



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN
DE CITOQUINAS PRO Y ANTI-
INFLAMATORIAS MEDIANTE RT-
QPCR, EN CULTIVOS PRIMARIOS
ASTROCÍTICOS Y MIXTOS
(NEURONAS/GLIAS) INCUBADOS CON
ANTÍGENOS E/S Y TOTALES DEL
ESTADIO DE CISTICERCO DE TAENIA
SOLIUM

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAESTRO EN INMUNOLOGÍA

KEVIN JORDANO GONZALES
MALPARTIDA

LIMA – PERÚ

2025

ASESOR

DRA. MANUELA RENEE VERASTEGUI PIMENTEL

JURADO DE TESIS

DR. DENIS HELAN CASTILLO PAREJA

PRESIDENTE

MG. LEANDRO HUAYANAY FALCONI

VOCAL

MG. WILLY MANUEL CERON TELLO

SECRETARIO

DEDICATORIA.

Este proyecto está dedicado a mi familia, pilar fundamental en cada etapa de mi vida.

A mis padres, por acompañarme siempre: a mi madre, por su aliento constante para alcanzar y concluir mis objetivos, y a mi padre, por la confianza depositada en mis decisiones.

A mi hermana y a mis sobrinos, quienes son una fuente diaria de inspiración para seguir adelante.

A mi compañero de vida, por caminar a mi lado en este desafiante camino de la ciencia y animarme a no rendirme.

AGRADECIMIENTOS.

En primer lugar, expreso mi profundo agradecimiento a la doctora Manuela Verástegui, quien fue no solo una mentora, sino también una segunda madre en mi formación profesional.

Asimismo, al doctor Guillermo, por su guía académica y por inspirarme a perseverar en el camino de la ciencia.

A mis colegas Edith Málaga, Danitza Dávila y Jessy Condori, quienes me orientaron en la aplicación de las técnicas de este proyecto.

A mis compañeros Brenda Palacios, Claudia Palacios y Octavio zapata, cuyo acompañamiento y colaboración fueron fundamentales para el desarrollo del trabajo.

Finalmente, a todo el equipo del Laboratorio de Enfermedades Infecciosas, por su

invaluable apoyo y por permitirme compartir experiencias con profesionales excepcionales que contribuyeron a la culminación de este proyecto.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO.

La conclusión de este proyecto fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (CONCYTEC) a través de su Programa Nacional de Investigación Científica y de Estudios Avanzados (PROCIENCIA) apoyando la realización de este trabajo - Número de contrato: PE501084487-

2023.



DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Los egresados:

N°	APELLIDOS Y NOMBRES
1.	GONZALES MALPARTIDA KEVIN JORDANO

Pertencientes al programa de la **MAESTRÍA EN INMUNOLOGÍA**, autores del trabajo titulado: **DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE CITOQUINAS PRO Y ANTI-INFLAMATORIAS MEDIANTE RT-QPCR, EN CULTIVOS PRIMARIOS ASTROCÍTICOS Y MIXTOS (NEURONAS/GLIAS) INCUBADOS CON ANTÍGENOS E/S Y TOTALES DEL ESTADIO DE CISTICERCO DE TAENIA SOLIUM**, el cual ha sido elaborado, sustentado y aprobado, según corresponda, para optar por el grado de **MAESTRO EN INMUNOLOGIA** 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 RENE	EPGVAC	MAESTRÍA

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 **9%**, según el reporte emitido por el software Turnitin® (identificador de entrega: **2784145247**; fecha de entrega: **17-10-2025**).
- 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, 10 de octubre de 2025

Firma del asesor
N° DNI: 08604175
ORCID: 0000-0002-7500-1353

Firma del Co-asesor

N° DNI:
ORCID:

ÍNDICE

RESUMEN
ABSTRACT

I.	INTRODUCCION	1
II.	OBJETIVOS	7
III.	HIPÓTESIS	8
IV.	MARCO TEÓRICO	8
V.	METODOLOGÍA	37
VI.	RESULTADOS O ARGUMENTACIÓN TEÓRICA	49
VII.	DISCUSIONES	56
VIII.	LIMITACIONES	59
IX.	CONCLUSIONES	60
X.	RECOMENDACIONES	61
XI.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62
XII.	ANEXOS	

RESUMEN

La neurocisticercosis (NCC) es una infección parasitaria del sistema nervioso central (SNC) causada por la forma larval de *Taenia solium*. Esta enfermedad provoca una respuesta inflamatoria que se intensifica cuando el parásito muere, y se asocia con la epilepsia de los pacientes. El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la expresión de citoquinas pro y antiinflamatorias en cultivos primarios de astrocitos y mixtos (neuronas/glías) de cerebro de rata expuestos a antígenos de cisticerco de *T. solium*. Se usaron cultivos primarios de astrocitos y mixtos (neuronas/glías) postnatales de ratas de 3 días, incubados durante 24 horas con antígenos Excretor/Secretor (E/S) y Totales. La expresión de citoquinas (IL-10, IL-1 β , TGF β -1) se evaluó mediante RT-qPCR, para lo cual se extrajo el RNAm de las células incubadas. Los resultados mostraron un incremento significativo en la expresión de IL-10 e IL-1 β en ambos tipos de cultivo primario. Sin embargo, se observó una disminución en la expresión de la citoquina TGF β -1 en cultivo primario mixto evaluando la misma condición. Por otro lado, el antígeno Total indujo una mayor expresión de la citoquina IL-1 β en cultivo primario astrocítico. En conclusión, los resultados sugieren que los antígenos E/S del cisticerco podrían asociarse con una tendencia hacia la respuesta inmunoreguladora mixta de ambas citoquinas (IL-10 e IL-1 β), diferente al antígeno Total que muestra un perfil proinflamatorio. Se requieren más evaluaciones para confirmar esta observación. Estos hallazgos sientan una base para futuras investigaciones acerca del papel de las citoquinas en la inmunoregulación asociada a la NCC en un modelo murino.

PALABRAS CLAVE: Neurocisticercosis, *Taenia solium*, Citoquinas, Cultivo primario astrocítico, Antígenos excretor/secretor, RT-qPCR.

ABSTRACT

Neurocysticercosis (NCC) is a parasitic infection of the central nervous system (CNS) caused by the larval stage of *Taenia solium*. This disease triggers an inflammatory response that intensifies upon parasite death and is associated with epilepsy in affected patients. This study aimed to evaluate the expression of pro- and anti-inflammatory cytokines in primary cultures of rat astrocytes and mixed neuronal/glial cells exposed to *T. solium* cysticercus antigens.

Primary cultures of astrocytes and mixed neuronal/glial cells were obtained from three-day-old neonatal rats and incubated for 24 hours with Excretory/Secretory (E/S) and Total cysticercus antigens. Cytokine expression (IL-10, IL-1 β , TGF β -1) was assessed by RT-qPCR after extracting mRNA from the treated cells.

The results showed a significant increase in IL-10 and IL-1 β expression in both types of primary cultures. However, there was a decrease in TGF β -1 expression observed in the mixed primary culture under the same condition. In addition, the Total antigen induced higher IL-1 β expression in the primary astrocyte culture.

In conclusion, these results suggest that the E/S cysticercus antigens may be associated with a tendency toward a mixed immunoregulatory response involving both IL-10 and IL-1 β , in contrast to the Total antigen, which appears to promote a more pro-inflammatory profile. Further studies are needed to confirm this observation. These findings provide a foundation for future research into the role of cytokines in the immunoregulation associated with NCC in a murine model.

KEYWORDS: Neurocysticercosis, *Taenia solium*, cytokines, primary astrocyte culture, Excretory/Secretory antigens, RT-qPCR.

INTRODUCCIÓN

La Neurocisticercosis (NCC) es causada por el estadio larval del cisticerco del helminto *Taenia solium* y es considerada actualmente una de las enfermedades parasitarias más prevalentes del sistema nervioso central (SNC). La NCC presenta una mayor incidencia en América <Latina, África, Sudeste Asiático, India, China y Nepal [1]. La falta de saneamiento y la contaminación de los alimentos con heces que contienen huevos de *T. solium* son las principales causas de contagio de la enfermedad. El parásito en mención presenta un ciclo de vida complejo y consta de dos hospedadores: el cerdo como hospedero intermedio y el humano como hospedero definitivo. En el intestino humano se logra desarrollar la forma adulta del parásito (teniasis), que elimina proglótidos grávidos que contienen huevos, los cuales constituyen el estadio infectante para el cerdo y el humano [2].

La magistral manipulación de la evasión inmunológica del hospedero por los helmintos refleja su exitosa capacidad de supervivencia a través de sofisticados mecanismos de evasión. Entre los más representativos se encuentran los antígenos E/S. Los helmintos excretan o secretan (E/S) proteínas que modulan la respuesta inmune del hospedero, pero a su vez estas proteínas pueden generar una respuesta inflamatoria frente al parásito. Utilizan productos E/S para evadir la respuesta inmunitaria del huésped, y permanecer en el hospedero meses o años, logrando así infecciones crónicas [3-5]. Estos productos E/S incluyen proteínas, péptidos, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos [6], que inducen tolerancia inmune tanto local como sistémica al interactuar directamente

con el sistema inmunológico. Algunas moléculas de productos E/S son homólogas a las del huésped y modulan la respuesta inmune al imitar proteínas o miRNA relevantes para la inmunidad del huésped [7-9]. Además, una investigación proporcionó una revisión exhaustiva de los estudios de metabolómica y lipidómica en helmintos parásitos, destacando la diversidad molecular y los niveles de identificación alcanzados mediante diversas herramientas de caracterización. Los autores analizan los productos E/S de helmintos, que incluyen proteínas, péptidos y pequeñas moléculas, y su potencial para actuar como biomarcadores e inmunomoduladores en la respuesta inmune del hospedador [10]. De esta manera, el parásito evade la respuesta inmune del hospedero mediante los productos E/S favoreciendo la supervivencia del parásito [11] [12]. Sin embargo, cuando el parásito comienza a degenerar de forma natural (no se conoce la causa) o por el mismo tratamiento antihelmíntico, libera no solo productos E/S, sino también proteínas estructurales, que generan una fuerte respuesta inflamatoria al no lograr regular la respuesta inmune del huésped [13]. *T. solium* forma parte de este grupo de parásitos, por lo que se espera que conserve cierta homología en la modulación del sistema inmune del hospedero.

El parásito también necesita modular el ambiente que lo rodea mediante la estimulación de la expresión de citoquinas, la cual juega un rol importante en la supervivencia de la oncosfera en el momento de la infección en el huésped. En una investigación se observó que *T. solium* estimulaba un perfil de citocinas parecido al de *T. saginata*. Sin embargo, el estadio de oncosfera de *T. solium* presentaba una mayor expresión de

citoquinas IL-4, IL-5, IL-13, IFN- γ e IL-2 [14] a diferencia de *T. saginata*, la cual era destruida por el huésped. Demostraron lo antes propuesto al estimular la producción de citocinas en PBMC (Células mononucleares de sangre periférica) de humanos sanos utilizando antígenos de oncosfera y formas de PO de ambas especies. La expresión de citoquinas antes mencionada se debe en gran parte al extenso repertorio de antígenos propios del parásito. Además, otro estudio evaluó sueros de hámsters infectados con *T. solium* en estadio adulto, (EC, extractos crudos) y antígenos E/S obtenidos de cisticerco del parásito. Se identificaron los antígenos específicos parasitarios mediante ensayo de Western blot. Se observaron diferencias en los patrones de bandas de antígeno E/S entre el cisticerco y la etapa adulta *T. solium* [15]. Esto sugiere que la composición del antígeno cambia a medida que el parásito se desarrolla. El estadio de cisticerco se caracteriza por presentar una morfología parecida a una vejiga opaca llena de líquido [16]. Presenta un tamaño de 10 mm de diámetro y contiene un escólex invaginado. La ubicación del quiste o cisticerco en el SNC es un determinante clave en la presentación clínica de la enfermedad. Si la ubicación está dentro de los tejidos funcionales del cerebro, se clasifica como parenquimatosa y, si no, como extraparenquimatosa, que abarca las ubicaciones restantes dentro del SNC [17]. De esta manera, la respuesta inflamatoria y la ubicación del quiste cobran gran importancia en la patología de la NCC.

Las células encargadas principalmente de mantener la homeostasis en el cerebro son las células gliales, como los astrocitos y microglías principalmente. Los astrocitos se relacionan directamente con el

mantenimiento de la barrera hematoencefálica [18], regulan el flujo sanguíneo regional y reciclan neurotransmisores [19]. Modulan la transmisión sináptica mediante la eliminación de neurotransmisores como el glutamato de la hendidura sináptica [20]. Por último, a menudo regulan el cambio de fenotipo microglial M1 a M2 [21].

Por otro lado, las células microgliales presentan actividad fagocítica en el parénquima. Se caracterizan por expresar un bajo nivel del complejo principal de histocompatibilidad de clase II (MHC-II) y actúan como células presentadoras de antígeno (APC) del SNC [22]. Se ha observado que las microglías pueden facilitar la neurogénesis y actuar en la reparación neuronal, dirigiendo la migración de los progenitores neuronales a los sitios de lesión cerebral [23,24]. Sin embargo, se ha encontrado desregulación y exacerbación de la actividad microglial en enfermedades neurodegenerativas, como el Alzheimer o la enfermedad de Parkinson, en donde en muchos casos se ve incrementada la expresión de citoquinas proinflamatorias como IL-1 β [25].

Es importante mencionar que IL-1 β es una potente citoquina proinflamatoria crucial para las respuestas de defensa del huésped ante la infección y la lesión [26]. Es la mejor caracterizada y más estudiada de los 11 miembros de la familia IL-1. Es producida y secretada principalmente por monocitos, macrófagos y algunas células gliales [27]. IL-1 β es regulada por IL-10 [28].

Por otro lado, IL-10 es una potente citoquina antiinflamatoria cuyo papel es crucial en la prevención de patologías inflamatorias y autoinmunes [29]. Su función principal es actuar como inmunorregulador en el cerebro.

En un estudio, se observó que administrar IL-10 directamente en el cerebro de una rata suprimió la expresión de IL-1 β inducida por LPS en el hipocampo, regulando el comportamiento de la enfermedad [30]. En otro estudio, registró que en ratones con deficiencia de IL-10, la inoculación con LPS causó neuroinflamación prolongada y favoreció el desarrollo de la enfermedad [31]. Estos hallazgos respaldan el papel potencial neuroprotector de la IL-10 en el cerebro [32].

Los astrocitos cumplen una función importante, ya que responden a IL-10 e inhiben la activación microglial relacionada con la inflamación, en un mecanismo dependiente del factor de crecimiento transformante beta (TGF β). La producción de TGF β -1 en respuesta a IL-10 [33] es importante porque TGF β -1 también posee efectos neuroprotectores y antiinflamatorios en el SNC [34].

El TGF- β 1 es una citoquina pleiotrópica que regula el crecimiento y la diferenciación celular puede ejercer efectos pro y antiapoptóticos del tipo celular [35]. Además, el TGF- β 1 se considera generalmente como una de las principales citoquinas antiinflamatorias, aunque también posee propiedades proinflamatorias según el tipo de célula, el tejido de origen o una variedad de otros factores [36]. Se ha demostrado un aumento de la expresión de ARNm de TGF- β 1 en el cerebro de ratas después de una isquemia transitoria del cerebro anterior [37], lo que indica una respuesta inflamatoria. Además, la activación de la microglía por factores proinflamatorios incrementa la producción de TGF- β 1, que puede contrarrestar las reacciones proinflamatorias [38]. Se ha observado que TGF β -1 reduce la activación microglial [39]. También se evidenció que

la IL-10 dirige a los astrocitos activados, induciéndolos a producir TGF β -1, que, a su vez, reduce la activación de la microglía. Sin embargo, la inhibición de la señalización de TGF β -1 bloqueó estos efectos mediados por IL-10/astrocitos en la microglía [34].

Así, la respuesta inflamatoria del huésped juega un papel clave en el desarrollo de la NCC. Como se mencionó anteriormente, existe evidencia de que los diferentes estadios de desarrollo del parásito, tanto oncosfera como de postoncosfera, pueden estimular un perfil de citoquinas en células PBMC humanas. También se ha registrado la expresión de citoquinas periféricas en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con NCC. Sin embargo, no se tiene registro sobre la expresión de citoquinas en tejido cerebral en un modelo murino *in vitro* de la enfermedad de NCC. El objetivo de esta investigación es determinar si los antígenos E/S y Totales del parásito en el estadio de cisticerco estimulan la expresión de citoquinas pro y antiinflamatorias en cultivos primarios mixtos y astrocíticos de cerebro de rata. Estas dudas serán esclarecidas conforme avance la investigación en este modelo. Finalmente, se busca comprender mejor el mecanismo de inflamación subyacente a la NCC en un modelo murino *in vitro*, como un primer paso para futuras investigaciones en modelos más complejos como el porcino y el humano.

I. OBJETIVOS

Objetivo general:

- Evaluar de manera comparativa la expresión de citoquinas proinflamatorias (IL-1 β) y antiinflamatorias (IL-10, TGF- β 1) en cultivos primarios astrocíticos y mixtos (neuronas/glías) de cerebro de rata, expuestos a antígenos Excretor/Secretor (E/S) y Total (T) del cisticerco de *Taenia solium*, con el fin de establecer su posible efecto modulador en la respuesta inflamatoria *in vitro*.

Objetivos específicos:

1. Comparación interna en cada grupo de cultivo primario:

- Comparar la expresión de las citoquinas IL-10, IL-1 β , TGF- β en cultivos primarios mixtos con los antígenos E/S o Totales de *T. solium*, frente al grupo control negativo.
- Evaluar la expresión de las citoquinas IL-10, IL-1 β , TGF- β en cultivos primarios astrocíticos incubados con los antígenos E/S o Totales de *T. solium*, frente al grupo control negativo.

2. Comparación entre dos condiciones en cada cultivo primario:

- Comparar la expresión de las citoquinas (IL-10, IL-1 β , TGF- β) entre los tratamientos con E/S y Totales de los antígenos del estadio de cisticerco, en el cultivo primario mixto.

- Comparar la expresión de las citoquinas (IL-10, IL-1 β , TGF- β) entre los tratamientos con E/S y Totales de los antígenos del estadio de cisticerco, en el cultivo primario astrocítico.

II. HIPÓTESIS

La exposición a los antígenos Excretor/Secretor (E/S) del cisticerco de *T. solium* inducirá una mayor expresión de citoquinas antiinflamatorias (IL-10, TGF- β) en cultivos primarios astrocíticos y mixtos (neuronas/glías) de cerebro de rata, en comparación con la exposición al antígeno Total (T) el cual promoverá un perfil más proinflamatorio caracterizado por mayor expresión de IL-1 β .

III. MARCO TEÓRICO

1. *Taenia solium*

1.1 Taxonomía

El parásito presenta la siguiente clasificación taxonómica [40]:

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

1.2 Ciclo de vida

Existen dos hospederos en el ciclo de vida del parásito: el humano (hospedero definitivo) y el cerdo (hospedero intermedio). El cisticerco ingresa por la ingesta alimentaria y llega al intestino donde los jugos gástricos e intestinales, junto con las sales

biliares, digieren la membrana, la cual recubre al cisticerco; dejando expuesto el escólex evaginado del parásito. De esta manera, el cisticerco logra fijarse a la mucosa intestinal mediante el rostelo y sus ventosas [41].

Una vez que el parásito se adhiere a la mucosa intestinal, comienza a desarrollar los proglótidos, alcanzando su desarrollo hasta la etapa adulta, en un máximo de tres meses, adquiriendo una longitud máxima de 5 metros [42].

La etapa adulta de la *T. solium* se caracteriza por presentar un cuerpo aplanado dorsoventralmente; carece de cavidad corporal y tubo digestivo. El parásito es de color blanco amarillento con forma de cinta [43]. El escólex mide de 0,5 a 1 mm de diámetro y está constituido por cuatro ventosas con una eminencia retráctil (róstelo) [44]. Desde el cuello hasta la parte final del cuerpo del parásito se encuentran los proglótidos, las cuales son unidades anatomofuncionales.

El estróbilo (conjunto de proglótidos) de la *T. solium* alcanza una longitud de hasta 5 metros (700-1000 proglótidos) con aproximadamente 10 segmentos [41]. Los proglótidos se clasifican en inmaduros, maduros y grávidos según el grado de desarrollo de la proglótide, basándose en su forma y tamaño.

Los proglótidos tienen la función de alimentación y reproducción del parásito. En la alimentación del parásito, el tegumento cumple la función de absorción de alimentos, debido a que el parásito carece de tubo digestivo [45]. Los proglótidos cercanos al cuello

se relacionan con la reproducción; son pequeños e inmaduros. En su parénquima albergan glucógeno [41].

Por otro lado, los proglótides maduros presentan forma rectangular; poseen órganos sexuales maduros sin presentar la capacidad de producir huevos. Por último, los proglótides grávidas, presentan forma alargada y contienen en su interior muchos huevos (50 000 huevos), al ser liberados de los testículos, son fecundados por el esperma [41].

Una vez producida la fecundación de los huevos, los embriones son cubiertos por una membrana de queratina para luego ubicarse en los proglótides más lejanos [46]. Es así que los huevos se almacenan en el útero del parásito, presentando forma esférica midiendo de 20 μm a 40 μm [47]. Cabe destacar que el parásito puede contener huevos en distintos grados de maduración en su interior.

En el ambiente, los huevos pueden mantenerse viables por un tiempo de hasta 60 días. Durante este tiempo, el cerdo puede ingerir estos huevos. Los fluidos gastrointestinales del cerdo logran liberar a la oncosfera. Así, la oncosfera se activa y presenta la capacidad de penetrar la pared intestinal hasta llegar al torrente sanguíneo y lograr diseminarse por todo el cuerpo del cerdo. De esta manera, el parásito se establece especialmente en músculos y cerebro del hospedador, que luego de tres meses logran desarrollarse. Posteriormente, estos se desarrollan en cisticerco o quiste (estadio larvario de *T. solium*) [48]. Dicho cisticerco, en el

organismo del hospedador intermedio (cerdo), se vuelve infectante para otro hospedador definitivo (humano) luego de 60 - 70 días [49]. *Imagen 1*.

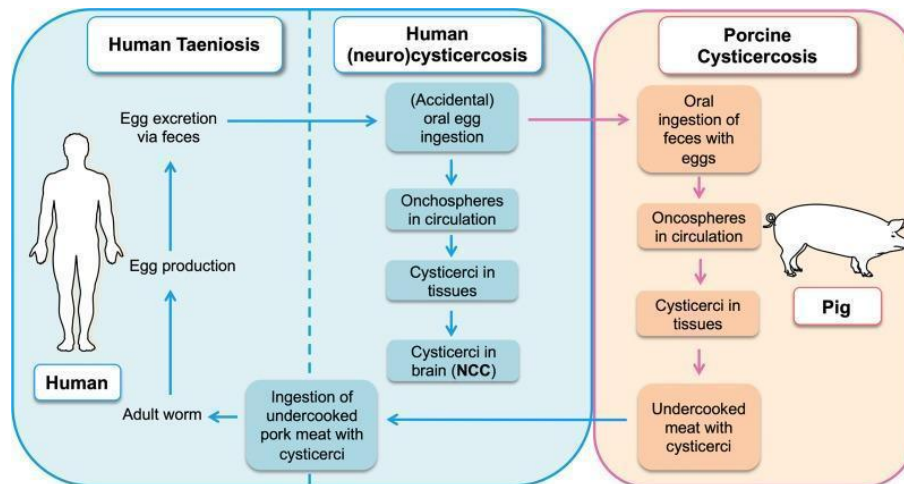


Imagen N° 1: Ciclo de infección de *T. solium* que muestra los diferentes pasos de la cisticercosis humana y porcina, incluida la NCC humana [11].

