkman, S., Almeida, I. C., Emans, N., & Freitas-Junior, L. H., 2011. Visual genome-wide RNAi screening to identify human host factors required for *Trypanosoma cruzi* infection. *PLoS One*, 6(5), e19733.
- Gomes, M. R., 2010. Reconstrução in silico das vias de processamento da informação genética nos Tritryps (*Trypanosoma cruzi*, *Trypanosoma brucei* e *Leishmania major*)—busca por análogos funcionais (Doctoral dissertation).
- GRAEFF-TEIXEIRA, Carlos, AGOSTINI, Aventino Alfredo; RODRIGUES, Rubens. Angiostrongilíases. In COURA. Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias. Rio de Janeiro: edGuanabara Koogan, 2014, p 1077-1080.
- Gurgel-Gonçalves, R., Castro, T. T., Costa-Neto, E. M., & Cuba, C. A. C. (2007). O que é um parasito? Uma análise etimológica e semântica do termo parasito em diferentes idiomas. *Acta Scientiarum. Human and Social Sciences*, 29(2), 151-161.
- Kořený, L., Oborník, M., & Lukeš, J., 2013. Make it, take it, or leave it: heme metabolism of parasites. *PLoS Pathog*, 9(1), e1003088..
- Krishnamurthy, G., Vikram, R., Singh, S. B., Patel, N., Agarwal, S., Mukhopadhyay, G., Basu, S., & Mukhopadhyay, A., 2005. Hemoglobin receptor in *Leishmania* is a hexokinase located in the flagellar pocket. *Journal of Biological Chemistry*, 280(7), 5884-5891.
- Kuchta, R., Brabec, J., Kubáčková, P., & Scholz, T., 2013. Tapeworm *Diphyllobothrium dendriticum* (Cestoda)—neglected or emerging human parasite?. *PLoS Negl Trop Dis*, 7(12), e2535.
- Levri, E. P., 1999. Parasite-induced change in host behavior of a freshwater snail: parasitic manipulation or byproduct of infection?. *Behavioral Ecology*, 10(3), 234-241..
- LoVerde, P. T., 2002. Presidential address\* sex and schistosomes: an interesting biological interplay with control implications. *Journal of Parasitology*, 88(1), 3-13.
- McCutcheon, J. P., & Moran, N. A., 2007. Parallel genomic evolution and metabolic interdependence in an ancient symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(49), 19392-19397.
- Moazeni, M., & Ahmadi, A., 2016. Controversial aspects of the life cycle of *Fasciola hepatica*. *Experimental Parasitology*, 169, 81-89.
- Morassutti, A. L.; Graeff-Teixeira, C. Angiostrongilíases: da Biologia ao enfoque clínico. Porto Alegre: EdiPUCRS, 2015.
- Osman, A., Niles, E. G., Verjovski-Almeida, S., & LoVerde, P. T., 2006. *Schistosoma mansoni* TGF- $\beta$  receptor II: role in host ligand-induced regulation of a schistosome target gene. *PLoS Pathog*, 2(6), e54.
- Otto, T. D., Guimarães, A. C. R., Degraeve, W. M., & de Miranda, A. B., 2008. AnEnPi: identification and annotation of analogous enzymes. *BMC bioinformatics*, 9(1), 544.

- Payne, S. H., & Loomis, W. F., 2006. Retention and loss of amino acid biosynthetic pathways based on analysis of whole-genome sequences. *Eukaryotic cell*, 5(2), 272-276.
- Pearce, E. J., & MacDonald, A. S. (2002). The immunobiology of schistosomiasis. *Nature Reviews Immunology*, 2(7), 499-511.
- Rénia, L., & Goh, Y. S., 2016. Malaria parasites: the great escape. *Frontiers in Immunology*, 7.
- Rey, L., 2002. Bases da parasitologia médica. Guanabara Koogan.
- Santos, F. T. D., Pinto, V. M., & Graeff-Teixeira, C., 1996. Evidences against a significant role of *Mus musculus* as natural host for *Angiostrongylus costaricensis*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 38(3), 171-175.
- Teixeira, C. G., Pires, F. D. D. A., Machado, R. D. C. C., Coura, L. F. C., & Lenzi, H. L., 1990. Identificação de roedores silvestres como hospedeiros do *Angiostrongylus costaricensis* no sul do Brasil..
- Tripodi, K. E., Menendez Bravo, S. M., & Cricco, J. A., 2011. Role of heme and heme-proteins in trypanosomatid essential metabolic pathways. *Enzyme research*, 2011.
- Tschoeke, D. A., Nunes, G. L., Jardim, R., Lima, J., Dumaresq, A. S., Gomes, M. R., Pereira, L. M., Loureiro, D. R., Stoco, P. H., Guedes, H. L., Ruiz, J., Pitaluga, A., Silvia Jr, F. P., Probst, C. M., Dickens, N., J., Mottram, J. C., Grisard, E. C., Dávila, A. M., & de Miranda, A. B., 2014. The comparative genomics and phylogenomics of *Leishmania amazonensis* parasite. *Evolutionary Bioinformatics*, 10, 131.
- Tyagi, R., Rosa, B. A., Lewis, W. G., & Mitreva, M., 2015. Pan-phylum comparison of nematode metabolic potential. *PLoS Negl Trop Dis*, 9(5), e0003788.
- Wernegreen, J. J., 2012. Strategies of genomic integration within insect-bacterial mutualisms. *The Biological Bulletin*, 223(1), 112-122..
- Xu, T., Ping, J., Yu, Y., Yu, F., Yu, Y., Hao, P., & Li, X., 2010. Revealing parasite influence in metabolic pathways in Apicomplexa infected patients. *BMC bioinformatics*, 11(11), S13.

## Supplementary Data

**Supplementary Table 1** Name, metabolic pathway and classification of the primary structure of the enzymes common to *A. cantonensis*, *A. costaricensis*, *M. musculus*, *R. norvegicus* and *H. sapiens*.

