



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

Facultad de
Ciencias e Ingeniería

Evaluación de la expresión de biomarcadores de estrés oxidativo en cultivos primarios astrocíticos de *Rattus norvegicus* inducidos con antígeno E/S o Total del estadio de cisticerco de *Taenia solium*

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA

AUTOR(ES)

KEVIN JORDANO GONZALES MALPARTIDA

ASESOR(ES)

MANUELA RENEE VERASTEGUI PIMENTEL

CO-ASESOR(ES)

GUILLERMO CESAR FERNANDEZ

LIMA - PERÚ

2026

Jurado calificador

Presidente: Dra. Melissa Marlene Mendez Aranda

Vocal: Dra. Patricia Sheen Cortavarria

Secretario: Dra. Iskra Tuero Ochoa

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Los egresados:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES
1.	GONZALES MALPARTIDA KEVIN JORDANO

Pertenecientes al programa de la **CARRERA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA**, autores del trabajo titulado: **Evaluación de la expresión de biomarcadores de estrés oxidativo en cultivos primarios astrocíticos de *Rattus norvegicus* inducidos con antígeno E/S o Total del estadio de cisticerco de *Taenia solium***, el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el **TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA** bajo la modalidad de **TESIS**.

En calidad de docentes asesores de la Universidad Peruana Cayetano Heredia:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES DEL DOCENTE	FACULTAD	NIVEL DE ASESORÍA
1.	VERASTEGUI PIMENTEL MANUELA RENEE	FACI	ASESOR
2.	FERNANDEZ GUILLERMO CESAR	FACI	COASESOR

Declaramos que el contenido del presente documento es original y que las citas y referencias a otros autores cumplen con las normas académicas establecidas. En ese sentido, hacemos constar que:

- El documento presenta un porcentaje de similitud de **19%**, según el reporte emitido por el software **Turnitin®** (identificador de entrega: **3570040051**; fecha de entrega: **14/05/2026**).
- Tras una revisión detallada del reporte y del contenido del trabajo en cuestión, no se han identificado indicios de plagio.
- Se certifica que el documento respeta los principios de integridad académica y cumple con los requisitos institucionales de originalidad.

Lugar y fecha: **Lima, 14 de mayo de 2026**



Firma del asesor

N° DNI: 08604175

ORCID: 0000-0002-7500-1353



Firma del Co-asesor

N° CE: 005748316

ORCID: 0000-0002-3582-9877

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi familia, en especial a mis padres, por brindarme su apoyo constante a lo largo de este camino. A mi madre, por impulsarme siempre a seguir adelante, y a mi padre, por la confianza depositada en cada una de mis decisiones. Asimismo, a mi hermana y a mis sobrinos, quienes representan una motivación e inspiración permanente. Finalmente, a mi compañero de vida, por acompañarme y motivarme a continuar perseverando en el ámbito de la ciencia.

AGRADECIMIENTOS

Expreso mi agradecimiento a la Dra. Manuela Verástegui, al Dr. Guillermo Fernández y a Edith Málaga, quienes contribuyeron significativamente a mi formación profesional mediante su orientación y mentoría. Del mismo modo, agradezco al equipo del Laboratorio de Enfermedades Infecciosas por el respaldo brindado durante el desarrollo de este proyecto, lo que permitió alcanzar su culminación satisfactoria.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

El presente proyecto contó con el financiamiento del Laboratorio de Enfermedades Infecciosas de los Laboratorios de Investigación (LID) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

TABLA DE CONTENIDOS

	RESUMEN	1
	ABSTRACT	2
I.	INTRODUCCIÓN	3
II.	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	7
III.	OBJETIVOS	7
IV.	MARCO TEÓRICO	8
V.	METODOLOGÍA	19
VI.	RESULTADOS	31
VII.	DISCUSIÓN	36
VIII.	CONCLUSIÓN	40
IX.	LIMITACIONES	41
X.	RECOMENDACIONES	41
XI.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
	ANEXOS	73

RESUMEN

La Neurocisticercosis (NCC), causada por el estadio larvario de *Taenia solium*, es una de las infecciones parasitarias más prevalentes del sistema nervioso central. Los productos de excreción/secreción (E/S) del parásito cumplen una función importante en la modulación inmunológica y podrían influir en el equilibrio redox del hospedador. En este estudio, se evaluó el efecto de los antígenos E/S y Totales del cisticerco de *T. solium* sobre la expresión de biomarcadores de estrés oxidativo, Hsp70 y 4-HNE, en cultivos primarios de astrocitos de cerebro de rata. Tras 24 horas de exposición a los antígenos, no se observó diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y el control; sin embargo, se observó una tendencia a la disminución de Hsp70, así como una tendencia al incremento para el biomarcador 4-HNE en las condiciones tratadas con antígenos E/S y Total. Estos resultados podrían sugerir una modulación sutil del estrés oxidativo, posiblemente asociada a mecanismos de evasión inmunológica del parásito. Este balance podría favorecer la persistencia del cisticerco en el tejido cerebral y a la naturaleza crónica de la Neurocisticercosis. No obstante, se requieren estudios adicionales para establecer conclusiones definitivas.

Palabras clave: Neurocisticercosis, parásito, biomarcador, estrés oxidativo, antígeno.

ABSTRACT

Neurocysticercosis (NCC), caused by the larval stage of *Taenia solium*, is one of the most prevalent parasitic infections of the central nervous system. The parasite's excretory/secretory (E/S) products play an important role in immunomodulation and may influence the host redox balance. In this study, the effect of E/S and total antigens from *T. solium* cysticerci on the expression of oxidative stress biomarkers, Hsp70 and 4-HNE, was evaluated in primary rat brain astrocyte cultures. After 24 hours of antigen exposure, no statistically significant differences were observed between the treated groups and the control; however, a trend toward decreased Hsp70 expression, as well as a trend toward increased 4-HNE levels, was observed under conditions treated with E/S and total antigens. These results may suggest a subtle modulation of oxidative stress, possibly associated with parasite immune evasion mechanisms. This balance could favor cysticercus persistence in brain tissue and contribute to the chronic nature of neurocysticercosis. Nevertheless, further studies are required to establish definitive conclusions.

Keywords: Neurocysticercosis, parasite, biomarker, oxidative stress, antigen.

I. INTRODUCCIÓN

La Neurocisticercosis (NCC), causada por el estadio larvario de *Taenia solium*, constituye una de las infecciones parasitarias más prevalentes del sistema nervioso central (SNC) y una de las principales causas prevenibles de epilepsia en el mundo [1]. Su incidencia es particularmente elevada en regiones endémicas de América Latina, África y Asia [2]. En el ciclo biológico de *Taenia solium*, el cerdo es el hospedador intermediario donde se desarrolla el cisticerco, mientras que el ser humano es el hospedador definitivo. En el hombre, la ingestión accidental de huevos presentes en alimentos o agua contaminada puede originar cisticercosis, y cuando las larvas invaden el sistema nervioso central, se produce la neurocisticercosis, una de las principales causas de epilepsia en zonas endémicas [3–8].

Los helmintos secretan y excretan una amplia variedad de moléculas, denominadas productos de excreción/secreción (E/S), compuestos por proteínas, péptidos, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos [9–12]. Estos productos ejercen un papel fundamental en la interacción parásito-hospedador, ya que modulan la respuesta inmunitaria para favorecer la evasión inmune y la persistencia del parásito durante periodos prolongados [13–15]. En este contexto, los productos E/S actúan como inmunomoduladores, induciendo tolerancia inmune local y sistémica, e incluso mimetizando moléculas del hospedador, como proteínas o microARN. Estudios de metabolómica y lipidómica han demostrado la notable diversidad molecular de los productos E/S, subrayando su importancia tanto como biomarcadores de infección como moduladores de la inmunidad [16–18].

Algunos antígenos helmínticos se han caracterizado por su función inmunorreguladora. Por ejemplo, el antígeno B (AgB) de *Echinococcus granulosus* modula la respuesta inflamatoria del hospedador [19]. En *T. solium*, las proteínas de 8 kDa han sido asociadas con la capacidad de unirse a ligandos hidrofóbicos, lo que sugiere un posible papel inmunomodulador similar, promoviendo un cambio de una respuesta Th1 hacia una respuesta Th2 [20,21]. Sin embargo, durante la degeneración del parásito o tras la acción de fármacos antihelmínticos, se liberan además proteínas estructurales de la pared del cisticerco que desencadenan una intensa respuesta inflamatoria [18,21]. Cabe destacar que los productos E/S varían según el estadio de desarrollo del parásito; en un modelo animal de hámster se evaluó que las fracciones E/S del estadio adulto exhibieron patrones electroforéticos diferentes a los observados en el estadio larvario [22].

En el SNC, las células gliales —particularmente los astrocitos— desempeñan un papel esencial en el mantenimiento de la homeostasis y la respuesta inmune local. Estas células participan en la preservación de la barrera hematoencefálica [23-24], la regulación del flujo sanguíneo cerebral, el reciclaje de neurotransmisores [25] y la secreción de citoquinas y factores tróficos que modulan la inflamación y la supervivencia neuronal [26]. Además, los astrocitos actúan como sensores inmunológicos frente a patógenos que afectan al cerebro, regulando la activación microglial y la neuroinflamación.

El SNC, pese a representar solo el 2% de la masa corporal, consume aproximadamente el 20% del oxígeno y el 25% de la glucosa del organismo [27]. Este elevado metabolismo genera especies reactivas de oxígeno (ROS)

y nitrógeno (RNS), las cuales cumplen funciones reguladoras en la señalización intracelular, la proliferación y la diferenciación [28,29]. Sin embargo, el exceso de ROS y RNS supera la capacidad antioxidante del sistema nervioso, generando estrés oxidativo y provocando daño a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos [30,31].

Diversos estudios han evidenciado que los productos E/S de helmintos pueden inducir estrés oxidativo. En *Angiostrongylus cantonensis*, los antígenos E/S incrementan la producción de ROS en astrocitos [32], mientras que en infecciones por *Toxocara canis* se ha reportado un aumento en la expresión de citocinas proinflamatorias, producción de óxido nítrico y astrogliosis reactiva, especialmente en fases crónicas [33]. Aunque en *T. solium* aún no se ha demostrado de manera concluyente que los productos E/S del cisticerco generen estrés oxidativo, sí se ha descrito su papel en la modulación inmune y la inflamación en la neurocisticercosis [34].

En condiciones fisiológicas, los astrocitos ejercen un efecto protector mediante la neutralización de radicales libres a través de enzimas antioxidantes; no obstante, bajo condiciones patológicas pueden convertirse en una fuente adicional de ROS y RNS, amplificando la activación microglial y el daño neuronal [35–39]. El estrés oxidativo también promueve la astrogliosis y la formación de cicatrices gliales [40]. A nivel molecular, este proceso activa factores de transcripción como Nrf2 y HSF, los cuales regulan la expresión de proteínas de choque térmico (HSP), entre ellas Hsp70 [41–43]. Hsp70 es crucial para la proteostasis celular, facilitando el plegamiento y reparación de proteínas, así como la inducción de enzimas antioxidantes como SOD1 y catalasa [44,45]. Se ha demostrado que su sobreexpresión en

mitocondrias cerebrales reduce la generación de radicales libres y protege la función neuronal [46].

El estrés oxidativo también desencadena la peroxidación lipídica de los ácidos grasos poliinsaturados, generando compuestos reactivos como el 4-hidroxinonal (4-HNE) [47,48]. Este aldehído forma aductos con proteínas, lípidos y ADN, alterando funciones celulares y promoviendo apoptosis [49,50]. Además, 4-HNE puede modificar la actividad de Hsp70 [51,52] e inducir su liberación extracelular, potenciando la producción de citocinas proinflamatorias [53].

En modelos animales de Neurocysticercosis, la presencia de cisticercos en el tejido cerebral se ha asociado con estrés nitro-oxidativo, gliosis reactiva y daño axonal, procesos estrechamente vinculados con la epileptogénesis [54]. Asimismo, se ha observado activación glial y acumulación de Hsp70 en zonas de daño neuronal, lo que sugiere su papel como marcador de respuesta al estrés [55].

A pesar de la evidencia mencionada, no se tiene suficiente información sobre si los antígenos E/S y Totales del estadio larvario de *T. solium* son capaces de inducir directamente estrés oxidativo en el SNC. El escaso conocimiento limita la comprensión de los mecanismos patogénicos que sustentan la persistencia del parásito y la neuroinflamación en la NCC. En este contexto, la presente investigación tiene como objetivo evaluar el efecto de los antígenos E/S y total del cisticercos en la modulación del estrés oxidativo, a fin de mejorar el entendimiento de las interacciones huésped-parásito y su rol en la fisiopatología de la Neurocysticercosis.

II. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cómo afecta la exposición de los antígenos excretor/secretor (E/S) y Totales (T) del estadio de cisticerco de *T. solium* a la expresión de biomarcadores asociados al estrés oxidativo (Hsp70 y 4-HNE) en cultivo primario de astrocitos de cerebro de rata?

III. OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el efecto del antígeno excretor/secretor (E/S) o total del estadio de cisticerco del parásito *T. solium* sobre la expresión de biomarcadores asociados al estrés oxidativo (Hsp70 y 4-HNE) en cultivos primarios de astrocitos de cerebro de rata.

Objetivos Específicos

- Evaluar la viabilidad de los cultivos primarios obtenidos de cerebro de rata durante su periodo de crecimiento *in vitro*.
- Caracterizar el tipo celular predominante en los cultivos primarios obtenidos de cerebro de rata.
- Evaluar los niveles de Hsp70 en astrocitos de cerebro de rata cultivados en presencia de antígenos E/S o totales del cisticerco de *T. solium* a las 24 horas.
- Evaluar los niveles de 4-HNE en astrocitos de cerebro de rata cultivados en presencia de antígenos E/S o totales del cisticerco de *T. solium* a las 24 horas.

IV. MARCO TEÓRICO

1. *Taenia solium*

1.1 Taxonomía

El parásito presenta la siguiente clasificación taxonómica [56]:

- Phylum: Platyhelminthes
- Clase: Cestoidea
- Familia: Taeniidae

1.2 Ciclo de vida

El ciclo de vida de *Taenia solium* involucra dos hospederos: el ser humano, como hospedero definitivo, y el cerdo, como intermediario. La infección humana ocurre al ingerir carne de cerdo con cisticercos viables.

En el intestino, las secreciones digestivas y sales biliares degradan la membrana del cisticerco, liberando el escólex que se fija a la mucosa mediante su róstelo y ventosas, estableciendo la fase adulta [57].

El parásito desarrolla proglótides que maduran en unos tres meses, alcanzando longitudes de hasta 5 m [58]. El cuerpo del parásito es aplanado y sin tubo digestivo, está formado por un escólex de 0.5–1 mm con cuatro ventosas y un róstelo retráctil, seguido por 700–1,000 proglótides en distintos grados de maduración [59, 60].

La absorción de nutrientes ocurre a través del tegumento [61]. Los proglótides inmaduras contienen glucógeno, mientras que los maduros desarrollan órganos sexuales y los grávidos almacenan hasta 50,000 huevos [57]. La fecundación interna produce embriones recubiertos por una membrana queratinizada [62, 63].

Los huevos, de 20–40 μm , pueden permanecer viables hasta 60 días en el ambiente. El cerdo al ingerir los huevos, van a liberar la oncosfera a nivel intestinal, los cuales atraviesan la mucosa intestinal, alcanza la circulación y se puede localizar en diferentes tejidos u órganos, como musculo esquelético, corazón o a nivel del sistema nerviosos central, donde se desarrolla el cisticerco [64]. Estos se vuelven infectantes para el humano a los 60–70 días [65] (*Figura N°1*).

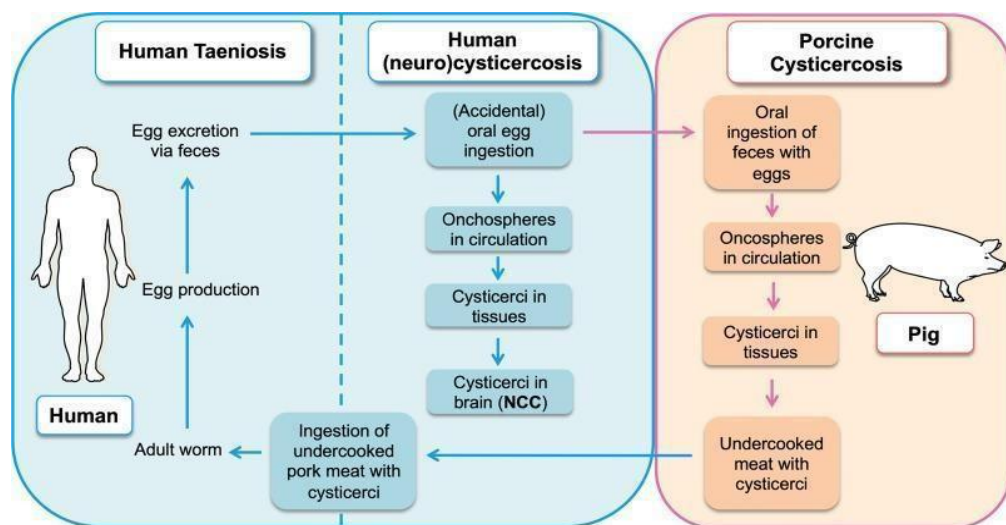


Figura N° 1: Ciclo de infección de *T. solium* que muestra los diferentes pasos de la cisticercosis humana y porcina, incluida la NCC humana, tomado de Prodjinotho *et al.* [66].

