



Capacidad inmuno-moduladora de parásitos helmintos y su posible uso en terapias inmunológicas.

GRUPO DE TRABAJO:

Estudiantes:

Sergio Conti

Nilson Elias

Ignacio Heredia

Angelo Salvador

Orientador:

Dra. Teresa Freire.

Lugar de Realización:

Departamento de Inmunobiología, Facultad de Medicina.

ÍNDICE

Resumen.....	4
Abreviaciones.....	5
Fundamentación.....	6
Introducción.....	6
1- Hipótesis de la Higiene.....	7
2- Características generales de las helmintiasis.....	7
3- Mecanismos moleculares y celulares que conducen a la modulación de respuestas inmunológicas.....	8
3.1- Eosinófilos.....	9
3.2- Mastocitos.....	10
3.3- Basófilos.....	12
3.4- Activación alternativa de macrófagos.....	13
3.5- Células Dendríticas.....	13
3.6- Células natural helper.....	14
3.7- Linfocitos T CD4+ colaboradores.....	15
3.8- Linfocitos T reguladores.....	16
3.9- Evasión de la respuesta celular dependiente de anticuerpos.....	16
3.10- Otros mecanismos de regulación inmunológica utilizados por helmintos.....	18
3.11- Inhibición de la actividad de enzimas metabólicas.....	18
Objetivo general.....	18
Objetivos específicos.....	19
Metodología.....	19
Resultados.....	19
1-Modelos experimentales.....	20
1.1- Infecciones por helmintos.....	20
1.1.1- Enfermedades autoinmunes.....	20
1.1.2- Enfermedades atópicas/alérgicas.....	21
1.1.3- Enfermedades inflamatorias.....	21
1.2- Inoculación de moléculas helmínticas.....	22
1.2.1- Enfermedades autoinmunes.....	22

1.2.2- Enfermedades atópicas/alérgicas.....	22
1.2.3- Enfermedades inflamatorias.....	24
2- Ensayos clínicos.....	24
2.1- Estudios epidemiológicos relacionados con infecciones helmínticas.....	24
2.2- Estudios de intervención mediante inoculación de componentes derivados de helmintos	26
Conclusiones y perspectivas.....	28
Referencias bibliográficas.....	29

RESUMEN

En 1989 D. Strachan propone la teoría de la hipótesis de la higiene, la cual despertó el interés de la comunidad científica en el estudio de la modulación o alteración que las infecciones helmínticas producen en el sistema inmunológico de su hospedero. Esto condujo a la realización de múltiples experimentos en animales, estudios observacionales en zonas de alta prevalencia de infecciones helmínticas y algunos ensayos clínicos, permitiendo la dilucidación de los mecanismos helmínticos en la inmuno-modulación de su hospedero. En este sentido, las personas infectadas por helmintos se caracterizan por presentar una marcada polarización celular de tipo Th2 asociada a un fuerte componente regulador. Este tipo de inmunidad, podría ser útil para el tratamiento de patologías en las que el Sistema Inmunológico se encuentra desregulado, como enfermedades auto-inmunes, alérgicas o inflamatorias.

En este contexto, el presente trabajo tuvo como objetivo la investigación y discusión de la literatura publicada sobre el posible uso de terapias basadas en productos helmínticos como tratamiento de las enfermedades auto-inmunes, alérgicas/atópicas e inflamatorias.

En experimentos en animales, así como en ensayos clínicos en individuos parasitados o mediante la inoculación de moléculas helmínticas, se demostró un beneficio en enfermedades auto-inmunes como la esclerosis múltiple, en enfermedades alérgicas/atópicas como rinitis estacional así como también, en enfermedades inflamatorias como, la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa. Esta evidencia propone que los productos inmuno-moduladores de helmintos formarán parte probablemente de las terapias del futuro de patologías como las mencionadas anteriormente, pudiendo llegar a suplir el rol de los inmunosupresores empleados en el tratamiento actual.

ABREVIACIONES

AR: Artritis reumatoide.

AAM: Activación alternativa de macrófagos.

ACF: Adyuvante completo de Freud.

ACM: Activación clásica de macrófagos.

ADCC: Citotoxicidad dependiente de anticuerpo.

AIC: Artritis inducida por colágeno.

CDMO: Células dendríticas de médula ósea.

CD: Células dendríticas.

CLR: Receptores de tipo Lectina.

CMH: Complejo mayor de histocompatibilidad.

GM-CSF: Factor estimulante de crecimiento de macrófagos y granulocitos.

GST: Glutación S-Transferasa.

HVA: Hiperreactividad de la vía aérea.

Ig: Inmunoglobulina.

INF: Interferón.

LNFP3: Lactato-N-fucopentosa 3.

LPS: Lipopolisacárido.

LTCD4+: Linfocitos T CD4+.

LTreg: Linfocitos T reguladores.

NOD: Diabéticos no obesos.

OVA: Ovoalbumina.

CNH: Células Natural Helper.

CNK: Células Natural Killer.

CPA: Célula presentadora de antígeno.

CU: Colitis ulcerosa.

DAMPs: Patrones moleculares de asociación de daño.

DM tipo 1: Diabetes mellitus tipo1

DNBS: Dinitrobenzeno sulfónico.

EAI: Encefalomiелitis auto-inmune.

EC: Enfermedad de Crohn.

EII: Enfermedad inflamatoria intestinal.

EM: Esclerosis múltiple.

EROs: Especies reactivas de oxígeno.

PAMPs: Patrones moleculares de asociación patógena.

PES: Producto de excreción-secreción.

PSF: Fluido pseudocelómico.

R-FC: Receptores para fragmento Fc.

RW: Ambrosía.

SOD: Superóxido dismutasa.

TGF: Factor de crecimiento transformante.

TLR: Receptores de tipo Toll.

TNBS: Trinitobenzeno sulfónico.

TNF: Factor de necrosis tumoral

TSO: *Trichuris suis* ova.

FUNDAMENTACIÓN

Datos epidemiológicos demostraron un aumento en la prevalencia de enfermedades autoinmunes, alérgicas/atópicas e inflamatorias en pacientes afectados por helmintos. Estudios en modelos experimentales han revelado que estos parásitos modulan el sistema inmunológico de su hospedero en su beneficio. Esto lo hacen sesgando la respuesta mediante la activación de células de tipo Th2 y la expresión de interleuquina (IL) -10, IL-4 y factor de crecimiento transformante (TGF)- β

Sin embargo, existe evidencia científica que demuestra que dicha modulación provocada por los helmintos en el sistema inmunológico del hospedero podría ser utilizada en el tratamiento de enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoide (AR), diabetes mellitus tipo 1 (DM tipo 1) y lupus, alérgicas/atópicas como la conjuntivitis alérgica, e inflamatorias como las enfermedades inflamatorias intestinales (EII). En este trabajo analizamos estos temas resaltando ciertas particularidades de los componentes helmínticos y su potencial uso en el tratamiento de estas patologías.

INTRODUCCIÓN

Una variedad de datos epidemiológicos sugieren un aumento en la prevalencia de enfermedades infecciosas ocasionadas por patógenos intracelulares, como la tuberculosis, en pacientes afectados por helmintos. También se ha observado que la co-infección helmíntica en individuos con enfermedades inflamatorias como lo son la colitis ulcerosa (CU) o la enfermedad de Crohn (EC), entre otras, provee a estas, protección y atenúa parcialmente sus síntomas clínicos (1). Por otro lado, estudios en modelos experimentales han demostrado que estos parásitos modulan el sistema inmunológico de su hospedero en su beneficio. Esto lo hacen sesgando la respuesta mediante la activación de linfocitos T colaboradores de tipo 2 (Th2) o linfocitos T reguladores (LTreg) y la expresión de citoquinas anti-inflamatorias como IL-10, IL-4 y TGF- β (1). Estas evidencias podrían explicar la aparente mejoría y/o protección a enfermedades pro-inflamatorias, caracterizada por una exacerbación de respuestas de tipo Th1 (2).

1- Hipótesis de la Higiene

En 1989 D. Strachan propone que las infecciones en la vida temprana estimulan el correcto desarrollo del sistema inmunológico, y su ausencia predispone hacia la hiperactividad y las respuestas inmunes inapropiadas, como las que se observan en las alergias (3). Esta teoría se basa en la observación de que en países desarrollados los niños con condiciones sanitarias apropiadas y baja tasa de exposición a agentes infecciosos, tienden a desarrollar más patologías alérgicas o atópicas. Lo contrario se ha observado en países sub-desarrollados en los cuales los niños tenían una alta tasa de enfermedades infecciosas pero muy baja incidencia de alergias (4).

Esta teoría, conocida actualmente como “Hipótesis de la higiene” despertó el interés de la comunidad científica en el estudio de la modulación o alteración que estas infecciones producen en el sistema inmunológico de su hospedero. Posteriormente, la “Hipótesis de la higiene” se amplió a otros ejemplos de inmunopatologías tales como las auto-inmunes y enfermedades pro-inflamatorias (2). Esto ha dado lugar a una serie de ensayos clínicos y estudios *in vivo* de infecciones parasitarias en individuos con enfermedades inflamatorias intestinales como la EC (5-8); la CU (5, 7, 9); la enfermedad celiaca (10-11); así como enfermedades auto-inmunes como la esclerosis múltiple (EM) (12-15); y enfermedades alérgicas como rinitis estacional (16-18). En términos generales, estos estudios apoyan el efecto protector a estas patologías en pacientes infectados con parásitos helmintos (4).