1.3 Proteínas totales y excretorias secretorias del cisticerco

Se ha reportado más información del antígeno E/S, los cuales se relacionan con el estado viable del parásito, que con el antígeno Total. Según lo antes mencionado, una investigación identificó 76 proteínas del estadio de cisticerco del parásito *T. solium* reportando a la albúmina porcina y la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa como las más abundantes, seguidas de los miembros de la familia de proteínas de 8 kDa, la proteína inmunogénica, la proteína similar a la tripsina, la enolasa, la 2-cys peroxirredoxina y la proteína 14-3-3 [50]. Se cree que los miembros de la familia de proteínas de 8 kDa son proteínas de

unión a ligandos hidrófobos [51] y una similitud con la AgB relacionada de *E. granulosus* podría indicar una función inmunorreguladora, permitiendo al parásito reducir la respuesta inflamatoria [52] y manipular el equilibrio Th1-Th2 [53]. La paramiosina [54], la proteína 14-3-3 [55], la actina [56], la P27, la proteína de choque térmico pequeña [57] y la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa se han descrito como proteínas inmunorreactivas reconocidas por sueros humanos NCC-positivos [58]. El sistema antioxidante enzimático de los ténidos involucra la superóxido dismutasa de Cu/Zn [59], el glutatión S-transferasa [60] y la 2-cis peroxirredoxina [61]. Estas proteínas se han considerado dianas para fármacos y vacunas [62]. Las cisteínas proteasas ayudan al parásito a evadir el sistema inmunitario del huésped de múltiples maneras: poseen la capacidad de lisar las inmunoglobulinas del huésped [63]. La calreticulina controla la homeostasis intracelular del Ca²⁺, pero también puede contribuir a la secreción, la síntesis de proteínas y el control del plegamiento proteico [64]. La malato deshidrogenasa citosólica participa en el metabolismo del ácido cítrico y se ha estudiado recientemente porque podría servir como diana farmacológica [65]. Se cree que el transportador de glucosa TGTP2 media la captación de azúcar y se localiza predominantemente en la superficie del quiste [66]. Posteriormente, en otro estudio, publicaron todo el genoma de *T. solium* y el WGA, identificando 838 proteínas para el secretoma como productos excretores secretores del parásito [67],

mostrándonos una visión general de la gran diversidad antigénica del parásito. Sin embargo, no se tiene suficiente información de los antígenos generados cuando el parásito comienza a degenerar de forma natural (no se conoce la causa) o por el mismo tratamiento antihelmíntico, el cual libera no solo productos E/S, sino también proteínas estructurales, que generan una fuerte respuesta inflamatoria al no lograr regular la respuesta inmune del huésped [11] [13]. Cabe decir que se ha reportado en algunas investigaciones el uso de antígenos parasitarios de cisticercos obtenidos de lisado crudo (CL) lo que sería equivalente a antígenos totales en este proyecto [20].

2. Neurocisticercosis

El estadio de cisticercos del helminto cestodo *T.solium* es el causante de la enfermedad de NCC, la cual es considerada como una de las enfermedades parasitarias más prevalentes del SNC [1].

Las oncosferas, una vez establecidas en los tejidos diana, experimentan diversas etapas de desarrollo, pasando por la fase de postoncosfera (PO) y luego establecerse como cisticercos [68]. El cisticercos consta de una larva vesicular con un escólex invaginado. Cuando el humano consume carne de cerdo mal cocida con cisticercos viables, el escólex evagina y se aferra a la pared del intestino, donde se desarrolla hasta su etapa adulta, completando su ciclo de vida.

2.1 Epidemiología

Una de las enfermedades parasitarias más prevalentes del SNC es la NCC, la cual afecta entre 2,5 y 8,3 millones de personas al año [69]. En zonas endémicas y de bajos recursos donde las personas y los cerdos viven en estrecha comunidad, se encontró que la NCC es la causa del 30% de los casos de epilepsia. Además, se sabe que aproximadamente el 80% de los 50 millones de personas del mundo afectadas por la epilepsia viven en países de ingresos bajos y medianos-bajos [70]. Existe escasa información sobre la epidemiología de la NCC en el Perú. Sin embargo, en la sierra, la costa norte y en la selva alta se ha descrito como zonas hiperendémicas [71].

Hasta 2005, en América Latina alrededor de 75 millones de personas vivían en zonas endémicas de cisticercosis, y cerca de 400 000 presentaban la enfermedad de forma sintomática. La NCC representaba la causa de convulsiones en aproximadamente 32,3 % de los pacientes epilépticos. Estudios con la prueba de inmunoblot en zonas rurales de México, Guatemala, Perú, Ecuador y Bolivia reportaron tasas de positividad entre 4,9 % y 34 %. En Perú, la NCC corresponde al 10–12 % de las consultas neurológicas; además, hasta el 8 % de la población rural presenta anticuerpos, hallados también en 30–60 % de los cerdos evaluados. En estudios seroepidemiológicos, se encontró una seroprevalencia de 24,2 % en una comunidad de la costa norte y de 3,3 % en una de los Andes centrales [72] [73].

2.2 Manifestaciones clínicas

El paciente asintomático puede no presentar síntomas incluso desarrollando una respuesta inflamatoria [74]. Sin embargo, en otros casos, la respuesta inflamatoria de los pacientes se relaciona con la sintomatología de la enfermedad de NCC. Los síntomas pueden comenzar de 1 a 35 años después de la infección parasitaria, siendo muy variables en manifestación y acompañados de síndromes [75]. Esta respuesta inflamatoria muchas veces se relaciona con un proceso degenerativo en el parásito que lleva a la muerte y calcificación del mismo [76].

Síndrome/Signo/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 recurrentes, 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.

Tabla 1. Síndromes secundarios a neurocisticercosis [77].

3. Respuesta inmune

3.1 Mecanismos de Evasión Inmunitaria de Helminths

Los helmintos han evolucionado mecanismos sofisticados para evadir la respuesta inmune y permanecer durante un largo periodo en el

huésped. La respuesta inflamatoria limitada en los tejidos invadidos, pese a su gran tamaño o a su migración, ya sea local o sistémica, asegura su sobrevivencia en el huésped [77]. Lo antes mencionado se podría explicar debido a su extraordinaria co-evolución con el huésped [78].

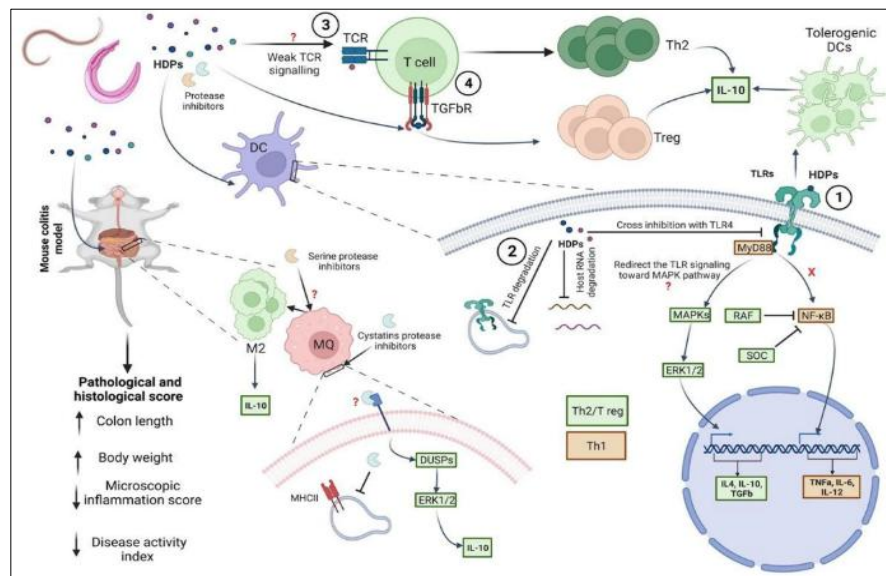


Imagen N° 2: Esquemización de la manipulación inmunológica del huésped, inducida por las proteínas derivadas de helmintos [79].

Los parásitos helmintos limitan la respuesta inmune del huésped mediante varios mecanismos sofisticados como: restricción de la proliferación de células reguladoras, la inducción de apoptosis en células inmunes, la manipulación de receptores de reconocimiento de patrones (PRR), la señalización descendente y la supresión de células Th1/Th2 y citoquinas asociadas [80]. Cabe mencionar que pueden existir más mecanismos de evasión inmunitaria que aún no se han logrado estudiar en helmintos [81].

Cómo se mencionó anteriormente, los helmintos utilizan productos de E/S para evadir la respuesta inmunitaria del huésped, logrando así infecciones crónicas [3] [5]. En un estudio se observó que la glicoproteína IPSE de *Schistosoma mansoni*, mediante la unión a IgE, induce la expresión y secreción de IL-4 en basófilos; también se sabe que induce interleucina 10 (IL-10) en las células B, favoreciendo y mejorando su capacidad para inducir células B reguladoras (Breg) [82]. En otro estudio se identificó un factor de crecimiento, FhTLM de *Fasciola hepática*, perteneciente a la superfamilia TGF, la cual presenta la capacidad para unirse al receptor de TGF- β de mamíferos, favoreciendo la inducción de IL-10 y arginasa en macrófagos. Estos hallazgos demuestran cómo una citocina de helminto interactúa con los receptores del huésped, induciendo cambios inmunológicos que favorecen una respuesta crónica no protectora, típica de la infección por *F. hepática* [83]. Estos hallazgos demuestran un posible eje antígeno-receptor-citoquina entre el parásito y el hospedero.

De esta manera, el parásito evade la respuesta inmune del hospedero mediante los productos E/S, favoreciendo la supervivencia del parásito.

3.2 Mecanismos de Evasión Inmunitaria de *T. solium*

Como la mayoría de los helmintos, *T. solium* puede permanecer durante mucho tiempo en el huésped. De esta manera, logra establecer infecciones durante un largo periodo de tiempo, sugiriendo así diversos mecanismos inmunorreguladores.

Se encontró que el parásito del cisticerco logra camuflar sus antígenos del sistema inmunitario del huésped usando inmunoglobulinas propias del huésped. De esta manera, los quistes logran albergar IgG, IgM, IgA e IgE en su tegumento, probablemente adquiridas por endocitosis mediada por el receptor de fragmentos cristalizables (Fc) [84] [85].

Otro mecanismo identificado es el control del sistema inmune innato del huésped mediante el bloqueo del sistema del complemento tanto en la vía clásica como en la alternativa, por los antígenos (teniastatina y paramiosina) liberados por el parásito [86] [87].

Además, en una investigación evaluaron *in vivo* que las oncosferas de *T. solium*, en comparación con *T. saginata*, se desarrollan como cisticercos en el cerebro de ratas. Esto sugiere que la respuesta inmune del huésped desempeña un papel crucial en la regulación del desarrollo de *T. solium*, que indujo una respuesta inmunitaria mixta de citocinas (TH1/TH2) y la producción de MMP-9, facilitando su supervivencia y migración al cerebro. En contraste, *T. saginata* generó una respuesta inflamatoria más intensa, que probablemente impidió su desarrollo en el huésped. Estas diferencias explicarían por qué *T. solium* se desarrolla en humanos y *T. saginata* no, a pesar de tener ciclos de vida similares [14].

Por último, se encontró que el quiste en estado viable libera productos de E/S, biomoléculas como cisteína proteasas, metaloproteasas y serina proteasas, que degradan las inmunoglobulinas del huésped e interfieren con la proliferación de células CD4+ y la producción de

citoquinas y, por lo tanto, influyen en la producción de anticuerpos por las células B *Imagen N° 3* [88].

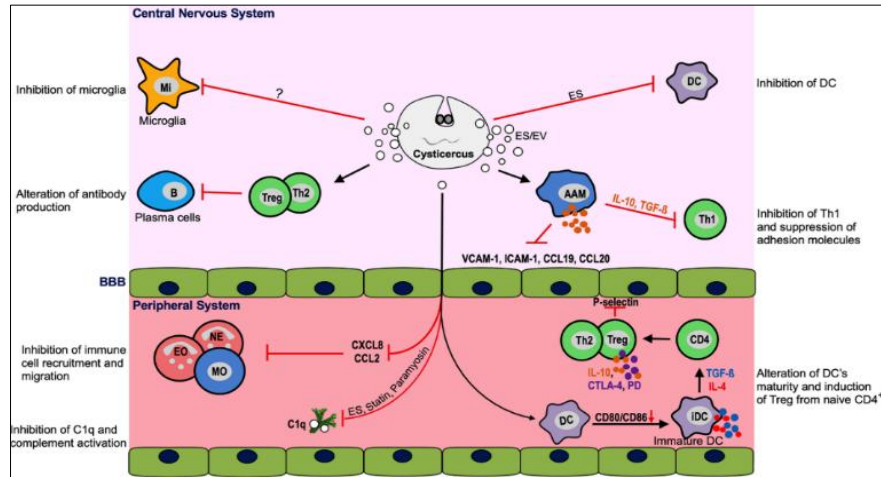


Imagen N° 3: Liberación de productos E/S y vesículas extracelulares (EV) del quiste de cisticercos y la interacción con células del hospedero [11].

3.3 Respuesta inmunitaria contra neurocisticercosis

Una vez que el quiste permanece en el huésped, por lo general, existe una respuesta inmunitaria de tipo 2 al parásito. Sin embargo, esto puede cambiar a medida que el parásito degenere [11].

En el caso de la *T. solium* adulta, se adhiere mediante sus ventosas a la mucosa del intestino delgado del huésped. Sin embargo, solo genera una inflamación controlada en la zona afectada sin provocar daños significativos en el intestino. Por lo general, la teniasis no presenta síntomas (asintomática), excepto en algunos casos donde se ha asociado con dolor abdominal, distensión, diarrea y náuseas debido a la infestación por tenia, aunque no se ha encontrado una relación directa entre la inflamación y los síntomas [47].

También se tiene evidencia de que, cuando las oncosferas ingresan al huésped, pueden ser neutralizadas por anticuerpos y factores del complemento. En una investigación se encontró una asociación entre el complemento C5 y la infección extraparenquimatosa en NCC [89]. Asimismo, se cree que el sistema del complemento puede estar involucrado en la actividad de los anticuerpos generados durante la NCC [90] [91]. Sin embargo, aún no se comprende completamente el rol del sistema del complemento en la enfermedad.

Se encontraron niveles elevados de inmunoglobulina G (IgG), inmunoglobulina M (IgM) e inmunoglobulina E (IgE) en pacientes sintomáticos con infección extraparenquimatosa y quistes en espacios subaracnoideos, en comparación con individuos asintomáticos con NCC [92] [93]. Es importante mencionar que se encontraron niveles más elevados de anticuerpos específicos IgG1, IgG2, IgG4 e IgE en sujetos sin NCC provenientes de áreas endémicas en comparación con aquellos de zonas con baja o nula endemicidad [92].

Como ya se mencionó, la degeneración del parásito cobra gran relevancia al estar estrechamente relacionada con la aparición de los síntomas. Se identificó una respuesta inflamatoria aumentada, caracterizada por la presencia de interleucina 1 beta (IL-1 β), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) e interferón gamma (IFN- γ) [13] [94].

Además, se observó una región con abundantes leucocitos, macrófagos infiltrantes con expresión de CD68 cercanos a la capa fibrosa, linfocitos T y B (CD3+, CD4+, CD8+ y CD20+), así como células plasmáticas, neutrófilos, mastocitos, eosinófilos y microglía

cerebral en quistes en distintos estados de degeneración (coloidales, granulares-nodulares y calcificados) *Imagen N° 4* [13].

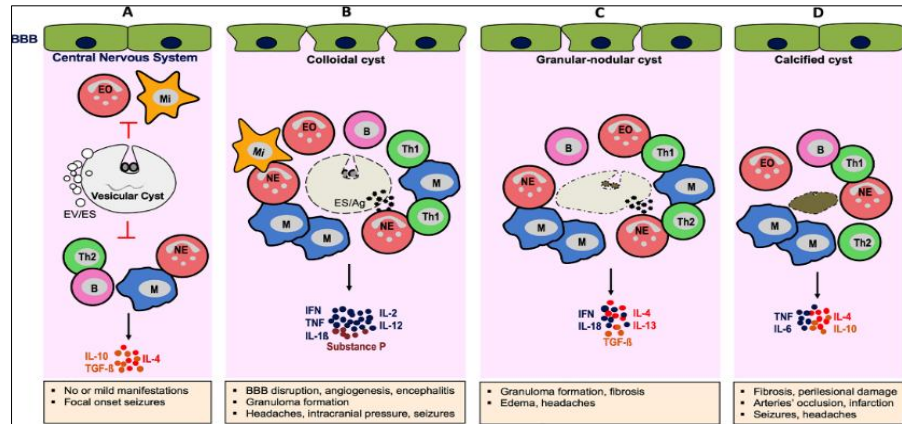


Imagen N° 4: Involución de quistes en el parénquima cerebral e inmunopatogénesis asociada [11].

De esta manera, la infiltración de células leucocitarias puede generar un incremento de la presión intracraneal, encefalitis, entre otras complicaciones [95]. También se determinó que las neuronas, células endoteliales y linfocitos secretan sustancia P (SP), un neuropéptido de la familia de las taquiquininas [97]. La cual está relacionado con la expresión de citoquinas inflamatorias como IFN- γ , IL-2, IL-12, IL-18 y TNF- α en las lesiones que rodean los quistes moribundos, así como con TNF- α , IL-1 β e IL-6 en la periferia [97]. Cabe decir que el número de quistes también muestra relación con el tipo de respuesta inmunitaria. Se encontró una respuesta Th1 proinflamatoria (IL-12 e IL-18) en infecciones con un solo quiste, mientras que, en infecciones multiquísticas, la respuesta predominante fue Th2 (IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 e IL-13) [98] [99].

4. Neuroinflamación

El sistema inmune innato (SII) se encuentra en vertebrados e invertebrados. Actúa como una primera línea de defensa del organismo de manera rápida e inespecífica contra patógenos invasores. El SII recluta células inmunitarias, favorece la expresión de citocinas, promueve la activación de la cascada del complemento y del sistema inmunitario adaptativo (principalmente a través de la presentación de antígenos) [100].

Por otro lado, el sistema inmune adaptativo (SIA), que es más desarrollado y específico, se encuentra sólo en organismos vertebrados. La principal característica del SIA es que se activa después de días o semanas tras el contacto con el patógeno, logrando una adaptación que se produce a través de la memoria inmunológica. Esta respuesta inmunitaria mencionada está orquestada por anticuerpos y células inmunitarias como linfocitos B y T (CD4+ y CD8+) [100].

Existe una estrecha relación entre el SNC y el sistema inmune del organismo. En el SNC se han identificado dos principales células efectoras, las cuales son las microglías y los astrocitos, que presentan funciones inmunológicas innatas ante algún daño o patógeno externo. Cabe decir que las microglías y astrocitos forman parte de la unidad neurovascular (NVU) del cerebro [101].

Asimismo, las microglías y astrocitos logran cambiar su estado fenotípico ante señales extracelulares e intracelulares, las cuales se relacionan con su estado de activación, presentando dos estados: el fenotipo proinflamatorio (M1/A1) y el fenotipo antiinflamatorio (M2/A2), que corresponden a las funciones destructivas o reparadoras en la NVU, respectivamente [102]. Cabe decir que la estrecha comunicación entre estas dos células hace que los cambios fenotípicos dependan mutuamente *Imagen N° 5* [103]. Un estudio demostró que las microglías (M1) inducidas por LPS logran inducir el cambio fenotípico del astrocito al tipo reactivo (A1) *in vitro* e *in vivo* [104].

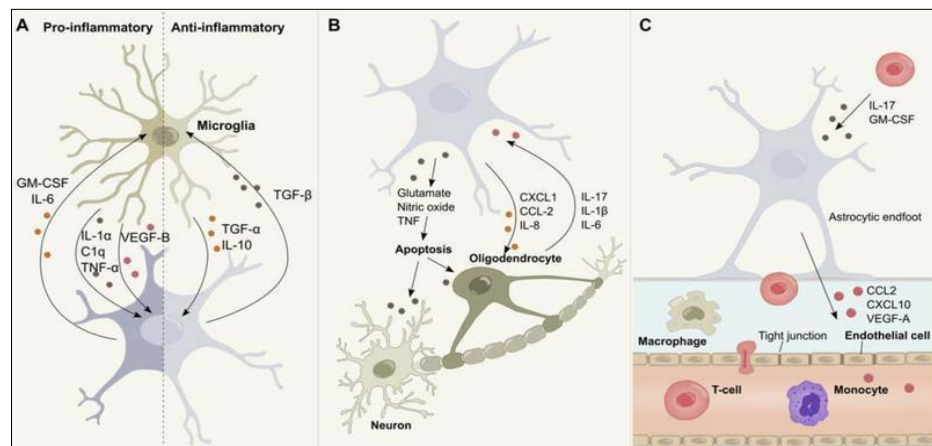


Imagen N° 5: Interacciones de los astrocitos en el contexto de la neuroinflamación [103].

4.1. Rol de los astrocitos

En condiciones basales, los astrocitos permanecen en un estado de baja actividad; sin embargo, ante la presencia de un patógeno, su estado fenotípico cambia a un estado reactivo, activando su ciclo celular y generando cambios morfológicos y bioquímicos junto con la

producción de citoquinas [105] [102]. Es de importancia mencionar que los astrocitos se generan en la etapa final de la neurogénesis y tienen su origen junto con las neuronas y oligodendrocitos [106]. Los astrocitos son las células gliales más abundantes del SNC [107]. Los astrocitos presentan las funciones de modulación sináptica, eliminación perivascular de desechos del SNC [108] y regulación de las propiedades de la barrera hemato encefálica (BHE) o NVU [109].

La reactivación del astrocito (A1) es perjudicial para la NVU debido a que activa genes de la cascada clásica del complemento, como C1r, C1s, C3 y C4. Sin embargo, el estado A2 del astrocito regula positivamente factores inflamatorios beneficiosos, como CLCF1 (factor 1 de citocina similar a cardiotrofina), LIF (factor inductor de hipoxia), IL-6, IL-10 y trombospondinas, para promover la remodelación del NVU [110] [111]. Una función recientemente identificada en los astrocitos es su papel como célula inmunitaria innata, debido a que puede restringir la entrada de células inmunitarias periféricas mediante el control de la BHE [112], la producción de citoquinas, y coordinación con el sistema inmune adaptativo [113] [114].

4.2. Rol de las microglías

Una célula que trabaja en asociación muy estrecha con los astrocitos es la célula microglial. En el cerebro humano, representan aproximadamente el 5–15% de todas las células del SNC [115] [116]. Las microglías tienen su origen en el saco vitelino, son altamente

plásticas y poseen gran movilidad [117] [118]. Su participación como células del sistema inmune innato es importante para el SNC, ya que son las primeras en actuar contra algún patógeno [119].

En su estado basal (M2), presentan una forma ramificada y se caracterizan por la regulación positiva de mediadores antiinflamatorios, como la interleucina IL-10, el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) y los glucocorticoides [120]. En su estado activado (M1), adquieren una forma ameboides, regulando positivamente la secreción de factores proinflamatorios, como el factor de necrosis tumoral (TNF), la interleucina 1 beta (IL-1 β) y las especies reactivas de oxígeno (ROS) [25], participando de manera activa en la fagocitosis [121], caracterizándose por el aumento de mediadores inflamatorios. Por último, el fenotipo similar a M1 se considera destructivo para la NVU [122].