En *Taenia solium*, los antígenos excretorios-secretorios (E/S) se han estudiado ampliamente por su relación con la viabilidad del parásito. El análisis proteómico del cisticerco identificó 76 proteínas, incluidas la enolasa, 2-Cys peroxirredoxina, proteínas de 8 kDa y 14-3-3 [67]. Estas últimas, junto con la paramiosina, actina, P27 y proteínas de choque térmico, muestran potencial inmunomodulador al influir en la respuesta Th1/Th2 [68–75].

El sistema antioxidante del parásito, compuesto por superóxido dismutasa Cu/Zn, glutatión S-transferasa y 2-Cys peroxirredoxina, ha sido propuesto como blanco terapéutico [76–79]. Otras proteínas, como las cisteínas proteasas, calreticulina y el transportador TGTP2, participan en la evasión inmune y el metabolismo [80–83]. Se han identificado 838 proteínas del secretoma [84], aunque persiste escasa información sobre los antígenos liberados durante la degeneración del cisticerco, potencialmente asociados a una respuesta inflamatoria exacerbada [66,85]. También se emplean antígenos de lisado crudo equivalentes a los antígenos totales [86].

2. Neurocisticercosis

El estadio de cisticerco del helminto cestodo *Taenia solium* es el principal agente causal de la neurocisticercosis (NCC) en el hombre, una de las enfermedades parasitarias más prevalentes que afectan al sistema nervioso central (SNC) en países en desarrollo donde se crían cerdos [87]. Tras la ingestión de huevos del parásito, las oncosferas se liberan en el intestino y atraviesan la mucosa intestinal, diseminándose a través del torrente sanguíneo llegando a diferentes órganos o tejidos, como el SNC, causando la NCC. Los primeros síntomas clínicos se manifiestan después de meses o años de haber ocurrido la infección. Presentando dolor de cabeza, déficit cognitivo, convulsiones o cuadros de epilepsia [95].

2.1 Epidemiología

La neurocisticercosis (NCC) es una de las principales infecciones parasitarias del sistema nervioso central, con una prevalencia anual estimada entre 2,5 y 8,3 millones de casos [89]. En regiones endémicas de bajos recursos, donde la convivencia entre humanos y cerdos facilita la transmisión, se atribuye a la NCC alrededor del 30% de los casos de epilepsia, concentrándose el 80% en países de ingresos bajos y medianos [90]. En el Perú, se han identificado focos hiperendémicos en la sierra, costa norte y selva alta [91], con prevalencias serológicas que varían entre 4,9% y 34% en América Latina, y hasta 8% en la población rural peruana. Asimismo, entre 30% y 60% de los cerdos presentan infección por *T. solium* [92,93].

2.2 Manifestaciones clínicas

La neurocisticercosis presenta un amplio espectro clínico. Algunos individuos pueden permanecer asintomáticos, incluso en presencia de una respuesta inflamatoria contra el parásito [94]. En otros casos, la intensidad de la reacción inflamatoria del hospedero está estrechamente relacionada con la sintomatología. Las manifestaciones clínicas pueden iniciarse entre 1 y 35 años después de la infección, lo que explica la gran variabilidad en la presentación de la enfermedad y la diversidad de síndromes asociados [95].

La inflamación es particularmente relevante durante los procesos degenerativos del parásito, que culminan con su muerte y posterior calcificación. Este proceso genera una reacción inmunopatológica local que suele correlacionarse con los síntomas clínicos del paciente [96] (*Tabla N°1*).

Tabla 1. Síndromes secundarios a Neurocisticercosis, tomado de Saavedra *et al.* [95].

Síndrome/Signos/Síntomas	Características	Ubicación del parásito
Epilepsia	Crisis parciales o generalizadas	NCC parenquimal
Cefalea	No presenta características clínicas especiales. Aumenta con los esfuerzos y no cede con los analgésicos comunes	NCC parenquimal y extraparenquimal
Hipertensión endocraneana	Además de la cefalea se presentan náuseas, vómito y síntomas visuales acompañados de papiledema.	NCC intraventricular, NCC subaracnoidea, Quiste gigante, NCC intraparenquimal con respuesta inflamatoria marcada, NCC masiva.
Síndrome psíquico	Pueden ser de tipo psicótico, confuso demencial, neurosis, alucinaciones, etc	NCC subaracnoidea basal, hidrocefalia, ubicación en el lóbulo frontal, etc.
Síndrome meníngeo	Se presenta cuando hay aracnoiditis y fibrosis.	Estados avanzados de NCC subaracnoidea basal.
Compromiso de nervios craneales	Óptico, oculomotores, auditivo y facial.	NCC subaracnoidea basal, hidrocefalia
Síndrome optoquiasmático	Por aracnoiditis y estrangulamiento del quiasma óptico por meninges engrosadas. Hay disminución de la agudeza visual y palidez con atrofia de papila	NCC subaracnoidea basal, hidrocefalia
Encefalitis cisticercósica	Frecuente en niños, deterioro del estado neuropsicológico, crisis recidivantes, hipertensión endocraneana y coma.	NCC intraparenquimal masiva
Medular (rara)	Cambios motores y sensitivos de las extremidades, a veces con paresias o parálisis; mielitis transversa, mielopatía por compresión.	NCC del espacio subaracnoideo.

3. Respuesta inmune

3.1 Mecanismos de Evasión Inmunitaria de Helmintos

Los helmintos han desarrollado mecanismos sofisticados para evadir la respuesta inmune y establecer infecciones crónicas. A pesar de su tamaño y migración tisular, inducen una respuesta inflamatoria reducida, lo que refleja su coevolución con el hospedero [97,98] (*Figura N°2*).

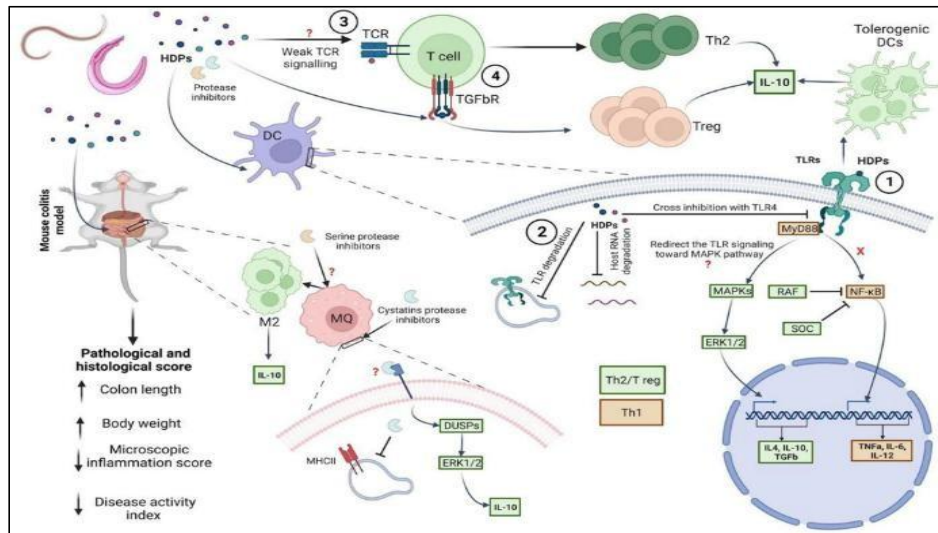


Figura N^o2: Esquemática de la manipulación inmunológica del huésped, inducida por las proteínas derivadas de helmintos, tomado de Alghanmi *et al.* [99].

Entre sus estrategias destacan la inducción de apoptosis en células inmunes, la manipulación de receptores de reconocimiento de patrones, la modulación de vías de señalización y la supresión de respuestas Th1/Th2 y sus citocinas [100], aunque aún existen mecanismos no completamente caracterizados [101].

Los productos excretorios-secretorios (E/S) desempeñan un papel central en esta inmunomodulación [3,5]. En *Schistosoma mansoni*, la glicoproteína IPSE se une a IgE e induce IL-4 en basófilos y IL-10 en células B, favoreciendo células B reguladoras [102]. En *Fasciola hepatica*, el factor FhTLM, homólogo a TGF- β , promueve IL-10 y arginasa en macrófagos, orientando la respuesta hacia un perfil crónico no protector [103]. Lo antes mencionado evidencia un eje antígeno-receptor-citocina mediante el cual los helmintos modulan la inmunidad en favor de su supervivencia.

3.2 Mecanismos de evasión inmunitaria de *Taenia solium*

Taenia solium, al igual que otros helmintos, puede establecer infecciones prolongadas mediante mecanismos inmunorreguladores específicos. Los cisticercos enmascaran sus antígenos incorporando inmunoglobulinas del hospedero (IgG, IgM, IgA e IgE) en su tegumento, probablemente mediante endocitosis mediada por receptores Fc [104,105]. Además, inhiben las vías clásica y alternativa del complemento a través de antígenos como la teniastatina y la paramiosina [106,107]. Modelos *in vivo* muestran que las oncosferas de *T. solium*, a diferencia de *T. saginata*, pueden desarrollarse en el cerebro de ratas, induciendo una respuesta mixta Th1/Th2 y la producción de MMP-9, lo que favorece su supervivencia y migración al sistema nervioso central. En contraste, *T. saginata* genera una inflamación más intensa que limita su establecimiento [108]. Asimismo, los cisticercos viables secretan proteasas (cisteín-, metalo- y serín-proteasas) que degradan inmunoglobulinas, inhiben la proliferación de linfocitos CD4⁺ y modulan citocinas, alterando la respuesta de anticuerpos mediada por células B [109] (Figura N°3).

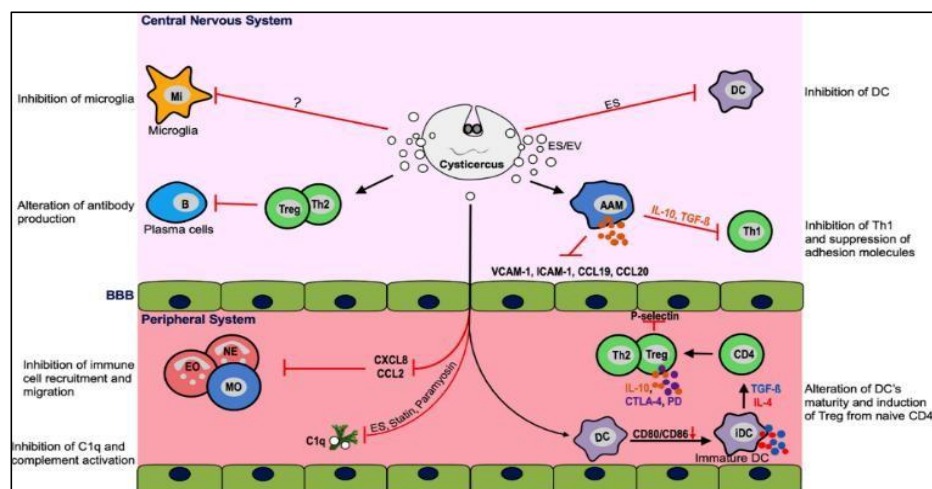


Figura N° 3: Liberación de productos E/S y vesículas extracelulares (EV) del quiste de cisticerco y la interacción con células del hospedero, tomado de Prodjinotho *et al.* [66]

3.3 Respuesta inmunitaria contra neurocisticercosis

Una vez establecido el cisticerco, predomina una respuesta inmunitaria Th2 que puede cambiar durante su degeneración [66]. La *Taenia solium* adulta causa solo inflamación intestinal leve, por lo que la teniasis suele ser asintomática, aunque puede presentarse malestar abdominal o diarrea. Las oncosferas son neutralizadas por anticuerpos y el complemento; el componente C5 se ha asociado con formas extraparenquimatosas de neurocisticercosis (NCC) [110–112]. Los niveles de IgG, IgM e IgE son más altos que en individuos asintomáticos [113,114]. La degeneración del parásito induce una respuesta inflamatoria intensa con producción de IL-1 β , TNF- α e IFN- γ [115], acompañada de infiltrado de macrófagos, linfocitos, microglía entre otras células [66] (Figura N°4).

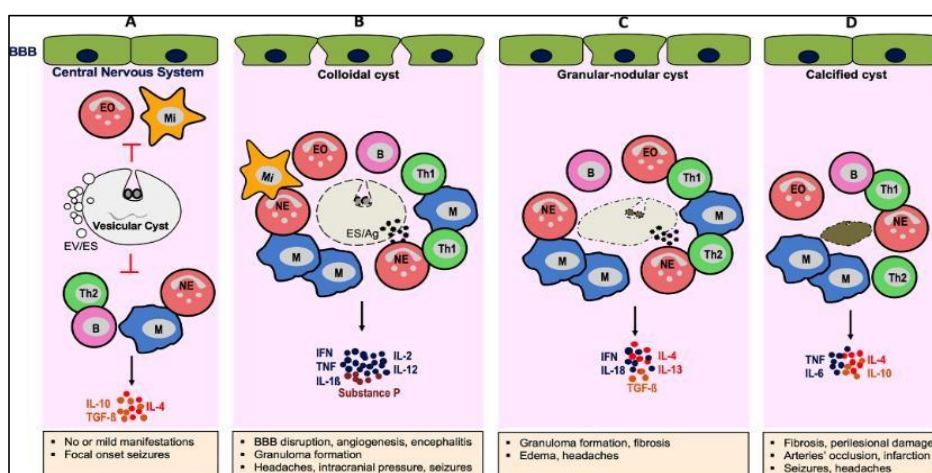


Figura N° 4: Involución de quistes en el parénquima cerebral e inmunopatogénesis asociada. tomado de Prodjinotho *et al.* [66]

Lo que puede causar hipertensión intracraneal y encefalitis [116]. La sustancia P también contribuye a la expresión de citocinas proinflamatorias [117]. Finalmente, infecciones únicas inducen un perfil Th1, mientras que las múltiples favorecen una respuesta Th2 [118,119].

3.4 Rol de los astrocitos

En condiciones fisiológicas, los astrocitos permanecen con baja actividad metabólica, pero ante estímulos nocivos adoptan un fenotipo reactivo caracterizado por cambios morfológicos, proliferación y liberación de citocinas [120,121]. Derivados de la etapa final de la neurogénesis, comparten linaje con neuronas y oligodendrocitos [122] y constituyen la población glial más abundante del sistema nervioso central (SNC) [123]. Cumplen funciones esenciales en la modulación sináptica, eliminación perivascular de desechos [124] y mantenimiento de la barrera hematoencefálica (BHE) o unidad neurovascular (NVU) [125]. La reactividad astrocitaria puede adoptar un fenotipo neurotóxico (A1), que activa genes del complemento (C1r, C1s, C3 y C4), o un fenotipo neuroprotector (A2), asociado a la expresión de factores tróficos e inmunorreguladores como CLCF1, LIF, IL-6, IL-10 y trombospondinas [126,127]. Además, los astrocitos actúan como células inmunitarias innatas, limitando la infiltración de células periféricas mediante el control de la BHE y la producción coordinada de citocinas [128–130].

4. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo (EO) influye de forma decisiva en la progresión de las infecciones parasitarias, afectando tanto al hospedador como al parásito [131–

133]. Durante la infección, el hospedador genera especies reactivas de oxígeno (ROS) como defensa; sin embargo, su exceso puede sobrepasar la capacidad antioxidante, causando daño celular y favoreciendo la cronicidad [134–137]. El equilibrio oxidante–antioxidante resulta esencial para mantener la homeostasis e integridad inmunitaria [138]. Muchos parásitos contrarrestan el EO mediante enzimas y moléculas antioxidantes que neutralizan las ROS del hospedador, facilitando su supervivencia y persistencia [132,133, 139].

4.1 4-HNE

Los niveles elevados de especies reactivas de oxígeno (ROS) reflejan estrés oxidativo y promueven la peroxidación lipídica [140,141]. Entre sus productos destacan el 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE) y el malondialdehído (MDA), marcadores de daño oxidativo [142,143]. El 4-HNE, uno de los aldehídos más reactivos, puede actuar como mensajero secundario, aunque su elevada reactividad le permite formar aductos covalentes con proteínas, afectando la señalización redox [141,142, 144, 147]. Su efecto depende del tipo celular y puede inducir supervivencia o apoptosis, participando en enfermedades neurodegenerativas, cardiovasculares y metabólicas [145,146]. Además, el 4-HNE contribuye al desacoplamiento mitocondrial mediante interacciones con proteínas UCP y ANT [148,149].