2- Características generales de las helmintiasis.

La mayor parte de las helmintiasis son infecciones crónicas, caracterizadas por una notable reacción del sistema inmunológico del hospedero. En este sentido, las personas infectadas por helmintos se caracterizan por presentar inmunidad de tipo Th2 que conduce a la activación del sistema inmune innato (como los eosinófilos, basófilos y mastocitos) y adaptativo (linfocitos de tipo Th2). Dichas células favorecen la producción de IL-4, la cual contribuye a la producción de altos niveles de IgE, eosinofilia, fibrosis y contracción muscular, las cuales se encuentran asociados a este tipo de infecciones (19).

De esta forma se suprimen las respuestas de tipo Th1 y Th17, la producción de moléculas como interferón (INF)- γ e IL-17 a través de la inducción de IL-4, IL-10 y TGF- β , favoreciendo la activación alternativa de macrófagos (AAM) y la inducción de los LTreg (20).

En la actualidad se sabe que, dependiendo del tipo de infección, la inmunidad de tipo Th2 puede participar en la expulsión de nemátodos del intestino o permitir la sobrevivencia del hospedero en condiciones inmunológicas que son incapaces de eliminar al parásito (21). Gracias a esta condición de cronicidad, el parásito sobrevive también dentro de su hospedero (22). Sin embargo, los individuos infectados que se encuentran en este equilibrio “helminto-inmunidad” pueden desarrollar condiciones persistentes que afectan su salud, como anemia, desnutrición, fatiga y afecciones en el desarrollo cognitivo (23).

Por estas razones, el estudio y la comprensión de los mecanismos inmunológicos y su regulación durante el desarrollo de las helmintiasis constituye áreas de investigación altamente exploradas en la actualidad que podrían ser claves en el desarrollo de vacunas. Por otro lado, la dilucidación de las estrategias reguladoras que utilizan los helmintos podría ser potencialmente volcada al desarrollo de estrategias terapéuticas para una gran variedad de patologías inflamatorias.

3- Mecanismos moleculares y celulares que conducen a la modulación de respuestas inmunológicas por helmintos.

Los avances de la biología molecular y celular, junto con la generación de animales de experimentación transgénicos o “knock out” han conducido a la dilucidación de los mecanismos moleculares, que utilizan los parásitos helmintos para modular las respuestas inmunológicas del hospedero. Ante una infección helmíntica el hospedero pone en marcha una diversa variedad de respuestas para mediar su destrucción y eliminación (ver Figura 1). A pesar de la diversidad de estos mecanismos anti-parasitarios, muchas veces resultan inefectivos, debido a la capacidad que los helmintos han adquirido de modular dichas respuestas. A continuación describiremos algunos de ellos.

3.1- Eosinófilos.

Los eosinófilos, tienen como función principal proveer al organismo protección contra diversos parásitos helmintos. Estos leucocitos multifuncionales también ayudan a reconocer y matar las bacterias, virus y hongos presentes en el organismo, a diferenciar entre los microorganismos inofensivos y los dañinos, y a identificar los daños que puedan ocasionarse en el tejido (24).

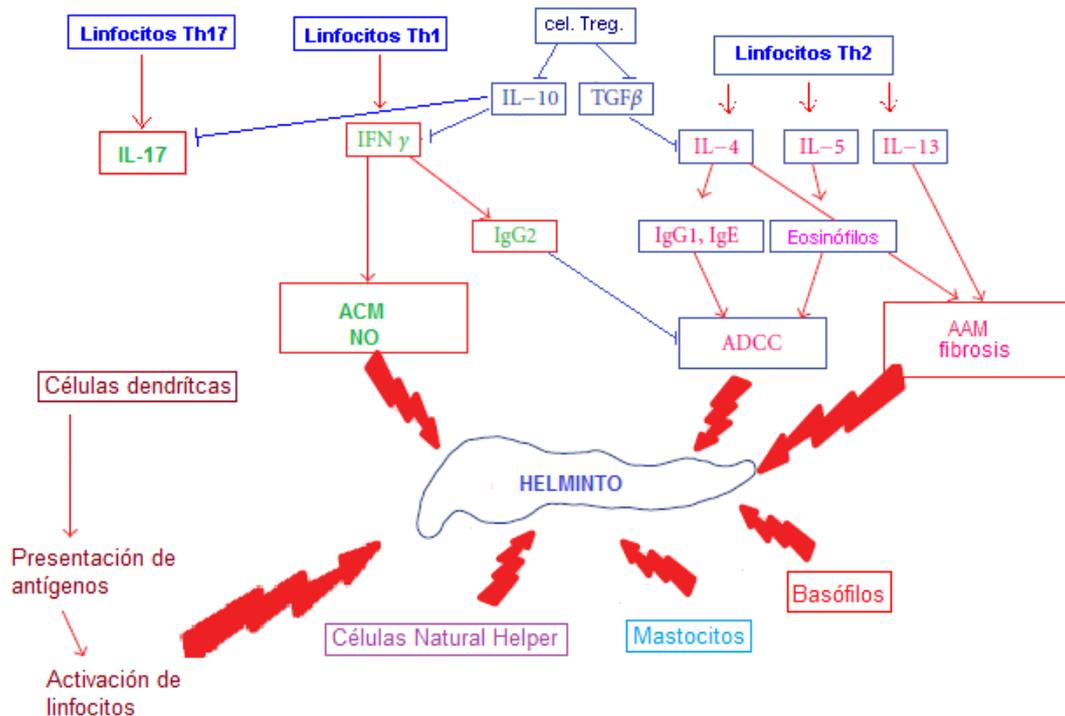


Figura 1. Mecanismos inmunológicos anti-helmínticos. Dos principales mecanismos inmunitarios están dirigidos contra helmintos en el parénquima hepático: (i) durante la fase temprana de la infección, macrófagos activados clásicamente (ACM) inducen la producción de óxido nítrico que es tóxico. (ii) Durante la fase crónica de la infección, la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC) permite la liberación de mediadores tóxicos tales como la proteína básica principal y la proteína catiónica de eosinófilos, y los intermediarios reactivos del nitrógeno. Este mecanismo es regulado por citoquinas de tipo Th2. Las células T reguladoras (células Treg) producen IL-10 y/o TGFβ los cuales inhiben la producción y la función de citoquinas Th1 y Th17. Ellos también regulan negativamente la respuesta excesiva de tipo Th2 en la immuno-patogénesis de la helmintiasis. El macrófago activado alternativamente (AAM) produce moléculas que son tóxicas para el parásito y participa en la fibrosis y la reparación de los tejidos. También están implicadas en la eliminación del parásito las células natural helper, mastocitos, basófilos y células dendríticas. *Ilustración modificada de Moreau y colaboradores (25).*

Una forma en la que reaccionan los eosinófilos es respondiendo a los patrones moleculares de asociación patógena (PAMPs), de los patógenos y a los

patrones moleculares asociados a daño celular y/o tisular (DAMPs). Una vez recibido el estímulo de parte de los patrones mencionados, los eosinófilos reaccionan incrementando la supervivencia, o demorando la apoptosis, o también secretando especies reactivas pro-inflamatorias, como citoquinas, leucotrienos, y especies reactivas del oxígeno (EROs), entre otros. Estos aspectos inducen a la inflamación, la inmunomodulación y la hiperreactividad de la vía aérea (HVA) (ver Figura 2).

Aunque los eosinófilos son capaces de mediar esta gran variedad de funciones, los helmintos, así como ciertos productos de excreción-secreción (PES) helmínticos, pueden suprimir directamente las respuestas de eosinófilos. Por ejemplo, los PES del nemátodo *Necator americanus* contienen una proteasa que escinde e inactiva la molécula quimiotáctica eotaxina, previniendo el reclutamiento de eosinófilos (26), mientras que los PES de *Heligmosomoides polygyrus* impiden la eosinofilia en ratones sensibilizados a alérgenos (27). En el caso de *N. americanus*, además secreta una proteína denominada Anquilostoma (ASP-2), la cual tiene funciones quimiotácticas de neutrófilos. De esta forma se suprime el reclutamiento de eosinófilos evitando el daño parasitario modulado por ellos,(24) y fomentando al mismo tiempo el reclutamiento de neutrófilos ineficaces para la eliminación helmíntica. Por último, existen diversos modelos experimentales que demuestran que PES producidos por *Fasciola hepatica* generan apoptosis de eosinófilos, mediante un mecanismo en el que intervienen proteínas tirosin-quinasas y caspasas (4, 28).

3.2- Mastocitos.

Los mastocitos, también conocidos como células cebadas, se originan en las células madre de la médula ósea, y sirven como mediadores de los procesos inflamatorios y alérgicos. Estas células interactúan con patógenos y constituyen un mecanismo de defensa contra las infecciones. Estos ayudan también en la regeneración de los tejidos saludables, y tienen la función de reducir toxinas bacterianas para proteger al organismo.