4.3 IL-10

Los astrocitos y microglías son las principales productoras de citoquinas en el SNC. Sin embargo, estas células en su estado basal expresan niveles muy bajos de citoquinas. Los niveles de citoquinas se incrementan ante un evento estresante, como crecimiento celular rápido, inflamación o trauma. Es importante mencionar que los estímulos que desencadenan la producción de citoquinas pueden ser tanto internos como externos al SNC. Cada célula presenta receptores de citoquinas, los cuales desencadenan mecanismos de señalización

interna. De esta manera, las citoquinas vinculan los sistemas neuronal, inmunológico y endocrino [123].

Las citoquinas antiinflamatorias desempeñan una función crucial en la disminución o mitigación de la inflamación [124]. Una de las citoquinas principales y de las primeras descubiertas es la IL-10, la cual es expresada por una gran variedad de tipos celulares, como leucocitos, monocitos, granulocitos, células epiteliales, queratinocitos y células gliales [125].

Los astrocitos y microglías expresan IL-10 de manera más inmediata *in situ* luego de la exposición *in vivo* con LPS [126]. Sin embargo, cuando se aíslan las células, existe una expresión de IL-10 más retardada; ocho horas después de la exposición se expresa en ARNm y veinticuatro horas después se expresa como proteína [127]. La mayoría de las células expresan receptores para IL-10. El receptor está compuesto por dos subunidades de IL-10 (IL-10R1 e IL-10R2) [128]. No todas las células expresan ambas subunidades. Sin embargo, tanto astrocitos como microglías, debido a su linaje mieloide, expresan constitutivamente tanto IL-10R1 como IL-10R2 [129]. Cabe decir que las neuronas también expresan las dos subunidades mencionadas [130]. Se tiene evidencia de que cuando IL-10 se une a su receptor, desencadena efectos sobre la vía canónica de la quinasa Janus (JAK)/transductor de señales y activador de la transcripción (STAT), que incluye JAK1 y STAT3, los cuales posteriormente inducen la expresión de genes asociados con la inmunosupresión [131] *Imagen N° 6*.

La función principal de la IL-10 es mantener la homeostasis en el SNC [127]. Favorece la poda sináptica ejercida por las células gliales [132] y reduce los mediadores proinflamatorios inducidos por patógenos [131].

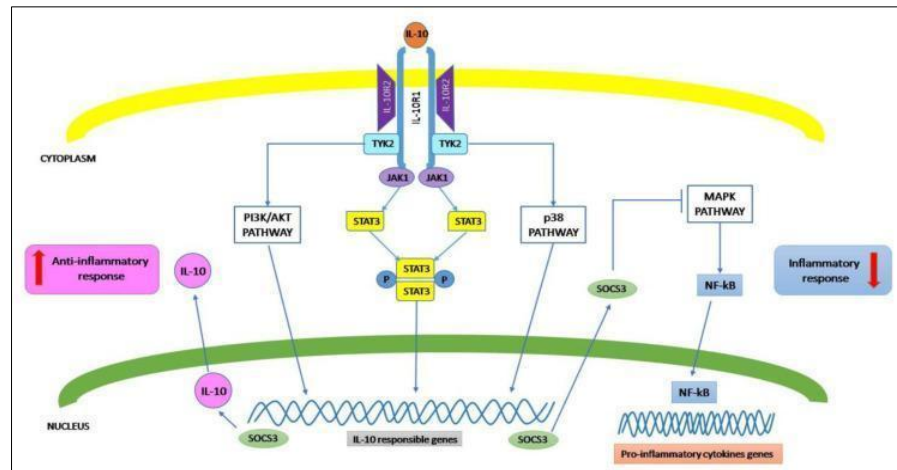


Imagen N° 6: Ilustración esquemática de la vía de señalización de IL-10 [133].

La IL-10 también puede inducir cambios fenotípicos en astrocitos y microglías a un estado no inflamatorio (A2/M2) [46]. Por último, se ha documentado una inflamación descontrolada con una mayor susceptibilidad a infecciones por bacterias, hongos, parásitos o virus en el SNC en ratones deficientes de IL-10 [134].

4.4 IL-1 β

Por otro lado, otra citoquina importante en el SNC es la IL-1 β . Esta citoquina mencionada es expresada por células gliales como microglías [135], astrocitos [136], oligodendrocitos [137] y neuronas [138]. Asimismo, las células mencionadas también son capaces de responder a las citoquinas [139]. Existen once miembros en la familia de la citoquina

IL-1, y la familia de sus receptores está integrada por diez miembros [140].

La IL-1 β pertenece a la familia de la interleucina 1, la cual está constituida por dos agonistas, IL-1 α e IL-1 β , un antagonista endógeno, IL-1ra, y dos receptores (IL-1RI e IL-1RII) [141]. En condiciones normales, se expresa en niveles bajos tanto los agonistas como los antagonistas [142], y se tiene evidencia de que la distribución del receptor de señalización IL-1RI [143] sugiere que distintas regiones cerebrales pueden depender diferencialmente del sistema IL-1 [144]. El ARNm de IL-1 β es inducido por una variedad de estímulos microbianos (*p. ej.*, lipopolisacárido (LPS) y ácido teicoico) y no microbianos (*p. ej.*, hipoxia, hiperosmolaridad, lesión térmica y radiación gamma). Luego, se genera la expresión traduccional de un propéptido (*pro*-IL-1 β) de 31 kD, el cual es escindido por la cisteína proteasa caspasa-1 para adquirir actividad biológica [145]. En los lisosomas especializados o en el citoplasma, puede generarse la escisión del precursor de IL-1 β por la caspasa-1. La salida de la célula de la citocina puede realizarse por exocitosis de los lisosomas secretores [146] [147], el desprendimiento de microvesículas de la membrana plasmática, la liberación directa a través de transportadores o cuerpos multivesiculares que contienen exosomas [148], o un proceso denominado piroptosis [149].

Cabe mencionar que el precursor de IL-1 β puede también procesarse sin actividad de caspasa-1. Lo antes mencionado ocurre mediante una proteasa de neutrófilos común, la proteinasa-3 [150]. La IL-18 también es un objetivo catalítico de la proteinasa-3 [151]. Otras proteasas, como

la elastasa, la metaloproteasa de matriz y la granzima A, procesan el precursor de IL-1 β extracelularmente. Además, una quimasa de mastocitos genera IL-1 β activa. Dado que IL-1R2 carece del dominio TIR, no puede inducir la señalización tras la unión al sustrato [152]. IL-1R2 constituye un "receptor señuelo" debido a su capacidad de unirse a IL-1 sin iniciar la señalización de IL-1 [153]. El receptor IL-1R1 sufre cambios conformacionales al interactuar con sus ligandos agonistas IL-1 α o IL-1 β , formando complejos IL-1R1/IL-1R3 [154] [155]. Esto genera que los dominios TIR de IL-1R3 se acerquen al dominio de IL-1R1, lo que induce la señalización de IL-1 [156].

Una activación alternativa se genera entre IL-1 y IL-1R, y este complejo posteriormente activa IL-1R3, sin inducir la señalización de IL-1 [157]. Los dos dominios TIR intracelulares de IL-1R1 e IL-1R3, tras la formación del complejo IL-1R, reclutan la proteína adaptadora que contiene el dominio TIR MyD88 [158] [159]. Un dominio de muerte (DD) se forma por los oligómeros de MyD88, el cual es importante para la señalización posterior [160]. La función principal del DD de MyD88 es reclutar proteínas quinasas relacionadas con IL-1R (IRAK). Primero, IRAK-4 se une a MyD88, seguido de IRAK-1 y -2 [161] [162], la proteína que interactúa con Toll (Tollip) [163], así como Pellino-1 (PELI-1) y -2. PELI-1 y -2 son ligasas de ubiquitina E3 [164]. La IRAK-1 no fosforilada, unida a Tollip, es inactiva [165]. Cuando IRAK-1 se une al complejo IL-1R, se fosforila y, por lo tanto, se activa a través de la actividad de IRAK-4 y se disocia de Tollip y del complejo IL-1R [166].

Debido a su activación por IRAK-4, IRAK-1 se vuelve hiperautofosforilada.

Luego, IRAK-1 hiperfosforilada recluta TRAF6 (factor 6 asociado al receptor de TNF), seguido de la activación de su actividad de ligasa de ubiquitina E3 [167]. Al mismo tiempo, IRAK-4 fosforila y activa PELI-1 y -2 [168] [169].

La proteína de unión TAK1 (TAB2 y TAB3) es ubiquitinada por PELI o TRAF6 activados y recluta el complejo quinasa activada por TGFβ1 (TAK1/TAB1) [170] *Imagen N° 7*.

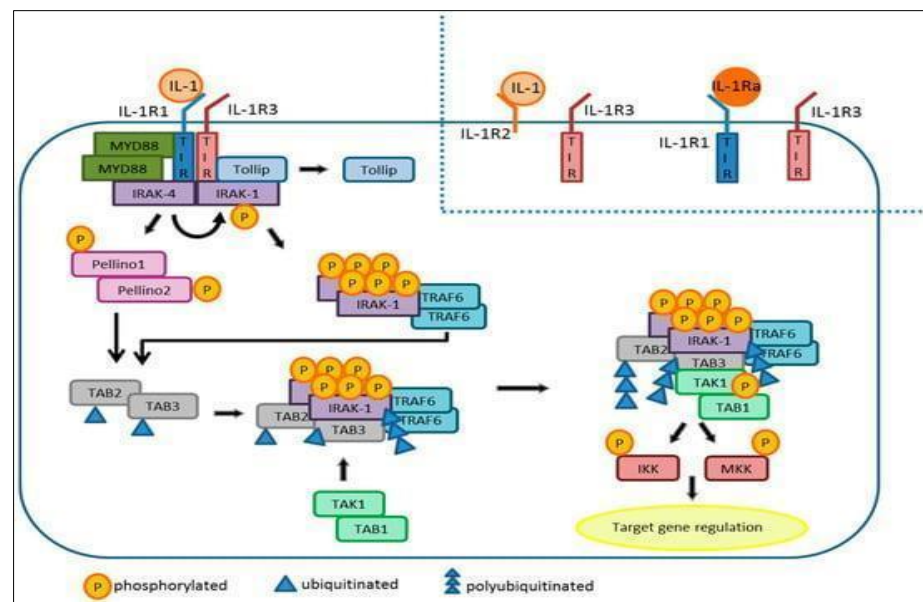


Imagen N° 7. Señalización de IL-1 en células diana. La unión de IL-1 a IL1R1/3 da como resultado la activación celular debido a la estimulación de IKK y MKK. La señalización de IL-1 se atenúa en caso de unión de IL-1 al receptor señuelo IL1R2/3 y por la unión competitiva de IL-1Ra a IL1R1/3 [171].

El complejo sufre un cambio conformacional que resulta en la autofosforilación y activación de TAK1 [172] [173]. Posteriormente, los complejos quinasas como MKK o IKK, fosforilados y activados por TAK1, regulan la expresión del gen objetivo [174]. Por último, cabe mencionar que IRAK-1 es un componente de señalización más estable de la vía IL-1 [157], debido a que IRAK-2, si bien puede reemplazar a IRAK-1, carece de la actividad de autofosforilación de IRAK-1 [175]. IL-1Ra es un antagonista de IL-1 α e IL-1 β con función inhibitoria ya que logra unirse a IL-1R1 [175]. La función principal de IL-1Ra es bloquear y prevenir la unión de IL-1R3 a IL-1 cuando esta se une a IL-1R1 [155]. Se observa la importancia de la función de IL-1Ra en una condición denominada deficiencia del antagonista de la interleucina-1 (DIRA) en humanos. DIRA resulta en una inflamación multiorgánica estéril letal si no se trata con IL-1Ra recombinante [176].

Por otro lado, se encuentra IL-1R2, que puede unirse tanto a IL-1 α como a IL-1 β , con mayor afinidad por IL-1 β , evitando que ambas citocinas se unan a IL-1R1 [177] [178]. Tanto IL-1Ra como IL-1R2 regulan la señalización de IL-1 por diferentes mecanismos y, por lo tanto, reducen la inflamación mediada por IL-1 [179]. Las principales funciones de IL-1 β incluyen la modulación de la excitabilidad neuronal [180]. En células gliales como astrocitos y microglías, favorece la generación de mediadores inflamatorios [181]. Asimismo, IL-1 β participa en varios trastornos inflamatorios asociados al dolor [182].

4.5 TGF- β

Por otro lado, se encuentra el factor de crecimiento transformante $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), una proteína clasificada como citoquina, la cual está implicada en diversas funciones celulares como el crecimiento, la diferenciación celular y la apoptosis [183]. TGF- $\beta 1$ es sintetizado por varios tipos de células, pero en el *SNC* se expresa especialmente por los astrocitos, ejerciendo una influencia significativa en fenómenos fundamentales, incluido el desarrollo, la patogénesis de enfermedades y la reparación de tejidos [184]. Asimismo, se le relaciona con afecciones neurológicas como la enfermedad de Alzheimer (EA), la esquizofrenia y la depresión [185] y deterioro cognitivo [186].

El TGF- $\beta 1$ es sintetizado por diversas células como: células inmunes, células endoteliales (CE) y fibroblastos. En el cerebro, los astrocitos son los principales productores de TGF- $\beta 1$ [187]. La actividad de TGF- $\beta 1$ sobre los astrocitos depende del contexto. La exposición de TGF- $\beta 1$ a células astrocíticas en un cultivo primario generó la proliferación de astrocitos en un estado fenotípico reactivo [188]. Sin embargo, cuando se expuso a las células astrocíticas a estímulos inflamatorios, la citoquina TGF- $\beta 1$ mitigó la proliferación de astrocitos reactivos [189]. También se evidenció un mayor número de neuronas muertas y proliferación microglial en ausencia de TGF- $\beta 1$ en cerebros de ratones [190].

TGF- β se sintetiza como un polipéptido precursor constituido por una citoquina madura en su segmento C-terminal, una péptida señal en el extremo N-terminal y entre ambos un péptido asociado a la latencia (LAP) [191]. Luego en el lumen del retículo endoplásmico, la péptida señal es

dirigida y eliminada de manera inmediata. Lo que queda de la péptida señal sufre dimerización por tres enlaces disulfuro y posteriormente transita hacia el aparato de Golgi a ser escindido entre la citoquina madura y el LAP por la proteasa furina [192]. La conformación resultante de TGF- β aún carece de la capacidad de unión a su receptor, debido a que aún está asociado con LAP, que enmascara el sitio de unión al receptor, formando así un pequeño complejo latente (SLC) [193]. Por un lado, si LAP está unido a la proteína de unión a TGF- β latente (LTBP), el SLC se convierte en un gran complejo latente (LLC) al ser secretado [194]. Por otro lado, LTBP puede unirse a la fibrilina, dirigiendo el LLC a la matriz extracelular (ECM) [195]. Sin embargo, LAP puede unirse mediante enlaces disulfuro con la proteína 32 que contiene repeticiones ricas en leucina (LRRC32) o LRRC33 para unir las SLC a la superficie celular. Cuando TGF- β logra unirse a su receptor, significa que la citoquina está madura porque se liberó su sitio activo del complejo latente. La activación puede darse por varios factores, enfocándonos principalmente en la activación dependiente de integrinas, siendo esta la más estudiada. En contraste, la activación del TGF- β mediada por ácidos, bases, especies reactivas de oxígeno (ROS), trombospondina-1 (TSP-1), proteasas y otros activadores del TGF- β , se conoce como activación independiente de integrinas.

Una vez que el TGF- β se une a su receptor, se activan dos tipos de señalización: la canónica y la no canónica. Si nos centramos en la señalización canónica, el TGF- β tiene dos opciones de unión: puede interactuar con su correceptor, el receptor III de TGF- β (T β RIII), o con el

receptor T β RII, el cual, a su vez, recluta a T β RI para formar el complejo TGF- β -T β RI-T β RII. Mediante fosforilación, T β RII activa a T β RI, lo que provoca que T β RI se disocie de la proteína FK506 (FKBP12), un inhibidor de la señalización, favoreciendo así la interacción con los SMAD activados por el receptor (R-SMAD). Los R-SMAD interactúan y se activan a través de su interacción con el receptor (SARA), que está asociado a T β RI. Posteriormente, experimentan oligomerización con SMAD (co-SMAD).

De esta manera, los oligómeros de SMAD se translocan al núcleo, donde actúan como factores de transcripción (TF). Allí median la activación o represión de genes diana al unirse a secuencias específicas de ADN conocidas como elementos de unión a SMAD (SBE), además de interactuar con cofactores transcripcionales. Por último, se activa la expresión de los inhibidores de SMAD (I-SMAD), cuya función es regular negativamente la señalización mediada por TGF- β mediante diversos mecanismos *Imagen N° 8* [196].

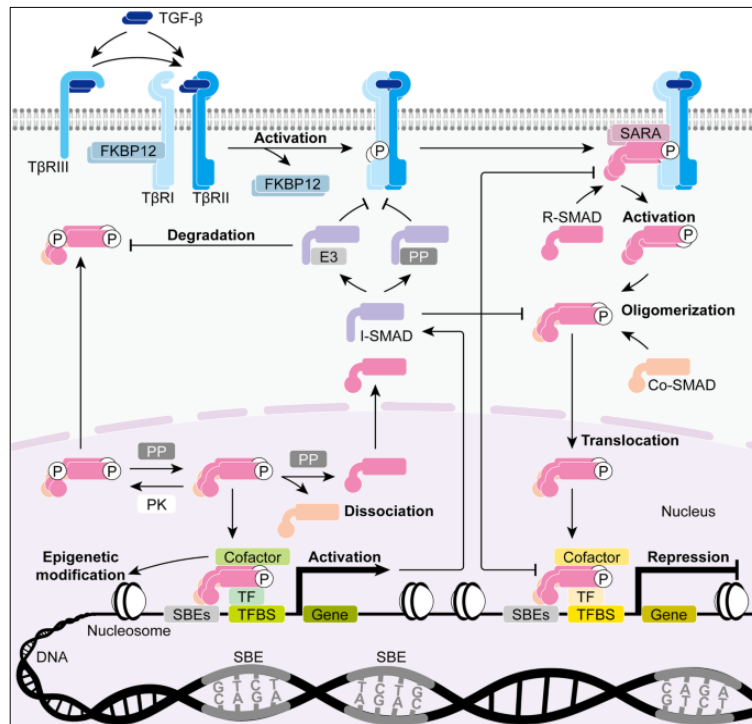


Imagen N° 8: Vía de señalización canónica de TGF-β [196].

5. Rata como animal de estudio

El desarrollo de la investigación biomédica se ha logrado en gran parte gracias al uso de ratas de laboratorio, las cuales son un modelo ideal para la investigación y los estudios de medicina comparativa debido a sus similitudes anatómicas y fisiológicas con los humanos. Asimismo, las ratas y los humanos poseen aproximadamente 30,000 genes [197] [198]. El uso de modelos murinos, como la rata, presenta diversas ventajas, entre ellas: un corto tiempo de gestación, un número relativamente alto de descendientes y un desarrollo acelerado hasta la edad adulta, además de una vida relativamente corta. Desde la secuenciación del genoma de la rata en 2004, se han logrado grandes avances en biomedicina. Las ratas son un excelente modelo animal para el estudio de diversas enfermedades,

incluyendo patologías cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, estudios de comportamiento y toxicología [199] [200].

5.1. Cultivo primario

Los cultivos primarios son células obtenidas directamente del organismo en estudio, se aíslan de un organismo vivo y se mantienen para su crecimiento *in vitro*. Su clasificación se basa en el género, especie o tejido de origen. En poco tiempo, estas células logran adaptarse al ambiente *in vitro*, experimentando un número limitado de divisiones celulares hasta alcanzar la senescencia. Debido a esta característica, la cantidad de veces que se puede subcultivar un cultivo primario es mínima, en función del tipo de célula, los nutrientes disponibles y las condiciones del cultivo, lo que está determinado por el límite de Hayflick.

Los cultivos primarios tienen múltiples aplicaciones en la investigación biomédica, incluyendo el estudio de la comunicación intercelular e intracelular, la biología del desarrollo y la elucidación de mecanismos de enfermedades como el cáncer, la enfermedad de Parkinson y la diabetes [201] [202].

5.1.1. Modelo *in vitro* 2D

En el ámbito de la neurobiología experimental, el cultivo en monocapa (2D) de neuronas primarias en placas de Petri continúa siendo uno de los modelos *in vitro* más ampliamente utilizados.

Gracias al perfeccionamiento de los protocolos de aislamiento de neuronas primarias y a la optimización de las condiciones de cultivo *in vitro*, es posible obtener poblaciones neuronales de alta pureza a partir de animales de laboratorio, y mantenerlas en condiciones estables durante periodos prolongados en superficies tratadas con polilisina. Este modelo ha permitido dilucidar numerosos mecanismos moleculares fundamentales. Sin embargo, a medida que se profundiza en la complejidad del sistema nervioso, se ha evidenciado que las neuronas interactúan estrechamente con otros tipos celulares. En consecuencia, los modelos tradicionales de monocultivo en 2D han evolucionado hacia sistemas más complejos y fisiológicamente relevantes, basados en cultivos multicelulares y plataformas multicompartimentales [203].

IV. METODOLOGIA

5.1. Consideraciones éticas

El proyecto en mención fue aprobado por el CIEA (Comité Institucional de Ética para el uso de Animales) de la UPCH. Asimismo, el código SIDISI del proyecto es: 20620.

5.2. Tipo de estudio

El presente estudio se llevó a cabo bajo un enfoque cuantitativo, de alcance explicativo y diseño experimental *in vitro*. Se buscó determinar la expresión de citoquinas pro y antiinflamatorias (IL-10, IL-1 β , TGF- β 1)

en cultivos celulares astrocíticos y mixtos de cerebro de rata, tras la exposición a antígenos excretor/secretor (E/S) y total de *Taenia solium*.

5.3. Tamaño de muestra

Para justificar el número de animales empleados, se consideraron tanto la variabilidad biológica como la necesidad de obtener un tamaño muestral que permita detectar diferencias significativas en la expresión de citoquinas. Así, se emplearon tres ratas crías (de uno a tres días de nacidas) por cada procedimiento de obtención de cultivo, repitiendo esta operación en diez ocasiones, para un total de treinta ratas (n=30). Se excluyeron aquellos animales que presentaran signos de enfermedad, malformación o condiciones de manejo inadecuadas, así como aquellos cultivos que no alcanzaran la confluencia celular o que evidencian contaminación microbiana.

5.4. Diseño experimental

Las crías de ratas fueron proporcionadas por el bioterio de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Una vez recibido las ratas cría (cepa Holtzman de tres días de nacido) del bioterio de UNMSM, se mantuvieron en jaulas aisladas de toda perturbación externa. Los sacrificios se realizaron el mismo día de la obtención de los animales.

El trabajo se inició con la obtención de las ratas cría y su posterior eutanasia, seguida de la extracción de los cerebros y la preparación de los cultivos celulares (mixto y astrocítico). De forma simultánea, se obtuvieron los antígenos (E/S y Total) de *T. solium*, los cuales fueron

aplicados a los cultivos junto con los controles: Lipopolisacárido (LPS) como control positivo y medio de cultivo como control negativo (CN). Tras veinticuatro horas de incubación a 37 °C y 5% de CO₂, se llevaron a cabo las técnicas de inmunofluorescencia para la determinación celular, y RT-qPCR para cuantificar la expresión de las citoquinas de interés. Finalmente, se procesaron los datos mediante pruebas estadísticas para su interpretación *Imagen N° 9*.