4.2 Hsp70

Las proteínas de choque térmico HSP70 se expresan ampliamente en eucariotas y se localizan en distintos compartimentos: Hsp72 y Hsc70 en el citosol y núcleo, BiP en el retículo endoplasmático y mtHsp70 en mitocondrias [150–152]. Actúan como chaperonas moleculares, facilitando el plegamiento y reparación proteica y evitando su agregación durante el

estrés [153,154]. En el sistema nervioso, Hsp70 ejerce efectos neuroprotectores al inhibir la apoptosis, reducir la neuroinflamación y mostrar actividad antioxidante [150,153]. Durante la isquemia cerebral, bloquea NF- κ B, disminuye TNF- α e IL-6, e inhibe iNOS y MMP, atenuando la degradación tisular [155]; además, en astrocitos suprime las quinasas JNK y p38 MAPK, previniendo la muerte celular [156].

5. Rata como modelo experimental

Las ratas de laboratorio son ampliamente utilizadas en investigación biomédica por sus similitudes anatómicas, fisiológicas y genéticas con el ser humano, compartiendo cerca de 30 000 genes [157,158]. Su corto periodo de gestación, alta tasa reproductiva y vida breve las convierten en un modelo eficiente. Desde la secuenciación de su genoma en 2004, han sido usadas en numerosos estudios de enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas, de comportamiento, farmacología y toxicología [159,160].

5.1. Cultivo primario

Los cultivos primarios de tejidos o células de animales como ratas, derivados de tejidos vivos y mantenidos *in vitro*, permiten estudiar la comunicación celular y los mecanismos moleculares implicados en patologías como cáncer, Parkinson y diabetes [161,162]. Su capacidad de proliferación es limitada por el “límite de Hayflick”, dependiendo del tipo celular y las condiciones de cultivo.

5.1.1. Modelo *in vitro* 2D

En neurobiología, los cultivos en monocapa (2D) de neuronas primarias siguen siendo modelos ampliamente utilizados. Los avances en técnicas de aislamiento y el uso de superficies tratadas han permitido mantener poblaciones neuronales puras y estables. Sin embargo, debido a la complejidad del SNC, los modelos 2D presentan limitaciones, lo que ha impulsado el desarrollo de sistemas multicelulares y plataformas multicompartimentales más representativos [163].

V. METODOLOGÍA

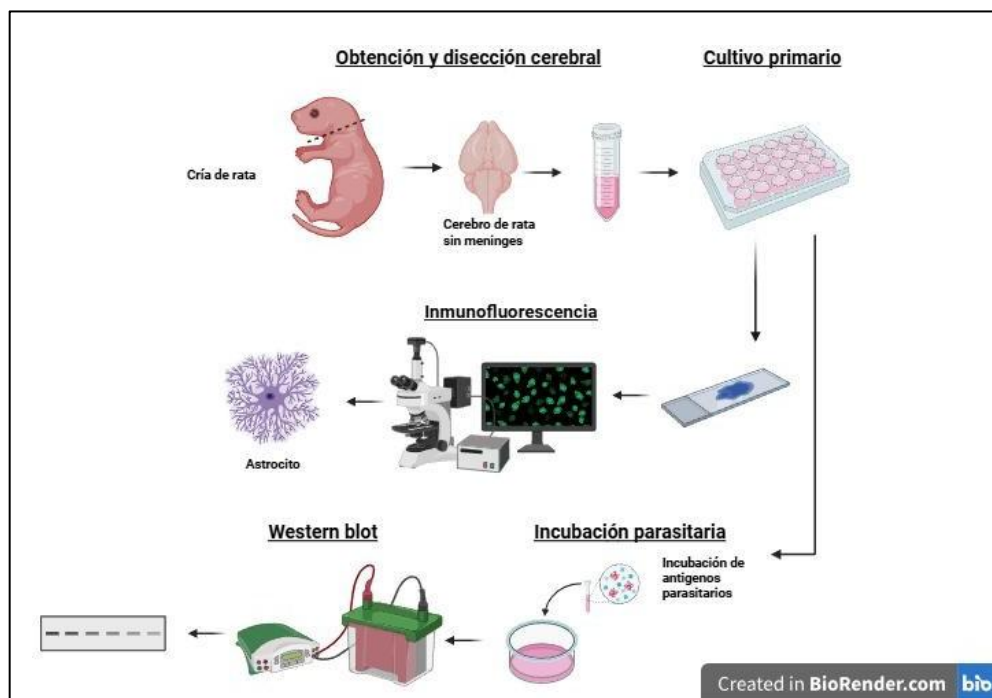


Figura N° 5: Esquema resumen de la metodología del proyecto.

1. Consideraciones éticas

El presente proyecto contó con la aprobación del Comité Institucional de Ética para el Uso de Animales (CIEA) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). Asimismo, el estudio fue registrado en el sistema SIDISI bajo el código 214612.

2. Tipo de estudio

La investigación se desarrolló bajo un enfoque cuantitativo, con alcance explicativo y un diseño experimental *in vitro*. En este estudio se evaluó la expresión de los biomarcadores de estrés oxidativo Hsp70 y 4-HNE en cultivos primarios de astrocitos de rata, luego de su exposición a antígenos excretor/secretor (E/S) y antígeno total de *Taenia solium*

3. Tamaño de muestra

El número de ratas (1 a 3 días de nacido) sacrificados para la obtención de cultivos primarios está basado en estudios previos, los cuales demuestran que el uso de 3 a 5 cerebros proporciona un número suficiente de células viables para generar cultivos primarios estables y reproducibles [164] [165]. La investigación en mención se desarrolló bajo los principios de las 3R (Reemplazo, Reducción y Refinamiento), los cuales guían el uso ético de animales en investigación biomédica:

- Reemplazo: se recurrió a cultivos primarios *in vitro* en lugar de modelos animales vivos, reduciendo al mínimo el sufrimiento animal.
- Reducción: se utilizó el número mínimo de animales necesario (3 a 5 cerebros) para obtener resultados estadísticamente válidos, basándose

en evidencia previa que respalda la suficiencia de este tamaño muestral.

- Refinamiento: se aplicaron procedimientos estandarizados de manipulación, sacrificio y aislamiento celular para minimizar el estrés y el dolor animal.

El diseño experimental asegura no solo la optimización de recursos, sino también la calidad y confiabilidad de los datos obtenidos. La replicación del experimento en cinco ocasiones distintas refuerza aún más la robustez y validez de los hallazgos.

4. Diseño experimental

Las crías de rata, con edades comprendidas entre uno y tres días de nacidas, fueron obtenidas del bioterio de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Tras su recepción, las ratas de cepa Holtzman fueron mantenidas en jaulas bajo condiciones controladas, aisladas de estímulos externos que pudieran alterar su estado fisiológico. Los procedimientos de sacrificio se efectuaron el mismo día de la obtención de los animales.

El estudio comenzó con la eutanasia de las crías, seguida de la extracción de los cerebros para la preparación de cultivos celulares primarios. Posteriormente, se realizó la técnica de inmunofluorescencia con el propósito de identificar astrocitos provenientes de cerebro de rata. Paralelamente, se prepararon los antígenos excretor/secretor (E/S) y total de *Taenia solium*, los cuales fueron administrados a los cultivos celulares. Asimismo, se incluyeron controles experimentales, empleando lipopolisacárido (LPS) como control positivo y medio de cultivo como control negativo. Luego de un periodo de incubación de veinticuatro horas a 37 °C y en una atmósfera

con 5 % de CO₂, se efectuó el ensayo de western blot para evaluar la expresión de los biomarcadores de estrés oxidativo Hsp70 y 4-HNE. Finalmente, los resultados obtenidos fueron sometidos a análisis estadístico para su correspondiente interpretación.

5. Procedimientos

A. Preparación del cultivo primario astrocítico

El procedimiento se inició con el sacrificio de las crías de rata, las cuales fueron previamente cubiertas con papel aluminio y anestesiadas mediante exposición al hielo. Posteriormente, se realizó la decapitación como método de eutanasia [166]. A continuación, se extrajeron las meninges y el plexo coroideo de cada cerebro de rata para proceder con el procesamiento del tejido cerebral.

Seguidamente, el tejido fue resuspendido en medio de disección e incubado con tripsina al 2,5 % durante 15 minutos con el fin de favorecer la disgregación celular. Luego, la acción de la tripsina fue neutralizada utilizando medio DMEM/F12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium y Ham's F12) en proporción 1:1. Posteriormente, las células fueron filtradas mediante un filtro de 0,2 µm y se efectuó el respectivo conteo celular.

Para la técnica de inmunofluorescencia, las células se sembraron en placas de 24 pozos que contenían cubreobjetos circulares de vidrio en la base de cada pozo, los cuales sirvieron como superficie para el crecimiento celular. Después de tres días de cultivo, se realizó el cambio del medio de crecimiento celular [167] [168]. Asimismo, se consideró un periodo de catorce días de crecimiento in vitro (DIV 14) para el desarrollo del cultivo primario astrocítico [169] [170].

Por otro lado, para la realización de la técnica de western blot, se emplearon placas de cultivo celular de 6 pozos, en las cuales se sembraron 1×10^6 células por pozo utilizando medio de crecimiento DMEM/F12. Finalmente, las células fueron mantenidas en incubación a 37 °C y en una atmósfera con 5 % de CO₂.

B. Obtención de antígenos del cisticerco de *Taenia solium*

Los antígenos correspondientes al estadio de cisticerco de *Taenia solium* fueron proporcionados por el Laboratorio de Investigación de Enfermedades Infecciosas. La obtención de dichos antígenos se llevó a cabo siguiendo metodologías previamente descritas, realizando algunas modificaciones al procedimiento original [171,172].

B.1 Obtención de cisticercos

Los cisticercos fueron obtenidos mediante disección de músculos esqueléticos de cerdos naturalmente infectados y posteriormente recolectados en placas Petri de 21,5 cm² que contenían 5 mL de PBS-1X pH 7,2 (0,15 M), colocando aproximadamente 20 cisticercos por placa. Posteriormente, los cisticercos fueron transferidos con ayuda de una pipeta Pasteur a tubos con 15 mL de PBS-1X pH 7,2 (0,15 M), realizando siete inversiones manuales para favorecer el lavado de las muestras. Luego, los tubos fueron incubados durante 15 minutos a temperatura ambiente (25 °C). Tras la incubación, el sobrenadante fue retirado utilizando una pipeta serológica de 5 mL. Seguidamente, los cisticercos fueron transferidos individualmente a nuevos tubos para continuar con los lavados sucesivos en PBS-1X pH 7,2 (0,15 M). Posteriormente, entre 12 y 15 cisticercos fueron distribuidos en cada pozo de placas de crecimiento celular de 6 pozos que contenían 2 mL de medio RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute Medium).

Las placas fueron incubadas durante 6 horas a 37 °C en una atmósfera con 5 % de CO₂. Finalmente, el sobrenadante fue descartado y se añadió nuevamente medio RPMI 1640, manteniendo los cisticercos en incubación durante 24 horas adicionales [171].

B.2 Obtención del antígeno E/S de cisticerco

Después de las 24 horas de incubación de los cisticercos en medio RPMI 1640, el sobrenadante de cada pozo fue recolectado y transferido a tubos de 15 mL. Posteriormente, se adicionó nuevamente medio RPMI 1640 a las placas que contenían los cisticercos y estas fueron incubadas durante 18 horas a 37 °C con 5 % de CO₂.

Luego de este periodo, el sobrenadante fue nuevamente recolectado y transferido a tubos de 15 mL. Dichos tubos fueron centrifugados a 2500 RPM (1000 G) durante 10 minutos a 4 °C. Posteriormente, el sobrenadante recuperado fue transferido a nuevos tubos y filtrado antes de ser aliquotado en tubos Eppendorf de 1,5 mL para ensayos posteriores. Las muestras fueron almacenadas a -80 °C. Asimismo, únicamente se emplearon parásitos que no presentaban daño estructural [172]. Cabe mencionar que los cisticercos utilizados en este procedimiento también fueron empleados para la obtención del antígeno total.

B.3 Obtención del antígeno total de cisticerco

Para la preparación del antígeno total, se colocaron 15 cisticercos en tubos de 15 mL y se resuspendieron en 5 mL de PBS-1X pH 7,2 (0,15 M). Posteriormente, los parásitos fueron lisados mediante sonicación en intervalos de 60 segundos

durante un tiempo total de 3 minutos a 33 watts, manteniéndose en hielo durante el procedimiento.

Luego, las muestras fueron centrifugadas a 15000 RPM durante 45 minutos a 4 °C. El sobrenadante obtenido fue recolectado en nuevos tubos de 15 mL. Finalmente, el lisado parasitario fue filtrado y alíquotado en tubos Eppendorf de 1,5 mL para futuros ensayos, manteniéndose almacenado a -80 °C [172].

B.4 Ensayo de incubación de los antígenos en el cultivo primario

Antes de realizar la técnica de western blot, se efectuó la incubación antigénica en el cultivo primario astrocítico. Para ello, se emplearon concentraciones de 20 y 40 µg/mL de los antígenos E/S y total del estadio de cisticerco [172,173]. Como control positivo se utilizó lipopolisacárido (LPS) a una concentración de 1 µg/mL, mientras que el medio de cultivo fue empleado como control negativo [173]. La incubación de los cultivos con los antígenos se llevó a cabo durante 24 horas a 37 °C en una atmósfera con 5 % de CO₂.

C. Ensayo de viabilidad celular por MTT

Tras la obtención del cultivo primario de cerebro de rata, se evaluó la viabilidad celular mediante el ensayo de MTT utilizando cultivos que alcanzaron cinco días (DIV5) y catorce días (DIV14) de crecimiento in vitro. Para ello, se consideraron dos condiciones experimentales: un grupo control, constituido únicamente por medio de cultivo, y un grupo tratado con peróxido de hidrógeno (H₂O₂) para inducir estrés oxidativo.

En el procedimiento experimental se añadieron 25 µL de solución de MTT (2,5 mg/mL, preparada a partir de una solución stock de 5 mg/mL) a cada pozo de la placa de 96 pozos, obteniéndose una concentración final de 0,5 mg/mL. Posteriormente, las placas fueron incubadas durante 5 horas a 37 °C bajo una atmósfera con 5 % de CO₂.

Luego de la incubación, el sobrenadante fue retirado de cada pozo y se agregaron 100 µL de isopropanol con la finalidad de solubilizar los cristales de formazán generados. La absorbancia fue medida utilizando un lector de placas (Tecan A-5082 Phenix Sunrise) a 570 nm, empleando una corrección de fondo a 630 nm.

En la condición experimental con H₂O₂, los cultivos fueron expuestos previamente a una concentración final de 25 mM de peróxido de hidrógeno durante una hora antes de la incubación con MTT. Finalmente, la viabilidad celular correspondiente a cada condición experimental fue calculada mediante la fórmula descrita previamente [174].

En el caso del tratamiento con H₂O₂, los cultivos fueron expuestos a una solución de peróxido de hidrógeno a una concentración final de 25mM durante 1 hora antes de la incubación con MTT. Finalmente, la viabilidad celular para cada condición se calculó mediante la fórmula correspondiente [174].

D. Identificación celular

Una vez que el cultivo primario alcanzó los días 5 (DIV5) y 14 (DIV14) de crecimiento in vitro, se procedió a la identificación celular mediante la técnica de inmunofluorescencia. Inicialmente, se retiró el medio de crecimiento DMEM/F12 de las placas de cultivo celular de 24 pozos. Posteriormente, las células fueron fijadas utilizando una solución de formaldehído y sacarosa al 4 % en proporción 1:1 durante 15 minutos. Luego, la solución fijadora fue retirada y las células se lavaron con PBS-1X pH 7,2 (0,15 M).

Seguidamente, se realizó el bloqueo celular utilizando una solución compuesta por PBS-1X pH 7,2 (0,15 M), Tritón X-100 al 0,2 %, BSA (albúmina sérica bovina) al 1 % y 5 % de suero de burro inactivado. La solución de bloqueo fue adicionada sobre la monocapa celular e incubada durante una hora a temperatura ambiente (25 °C). Posteriormente, las células fueron nuevamente lavadas con PBS-1X pH 7,2 (0,15 M). A continuación, las células fueron incubadas con una mezcla de anticuerpos primarios conformada por Rabbit anti-GFAP 1:100 (Invitrogen, #180063) [175], Mouse anti-β-Tubulin III 1:1000 [176][177] y Goat anti-IBA1 1:500 (Abcam, #ab5076) [178]. Los anticuerpos fueron preparados en una solución compuesta por PBS-1X pH 7,2 (0,15 M), Tritón X-100 al 0,2 %, BSA al 1 % y 5 % de suero de burro y cabra descomplementados. La incubación se realizó

durante una hora a temperatura ambiente (25 °C). Luego, las células fueron lavadas nuevamente con PBS-1X pH 7,2 (0,15 M).