La habilidad que tienen las células mastocíticas de dar una rápida respuesta ante una inflamación, implica que ellas son las primeras en contribuir a la

primer línea de respuesta patógena, ayudando a mantener por ejemplo, la homeostasis del tejido, o contribuyendo a la respuesta inflamatoria en los tejidos a través de la secreción de mediadores vasoactivos que favorecen el reclutamiento de leucocitos en el sitio de infección. Por otro lado, los mastocitos están fuertemente vinculados con las células dendríticas (CDs), y las células epiteliales de los tejidos, ya que proporcionan estímulos de la inmunidad innata a través de la liberación de histamina, proteasas o citoquinas, que conducen a la activación de las CDs así como al reclutamiento de neutrófilos y células T del lugar de la infección.

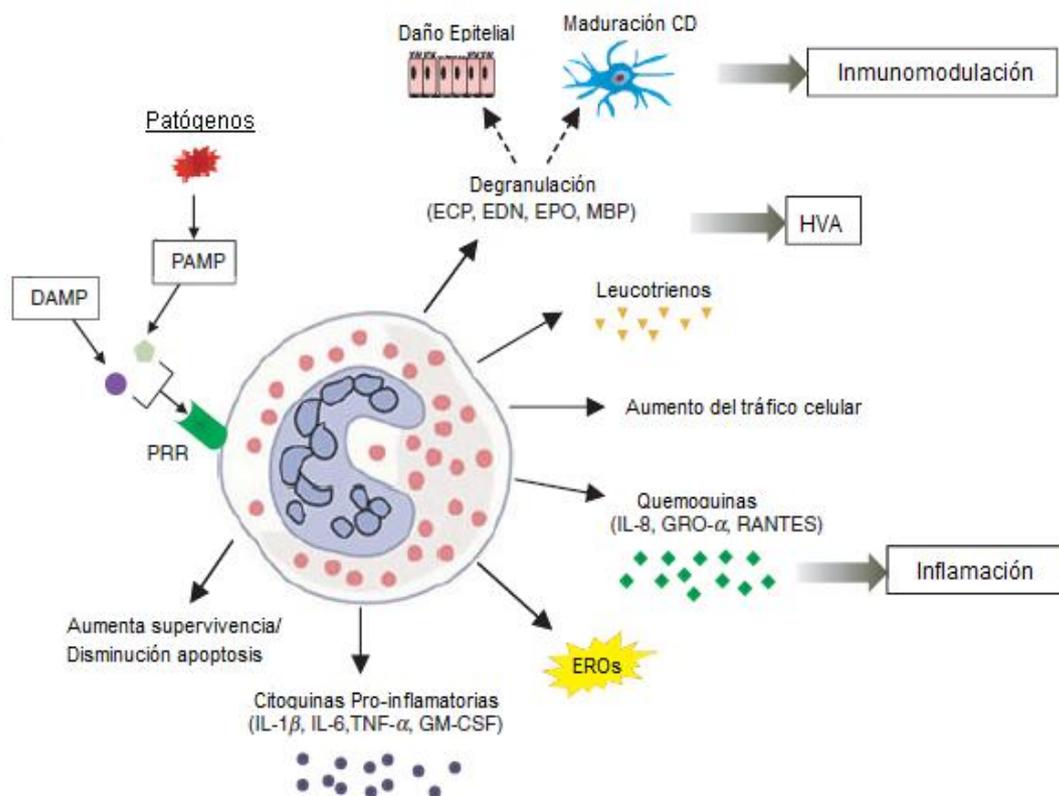


Figura 2. Respuestas de los eosinófilos a los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) y los patrones moleculares asociados a daño celular y/o tisular (DAMPs). Los eosinófilos pueden activarse por diversos estímulos, lo que lleva a un aumento de la supervivencia y a el retraso de apoptosis, el aumento de movimiento celular y la producción de especies reactivas del oxígeno (EROs), las citoquinas pro-inflamatorias, quimiocinas, proteínas de gránulos y leucotrienos, que a su vez inducen la inflamación. *Ilustración modificada de Kvarnhammar y colaboradores (24)*

La activación de los mastocitos se produce cuando la Inmunoglobulina (Ig) -E unida se entrecruza con un antígeno multivalente. Esta señal activa al mastocito la que induce la liberación del contenido de sus gránulos, en cuyo

interior tienen mediadores como la IL-3, IL-4, factor estimulante de crecimiento de macrófagos y granulocitos (GM-CSF) y factor de necrosis tumoral (TNF) - α , así como proteasas que contribuyen a potenciar la respuesta inflamatoria del hospedero.

El papel de los mastocitos en la eliminación de parásitos helmintos viene sugerido por la mastocitosis intestinal, que acompaña a las infecciones por nemátodos. En infecciones intestinales, las células caliciformes recubren con mucus a los helmintos justo antes de su expulsión. Los mediadores liberados por los mastocitos modifican la permeabilidad de la mucosa, lo que permite que el sistema de complemento y los anticuerpos sean secretados a la luz intestinal.

Por otro lado, la acción de los mastocitos puede potenciar la destrucción de larvas de helmintos por parte de los eosinófilos. En algunas condiciones algunos helmintos son capaces de contrarrestar las funciones de los mastocitos, por ejemplo los helmintos son capaces de modular la capacidad de mastocitos de inducir respuestas de tipo Th1. De hecho, se ha reportado que antígenos de *F. hepatica* inhiben la producción de citoquinas pro-inflamatorias como TNF- α , IL-6, e INF- γ por mastocitos al ser estimulados por lipopolisacárido (LPS) o con antígenos bacterianos, conduciendo a una ineficaz activación y posterior diferenciación de linfocitos T CD4⁺ de tipo Th1 (29-30).

3.3- Basófilos.

Los basófilos son células innatas capaces de producir grandes cantidades de IL-4 en presencia de IgE específica, e inducir una respuesta de tipo Th2. Los esquistosomas explotan este mecanismo para inducir la liberación de IL-4 por basófilos incluso en una primera infección, antes del desarrollo de una fuerte respuesta de IgE específica contra antígenos del parásito.

Recientemente se ha dilucidado un mecanismo de modulación de los basófilos por parte de helmintos. Se ha identificado una proteína, llamada IPSE- α , producida por los huevos de *Schistosoma mansoni*, que tiene capacidad de unirse a los receptores de las IgE de los basófilos. De esta forma, dicha interacción conduce a una gran liberación de IL-4 y amplifica la respuesta de tipo Th2 (4, 31).

3.4- Activación alternativa de macrófagos.

Los macrófagos, así como los granulocitos mencionados previamente, son parte del sistema inmunológico innato, encargados de fagocitar patógenos. También actúan como células presentadoras de antígenos (CPA) y participan en la reparación de tejidos así como en la hemostasia. (20). Los parásitos helmintos son capaces de modular la activación de macrófagos, favoreciendo su supervivencia dentro del hospedero.

Los macrófagos en la sangre periférica pueden encontrarse bajo 2 formas de activación: la activación clásica y la activación alternativa. La activación clásica de los macrófagos (ACM) promueve fundamentalmente un estado pro-inflamatorio desencadenado, por ejemplo, durante una infección y mantenido mediante la activación de los mismos por IL-12 que genera la liberación de INF- γ (vía Th1), acompañado de una mayor injuria tisular. Por otro lado, la activación alternativa de macrófagos (AAM) se favorece en un ambiente caracterizado por citoquinas de tipo Th2, como las IL-4 e IL-13 que conducen a un incremento de IL-10 y TGF- β controlando la respuesta inmunológica excesiva y re-estructurando la injuria tisular.

Se ha observado que muchos helmintos como *H. polygyrus* y *Brugia malayi*, así como sus PES, son capaces de inducir la AAM durante su infección en el hospedero (20). Asimismo, Du et al. demostraron *in vivo* que *Trichinella spiralis* induce mediante sus PES, el tipo de activación alternativa. De esta forma, los macrófagos producen mayor cantidad de IL-10 y menores cantidades de EROs, lo que impide la utilización de estos mecanismos para la destrucción del parásito y aumenta el ambiente anti-inflamatorio (20).

3.5- Células Dendríticas.

Las CDs juegan un rol fundamental en el desarrollo y mantenimiento de la respuesta inmunológica durante la infección helmíntica, dirigiendo tanto la activación como la polarización de las células de tipo Th2 en la respuesta adaptativa. A partir del reconocimiento de patógenos se someten a un proceso de activación llamado maduración, que implica la presentación de péptidos mediante el complejo mayor de histocompatibilidad I y II (CMH-I y II), actuando

como CPA, promoviendo la regulación de moléculas co-estimuladoras y la producción de citoquinas, que en conjunto permiten a las CD8 activar y potenciar a las células T CD4⁺. Las CD8 son las únicas dentro del sistema inmunológico capaces de inducir la activación de linfocitos T vírgenes o naive, actuando como nexo entre la inmunidad innata y adaptativa. Además, son esenciales en dirigir la respuesta inmunológica mediante el reconocimiento de patógenos a través de nuevos receptores, como son los receptores de tipo Toll (TLR) y receptores de tipo lectina (CLR).

Diversos estudios revelan que la señalización de los TLR puede ser inhibida cuando las CD8 son co-estimuladas con helmintos o sus productos. Helmintos como *S. mansoni* suprimen la señalización de la vía de activación de estos receptores, induciendo un fenotipo semi-maduro o tolerogénico en las CD8 que incrementan la producción de IL-10(32). *F. hepatica* también lo hace regulando la activación de CD8 (20, 33-34)

3.6- Células natural helper.