EC	Enzyme name	Metabolic pathway	Organism	Sequence ID	Fold	Superfamily
3.5.2.17	Hydroxyisourate hydrolase	Microbial metabolism in diverse environments Purine metabolism Metabolic pathways	<i>A. costaricensis</i>	ACOC_00012573 01-mRNA-1	Prealbumin-like [49451]	Transthyretin (synonym: prealbumin) [49472]
			<i>M. musculus</i>	NP_084097.1 XP_006536335.1 XP_006536336.1	Prealbumin-like [49451]	Transthyretin (synonym: prealbumin) [49472]
4.1.2.5	L-threonine aldolase	Glycine, serine e threonine metabolism	<i>A. cantonensis</i>	ACAC_00000902 01-mRNA-1	PLP-dependent transferase-like [53382]	PLP-dependent transferases [53383]
			<i>R. norvegicus</i>	XP_006247915.1 XP_006247916.1	PLP-dependent transferase-like [53382]	PLP-dependent transferases [53383]
			<i>A. costaricensis</i>	ACOC_00012333 01-mRNA-1	PLP-dependent transferase-like [53382]	PLP-dependent transferases [53383]
			<i>M. musculus</i>	NP_082195.2 XP_006534324.1	PLP-dependent transferase-like [53382]	PLP-dependent transferases [53383]
1.4.1.13	Glutamate synthase (NADPH)	Nitrogen metabolism Biosynthesis of antibiotics Microbial metabolism in diverse environments	<i>A. cantonensis</i>	ACAC_00004122 01-mRNA-1	TIM beta/alpha-barrel [51350]	FMN-linked oxidoreductases [51395]
					Single-streed right-heed beta-helix [51125]	Alpha subunit of glutamate synthase, C-terminal domain [69336]
					Globin-like [ 46457]	alpha-helical ferredoxin [46548],

		Biosynthesis of secondary metabolites Alanine, aspartate, e glutamate metabolism Metabolic pathways	<i>R. norvegicus</i>	XP_006247331.1	No significant hit	No significant hit
<b>1.1.1.81</b>	Hydroxypyruvate reductase	Biosynthesis of secondary metabolites Glyoxylate e dicarboxylate metabolism Glycine, serine e threonine metabolism Metabolic pathways	<i>A. cantonensis</i>	ACAC_0001229601-mRNA-1	GckA/TtuD-like [82543]	GckA/TtuD-like [82544]
			<i>H. sapiens</i>	NP_036335.1	NAD(P)-binding Rossmann-fold domains [51734]	NAD(P)-binding Rossmann-fold domains [51735]
					Flavodoxin-like [52171]	Formate/glycerate dehydrogenase catalytic domain-like [ 52283]
					XP_005251688.1 XP_011516375.1	NAD(P)-binding Rossmann-fold domains [51734]
<b>1.3.1.33</b>	Protochlorophyllide reductase	Biosynthesis of secondary metabolites Porphyrin e chlorophyll metabolism	<i>A. cantonensis</i>	ACAC_0000305101-mRNA-1	NAD(P)-binding Rossmann-fold domains [51734]	NAD(P)-binding Rossmann-fold domains [51735]
					Long alpha-hairpin [46556]	Chaperone J-domain [46565]

		Metabolic pathways	<i>H. sapiens</i>	NP_001026889.1 NP_001257353.1 NP_078981.1 XP_005266584.1 XP_005266585.1 XP_005266588.1 XP_011533537.1 XP_011533538.1 XP_011533539.1 XP_011533540.1	NAD(P)-binding Rossmann-fold domains [51734]	NAD(P)-binding Rossmann-fold domains [51735]
<b>2.4.1.25</b>	4-alpha-glucanotransferase	Metabolic pathways Starch e sucrose metabolism	<i>A. cantonensis</i>	ACAC_00014430 01-mRNA-1	alpha/alpha toroid [48207]	Six-hairpin glycosidases [48208]
			<i>A. costaricensis</i>	ACOC_00004570 01-mRNA-1	TBP-like [55944]	Bet v1-like [55961]
			<i>H. sapiens</i>	NP_000019.2 NP_000633.2 NP_000634.2 NP_000635.2 NP_000636.2 NP_000637.2 XP_005270614.1	alpha/alpha toroid [48207]	Six-hairpin glycosidases [48208]
					TIM beta/alpha-barrel [51350]	(Trans)glycosidases [51445]
<b>3.5.2.3</b>	Dihydroorotase	Metabolic pathways	<i>A. cantonensis</i>	ACAC_00005710 01-mRNA-1	ATP-grasp [56058]	Glutathione synthetase ATP-binding domain-like [56059]

		Pyrimidine metabolism	<i>H. sapiens</i>	NP_004332.2	ATC-like [ 53670]	Aspartate/ornithine carbamoyltransferase [53671]	
				XP_005264612.1			
				XP_005264613.1		ATP-grasp [ 56058]	Glutathione synthetase ATP-binding domain-like [ 56059]
				XP_005264614.1			
				XP_005264615.1		TIM beta/alpha-barrel [51350]	Metallo-dependent hydrolases [51556]
				XP_006712164.1			
						Flavodoxin-like [ 52171]	Class I glutamine amidotransferase-like [52317]
						The "swivelling" beta/beta/alpha domain [52008]	Carbamoyl phosphate synthetase, small subunit N-terminal domain [ 52021]
						Carbamoyl phosphate synthetase, large subunit connection domain [48107]	Carbamoyl phosphate synthetase, large subunit connection domain [ 48108]
				PreATP-grasp domain [52439]	PreATP-grasp domain [52440]		
				Methylglyoxal synthase-like [52334]	Methylglyoxal synthase-like [52335]		
				Composite domain of metallo-dependent hydrolases [51337]	Composite domain of metallo-dependent hydrolases [51338]		