Posteriormente, se efectuó la incubación con los anticuerpos secundarios Goat anti-Rabbit Alexa Fluor 488 (Invitrogen, #A11008), Goat anti-Mouse Alexa Fluor 594 (Invitrogen, #A11005) o Donkey anti-Goat Alexa Fluor 594 (Invitrogen, #A32758), todos en una dilución 1:400. Los anticuerpos secundarios fueron preparados en la misma solución de bloqueo previamente descrita e incubados durante una hora a temperatura ambiente (25 °C). Finalmente, las células fueron lavadas con PBS-1X pH 7,2 (0,15 M) y montadas utilizando solución Mowiol con DAPI al 1 %. Para los controles negativos de la técnica de inmunofluorescencia, se emplearon células incubadas únicamente con los anticuerpos secundarios durante una hora a temperatura ambiente. Las muestras fueron visualizadas mediante un microscopio confocal Zeiss LSM 880 y las imágenes obtenidas fueron transferidas a un ordenador mediante una cámara digital Sound Vision Inc. Posteriormente, las fotografías fueron analizadas utilizando el software FIJI con la finalidad de identificar y cuantificar los diferentes tipos celulares según los biomarcadores GFAP, β -Tubulin III e IBA1. Los datos obtenidos fueron procesados y analizados estadísticamente mediante el software GraphPad Prism. Para el análisis estadístico, se realizó un conteo celular utilizando 10 campos por cada fecha experimental, considerando un total de tres procedimientos independientes. En conjunto, se analizaron 30 campos microscópicos (30 fotografías). Finalmente, se calculó el promedio celular para cada tipo celular identificado mediante los biomarcadores GFAP, β -Tubulin III e IBA1, y los resultados fueron representados mediante gráficos

de barras.

E. Western Blot

Una vez que las células de cultivo primario crecieron hasta el DIV 5 y DIV 14 en las placas de 6 pozos de crecimiento celular. Se realizó la evaluación de los biomarcadores de estrés oxidativo, mediante el ensayo de western blot. Las células del cultivo primario astrocítico fueron lisadas usando 100 uL RIPA (tampón de ensayo de radioinmunoprecipitación) con inhibidores de proteasas. Luego se cuantificó la concentración de proteínas usando el ensayo BCA (ácido bicinconínico). Posteriormente se agregó a la muestra buffer Laemli 4X. Asimismo, se hirvió las muestras durante 5 min y las soluciones de proteínas fueron dispensadas en cada pozo de un gel de poliacrilamida al 10%. Las proteínas migraron recorriendo el *stacking* gel hasta llegar al resolving gel durante 15 min a 60V constantes. Luego, las proteínas se separaron en el resolving gel durante 1 hora a 120V constantes usando buffer de corrida. Posteriormente se transfirió las proteínas del gel a una membrana de nitrocelulosa durante 16 horas a 25 V constantes usando “Buffer de transferencia”. Se obtuvo dos membranas, una de estas se usó para identificar las proteínas de Hsp70 y su control endógeno celular GAPDH (gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa). En la otra membrana se identificó las proteínas 4-HNE. Cada membrana de nitrocelulosa fue incubada con sus respectivos anticuerpos primarios Mouse anti Hsp70 1/1000 (ab2787), Rabbit anti GAPDH 1/1000 (ab9485) y Goat anti-4-HNE 1/500 (ab5605) durante toda la noche a 4°C. Al día siguiente se incubó con los anticuerpos secundarios unidos a peroxidasa Goat anti-Mouse 1/5000, Goat anti Rabbit 1/5000 y Rabbit anti Goat 1/2000 [179,180], por una hora a T.A (25°C). Por

último, se usó DAB (diaminobencidina) y peróxido de hidrógeno para revelar las membranas de nitrocelulosa. La cuantificación de la inmunoreactividad mediante Western blot de los biomarcadores Hsp70, 4HNE y GAPDH se realizó usando FIJI. Primero se obtuvo una imagen digital de las bandas (papel de nitrocelulosa) en formato tiff, para conservar la cantidad máxima de información en la imagen original. La imagen se convirtió a modo de 8 bits. Luego se delimitó cada banda para dibujar un cuadro alrededor de todo el primer carril. Asimismo, se usó la herramienta “Plot Lanes” para dibujar un trazado de perfil de cada carril. El gráfico de perfil representó esencialmente el valor de densidad promedio en un conjunto de sectores horizontales de cada carril. Las bandas más oscuras tuvieron picos más altos y las gráficas que cubrieron un rango de tamaño mayor (kDa) tuvieron picos más anchos. Posteriormente, se obtuvo el ratio entre las bandas objetivo y de control endógeno GAPDH. Para 4HNE, se determinó el ratio entre la intensidad total de las bandas del carril de la condición evaluada y la señal de Ponceau, empleada como control endógeno.

F. Análisis de datos

Para el análisis estadístico de los datos, se evaluaron previamente los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza. Aquellos datos que cumplieron con los criterios de normalidad y homocedasticidad fueron analizados mediante pruebas estadísticas paramétricas, empleándose el análisis de varianza de una vía (ANOVA) o la prueba t de Student, según correspondiera.

Por otro lado, los datos que no cumplieron dichos supuestos fueron analizados mediante pruebas no paramétricas. En estos casos, se utilizaron específicamente las pruebas de Kruskal–Wallis y U de Mann–Whitney para la comparación entre grupos experimentales.

VI. RESULTADOS

A. Viabilidad celular

La viabilidad celular se evaluó mediante la técnica de MTT tanto para DIV5 como para DIV14 en el cultivo primario astrocítico, tanto en condiciones de control (sin tratamiento) como tratadas con peróxido de hidrógeno (H_2O_2). El cultivo control DIV5 presentó una viabilidad del 97,7 %, mientras que el tratado con H_2O_2 mostró una marcada reducción en la viabilidad celular. Además, en el DIV14 la viabilidad del grupo control fue de 83,3 %, mientras que las células tratadas con H_2O_2 presentaron una viabilidad significativamente menor ($p < 0.01$) (Figura N°6). De esta manera, se observa, un mayor porcentaje de viabilidad en células no tratadas con respecto a las que recibieron tratamiento con H_2O_2 .

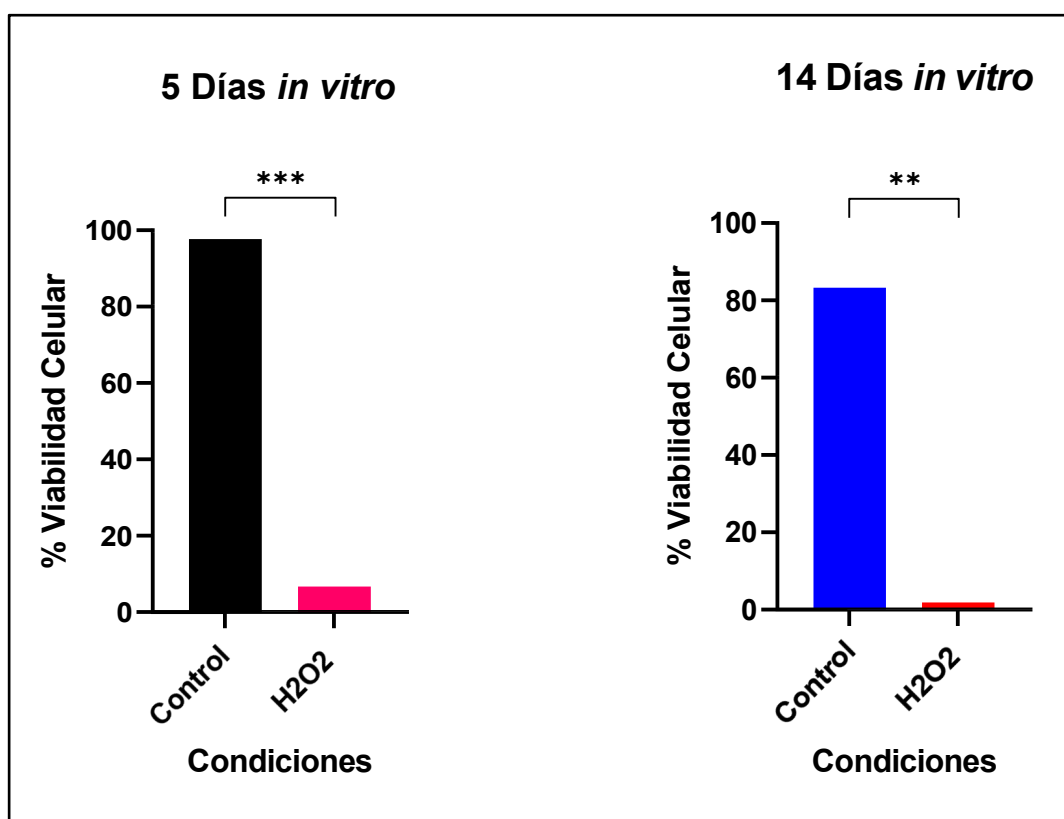


Figura N° 6: Evaluación de la viabilidad celular mediante la técnica de MTT. Se observa, un mayor % de viabilidad celular en células Control (no tratadas) con

respecto a las que recibieron tratamiento con H₂O₂ (Peróxido de Hidrógeno), en ambos tipos de cultivo primario (n=3, réplicas técnicas). Se realizó la prueba de t student se observan diferencias significativas entre los grupos: DIV 5 p<0.0005 (***) y DIV 14 p=0.0113 (**).

B. Determinación del tipo celular en los cultivos primario

En el cultivo correspondiente al DIV 5 (*Figura N.º 7*) se observó una mayor diversidad celular en comparación con el cultivo DIV 14. El análisis morfológico y cuantitativo mostró que, en DIV 5, las células astrocíticas, caracterizadas por su morfología estrellada y marcadas en color verde, representaron el 73,97 % de la población total, mientras que las neuronas, con morfología alargada y marcadas en color rojo, correspondieron al 26,03 %. Esta diferencia fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$). En contraste, el cultivo DIV 14 presentó una población homogénea compuesta exclusivamente por células astrocíticas, sin evidencia de otros tipos celulares, como neuronas (*Figura N.º 7*) lo que confirma su alta pureza. Estos resultados indican que los astrocitos son predominantes respecto a las neuronas en el tiempo analizado.

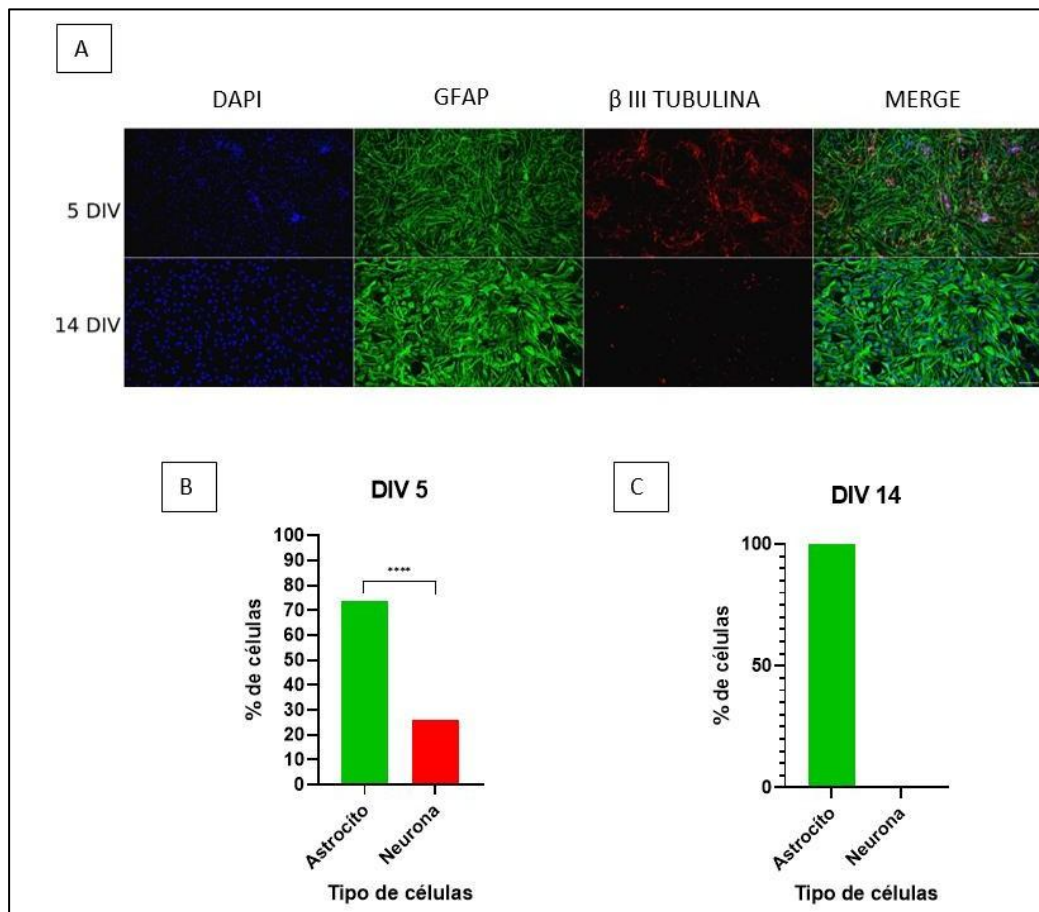


Figura N°7: Diversidad celular en cultivo primario.

A. Se observa la expresión de células astrocíticas (verde) y neuronales (rojo) en cultivos que alcanzaron el día 5 (DIV5) y el día 14 (DIV14) de crecimiento *in vitro*. (B y C). Gráficos de barras que representan el porcentaje de cada tipo celular identificado. Se realizó la prueba t donde se observa diferencias significativas entre los grupos ($P < 0.0001$). Se capturaron imágenes en 10 campos distintos para cada uno de los tres procedimientos realizados en fechas diferentes, obteniéndose un total de 30 imágenes. Barra de escala: 100 μm .

C. Expresión de biomarcadores de estrés celular

Se evaluó la expresión de los biomarcadores de estrés oxidativo Hsp70 y 4-HNE mediante la técnica de western blot en cultivos primarios astrocíticos tratados bajo diferentes condiciones: Control positivo (LPS), antígeno excretorio secretorio (E/S) y antígeno total (T), comparadas con el control negativo (CN) (*Anexos N°1 y 2*). .

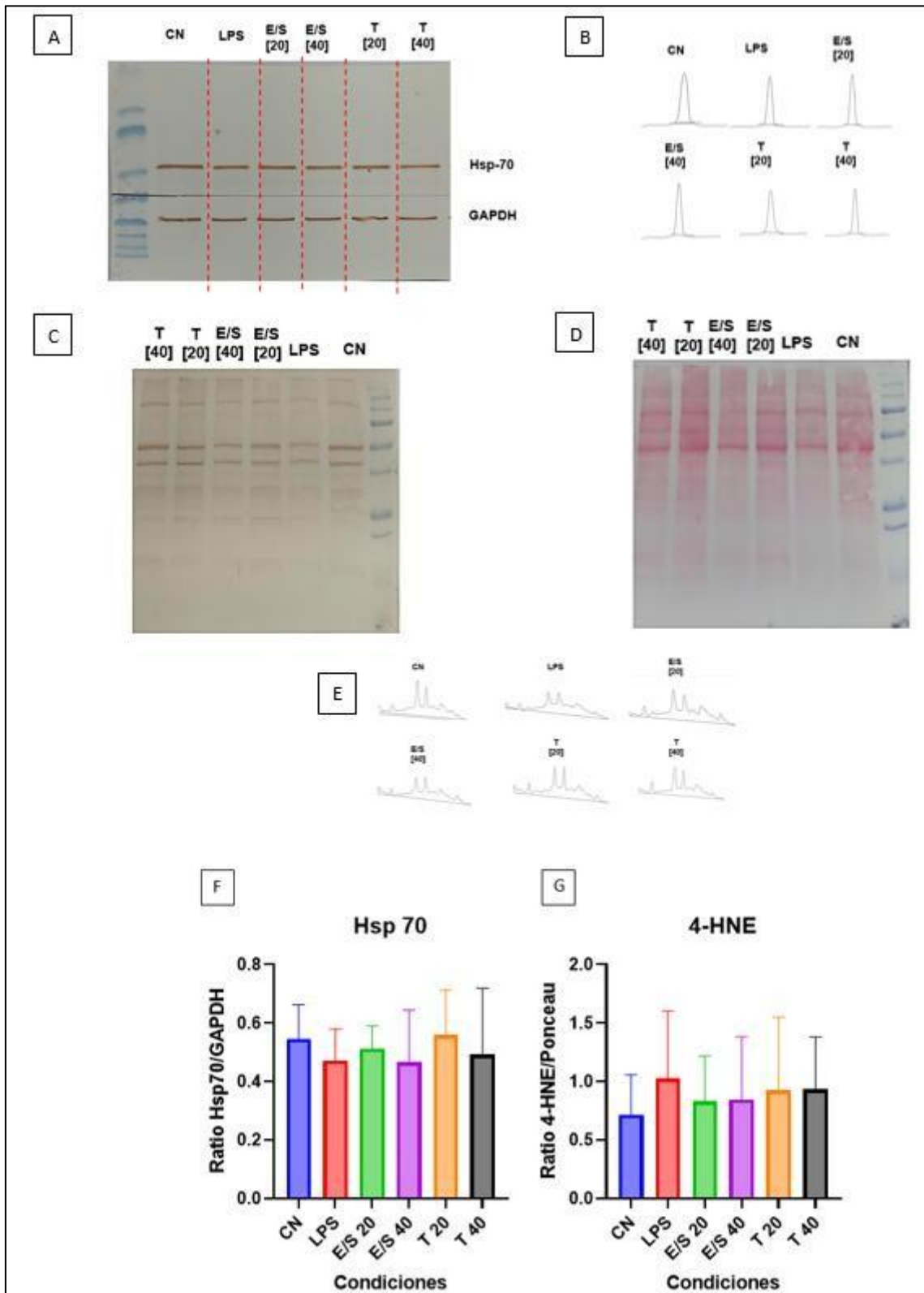


Figura N°8: Evaluación de los niveles de Hsp70 y 4-HNE en cultivos primarios de astrocitos estimulados con antígenos del cisticerco.