Las células Natural Helper (CNH), son una población de linfocitos innatos recientemente identificada que responden a una combinación de IL-2 e IL-25 o IL-33 para inducir una polarización celular de tipo Th2. Ello lo logran gracias a su capacidad de producir IL-5 e IL-13, las cuales participan en la inducción de eosinofilia, hiperplasia de células caliciformes y la producción de mucinas (35). Estos procesos están involucrados en la inmunidad anti-helmíntica y en la patogénesis de enfermedades alérgicas, como el asma y la diarrea alérgica.

Las citoquinas derivadas de linfocitos de tipo Th2 son importantes para la activación de los mastocitos, eosinófilos, y células caliciformes durante la inmunidad contra helmintos. Por ejemplo, la IL-25 derivada de células epiteliales y la IL-33 están implicadas en la regulación de la inmunidad innata de tipo Th2. La IL-25 activa a las células Natural Killer (CNK). La IL-33 funciona como alarma para estimular una variedad de células ya que el receptor de la IL-33 es expresado en varias células, entre las cuales podemos encontrar a los mastocitos, basófilos y CNK (ver Figura 3). Recientemente se ha reportado que algunos nemátodos son capaces de intervenir en este proceso de regulación inmunológica e impedir su expulsión

del intestino. De hecho, se piensa que las caspasas 3 y 7 inactivan a la IL-33 por proteólisis, con lo cual imposibilita la activación de las CNH, impidiendo de esta manera la producción de IL-5 e IL-13 que llevan a cabo la respuesta inmunológica contra los parásitos intestinales (36).

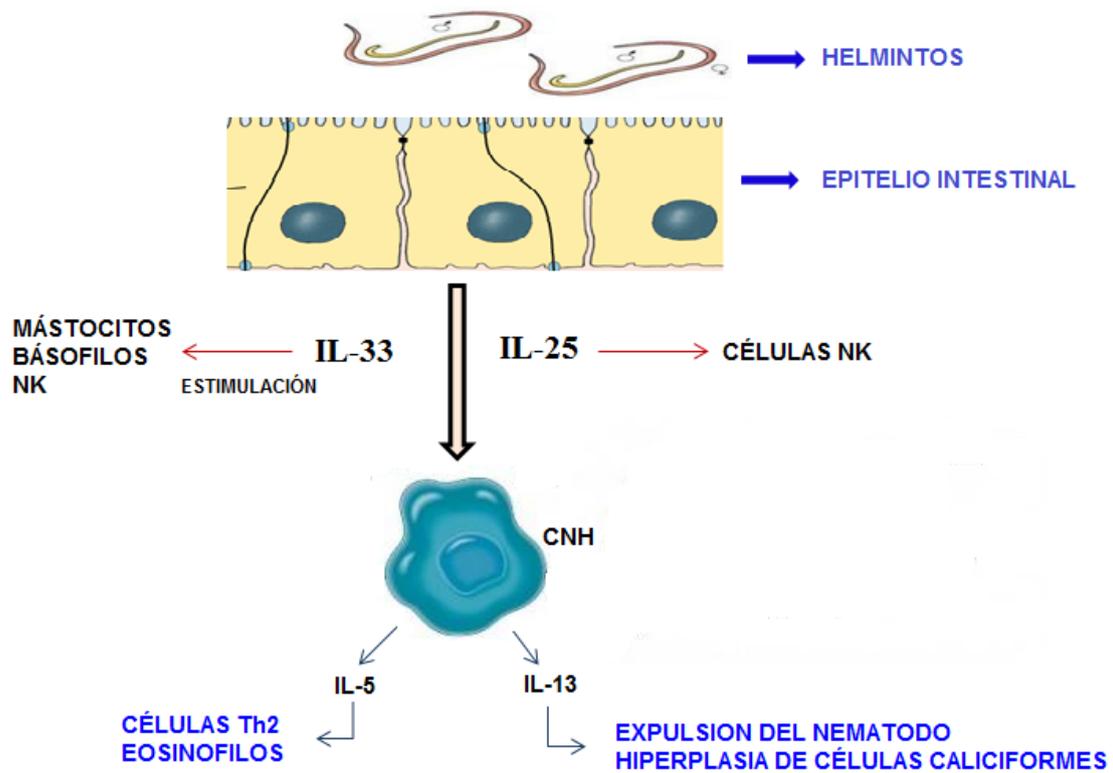


Figura 3. Función de las CNH en la producción de citoquinas de tipo Th2. La infección por helmintos induce la producción de IL-33 e IL-25, las cuales son esenciales para la estimulación de Células Natural Helper (CNH) en la inmunidad innata. A su vez, estas células (CNH) son liberadoras de IL-5 que estimulan a las células de tipo Th2 y a los eosinófilos, mientras que la IL-13 también liberada por las CNH cumple un rol en la expulsión del nematodo e hiperplasia de células caliciformes. Éstas juegan un papel importante, beneficiando la respuesta en infecciones.

3.7- Linfocitos T CD4⁺ colaboradores.

Las respuestas inmunitarias adaptativas son orquestadas por los linfocitos T CD4⁺ (LTCD4⁺), y por eso muchos estudios se han enfocado en dilucidar los efectos immuno-moduladores de los productos parásitos en estas células. El más destacado efecto indirecto lo ejercen a través de la alteración de las CDs como fue visto anteriormente.

Se ha visto que las CDs expuestas a PES de *T. spiralis* o *Echinococcus multilocularis* no sólo pierden su capacidad de respuesta a LPS, sino que también inducen una respuesta de tipo Th2 y células Treg Foxp3⁺ *in vitro* (37). Del mismo modo, las CDs co-cultivadas con LTCD4⁺ y PES de *S. mansoni* (proteína omega-1) pueden inducir células Treg Foxp3⁺, a través de la inducción de las enzimas de activación de TGF-β y ácido retinoico (38). También se observó un fenotipo de supresión de LTCD4⁺ *in vivo* cuando se transfirieron PES de *H. polygyrus* en ratones, suprimiendo tanto la producción de INF-γ e IL-4 a favor de la IL-10 (39). Por último, se evidenciaron efectos directos de los PES de *H. polygyrus* sobre los LTCD4⁺, que tienen la capacidad de inducir la expresión de Foxp3⁺ en linfocitos T vírgenes, incluso en ausencia de CDs u otras CPA (4, 40).

3.8- Linfocitos T reguladores.

Los LT son los responsables de coordinar la respuesta inmunológica celular. Dentro de ellos, los LTreg se encargan de atenuar la inmunidad mediada por células al final de la reacción inmunológica y eliminar células T auto-reactivas que escaparon al proceso de selección negativa en el timo (41).

Se ha observado que algunos helmintos pueden regular a la baja la inmunidad a través de la inducción de LTreg y producir citoquinas anti-inflamatorias como lo son la IL-10 y la TGF-β. Ejemplo de esto último se ve en *T. Spiralis* la cual induce las células Treg que suprimen las células Th17 y con esto la producción de IL-17 (20).

3.9- Evasión de la respuesta celular dependiente de anticuerpos.

La citotoxicidad dependiente de anticuerpos (ADCC) es dependiente de una serie de células efectoras como eosinófilos, neutrófilos, macrófagos o plaquetas como células efectoras, y de anticuerpos como IgE, IgG e IgA.

Las estructuras parasitarias cubiertas por anticuerpos específicos pueden ser destruidas por las células que expresan receptores para el fragmento Fc (R-Fc) de los mismos. Cuando estas células se activan por la fijación de los anticuerpos contra el R-Fc, liberan sus productos que son tóxicos para el parásito. Estos consisten por ejemplo en la proteína básica principal, proteína

catiónica de eosinófilos, neurotoxina derivada de eosinófilos o en intermediarios reactivos del nitrógeno u oxígeno, liberados por neutrófilos y macrófagos. Sin embargo los helmintos han desarrollado varias estrategias para escapar a este tipo de respuesta. Por ejemplo, algunos helmintos inducen producción de Superóxido dismutasa (SOD) o Glutación S-transferasa (GST), enzimas capaces de neutralizar los radicales libres (ver Figura 4i).

Por otro lado; *F. hepática* libera Catepsina-L, una proteasa que escinde IgG e IgE, evitando que dichos anticuerpos desencadenen ADCC (25) (ver Figura 4ii). Por último, se han encontrado trematodos cubiertos por IgM, lo cual consiste en otra forma de inhibir la ADCC, ya que los eosinófilos no expresan R-Fc μ y por lo tanto las IgM son incapaces de desencadenar ADCC (25). Relacionado a esto se han encontrado una alta producción de IgG₂ durante la fasciolosis en ovejas, lo cual también ha sido involucrada en el bloqueo de la ADCC ya que los eosinófilos no expresan R-Fc de éstos (25) (ver Figura 4iii).