<b>3.6.3.19</b>	Maltose-transporting ATPase		<i>A. costaricensis</i>	ACOC_00006467 01-mRNA-1	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases [52539]	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases [52540]
			<i>M. musculus</i>	XP_006523838.1	DNA repair protein MutS, domain III [48333]	DNA repair protein MutS, domain III [48334]
				XP_006525400.1 XP_006536623.1 XP_006537355.1		
<b>3.6.3.40</b>	Teichoic-acid-transporting ATPase		<i>A. costaricensis</i>	ACOC_00003691 01-mRNA-1	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases [52539]	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases [52540]
			<i>M. musculus</i>	NP_001265873.1 XP_006507751.1	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases [52539]	P-loop containing nucleoside triphosphate hydrolases [52540]
<b>1.1.1.188</b>	Prostaglandin-F synthase	Arachidonic acid metabolism	<i>A. costaricensis</i>	ACOC_00012380 01-mRNA-1	TIM beta/alpha-barrel [51350]	NAD(P)-linked oxidoreductase [51430]
			<i>H. sapiens</i>	NP_001240837.1 NP_001240838.1 NP_003730.4	TIM beta/alpha-barrel [51350]	NAD(P)-linked oxidoreductase [51430]
<b>1.6.1.2</b>	NAD(P)(+) transhydrogenase (Re/Si-specific)	Nicotinate e nicotinamide metabolism	<i>A. costaricensis</i>	ACOC_00005475 01-mRNA-1	Flavodoxin-like [52171]	Formate/glycerate dehydrogenase catalytic domain-like [52283]

		Metabolic pathways			NAD(P)-binding Rossmann-fold domains [51734]	NAD(P)-binding Rossmann-fold domains [51735]
			<i>H. sapiens</i>	NP_036475.3	DHS-like NAD/FAD-binding domain [ 52466]	DHS-like NAD/FAD-binding domain [ 52467]
				NP_892022.2		
				XP_005248331.1	Flavodoxin-like [ 52171]	Formate/glycerate dehydrogenase catalytic domain-like [ 52283]
				XP_006714524.1		
				XP_011512303.1		
				XP_011512304.1	NAD(P)-binding Rossmann fold domains [51734]	NAD(P)-binding Rossmann-fold domains [ 51735]
				XP_005248332.1	DHS-like NAD/FAD-binding domain [ 52466]	DHS-like NAD/FAD-binding domain [ 52467]
<b>2.4.1.65</b>	3-galactosyl-N-acetylglucosaminide 4-alpha-L-fucosyltransferase	Metabolic pathways Various types of N-glycan biosynthesis Glycosphingolipid biosynthesis - lacto e neolacto series	<i>A. costaricensis</i>	ACOC_00002081 01-mRNA-1	UDP-Glycosyltransferase/glycogen phosphorylase [53755]	UDP-Glycosyltransferase/glycogen phosphorylase [53756]
				ACOC_00005234 01-mRNA-1	UDP-Glycosyltransferase/glycogen phosphorylase [53755]	UDP-Glycosyltransferase/glycogen phosphorylase [53756]
			<i>H. sapiens</i>	NP_000140.1 NP_000141.1 NP_001035791.1	UDP-Glycosyltransferase/glycogen phosphorylase [ 53756]	UDP-Glycosyltransferase/glycogen phosphorylase [ 53756]



				NP_001091108.1 NP_001091109.1 NP_001091110.1 NP_002025.2 XP_005259583.1 XP_005259584.1 XP_011526167.1 XP_011526168.1 XP_011526169.1 XP_011526170.1 XP_011526171.1 XP_011526172.1 XP_011526173.1 XP_011526174.1 XP_011526175.1 XP_011526176.1 XP_011526177.1 XP_011526178.1 XP_011526179.1 XP_011526180.1 XP_011526181.1	gen phosphorylase [53755]	
<b>5.3.1.22</b>	Hydroxypyruvate isomerase		<i>A.</i> <i>costaricensis</i>	ACOC_00010370 01-mRNA-1	TIM beta/alpha-barrel [51350]	Xylose isomerase-like [51658]

		Glyoxylate e dicarboxylate metabolism Metabolic pathways	<i>H. sapiens</i>	NP_001177809.1 NP_001230455.1 NP_112484.3 XP_005271296.1 XP_005271297.1 XP_006711000.1 XP_011540524.1 XP_011540525.1 XP_011540526.1	TIM beta/alpha-barrel [ 51350]	Xylose isomerase-like [ 51658]
--	--	-------------------------------------------------------------------	-------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------	--------------------------------

Supplementary Table 2: Names of the metabolic pathways and their respective ECs

Metabolic pathway (Number of EC)	ID	EC		
<b>Alanine, aspartate e glutamate metabolism (20)</b>	ec00250	1.2.1.16	2.6.1.19	4.3.2.1
		1.2.1.88	2.6.1.2	6.3.1.17
		1.4.1.13	3.4.17.21	6.3.2.41
		1.4.1.2	3.5.1.15	6.3.2.42
		1.4.3.1	3.5.1.3	6.3.4.5
		1.4.3.2	4.1.1.15	6.3.5.5
		2.3.1.17	4.3.1.1	
<b><math>\alpha</math>-Linolenic acid metabolism (3)</b>	ec00592	1.14.19.-	3.1.1.32	4.2.1.92
<b>Amino sugar e nucleotide sugar metabolism (22)</b>	ec00520	1.14.18.2	2.7.7.22	3.5.99.6
		2.5.1.7	2.7.7.23	4.1.1.35
		2.5.1.56	2.7.7.27	4.1.3.3.
		2.5.1.57	2.7.7.30	5.1.3.12
		2.7.1.52	2.7.7.43	5.4.2.10
		2.7.1.6	3.1.3.29	5.4.2.3
		2.7.1.60	3.2.1.37	
2.7.7.12	3.2.1.183			
<b>Arachidonic acid metabolism (14)</b>	ec00590	1.1.1.188	1.13.11.34	4.4.1.20
		1.1.1.189	1.14.13.30	5.3.99.2
		1.11.1.20	1.14.99.1	5.3.99.4
		1.13.11.31	3.3.2.10	5.3.99.5
		1.13.11.33	3.4.19.14	
<b>Arginine e proline metabolism(26)</b>	ec00330	1.2.1.41	2.1.4.1	3.5.3.1
		1.2.1.88	2.3.1.57	3.5.3.11
		1.4.3.-	2.5.1.16	4.1.1.17
		1.4.3.22	2.5.1.22	4.1.1.50
		1.4.3.4	2.6.1.13	4.1.3.16
		1.5.3.16	2.7.3.2	4.2.1.77
		1.5.5.2	3.4.11.5	6.3.1.11
		1.14.13.39	3.4.13.20	6.3.2.11
2.1.1.2	3.5.2.14			
<b>Arginine biosynthesis (12)</b>	ec00220	1.4.1.2	2.6.1.2	3.5.1.54
		1.14.13.39	3.5.1.14	3.5.3.1
		2.1.3.3	3.5.1.16	4.3.2.1
		2.3.1.1	3.5.1.5	6.3.4.5
<b>beta-Alanine metabolism (14)</b>	ec00410	1.3.1.2	2.5.1.22	4.1.1.9
		1.3.8.7	2.6.1.19	4.1.1.11
		1.4.3.21	3.1.2.4	4.1.1.15