A. Western blot representativo que muestra la evaluación de Hsp70 en los diferentes tratamientos: control negativo (CN), lipopolisacárido (LPS), antígenos excretorios/secretores (E/S; 20 y 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y antígenos totales (T; 20 y 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$). GAPDH se utilizó como control de carga. B. Perfiles densitométricos de las bandas de Hsp70 obtenidos para cada tratamiento. C. Western blot representativo de proteínas modificadas por 4-HNE en los diferentes grupos experimentales. D. Tinción con Ponceau S de la membrana que confirma una carga y transferencia proteica homogénea entre las muestras. E. Perfiles densitométricos del patrón de proteínas modificadas por 4-HNE en los distintos tratamientos. F. Se observa el ratio del biomarcador Hsp70/GAPDH en células del cultivo primario astrocítico. G. Se observa el ratio del biomarcador 4-HNE/Ponceau en células del cultivo primario astrocítico. Cabe mencionar que no se mostró significancia en ningún caso evaluado a diferentes condiciones control negativo (CN), control positivo (CP), antígeno excretorio secretorio (E/S) y antígeno Total (T). En total se realizó 5 réplicas biológicas para ambos biomarcadores en diferentes tiempos ($n=5$).

Para Hsp70, el análisis de varianza (ANOVA) no mostró efecto de los tratamientos ($p = 0.89$). No obstante, se observó una ligera tendencia a la disminución en las condiciones tratadas con E/S a 20 y 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (medias de 0.514 y 0.466, respectivamente) en comparación con el CN (*Figura N°8F*).

En el caso de 4-HNE, también se evaluaron las condiciones CP, E/S y Total frente al control negativo. El ANOVA no evidenció diferencias significativas entre los grupos ($p = 0.94$); sin embargo, se observó una tendencia al incremento de la expresión de 4-HNE en las condiciones tratadas con E/S (20 y 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$; medias de 0.83 y 0.84) y con antígeno total (20 y 40 $\mu\text{g}/\text{mL}$; medias de 0.92 y 0.93), respecto al CN (*Figura N°8G*).

VII. DISCUSIÓN

La interacción entre antígenos excretorios-secretorios (E/S) de helmintos y las respuestas celulares del hospedador ha sido documentada como un mecanismo importante de modulación inmunológica. Estudios en *Schistosoma mansoni* demostraron que los ESP (productos excretorios-secretorios) larvarios disminuyen de forma significativa la expresión de HSP70 en hemocitos de *Biomphalaria glabrata*, con diferencias entre cepas resistentes y susceptibles, sugiriendo una modulación dependiente del hospedador [181]. En nuestro modelo, la exposición de cultivos primarios astrocíticos de rata a antígenos E/S y totales de cisticerco del parásito *Taenia solium* durante 24 horas no indujo cambios estadísticamente significativos en los biomarcadores de estrés oxidativo HSP70 y 4-HNE. Sin embargo, se observó una tendencia a la disminución de HSP70, consistente con la fase inicial de supresión descrita en *B. glabrata* expuesta a ESP de *S. mansoni* [181], lo que sugiere que helmintos filogenéticamente distantes podrían compartir mecanismos convergentes de modulación de proteínas de estrés en células del hospedador.

En la literatura se ha demostrado que el lipopolisacárido (LPS) puede inducir tanto la expresión de HSP70 como la generación de productos de peroxidación lipídica como aductos de 4-HNE. No obstante, la magnitud y la persistencia de esta inducción dependen del tipo celular, la dosis empleada y el tiempo de exposición.

En el presente estudio no se observaron diferencias significativas entre el control positivo (LPS) y el control negativo en los biomarcadores de estrés oxidativo evaluados, lo cual sugiere que, bajo las condiciones experimentales

empleadas, el estímulo inflamatorio no generó una respuesta detectable en términos de HSP70 ni acumulación de 4-HNE a las 24 h. Esta ausencia de significancia podría estar relacionada con la limitación de haber evaluado un único tiempo de exposición, sin considerar posibles fases transitorias de inducción, supresión o recuperación compensatoria descritas en otros modelos experimentales.

En relación con HSP70, se ha reportado que su inducción por LPS presenta una marcada dependencia regional y temporal. En un estudio describieron que el LPS incrementa la expresión de HSP70 en corteza cerebral en comparación con médula espinal; sin embargo, dichos niveles no superaron significativamente los valores basales del control sin tratamiento [182], evidenciando una sensibilidad diferencial de las regiones del sistema nervioso central frente a este estímulo. De manera similar, en otra investigación demostraron mediante Western blot que la expresión de HSP70 en pericitos de rata tratados con LPS varía significativamente según la dosis y el tiempo de exposición (10–100 ng/ml, 18 h) [183], indicando que la respuesta inducida puede ser transitoria y no mantenerse en el tiempo. En este contexto, es posible que la evaluación realizada exclusivamente a las 24 h en nuestro modelo no haya coincidido con el pico máximo de expresión de HSP70 descrito en dichos estudios.

Por otro lado, un grupo de investigación demostró que la acumulación de aductos de 4-HNE en tejido cerebral tras la estimulación con LPS es dependiente del tiempo, observándose variaciones en minutos u horas posteriores al estímulo [184]. Estos hallazgos confirman que el LPS es capaz de inducir estrés oxidativo medible a través de 4-HNE, aunque con una

cinética dinámica que no necesariamente se mantiene estable en fases tardías como las 24 h evaluadas en el presente trabajo.

Cabe resaltar que, aunque en nuestro estudio no se evidenciaron diferencias en los marcadores de estrés oxidativo, el LPS empleado como control positivo ha sido previamente validado por nuestro grupo de investigación, donde se demostró que induce significativamente la expresión de IL-1 β en cultivos primarios astrocíticos [186], confirmando su capacidad para activar vías inflamatorias. Esto sugiere que la activación inflamatoria inducida por LPS no necesariamente se traduce en un incremento sostenido o detectable de marcadores de estrés oxidativo, ya que ambos procesos pueden diferir en magnitud y cinética dependiendo del modelo celular y de las condiciones experimentales. En conjunto, estos antecedentes permiten interpretar que la ausencia de diferencias significativas entre el control positivo y negativo en este estudio podría estar relacionada con la temporalidad y la dinámica propia de los biomarcadores evaluados, más que con una ineficacia del estímulo biológico.

La falta de inducción significativa de HSP70 también guarda coherencia con observaciones previas en lesiones axonales de neurocisticercosis, donde esta proteína no se mostró como un marcador dominante ni consistentemente expresado en comparación con otros indicadores de daño como SOD1 o neurofilamentos [185]. En dichos estudios, los esferoides axonales inmunorreactivos a HSP70 fueron escasos, lo que sugiere un rol secundario o limitado de esta proteína en la respuesta al daño neuronal en la infección por *T. solium* [185]. Esta coincidencia refuerza la hipótesis de que, aunque HSP70 constituye un sensor universal de estrés, su expresión en estudios con

parásitos podría estar modulada negativamente o ser compensada por mecanismos antioxidantes alternativos.

Una posible explicación adicional a la ausencia de acumulación significativa de biomarcadores oxidativos en nuestros cultivos radica en la activación concomitante de vías protectoras en astrocitos. Investigaciones previas de nuestro grupo demostraron que los antígenos E/S del cisticerco de *T. solium* y el LPS (control positivo) inducen un incremento significativo de IL-1 β en cultivos primarios astrocíticos [186]. Dicha citocina ha sido descrita como un modulador de la homeostasis redox, al promover en astrocitos la síntesis de glutatión dependiente de NF- κ B, aumentando así la resistencia frente a agresiones oxidativas [187,188]. De este modo, la elevación de IL-1 β inducida por antígenos parasitarios podría atenuar la acumulación de biomarcadores de estrés oxidativo como HSP70 y 4-HNE, actuando como un mecanismo compensatorio de protección celular, en concordancia con lo reportado en modelos experimentales donde IL-1 β regula la producción de GSH y protege tanto a astrocitos como a neuronas del daño oxidativo [187–189].

Adicionalmente, debe considerarse la intrínseca resistencia de los astrocitos al estrés oxidativo. Estudios comparativos han mostrado que estas células mantienen sus funciones neuroprotectoras incluso bajo condiciones de agresión severa, preservando la homeostasis cerebral frente a distintos tipos de estrés [190,191]. Esta capacidad adaptativa podría explicar la ausencia de una respuesta exacerbada de estrés oxidativo en nuestro modelo. Asimismo, el papel central del glutatión como antioxidante maestro en la neutralización de especies reactivas y aldehídos lipídicos como el 4-HNE [192] apoya la

hipótesis de que su inducción mediada por IL-1 β constituye una vía crítica de defensa en astrocitos expuestos a antígenos de *T. solium*.

En conjunto, aunque los resultados obtenidos no evidencian cambios estadísticamente significativos en HSP70 ni 4-HNE, la evidencia previa confirma que el LPS puede inducir ambos marcadores bajo determinadas condiciones experimentales. Además, estudios realizados en cultivos primarios de astrocitos de ratas recién nacidas han demostrado que este modelo es adecuado para evaluar la interacción entre HSP70, aldehídos lipídicos reactivos como 4-HNE y mecanismos antioxidantes celulares [193,194]. En este sentido, el uso de astrocitos derivados de crías o el tiempo de desarrollo celular no constituirían una limitación relevante para la evaluación de respuestas asociadas al estrés oxidativo en células gliales.

Por tanto, la ausencia de cambios significativos en el presente estudio probablemente refleja diferencias en la cinética de respuesta y en los mecanismos compensatorios celulares, más que una falta de capacidad del estímulo biológico para activar vías de estrés oxidativo.

VIII. CONCLUSIÓN

1. La viabilidad celular del cultivo se mantuvo alta entre el día 5 (DIV 5) y el día 14 (DIV 14) de crecimiento *in vitro*, mostrando una ligera disminución de la viabilidad celular en el tiempo.
2. En el día 14 (DIV14) de crecimiento *in vitro* se obtuvo un cultivo celular compuesto exclusivamente por astrocitos, confirmando la obtención de una población celular pura.

3. Los niveles del biomarcador Hsp70 en astrocitos de cerebro de rata cultivados en presencia de antígenos excretorios/secretorios (E/S) o antígenos totales del cisticerco de *Taenia solium* no mostró diferencias estadísticamente significativas en comparación con el grupo control.
4. De manera similar, los niveles del biomarcador 4-HNE en astrocitos expuestos a antígenos E/S o totales del cisticerco de *T. solium* no evidenció cambios estadísticamente significativos respecto al control.

IX. LIMITACIONES

La determinación de la expresión de los biomarcadores asociados al estrés oxidativo se efectuó en un solo intervalo de tiempo (24 horas), lo cual podría no reflejar adecuadamente posibles modificaciones en etapas iniciales o posteriores de la respuesta celular. Además, la investigación consideró únicamente dos biomarcadores, por lo que la incorporación de un conjunto más amplio de indicadores permitiría obtener una evaluación más detallada y representativa del perfil de estrés oxidativo generado por los antígenos del parásito.

X. RECOMENDACIONES

Se recomienda desarrollar modelos de co-cultivo entre neuronas, astrocitos y microglías para reproducir de manera más adecuada las interacciones celulares del sistema nervioso central. Asimismo, sería importante evaluar distintas fracciones de antígenos excretorios/secretorios y totales del cisticerco de *Taenia solium*, con el fin de identificar de forma más específica sus efectos biológicos. Además, se sugiere ampliar el panel de biomarcadores de estrés oxidativo y considerar diferentes tiempos de exposición (3, 6, 12, 72 y 96 h) para analizar

con mayor detalle la respuesta de citoquinas en cultivos primarios cerebrales. Finalmente, la incorporación de la técnica de inmunofluorescencia permitiría complementar y fortalecer la evaluación de los cambios celulares observados.

XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fabiani S, Bruschi F. Neurocysticercosis in Europe: still a public health concern not only for imported cases. *Acta Trop.* 2013; 128: 18–26. DOI: 10.1016/j.actatropica.2013.06.020
2. De Lange A, Mahanty S, Raimondo JV. Model systems for investigating disease processes in neurocysticercosis. *Parasitology.* 2018; Nov 15:1-10. DOI: 10.1017/S0031182018001932
3. Bobes R.J, Fragoso G, Fleury A, Garcia-Varela M, Sciutto E, et al. Evolution, molecular epidemiology and perspectives on the research of taeniid parasites with special emphasis on *Taenia solium*. *Infect. Genet. Evol.* 2014; 23: 150–160. DOI: 10.1016/j.meegid.2014.02.005
4. Conn DB, Swiderski Z. A standardised terminology of the embryonic envelopes and associated developmental stages of tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda). *Folia Parasitol (Praha).* 2008; 55(1):42–52. DOI: 10.14411/fp.2008.006
5. Yamashita P, Kelsey J, Henderson S. SUBCUTANEOUS CYSTICERCOSIS. *The Journal of Emergency Medicine.* 1998; 16(4):583–586. DOI: 10.1016/s0736-4679(98)00039-0

6. Hancock K., Pattabhi S., Greene R. Yushak L. Et al. Characterization and cloning of GP50, a *Taenia solium* antigen diagnostic for cysticercosis. *Mol. Biochem. Parasitol.* 2004; 133:115–124. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2003.10.001
7. Garcia HH. Neurocysticercosis. *Neurol Clin.* 2018;36(4):851-864. DOI: 10.1016/j.ncl.2018.07.003
8. Loukas A., Hotez P. J., Diemert D., Yazdanbakhsh M., McCarthy J. S., Correa-Oliveira R., et al. Hookworm infection. *Nat. Rev. Dis. Primers.* 2016; 2, 1–18. DOI: 10.1038/nrdp.2016.88
9. Eichenberger R. M., Talukder M. H., Field M. A., Wangchuk P., Giacomini P., Loukas A., et al. Characterization of *Trichuris muris* secreted proteins and extracellular vesicles provides new insights into host-parasite communication. *J. Extracell Vesicles.* 2018; 7 (1), 1–16. DOI: 10.1080/20013078.2018.1428004
10. Wangchuk P, Shepherd C, Constantinoiu C, Ryan RYM, Kouremenos KA, Becker L, Jones L, Buitrago G, Giacomini P, Wilson D, Daly N, McConville MJ, Miles JJ, Loukas A. Hookworm-Derived Metabolites Suppress Pathology in a Mouse Model of Colitis and Inhibit Secretion of Key Inflammatory Cytokines in Primary Human Leukocytes. *Infect Immun.* 2019; 25;87. DOI: 10.1128/IAI.00851-18
11. Maizels RM, Smits HH, McSorley HJ. Modulation of Host Immunity by Helminths: The Expanding Repertoire of Parasite Effector Molecules. *Immunity.* 2018; 20;49(5):801-818. DOI: 10.1016/j.immuni.2018.10.016

12. Buck A. H., Coakley G., Simbari F., McSorley H. J., Quintana J. F., Le Bihan T., et al. Exosomes secreted by nematode parasites transfer small RNAs to mammalian cells and modulate innate immunity. *Nat. Commun.* 2014; 5, 1–11. DOI: 10.1038/ncomms6488
13. Smyth D. J., Harcus Y., White M. P. J., Gregory W. F., Nahler J., Stephens I., et al. TGF-beta mimic proteins form an extended gene family in the murine parasite *heligmosomoides polygyrus*. *Int. J. Parasitol.* 2018; 48 (5), 379–385. DOI: 10.1016/j.ijpara.2017.12.004
14. Flynn A. F., Joyce M. G., Taylor R. T., Bennuru S., Lindrose A. R., Sterling S. L., et al. Intestinal UDP-glucuronosyltransferase as a potential target for the treatment and prevention of lymphatic filariasis. *PloS Negl. Trop. Dis.* 2019; 13 (9), 1–25. DOI: 10.1371/journal.pntd.0007687
15. Wangchuk, P., Yeshi, K. & Loukas, A. Metabolomics and lipidomics studies of parasitic helminths: molecular diversity and identification levels achieved by using different characterisation tools. *Metabolomics.* 2023; 19, 63. DOI: 10.1007/s11306-023-02019-5
16. Prodjinotho UF, Lema J, Lacorcía M, Schmidt V, Vejzagic N, et al. Host immune responses during *Taenia solium* Neurocysticercosis infection and treatment. *PLOS Neglected Tropical Diseases.* 2020; 14(4). DOI: 10.1371/journal.pntd.0008005
17. Arora N, Keshri AK, Kaur R, Rawat SS, Kumar R, et al. *Taenia solium* excretory secretory proteins (ESPs) suppresses TLR4/AKT mediated ROS formation in human macrophages via hsa-miR-125. *PLOS Neglected Tropical Diseases.* 2023; 17(12). DOI:

10.1371/journal.pntd.0011858

18. Shepherd C, Aitken A, McManus P. A protein secreted in vivo by *Echinococcus granulosus* inhibits elastase activity and neutrophil chemotaxis. *Mol. Biochem. Parasitol.* 1991; 44: 81–90. DOI: 10.1016/0166-6851(91)90223-s
19. Hancock K, Khan A, Williams B, Yushak L. et al. Characterization of the 8-kilodalton antigens of *Taenia solium* metacestodes and evaluation of their use in an enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41:2577–2586. DOI: 10.1128/JCM.41.6.2577-2586.2003
20. Rigano R, Profumo E, Bruschi F, Carulli G. et al., Modulation of human immune response by *Echinococcus granulosus* antigen B and its possible role in evading host defenses. *Infect. Immun.* 2001; 69: 288–296. DOI: 10.1128/IAI.69.1.288-296.2001
21. Dametto E. Histopathology of the Human Brain in Neurocysticercosis. *J Mol Histol Med Physiol.* 2016; 1(1):106.
22. Ochoa-Sanchez A, Jiménez L, Landa A. The Hamster Model for Identification of Specific Antigens of *Taenia solium* Tapeworms. *Hindawi Publishing Corporation Journal of Biomedicine and Biotechnology.* 2011;1-9. DOI: 10.1155/2011/504959
23. Burns KA, Murphy B, Danzer SC, et al. Developmental and post-injury cortical gliogenesis: A Genetic fate-mapping study with Nestin-CreER mice. *Glia.* 2009; 57(10): 1115–29. DOI: 10.1002/glia.20835

24. Kelley KW, en Haim L, chirmer L, et al. Kir4.1-Dependent Astrocyte-Fast Motor Neuron Interactions Are Required for Peak Strength. *Neuron*. 2018; 98(2): 306-319. DOI: 10.1016/j.neuron.2018.03.010
25. Magavi S, Friedmann D, Banks G, et al. Coincident generation of pyramidal neurons and protoplasmic astrocytes in neocortical columns. *J Neurosci*. 2012; 32(14): 4762–72. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3560-11.2012
26. Levison SW, Goldman JE. Both oligodendrocytes and astrocytes develop from progenitors in the subventricular zone of postnatal rat forebrain. *Neuron*. 1993; 10(2): 201–12. DOI: 10.1016/0896-6273(93)90311-e
27. Sure VN, Sakamuri SSVP, Sperling JA, Evans WR, Merdzo I, Mostany R, Murfee WL, Busija DW, Katakam PVG. A novel high-throughput assay for respiration in isolated brain microvessels reveals impaired mitochondrial function in the aged mice. *Geroscience*. 2018;40(4):365-375. DOI: 10.1007/s11357-018-0037-8
28. Holmström, K.M.; Finkel, T. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 2014; 15, 411–421. DOI: 10.1038/nrm3801
29. Kong, H.; Chandel, N.S. Regulation of redox balance in cancer and T cells. *J. Biol. Chem*. 2018; 293, 7499–7507. DOI: 10.1074/jbc.TM117.000257
30. Zhang, L.; Wang, X.; Cueto, R.; Effi, C.; Zhang, Y.; Tan, H.; Qin, X.; Ji, Y.; Yang, X.; Wang, H. Biochemical basis and metabolic interplay

- of redox regulation. *Redox Biol.* 2019; 26. DOI:
10.1016/j.redox.2019.101284
31. Ray, P.D.; Huang, B.W.; Tsuji, Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. *Cell Signal.* 2012; 24, 981–990. DOI: 10.1016/j.cellsig.2012.01.008
32. Islam MT. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction-linked neurodegenerative disorders. *Neurol Res.* 2017; 39:73-82. DOI: 10.1080/01616412.2016.1251711
33. Chen KY, Chiu CH, Wang LC. Anti-apoptotic effects of Sonic hedgehog signalling through oxidative stress reduction in astrocytes co-cultured with excretory-secretory products of larval *Angiostrongylus cantonensis*. *Sci Rep.* 2017; 7:41574. DOI: 10.1038/srep41574
34. Othman, A. A., et al. "Biochemical and histopathological changes in experimentally infected mice with *Toxocara canis*." *Journal of the Egyptian Society of Parasitology.* 2010; 40(2), 411-422.
35. Fleury, A., Cardenas, G., Adalid-Peralta, L., Fragoso, G., & Sciutto, E. Immunopathology in *Taenia solium* neurocysticercosis. *Parasite immunology.* 2016; 38(3), 147-157. DOI: 10.1111/pim.12299
36. Cabezas R, El-Bacha RS, Gonzalez J, Barreto GE. Mitochondrial functions in astrocytes: neuroprotective implications from oxidative damage by rotenone. *Neurosci Res.* 2012; 74:80-90. DOI: 10.1016/j.neures.2012.07.008
37. Fernandez-Fernandez S, Almeida A, Bolanos JP. Antioxidant and

- bioenergetic coupling between neurons and astrocytes. *Biochem J.* 2012; 443:3-11. DOI: 10.1042/BJ20111943
38. Sofroniew MV, Vinters HV. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol.* 2010; 119:7-35. DOI: 10.1007/s00401-009-0619-8
39. Tacconi MT. Neuronal death: ¿is there a role for astrocytes? *Neurochem Res.* 1998; 23:759-765. DOI: 10.1023/a:1022463527474
40. Szyller, J.; Bil-Lula, I. Heat Shock Proteins in Oxidative Stress and Ischemia/Reperfusion Injury and Benefits from Physical Exercises: A Review to the Current Knowledge. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2021; 6678457. DOI: 10.1155/2021/6678457
41. Olufunmilayo, E.O.; Gerke-Duncan, M.B.; Holsinger, R.M.D. Oxidative Stress and Antioxidants in Neurodegenerative Disorders. *Antioxidants* 2023; 12, 517. DOI: 10.3390/antiox12020517
42. Yamamoto, M.; Kensler, T.W.; Motohashi, H. The KEAP1-NRF2 System: A Thiol-Based Sensor-Effector Apparatus for Maintaining Redox Homeostasis. *Physiol. Rev.* 2018; 98, 1169–1203. DOI: 10.1152/physrev.00023.2017
43. Rosenzweig, R.; Nillegoda, N.B.; Mayer, M.P.; Bukau, B. The Hsp70 chaperone network. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2019; 20, 665–680. DOI: 10.1038/s41580-019-0133-3
44. Belenichev IF, Aliyeva OG, Popazova OO and Bukhtiyarova NV. Involvement of heat shock proteins HSP70 in the mechanisms of endogenous neuroprotection: the prospect of using HSP70 modulators.

Front. Cell. Neurosci. 2023; 17:1131683. DOI:
10.3389/fncel.2023.1131683

45. Kalmar, B.; Greensmith, L. Induction of heat shock proteins for protection against oxidative stress. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2009; 61,310–318. DOI: 10.1016/j.addr.2009.02.003
46. Watanabe S, Ageta-Ishihara N, Nagatsu S, Takao K, Komine O, Endo F, Miyakawa T, Misawa H, Takahashi R, Kinoshita M, Yamanaka K. SIRT1 overexpression ameliorates a mouse model of SOD1-linked amyotrophic lateral sclerosis via HSF1/HSP70i chaperone system. *Mol Brain.* 2014 Aug 29; 7:62. DOI: 10.1186/s13041-014-0062-1
47. Xu L, Voloboueva LA, Ouyang Y, Emery JF, Giffard RG. Overexpression of mitochondrial Hsp70/Hsp75 in rat brain protects mitochondria, reduces oxidative stress, and protects from focal ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2009 Feb;29(2):365-74. DOI: 10.1038/jcbfm.2008.125
48. Breitzig, M.; Bhimineni, C.; Lockey, R.; Kolliputi, N. 4-Hydroxy-2-nonenal: ¿A critical target in oxidative stress? *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2016; 311, C537–C543. DOI: 10.1152/ajpcell.00101.2016
49. Chaudhary, P.; Sharma, R.; Sharma, A.; Vatsyayan, R.; Yadav, S.; Singhal, S.S.; Rauniyar, N.; Prokai, L. Mechanisms of 4-hydroxy-2-nonenal induced pro- and anti-apoptotic signaling. *Biochemistry* 2010; 49, 6263–6275. DOI: 10.1021/bi100517x
50. Jaganjac, M.; Cindrić, M.; Jakovčević, A.; Žarković, K.; Žarković, N. Lipid peroxidation in brain tumors. *Neurochem. Int.* 2021; 149,

105118. DOI: 10.1016/j.neuint.2021.105118

51. Reyes-Jiménez, E.; Ramírez-Hernández, A.A.; Santos-Álvarez, J.C.; Velázquez-Enríquez, J.M.; Pina-Canseco, S.; Baltiérrez-Hoyos, R.; Vásquez-Garzón, V.R. Involvement of 4-hydroxy-2-nonenal in the pathogenesis of pulmonary fibrosis. *Mol. Cell Biochem.* 2021; 476, 4405–4419. DOI: 10.1007/s11010-021-04244-9
52. José Pedro Castro, Tobias Jung, Tilman Grune, Werner Siems. 4-Hydroxynonenal (HNE) modified proteins in metabolic diseases. *Free Radical Biology and Medicine.* 2017; 309-315. DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2016.10.497
53. Carbone, D.L.; Doorn, J.A.; Kiebler, Z.; Sampey, B.P.; Petersen, D.R. Inhibition of Hsp72-mediated protein refolding by 4-hydroxy-2-nonenal. *Chem. Res. Toxicol.* 2004; 17, 1459–1467. DOI: 10.1021/tx049838g
54. Yang HJ, Hu R, Sun H, Bo Chen, Li X, Chen JB. 4-HNE induces proinflammatory cytokines of human retinal pigment epithelial cells by promoting extracellular efflux of HSP70. *Exp Eye Res.* 2019; 188:107792. DOI: 10.1016/j.exer.2019.107792
55. Bernal T. Edson. Evaluation of oxidative stress and neuronal damage in an experimental rat model of neurocysticercosis with epilepsy. Master's thesis. Cayetano Heredia University, Peru: 2023.
56. Botero D, Restrepo M. Parasitosis humanas. 4ta edición. Colombia. Fondo Editorial de la Corporación para Investigaciones Biológicas. 2003; p506.

57. Willms K, Vargas-Parada L, Laclette JP. Biología del parásito. En: Larralde C, de Aluja AS eds. Cisticercosis guía para profesionales de la salud. México: Biblioteca de la Salud. 2006. p 19-40.
58. Soulsby E. Parasitología y enfermedades parasitarias 7ª ed. México: Interamericana. 1987; p. 823
59. Quiroz H. Cestodos. En: Cordero Del Campillo M, Rojo Vázquez F eds. Parasitología veterinaria. España. McGraw-Hill-Interamericana. 1999; p 105-112.
60. Cordero Del Campillo M, Hidalgo Argüello M. Cisticercosis. En: Cordero Del Campillo M, Rojo Vázquez F eds. Parasitología veterinaria. España. McGrawHill-Interamericana. 1999; p 493-495.
61. Reyes H. Cisticercosis. En: Atias A, eds. Parasitología clínica. 3ra edición. Chile. Publicaciones Técnicas Mediterráneo. 1991; p 355-359.
62. Tato P, Molinari J. Teniosis y cisticercosis. En: Becerril M, eds. Parasitología médica, de las moléculas a la enfermedad. México. Edamsa Impresiones S.A. de C.V. 2004; p 131-135.
63. Pawlowski Z. Taenia solium: Basic biology and Transmission. En: Gagandeep S, Prabhakar S, eds. Taenia solium Cysticercosis from basic to clinical science. USA: CABI Publishing. 2002; p 1- 14. DOI: 10.1079/9780851996288.0001
64. Yoshino K. Experimental studies on the formation of the scolex of Taenia solium. Journal of Medical Association of Formosa 32. 1933. 169-171.
65. Acha P, Szyfres B. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al

- hombre y a los animales III. 3^a ed. Washington DC: OPS. 2003; p 413.
66. Prodjinotho UF, Lema J, Lacorcía M, Schmidt V, Vejzagic N, Sikasunge C, Ngowi B, Winkler AS, Prazeres da Costa C. Host immune responses during *Taenia solium* Neurocysticercosis infection and treatment. *PLoS Negl Trop Dis*. 2020 Apr 16;14(4):e0008005. DOI: 10.1371/journal.pntd.0008005.
67. Victor B, Kanobana K, Gabriël S, Polman K, Deckers N, Dorny P, Deelder AM, Palmblad M. Proteomic analysis of *Taenia solium* metacestode excretion-secretion proteins. *Proteomics*. 2012 Jun;12(11):1860-9. DOI: DOI: 10.1002/pmic.201100496
68. Hancock, K., Khan, A., Williams, F. B., Yushak, M. L. et al., Characterization of the 8-kilodalton antigens of *Taenia solium* metacestodes and evaluation of their use in an enzyme-linked immunosorbent assay for serodiagnosis. *J. Clin. Microbiol*. 2003; 41: 2577–2586. DOI: 10.1128/JCM.41.6.2577-2586.2003
69. Shepherd, J. C., Aitken, A., McManus, D. P., A protein secreted in vivo by *Echinococcus granulosus* inhibits elastase activity and neutrophil chemotaxis. *Mol. Biochem. Parasitol*. 1991; 44: 81–90. DOI: DOI: 10.1016/0166-6851(91)90223-s
70. Rigano, R., Profumo, E., Bruschi, F., Carulli, G. et al., Modulation of human immune response by *Echinococcus granulosus* antigen B and its possible role in evading host defenses. *Infect. Immun*. 2001; 69: 288–296. DOI: DOI: 10.1128/IAI.69.1.288-296.2001
71. Vargas-Parada, L., Laclette, J. P., Gene structure of *Taenia solium*

- paramyosin. *Parasitol. Res.* 2003; 89: 375–378. DOI: 10.1007/s00436-002-0761-x
72. Santivanez, S. J., Hernández-González, A., Chile, N., Oleaga, A. et al., Proteomic study of activated *Taenia solium* oncospheres. *Mol. Biochem. Parasitol.* 2010; 171: 32–39. DOI: 10.1016/j.molbiopara.2010.01.004
73. Campos, A., Bernard, P., Fauconnier, A., Landa, A. et al., Cloning and sequencing of two actin genes from *Taenia solium* (Cestoda). *Mol. Biochem. Parasitol.* 1990; 40: 87–93. DOI: 10.1016/0166-6851(90)90082-w
74. Ferrer, E., Gonzalez, L. M., Foster-Cuevas, M., Cortés, M. M. et al., *Taenia solium*: characterization of a small heat shock protein (Tsol-sHSP35.6) and its possible relevance to the diagnosis and pathogenesis of neurocysticercosis. *Exp. Parasitol.* 2005; 110: 1–11. DOI: 10.1016/j.exppara.2004.11.014
75. Salazar-Anton, F., Lindh, J., *Taenia solium*: a two-dimensional Western blotting method combined with the use of an ESTlibrary for the identification of immunogenic proteins recognized by sera from neurocysticercosis patients. *Exp. Parasitol.* 2011; 128: 371–376. DOI: 10.1016/j.exppara.2011.05.010
76. Castellanos-Gonzalez, A., Jiménez, L., Landa, A., Cloning, production and characterisation of a recombinant Cu/Zn superoxide dismutase from *Taenia solium*. *Int. J. Parasitol.* 2002; 32: 1175–1182. DOI: 10.1016/s0020-7519(02)00093-0