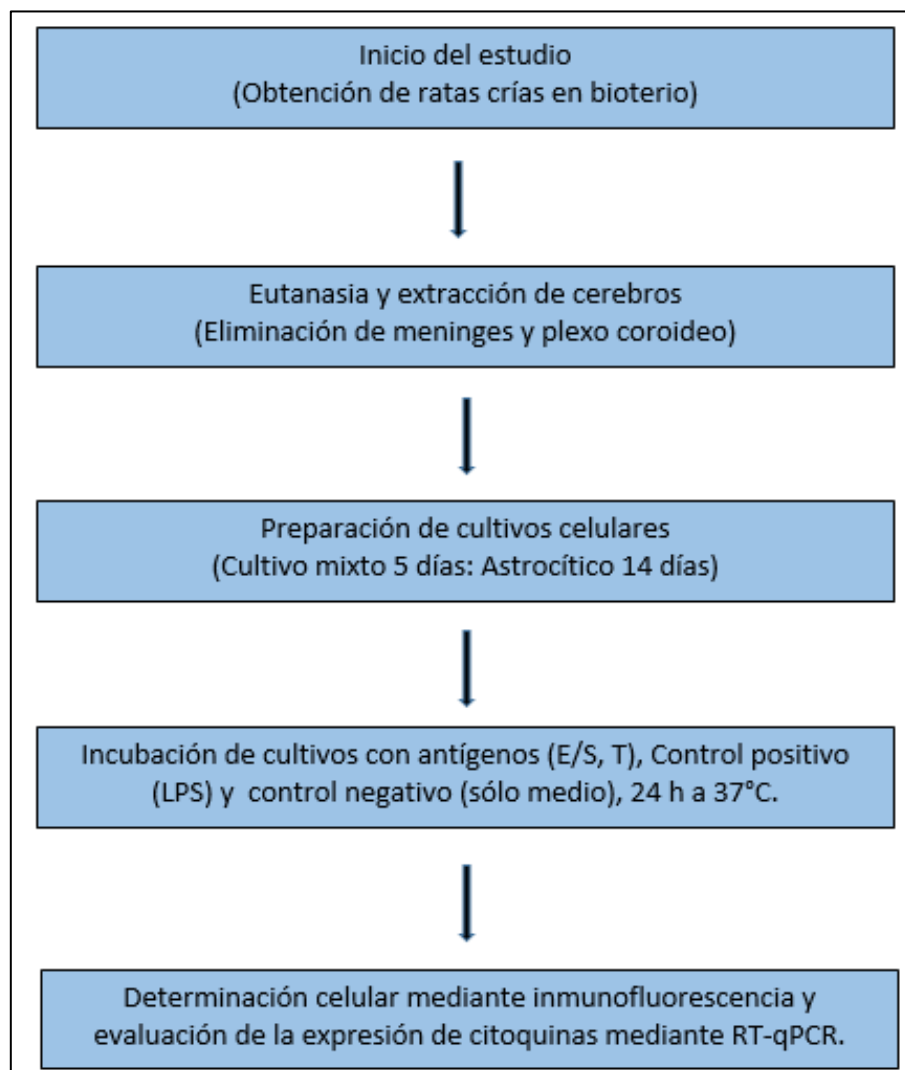


Imagen N°9: Diagrama de flujo del diseño experimental E/S (antígeno Excretorio/Secretorio), T (antígeno Total), LPS (Lipopolisacárido).

5.5. Procedimientos

A. Cultivo primario mixto y astrocítico

El procedimiento comenzó con el sacrificio del animal al que previamente se cubrió con papel aluminio y adormeció en hielo como primera técnica de eutanasia. Luego se realizó la decapitación como segunda técnica de eutanasia [204].

Se realizó la eliminación de meninges y plexo coroideo de cada cerebro de rata. Se resuspendió el tejido cerebral en medio de disección para luego incubar con tripsina (2,5%) durante 15 min. Se inactivó la tripsina con medio de crecimiento DMEM/F12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium y Ham's F12), en una proporción de 1:1. Luego, se filtró (filtro 0.2 μm) las células y se realizó el conteo celular usando una cámara de newbauer.

Por último, se usaron dos placas de crecimiento celular de 6 pozos por procedimiento a las cuales se sembraron (1×10^6 células/pozo) usando medio de crecimiento DMEM/F12 y se mantuvieron en una incubadora de cultivo a 37% °C y 5% de CO₂. Luego, se realizó la técnica de RT-qPCR para la evaluación del ARNm de la citoquinas (IL-10, IL-1 β , TGF β -1). Por otro lado, se usó una placa de 24 pozos la cual presentaba en la base de cada pozo un cubreobjeto de vidrio con forma circular, como superficie de crecimiento celular. Luego de tres días, se realizó el cambio de medio de crecimiento celular [205] [206]. Cabe decir, que se

consideró cinco días (5d) de crecimiento para el cultivo primario mixto y catorce días (14d) para cultivo primario astrocítico [207] [208].

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

Los antígenos del estadio de cisticerco *T. solium* fueron proporcionados por el laboratorio de Investigación de Enfermedades Infecciosas de la UPCH. El procedimiento por el cual fueron obtenidos se realizó de la siguiente manera:

b.1 Obtención de cisticercos:

Los cisticercos fueron obtenidos por disección de los músculos esqueléticos de cerdos infectados naturalmente, y colectados en placas Petri (21,5 cm^{*2}) con 5 mL de PBS-1X ph 7,2 (0.15 M) a razón de 20 cisticercos por placa. Usando una pipeta Pasteur, se transfirieron los cisticercos (20 cisticercos) a un tubo con 15 mL de PBS-1X ph 7,2 (0.15 M) y homogeneizó mediante 7 inversiones manuales del tubo. Luego, se incubó el tubo con cisticercos durante 15 minutos a temperatura ambiente (25 °C). Posteriormente, se removió el sobrenadante con una pipeta serológica de 5 mL. Luego, los cisticercos fueron transferidos uno por uno utilizando una pipeta Pasteur estéril, y se colocaron en el siguiente tubo de 15 mL para sus lavados con PBS-1X ph 7,2 (0.15 M). Después, usando pipetas Pasteur estériles, se distribuyeron entre 12–15 cisticercos con 2 mL de medio de crecimiento RPMI 1640 (Roswell Park Memorial Institute Medium) por cada pozo de una placa de 6 pozos de

crecimiento celular. La incubación se realizó durante 6 horas a 37 °C con 5 % de CO₂. Finalmente, se retiró el sobrenadante, y agregó nuevamente medio de crecimiento RPMI 1640 [209].

b.2 Obtención Antígeno E/S Cisticerco:

Al día siguiente (24 horas después) se recolectó y transfirió a tubos de 15 mL, el medio de crecimiento (sobrenadante) de cada pozo de la placa con cisticercos. Luego, se dispensó nuevamente medio de crecimiento RPMI a las placas con cisticercos, e incubó durante 18 horas a 37°C con 5% de CO₂. Posteriormente, se recolectó y transfirió a tubos de 15 mL el sobrenadante de las placas con cisticerco. Luego, se centrifugaron los tubos de 15 mL que contenían el sobrenadante previamente recolectado, a 2500 RPM (1000 xg) por 10 minutos a 4°C y se transfirió el sobrenadante obtenido a un nuevo tubo de 15 mL. Finalmente, se filtró el sobrenadante recolectado y se alicuotó en tubos de 1,5 mL (eppendorf) para futuros ensayos. Cabe mencionar que los tubos se mantuvieron almacenados a -80°C. Asimismo, sólo se trabajó con parásitos que no presentaban daño [210].

b.3 Obtención del Antígeno Total de Cisticerco:

Se depositaron 15 cisticercos en tubos de 15 mL y se resuspendió en 5 mL de PBS-1X ph 7,2 (0.15 M). Luego, se lisaron por sonicación los cisticercos en intervalos de 60 segundos durante 3 minutos a 33 watts en hielo. Posteriormente, se centrifugaron los tubos de 15mL a 15000 RPM por 45 minutos a 4°C. Seguidamente, se recolectó el sobrenadante en tubos de 15 mL. Finalmente, se filtró y alicuotó en

tubos de 1,5 mL (eppendorf) para futuros ensayos . Cabe mencionar que los tubos se mantuvieron almacenados a -80°C [210].

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

Previo a la realización de la técnica RT-qPCR se realizó la incubación antigénica en los cultivos primarios mixtos y astrocíticos. La incubación se realizó en las placas de 6 pozos en las cuales crecían las células. Cada condición se realizó usando tres pozos (triplicado). Se incubó 40 $\mu\text{g/ml}$ de antígeno E/S y total del estadio de cisticerco. Se usó 1 $\mu\text{g/mL}$ de LPS y como control negativo medio de cultivo DMEM/F12 [14]. La incubación antigénica se realizó durante 24 horas en la incubadora a 37°C con 5 % de CO_2 .

C. Ensayo de viabilidad celular por MTT

En la evaluación de la viabilidad celular se usó la técnica de MTT para lo cual se usaron cultivos primarios sin tratamiento, los cuales alcanzaron los tiempos de crecimiento establecidos (5 DIV y 14 DIV). Se añadieron 25 μL de solución de MTT (2,5 mg/mL , preparada a partir de un stock de 5 mg/mL) a cada pocillo de la placa de 96 pozos, alcanzando una concentración final de 0,5 mg/mL . Las placas se incubaron durante 5 horas a 37°C con 5% de CO_2 . Posteriormente, se eliminó el sobrenadante de cada pozo y se dispensó 100 μL de isopropanol para solubilizar los cristales de formazán. La absorbancia

se midió en un lector de placas (Tecan A-5082 Phenix Sunrise) a 570 nm con corrección de fondo a 630 nm. Finalmente, la viabilidad celular de cada condición se calculó mediante la fórmula correspondiente [211].

D. Inmunofluorescencia

Se retiró el medio de crecimiento DMEM/F12 de las placas de cultivo celular. Luego, se fijaron las células con formaldehído y sucrosa al 4% en proporción 1:1 durante 15 minutos. Seguidamente, se retiró la solución fijante y se lavaron las células con PBS-1X ph 7,2 (0.15 M). Posteriormente, se realizó la etapa de bloqueo celular usando una solución compuesta por PBS-1X ph 7,2 (0.15 M) con Tritón (X-100) al 0,2%, BSA (Albúmina de Suero Bovino) al 1% y 5% de suero de burro descomplementado. Luego, se dispensó e incubó la solución de bloqueo sobre la monocapa celular en el pozo a temperatura ambiente (25°C) durante una hora. Seguidamente, se lavaron las células en los pozos con PBS-1X ph 7,2 (0.15 M).

Posteriormente, se incubaron las células con una solución de anticuerpos primarios como Rabbit anti-GFAP 1:100 (Invitrogen, #180063) [212] junto con Mouse anti- β -Tubulin III 1:1000 [213] [214] y Goat anti-IBA1 1:500 (Abcam, #ab5076) [215], empleando la solución compuesta por PBS-1X ph 7,2 (0.15 M) con Tritón (X-100) al 0,2%, BSA al 1% y 5% de suero de burro y cabra

descomplementados, durante una hora a temperatura ambiente (25°C). Luego, se lavaron las células con PBS-1X ph 7,2 (0.15 M). Posteriormente, se realizó la incubación con los anticuerpos secundarios Goat anti-Rabbit Alexa Fluor 488 (Invitrogen, #A11008) junto con Goat anti-Mouse Alexa Fluor 594 (Invitrogen, #A11005) o Donkey anti-Goat Alexa Fluor 594 (Invitrogen, #A32758) en una dilución de 1:400, utilizando la solución compuesta por PBS-1X ph 7,2 (0.15 M) con Tritón (X-100) al 0,2%, BSA al 1% y 5% de suero de burro y cabra descomplementados, durante una hora a temperatura ambiente (25°C). Finalmente, se lavaron las células con PBS-1X ph 7,2 (0.15 M) y se utilizó solución de montaje Mowiol con DAPI al 1%. Es importante mencionar que para los controles negativos de la técnica de inmunofluorescencia, se usaron células incubadas únicamente con el anticuerpo secundario durante una hora a temperatura ambiente.

E. Diseño de primers

El diseño de primers se realizó usando los programas en línea Integrated DNA Technologies (IDT) y primer Blast. Los parámetros evaluados para el diseño de los primers fueron: longitud del primer, temperatura melting (T_m), % de GC (Guanina-Citocina) y ΔG (variación en la energía libre de gibbs).

Primero se realizó la búsqueda de los genes de las citoquinas (IL-10, IL-1 β , TGF β -1) usando el programa en línea del National Center for Biotechnology Information (NCBI), en el modelo animal *Rattus norvegicus* (Norway rat). Se copió la secuencia de cada citoquina y se

generó los primers mediante Primer Blast. Asimismo, también se generaron primers mediante el programa en línea IDT.

Luego se compararon los parámetros obtenidos de cada programa en línea (IDT y Primer Blast). Los primers debían de cumplir los siguientes parámetros: presentar una longitud de 18-25 nucleótidos, contenido de GC entre 40-60 %, T_m (temperatura de fusión) de aproximadamente 55–65°C, y que el T_m del par forward/reverse esté lo más cercana posible (ideal: $\pm 1-2^{\circ}\text{C}$), ΔG mayor a -2 kcal/mol. Por último, la empresa IDT generó los primers diseñados (*Anexos N° 2*).

F. RT-qPCR

Se extrajo el ARN total de las células del cultivo primario, usando el kit de extracción Direct-zol™ RNA Miniprep Plus (Cat No. R2070, Zymo Research, Orange, CA, EE. UU), de acuerdo con el manual del fabricante.

Se extrajo el medio de crecimiento DMEM/F12 de las células en las placas de 6 pozos. Luego, se realizó dos lavados con PBS-1X ph 7,2 (0.15 M) a cada pozo. Se usó 300 μ de TRI Reagent® para lisar las células. Luego se agregó un volumen igual de etanol (95-100 %) a la muestra lisada y se homogenizó. Se transfirió la mezcla a una columna Zymo-Spin™ IIIICG en un tubo de recolección y centrifugó a 10 000 x g durante 30 segundos. Se transfirió la columna a un nuevo tubo de recolección y desechó el flujo continuo. Posteriormente se agregó 400 μ l de ARN wash buffer a la columna y se centrifugó a 10 000 x g durante 30 segundos. En un tubo 100 μ se realizó una mezcla de 5 μ l

de ADNasa I (6 U/ μ l), 75 μ l de DNA Digestion Buffer y se homogeneizó por inversión suave, para luego agregar la mezcla directamente a la matriz de la columna. Luego se incubó a temperatura ambiente (20-30°C) durante 15 minutos. Después se agregó 400 μ l de Direct-zol™ RNA PreWash a la columna y se centrifugó a 10 000 x g durante 30 segundos. Luego, se desechó el flujo continuo. Posteriormente, se agregó 700 μ l de RNA Wash Buffer a la columna y se centrifugó a 10 000 x g durante 1 minuto para garantizar la eliminación completa del tampón de lavado. Se transfirió la columna con cuidado a un tubo sin ARNasa. Por último, para la obtención del ARN, se agregó 100 μ l de agua libre de DNasa/RNasa (Free Water) directamente a la matriz de la columna y se centrifugó a 10 000 x g durante 1 minuto. Se eliminó la columna y nos quedamos con la elusión del centrifugado.

La concentración del ARN extraído de cada muestra se midió usando Qubit RNA. Luego, se sometió inmediatamente a una reacción de transcripción inversa usando el Kit de síntesis de ADNc UltraScript 2.0 cDNA Synthesis Kit Separate Oligos, de acuerdo con el manual del fabricante.

Posteriormente, se procedió a realizar la técnica de qPCR, usando el kit qPCRBIO SyGreen Blue Mix SEPARATE-ROX, de acuerdo con el manual del fabricante, por triplicado (réplicas biológicas) para detectar y cuantificar el número de copias de genes de las citoquinas (IL-10, IL-1 β , TGF β -1) en el cDNA sintetizado. El número de ciclos y el tiempo de ciclaje se configuraron siguiendo las instrucciones del

protocolo del kit. Los niveles relativos de ARNm objetivo se normalizaron con respecto al control endógeno (actina β) mediante la fórmula $2^{-\Delta\Delta CT}$ [216].

Análisis de datos:

En la técnica de inmunofluorescencia, las células fueron visualizadas mediante un microscopio confocal (Zeiss LSM 880), y las imágenes se transfirieron a un ordenador mediante una cámara digital (Sound Vision Inc.). Se analizó las fotografías para identificar el tipo (GFAP, β -Tubulin e iba1) y número celular mediante el software Fiji, y los datos obtenidos se procesaron y cuantificaron utilizando el software Prism.

Para la evaluación estadística se realizó un conteo celular donde se usó 10 campos por fecha de realización de procedimiento (tres fechas de procedimiento en total), se obtuvieron 30 campos (30 fotos). Se cuantificó el promedio celular por tipo de célula de acuerdo al biomarcador identificado (GFAP, β -Tubulin e iba1). Se realizó una gráfica de barras para expresar los datos.

Por otro lado, en la técnica de RT-qPCR, se realizaron tres procedimientos (diferentes fechas), cada procedimiento presentaba cuatro condiciones de incubación (CN, CP, E/S, T) por cultivo primario, tanto de células astrocíticas como mixtas. Para cada tipo de condición de incubación se realizaron tres réplicas biológicas. Las evaluaciones estadísticas se realizaron usando los datos obtenidos del Delta Ct. Por último, se aplicó el método del $2^{-\Delta\Delta C(T)}$ para la

interpretación de datos, donde se transformaron los datos a logaritmo en base 2 para mostrar la expresión del *fold change* [216].

Para la evaluación de la prueba estadística se evaluó los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza. Los datos que cumplieron la normalidad se les realizó la prueba de análisis de varianza (ANOVA) de una vía o la prueba t como prueba estadística paramétrica. En los datos que no cumplieron los supuestos se les practicó métodos no paramétricos, utilizando específicamente la prueba de Kruskal-Wallis o U Mann Withney.

V. RESULTADOS

A. Evaluación de la viabilidad celular

La viabilidad celular se evaluó mediante la técnica de MTT, aplicada tanto al cultivo primario mixto como al cultivo primario astrocítico. El cultivo mixto presentó un 97,4 % de viabilidad tras 5 días de crecimiento, mientras que el cultivo astrocítico alcanzó un 83,3 % de viabilidad a los 14 días de crecimiento *Imagen N°10*.

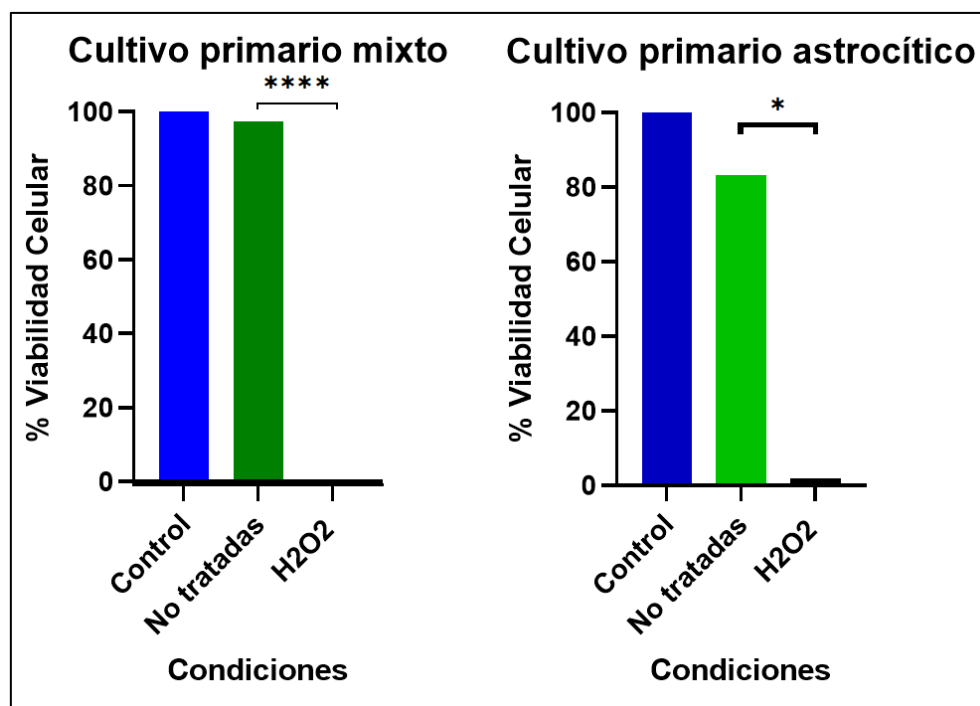


Imagen N°10: Evaluación de la viabilidad celular mediante la técnica de MTT. Se observa, un mayor % de viabilidad celular en células no tratadas con respecto a las que recibieron tratamiento con H₂O₂ (Peróxido de hidrógeno), en ambos tipos de cultivo primario. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía donde se observan diferencias significativas entre los grupos (P<0.05).

B. Determinación del tipo celular en los cultivos primarios

Se evaluó dos tipos de cultivos primarios celulares: mixto (5 días de crecimiento) y astrocítico (14 días de crecimiento) *Imagen N° 11A*. Los resultados mostraron una mayor diversidad celular en el cultivo primario mixto en comparación con el cultivo primario astrocítico, este último sólo mostró células astrocíticas, lo que evidencia su alta pureza *Imagen N° 11C*.

El cultivo primario mixto mostró diferencia estadística significativa ($p < 0.05$), al compararse las células astrocíticas, los cuales representaron el

73,97% de la población celular total, con respecto a las neuronas las cuales constituyeron el 26,03% *Imagen N° 11B*. Estos hallazgos indican que los astrocitos son más abundantes que las neuronas, en el cultivo primario mixto.

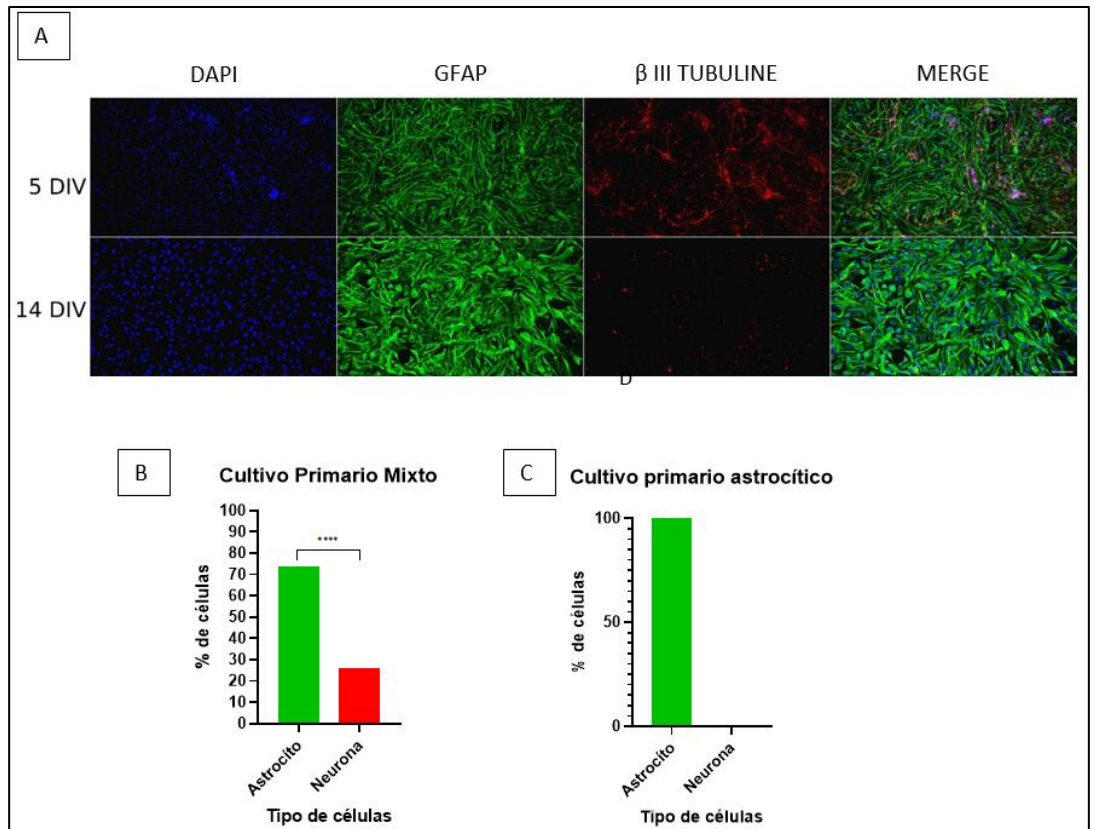


Imagen N°11: Diversidad celular en cultivo primario.