		1.5.3.16	3.4.13.20	6.3.2.11
		2.5.1.16	3.5.1.6	
<b>Betalain biosynthesis (4)</b>	ec0096 5	1.10.3.-	1.14.18.1	
		1.14.18.-	2.1.1.6	
<b>Biosynthesis of unsaturated fatty acids (3)</b>	ec0104 0	1.1.1.211	1.3.1.93	1.14.19.1
<b>Citrate cycle (TCA cycle) (1)</b>	ec0002 0	6.4.1.1		
<b>Cysteine e methionine metabolism (19)</b>	ec0027 0	1.4.3.2	2.5.1.22	4.1.1.50
		1.8.4.1	2.6.1.3	4.2.1.109
		2.1.1.5	2.6.1.5	4.3.1.17
		2.1.1.37	2.6.1.57	4.4.1.8
		2.3.1.31	3.1.3.77	4.4.1.14
		2.4.2.28	3.2.2.9	4.4.1.15
		2.5.1.16		
<b>D-Alanine metabolism (2)</b>	ec0047 3	5.1.1.1	6.3.2.4	
<b>Fatty acid biosynthesis (3)</b>	ec0006 1	2.3.1.179	2.3.1.180	4.2.1.59
<b>Fatty acid degradation (7)</b>	ec0007 1	1.1.1.211	1.3.8.7	1.3.8.9
		1.3.8.1	1.3.8.8	2.3.1.9
		1.3.8.6		
<b>Fatty acid elongation (2)</b>	ec0006 2	1.1.1.211	1.3.1.93	
<b>Fructose e mannose metabolism (10)</b>	ec0005 1	1.1.1.14	2.7.7.22	4.2.1.68
		2.7.1.3	2.7.7.30	4.2.1.90
		2.7.1.28	3.2.1.78	5.3.1.5
		2.7.1.52		
<b>Galactose metabolism (8)</b>	ec0005 2	2.4.1.22	3.1.3.9	3.2.1.108
		2.7.1.6	3.2.1.22	5.1.3.3
		2.7.7.12	3.2.1.23	
<b>Glutathione metabolism (10)</b>	ec0048 0	1.8.1.7	2.3.1.80	3.4.19.13
		1.8.4.1	2.5.1.16	3.5.2.9
		1.8.5.1	2.5.1.22	4.1.1.17
		1.11.1.-		
<b>Glycerolipid metabolism (6)</b>	ec0056 1	2.7.1.29	2.7.1.94	3.1.1.34
		2.7.1.31	3.1.1.26	3.2.1.22
<b>Glycine, serine e threonine metabolism (21)</b>	ec00260	1.1.1.81	1.5.8.3	2.7.1.31
		1.1.1.103	1.5.8.4	2.7.8.8
		1.2.1.8	2.1.1.2	4.2.3.1

		1.4.3.4	2.1.1.5	4.3.1.17
		1.4.3.21	2.1.1.20	4.3.1.18
		1.4.4.2	2.1.4.1	5.1.1.18
		1.5.3.1	2.3.1.37	5.4.2.11
<b>Glycolysis / Gluconeogenesis (8)</b>	ec00010	2.7.1.147	3.1.3.80	5.4.2.4
		3.1.3.9	5.1.3.3	5.4.2.11
		3.1.3.13	5.1.3.15	
<b>Histidine metabolism (11)</b>	ec00340	1.4.3.4	3.4.13.20	4.2.1.49
		1.4.3.22	3.5.1.15	4.3.1.3
		2.1.1.8	3.5.2.7	6.3.2.11
		2.1.2.5	4.1.1.22	
<b>Linoleic acid metabolism (1)</b>	ec00591	1.13.11.33		
<b>Lipopolysaccharide biosynthesis (2)</b>	ec00540	2.4.99.-	3.1.3.45	
<b>Lysine biosynthesis (6)</b>	ec00300	1.5.1.7	2.6.1.57	5.1.1.7
		2.6.1.39	4.1.1.20	6.3.2.10
<b>Lysine degradation (14)</b>	ec00310	1.2.1.47	1.5.1.9	2.4.1.50
		1.2.4.-	1.5.3.7	2.6.1.39
		1.3.8.6	1.14.11.1	2.7.1.81
		1.5.1.7	2.1.1.60	4.2.3.134
		1.5.1.8	2.3.1.9	
<b>N-Glycan biosynthesis (16)</b>	ec00510	2.4.1.38	2.4.1.256	2.4.99.1
		2.4.1.83	2.4.1.257	2.7.1.108
		2.4.1.131	2.4.1.258	2.7.8.15
		2.4.1.141	2.4.1.260	3.2.1.106
		2.4.1.144	2.4.1.265	3.6.1.43
		2.4.1.145		
<b>Pantothenate e CoA biosynthesis (6)</b>	ec00770	1.3.1.2	3.5.1.6	3.6.1.9
		2.7.7.3	3.5.1.92	4.1.1.11
<b>Phenylalanine metabolism (12)</b>	ec00360	1.2.1.10	1.14.16.1	2.6.1.57
		1.4.3.2	2.3.1.13	3.5.1.32
		1.4.3.4	2.3.1.71	4.1.1.-
		1.4.3.21	2.6.1.5	5.3.2.1
<b>Phenylalanine, tyrosine e tryptophan biosynthesis (5)</b>	ec00400	1.4.3.2	2.6.1.5	4.2.1.51
		1.14.16.1	2.6.1.57	
<b>Purine metabolism</b>	ec00230	1.17.1.4	3.1.7.2	3.6.1.14
		1.17.3.2	3.2.2.1	4.1.1.-
		1.7.1.7	3.5.1.5	4.1.1.97
		1.7.3.3	3.5.3.4	5.4.2.7