77. Nguyen, H. A., Bae, Y.-A., Lee, E.-G., Kim, S.-H. et al., A novel sigma-like glutathione transferase of *Taenia solium* metacestode. *Int. J. Parasitol.* 2010; 40: 1097–1106. DOI: 10.1016/j.ijpara.2010.03.007
78. Vaca-Paniagua, F., Parra-Unda, R., Landa, A., Characterization of one typical 2-Cys peroxiredoxin gene of *Taenia solium* and *Taenia crassiceps*. *Parasitol. Res.* 2009; 105: 781–787. DOI: 10.1007/s00436-009-1461-6
79. Vaca-Paniagua, F., Torres-Rivera, A., Parra-Unda, R., Landa, A., *Taenia solium*: antioxidant metabolism enzymes as targets for cestocidal drugs and vaccines. *Curr. Top. Med. Chem.* 2008; 8: 393–399. DOI: 10.2174/156802608783790857
80. White, A. C., Jr, Baig, S., Chappell, C. L., Characterization of a cysteine proteinase from *Taenia crassiceps* cysts. *Mol. Biochem. Parasitol.* 1997; 85: 243–253. DOI: 10.1016/S0166-6851(96)02839-3
81. Mendlovic, F., Ostoa-Saloma, P., Solís, C. F., Martínez-Ocana, J. et al., Cloning, characterization, and functional expression of *Taenia solium* calreticulin. *J. Parasitol.* 2004; 90: 891–893. DOI: 10.1645/GE-3325RN
82. Nava, G., Laclette, J. P., Bobes, R., Carrero, J. C. et al., Cloning, sequencing and functional expression of cytosolic malate dehydrogenase from *Taenia solium*: purification and characterization of the recombinant enzyme. *Exp. Parasitol.* 2011; 128: 217–224. DOI: 10.1016/j.exppara.2011.03.008
83. Rodríguez-Contreras, D., Skelly, P. J., Landa, A., Shoemaker, C. B. et al., Molecular and functional characterization and tissue localization of 2

- glucose transporter homologues (TGTP1 and TGTP2) from the tapeworm *Taenia solium*. *Parasitology* 1998; 117: 579–588. DOI: 10.1017/s003118209800345x
84. Tsai, I., Zarowiecki, M., Holroyd, N. et al. The genomes of four tapeworm species reveal adaptations to parasitism. *Nature* 496, 57–63 (2013). DOI: 10.1038/nature12031
85. Dametto E. Histopathology of the Human Brain in Neurocysticercosis. *J Mol Histol Med Physiol*. 2016; 1(1):106.
86. Siracusa R, Fusco R and Cuzzocrea S. Astrocytes: role and functions in brain pathologies. *Front. Pharmacol.* 2019; 10:1114. DOI: 10.3389/fphar.2019.01114
87. Fabiani S, Bruschi F. Neurocysticercosis in Europe: Still a public health concern not only for imported cases. *Acta Trop.* 2013 Oct;128(1):18-26. DOI: 10.1016/j.actatropica.2013.06.020.
88. Conn DB, Swiderski Z. A standardised terminology of the embryonic envelopes and associated developmental stages of tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda). *Folia Parasitol (Praha)*. 2008; 55(1): 42–52. DOI: 10.14411/fp.2008.006
89. Prevention C-C for DC. CDC - Cysticercosis - Resources for Health Professionals. 2019.
90. Gripper LB, Welburn SC. The causal relationship between neurocysticercosis infection and the development of epilepsy - a systematic review. *Infect Dis Poverty*. 2017; 6:31. DOI: 10.1186/s40249-

017-0245-y

91. García, H.H., Gonzáles, A.E., Rodríguez, S., Gonzalves, G., Llanos-Zavalaga F, Tsang, V.C.W. Gilman, R.H. Epidemiología y control de la cisticercosis en el Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*. 2010; 27(4), 592-597. DOI: 10.17843/rpmesp.2010.274.1533
92. Valentín-Rodríguez, Aymara, Hernández-Fuentes, Adalberto, & Rodríguez-Roque, María Octavina. (2024). Neurocisticercosis infantil. A propósito de un caso. *Revista Médica Electrónica*, 46, . Epub 03 de junio de 2024.
93. Toquero M, Morocoima A, Ferrer E. Seroprevalencia y factores de riesgo de cisticercosis en dos comunidades rurales del norte del estado Anzoátegui, Venezuela. *Biomédica* [Internet]. 2017 DOI: <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i2.2841>
94. Del Brutto OH, Garcia E, Talamas O & Sotelo J. Sex-related severity of inflammation in parenchymal brain cysticercosis. *Arch Intern Med*. 1988; 148: 544 – 546. DOI: 10.1001/archinte.148.3.544
95. Saavedra, H., Gonzales, I., Alvarado, M. A., Porras, M. A., Vargas, V., Cjuno, R. A., Martinez, S. M. Diagnóstico y manejo de la neurocisticercosis en el Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*. 2010; 27: 586-591. DOI:10.1590/S1726-46342010000400015
96. Del Brutto OH, Santibanez R, Idrovo L. Epilepsy and neurocysticercosis in Atahualpa: a door-to-door survey in rural coastal Ecuador. *Epilepsia*.

2005; 46: 583–587. DOI: 10.1111/j.0013-9580.2005.36504.x

97. Allen JE, Maizels RM. Diversity and dialogue in immunity to helminths. *Nat Rev Immunol.* 2011; 11:375–88. DOI: 10.1038/nri2992
98. Jackson JA, Friberg IM, Little S, Bradley JE. Review series on helminths, immune modulation and the hygiene hypothesis: immunity against helminths and immunological phenomena in modern human populations: coevolutionary legacies. *Immunology* .2009; 126:18–27. DOI: 10.1111/j.1365-2567.2008.03010.x
99. Alghanmi, M., Minshawi, F., Altorki, T.A. et al. Helminth-derived proteins as immune system regulators: a systematic review of their promise in alleviating colitis. *BMC Immunol.* 2024; 25:21. DOI: 10.1186/s12865-024-00614-2
100. Zakeri A. Helminth-induced apoptosis: a silent strategy for immunosuppression. *Parasitology.* 2017; 144:1663–76. DOI: 10.1017/S0031182017000841
101. Harris NL, Loke P. Recent advances in Type-2-cell-mediated immunity: insights from helminth infection. *Immunity.* 2017; 47:1024–36. DOI: 10.1016/j.immuni.2017.11.015
102. Haerberlein S, Obieglo K, Ozir-Fazalalikhhan A, Chaye' MAM, Veninga H, van der Vlugt LEPM, et al. Schistosome egg antigens, including the glycoprotein IPSE/alpha-1, trigger the development of regulatory B cells. *PLoS Pathog.* 2017; 13(7). DOI: 10.1371/journal.ppat.1006539

103. Sulaiman AA, Zolnierczyk K, Japa O, Owen JP, Maddison BC, Emes RD, Hodgkinson JE, Gough KC, Flynn RJ. A Trematode Parasite Derived Growth Factor Binds and Exerts Influences on Host Immune Functions via Host Cytokine Receptor Complexes. *PLoS Pathog.* 2016 Nov 2;12(11). DOI: 10.1371/journal.ppat.1005991
104. Verma A, Prasad KN, Cheekatla SS, Nyati KK, Paliwal VK, Gupta RK. Immune response in symptomatic and asymptomatic neurocysticercosis. *Med Microbiol Immunol.* 2011; 200(4): 255–61. DOI: 10.1007/s00430-011-0198-x
105. Flisser A, Gonzalez D, Plancarte A, Ostrosky P, Montero R, Stephano A, et al. Praziquantel treatment of brain and muscle porcine *Taenia solium* cysticercosis. 2. Immunological and cytogenetic studies. *Parasitol Res.* 1990; 76 (7):640–2. DOI: 10.1007/BF00932580
106. Laclette JP, Shoemaker CB, Richter D, Arcos L, Pante N, Cohen C, et al. Paramyosin inhibits complement C1. *J Immunol.* 1992;148(1):124–8. DOI:10.4049/jimmunol.148.1.124
107. Leid RW, Grant RF, Suquet CM. Inhibition of neutrophil aggregation by taeniaestatin, a cestode proteinase inhibitor. *Int J Parasitol.* 1987;17 (7): 1349–53. DOI: 10.1016/0020-7519(87)90102-0
108. Palma S, Chile N, Carmen-Orozco RP, Trompeter G, Fishbeck K, Cooper V, Rapoport L, Bernal-Teran EG, Condori BJ, Gilman RH, Verastegui MR; Cysticercosis Working Group in Peru. In vitro model of postoncosphere development, and in vivo infection abilities of *Taenia solium* and *Taenia saginata*. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019 Mar 14; 13(3).

DOI: 10.1371/journal.pntd.0007261

109. White AC Jr., Molinari JL, Pillai AV, Rege AA. Detection and preliminary characterization of *Taenia solium* metacestode proteases. *J Parasitol.* 1992; 78 (2): 281–7. DOI: 10.2307/3283475
110. Villegas M, Sciutto E, Rosetti M, Fleury A, Fragoso G. Association of TRAF1/C5 Locus Polymorphisms with Epilepsy and Clinical Traits in Mexican Patients with Neurocysticercosis. *Infect Immun.* 2019; 87(12). DOI: 10.1128/IAI.00347-19
111. Molinari JL, Tato P, Lara-Aguilera R, White AC Jr. Effects of serum from neurocysticercosis patients on the structure and viability of *Taenia solium* oncospheres. *J Parasitol.* 1993; 79(1):124–7.
112. Garcia E, Sotelo J. A new complement fixation test for the diagnosis of neurocysticercosis in cerebrospinal fluid. *J Neurol.* 1991; 238(7):379–82. DOI: 10.1007/BF00319856
113. Chavarria A, Roger B, Fragoso G, Tapia G, Fleury A, Dumas M, et al. TH2 profile in asymptomatic *Taenia solium* human neurocysticercosis. *Microbes Infect.* 2003; 5(12):1109–15. DOI: 10.1016/s1286-4579(03)00206-5
114. Monteiro L, Almeida-Pinto J, Stocker A, Sampaio-Silva M. Active neurocysticercosis, parenchymal and extraparenchymal: a study of 38 patients. *J Neurol.* 1993;241(1):15–21. DOI: 10.1007/BF00870666
115. Del Brutto OH, Salgado P, Lama J, Del Brutto VJ, Campos X, Zambrano M, et al. Calcified neurocysticercosis associates with

- hippocampal atrophy: a population-based study. *Am J Trop Med Hyg.* 2015; 92(1):64–8. DOI: 10.4269/ajtmh.14-0453
116. Singh AK, Singh SK, Singh A, Gupta KK, Khatoon J, Prasad A, et al. Immune response to *Taenia solium* cysticerci after anti-parasitic therapy. *Int J Parasitol.* 2015; 45(12): 749–59. DOI: 10.1016/j.ijpara.2015.05.007
117. Restrepo BI, Alvarez JI, Castano JA, Arias LF, Restrepo M, Trujillo J, et al. Brain granulomas in neurocysticercosis patients are associated with a Th1 and Th2 profile. *Infect Immun.* 2001; 69(7): 4554–60. DOI: 10.1128/IAI.69.7.4554-4560.2001
118. Chavarria A, Fleury A, Garcia E, Marquez C, Fragoso G, Sciutto E. Relationship between the clinical heterogeneity of neurocysticercosis and the immune-inflammatory profiles. *Clin Immunol.* 2005; 116(3): 271–8. DOI: 10.1016/j.clim.2005.04.008
119. Tharmalingam J, Prabhakar aT, Gangadaran P, Dorny P, Vercruyssen J, Geldhof P, Rajshekhar V, Alexander M, Oommen A. Host Th1/Th2 immune response to *Taenia solium* cyst antigens in relation to cyst burden of neurocysticercosis. *Parasite Immunol.* 2016 Oct; 38(10): 628-34. DOI: 10.1111/pim.12351
120. Xiong XY, Liu L, Yang QW. Functions and mechanisms of microglia/macrophages in neuroinflammation and neurogenesis after stroke. *Prog Neurobiol.* 2016; 142: 23–44. DOI: 10.1016/j.pneurobio.2016.05.001
121. Hu X, Leak RK, Shi Y, Suenaga J, Gao Y, Zheng P, et al.

Microglial and macrophage polarization-new prospects for brain repair.
Nat Rev Neurol. 2015; 11: 56–64. DOI: 10.1038/nrneurol.2014.207

122. Skoff RP. Gliogenesis in rat optic nerve: astrocytes are generated in a single wave before oligodendrocytes. *Dev. Biol.* 1990; 139:149–68. DOI: 10.1016/0012-1606(90)90285-q
123. Plog BA, Nedergaard M. The glymphatic system in central nervous system health and disease: past, present, and future. *Annu Rev Pathol.* 2018; 13: 379–94. DOI: 10.1146/annurev-pathol-051217-111018
124. Iliff JJ, Wang M, Liao Y, Plogg BA, Peng W, Gundersen GA, et al. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid beta. *Sci. Transl. Med.* 2012; 4. DOI: 10.1126/scitranslmed.3003748
125. Santello M, Cali C, Bezzi P. Gliotransmission and the tripartite synapse. *Adv Exp Med Biol.* 2012; 970: 307–31. DOI: 10.1007/978-3-7091-0932-8_14
126. Zamanian JL, Xu L, Foo LC, Nouri N, Zhou L, Giffard RG, et al. Genomic analysis of reactive astrogliosis. *J Neurosci.* 2012; 32: 6391–410. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.6221-11.2012
127. Liddelow SA, Barres BA. Reactive astrocytes: production, function, and therapeutic potential. *Immunity.* 2017; 46: 957–67. DOI: 10.1016/j.immuni.2017.06.006
128. Bechmann I, Galea I, Perry VH. What is the blood-brain barrier (not)? *Trends Immunol.* 2007; 28: 5–11. DOI: 10.1016/j.it.2006.11.007

129. Farina C, Aloisi F, Meinl E. Astrocytes are active players in cerebral innate immunity. *Trends Immunol.* 2007; 28: 138–45. DOI: 10.1016/j.it.2007.01.005
130. Klein RS, Hunter CA. Protective and pathological immunity during central nervous system infections. *Immunity.* 2017; 46: 891–909. DOI: 10.1016/j.immuni.2017.06.012
131. Çenesiz S. El papel de los parámetros oxidantes y antioxidantes en las enfermedades infecciosas: una revisión sistemática de la literatura. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 2020;26:849–858. DOI: 10.9775/kvfd.2020.24618.
132. Maldonado E., Rojas DA, Morales S., Miralles V., Solari A. Roles duales y opuestos de las especies reactivas de oxígeno (ROS) en la enfermedad de Chagas: beneficiosos para el patógeno y perjudiciales para el huésped. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2020;2020:8867701. DOI: 10.1155/2020/8867701.
133. Szewczyk-Golec K., Pawłowska M., Wesołowski R., Wróblewski M., Mila-Kierzenkowska C. El estrés oxidativo como posible objetivo en el tratamiento de la toxoplasmosis: perspectivas y ambigüedades. *Int. J. Mol. Ciencia.* 2021;22:5705. DOI: 10.3390/ijms22115705.
134. Gabriel Á., Valério-Bolas A., Palma-Marques J., Mourata-Gonçalves P., Ruas P., Dias-Guerreiro T., Santos-Gomes G. Leishmaniasis cutánea: la complejidad de la respuesta inmune eficaz del huésped contra una enfermedad parasitaria polimórfica. *J. Inmunol. Res.* 2019;2019:2603730. DOI: 10.1155/2019/2603730.

135. Pohanka M. Rol del estrés oxidativo en enfermedades infecciosas. Una revisión. *Folia Microbiol.* 2013;58:503–513. DOI: 10.1007/s12223-013-0239-5.
136. Rahal A., Kumar A., Singh V., Yadav B., Tiwari R., Chakraborty S., Dhama K. Estrés oxidativo, prooxidantes y antioxidantes: su interacción. *Biomed. Res. Int.* 2014;2014:761264. DOI: 10.1155/2014/761264.
137. Becker K., Tilley L., Vennerstrom JL, Roberts D., Rogerson S., Ginsburg H. Estrés oxidativo en eritrocitos infectados por el parásito de la malaria: interacciones huésped-parásito. *Int. J. Parasitol.* 2004;34:163–189. DOI: 10.1016/j.ijpara.2003.09.011.
138. He L., He T., Farrar S., Ji L., Liu T., Ma X. Los antioxidantes mantienen la homeostasis redox celular mediante la eliminación de especies reactivas de oxígeno. *Cell. Physiol. Biochem.* 2017;44:532–553. DOI: 10.1159/000485089.
139. Rossi M., Fasel N. ¿Cómo controlar el sistema inmunitario del huésped? ¿Los parásitos de *Leishmania* tienen la solución! *Int. Immunol.* 2018;30:103–111. DOI: 10.1093/intimm/dxx075.
140. Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid Med Cell Longev.* 2014;2014:360438. DOI: 10.1155/2014/360438.
141. Forman HJ. Especies reactivas de oxígeno y aldehídos alfa, beta-insaturados como segundos mensajeros en la transducción de señales.

Ann NY Acad Sci 1203: 35–44, 2010.