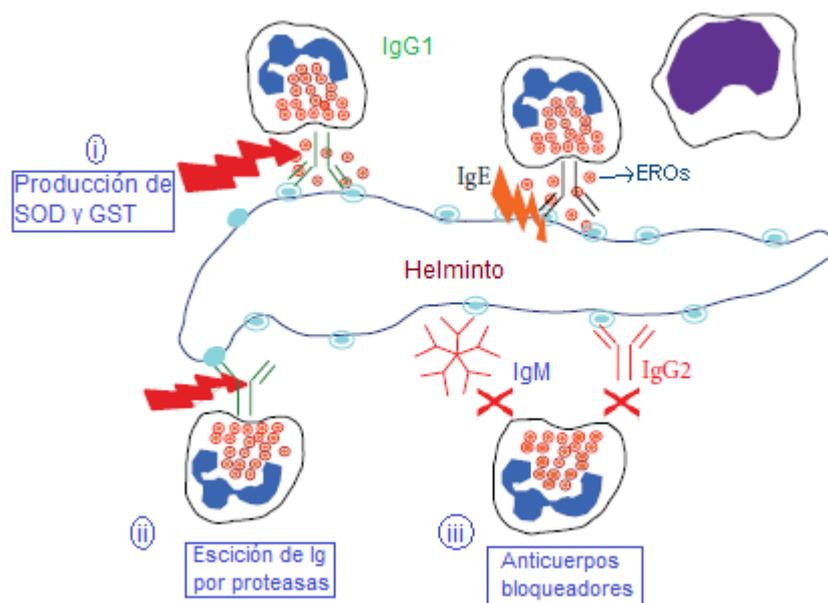


Figura 4. Principales mecanismos de evasión de la ADCC desarrollados por helmintos. Tres mecanismos principales de evasión en particular demostrados por helmintos se han descrito: (i) la producción de la superóxido dismutasa (SOD) y glutación S-transferasa (GST) que neutralizan los radicales superóxido, (ii) la escisión de IgE e IgG involucrados en la ADCC, y (iii) la producción de anticuerpos bloqueantes de tipo IgM e IgG₂, incapaces de mediar la adhesión de eosinófilos a trematodos. *Ilustración modificada de Moreau y colaboradores (25).*

3.10- Otros mecanismos de regulación inmunológica utilizados por helmintos.

Los helmintos pueden modular la función inmunológica del hospedero a través de la producción de determinadas moléculas que interactúan con otros elementos del sistema inmunológico. Por ejemplo, hay determinadas proteínas expresadas por helmintos que generan un rol inmuno-modulador.

Las Cistatinas procedentes de *Nippostrongylus brasiliensis*, *B.malayi*, entre otros, actúan como inmuno-moduladores mediante diversos mecanismos. Inhiben proteasas necesarias para el procesamiento y presentación de CPA en el hospedero reduciendo así el cebado de linfocitos T (42).

Por otro lado, algunos parásitos producen serpinas, las cuales son inhibidoras de serinproteasas. Por ejemplo, la SPN-2 presente en helmintos como *B. malayi*, inhibe específicamente la catepsina G de neutrófilos y elastasas neutrofilicas, las cuales cumplen un papel importante en la degradación de patógenos dentro del neutrófilo (42).

3.11- Inhibición de la actividad de enzimas metabólicas.

La producción de EROs por parte de los fagocitos representa un mecanismo primario en el ataque inmunológico por parte de los parásitos.

Muchos parásitos expresan altos niveles de anti-oxidantes como la SOD, catalasas, GST y tiroxinperoxidasas. *Fasciola gigantica*, produce SOD que neutraliza los radicales superóxido. Por otro lado, la acetilcolinesterasa, catalasa responsable de la destrucción de la acetilcolina en las uniones neuromusculares de seres humanos, se ha encontrado en el sistema neuromuscular helmíntico, como en *H. polygyrus*, *N. brasiliensis* y *B. malayi*, así como de PES de los mismos. Ésta, hidrolizando la acetilcolina en el hospedero, impediría el clearance del parásito a nivel intestinal (42).

OBJETIVO GENERAL

Teniendo en cuenta los efectos inmuno-moduladores que median los parásitos helmintos para favorecer su sobrevivencia dentro del hospedero, el objetivo general de este trabajo es investigar y discutir sobre el posible uso de terapias basadas en productos helmínticos como tratamiento de las enfermedades auto-inmunes, atópicas/alérgicas o inflamatorias.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1- Buscar, organizar y discutir la información reportada sobre investigación científica en biomedicina relacionada al uso de helmintos o sus productos derivados como estrategias de tratamiento de patologías autoinmunes, atópicas/alérgicas o inflamatorias en diversos modelos experimentales.
- 2- Identificar la naturaleza bioquímica de los productos helmínticos que podrían ser utilizados en dichas terapias.
Analizar y discutir los ensayos clínicos reportados que utilizan helmintos o sus productos derivados para el tratamiento de enfermedades autoinmunes, atópicas/alérgicas o inflamatorias.

METODOLOGÍA

El presente trabajo se realizó en base a lectura, análisis, interpretación y discusión de artículos científicos y revisiones bibliográficas relacionados con las infecciones por helmintos y su vinculación en el posible tratamiento de enfermedades autoinmunes y pro-inflamatorias. Teniendo como base teórica libros clásicos de inmunología y parasitología médica como lo son el Abbas y Antonio Atías respectivamente, entre otros.

Los artículos o revisiones científicos fueron obtenidos a partir del buscador "Pubmed" o "Timbó". Se priorizaron las publicaciones de revistas internacionales como "The Journal of Experimental Medicine", "International Journal for Parasitology", "Annals of the New York Academy of Sciences", "Current Medicinal Chemistry", "Nature Reviews", entre otras especializadas en Inmunología, Parasitología y Biomedicina, teniendo en cuenta además que no tengan una antigüedad superior a los 10 años. Además hicimos hincapié en que las publicaciones tuvieran un aval científico de calidad, con un índice de impacto superior a 5. Utilizamos el software "EndNote" como instrumento de organización de la bibliografía.

RESULTADOS

A continuación dividiremos los resultados según modelos experimentales y ensayos clínicos, investigándose estos, mediante la infección por helmintos o la

inoculación de moléculas derivadas de los mismos, en animales o pacientes con patologías autoinmunes, alérgicas/atópicas o inflamatorias. A modo de facilitar la comprensión de los datos proporcionados, resumimos esta información las siguientes tablas (Tablas I y II).

1- Modelos experimentales

1.1- Efecto de la infección por helmintos.

1.1.1- Enfermedades autoinmunes.

Existen muchos ejemplos en modelos experimentales espontáneos o inducidos de enfermedades autoinmunes humanas, en las que la infección por parásitos influye el curso de la patología autoinmune. Trabajos experimentales recientes han demostrado que helmintos pueden proteger al hospedero contra enfermedades autoinmunes o al menos disminuir la intensidad de los síntomas inducida por la misma. A continuación describiremos los ejemplos más relevantes.

En modelos murinos de DM tipo 1, la infección con *H. polygyrus*, *T. spiralis*, *Litomosoides sigmodontis* o *S. mansoni* disminuye los síntomas de la enfermedad. En este caso, el mecanismo de protección comprendería la inducción de linfocitos de tipo Th2, la AAM y de CNK, así como también la producción de TGF- β (4).

Se demostró también que la infección previa con *S. mansoni*, reduce tanto la incidencia como la gravedad experimental de encefalomiелitis autoinmune (EAI), en un modelo animal de EM (43).

Por otro lado, se ha estudiado el efecto de la infección por helmintos sobre el desarrollo sintomatológico de artritis. En modelos de ratas infectadas con el parásito nematodo *Symphacia obvelata* se observó una reducción en la artritis inducida por adyuvante completo de Freud (ACF) (44). Asimismo, en el tipo II de artritis inducida por colágeno (AIC), la infección por *S. mansoni* redujo la respuesta de anticuerpos específicos de colágeno tipo II, modulando las respuestas de tipo Th1 y Th17, con la disminución de la producción de citoquinas pro-inflamatorias.

1.1.2- Enfermedades atópicas/alérgicas.

Existen actualmente diversos estudios de modelos experimentales donde se ha demostrado el beneficio de la infección helmíntica dentro de las enfermedades alérgicas/atópicas. En este sentido, se observó que una reacción alérgica contra OVA fue inhibida en ratones infectados con *H. polygyrus* o *Schistosoma spp* (45). Estos resultados son paradójicos, porque la alergia está vinculada a la degranulación de los mastocitos por IgE, la producción de los cuales es estimulada por helmintos. Sin embargo, se ha evidenciado que en este caso, los helmintos inducen la producción de grandes cantidades de citoquinas supresoras (IL-10, TGF- β) por las células Treg que inhiben a continuación la inflamación alérgica (45). En coherencia con estos resultados, ratones infectados crónicamente con *Ascaris suum* inducidos con alérgenos de origen no parasitario fueron protegidos a través de la producción de IL-10 (25).

Por otro lado, se ha visto que la infección en ratones por el parásito helminto, *H. polygyrus* disminuye los síntomas de alergia a determinados alimentos como por ejemplo el maní, mediante el aumento de la producción de IL-10 (46). A su vez, también se observó, utilizando el mismo modelo parasitario, que disminuye la sintomatología producida por los ácaros del polvo doméstico mediante la inducción de LTreg (47).

1.1.3- Enfermedades inflamatorias.

Trabajos experimentales recientes han demostrado que los helmintos pueden proteger al hospedero contra enfermedades inflamatorias o al menos disminuir la intensidad de los síntomas inducida por las mismas. A continuación describiremos los ejemplos más relevantes.