		2.1.2.2	3.5.4.3	6.3.2.6
		2.7.1.74	3.5.4.10	6.3.3.1
		2.7.1.113	3.6.1.9	6.3.4.13
		3.1.4.35	3.6.1.11	
<b>Pyrimidine metabolism (13)</b>	ec00240	1.3.1.2	2.7.1.74	3.5.4.5
		1.3.5.2	2.7.4.22	3.6.1.12
		1.3.98.1	3.2.2.3	3.6.1.23
		2.4.2.4	3.5.1.6	6.3.5.5
		2.7.1.21		
<b>Pyruvate metabolism (13)</b>	ec00620	1.1.1.38	2.3.1.9	3.6.1.7
		1.1.1.79	2.3.1.54	4.1.1.-
		1.1.2.4	2.7.9.1	4.1.3.-
		1.2.1.10	2.7.9.2	6.4.1.1
		1.2.7.-		
<b>Starch e sucrose metabolism (14)</b>	ec00500	2.4.1.5	3.2.1.4	3.2.1.48
		2.4.1.12	3.2.1.21	3.6.1.9
		2.7.1.106	3.2.1.31	4.1.1.35
		2.7.7.27	3.2.1.37	5.4.2.6
		3.1.3.9	3.2.1.39	
<b>Steroid biosynthesis (9)</b>	ec00100	1.1.1.170	1.3.1.70	1.14.13.70
		1.1.1.270	1.3.1.72	2.5.1.21
		1.3.1.-	1.14.13.13	5.4.99.7
<b>Steroid degradation (4)</b>	ec00984	1.1.1.51	1.3.99.5	5.3.3.1
		1.1.1.145		
<b>Steroid hormone biosynthesis (19)</b>	ec00140	1.1.1.50	1.1.1.239	1.14.15.6
		1.1.1.51	1.3.1.3	2.1.1.6
		1.1.1.64	1.14.13.100	2.8.2.4
		1.1.1.145	1.14.14.14	3.1.6.2
		1.1.1.146	1.14.15.4	4.1.2.30
		1.1.1.149	1.14.15.5	5.3.3.1
		1.1.1.213		
<b>Taurine e hypotaurine metabolism (5)</b>	ec00430	1.4.1.2	2.3.1.65	4.1.1.29
		1.13.11.19	4.1.1.15	
<b>Thiamine metabolism (3)</b>	ec00730	2.5.1.2	2.5.1.3	3.6.1.28

<b>Tryptophan metabolism (17)</b>	ec00380	1.2.3.1	1.13.11.11	2.3.1.87
		1.3.1.-	1.14.13.9	3.5.1.9
		1.3.8.6	1.14.16.4	4.1.1.-
		1.4.3.2	2.1.1.4	4.1.1.45
		1.4.3.4	2.1.1.49	4.4.1.-
		1.4.3.22	2.3.1.9	
<b>Tyrosine metabolism (20)</b>	ec00350	1.2.1.16	1.14.18.-	3.7.1.5
		1.2.3.1	1.14.18.1	4.1.1.-
		1.4.3.2	2.1.1.6	4.1.1.68
		1.4.3.4	2.1.1.28	5.2.1.2
		1.4.3.21	2.6.1.5	5.3.2.1
		1.13.11.5	2.6.1.57	5.3.3.12
		1.14.16.2	3.7.1.2	
<b>Valine, leucine e isoleucine degradation (15)</b>	ec00280	1.1.1.31	1.3.8.7	2.6.1.40
		1.1.1.178	1.4.3.2	3.1.2.4
		1.2.3.1	2.3.1.9	4.1.3.4
		1.3.8.1	2.3.1.168	5.4.99.2
		1.3.8.4	2.6.1.22	6.4.1.3





1.14.13.39	■	■	■	■	■	■	■
1.14.13.70	■	■	■	■	■	■	■
1.14.13.100	■	■	■	■	■	■	■
1.14.14.14	■	■	■	■	■	■	■
1.14.15.4	■	■	■	■	■	■	■
1.14.15.5	■	■	■	■	■	■	■
1.14.15.6	■	■	■	■	■	■	■
1.14.16.1	■	■	■	■	■	■	■
1.14.18.1	■	■	■	■	■	■	■
1.14.18.2	■	■	■	■	■	■	■
1.14.19.1	■	■	■	■	■	■	■
1.14.99.1	■	■	■	■	■	■	■
1.17.1.4	■	■	■	■	■	■	■
1.17.3.2	■	■	■	■	■	■	■
2.1.1.2	■	■	■	■	■	■	■
2.1.1.4	■	■	■	■	■	■	■
2.1.1.5	■	■	■	■	■	■	■
2.1.1.6	■	■	■	■	■	■	■
2.1.1.8	■	■	■	■	■	■	■
2.1.1.20	■	■	■	■	■	■	■
2.1.1.28	■	■	■	■	■	■	■
2.1.1.49	■	■	■	■	■	■	■
2.1.2.2	■	■	■	■	■	■	■
2.1.2.5	■	■	■	■	■	■	■
2.1.3.3	■	■	■	■	■	■	■
2.1.4.1	■	■	■	■	■	■	■
2.3.1.1	■	■	■	■	■	■	■
2.3.1.17	■	■	■	■	■	■	■
2.3.1.57	■	■	■	■	■	■	■
2.3.1.65	■	■	■	■	■	■	■
2.3.1.87	■	■	■	■	■	■	■
2.3.1.168	■	■	■	■	■	■	■
2.4.1.22	■	■	■	■	■	■	■
2.4.1.83	■	■	■	■	■	■	■
2.4.1.131	■	■	■	■	■	■	■
2.4.1.141	■	■	■	■	■	■	■
2.4.1.144	■	■	■	■	■	■	■
2.4.1.265	■	■	■	■	■	■	■
2.4.2.28	■	■	■	■	■	■	■
2.4.99.1	■	■	■	■	■	■	■
2.5.1.16	■	■	■	■	■	■	■
2.5.1.21	■	■	■	■	■	■	■
2.5.1.22	■	■	■	■	■	■	■
2.5.1.56	■	■	■	■	■	■	■
2.5.1.57	■	■	■	■	■	■	■
2.6.1.5	■	■	■	■	■	■	■
2.6.1.19	■	■	■	■	■	■	■
2.6.1.22	■	■	■	■	■	■	■