A. Se observa la expresión de células astrocíticas (verde) y neuronales (rojo) con tiempo de vida *in vitro* de 5 y 14 días (5 y 14 DIV) para cultivo primario mixto y astrocítico respectivamente. (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 ($P < 0.05$). Barra de escala: 100 μ m.

C. Expresión de citoquinas en cultivo primario

En la siguiente sección se presenta la expresión relativa de mRNA de las citoquinas antiinflamatorias (IL-10, TGF- β 1) y proinflamatoria (IL-1 β) mediante la técnica de RT-qPCR.

C.1 Comparación interna en cada grupo de cultivo primario

Se realizaron comparaciones entre las condiciones de incubación CP, E/S y Total con el control negativo (CN) para cada tipo de citoquina (IL-10, TGF- β 1 e IL-1 β) en ambos tipos de cultivo primario mixto y astrocítico (Anexos 3 y 4).

El análisis post hoc mediante la prueba de comparaciones múltiples de Dunn, realizado para el cultivo primario mixto, mostró que existen diferencias significativas en la expresión de la citocina IL-10 entre los grupos CP y E/S con respecto al grupo control CN ($p < 0.05$). Las condiciones CP y E/S muestran un *fold change* de 5,5 y 4,5 veces más de IL-10 en comparación con el grupo CN respectivamente. Por último, la condición Total no muestra significancia *Imagen N°12 (A)*.

Por otro lado, en la expresión de la citoquina IL-1 β se encontraron diferencias significativas entre los grupos CP, E/S ($p < 0.05$) respecto a CN. Las condiciones muestran un *fold change* de 5,5 y 4 veces más de expresión de la citoquina, en comparación con la condición CN respectivamente. La condición Total no muestra significancia estadística *Imagen N°12 (B)*. Por último, se observa significancia estadística en la condición E/S ($p < 0.05$) con un *fold change* de 0,8 veces menor de la expresión del RNAm de la citoquina TGF- β 1 con respecto a la condición CN *Imagen N°12 (C)*.

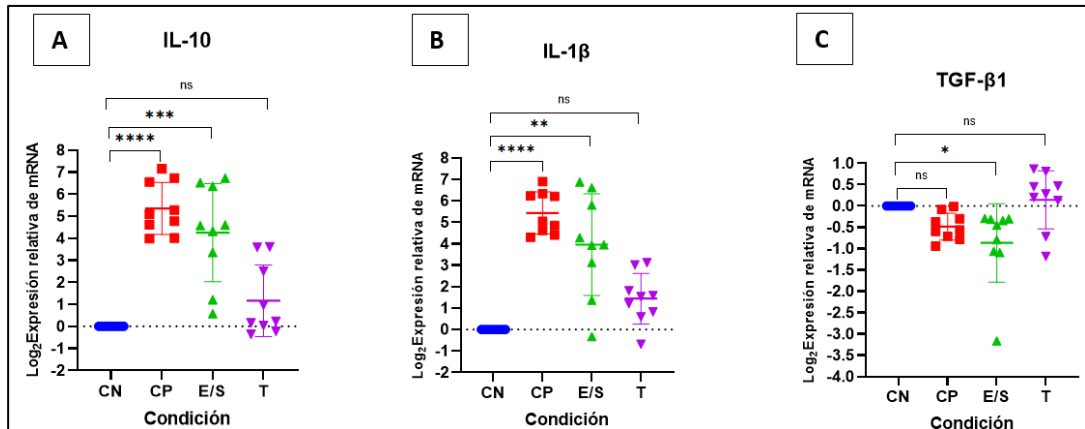


Imagen N° 12: Expresión del RNAm de las citoquinas pro y antiinflamatorias en cultivo primario mixto evaluando diferentes condiciones control negativo (CN), control positivo (CP), antígeno excretorio secretorio (E/S) y antígeno Total (T). Usando datos del Delta CT y $2^{-\Delta\Delta C T}$.

En el cultivo primario astrocítico, el análisis post hoc mediante la prueba de comparaciones múltiples de Dunn mostró que, para la citoquina IL-10 las condiciones CP y E/S muestran un *fold change* de 4 veces más de expresión de IL-10 en comparación con el grupo CN ($p < 0.05$). Por último, la condición Total no exhibe evidencia significativa en los resultados *Imagen N° 13 (A)*.

En la expresión de la citoquina IL-1β, las condiciones CP, E/S y Total presentaron un *fold change* de 4,5, 4 y 2,5 veces más de expresión de la citoquina en comparación con la condición CN ($p < 0.05$) *Imagen N°13 (B)* ($p < 0.05$). Por último, en la expresión de la citoquina TGF-β1 no muestra diferencia significativa en ninguna condición *Imagen N°13 (C)*.

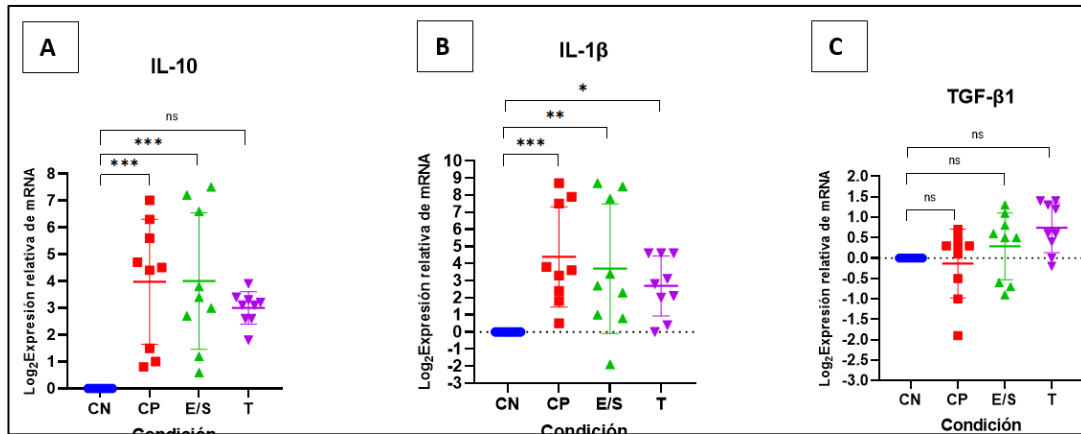


Imagen N°13: Expresión del RNAm de las citoquinas pro y antiinflamatorias en cultivo primario astrocítico evaluando diferentes condiciones de incubación (control negativo (CN), control positivo (CP), antígeno excretorio secretorio (E/S), antígeno Total (T). Usando datos del Delta CT y $2^{-\Delta\Delta C}$ (T)).

C.2 Comparación entre dos condiciones en cada cultivo primario

En las *Imágenes N°14 y N°15* se observan las comparaciones entre dos condiciones E/S y Total, en la expresión del mRNA de las citoquinas (IL-10, IL-1β, TGF-β1) en cultivo primario mixto y astrocítico de cerebro de rata respectivamente.

Existen diferencias significativas ($p < 0.05$) en la expresión de las citoquinas IL-10 e IL-1β en el cultivo primario mixto, en donde la condición E/S presenta un *fold change* de 3 y 2,5 veces más de mRNA respectivamente, en comparación con la condición de antígenos totales *Imagen N° 14 (A y B)*. Sin embargo, se observa una disminución en los niveles de la citoquina TGF-β1 en la condición E/S, con una reducción de aproximadamente 1 vez más en el *fold change* en comparación con la condición Total *Imagen N° 14C*.

Por otro lado, en el cultivo primario astrocítico, no se observan diferencias significativas al comparar la expresión de citoquinas en las condiciones E/S y Total *Imagen N° 15 (A-C)*.

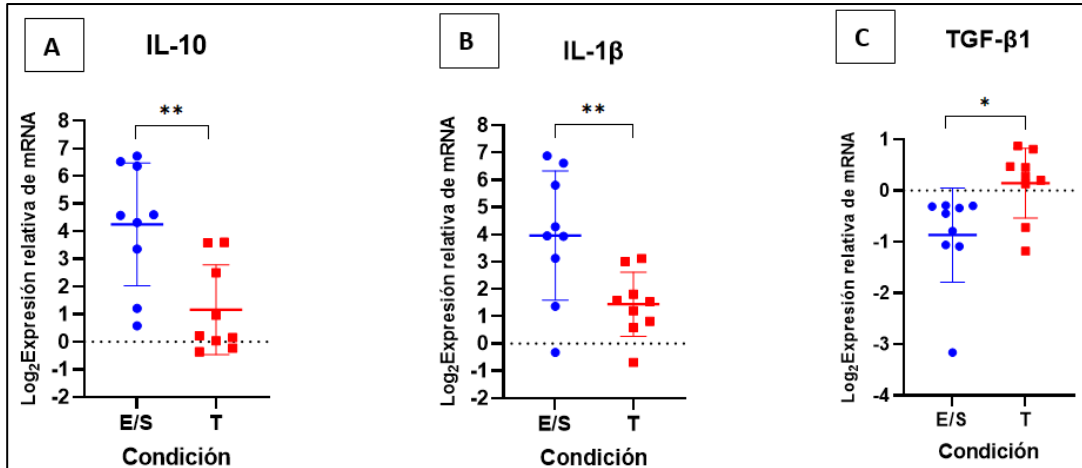


Imagen N°14 : Comparación de la expresión de las citoquinas (IL-10, IL-1β, TGF-β) entre las condiciones E/S y Total de los antígenos del estadio de cisticerco, en el cultivo primario mixto. Usando datos del Delta CT y $2^{-\Delta\Delta C(T)}$.

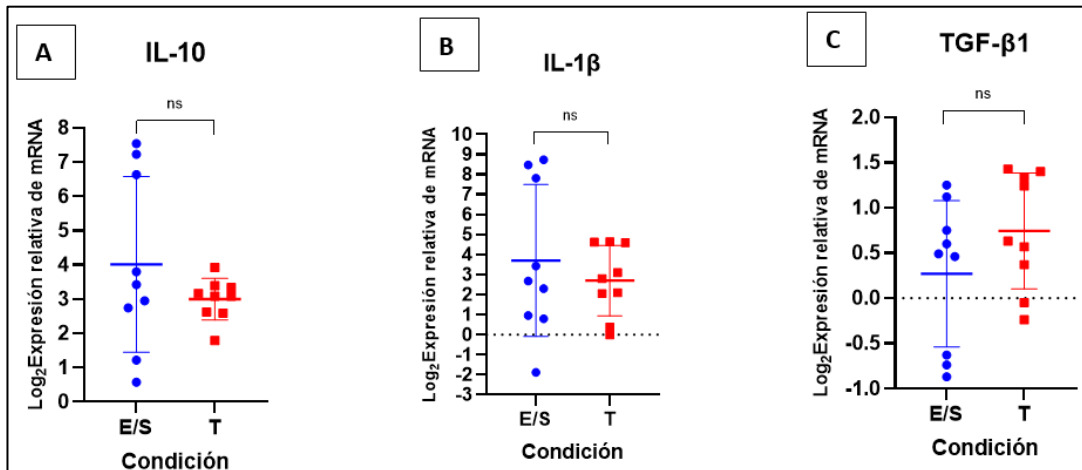


Imagen N°15 : Comparación de la expresión de las citoquinas (IL-10, IL-1β, TGF-β) entre las condiciones E/S y Total de los antígenos del estadio de cisticerco, en el cultivo primario astrocítico. Usando datos del Delta CT y $2^{-\Delta\Delta C(T)}$.

VI. DISCUSIONES

El estudio en mención evaluó la expresión relativa del mRNA de las citoquinas antiinflamatorias (IL-10 y TGF- β 1) y proinflamatoria (IL-1 β) en cultivos primarios mixtos y astrocíticos de cerebro de rata tras 24 horas de incubación con antígenos derivados del cisticerco de *T. solium*. Las condiciones experimentales incluyeron 4 condiciones (CN, CP, T, E/S). Los resultados revelaron diferentes patrones en la expresión génica dependiendo del tipo de cultivo y las condiciones evaluadas, enfatizando la complejidad de las interacciones entre los antígenos parasitarios y el sistema inmunológico del hospedador.

Un hallazgo clave fue que la condición E/S indujo significativamente la expresión de un perfil mixto de citoquinas antiinflamatoria y proinflamatoria IL-10 e IL-1B respectivamente en ambos tipos de cultivo primario. Lo antes mencionado sugiere una estrategia dual del parásito para modular la respuesta inmune del huésped. La capacidad del antígeno E/S para inducir tanto respuestas antiinflamatorias como proinflamatorias podría ser una estrategia parasitaria para manipular el microambiente inmunológico, manteniendo un equilibrio entre inflamación y supresión inmune. Se ha reportado en una investigación que el tejido cerebral que rodea al parásito cisticerco de *T. solium* exhibió un perfil génico proinflamatorio (IFN- γ , TNF- α , CSF-1, CSF-2, IL-1 β , IL-1 α) en un modelo murino de rata [217]. Los autores mencionan que tradicionalmente se ha considerado que los quistes viables de *T. solium* no generan inflamación significativa [218-220]; sin embargo, sus hallazgos sugieren una respuesta inmune activa incluso en esta fase. Es posible que estas citocinas reflejen mecanismos inmunorreguladores que permiten la persistencia del parásito en huéspedes asintomáticos [221], o que el quiste mismo induzca inmunosupresión local. Alternativamente, los autores sugieren que la rata,

aunque útil como modelo experimental, es un huésped atípico, y su respuesta inmune puede diferir de la humana. En otra investigación se reportó que tras la incubación de productos excretores secretores (ESP) del parásito de cisticerco de *T.solium* en células de macrófago, estos presentaron una expresión elevada de las citocinas Th1 y Th2 (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-4 e IL-10) [12], junto con una mayor expresión de los marcadores M2 de los macrófagos. Los autores sugieren que este cambio en la polarización de los macrófagos hacia el fenotipo M2 es esencial para proteger el daño tisular de la inflamación prolongada, ya que los macrófagos M1 se dirigen a la destrucción, mientras que los M2 se dirigen a la reparación.

Asimismo, es probable que los antígenos E/S del estadio de cisticerco utilizado en este estudio contengan diversas biomoléculas capaces de interactuar con receptores específicos en células del sistema nervioso central, como astrocitos y microglía, induciendo tanto respuestas proinflamatorias como antiinflamatorias.

Por otro lado, se observa una expresión significativa de la citoquina IL-1 β inducida por el antígeno Total en el cultivo primario de astrocitos. Según lo antes mencionado se tiene evidencia en una investigación que los metacéstodos degenerados en el tejido cerebral y muscular de cerdo, inducen niveles significativamente mayores de IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-2, IL-6 e IL-8, mientras que los quistes calcificados presentaron niveles elevados de IL-4, IL-10, TNF- α e IL-6 evaluados mediante las técnicas de RT-PCR y ELISA. Los autores mencionan que se evidenció una fuerte respuesta de citocinas reguladoras (IL-10) y Th1 en quistes viables y degenerativos, respectivamente [222]. Además, en otra investigación evaluaron la función de las citocinas proinflamatorias en los granulomas en fase inicial, aislaron ARN de granulomas cisticerciales murinos y verificaron la expresión de citocinas mediante la reacción en cadena de la

polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) y/o ensayos de protección con ribonucleasa (ARNasa). Se evidenció la expresión de citoquinas como MIF, IL-6, IL-18, IL-1 α , IL-1 β , IL-1 RA, and TNF- α [223]. Ambas investigaciones respaldan la expresión de citoquinas proinflamatorias secretadas de células inducidas por el cisticerco en estado degenerado. Si bien las investigaciones en mención no presentan las mismas condiciones que este proyecto, nos ayuda a entender que los antígenos del lisado de cisticerco de *T. solium*, el cual se relaciona con el estado degenerado del parásito, posiblemente induce un perfil proinflamatorio en el huésped. Lo antes mencionado probablemente debido a la variabilidad de antígenos parasitarios contenidos en el pool de la condición de antígenos totales, que incluyen proteínas estructurales y no estructurales, algunas de las cuales podrían tener funciones inmunomoduladoras más específicas [224] [225]. De esta manera podrían presentar mayor afinidad con las células astrocíticas que con otro tipo celular en el cerebro de un modelo murino. Esto resalta la importancia central de los astrocitos en la interacción con los antígenos parasitarios, posiblemente a través de receptores específicos que deberían investigarse en futuros estudios.

Cabe recordar que el cerebro es un órgano altamente sensible ante cualquier cambio, por lo que evitar un ambiente inflamatorio excesivo es de gran importancia para su correcto funcionamiento biológico [226].

Por otro lado, los niveles de mRNA de TGF- β 1 mostraron una disminución significativa con la condición E/S en el cultivo primario mixto. Esto sugiere que TGF- β 1 podría estar regulado por mecanismos independientes o específicos de ciertos contextos biológicos. Sin embargo, en otra investigación se evidenció un aumento de la citoquina TGF- β 1 y su receptor, en el tejido que rodea al parásito

cisticerco viable de *T. solium* en comparación con los tejidos contralaterales y los controles. Los autores mencionan que los genes TGF- β están implicados en una variedad de patologías del SNC, incluyendo la epilepsia y la neuroinflamación [227] [228], pero también se ha demostrado que promueven la neuroprotección y el mantenimiento del cerebro [229]. Concluyendo que se requieren investigaciones adicionales para dilucidar por completo el complejo papel del TGF- β en la patogénesis del NCC.

Nuestro estudio proporciona evidencia de que los antígenos E/S y T del estadio cisticerco de *T. solium* inducen respuestas inmunológicas diferenciadas, posiblemente en beneficio de su supervivencia. El antígeno E/S muestra una estrategia dual, promoviendo tanto respuestas antiinflamatorias como proinflamatorias en ambos tipos de cultivo primario. Con respecto al antígeno Total, muestra un perfil proinflamatorio mediante la expresión de la citoquina IL-1 β . Estos hallazgos resaltan la complejidad de las interacciones huésped-parásito y generan nuevas preguntas sobre los mecanismos moleculares subyacentes. Futuras investigaciones deberían centrarse en elucidar estos mecanismos y validar estos hallazgos en modelos *in vivo*.

VII. LIMITACIONES

Es importante reconocer las limitaciones del presente estudio.

- En primer lugar, la evaluación de la expresión génica se realizó en un único punto temporal (24 horas), lo que podría haber pasado por alto picos de expresión temprana o tardía.
- Además, aunque se empleó RT-qPCR para medir la expresión de ARN mensajero, no se confirmó si esta expresión se tradujo en

proteínas funcionales. Una evaluación proteómica sería esencial para validar los resultados.

- El análisis se limitó a tres citoquinas específicas, por lo que incluir un panel más amplio permitiría caracterizar de manera más completa el perfil inmunológico inducido por los antígenos.
- Por último, los estudios *in vitro*, son valiosos, pero no reproducen completamente las complejas interacciones del sistema nervioso central como en un entorno *in vivo*.

VIII. CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio respaldan parcialmente la hipótesis planteada. La exposición al antígeno excretor/secretor (E/S) del cisticerco de *Taenia solium* incrementó la expresión de IL-10 e IL-1 β en cultivos primarios astrocíticos y mixtos, pero no generó un aumento significativo de TGF- β 1 en ninguno de los modelos celulares. Por su parte, el antígeno total (T) indujo un perfil proinflamatorio en astrocitos, evidenciado por la mayor expresión de IL-1 β . Las diferencias observadas entre cultivos sugieren que el tipo y la combinación de poblaciones celulares influyen en la respuesta inmunomoduladora frente a los antígenos parasitarios. Estos hallazgos aportan evidencia de que los productos del parásito pueden favorecer un microambiente que equilibra la inflamación y la supresión inmune, lo que podría contribuir a la persistencia del estadio larval en el SNC. Se recomienda ampliar el estudio a diferentes tiempos de exposición, incluir un panel más amplio

de citoquinas y validar los resultados en modelos in vivo para comprender mejor su papel en la fisiopatología de la neurocisticercosis.

IX. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar cultivos primarios individuales de microglías y astrocitos, así como co-cultivos de neuronas con astrocitos y de astrocitos con microglías.
- Utilizar diferentes fracciones del pool de antígenos excretores/secretores (E/S) y totales (T) del parásito en su estadio de cisticerco de *Taenia solium*.
- Ampliar el análisis a un panel más extenso de citoquinas con funciones tanto proinflamatorias como antiinflamatorias.
- Evaluar diferentes tiempos de exposición (3 h, 6 h, 12 h, 72 h y 96 h) para analizar la respuesta de las citoquinas en cultivos primarios cerebrales.
- Implementar la técnica de ELISA utilizando el sobrenadante de las células tratadas con el antígeno parasitario del cisticerco, con el objetivo de determinar la expresión traduccional de las citoquinas.

X. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. 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.
2. de Lange A, Mahanty S, Raimondo JV. Model systems for investigating disease processes in neurocysticercosis. *Parasitology*. 2019 Apr; 146(5):553–62. doi: 10.1017/S0031182018001932.
3. Loukas A, Hotez P, Diemert D, et al. Hookworm infection. *Nat Rev Dis Primers*. 2016; 2:16088. doi:10.1038/nrdp.2016.88.
4. Eichenberger RM, Talukder MH, Field MA, Wangchuk P, Giacomini P, Loukas A, Sotillo J. Characterization of *Trichuris muris* secreted proteins and extracellular vesicles provides new insights into host–parasite communication. *J Extracell Vesicles*. 2018 Jan 21;7(1):1428004. doi:10.1080/20013078.2018.1428004.
5. Wangchuk P, Shepherd C, Constantinoiu C, Ryan RYM, Kouremenos KA, Becker L, et al. 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 Mar 25;87(4):e00851-18. doi:10.1128/IAI.00851-18.
6. Maizels RM, Smits HH, McSorley HJ. Modulation of host immunity by helminths: the expanding repertoire of parasite effector molecules. *Immunity*. 2018 Nov 20;49(5):801–18. doi:10.1016/j.immuni.2018.10.016.
7. Buck AH, Coakley G, Simbari F, McSorley HJ, Quintana JF, Le Bihan T, et al. Exosomes secreted by nematode parasites transfer small RNAs to

- mammalian cells and modulate innate immunity. *Nat Commun.* 2014 Nov 25;5:5488. doi:10.1038/ncomms6488.
8. Smyth DJ, Harcus Y, White MPJ, Gregory WF, Nahler J, Stephens I, et al. TGF- β mimic proteins form an extended gene family in the murine parasite *Heligmosomoides polygyrus*. *Int J Parasitol.* 2018 Apr;48(5):379–85. doi:10.1016/j.ijpara.2017.12.004.
 9. Flynn AF, Joyce MG, Taylor RT, Bennuru S, Lindrose AR, Sterling SL, et al. Intestinal UDP-glucuronosyltransferase as a potential target for the treatment and prevention of lymphatic filariasis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2019;13(9):e0007687. doi:10.1371/journal.pntd.0007687.
 10. 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.
 11. Prodjinotho UF, Lema J, Lacorcía M, Schmidt V, Vejzagic N, Sikasunge C, et al. 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.
 12. Arora N, Keshri AK, Kaur R, Rawat SS, Kumar R, Mishra A, et al. *Taenia solium* excretory secretory proteins (ESPs) suppress TLR4/AKT-mediated ROS formation in human macrophages via hsa-miR-125. *PLoS Negl Trop Dis.* 2023 Dec 29;17(12):e0011858. doi:10.1371/journal.pntd.0011858.
 13. Dametto E. Histopathology of the human brain in neurocysticercosis. *J Mol Histol Med Physiol.* 2016;1(1):106.