Se demostró en modelos de ratones con colitis inducida por trinitrobenzeno sulfónico (TNBS), una disminución del grado de inflamación cuando previamente eran expuestos a la infección con *S. mansoni* (48).

Utilizando otro modelo de colitis inducido por dinitrobenzeno sulfónico (DNBS) se ha determinado que la infección de animales con larvas de *Hymenolepis diminuta* ocasiona un profundo efecto anti-colitis mediado por AAM (49).

1.2- Inoculación de moléculas helmínticas.

1.2.1- Enfermedades autoinmunes.

Los efectos protectores inducidos por la infección por diversos helmintos, también pueden ser reproducidos al administrar productos derivados de los helmintos, lo cual resulta altamente interesante en el desarrollo de tratamientos contra enfermedades autoinmunes. Sin embargo, en algunos casos la protección no se logra mediante los mismos mecanismos moleculares o celulares.

La administración de antígenos derivados de los huevos de *S. mansoni* previene el desarrollo de la DM tipo 1 en ratones diabéticos no obesos (NOD) (4). Además, se ha observado en modelos animales inoculados con la glicoproteína ES-62 secretada por *Filarias* una reducción del número de citoquinas pro-inflamatorias en las células sinoviales de los ratones con AR (50).

Por otro lado, se ha visto que la administración de productos solubles de *S. mansoni*, *Trichuris suis* y *T. spiralis*, disminuyen los signos clínicos de EAI en ratones a través de la modulación de las CDs.

También se ha encontrado que la glicoproteína lactato-N-fucopentosa III (LNFP III) presente en el parásito *S. mansoni* suprime la EAI en modelos experimentales, mediante el aumento de la expresión de las respuestas de tipo Th2 e IL-10 y mejora la psoriasis disminuyendo la producción de INF- γ producida en la piel (51).

1.2.2- Enfermedades atópicas/alérgicas.

La administración de fluido pseudocelómico (PCF) de *A. suum* en el peritoneo de ratones durante la sensibilización inicial con alérgenos de ambrosía (RW), redujo significativamente la migración de eosinófilos en la conjuntiva ocular; siendo similar a lo que se observó cuando los ratones fueron infectados crónicamente con *A. suum*. Además, una sola administración sistémica de PCF fue capaz de reducir significativamente la inflamación eosinofílica pulmonar y la patología pulmonar total como respuesta a estímulos con RW.

Tabla I: Protección contra patologías autoinmunes, atópicas o alérgicas mediadas por helmintos en modelos experimentales.

INFECCIÓN POR HELMINTOS	MODELO DE PATOLOGÍA	TIPO DE MECANISMO
<i>S. mansoni</i>	Artritis inducida por colágeno tipo II	Modulación de la vía Th1/Th17
<i>H. polygyrus</i>	DM tipo 1	Inducción de LTh2, la AAM, LNK y TGF- β
<i>T. suis</i>	EAI	Modulación de CD
<i>T. spiralis</i>	DM tipo 1	Inducción de LTh2, la AAM, LNK y TGF- β
<i>T. spiralis</i>	EAI	Modulación de CD
<i>L. sigmodontis</i>	DM tipo 1	Inducción de LTh2, la AAM, LNK y TGF- β
<i>H. diminuta</i>	Colitis inducida por DNBS	AAM
<i>H. polygyrus</i>	alergia a los ácaros del polvo doméstico	Modulación dependiente de LTreg e IL 10 independiente
<i>H. polygyrus</i>	alergia a los alimentos: maní	Modulación independiente de IL-10
INOCULACIÓN DE MOLÉCULAS	MODELO DE PATOLOGÍA	TIPO DE MECANISMO
<i>S.mansoni</i> (productos solubles)	EAI	Modulación de CD
<i>Filarias</i> (glicoproteína ES-62)	AR	↓ de citoquinas pro-inflamatorias
<i>S. japonicum</i> (OVA)	Colitis	Inducción de LTreg, ↓LTh1 y ↑ LTh2
<i>S. mansoni</i> (LNFPIII)	EAI	↑ de respuesta de LTh2 e IL-10
<i>S. mansoni</i> (antígenos derivados de los huevos)	DM tipo 1	Inducción de LTh2, la AAM, LNK y TGF- β
<i>H. polygyrus</i> (ES)	Alergia específica de las vías respiratorias	Inducción de LTreg
<i>A. suum</i> (PCF)	Conjuntivitis alérgica	Inhibición de CPA

Interesantemente, los mecanismos protectores inducidos por la infección por *A. suum* o por la administración de PCF, no fueron los mismos. En el caso de la infección parasitaria, la disminución de la respuesta alérgica, estaría mediada por IL-10 (45). Sin embargo, la inoculación de PCF induciría una reducción de la expresión de las moléculas co-estimuladoras de las CDs inducidas por alérgenos, convirtiendo a las CDs en tolerogénicas (45). Además, estudios *in vitro* utilizando CDs de médula ósea (CDMO) demostraron que el PCF inhibe la expresión de marcadores de activación de CDs inducidas por LPS (45). De esta forma, la expresión de productos por *A. suum* podría limitar potencialmente reacciones alérgicas locales que contribuyen a una reducción

de la respuesta del hospedero frente a la infección, ya que las larvas que migran expresan los antígenos encontrados en PCF (45, 52-53).

Otros estudios también demostraron que los PES de *H. polygyrus* pueden inducir LTreg *in vitro* a través de la vía de TGF- β . La transferencia de LTreg inducida *in vitro* por estos productos, también disminuyó la inflamación alérgica de las vías respiratorias, lo que confirma la capacidad de los LTreg inducidos por helmintos para suprimir la patología alérgica (44).

1.2.3- Enfermedades inflamatorias

En el contexto de un modelo experimental desarrollado en ratones, se demostró que la administración de antígenos esquistosomales suprimió la colitis inducida por TNBS, lo cual se encuentra acompañado por la inhibición de la expresión de genes de IL-17 en el colon y el nodo linfático mesentérico (1).

Otro estudio experimental en ratones tratados con antígenos derivados de los huevos de *Schistosoma japonicum*, mostró que se previene la colitis mediante la inducción de células Treg, la limitación de la respuesta de tipo Th1 y el incremento en la producción de citoquinas de tipo Th2 (54).

2- Ensayos clínicos

A medida que fueron surgiendo los resultados en modelos experimentales, con respecto al efecto protector de los helmintos y sus productos en los tipos de patologías ya mencionados, se comenzó a realizar estudios epidemiológicos (observacionales) o ensayos clínicos (intervencionistas) en individuos, como los que se presentarán a continuación.

2.1- Estudios epidemiológicos relacionados con infecciones helmínticas.

Se realizó un ensayo clínico prospectivo por Correale and Farez (2007) en pacientes con EM, a los cuales se les realizaron estudios reactivos, para determinar quienes habían cursado una infección con parásitos como *Hymenolepis nana*, *Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Strongyloides stercoralis*, y *Enterobius vermicularis*. Los pacientes cursando el parasitismo mostraron un número menor de complicaciones sintomáticas, mínimas variaciones en el avance de la enfermedad, así como cambios insignificantes

en la resonancia magnética en comparación con pacientes con EM sin previa infección (43). También se observó que las respuestas específicas de las células mononucleares en sangre periférica producían un aumento de IL-10 y TGF- β y una disminución de IL-12 e INF- γ en los pacientes infectados en comparación con los pacientes no infectados. En un informe posterior, los investigadores ampliaron el periodo de observación a algunos años más, en donde observaron que los sujetos infectados tenían significativos síntomas gastrointestinales. Luego, estos sujetos fueron tratados con drogas anti-helmínticas lo que resultó, en la eliminación del parásito y además hubo un aumento o retorno de la clínica propia de la EM (55).

Por otro lado, se evidenció en algunos ensayos clínicos que en pacientes con enfermedad celíaca activa existía un aumento en los niveles de células CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ en la circulación y en la mucosa. A su vez se observó en sujetos parasitados con *N. americanus* que la producción basal de INF- γ e IL-17 era suprimida al igual que las células CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺ (11).

Se realizó un estudio analítico transversal en niños procedentes de zonas rurales, donde se determinó la infección por geohelminthos como *A. Lumbricoides*, *T. trichiura* y *Ascaris duodenale* y se vio que estaban protegidos contra el desarrollo de atopías (56).

Como se ha visto, varios estudios epidemiológicos recientes han sugerido que las células Treg inducidas por las infecciones crónicas de helmintos, pueden ser responsables de la protección de la enfermedad ocular alérgica. En parte a través de la inducción de citoquinas inmunosupresoras tales como IL-10, ya que los pacientes que están protegidos de las enfermedades alérgicas tienen un mayor número de CD4⁺/CD25⁺, células Treg y produce una mayor cantidad de IL-10 (45,53).

Por otro lado, se observó en un estudio que la infección con *T. suis* no tendría beneficio clínico en pacientes con rino-conjuntivitis alérgica, en contraste con los beneficios encontrados en enfermedades inflamatorias intestinales. Dicho hallazgo estaría fundado en que el efecto anti-inflamatorio producido por este helminto en particular estaría circunscripto a la esfera intestinal (18).