142. Jinsmaa Y, Florang VR, Rees JN, Anderson DG, Strack S, Doorn JA. Los productos del estrés oxidativo inhiben las vías de oxidación y reducción de aldehídos en el catabolismo de la dopamina, lo que produce niveles elevados de un intermediario reactivo. *Chem Res Toxicol* 22: 835–841, 2009.
143. Dalleau S, Baradat M, Guéraud F, Huc L. Cell death and diseases related to oxidative stress: 4-hydroxynonenal (HNE) in the balance. *Cell Death Differ.* 2013 Dec;20(12):1615-30. DOI: 10.1038/cdd.2013.138.
144. Forman HJ, Fukuto JM, Miller T, Zhang H, Rinna A, Levy S. La química de la señalización celular mediante especies reactivas de oxígeno y nitrógeno y 4-hidroxinonenal. *Arch Biochem Biophys* 477: 183–195, 2008.
145. Yoritaka A, Hattori N, Uchida K, Tanaka M, Stadtman ER, Mizuno Y. Immunohistochemical detection of 4-hydroxynonenal protein adducts in Parkinson disease. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996 Apr 2;93(7):2696-701. DOI: 10.1073/pnas.93.7.2696.
146. Zhong H, Yin H. Role of lipid peroxidation derived 4-hydroxynonenal (4-HNE) in cancer: focusing on mitochondria. *Redox Biol.* 2015;4:193-9. DOI: 10.1016/j.redox.2014.12.011.
147. Schaur RJ, Siems W, Bresgen N, Eckl PM. 4-Hydroxy-nonenal-A Bioactive Lipid Peroxidation Product. *Biomolecules.* 2015 Sep 30;5(4):2247-337. DOI: 10.3390/biom5042247.

148. Azzu V, Parker N, Brand MD. High membrane potential promotes alkenal-induced mitochondrial uncoupling and influences adenine nucleotide translocase conformation. *Biochem J.* 2008 Jul 15;413(2):323-32. DOI: 10.1042/BJ20080321.
149. Camara AK, Lesnefsky EJ, Stowe DF. Potential therapeutic benefits of strategies directed to mitochondria. *Antioxid Redox Signal.* 2010 Aug 1;13(3):279-347. DOI: 10.1089/ars.2009.2788.
150. Giffard RG, Yenari MA. Many mechanisms for hsp70 protection from cerebral ischemia. *J Neurosurg Anesthesiol.* 2004 Jan;16(1):53-61. DOI: 10.1097/00008506-200401000-00010.
151. Evans CG, Chang L, Gestwicki JE. Heat shock protein 70 (hsp70) as an emerging drug target. *J Med Chem.* 2010 Jun 24;53(12):4585-602. DOI: 10.1021/jm100054f.
152. Rosenzweig R., Nillegoda NB, Mayer MP, Bukau B. (2019). The HSP70 chaperone network. *Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.* 20 665–680. DOI: 10.1038/s41580-019-0133-3
153. Kim JY, Han Y, Lee JE, Yenari MA. The 70-kDa heat shock protein (Hsp70) as a therapeutic target for stroke. *Expert Opin Ther Targets.* 2018 Mar;22(3):191-199. DOI: 10.1080/14728222.2018.1439477.
154. Nitika, Porter CM, Truman AW, Truttmann MC (2020). Posttranslational modifications of Hsp70 family proteins: Expanding the chaperone code. *J. Biol. Chem.* 295 10689–10708. DOI: 10.1074/jbc.REV120.011666

155. Dukay B., Csoboz B., Tóth ME (2019). Heat shock proteins in neuroinflammation. *Front. Pharmacol.* 10:920. DOI: 10.3389/fphar.2019.00920
156. Leu JI, Barnoud T., Zhang G., Tian T., Wei Z., Herlyn M., et al. (2017). Inhibition of stress-inducible HSP70 impairs proteostasis and mitochondrial function. *Oncotarget* 8 45656–45669. DOI: 10.18632/oncotarget.17321
157. Gibbs, R.A. et al. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. *Nature.* 2004; 428: 493-521. DOI: 10.1038/nature02426
158. Waterston, R.H. et al. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature.* 2002; 420: 520-62. DOI: 10.1038/nature01262
159. Cowley, A.W., Jr., Liang, M., Roman, R.J., Greene, A.S. & Jacob, H.J. Consomic rat model systems for physiological genomics. *Acta Physiol Scand.* 2004; 181: 585-92. DOI: 10.1111/j.1365-201X.2004.01334.x
160. Kwitek-Black, A.E. & Jacob, H.J. The use of designer rats in the genetic dissection of hypertension. *Curr Hypertens Rep.* 2001; 3: 12-8. DOI: 10.1007/s11906-001-0072-0
161. Stein GS, et al. *Human Stem Cell Technology and Biology: A Research Guide and Laboratory Manual.* Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey. 2011.

162. Freshney, RI. Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique, 6th Ed. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey. 2010. DOI:10.1002/9780470649367
163. Zhang J, Yang H, Wu J, Zhang D, Wang Y, Zhai J. Recent progresses in novel in vitro models of primary neurons: A biomaterial perspective. *Front Bioeng Biotechnol.* 2022; 17. DOI: 10.3389/fbioe.2022.953031
164. Schildge S, Bohrer C, Beck K, Schachtrup C. Isolation and culture of mouse cortical astrocytes. *J Vis Exp.* 2013 Jan 19;(71):50079.
165. Thacker, J. S., Andersen, D., Liang, S., Zieniewicz, N., Trivino-Paredes, J. S., Nahirney, P. C., & Christie, B. R. Unlocking the brain: A new method for Western blot protein detection from fixed brain tissue. *Journal of Neuroscience Methods.* 2020.
166. Phifer, C. B., & Terry, L. M. Use of hypothermia for general anesthesia in preweanling rodents. *Physiology & Behavior.* 1986; 38(6): 887–890
167. Hong Lian, Ethan Roy, and Hui Zheng. Protocol for Primary Microglial Culture Preparation. *Bio Protoc.* 2016; 6(21). DOI: 10.21769/BioProtoc.198
168. Ni, M., & Aschner, M. Neonatal Rat Primary Microglia: Isolation, Culturing, and Selected Applications. *Current Protocols in Toxicology.* 2010. DOI: 10.1002/0471140856.tx1217s4
169. Di Benedetto, B. (Ed.). Astrocytes. *Methods in Molecular Biology.*

2019. DOI: 10.1007/978-1-4939-9068-

170. Schildge, S., Bohrer, C., Beck, K., Schachtrup, C. Isolation and Culture of Mouse Cortical Astrocytes. *J. Vis. Exp.* (71). DOI: 10.3791/50079
171. Canedo L, Laclette J. P., Morales E, “Evagination of the metacestode of *T. solium*,” in *Cysticercosis; Present State of Knowledge and Perspectives*. Academic Press, New York.1982;36. DOI: 10.1056/NEJM19960905335101
172. Tuero I, Palma S, Cabeza F, Saleemi S, Rodriguez S, Gonzales I, et al. A Comparative Study of Peripheral Immune Responses to *Taenia solium* in Individuals with Parenchymal and Subarachnoid Neurocysticercosis. *PLoS Negl Trop.*2015;9(10). DOI: 10.1371/journal.pntd.0004143
173. Palma S, Chile N, Carmen-Orozco RP, Trompeter G, Fishbeck K, Cooper V, et al. In vitro model of postoncosphere development, and in vivo infection abilities of *Taenia solium* and *Taenia saginata*. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019 Mar 14;13(3):e0007261. DOI:10.1371/journal.pntd.0007261.
174. Kamiloglu, S., Sari, G., Ozdal, T., & Capanoglu, E. (2020). Guidelines for cell viability assays. *Food Frontiers*, 1(3), 332–349. DOI:10.1002/fft2.44
175. Gebara, Elias; Udry, Florian; Sultan, Sébastien; Toni, Nicolas. Taurine increases hippocampal neurogenesis in aging mice. *Stem Cell Research*, 2015; 14(3): 369–379. DOI: 10.1016/j.scr.2015.04.001

176. Li Z, Li X, Jian W, Xue Q, Liu Z. Roles of Long Non-coding RNAs in the Development of Chronic Pain. *Front Mol Neurosci*. 2021 Nov 23;14:760964. DOI: 10.3389/fnmol.2021.76096
177. Onizawa H, Kato H, Kimura H, Kudo T, Soda N, Shimizu S, Funabiki M, Yagi Y, Nakamoto Y, Priller J, Nishikomori R, Heike T, Yan N, Tsujimura T, Mimori T, Fujita T. Aicardi-Goutières syndrome-like encephalitis in mutant mice with constitutively active MDA5. *Int Immunol*. 2021 Mar 31;33(4):225-240. DOI: 10.1093/intimm/dxaa07
178. Chiazza F, Pintana H, Lietzau G, Nyström T, Patrone C, Darsalia V. The Stroke-Induced Increase of Somatostatin-Expressing Neurons is Inhibited by Diabetes: A Potential Mechanism at the Basis of Impaired Stroke Recovery. *Cell Mol Neurobiol*. 2021 Apr;41(3):591-603. DOI: 10.1007/s10571-020-00874-7
179. Lai C, Liao B, Peng S, Fang P, Bao N, Zhang L. Synovial fibroblast-miR-214-3p-derived exosomes inhibit inflammation and degeneration of cartilage tissues of osteoarthritis rats. *Mol Cell Biochem*. 2023 Mar;478(3):637-649. DOI: 10.1007/s11010-022-04535-9.
180. Gorman-Sandler E, Robertson B, Crawford J, Wood G, Ramesh A, Arishe OO, Webb RC, Hollis F. Gestational stress decreases postpartum mitochondrial respiration in the prefrontal cortex of female rats. *Neurobiol Stress*. 2023 Aug 14;26:100563. DOI: 10.1016/j.ynstr.2023.100563.
181. Zahoor Z, Davies AJ, Kirk RS, Rollinson D, Walker AJ. Larval excretory-secretory products from the parasite *Schistosoma mansoni*

modulate HSP70 protein expression in defence cells of its snail host, *Biomphalaria glabrata*. *Cell Stress Chaperones*. 2010 Sep;15(5):639-50. doi: 10.1007/s12192-010-0176-z.

182. Clarke BE, Gil RS, Yip J, Kalmar B, Greensmith L. Regional differences in the inflammatory and heat shock response in glia: implications for ALS. *Cell Stress Chaperones*. 2019;24(5):857–70. doi:10.1007/s12192-019-01005-y. PMID: 31168740; PMCID: PMC6717175.
183. Edelman DA, Jiang Y, Tyburski JG, Wilson RF, Steffes CP. Lipopolysaccharide up-regulates heat shock protein expression in rat lung pericytes. *J Surg Res*. 2007;140(2):171–6. doi:10.1016/j.jss.2006.12.560. PMID: 17509261.
184. Zheng R, Dragomir AC, Mishin V, Richardson JR, Heck DE, Laskin DL, Laskin JD. Differential metabolism of 4-hydroxynonenal in liver, lung and brain of mice and rats. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2014;279(1):43–52. doi:10.1016/j.taap.2014.04.026. PMID: 24832492; PMCID: PMC4167069.
185. Mejia Maza A, Carmen-Orozco RP, Carter ES, Dávila-Villacorta DG, Castillo G, Morales JD, Mamani J, Gavídia CM, Alroy J, Sterling CR, Gonzalez AE, García HH, Woltjer RL, Verástegui MR, Gilman RH; Cysticercosis Working Group in Peru. Axonal swellings and spheroids: a new insight into the pathology of neurocysticercosis. *Brain Pathol*. 2019 May;29(3):425-436. DOI: 10.1111/bpa.12669.
186. Gonzales K. [Tesis de maestría]. Expresión de citoquinas en

cultivos primarios de cerebro de rata expuestos a antígenos de *Taenia solium*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2024.

187. He Y, Jackman NA, Thorn TL, Vought VE, Hewett SJ. Interleukin-1 β protects astrocytes from oxidant-induced injury via a glutathione-dependent mechanism. *J Neurochem*. 2013;124(3):426-435.
188. Jackman NA, Uliasz TF, Hewett JA, Hewett SJ. Regulation of system x(c)(-) activity and expression in astrocytes by interleukin-1 β : implications for hypoxic neuronal injury. *Glia*. 2010 Nov 15;58(15):1806-15. DOI: 10.1002/glia.21050.
189. Hewett SJ, Jackman NA, Claycomb RJ. Interleukin-1 β in central nervous system injury and repair. *Eur J Neurodegener Dis*. 2012;1(2):195-211.
190. Bhatia TN, Pant DB, Eckhoff EA, Gongaware RN, Do T, Hutchison DF, Gleixner AM, Leak RK. Astrocytes Do Not Forfeit Their Neuroprotective Roles After Surviving Intense Oxidative Stress. *Front Mol Neurosci*. 2019 Apr 5;12:87. DOI: 10.3389/fnmol.2019.00087.
191. Gleixner AM, Pulugulla SH, Pant DB, Posimo JM, Crum TS, Leak RK. Astrocytes survive and proliferate in severe oxidative stress: implications for neurodegenerative disorders. *J Neurochem*. 2016;137(3):483-495.
192. Esterbauer H, Schaur RJ, Zollner H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radic Biol Med*. 1991;11(1):81-128. DOI: 10.1016/0891-5849(91)90192-6.

193. Ahmed I, John A, Vijayasathy C, Robin MA, Raza H. Differential modulation of growth and glutathione metabolism in cultured rat astrocytes by 4-hydroxynonenal and green tea polyphenol, epigallocatechin-3-gallate. *Neurotoxicology*. 2002 Sep;23(3):289-300. DOI: 10.1016/s0161-813x(02)00042-6.
194. Ouyang YB, Xu LJ, Sun YJ, Giffard RG. Overexpression of inducible heat shock protein 70 and its mutants in astrocytes is associated with maintenance of mitochondrial physiology during glucose deprivation stress. *Cell Stress Chaperones*. 2006 Summer;11(2):180-6. DOI: 10.1379/csc-182r.1.

ANEXOS

A	CN	LPS	E/S 20	E/S 40	T 20	T 40
	0.46	0.44	0.54	0.62	0.52	0.39
	0.68	0.62	0.53	0.17	0.49	0.47
	0.63	0.33	0.44	0.44	0.66	0.67
	0.56	0.53	0.62	0.57	0.76	0.75
	0.39	0.43	0.44	0.53	0.36	0.18

B	Shapiro-Wilk test	CN	LPS	E/S 20	E/S 40	T 20	T 40
	W	0.9601	0.9759	0.894	0.8604	0.9762	0.9652
	P value	0.809	0.9115	0.3778	0.2298	0.9131	0.8437
	Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
	P value summary	ns	ns	ns	ns	ns	ns

C	ANOVA summary	
	F	0.3136
	P value	0.8999
	P value summary	ns
	Significant diff. among means (P < 0.05)?	No
	R squared	0.06133
	Brown-Forsythe test	
	F (DFn, DFd)	0.8055 (5, 24)
	P value	0.557
	P value summary	ns
	Are SDs significantly different (P < 0.05)?	No
	Bartlett's test	
	Bartlett's statistic (corrected)	5.09
	P value	0.4051
	P value summary	ns
	Are SDs significantly different (P < 0.05)?	No

Anexo N°1: Evaluación estadística del biomarcador Hsp70 en cultivo primario astrocitico inducido por cada condición CN, LPS, E/S y T. A. La tabla muestra los datos del ratio Hsp70/GAPDH de las 4 condiciones. Se realizó 5 réplicas biológicas en diferentes tiempos (n=5). B. Evaluación de la normalidad usando la prueba de Shapiro-Wilk, todos los grupos cumplen la normalidad. C. No existen diferencias significativas en las medianas (P>0.05) mediante la prueba de ANOVA.

A						
	CN	LPS	E/S 20	E/S 40	T 20	T 40
	0.514	1.735	0.523	0.401	0.472	0.509
	0.557	0.829	0.653	1.09	0.934	1.229
	1.191	1.02	1.287	0.994	0.911	1.026
	0.376	0.198	0.481	0.201	0.35	0.439
	0.948	1.348	1.21	1.529	1.945	1.463

B						
Shapiro-Wilk test	CN	LPS	E/S 20	E/S 40	T 20	T 40
W	0.9062	0.9883	0.8193	0.9469	0.8707	0.9113
P value	0.4451	0.9733	0.1154	0.7153	0.2693	0.4756
Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes	Yes
P value summary	ns	ns	ns	ns	ns	ns

C	
ANOVA summary	
F	0.2275
P value	0.9469
P value summary	ns
Significant diff. among means (P < 0.05)?	No
R squared	0.04525
Brown-Forsythe test	
F (DFn, DFd)	0.2200 (5, 24)
P value	0.9504
P value summary	ns
Are SDs significantly different (P < 0.05)?	No
Bartlett's test	
Bartlett's statistic (corrected)	1.992
P value	0.8503
P value summary	ns
Are SDs significantly different (P < 0.05)?	No

Anexo N°2: Evaluación estadística del biomarcador 4-HNE en cultivo primario astrocitico inducido por cada condición CN, LPS, E/S, T. A. La tabla muestra los datos del ratio 4-HNE/Ponceau de las 4 condiciones. Se realizó 5 réplicas biológicas en diferentes tiempos (n=5). B. Evaluación de la normalidad usando la prueba de Shapiro-Wilk, todos los grupos cumplen la normalidad. C. No existen diferencias significativas en las medianas (P>0.05) mediante la prueba de ANOVA.