2.6.1.39						
2.7.1.3						
2.7.1.6						
2.7.1.21						
2.7.1.28						
2.7.1.52						
2.7.1.60						
2.7.1.74						
2.7.1.94						
2.7.1.106						
2.7.7.12						
2.7.7.30						
2.7.8.15						
2.8.2.4						
3.1.1.32						
3.1.2.4						
3.1.3.13						
3.1.3.29						
3.1.3.77						
3.2.1.21						
3.2.1.22						
3.2.1.31						
3.2.1.106						
3.2.1.183						
3.3.2.10						
3.4.11.5						
3.4.13.20						
3.4.17.21						
3.5.1.3						
3.5.1.6						
3.5.1.15						
3.5.1.92						
3.5.2.7						
3.5.2.9						
3.5.3.11						
3.6.1.7						
3.6.1.9						
3.6.1.28						
3.7.1.2						
4.1.1.9						
4.1.1.11						
4.1.1.22						
4.1.1.29						
4.1.1.35						
4.1.1.45						
4.1.1.50						
4.1.1.97						
4.1.2.30						

4.1.3.16							
4.2.1.77							
4.2.1.109							
4.3.1.3							
4.3.1.17							
4.3.2.1							
4.4.1.20							
5.1.1.18							
5.1.3.3							
5.3.3.1							
5.3.3.12							
5.3.99.4							
5.3.99.5							
5.4.2.4							
5.4.2.11							
5.4.99.2							
6.3.1.17							
6.3.2.11							
6.3.2.41							
6.3.2.42							
6.3.3.1							
6.3.4.5							
6.3.4.13							

### 3. DISCUSSÃO GERAL

A etimologia da palavra “parasita” descende do latim *parasitus* e deriva do grego (parasitos) a qual designa “aquele que come na mesa de outrem”. O termo composto em gregosignifica *para*, “junto, ao lado” e *situs* “alimento”(GURGEL-GONÇALVES, et. al., 2007). O conceito de parasitismo vem sendo modificado ao longo dos anos. Primeiramente parasitismo foi considerado como uma relação entre dois organismos de espécies diferentes, na qual um serve como “ambiente” para o outro (FERREIRA, apud LEVINE, 1968). O corpo de um animal superior, portanto, é capaz de fornecer nichos para outros organismos. Esses invadem o corpo com o objetivo de adquirir nutrientes e como forma de proteção (BARRETO, 1967), e a sua presença pode acarretar em alterações, benéficas ou prejudiciais ao hospedeiro, considerando que os limites entre os diferentes desfechos são determinados pelas necessidades dos parasitos e pelas respostas fisiológicas do hospedeiro (FERREIRA, 1973). No final dos anos 90 é enfatizado que o parasito se desenvolve a custas do seu hospedeiro causando algum tipo de dano, enfatizando a presença de dependência metabólica dos parasitos com os hospedeiros e interações ecológicas entre ambos (REY, 2002). Também é conhecido que a presença do parasito pode acarretar na diminuição do *fitness* no hospedeiro devido ao consumo de recursos nutricionais e os efeitos da infecção no tecido afetado assim como a dispersão (LEVRI, 1999).

A relação entre parasitos e hospedeiros pode se referir a sua especificidade, que pode ser restrita ou vasta, como é o caso da maioria dos nematódeos. O grau de especificidade está relacionado com o desenvolvimento filogenético, sendo os parasitos mais antigos os mais específicos. O sistema parasito-hospedeiro é viável quando há convergência entre a disponibilidade de alimento e da atividade de um determinado estágio de desenvolvimento, assim como da produção pelo parasito de enzimas digestivas e a regulação metabólica do hospedeiro de acordo com a demanda energética (COMBES, 1995).

Sabe-se também que a reação do sistema imunológico do hospedeiro, no primeiro contato com parasito, geralmente acarreta a morte do parasito. De outro lado, quando o hospedeiro é introduzido em um novo ecossistema, este vai a óbito. Da mesma forma,

na dependência em um sistema parasito-hospedeiro jovem, é observado que os parasitos são mais patogênicos e os hospedeiros são menos tolerantes (COMBES, 1995).

A partir das definições citadas acima, sobre o conceito de parasitismo, cabe ressaltar que os critérios de patogenicidade ou virulência não são necessários e nem suficientes para a definição de parasitismo, uma vez que esses critérios dependem do grau de adaptação da interação entre o parasito e hospedeiro (GARNICK, 1992).

As relações parasitárias, assim como outras formas de interação entre espécies diferentes sofrem pressões de seleção, as quais moldam a evolução de cada espécie (GANDON et al, 2008). Conseqüentemente as vias metabólicas sofrem modificações, sendo um exemplo disso, a perda de genes responsáveis pela codificação de enzimas com funções biossintéticas em parasitos intracelulares, o que leva a dependência dos nutrientes produzidos pelos seus hospedeiros (EDWARDS e PALSSON, 2000; McCUTCHEON; MORAN, 2007). Ao analisar os dados demonstrados na figura 2, é possível observar uma tendência nos nematódeos em apresentar uma maior proporção de proteínas sem função enzimática do que nos hospedeiros. Com base nessa característica, podemos criar a hipótese que não só os parasitos intracelulares evoluíram para uma capacidade metabólica reduzida, todavia os parasitos que permanecem nos tecidos, tais como o *A. cantonensis* e *A. costaricensis*, também podem depender, não só nutricionalmente do seu hospedeiro, mas também de forma metabólica.