Aunque los ensayos clínicos con anquilostomas en adultos todavía no pueden demostrar ningún efecto contundente, el efecto protector de la anquilostomiasis

sí se describe en estudios observacionales que sugieren que la protección en las patologías alérgicas viene determinada por las infecciones en los primeros años de vida. Sin embargo, los hallazgos en múltiples ensayos clínicos ya evidencian que la infección con estos parásitos es bien tolerada por los pacientes, abriendo un camino seguro para continuar con estudios para determinar si la infección es efectiva en el tratamiento de las enfermedades alérgicas (16-17).

2.2- Estudios de intervención mediante inoculación de componentes derivados de helmintos.

De todos los ensayos clínicos realizados hasta el momento, aquellos que son más abundantes son en los que se evalúa el efecto de protección de la administración de huevos de *T. suis* contra patologías intestinales, o autoinmunes. Ello se debe principalmente a que hace algunos años la FDA (por su sigla en inglés de *Food and Drug Administration*) ha dado a los huevos de *T. suis* el status de “nueva droga” en investigación, permitiendo de esta forma la realización de ensayos clínicos en humanos.

En un estudio, 54 pacientes con colitis activa recibieron huevos de *T. suis* o placebo por 12 semanas en intervalos de 2 semanas. Se comprobó beneficio clínico en 13/30 pacientes tratados con huevos vivos de *T. suis*, en contraposición de 4/24 pacientes tratados con placebo (2). En otro ensayo clínico realizado con 29 pacientes con enfermedad de crohn activa tratados con huevos vivos de *T. suis*, se observó al final del seguimiento que 23/29 respondieron al tratamiento y 21/29 remitieron sus síntomas (2). Esto se evidenció debido a que *T. suis* modula el sistema inmunológico hacia la vía Th2 e induce la activación de LTreg y aumento de IL-10 y TGF- β , como se ha visto en modelos murinos (2). En otro estudio se analizó el efecto de la terapia con huevos de *T. suis* (TSO del inglés *T. suis* ova) en el curso de la EM, evidenciándose que el tratamiento es bien tolerado por los pacientes. Además se observó un efecto sistémico inmuno-modulador que sugiere una tendencia hacia la disminución de la respuesta de tipo Th1(15). Estos datos indican que la administración de huevos de *T. suis* protege contra diversas patologías autoinmunes o inflamatorias.

Pocos son los ensayos clínicos donde se evalúa la protección de la administración de componentes de helmintos. Por ejemplo, en un estudio se demostró que en presencia de ES-62 de *Acanthocheilonema vitea*, los cultivos de líquido y membrana sinovial de ser humano con AR expresaron una reducción de los niveles de TNF- α , IL-6, e IFN- γ , mientras que células mononucleares de sangre periférica de pacientes con AR mostraron una baja secreción de IFN- γ siguiente a la administración de ES-62 (57).

Adicionalmente, se reportaron datos obtenidos de un paciente que se infectó con *T. trichiura*. Dicho paciente presentaba colitis activa y tenía un importante aumento de IL-17, mientras que la IL-22, la cual es una citoquina implicada en la cicatrización de lesiones en la mucosa intestinal, se encontraba disminuida. En cambio, cuando se expuso a *T. trichiura*, la enfermedad entró en remisión, disminuyendo la IL-17 y aumentando la IL-22 (9).

Tabla II: Protección contra patologías autoinmunes, atópicas o alérgicas mediadas por helmintos en ensayos epidemiológicos y clínicos.

PARÁSITO y/o PREPARACIÓN	MODELO DE PATOLOGÍA	TIPO DE MECANISMO
<i>H. nana</i>	EM	↑IL-10 y de TGF- β y ↓IL-12 y de INF- γ
<i>T. trichiura</i>	EM	↑IL-10 y de TGF- β y ↓IL-12 y de INF- γ
<i>T. trichiura</i>	Atopías	↑ IgE e IGg4
<i>A. lumbricoides</i>	EM	↑IL-10 y de TGF- β y ↓IL-12 y de INF- γ
<i>A. lumbricoides</i>	Atopías	↑ IgE e IGg4
<i>S. stercolaris</i>	EM	↑IL-10 y de TGF- β y ↓IL-12 y de INF- γ
<i>E. vermicularis</i>	EM	↑IL-10 y de TGF- β y ↓IL-12 y de INF- γ
<i>A. duodenale</i>	Atopías	↑ IgE e IGg4
INOCULACIÓN DE MOLÉCULAS	MODELO DE PATOLOGÍA	TIPO DE MECANISMO
Huevos de <i>T. suis</i>	Colitis	↑de LTh2, LTreg, IL-10 y TGF- β
Huevos de <i>T. suis</i>	enfermedad de Crohn	↑de LTh2, LTreg, IL-10 y TGF- β
Huevos de <i>T. suis</i>	EM	↓respuesta de tipo Th1
<i>Acanthocheilonema vitea</i> (ES-62)	AR	↓TNF- α , IL-6, e IFN- γ

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Desde hace varios años se conoce el poder inmuno-modulador de las infecciones parasitarias sobre el sistema inmunológico del hospedero, pero es a partir de la teoría de la hipótesis de la higiene propuesta por D. Strachan en el año 1989, que despierta el interés científico por el potencial benéfico de estas infecciones.

Múltiples datos epidemiológicos condujeron a la investigación en animales de experimentación, demostrándose la influencia de las infecciones por parásitos helmintos y/o sus moléculas en el sistema inmunológico de su hospedero. La realización de ensayos en modelos animales experimentales, junto con los estudios observacionales en zonas endémicas de infecciones helmínticas, fueron el punta pie inicial para la elaboración de ensayos clínicos en pacientes con enfermedades pro-inflamatorias, alérgicas o auto-inmunes.

Si bien los resultados obtenidos tanto en experimentos animales como en ensayos clínicos y los estudios realizados en zonas de alta prevalencia de infecciones helmínticas, mostraron un beneficio en la mejoría de la sintomatología de las patologías tratadas hasta el momento, se continúa en la senda de la investigación para poder confirmar las teorías impuestas desde décadas. Ello llevó a la comprensión a nivel molecular de los mecanismos que los helmintos median, lo que ha permitido desarrollar nuevas estrategias para la utilización de moléculas como nuevos fármacos. De forma general, se trató de la administración de PES o de huevos de parásitos. Si queremos llegar a una aplicación clínica ideal estaríamos buscando una proteína pura o un complejo proteico, por lo que los estudios centralizados en el efecto de alguna(s) molécula(s) purificada(s) sería de gran importancia para llegar a la clínica.

La realidad es que la mayoría de los estudios de intervención se han realizado con los huevos de *T. Suis* en humanos. Es verdad que la información al respecto es bastante generosa y que en prácticamente todos los casos es contundente y robusta. Pero aún queda mucho por investigar con respecto a la administración de otros componentes helmínticos.

Tales perspectivas aún no se han dilucidado completamente dado los límites éticos que impone la investigación científica, pero las pruebas obtenidas en

ensayos clínicos nos da motivos para el optimismo real hacia nuevas terapias moleculares de helmintos. Los resultados sugieren que en los próximos años podremos acceder a este tipo de estudios, y junto con la identificación de componentes parasitarios inmuno-moduladores, las terapias helmínticas serán más fácilmente aceptadas que la administración de huevos parasitarios.

Sería interesante, conociendo los mecanismos moleculares, poder tratar de emular el efecto generado por los parásitos o sus productos. En este sentido quizá, sería posible la administración de la IL-10 pura o de TGF- β , los cuales sabemos son algunos de los principales moduladores utilizados por los helmintos. Alternativamente, se podría pensar en obtener linfocitos de sangre periférica de pacientes y diferenciarlos a LTreg, con actividad supresora y volverlos a administrar en el paciente, como otra de las tantas opciones posibles.

Está claro que los productos inmuno-moduladores de helmintos serán probablemente la terapia del futuro en patologías como las mencionadas en este texto, pudiendo llegar a suplir el rol de los inmuno-supresores empleados en el tratamiento actual.

Como reflexión final de este trabajo monográfico, sería importante destacar la importancia para el médico clínico en formación de estar en contacto con la información científica actualizada, ya que le permitiría acceder a tratamientos de punta en su especialidad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ruysers NE, De Winter BY, De Man JG, Loukas A, Pearson MS, Weinstock JV, et al. Therapeutic potential of helminth soluble proteins in TNBS-induced colitis in mice. *Inflamm Bowel Dis.* 2009 Apr;15(4):491-500.
2. Ben-Ami Shor D, Harel M, Eliakim R, Shoenfeld Y. The hygiene theory harnessing helminths and their ova to treat autoimmunity. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2013 Oct;45(2):211-6.