14. 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.
15. Ochoa-Sanchez A, Jiménez L, Landa A. The hamster model for identification of specific antigens of *Taenia solium* tapeworms. *J Biomed Biotechnol*. 2011;2011:504959. doi:10.1155/2011/504959.
16. Garcia HH, Del Brutto OH. *Taenia solium* cysticercosis. *Infect Dis Clin North Am*. 2000;14(1):97–119. doi:10.1016/s0891-5520(05)70220-8.
17. Garcia HH, Evans C, Nash T, Takayanagui O, White C, Botero D, et al. Current consensus guidelines for treatment of neurocysticercosis. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15(4):747–56. doi:10.1128/CMR.15.4.747-756.2002.
18. Sofroniew MV, Vinters HV. Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol*. 2010;119:7–35. doi:10.1007/s00401-009-0619-8.
19. Hamilton NB, Attwell D. Do astrocytes really exocytose neurotransmitters? *Nat Rev Neurosci*. 2010;11:227–38. doi:10.1038/nrn2803.
20. Siracusa R, Fusco R, Cuzzocrea S. Astrocytes: role and functions in brain pathologies. *Front Pharmacol*. 2019;10:1114. doi:10.3389/fphar.2019.01114.
21. Hernandez-Rabaza V, et al. Neuroinflammation increases GABAergic tone and impairs cognitive and motor function in hyperammonemia by increasing GAT-3 membrane expression. Reversal by sulforaphane by promoting M2 polarization of microglia. *J Neuroinflammation*. 2016;13:83. doi:10.1186/s12974-016-0549-z.

22. Ransohoff RM, Perry VH. Microglial physiology: unique stimuli, specialized responses. *Annu Rev Immunol.* 2009;27:119–45. doi:10.1146/annurev.immunol.021908.132528.
23. Aarum J, Sandberg K, Haerberlein SL, Persson MA. Migration and differentiation of neural precursor cells can be directed by microglia. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003;100:15983–8. doi:10.1073/pnas.2237050100.
24. Walton NM, Sutter BM, Laywell ED, Levkoff LH, Kearns SM, et al. Microglia instruct subventricular zone neurogenesis. *Glia.* 2006;54:815–25. doi:10.1002/glia.20419.
25. Block ML, Zecca L, Hong JS. Microglia-mediated neurotoxicity: uncovering the molecular mechanisms. *Nat Rev Neurosci.* 2007;8:57–69. doi:10.1038/nrn2038.
26. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood.* 1996;87(6):2095–147. doi:10.1182/blood.V87.6.2095.bloodjournal8762095.
27. Takeuchi O, Akira S. Pattern recognition receptors and inflammation. *Cell.* 2010;140(6):805–20. doi:10.1016/j.cell.2010.01.022.
28. Kelley KW, Bluthé RM, Dantzer R, Zhou JH, Shen WH, Johnson RW, et al. Cytokine-induced sickness behavior. *Brain Behav Immun.* 2003;17:112–8. doi:10.1016/s0889-1591(02)00077-6.
29. Sabat R, Grütz G, Warszawska K, Kirsch S, Witte E, Wolk K, et al. Biology of interleukin-10. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2010;21(5):331–44. doi:10.1016/j.cytogfr.2010.09.002.
30. Kremlev SG, Palmer C. Interleukin-10 inhibits endotoxin-induced pro-inflammatory cytokines in microglial cell cultures. *J Neuroimmunol.* 2005;162:71–80. doi:10.1016/j.jneuroim.2005.01.010.

31. Lynch AM, Walsh C, Delaney A, Nolan Y, Campbell VA, Lynch MA. Lipopolysaccharide-induced increase in signalling in hippocampus is abrogated by IL-10: a role for IL-1 β . *J Neurochem*. 2004;88:635–46. doi:10.1046/j.1471-4159.2003.02157.x.
32. Frenkel D, Huang Z, Maron R, Koldzic DN, Moskowitz MA, Weiner HL. Neuroprotection by IL-10-producing MOG CD4⁺ T cells following ischemic stroke. *J Neurol Sci*. 2005;233:125–32. doi:10.1016/j.jns.2005.03.022.
33. Henry CJ, Huang Y, Wynne AM, Godbout JP. Peripheral lipopolysaccharide (LPS) challenge promotes microglial hyperactivity in aged mice that is associated with exaggerated induction of both pro-inflammatory IL-1 β and anti-inflammatory IL-10 cytokines. *Brain Behav Immun*. 2009;23:309–17. doi:10.1016/j.bbi.2008.09.002.
34. Norden DM, Fenn AM, Dugan A, Godbout JP. TGF β produced by IL-10 redirected astrocytes attenuates microglial activation. *Glia*. 2014;62(6):881–95. doi:10.1002/glia.22647.
35. McCartney-Francis NL, Wahl SM. Transforming growth factor: a matter of life and death. *J Leukoc Biol*. 1994;55:401. doi:10.1002/jlb.55.3.401.
36. Wiessner C, Gehrmann J, Lindholm D, Topper J, Kreutzberg GW, Hossmann KA. Expression of transforming growth factor-1 and interleukin-1 mRNA in rat brain following transient forebrain ischemia. *Acta Neuropathol*. 1993;86:439–44. doi:10.1007/BF00228578.
37. Constam DB, Philipp U, Malipiero UV, ten Dijke M, Schachner M, Fontana A. Differential expression of transforming growth factor- β 1, -2, and -3 by glioblastoma cells, astrocytes, and microglia. *J Immunol*. 1992;148:1404–10.

38. Qian L, Wei SJ, Zhang D, Hu X, Xu Z, Wilson B, et al. Potent anti-inflammatory and neuroprotective effects of TGF- β 1 are mediated through the inhibition of ERK and p47phox-Ser345 phosphorylation and translocation in microglia. *J Immunol.* 2008;181(1):660–8. doi:10.4049/jimmunol.181.1.660.
39. Butovsky O, Jedrychowski MP, Moore CS, Cialic R, Lanser AJ, Gabriely G, et al. Identification of a unique TGF- β -dependent molecular and functional signature in microglia. *Nat Neurosci.* 2014;17:131–43. doi:10.1038/nn.3599.
40. Botero D, Restrepo M. *Parasitosis humanas*. 4th ed. Colombia: Fondo Editorial de la Corporación para Investigaciones Biológicas; 2003. p. 506.
41. 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.
42. Soulsby E JL. *Parasitología y enfermedades parasitarias*. 7^a ed. México: Interamericana; 1987. p. 823.
43. Quiroz H. Cestodos. En: Cordero Del Campillo M, Rojo Vázquez F, eds. *Parasitología veterinaria*. España: McGraw-Hill-Interamericana; 1999. p. 105–12.
44. Cordero Del Campillo M, Hidalgo Argüello M. Cisticercosis. En: Cordero Del Campillo M, Rojo Vázquez F, eds. *Parasitología veterinaria*. España: McGraw-Hill-Interamericana; 1999. p. 493–5.
45. Reyes H. Cisticercosis. En: Atias A, ed. *Parasitología clínica*. 3^a ed. Chile: Publicaciones Técnicas Mediterráneo; 1991. p. 355–9.

46. Tato P, Molinari J. Teniosis y cisticercosis. En: Becerril M, ed. *Parasitología médica: de las moléculas a la enfermedad*. México: Edamsa Impresiones S.A. de C.V.; 2004. p. 131–5.
47. 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.
48. Yoshino K. Experimental studies on the formation of the scolex of *Taenia solium*. *J Med Assoc Formosa*. 1933;32:169–71.
49. Acha P, Szyfres B. *Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales III*. 3ª ed. Washington DC: Organización Panamericana de la Salud (OPS); 2003. p. 413.
50. Victor B, Kanobana K, Gabriël S, Polman K, Deckers N, Dorny P, et al. Proteomic analysis of *Taenia solium* metacestode excretion-secretion proteins. *Proteomics*. 2012 Jun;12(11):1860–9. doi:10.1002/pmic.201100496.
51. Hancock K, Khan A, Williams FB, Yushak ML, 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;41:2577–86. doi:10.1128/JCM.41.6.2577-2586.2003.
52. Shepherd JC, Aitken A, McManus DP. 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.

53. 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;69:288–96. doi:10.1128/IAI.69.1.288-296.2001.
54. Vargas-Parada L, Laclette JP. Gene structure of *Taenia solium* paramyosin. *Parasitol Res.* 2003;89:375–8. doi:10.1007/s00436-002-0761-x.
55. Santivanez SJ, Hernández-González A, Chile N, Oleaga Á, et al. Proteomic study of activated *Taenia solium* oncospheres. *Mol Biochem Parasitol.* 2010;171:32–9. doi:10.1016/j.molbiopara.2010.01.004.
56. 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.
57. Ferrer E, Gonzalez LM, Foster-Cuevas M, Cortez MM, 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.
58. Salazar-Anton F, Lindh J. *Taenia solium*: a two-dimensional Western blotting method combined with the use of an EST library for the identification of immunogenic proteins recognized by sera from neurocysticercosis patients. *Exp Parasitol.* 2011;128:371–6. doi:10.1016/j.exppara.2011.05.010.
59. 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;32:1175–82. doi:10.1016/s0020-7519(02)00093-0.

60. Nguyen HA, Bae YA, Lee EG, Kim SH, et al. A novel sigma-like glutathione transferase of *Taenia solium* metacestode. *Int J Parasitol*. 2010;40:1097–106. doi:10.1016/j.ijpara.2010.03.007.
61. 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;105:781–7. doi:10.1007/s00436-009-1461-6.
62. 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;8:393–9. doi:10.2174/156802608783790857.
63. White AC Jr, Baig S, Chappell CL. Characterization of a cysteine proteinase from *Taenia crassiceps* cysts. *Mol Biochem Parasitol*. 1997;85:243–53. doi:10.1016/S0166-6851(96)02839-3.
64. Mendlovic F, Ostoa-Saloma P, Solís CF, Martínez-Ocana J, et al. Cloning, characterization, and functional expression of *Taenia solium* calreticulin. *J Parasitol*. 2004;90:891–3. doi:10.1645/GE-3325RN.
65. Nava G, Laclette JP, Bobes R, Carrero JC, et al. Cloning, sequencing and functional expression of cytosolic malate dehydrogenase from *Taenia solium*: purification and characterization of the recombinant enzyme. *Exp Parasitol*. 2011;128:217–24. doi:10.1016/j.exppara.2011.03.008.
66. Rodríguez-Contreras D, Skelly PJ, Landa A, Shoemaker CB, et al. Molecular and functional characterization and tissue localization of 2 glucose transporter homologues (TGTP1 and TGTP2) from the tapeworm *Taenia solium*. *Parasitology*. 1998;117:579–88. doi:10.1017/s003118209800345x.

67. Tsai IJ, Zarowiecki M, Holroyd N, et al. The genomes of four tapeworm species reveal adaptations to parasitism. *Nature*. 2013;496:57–63. doi:10.1038/nature12031.
68. 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.
69. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). CDC - Cysticercosis - Resources for Health Professionals. 2019. Available from: https://www.cdc.gov/parasites/cysticercosis/health_professionals/index.html
70. 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.
71. García HH, González AE, Rodríguez S, Gonzalves G, Llanos-Zavalaga F, Tsang VCW, Gilman RH. Epidemiología y control de la cisticercosis en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. 2010;27(4):592–7. doi:10.17843/rpmesp.2010.274.1533.
72. Valentín-Rodríguez A, Hernández-Fuentes A, Rodríguez-Roque MO. Neurocysticercosis infantil. A propósito de un caso. *Rev Méd Electrónica*. 2024;46. Epub 03 de junio de 2024.
73. 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:10.7705/biomedica.v37i2.2841.

74. Del Brutto OH, Garcia E, Talamas O, Sotelo J. Sex-related severity of inflammation in parenchymal brain cysticercosis. *Arch Intern Med.* 1988;148:544–6. doi:10.1001/archinte.148.3.544.
75. Saavedra H, Gonzales I, Alvarado MA, Porras MA, Vargas V, Cjuno RA, Martinez SM. Diagnóstico y manejo de la neurocisticercosis en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2010;27:586–91. doi:10.1590/S1726-46342010000400015.
76. Del Brutto OH, Santibanez R, Idrovo L. Epilepsy and neurocysticercosis in Atahualpa: a door-to-door survey in rural coastal Ecuador. *Epilepsia.* 2005;46:583–7. doi:10.1111/j.0013-9580.2005.36504.x.
77. Allen JE, Maizels RM. Diversity and dialogue in immunity to helminths. *Nat Rev Immunol.* 2011;11:375–88. doi:10.1038/nri2992.
78. Jackson JA, Friberg IM, Little S, Bradley JE. 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.
79. Alghanmi M, Minshawi F, Altorki TA, 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.
80. Zakeri A. Helminth-induced apoptosis: a silent strategy for immunosuppression. *Parasitology.* 2017;144:1663–76. doi:10.1017/S0031182017000841.
81. 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.

82. Haeberlein S, Obieglo K, Ozir-Fazalalikhhan A, Chayé 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):e1006539. doi:10.1371/journal.ppat.1006539.
83. Sulaiman AA, Zolnierczyk K, Japa O, Owen JP, Maddison BC, Emes RD, et al. A Trematode Parasite Derived Growth Factor Binds and Exerts Influences on Host Immune Functions via Host Cytokine Receptor Complexes. *PLoS Pathog.* 2016;12(11):e1005991. doi:10.1371/journal.ppat.1005991.
84. 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.
- ~~85.~~ 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.
86. 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.
87. 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.
88. 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.

89. 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):e00347-19. doi:10.1128/IAI.00347-19.
90. 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.
91. 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.
92. 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.
93. 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.
94. 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.
95. 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.

96. Robinson P, Garza A, Weinstock J, Serpa JA, Goodman JC, Eckols KT, et al. Substance P causes seizures in neurocysticercosis. *PLoS Pathog.* 2012;8(2):e1002489. doi:10.1371/journal.ppat.1002489.
97. 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.
98. 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.
99. Tharmalingam J, Prabhakar AT, Gangadaran P, Dorny P, Vercruyse J, Geldhof P, et al. Host Th1/Th2 immune response to *Taenia solium* cyst antigens in relation to cyst burden of neurocysticercosis. *Parasite Immunol.* 2016;38(10):628–34. doi:10.1111/pim.12351.
100. Marshall JS, Warrington R, Watson W, Kim HL. An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy Asthma Clin Immunol.* 2018;14(Suppl 2):49. doi:10.1186/s13223-018-0278-1.
101. Muoio V, Persson PB, Sendeski MM. The neurovascular unit—concept review. *Acta Physiol (Oxf).* 2014;210:790–8. doi:10.1111/apha.12250.
102. 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.

- 103.Linnerbauer M, Wheeler MA, Quintana FJ. Astrocyte Crosstalk in CNS Inflammation. *Neuron*. 2020;108(4):608–22. doi:10.1016/j.neuron.2020.08.012.
- 104.Liddel SA, Guttenplan KA, Clarke LE, Bennett FC, Bohlen CJ, Schirmer L, et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature*. 2017;541:481–7. doi:10.1038/nature21029.
- 105.Santos DE, Silva Lima SA, Moreira LS, Lima Costa S, de Sampaio Schitine C. New perspectives on heterogeneity in astrocyte reactivity in neuroinflammation. *Brain Behav Immun Health*. 2025;44:100948. doi:10.1016/j.bbih.2025.100948.
- 106.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.
- 107.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.
- 108.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(147):147ra111. doi:10.1126/scitranslmed.3003748.
- 109.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.
- 110.Zamanian JL, Xu L, Foo LC, Nouri N, Zhou L, Giffard RG, et al. Genomic analysis of reactive astrogliosis. *J Neurosci*. 2012;32(18):6391–410. doi:10.1523/JNEUROSCI.6221-11.2012.

111. Liddel SA, Barres BA. Reactive astrocytes: production, function, and therapeutic potential. *Immunity*. 2017;46:957–67. doi:10.1016/j.immuni.2017.06.006.
112. 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.
113. 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.
114. 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.
115. Lyck L, Santamaria ID, Pakkenberg B, Chemnitz J, Schröder HD, Finsen B, et al. An empirical analysis of the precision of estimating the numbers of neurons and glia in human neocortex using a fractionator-design with subsampling. *J Neurosci Methods*. 2009;182:143–56. doi:10.1016/j.jneumeth.2009.06.003.
116. Pelvig DP, Pakkenberg H, Stark AK, Pakkenberg B. Neocortical glial cell numbers in human brains. *Neurobiol Aging*. 2008;29:1754–62. doi:10.1016/j.neurobiolaging.2007.04.013.
117. da Fonseca AC, Matias D, Garcia C, Amaral R, Geraldo LH, Freitas C, et al. The impact of microglial activation on blood-brain barrier in brain diseases. *Front Cell Neurosci*. 2014;8:362. doi:10.3389/fncel.2014.00362.
118. Pont-Lezica L, Bechade C, Belarif-Cantaut Y, Pascual O, Bessis A. Physiological roles of microglia during development. *J Neurochem*. 2011;119:901–8. doi:10.1111/j.1471-4159.2011.07504.x.

119. Ohnishi M, Katsuki H, Fukutomi C, Takahashi M, Motomura M, Fukunaga M, et al. HMGB1 inhibitor glycyrrhizin attenuates intracerebral hemorrhage-induced injury in rats. *Neuropharmacology*. 2011;61:975–80. doi:10.1016/j.neuropharm.2011.06.026.
120. Orihuela R, McPherson CA, Harry GJ. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. *Br J Pharmacol*. 2016;173:649–65. doi:10.1111/bph.13139.
121. Dudvarski Stankovic N, Teodorczyk M, Ploen R, Zipp F, Schmidt MHH. Microglia-blood vessel interactions: a double-edged sword in brain pathologies. *Acta Neuropathol*. 2016;131:347–63. doi:10.1007/s00401-015-1524-y.
122. Boche D, Perry VH, Nicoll JA. Review: activation patterns of microglia and their identification in the human brain. *Neuropathol Appl Neurobiol*. 2013;39:3–18. doi:10.1111/nan.12011.
123. Kennedy RH, Silver R. Neuroimmune Signaling: Cytokines and the Central Nervous System. In: Pfaff DW, Volkow ND, Rubenstein JL, editors. *Neuroscience in the 21st Century*. Cham: Springer; 2022. doi:10.1007/978-1-4614-6434-1_174-1.
124. Mingomataj E, Bakiri AH. Regulator versus effector paradigm: interleukin-10 as indicator of the switching response. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2016;50:97–113. doi:10.1007/s12016-015-8514-7.
125. Moser DM, Zhang X. Interleukin 10: new perspectives on an old cytokine. *Immunol Rev*. 2008;226:205–18. doi:10.1111/j.1600-065X.2008.00706.x.
126. Park KW, Lee HG, Jin BK, Lee YB. Interleukin-10 endogenously expressed in microglia prevents lipopolysaccharide-induced neurodegeneration in the

- rat cerebral cortex in vivo. *Exp Mol Med.* 2007;39:812–9. doi:10.1038/emm.2007.88.
127. Gutierrez-Murgas YM, Skar G, Ramirez D, Beaver M, Snowden JN. IL-10 plays an important role in the control of inflammation but not in the bacterial burden in *S. epidermidis* CNS catheter infection. *J Neuroinflammation.* 2016;13:271. doi:10.1186/s12974-016-0741-1.
128. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O’Garra A. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol.* 2001;19:683–765. doi:10.1146/annurev.immunol.19.1.683.
129. Perriard G, Mathias A, Enz L, Canales M, Schlupe M, Gentner M, et al. Interleukin-22 is increased in multiple sclerosis patients and targets astrocytes. *J Neuroinflammation.* 2015;12:119. doi:10.1186/s12974-015-0335-3.
130. Sharma S, Yang B, Xi X, Grotta JC, Aronowski J, Savitz SI. IL-10 directly protects cortical neurons by activating PI-3 kinase and STAT-3 pathways. *Brain Res.* 2011;1373:189–94. doi:10.1016/j.brainres.2010.11.096.
131. Hutchins AP, Diez D, Miranda-Saavedra D. The IL-10/STAT3-mediated anti-inflammatory response: recent developments and future challenges. *Brief Funct Genomics.* 2013;12:489–98. doi:10.1093/bfgp/elt028.
132. Ellwardt E, Walsh JT, Kipnis J, Zipp F. Understanding the role of T cells in CNS homeostasis. *Trends Immunol.* 2016;37:154–65. doi:10.1016/j.it.2015.12.008.
133. Porro C, Cianciulli A, Panaro MA. The Regulatory Role of IL-10 in Neurodegenerative Diseases. *Biomolecules.* 2020;10(7):1017. doi:10.3390/biom10071017.

134. Martin NM, Griffin DE. Interleukin-10 modulation of virus clearance and disease in mice with alphaviral encephalomyelitis. *J Virol.* 2017;92. doi:10.1128/JVI.01517-17.
135. Yao J, Keri JE, Taffs RE, Colton CA. Characterization of interleukin-1 production by microglia in culture. *Brain Res.* 1992;591:88–93. doi:10.1016/0006-8993(92)90981-e.
136. Zhang W, Smith C, Howlett C, Stanimirovic D. Inflammatory activation of human brain endothelial cells by hypoxic astrocytes in vitro is mediated by IL-1beta. *J Cereb Blood Flow Metab.* 2000;20:967–78. doi:10.1097/00004647-200006000-00009.
137. Blasi F, Riccio M, Brogi A, Strazza M, Taddei ML, et al. Constitutive expression of interleukin-1beta (IL-1beta) in rat oligodendrocytes. *Biol Chem.* 1999;380:259–64. doi:10.1515/BC.1999.034.
138. Watt JA, Hobbs NK. Interleukin-1beta immunoreactivity in identified neurons of the rat magnocellular neurosecretory system: evidence for activity-dependent release. *J Neurosci Res.* 2000;60:478–89. doi:10.1002/(SICI)1097-4547(20000515)60:4<478::AID-JNR6>3.0.CO;2-R.
139. Wang XF, Yin L, Hu JG, Huang LD, Yu PP, et al. Expression and localization of p80 interleukin-1 receptor protein in the rat spinal cord. *J Mol Neurosci.* 2006;29:45–53. doi:10.1385/JMN:29:1:45.
140. Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunol Rev.* 2018;281(1):8–27. doi:10.1111/imr.12621.