No diagrama de Venn (Figura 3) podemos ressaltar que as proporções de enzimas compartilhadas entre cada espécie de *Angiostrongylus* e seu respectivo hospedeiro definitivo e o *H. sapiens*, assim como as enzimas únicas de cada organismo são bastante similares entre si. Foi observado evidências de dependência metabólica entre *A. cantonensis* e *R. norvegicus* em uma das 23 enzimas identificadas ocorrentes apenas em *R. norvegicus* (Figura 3). Essa enzima possui o EC 3.2.1.21 (*Beta-glucosidase*) e uma das vias das quais atua é a *Starch and sucrose metabolism*. É interessante ressaltar que 8 enzimas das 23 encontradas só em *R. norvegicus* também estão ausentes em *M. musculus* e *H. sapiens*. Com base nisso se pode criar a hipótese de que são fatores de especificidade de hospedeiros, uma vez que podem promover o sucesso da infecção e desenvolvimento de *A. cantonensis* em *R. norvegicus* o que explicaria a ausência de desenvolvimento nas outras duas espécies. Na mesma linha de raciocínio, foram encontradas as enzimas *3-alpha-hydroxysteroid dehydrogenase (Re-specific)*,

*cyclopropane-fatty-acyl-phospholipid synthase*, *amine sulfotransferase* e *gamma-renin* em *M. musculus*. Essas quatro enzimas são ausentes no proteoma de *R. norvegicus* e *H. sapiens*, logo também poderiam constituir fatores de especificidade de hospedeiros.

Estudos tem demonstrado a dependência metabólica entre parasitos e seus hospedeiros. Osman e colaboradores, em 2006, evidenciaram que o *S. mansoni* possui receptores de TGF- $\beta$  porém é incapaz de produzir a citosina, assim, depende da produção do fator do seu hospedeiro. Em *Schistosoma* o TGF- $\beta$  é fundamental à regulação e sinalização de genes responsáveis pela produção de ovos no canal ginecóforo das fêmeas (OSMAN et al., 2006). Sendo os ovos um fator determinante para a patogenia da doença (LOVERDE, 2002; PEARCE e MACDONALD, 2002), assemelha-se muito com a patogenia da infecção por *A. costaricensis* em humanos, onde a maturidade sexual e a oviposição estão atrelados ao aumentada inflamação (GRAEFF-TEIXEIRA et al., 2014). Assim, abordagens proposta pelo presente trabalho com ênfase no mapeamento de vias metabólicas e de sinalização celular poderão elucidar a presença fatores essenciais ao parasito, mostrando dependência, mas que poderá ser utilizado como alvo para o tratamento de doenças, inibindo a oviposição de *A. costaricensis*, por exemplo, ou ao inibir fatores de sinalização que direcionariam as larvas de *A. cantonensis* ao cérebro.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Abordagens propostas pelo presente trabalho, com ênfase no mapeamento de vias metabólicas e de sinalização celular, poderão produzir conhecimentos importantes na busca de novos alvos para o tratamento. Exemplos disto são: (i) a inibição da oviposição de *A.costaricensis*, ou (ii) a modulação do comportamento migratório das larvas de *A.cantonensis* prevenindo sua passagem pelos tecidos cerebrais. Ao mesmo tempo, a identificação de fatores essenciais ao parasito que poderão servir com indicadores de dependência metabólica, contribuirá para uma melhor compreensão da interação parasito-hospedeiro. Entretanto, por ser um campo de pesquisa relativamente novo, e devido à grande quantidade de dados gerados, novas pesquisas devem ser realizadas para confirmar os dados sugeridos utilizando o transcriptoma das diferentes fases de desenvolvimento, assim como o transcriptoma dos hospedeiros infectados, por exemplo.

## 5. REFERÊNCIAS

- AJELLO, Libero et al. **Topley & Wilson's microbiology e microbial infections. Volume 4: Medical mycology.** Arnold, Hodder Headline, 1998.
- ALTSCHUL, Stephen F. et al. Basic local alignment search tool. **Journal of molecular biology**, v. 215, n. 3, p. 403-410, 1990.
- BATISTA, R., GOMES, A. IGREJA, R. Malacologia. In BATISTA R. et al. *Medicina tropical: abordagem atual das doenças infecciosas e parasitárias.* Rio de Janeiro: ed Cultura Médica, 2001, p 1021 -1028.
- BRUSCA, Richard C.; BRUSCA, Gary J. **Invertebrates.** Sunderland, 2º ed. Massachusetts: Sinauer Associates, 2007. 364-376p.
- CARADONNA, Kacey L. et al. Host metabolism regulates intracellular growth of *Trypanosoma cruzi*. **Cell host & microbe**, v. 13, n. 1, p. 108-117, 2013.
- CDC, 2015.a. Ciclo de vida *Angiostrongylus cantonensis* e *Angiostrongylus costaricensis*. Disponível em: <http://www.cdc.gov/parasites/angiostrongylus/biology.html>. Acesso em: 10/10/2015.
- CDC, 2015.b. Disponível em: [http://www.cdc.gov/parasites/lymphaticfilariasis/biology\\_b\\_malayi.html](http://www.cdc.gov/parasites/lymphaticfilariasis/biology_b_malayi.html). Acesso em: 27/08/2015.
- CHANG, K. P.; CHANG, C. S.; SASSA, S. Heme biosynthesis in bacterium-protzoon symbioses: enzymic defects in host hemoflagellates e complemental role of their intracellular symbiotes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, v. 72, n. 8, p. 2979-2983, 1975.
- CHEN, Daixiong et al. Epidemiological survey of *Angiostrongylus cantonensis* in the west-central region of Guangdong Province, China. *Parasitology research*, v. 109, n. 2, p. 305-314, 2011.
- CHENG, Thomas C. *General parasitology.* Elsevier, cap 1, p 3 1986.
- DOGEL', Valentin Alekserovich et al. In\_\_\_\_\_. *General parasitology.* 2. ed. Londres: Academic Press, Inc. 1964.p. 1-33.
- Ferreira, L. F. apud LEVINE, N. — In *Infectious Blood Diseases of Man and Animals.* Academic Press, 1968.
- GALBRAITH, Richard A.; MCEL RATH, M. Juliana. Heme binding to *Leishmania mexicana amazonensis*. *Molecular e biochemical parasitology*, v. 29, n. 1, p. 47-53, 1988.
- GARG, Nisha et al. Gene Expression Analysis in Mitochondria from Chagasic Mice: Alterations in Specific Metabolic Pathways. **Biochemical Journal** , v 381.n 3, p 743–752, 2004.



GENOVESIO, Auguste et al. Visual genome-wide RNAi screening to identify human host factors required for *Trypanosoma cruzi* infection. **PLoS One**, v. 6, n. 5, p. e19733, 2011.

GRAEFF-TEIXEIRA, Carlos et al. Identificação de roedores silvestres como hospedeiros do *Angiostrongylus costaricensis* no sul do Brasil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, São Paulo*, v. 32, n. 3, p. 147-150, June 1990.

GRAEFF-TEIXEIRA, Carlos, AGOSTINI, Aventino Alfredo; RODRIGUES, Rubens. Angiostrongilíases. In COURA. *Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias*. Rio de Janeiro: ed Guanabara Koogan, 2014, p 1077-1080.

GRAEFF-TEIXEIRA, Carlos. In: BATISTA R. et al. *Medicina tropical: abordagem atual das doenças infecciosas e parasitárias*. Rio de Janeiro: ed Cultura Médica, 2001, p 215-219.

JEONG, Hawoong et al. The large-scale organization of metabolic networks. **Nature**, v. 407, n. 6804, p. 651-654, 2000

GURGEL-GONÇALVES, Rodrigo et al. O que é um parasito? Uma análise etimológica e semântica do termo parasito em diferentes idiomas. *Acta Scientiarum. Human and Social Sciences*, v. 29, n. 2, p. 151-161, 2007.

KEGG mapa 01100. Disponível em: <http://www.genome.jp/kegg/pathway/map/map01100.html>. Acesso em: 01/11/2015.

KANEHISA, Minoru; GOTO, Susumu. KEGG: kyoto encyclopedia of genes e genomes. **Nucleic acids research**, v. 28, n. 1, p. 27-30, 2000.

KOTERA, Masaaki et al. Computational assignment of the EC numbers for genomic-scale analysis of enzymatic reactions. *Journal of the American Chemical Society*, v. 126, n. 50, p. 16487-16498, 2004.

LEHNINGER, Albert L. **Lehninger Principios En Bioquímica**. São Paulo, Editorial Omega, 2002. p 478-484.

LWOFF, Marguerite. The nutrition of parasitic flagellates (*Trypanosomidae*, *Trichomonadinae*). In: *Biochemistry e physiology of protozoa*. Academic Press New York, 1951. p. 129-176.

MACHADO, Fabiana S. et al. Bioactive lipids in *Trypanosoma cruzi* infection. **Advances in parasitology**, v. 76, p. 1, 2011.

MORASSUTTI, A. L.; GRAEFF-TEIXEIRA, C. *Angiostrongilíases: da Biologia ao enfoque clínico*. Porto Alegre: EdiPUCRS, 2015.

MORERA, Pedro; CÉSPEDES, Rodolfo. *Angiostrongylus costaricensis* n. sp. (Nematoda: Metastrongyloidea), a new lungworm occurring in man in Costa Rica. **Rev Biol Trop**, v. 18, p. 173-185, 1971.

OSMAN, Ahmed et al. *Schistosoma mansoni* TGF- $\beta$  receptor II: role in host ligand-induced regulation of a schistosome target gene. **PLoS Pathog**, v. 2, n. 6, p. e54, 2006.

- OVERBEEK, Ross et al. WIT: integrated system for high-throughput genome sequence analysis e metabolic reconstruction. **Nucleic acids research**, v. 28, n. 1, p. 123-125, 2000.
- PESSOA, Martins. Miíases. In: Pessoa SB, Martins AV (eds.) Parasitologia Médica. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p.905-909, 1977.
- SAH, Jerome Franklin et al. Genetic rescue of Leishmania deficiency in porphyrin biosynthesis creates mutants suitable for analysis of cellular events in uroporphyrin e for photodynamic therapy. **Journal of Biological Chemistry**, v. 277, n. 17, p. 14902-14909, 2002.
- SALZMAN, Teresa A. et al. Porphyrin biosynthesis in parasitic hemoflagellates: functional e defective enzymes in Trypanosoma cruzi. **Comparative Biochemistry e Physiology Part B: Comparative Biochemistry**, v. 72, n. 4, p. 663-667, 1982.
- SALZMAN, Teresa A. et al. Heme synthesis in Crithidia deanei: influence of the endosymbiote. **International Journal of Biochemistry**, v. 17, n. 12, p. 1343-1347, 1985.
- SANTOS, Cláudia Portes. Redescritção de Angiostrongylus (Parastrongylus) costaricensis isolado de novo hospedeiro silvestre, Proechimys sp., na Venezuela (Metastrongyloidea, Angiostrongylidae). **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 80, n. 1, p. 81-83, 1985.
- SANTOS, Fernea Teixeira dos; PINTO, Viviane M.; GRAEFF-TEIXEIRA, Carlos. Evidences against a significant role of Mus musculus as natural host for Angiostrongylus costaricensis. **Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, São Paulo**, v. 38, n. 3, p. 171-175, June 1996.
- SCHOMBURG, Ida et al. BRENDA, the enzyme database: updates e major new developments. **Nucleic acids research**, v. 32, n. suppl 1, p. D431-D433, 2004.
- WINGENDER, Edgar. et al. Integrative content-driven concepts for bioinformatics “beyond the cell”. **Journal of Biosciences**, Karnataka, v. 32, p. 169-180, 2007.
- XU, Tao et al. Revealing parasite influence in metabolic pathways in Apicomplexa infected patients. **BMC bioinformatics**, v. 11, n. Suppl 11, p. S13, 2010.



Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul  
Pró-Reitoria de Graduação  
Av. Ipiranga, 6681 - Prédio 1 - 3º. andar  
Porto Alegre - RS - Brasil  
Fone: (51) 3320-3500 - Fax: (51) 3339-1564  
E-mail: [prograd@pucrs.br](mailto:prograd@pucrs.br)  
Site: [www.pucrs.br](http://www.pucrs.br)