141. Weber A, Wasiliew P, Kracht M. Interleukin-1 (IL-1) pathway. *Sci Signal*. 2010;3. doi:10.1126/scisignal.3105cm1.
142. Molenaar GJ, Berkenbosch F, van Dam AM, Lugard CM. Distribution of interleukin 1 beta immunoreactivity within the porcine hypothalamus. *Brain Res*. 1993;608:169–74. doi:10.1016/0006-8993(93)90791-k.
143. Greenfeder SA, Nunes P, Kwee L, Labow M, Chizzonite RA, Ju G. Molecular cloning and characterization of a second subunit of the interleukin 1 receptor complex. *J Biol Chem*. 1995;270:13757–65. doi:10.1074/jbc.270.23.13757.
144. French RA, VanHoy RW, Chizzonite R, Zachary JF, Dantzer R, et al. Expression and localization of p80 and p68 interleukin-1 receptor proteins in the brain of adult mice. *J Neuroimmunol*. 1999;93:194–202. doi:10.1016/s0165-5728(98)00224-0.
145. Thornberry NA, Bull HG, Calaycay JR, Chapman KT, Howard AD, et al. A novel heterodimeric cysteine protease is required for interleukin-1 beta processing in monocytes. *Nature*. 1992;356:768–74. doi:10.1038/356768a0.
146. Andrei C, Dazzi C, Lotti L, Torrisi MR, Chimini G, Rubartelli A. The secretory route of the leaderless protein interleukin 1beta involves exocytosis of endolysosome-related vesicles. *Mol Biol Cell*. 1999. doi:10.1091/mbc.10.5.1463.
147. Andrei C, Margiocco P, Poggi A, Lotti LV, Torrisi MR, Rubartelli A. Phospholipases C and A2 control lysosome-mediated IL-1 beta secretion: Implications for inflammatory processes. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101:9745–50. doi:10.1073/pnas.0308558101.
148. Qu Y, Franchi L, Nunez G, Dubyak GR. Nonclassical IL-1 beta secretion stimulated by P2X7 receptors is dependent on inflammasome activation and

- correlated with exosome release in murine macrophages. *J Immunol.* 2007;179:1913–25. doi:10.4049/jimmunol.179.3.1913.
149. Bergsbaken T, Fink SL, Cookson BT. Pyroptosis: Host cell death and inflammation. *Nat Rev Microbiol.* 2009;7:99–109. doi:10.1038/nrmicro2070.
150. Coeshott C, Ohnemus C, Pilyavskaya A, et al. Converting enzyme-independent release of TNF α and IL-1 β from a stimulated human monocytic cell line in the presence of activated neutrophils or purified proteinase-3. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999;96:6261–6. doi:10.1073/pnas.96.11.6261.
151. Sugawara S, Uehara A, Nochi T, et al. Neutrophil proteinase 3-mediated induction of bioactive IL-18 secretion by human oral epithelial cells. *J Immunol.* 2001;167:6568–75. doi:10.4049/jimmunol.167.11.6568.
152. Colotta F, Dower SK, Sims JE, Mantovani A. The type II ‘decoy’ receptor: a novel regulatory pathway for interleukin 1. *Immunol Today.* 1994;15:562–6. doi:10.1016/0167-5699(94)90217-8.
153. Colotta F, Re F, Muzio M, Bertini R, Polentarutti N, Sironi M, et al. Interleukin-1 type-II receptor—a decoy target for IL-1 that is regulated by IL-4. *Science.* 1993;261:472–5. doi:10.1126/science.8332913.
154. Lingel A, Weiss TM, Niebuhr M, Pan B, Appleton BA, Wiesmann C, et al. Structure of IL-33 and its interaction with the ST2 and IL-1RACP receptors—insight into heterotrimeric IL-1 signaling complexes. *Structure.* 2009;17:1398–410. doi:10.1016/j.str.2009.08.009.
155. Schreuder H, Tardif C, Trump-Kallmeyer S, Soffientini A, Sarubbi E, Akesson A, et al. A new cytokine-receptor binding mode revealed by the crystal structure of the IL-1 receptor with an antagonist. *Nature.* 1997;386:194–200. doi:10.1038/386194a0.

156. Korherr C, Hofmeister R, Wesche H, Falk W. A critical role for interleukin-1 receptor accessory protein in interleukin-1 signaling. *Eur J Immunol.* 1997;27:262–7. doi:10.1002/eji.1830270139.
157. Boraschi D, Italiani P, Weil S, Martin MU. The family of the interleukin-1 receptors. *Immunol Rev.* 2018;281:197–232. doi:10.1111/imr.12606.
158. Medzhitov R, Preston-Hurlburt P, Kopp E, Stadlen A, Chen CQ, Ghosh S, Janeway CA Jr. MyD88 is an adaptor protein in the Toll/IL-1 receptor family signaling pathways. *Mol Cell.* 1998;2:253–8. doi:10.1016/s1097-2765(00)80136-7.
159. Burns K, Martinon F, Esslinger C, Pahl H, Schneider P, Bodmer JL, et al. MyD88, an adapter protein involved in interleukin-1 signaling. *J Biol Chem.* 1998;273:12203–9. doi:10.1074/jbc.273.20.12203.
160. Ferrao R, Wu H. Helical assembly in the death domain (DD) superfamily. *Curr Opin Struct Biol.* 2012;22:241–7. doi:10.1016/j.sbi.2012.02.006.
161. Motshwene PG, Moncrieffe MC, Grossmann JG, Kao C, Ayaluru M, Sandercock AM, et al. An oligomeric signaling platform formed by the Toll-like receptor signal transducers MyD88 and IRAK-4. *J Biol Chem.* 2009;284:25404–11. doi:10.1074/jbc.M109.022392.
162. Dossang ACG, Motshwene PG, Yang Y, Symmons MF, Bryant CE, Borman S, et al. The N-terminal loop of IRAK-4 death domain regulates ordered assembly of the myddosome signalling scaffold. *Sci Rep.* 2016;6:37267. doi:10.1038/srep37267.
163. Burns K, Clatworthy J, Martin L, Martinon F, Plumpton C, Maschera B, et al. Tollip, a new component of the IL-1RI pathway, links IRAK to the IL-1 receptor. *Nat Cell Biol.* 2000;2:346–51. doi:10.1038/35014038.

164. Moynagh PN. The roles of pellino E3 ubiquitin ligases in immunity. *Nat Rev Immunol.* 2014;14:122–31. doi:10.1038/nri3599.
165. Li S, Strelow A, Fontana EJ, Wesche H. IRAK-4: a novel member of the IRAK family with the properties of an IRAK-kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99:5567–72. doi:10.1073/pnas.082100399.
166. Kollwe C, Mackensen AC, Neumann D, Knop J, Cao P, Li SU, et al. Sequential autophosphorylation steps in the interleukin-1 receptor-associated kinase-1 regulate its availability as an adapter in interleukin-1 signaling. *J Biol Chem.* 2004;279:5227–36. doi:10.1074/jbc.M309251200.
167. Baud V, Liu ZG, Bennett B, Suzuki N, Xia Y, Karin M. Signaling by proinflammatory cytokines: oligomerization of TRAF2 and TRAF6 is sufficient for JNK and IKK activation and target gene induction via an amino-terminal effector domain. *Genes Dev.* 1999;13:1297–308. doi:10.1101/gad.13.10.1297.
168. Ordureau A, Smith H, Windheim M, Peggie M, Carrick E, Morrice N, Cohen P. The IRAK-catalysed activation of the E3 ligase function of pellino isoforms induces the Lys63-linked polyubiquitination of IRAK1. *Biochem J.* 2008;409:43–52. doi:10.1042/BJ20071365.
169. Smith H, Peggie M, Campbell DG, Vandermoere F, Carrick E, Cohen P. Identification of the phosphorylation sites on the E3 ubiquitin ligase pellino that are critical for activation by IRAK1 and IRAK4. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2009;106:4584–90. doi:10.1073/pnas.0900774106.
170. Strickson S, Emmerich CH, Goh ETH, Zhang J, Kelsall IR, Macartney T, et al. Roles of the TRAF6 and pellino E3 ligases in MyD88 and RANKL

- signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114. doi:10.1073/pnas.1702367114.
171. Bent R, Moll L, Grabbe S, Bros M. Interleukin-1 beta—A friend or foe in malignancies? *Int J Mol Sci*. 2018;19(8):2155. doi:10.3390/ijms19082155.
172. Shim JH, Xiao CC, Paschal AE, Bailey ST, Rao P, Hayden MS, et al. TAK1, but not TAB1 or TAB2, plays an essential role in multiple signaling pathways in vivo. *Genes Dev*. 2005;19:2668–81. doi:10.1101/gad.1360605.
173. Sato S, Sanjo H, Takeda K, Ninomiya-Tsuji J, Yamamoto M, Kawai T, et al. Essential function for the kinase TAK1 in innate and adaptive immune responses. *Nat Immunol*. 2005;6:1087–95. doi:10.1038/ni1255.
174. Hirata Y, Takahashi M, Morishita T, Noguchi T, Matsuzawa A. Post-translational modifications of the TAK1-TAB complex. *Int J Mol Sci*. 2017;18:205. doi:10.3390/ijms18010205.
175. Pauls E, Nanda SK, Smith H, Toth R, Arthur JSC, Cohen P. Two phases of inflammatory mediator production defined by the study of IRAK2 and IRAK1 knock-in mice. *J Immunol*. 2013;191:2717–30. doi:10.4049/jimmunol.1203268.
176. Dinarello CA, van der Meer JWM. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in humans. *Semin Immunol*. 2013;25:469–84. doi:10.1016/j.smim.2013.10.008.
177. Kollwe C, Neumann D, Martin MU. The first two N-terminal immunoglobulin-like domains of soluble human IL-1 receptor type II are sufficient to bind and neutralize IL-1beta. *FEBS Lett*. 2000;487:189–93. doi:10.1016/s0014-5793(00)02345-0.

178. Neumann D, Kollewe C, Martin MU, Boraschi D. The membrane form of the type II IL-1 receptor accounts for inhibitory function. *J Immunol.* 2000;165:3350–7. doi:10.4049/jimmunol.165.6.3350.
179. Palomo J, Dietrich D, Martin P, Palmer G, Gabay C. The interleukin (IL)-1 cytokine family—Balance between agonists and antagonists in inflammatory diseases. *Cytokine.* 2015;76:25–37. doi:10.1016/j.cyto.2015.06.017.
180. Cao H, Zhang YQ. Spinal glial activation contributes to pathological pain states. *Neurosci Biobehav Rev.* 2008;32:972–83. doi:10.1016/j.neubiorev.2008.03.009.
181. Zhang JM, An J. Cytokines, inflammation and pain. *Int Anesthesiol Clin.* 2007;45(2):7–37. doi:10.1097/AIA.0b013e318034194e.
182. Dinarello CA, Simon A, van der Meer JWM. Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 2012;11:633–52. doi:10.1038/nrd3800.
183. Tominaga H, Suzuki HI. TGF-beta signaling in cellular senescence and aging-related pathology. *Int J Mol Sci.* 2019;20:5002. doi:10.3390/ijms20205002.
184. Meyers JA, Kessler E.A. TGF-beta family signaling in neural and neuronal differentiation, development, and function. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2017. doi:10.1101/cshperspect.a022244.
185. Pan S, Zhou Y, Yan L, Xuan F, Tong J, Li Y, et al. TGF-beta1 is associated with deficits in cognition and cerebral cortical thickness in first-episode schizophrenia. *J Psychiatry Neurosci.* 2022;47:E86–98. doi:10.1503/jpn.210121.

186. Yamamoto Y, Ihara M. Disruption of transforming growth factor-beta superfamily signaling: A shared mechanism underlying hereditary cerebral small vessel disease. *Neurochem Int.* 2017;107:211–8. doi:10.1016/j.neuint.2016.12.003.
187. Xue X, Zhang W, Zhu J, Chen X, Zhou S, Xu Z, et al. Aquaporin-4 deficiency reduces TGF-beta1 in mouse midbrains and exacerbates pathology in experimental Parkinson's disease. *J Cell Mol Med.* 2019;23:2568–82. doi:10.1111/jcmm.14147.
188. Yu P, Wang H, Katagiri Y, Geller HM. An in vitro model of reactive astrogliosis and its effect on neuronal growth. *Methods Mol Biol.* 2012;814:327–40. doi:10.1007/978-1-61779-452-0_21.
189. Liddel SA, Guttenplan KA, Clarke LE, Bennett FC, Bohlen CJ, Schirmer L, et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia. *Nature.* 2017;541:481–7. doi:10.1038/nature21029.
190. Abutbul J, Shapiro I, Szaingurten-Solodkin I, Levy N, Carmy Y, Baron R, et al. TGF-beta signaling through SMAD2/3 induces the quiescent microglial phenotype within the CNS environment. *Glia.* 2012;60:1160–71. doi:10.1002/glia.22343.
191. Derynck R, et al. Human transforming growth factor-beta complementary DNA sequence and expression in normal and transformed cells. *Nature.* 1985;316:701–5. doi:10.1038/316701a0.
192. Dubois CM, Laprise MH, Blanchette F, Gentry LE, Leduc R. Processing of transforming growth factor beta 1 precursor by human furin convertase. *J Biol Chem.* 1995;270:10618–24. doi:10.1074/jbc.270.18.10618.

193. Shi M, et al. Latent TGF-beta structure and activation. *Nature*. 2011;474:343–9. doi:10.1038/nature10152.
194. Miyazono K, Olofsson A, Colosetti P, Heldin CH. A role of the latent TGF-beta 1-binding protein in the assembly and secretion of TGF-beta 1. *EMBO J*. 1991;10:1091–101. doi:10.1002/j.1460-2075.1991.tb08049.x.
195. Lockhart-Cairns MP, et al. Latent TGFbeta complexes are transglutaminase cross-linked to fibrillin to facilitate TGFbeta activation. *Matrix Biol*. 2022;107:24–39. doi:10.1016/j.matbio.2022.01.005.
196. Deng Z, Fan T, Xiao C, et al. TGF- β signaling in health, disease, and therapeutics. *Signal Transduct Target Ther*. 2024;9:61. doi:10.1038/s41392-024-01764-w.
197. Gibbs RA, et al. Genome sequence of the Brown Norway rat yields insights into mammalian evolution. *Nature*. 2004;428:493–521. doi:10.1038/nature02426.
198. Waterston RH, et al. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. *Nature*. 2002;420:520–62. doi:10.1038/nature01262.
199. Cowley AW Jr, Liang M, Roman RJ, Greene AS, Jacob HJ. Consomic rat model systems for physiological genomics. *Acta Physiol Scand*. 2004;181:585–92. doi:10.1111/j.1365-201X.2004.01334.x.
200. Kwitek-Black AE, Jacob HJ. 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.
201. Stein GS, et al. *Human Stem Cell Technology and Biology: A Research Guide and Laboratory Manual*. Hoboken (NJ): Wiley & Sons; 2011.

202. Freshney RI. *Culture of Animal Cells: A Manual of Basic Technique*. 6th ed. Hoboken (NJ): John Wiley & Sons; 2010. doi:10.1002/9780470649367.
203. 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.
204. Phifer CB, Terry LM. Use of hypothermia for general anesthesia in preweanling rodents. *Physiol Behav*. 1986;38(6):887–90.
205. Lian H, Roy E, Zheng H. Protocol for Primary Microglial Culture Preparation. *Bio Protoc*. 2016;6(21). doi:10.21769/BioProtoc.1989.
206. Ni M, Aschner M. Neonatal rat primary microglia: Isolation, culturing, and selected applications. *Curr Protoc Toxicol*. 2010. doi:10.1002/0471140856.tx1217s43.
207. Di Benedetto B, ed. *Astrocytes*. Methods in Molecular Biology. New York: Springer; 2019. doi:10.1007/978-1-4939-9068-9.
208. Schildge S, Bohrer C, Beck K, Schachtrup C. Isolation and culture of mouse cortical astrocytes. *J Vis Exp*. 2013;(71). doi:10.3791/50079.
209. Canedo L, Laclette JP, Morales E. Evagination of the metacystode of *T. solium*. In: Cysticercosis: Present State of Knowledge and Perspectives. New York: Academic Press; 1982. p. 36. doi:10.1056/NEJM19960905335101.
210. 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 Dis*. 2015;9(10):e0004143. doi:10.1371/journal.pntd.0004143.
211. Kamiloglu S, Sari G, Ozdal T, Capanoglu E. Guidelines for cell viability assays. *Food Front*. 2020;1(3):332–49. doi:10.1002/fft2.44.

212. Gebara E, Udry F, Sultan S, Toni N. Taurine increases hippocampal neurogenesis in aging mice. *Stem Cell Res.* 2015;14(3):369–79. doi:10.1016/j.scr.2015.04.001.
213. Furthmann N, Bader V, Angersbach L, Blusch A, Goel S, Sánchez-Vicente A, et al. NEMO reshapes the α -Synuclein aggregate interface and acts as an autophagy adapter by co-condensation with p62. *Nat Commun.* 2023;14(1):8368. doi:10.1038/s41467-023-44033-0.
214. Kawatani K, Holm ML, Starling SC, Martens YA, Zhao J, Lu W, et al. ABCA7 deficiency causes neuronal dysregulation by altering mitochondrial lipid metabolism. *Mol Psychiatry.* 2024;29(3):809-19. doi:10.1038/s41380-023-02372-w.
215. 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;41(3):591–603. doi:10.1007/s10571-020-00874-7.
216. Rao X, Huang X, Zhou Z, Lin X. An improvement of the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis. *Bioinforma Biomath.* 2013;3(3):71–85.
217. Carmen-Orozco RP, Dávila-Villacorta DG, Delgado-Kamiche AD, Celiz RH, Trompeter G, Sutherland G, et al. Changes in inflammatory gene expression in brain tissue adjacent and distant to a viable cyst in a rat model for neurocysticercosis. *PLoS Negl Trop Dis.* 2021;15(4):e0009295. doi:10.1371/journal.pntd.0009295.
218. García HH, Gonzalez AE, Evans CA, Gilman RH. Cisticercosis por *Taenia solium*. *Lancet.* 2003;362. doi:10.1016/S0140-6736(03)14117-7.

219. Mahanty S, Orrego MA, Mayta H, Marzal M, Cangalaya C, Paredes A, et al. Post-treatment vascular leakage and inflammatory responses around brain cysts in porcine neurocysticercosis. *PLoS Negl Trop Dis*. 2015;9:e0003577. doi:10.1371/journal.pntd.0003577.
220. Verastegui MR, Mejia A, Clark T, Gavidia CM, Mamani J, Ccopa F, et al. Novel rat model for neurocysticercosis using *Taenia solium*. *Am J Pathol*. 2015;185:482–90. doi:10.1016/j.ajpath.2015.04.015.
221. Maizels RM, McSorley HJ. Regulación del sistema inmunitario del huésped por parásitos helmintos. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;138:666–75. doi:10.1016/j.jaci.2016.07.007.
222. Singh AK, Prasad KN, Prasad A, Tripathi M, Gupta RK, Husain N. Immune responses to viable and degenerative metacestodes of *Taenia solium* in naturally infected swine. *Int J Parasitol*. 2013;43(14):1101–7. doi:10.1016/j.ijpara.2013.07.009.
223. Patil S, et al. Proinflammatory cytokines in granulomas associated with murine cysticercosis are not the cause of seizures. *J Parasitol*. 2006;92(4):738–41. doi:10.1645/GE-676R1.1.
224. Thompson DP, Geary TG. Helminth surfaces. In: *Molecular Medical Parasitology*. 2003. p. 297–338. doi:10.1016/B978-012473346-6/50016-8.
225. Li L, He W, Fan X, Liu M, Luo B, Yang F, et al. Proteomic analysis of *Taenia solium* cysticercus and adult stages. *Front Vet Sci*. 2023;9:934197. doi:10.3389/fvets.2022.934197.
226. Segarra M, Aburto MR, Acker-Palmer A. Blood-brain barrier dynamics to maintain brain homeostasis. *Trends Neurosci*. 2021;44(5):393–405. doi:10.1016/j.tins.2020.12.002.

227. Bar-Klein G, Cacheaux LP, Kamintsky L, Prager O, Weissberg I, Schoknecht K, et al. Losartan prevents acquired epilepsy via TGF- β signaling suppression: Astrocytic TGF- β and epilepsy. *Ann Neurol*. 2014;75:864–75. doi:10.1002/ana.24147.
228. Kashima R, Hata A. The role of TGF- β superfamily signaling in neurological disorders. *Acta Biochim Biophys Sin*. 2018;50:106–20. doi:10.1093/abbs/gmx124.
229. Dobolyi A, Vincze C, Pál G, Lovas G. The neuroprotective functions of transforming growth factor beta proteins. *Int J Mol Sci*. 2012;13:8219–58. doi:10.3390/ijms13078219.

XI. ANEXOS

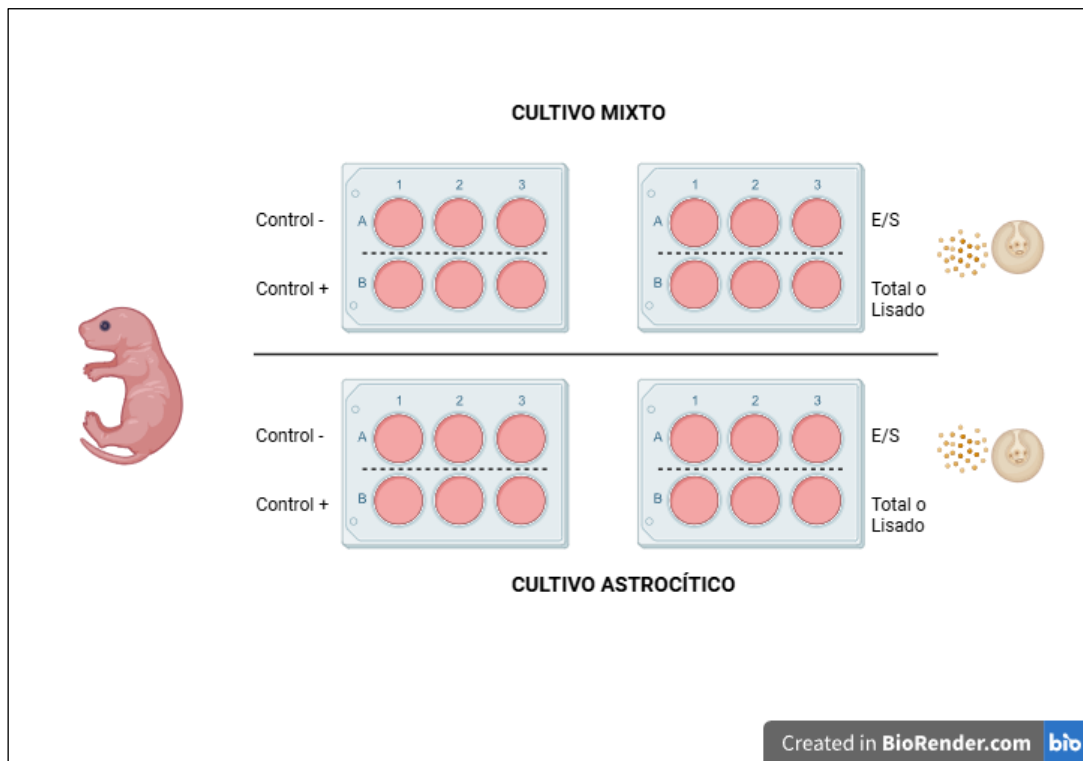


Imagen N°16: Diseño experimental de incubación antigénica en cultivo primario mixto y astrocítico.

Citoquina		Sequence (5' > 3')	Length
IL-10	Forward	ACAATAACTGCACCCACTTCC	21
	Reverse	AGGAATCTGTCAGCACTATGTTG	23
IL-1 β	Forward	GACAAGCAACGACAAAATCCC	21
	Reverse	TGGGTATTGTTTGGGATCCAC	21
TGF β 1	Forward	CCTGAGTGGCTGTCTTTTGA	20
	Reverse	CGTGGAGTACATTATCTTTGCTG	23

Tabla 2: Secuencias de los primers de las citoquinas (IL-10, IL-1 β , TGF- β 1) y el control endógeno (Actina β).

CONDICIÓN	PROMEDIO				DELTA				DDELTA				2^A			
	IL-10	IL-1B	TGFB	ACTINA	IL-10	IL-1B	TGFB		IL-10	IL-1B	TGFB		IL-10	IL-1B	TGFB	
CNA	32.32	26.72	24.20	17.40	14.92	9.32	6.80	0	0	0	0	1	1	1	1	1
CNB	31.30	26.89	24.06	17.46	13.84	9.44	6.61	0	0	0	0	1	1	1	1	1
CNC	31.88	26.81	24.01	16.98	14.89	9.83	7.02	0	0	0	0	1	1	1	1	1
CP A	26.45	21.30	24.26	17.11	9.33	4.19	7.15	-5.58	-5.13	0.35	47.95	35.10	35.10	35.10	0.79	0.79
CP B	26.05	21.23	24.45	16.87	9.18	4.36	7.58	-4.67	-5.08	0.97	25.40	33.75	33.75	33.75	0.92	0.92
CP C	25.88	20.53	23.95	16.80	9.08	3.72	7.14	-5.82	-6.10	0.12	56.36	68.75	68.75	68.75	0.92	0.92
ES A	26.64	21.73	23.71	16.18	10.46	5.55	7.54	-4.45	-3.77	0.74	21.91	13.67	13.67	13.67	0.60	0.60
ES B	26.11	21.44	23.70	16.33	9.78	5.12	7.37	-4.06	-4.32	0.77	16.68	19.97	19.97	19.97	0.59	0.59
ES C	27.25	22.62	24.71	16.60	10.65	6.02	8.11	-4.25	-3.81	1.08	18.98	13.99	13.99	13.99	0.47	0.47
TA	29.94	24.70	23.61	16.92	13.02	7.78	6.68	-1.90	-1.55	-0.12	3.73	2.92	2.92	2.92	1.08	1.08
T B	29.96	24.25	23.03	16.73	13.23	7.52	6.30	-0.61	-1.92	-0.31	1.53	3.78	3.78	3.78	1.24	1.24
T C	30.29	25.33	23.38	16.38	13.91	8.95	7.00	-0.98	-0.87	-0.02	1.97	1.83	1.83	1.83	1.02	1.02

Tabla 3: Tabla resumen de los datos obtenidos del cultivo primario mixto. Se observa las condiciones CN, CP, E/S, T con sus respectivos promedios, delta ΔC (T), doble delta ($\Delta\Delta C$ (T)) y la ecuación general 2^{\wedge} ($-\Delta\Delta C$ (T)).

CONDICIÓN	PROMEDIO				DELTA				DDELTA				2^A			
	IL-10	IL-1B	TGFB	ACTINA	IL-10	IL-1B	TGFB		IL-10	IL-1B	TGFB		IL-10	IL-1B	TGFB	
CNA	28.82	23.53	23.06	16.52	12.30	7.01	6.54	0	0	0	0	1	1	1	1	1
CNB	29.86	24.68	23.82	16.20	13.66	8.48	7.63	0	0	0	0	1	1	1	1	1
CNC	29.46	24.89	23.63	16.70	12.77	8.19	6.93	0	0	0	0	1	1	1	1	1
CP A	25.18	20.46	23.41	16.34	8.84	4.12	7.07	-3.47	-2.89	0.53	11.06	7.41	7.41	7.41	0.69	0.69
CP B	25.63	19.52	23.57	16.38	9.24	3.14	7.19	-4.42	-5.34	-0.44	21.41	40.60	40.60	40.60	1.35	1.35
CP C	25.41	19.91	23.96	16.66	8.74	3.25	7.30	-4.02	-4.94	0.36	16.26	30.77	30.77	30.77	0.78	0.78
ES A	25.02	20.51	23.35	16.65	8.38	3.86	6.70	-3.93	-3.15	0.16	15.21	8.86	8.86	8.86	0.90	0.90
ES B	25.61	20.50	23.12	16.23	9.38	4.26	6.89	-4.29	-4.22	-0.74	19.52	18.59	18.59	18.59	1.67	1.67
ES C	25.52	21.05	23.28	16.58	8.94	4.47	6.70	-3.83	-3.72	-0.23	14.19	13.18	13.18	13.18	1.18	1.18
TA	25.65	20.97	22.59	16.23	9.42	4.74	6.36	-2.88	-2.27	-0.18	7.38	4.82	4.82	4.82	1.13	1.13
T B	26.61	21.65	22.69	16.44	10.17	5.21	6.25	-3.49	-3.27	-1.37	11.24	9.65	9.65	9.65	2.59	2.59
T C	26.56	22.08	22.67	16.41	10.15	5.67	6.25	-2.62	-2.53	-0.68	6.15	5.76	5.76	5.76	1.60	1.60

Tabla 4: Tabla resumen de los datos obtenidos del cultivo primario astrofítico. Se observa las condiciones CN, CP, E/S, T con sus respectivos promedios, delta ΔC (T), doble delta ($\Delta\Delta C$ (T)) y la ecuación general 2^{\wedge} ($-\Delta\Delta C$ (T)).

Evaluación de la Viabilidad Celular

A	Control	No tratadas	H2O2		
	0.29	0.29	-0.04		
	0.36	0.35	0.01		
	0.29	0.27	-0.04		
B	Shapiro-Wilk test		Control	No tratadas	H2O2
	W		0.75	1	0.75
	P value			>0.9999	
	Passed normality test (alpha=0.05)?			Yes	
	P value summary			ns	
C	ANOVA summary				
	F		69.85		
	P value		<0.0001		
	P value summary		****		
	Significant diff. among means (P < 0.05)?		Yes		
	R squared		0.9588		
D	Sidak's multiple comparisons test				
	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value
	No tratadas vs. Control	0.006667	-0.09163 to 0.1050	No	ns
No tratadas vs. H2O2	0.3433	0.2450 to 0.4416	Yes	****	<0.0001

Imagen N°17: Evaluación de la viabilidad celular en cultivo primario mixto. A. Tabla de datos de la expresión de la densidad óptica (OD) en cada tratamiento celular. B. Evaluación de la normalidad usando la prueba de Shapiro-Wilk. C. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía y ($P < 0.05$). D. La comparación múltiple de Sidak's muestra diferencias significativas entre el grupo de "No tratados vs H₂O₂".

A	Control	No tratadas	H2O2
	0.60	0.47	-0.02
	1.12	1.13	-0.02
	1.30	0.89	-0.04

B	Shapiro-Wilk test	Control	No tratadas	H2O2
	W	0.9271	0.9758	0.75
	P value	0.4778	0.7017	
	Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes	
	P value summary	ns	ns	

C	ANOVA summary	
	F	11.27
	P value	0.0093
	P value summary	**
	Significant diff. among means (P < 0.05)?	Yes
	R squared	0.7898

D	Dunnett's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value
	No tratadas vs. Control	-0.1767	-0.8432 to 0.4898	No	ns	0.684
	No tratadas vs. H2O2 25 mM	0.8567	0.1902 to 1.523	Yes	*	0.0183

Imagen N°18: Evaluación de la viabilidad celular en cultivo primario astrocítico. A. Tabla de datos de la expresión de la densidad óptica (OD) en cada tratamiento celular. B. Evaluación de la normalidad usando la prueba de Shapiro-Wilk. C. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía y ($P < 0.05$). D. La comparación múltiple de Dunnett's muestra diferencias significativas entre el grupo de "No tratados vs H_2O_2 ".

Determinación Celular (Inmunofluorescencia)

A	Shapiro-Wilk test	ASTROCITO	NEURONA
	W	0.9731	0.941
	P value	0.6281	0.097
	Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes
	P value summary	ns	ns
B	Unpaired t test		
	P value	<0.0001	
	P value summary	****	
	Significantly different (P < 0.05)?	Yes	
	One- or two-tailed P value?	Two-tailed	
	t, df	t=19.60, df=58	

Imagen N°19: Determinación del tipo celular en cultivo primario mixto. A. Evaluación de la normalidad usando la prueba de Shapiro-Wilk. B. Se realizó la prueba de t ($P < 0.05$) observándose diferencia significativa entre los grupos.

Expresión de citoquinas en cultivo primario Mixto

A	IL-10	CONDICIONES			
		CN	CP	E/S	T
		17.3	10.67	10.49	16.26
		16.68	10.49	10.86	17
		17.69	10.07	10.69	17.58
		14.13	8.63	11.43	12.6
		11.18	8.03	9.28	12.49
		12.62	8.65	12.06	12.87
		13.32	8.7	9.47	10.19
		13.67	9.01	9.21	10.2
		14.37	8.51	9.19	11.29

B	Shapiro-Wilk test	CN	CP	E/S	T
	W	0.9357	0.8622	0.8927	0.8783
	P value	0.5372	0.1014	0.2126	0.1506
	Passed normality test (alpha=0.05)	Yes	Yes	Yes	Yes
	P value summary	ns	ns	ns	ns

C	ANOVA summary	
	F	15.13
	P value	<0.0001
	P value summary	****
	Significant diff. Among means (P < 0.05)	Yes
	R squared	0.5865
	Bartlett's test	
	Bartlett's statistic (corrected)	12.14
	P value	0.0069
	P value summary	**
	Are SDs significantly different (P < 0.05)	Yes

D	Dunnett's multiple comparisons test					
	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value	
	CN vs. CP	5.356	3.093 to 7.618	Yes	****	<0.0001
	CN vs. E/S	4.253	1.991 to 6.516	Yes	***	0.0002
	CN vs. T	1.164	-1.098 to 3.427	No	ns	0.452

Imagen N°20: Evaluación estadística de la expresión de IL-10 en cultivo primario mixto inducido por cada condición CN, CO, E/S, T. A. Tabla de datos de la expresión de la citoquina IL-10 en las 4 condiciones. B. Evaluación de la normalidad usando la prueba de Shapiro-Wilk, todos los grupos presentan normalidad. C. Se realizó la

prueba de ANOVA de una vía y ($P < 0.05$). D. La comparación múltiple de Dunn's muestra diferencias significativas entre el grupo CP y E/S con respecto al grupo CN.

A	IL-1B	CONDICIONES			
		CN	CP	E/S	T
		11.9	5.6	5.32	10.4
		11.78	5.7	6.13	10.13
		12.14	5.04	5.05	11.12
		7.71	3.38	6.63	7.41
		7.78	3.59	4.87	6.8
		8.52	3.7	8.32	8.69
		8.36	3.59	4.7	5.52
		8.75	3.79	4.35	5.63
		8.82	2.43	4.69	7.05

B	Shapiro-Wilk test	CN	CP	E/S	T
	W	0.7901	0.8909	0.8441	0.9176
	P value	0.0157	0.2037	0.0641	0.3727
	Passed normality test (alpha=0.05)?	No	Yes	Yes	Yes
	P value summary	*	ns	ns	ns

C	Kruskal-Wallis test	
	P value	<0.0001
	Exact or approximate P value?	Approximate
	P value summary	****
	Do the medians vary signif. ($P < 0.05$)?	Yes
	Number of groups	4
	Kruskal-Wallis statistic	24.66

D	Dunn's multiple comparisons test	Mean rank diff.	Significant?	Summary	Adjusted P Value
	CN vs. CP	22.22	Yes	****	<0.0001
	CN vs. E/S	15.89	Yes	**	0.0041
	CN vs. T	5.222	No	ns	0.879

Imagen N°21: Evaluación estadística de la expresión de IL-1 β en cultivo primario mixto inducido por cada condición CN, CO, E/S, T. A. Tabla de datos de la expresión de la citoquina IL-1 β en las 4 condiciones. B. Evaluación de la normalidad usando

la prueba de Shapiro-Wilk, un grupo no cumple la normalidad. C. Existen diferencias significativas en las medianas ($P < 0.0001$) mediante la prueba de Kruskal-Wallis. D. Se realizó comparación múltiple de Dunn's mostrando diferencias significativas entre los grupos CP, E/S con respecto al grupo CN.

A

TGFB	CONDICIONES			
	CN	CP	E/S	T
	7.34	8.09	7.69	7.1
	7.41	8.32	7.72	6.93
	7.4	7.94	7.67	7.25
	6.64	6.48	7.56	7.19
	5.73	7.07	7.53	6.27
	7.05	6.55	9.63	7.65
	6.42	6.87	7.36	5.76
	6.68	7.35	6.87	5.7
	6.62	6.94	7.02	6.1

B

Shapiro-Wilk test	CN	CP	E/S	T
W	0.9054	0.9141	0.7402	0.9108
P value	0.2847	0.3454	0.0042	0.3214
Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes	No	Yes
P value summary	ns	ns	**	ns

C

Kruskal-Wallis test	
P value	0.0255
Exact or approximate P value?	Approximate
P value summary	*
Do the medians vary signif. ($P < 0.05$)?	Yes
Number of groups	4
Kruskal-Wallis statistic	9.304

D

Dunn's multiple comparisons test	Mean rank diff.	Significant?	Summary	Adjusted P Value
CN vs. CP	-6.389	No	ns	0.5948
CN vs. E/S	-12.06	Yes	*	0.0456
CN vs. T	1.333	No	ns	>0.9999

Imagen N°22: Evaluación estadística de la expresión de TGF- β 1 en cultivo primario mixto inducido por cada condición CN, CO, E/S, T.A. Tabla de datos de la expresión de la citoquina TGF- β 1 en las 4 condiciones. B. Evaluación de la normalidad usando la prueba de Shapiro-Wilk, un grupo no cumple la normalidad. C. Se realizó la prueba de Kruskal-Wallis donde se observa diferencias significativas en las medianas ($P < 0.05$). D. La comparación múltiple de Dunn's muestra diferencias sólo en la condición E/S con respecto al grupo CN.

Expresión de citoquinas en cultivo primario Astroticito

A	IL-10	CONDICIONES			
		CN	CP	E/S	T
		11.63	10.17	9.47	7.03
		14.23	9.13	8.86	10.21
		11.05	7.21	7.9	11.02
		10.08	9.96	9.73	9.16
		13.88	9.18	10.86	10.26
		17.03	8.59	7.54	11.1
		11.15	9.47	10.38	8.36
		12.69	8.86	9.8	10.98
		14.46	7.9	6.64	11.1

B	Shapiro-Wilk test	CN	CP	E/S	T
	W	0.9463	0.9591	0.9521	0.8324
	P value	0.6499	0.789	0.713	0.0475
	Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes	Yes	No
	P value summary	ns	ns	ns	*

C	Kruskal-Wallis test	
	P value	0.0003
	Exact or approximate P value?	Approximate
	P value summary	***
	Do the medians vary signif. (P < 0.05)?	Yes
	Number of groups	4
	Kruskal-Wallis statistic	18.96

D	Dunn's multiple comparisons test	Mean rank diff.	Significant?	Summary	Adjusted P Value
	CN vs. CP	19.22	Yes	***	0.0003
	CN vs. E/S	18.11	Yes	***	0.0008
	CN vs. T	11.33	No	ns	0.0675

Imagen N°23: Evaluación estadística de la expresión de IL-10 en cultivo primario astroticito inducido por cada condición CN, CO, E/S, T. A. Tabla de datos de la expresión de la citoquina IL-10 en las 4 condiciones. B. Evaluación de la normalidad usando la prueba de Shapiro-Wilk, el grupo T no presenta normalidad. C. Se realizó la prueba de Kruskal-Wallis donde existen diferencias significativas en las medianas

($P < 0.05$). D. La comparación múltiple de Dunn's muestra diferencias significativas entre los grupos CP y E/S con respecto al grupo CN ($P < 0.05$).

A	IL-1 β	CONDICIONES			
		CN	CP	E/S	T
		4.1	3.49	3.07	1.98
		9.03	4.94	5.57	5.45
		7.9	3.93	2.95	6.79
		4.45	2.26	3.23	3.65
		8.29	4.42	5.95	5.15
		12.7	2.73	3.61	6.83
		3.52	1.63	5.91	4.04
		7.39	4.63	4.82	6.15
		13.67	3.49	2.69	6.81

B	Shapiro-Wilk test	CN	CP	E/S	T
	W	0.9194	0.9562	0.8481	0.8936
	P value	0.387	0.7583	0.0709	0.2172
	Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes	Yes	Yes
	P value summary	ns	ns	ns	ns

C	ANOVA summary	
	F	7.08
	P value	0.0009
	P value summary	***
	Significant diff. Among means (P < 0.05)?	Yes
	R squared	0.399
	Bartlett's test	
	Bartlett's statistic (corrected)	13.44
	P value	0.0038
	P value summary	**
	Are SDs significantly different (P < 0.05)?	Yes

D	Dunnett's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value
	CN vs. CP	4.392	1.867 to 6.918	Yes	***	0.0005
	CN vs. E/S	3.694	1.169 to 6.220	Yes	**	0.0029
	CN vs. T	2.689	0.1633 to 5.214	Yes	*	0.0348

Imagen N°24: Evaluación estadística de la expresión de IL-1 β en cultivo primario astrocítico inducido por cada condición CN, CO, E/S, T. A. Tabla de datos de la expresión de la citoquina IL-1 β en las 4 condiciones. B. Evaluación de la normalidad

usando la prueba de Shapiro-Wilk, todas las condiciones cumplen la normalidad. C. Se realizó la prueba de ANOVA de una vía donde se observan diferencias significativas en las medianas ($P < 0.0001$). D. La comparación múltiple de Dunn's muestra diferencias significativas entre los grupos CP, E/S y T con respecto al grupo CN.

A	TGFB	CONDICIONES			
		CN	CP	E/S	T
		6.44	7.07	7.48	6.66
		7.4	7.42	6.73	6.85
		5.79	6.73	5.89	5.58
		7.29	7.65	7.24	6.85
		7.2	7.2	6.88	6.24
		8.39	6.72	6.55	5.67
		6.1	8.54	7.35	6.04
		7.85	6.81	6.99	7.11
6.85	6.54	5.76	5.61		

B	Shapiro-Wilk test	CN	CP	E/S	T
	W	0.9804	0.8809	0.915	0.8925
	P value	0.9661	0.1605	0.3527	0.2118
	Passed normality test (alpha=0.05) ?	Yes	Yes	Yes	Yes
	P value summary	ns	ns	ns	ns

C	ANOVA summary	
	F	3.085
	P value	0.0411
	P value summary	*
	Significant diff. Among means ($P < 0.05$) ?	Yes
	R squared	0.2243
	Bartlett's test	
	Bartlett's statistic (corrected)	1.224
	P value	0.7473
	P value summary	ns
	Are SDs significantly different ($P < 0.05$) ?	No

D	Dunnett's multiple comparisons test	Mean Diff.	95.00% CI of diff.	Below threshold?	Summary	Adjusted P Value
	CN vs. CP	-0.1522	-0.9335 to 0.6291	No	ns	0.932
	CN vs. E/S	0.2711	-0.5102 to 1.052	No	ns	0.7275
	CN vs. T	0.7444	-0.03685 to 1.526	No	ns	0.0645

Imagen N°25: A. Datos de los tres procedimientos por tipo de condición para la expresión de la citoquina TGF- β 1. B. Evaluación de la normalidad usando la prueba de Shapiro-Wilk, los grupos muestran normalidad. C. Se realizó la prueba de ANOVA donde se observa diferencias significativas en las medianas ($P < 0.05$) D. La comparación múltiple de Dunn's no muestra diferencias significativas entre los grupos CP, E/S y T con respecto al grupo CN.

Comparación entre dos condiciones en cada cultivo primario

A	Shapiro-Wilk test		
	W	0.8927	0.8783
	P value	0.2126	0.1506
	Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes
	P value summary	ns	ns
B	Unpaired t test		
	P value	0.0078	
	P value summary	**	
	Significantly different ($P < 0.05$) ?	Yes	
	One- or two-tailed P value?	Two-tailed	
	t, df	t=3.039, df=16	

Imagen N°26: Comparación de la expresión de la citoquina IL-10 en dos condiciones E/S y Total en el cultivo primario mixto. A. Evaluación de la normalidad usando la prueba de Shapiro-Wilk, ambos grupos cumplen la normalidad. B. Se realizó la prueba T donde se observa diferencias significativas entre los grupos ($P < 0.05$).

A	Shapiro-Wilk test	E/S	T
	W	0.8441	0.9176
	P value	0.0641	0.3727
	Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes
	P value summary	ns	ns

B	Unpaired t test	
	P value	0.0069
	P value summary	**
	Significantly different (P < 0.05)?	Yes
	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
	t, df	t=3.096, df=16

Imagen N°27: Comparación de la expresión de la citoquina IL-1 β en dos condiciones E/S y Total en el cultivo primario mixto. A. Evaluación de la normalidad usando la prueba de Shapiro-Wilk, ambos grupos cumplen la normalidad. B. Se realizó la prueba T donde se observa diferencias significativas entre los grupos (P<0.05).

A	Shapiro-Wilk test	E/S	T
	W	0.7402	0.9108
	P value	0.0042	0.3214
	Passed normality test (alpha=0.05)?	No	Yes
	P value summary	**	ns

B	Mann Whitney test	
	P value	0.0106
	Exact or approximate P value?	Exact
	P value summary	*
	Significantly different (P < 0.05)?	Yes
	One- or two-tailed P value?	Two-tailed
	Sum of ranks in column A,B	114 , 57
	Mann-Whitney U	12

Imagen N°28: Comparación de la expresión de la citoquina TGF- β 1 en dos condiciones E/S y Total en el cultivo primario mixto. A. Evaluación de la normalidad usando la prueba de Shapiro-Wilk, no se cumple la normalidad. B. Se realizó la

prueba U de Mann-Whitney donde se observa diferencias significativas entre los grupos ($P < 0.05$).

A	Shapiro-Wilk test	E/S	T
	W	0.8877	0.8324
	P value	0.1891	0.0475
	Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	No
	P value summary	ns	*
B	Mann Whitney test		
	P value		0.0907
	Exact or approximate P value?		Exact
	P value summary		ns
	Significantly different ($P < 0.05$)?		No
	One- or two-tailed P value?		Two-tailed
	Sum of ranks in column A,B		66 , 105
	Mann-Whitney U		21

Imagen N°29: Comparación de la expresión de la citoquina IL-10 en dos condiciones E/S y Total en el cultivo primario astrocítico. A. Evaluación de la normalidad usando la prueba de Shapiro-Wilk, no se cumple la normalidad. B. Se realizó la prueba U de Mann-Whitney donde no se observa diferencias significativas entre los grupos.

A	Shapiro-Wilk test	E/S	T
	W	0.8481	0.8936
	P value	0.0709	0.2172
	Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes
	P value summary	ns	ns
B	Unpaired t test		
	P value		0.1827
	P value summary		ns
	Significantly different ($P < 0.05$)?		No
	One- or two-tailed P value?		Two-tailed
	t, df		t=1.393, df=16

Imagen N°30: Comparación de la expresión de la citoquina IL-1 β en dos condiciones E/S y Total en el cultivo primario astrocítico. A. Evaluación de la normalidad usando la prueba de Shapiro-Wilk, ambos grupos cumplen la normalidad. B. Se realizó la prueba t donde no se observa diferencias significativas entre los grupos.

A	Shapiro-Wilk test		
	W	E/S	T
		0.915	0.8925
	P value	0.3527	0.2118
	Passed normality test (alpha=0.05)?	Yes	Yes
	P value summary	ns	ns
B	Unpaired t test		
	P value	0.1154	
	P value summary	ns	
	Significantly different (P < 0.05)?	No	
	One- or two-tailed P value?	Two-tailed	
	t, df	t=1.665, df=16	

Imagen N°31: Comparación de la expresión de la citoquina TGF- β 1 en dos condiciones E/S y Total en el cultivo primario astrocítico. A. Evaluación de la normalidad usando la prueba de Shapiro-Wilk, ambos grupos cumplen la normalidad. B. Se realizó la prueba t donde no se observa diferencias significativas entre los grupos.