3. Maizels RM, Yazdanbakhsh M. Immune regulation by helminth parasites: cellular and molecular mechanisms. *Nat Rev Immunol*. 2003 Sep;3(9):733-44.
4. McSorley HJ, Hewitson JP, Maizels RM. Immunomodulation by helminth parasites: defining mechanisms and mediators. *Int J Parasitol*. 2013 Mar;43(3-4):301-10.
5. Summers RW, Elliott DE, Qadir K, Urban JF, Jr., Thompson R, Weinstock JV. *Trichuris suis* seems to be safe and possibly effective in the treatment of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 2003 Sep;98(9):2034-41.
6. Summers RW, Elliott DE, Urban JF, Jr., Thompson R, Weinstock JV. *Trichuris suis* therapy in Crohn's disease. *Gut*. 2005 Jan;54(1):87-90.
7. Summers RW, Elliott DE, Urban JF, Jr., Thompson RA, Weinstock JV. *Trichuris suis* therapy for active ulcerative colitis: a randomized controlled trial. *Gastroenterology*. 2005 Apr;128(4):825-32.
8. Croese J, O'Neil J, Masson J, Cooke S, Melrose W, Pritchard D, et al. A proof of concept study establishing *Necator americanus* in Crohn's patients and reservoir donors. *Gut*. 2006 Jan;55(1):136-7.
9. Broadhurst MJ, Leung JM, Kashyap V, McCune JM, Mahadevan U, McKerrow JH, et al. IL-22+ CD4+ T cells are associated with therapeutic *trichuris trichiura* infection in an ulcerative colitis patient. *Sci Transl Med*. 2010 Dec 1;2(60):60ra88.
10. Daveson AJ, Jones DM, Gaze S, McSorley H, Clouston A, Pascoe A, et al. Effect of hookworm infection on wheat challenge in celiac disease--a randomised double-blinded placebo controlled trial. *PLoS One*. 2011;6(3):e17366.
11. McSorley HJ, Gaze S, Daveson J, Jones D, Anderson RP, Clouston A, et al. Suppression of inflammatory immune responses in celiac disease by experimental hookworm infection. *PLoS One*. 2011;6(9):e24092.
12. Correale J, Farez M. Monocyte-derived dendritic cells in multiple sclerosis: the effect of bacterial infection. *J Neuroimmunol*. 2007 Oct;190(1-2):177-89.
13. Correale J. MS in Latin America. *Int MS J*. 2008 Mar;15(1):3-5.

14. Fleming JO. Helminths and multiple sclerosis: will old friends give us new treatments for MS? *J Neuroimmunol*. 2011 Apr;233(1-2):3-5.
15. Benzel F, Erdur H, Kohler S, Frensch M, Thiel A, Harms L, et al. Immune monitoring of *Trichuris suis* egg therapy in multiple sclerosis patients. *J Helminthol*. 2012 Sep;86(3):339-47.
16. Blount D, Hooi D, Feary J, Venn A, Telford G, Brown A, et al. Immunologic profiles of persons recruited for a randomized, placebo-controlled clinical trial of hookworm infection. *Am J Trop Med Hyg*. 2009 Nov;81(5):911-6.
17. Feary J, Venn A, Brown A, Hooi D, Falcone FH, Mortimer K, et al. Safety of hookworm infection in individuals with measurable airway responsiveness: a randomized placebo-controlled feasibility study. *Clin Exp Allergy*. 2009 Jul;39(7):1060-8.
18. Bager P, Arved J, Ronborg S, Wohlfahrt J, Poulsen LK, Westergaard T, et al. *Trichuris suis* ova therapy for allergic rhinitis: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Jan;125(1):123-30 e1-3.
19. Hotez PJ, Brindley PJ, Bethony JM, King CH, Pearce EJ, Jacobson J. Helminth infections: the great neglected tropical diseases. *J Clin Invest*. 2008 Apr;118(4):1311-21.
20. Ashour DS. *Trichinella spiralis* immunomodulation: an interactive multifactorial process. *Expert Rev Clin Immunol*. 2013 Jul;9(7):669-75.
21. Finkelman FD, Shea-Donohue T, Morris SC, Gildea L, Strait R, Madden KB, et al. Interleukin-4- and interleukin-13-mediated host protection against intestinal nematode parasites. *Immunol Rev*. 2004 Oct;201:139-55.
22. Herbert DR, Holscher C, Mohrs M, Arendse B, Schwegmann A, Radwanska M, et al. Alternative macrophage activation is essential for survival during schistosomiasis and downmodulates T helper 1 responses and immunopathology. *Immunity*. 2004 May;20(5):623-35.
23. Bethony J, Brooker S, Albonico M, Geiger SM, Loukas A, Diemert D, et al. Soil-transmitted helminth infections: ascariasis, trichuriasis, and hookworm. *Lancet*. 2006 May 6;367(9521):1521-32.

24. Kvarnhammar AM, Cardell LO. Pattern-recognition receptors in human eosinophils. *Immunology*. 2012 May;136(1):11-20.
25. Moreau E, Chauvin A. Immunity against helminths: interactions with the host and the intercurrent infections. *J Biomed Biotechnol*. 2010;2010:428593.
26. Culley FJ, Brown A, Conroy DM, Sabroe I, Pritchard DI, Williams TJ. Eotaxin is specifically cleaved by hookworm metalloproteases preventing its action in vitro and in vivo. *J Immunol*. 2000 Dec 1;165(11):6447-53.
27. McSorley HJ, O'Gorman MT, Blair N, Sutherland TE, Filbey KJ, Maizels RM. Suppression of type 2 immunity and allergic airway inflammation by secreted products of the helminth *Heligmosomoides polygyrus*. *Eur J Immunol*. 2012 Oct;42(10):2667-82.
28. Serradell MC, Guasconi L, Cervi L, Chiapello LS, Masih DT. Excretory-secretory products from *Fasciola hepatica* induce eosinophil apoptosis by a caspase-dependent mechanism. *Vet Immunol Immunopathol*. 2007 Jun 15;117(3-4):197-208.
29. Vukman KV, Adams PN, Dowling D, Metz M, Maurer M, O'Neill SM. The effects of *Fasciola hepatica* tegumental antigens on mast cell function. *Int J Parasitol*. 2013 Jun;43(7):531-9.
30. Miller JJ, 3rd, Cole LJ. Proliferation of mast cells after antigenic stimulation in adult rats. *Nature*. 1968 Jan 20;217(5125):263-4.
31. Schramm G, Mohrs K, Wodrich M, Doenhoff MJ, Pearce EJ, Haas H, et al. Cutting edge: IPSE/alpha-1, a glycoprotein from *Schistosoma mansoni* eggs, induces IgE-dependent, antigen-independent IL-4 production by murine basophils in vivo. *J Immunol*. 2007 May 15;178(10):6023-7.
32. Everts B, Perona-Wright G, Smits HH, Hokke CH, van der Ham AJ, Fitzsimmons CM, et al. Omega-1, a glycoprotein secreted by *Schistosoma mansoni* eggs, drives Th2 responses. *J Exp Med*. 2009 Aug 3;206(8):1673-80.
33. Falcon CR, Carranza FA, Aoki P, Motran CC, Cervi L. Adoptive transfer of dendritic cells pulsed with *Fasciola hepatica* antigens and

- lipopolysaccharides confers protection against fasciolosis in mice. *J Infect Dis.* 2012 Feb 1;205(3):506-14.
34. Carranza F, Falcon CR, Nunez N, Knubel C, Correa SG, Bianco I, et al. Helminth antigens enable CpG-activated dendritic cells to inhibit the symptoms of collagen-induced arthritis through Foxp3⁺ regulatory T cells. *PLoS One.* 2012;7(7):e40356.
 35. Allen JE, Sutherland TE. Host protective roles of type 2 immunity: Parasite killing and tissue repair, flip sides of the same coin. *Semin Immunol.* 2014 Jul 11.
 36. Luthi AU, Cullen SP, McNeela EA, Duriez PJ, Afonina IS, Sheridan C, et al. Suppression of interleukin-33 bioactivity through proteolysis by apoptotic caspases. *Immunity.* 2009 Jul 17;31(1):84-98.
 37. Gruden-Movsesijan A, Ilic N, Colic M, Majstorovic I, Vasilev S, Radovic I, et al. The impact of *Trichinella spiralis* excretory-secretory products on dendritic cells. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2011 Sep;34(5):429-39.
 38. Zaccone P, Burton OT, Gibbs SE, Miller N, Jones FM, Schramm G, et al. The *S. mansoni* glycoprotein omega-1 induces Foxp3 expression in NOD mouse CD4(+) T cells. *Eur J Immunol.* 2011 Sep;41(9):2709-18.
 39. Segura M, Su Z, Piccirillo C, Stevenson MM. Impairment of dendritic cell function by excretory-secretory products: a potential mechanism for nematode-induced immunosuppression. *Eur J Immunol.* 2007 Jul;37(7):1887-904.
 40. Grainger JR, Smith KA, Hewitson JP, McSorley HJ, Harcus Y, Filbey KJ, et al. Helminth secretions induce de novo T cell Foxp3 expression and regulatory function through the TGF-beta pathway. *J Exp Med.* 2010 Oct 25;207(11):2331-41.
 41. Shevach EM. Biological functions of regulatory T cells. *Adv Immunol.* 2011;112:137-76.
 42. Hewitson JP, Grainger JR, Maizels RM. Helminth immunoregulation: the role of parasite secreted proteins in modulating host immunity. *Mol Biochem Parasitol.* 2009 Sep;167(1):1-11.

43. Correale J, Farez M. Association between parasite infection and immune responses in multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2007 Feb;61(2):97-108.
44. McSorley HJ, Maizels RM. Helminth infections and host immune regulation. *Clin Microbiol Rev*. 2012 Oct;25(4):585-608.
45. McConchie BW, Norris HH, Bundoc VG, Trivedi S, Boesen A, Urban JF, Jr., et al. *Ascaris suum*-derived products suppress mucosal allergic inflammation in an interleukin-10-independent manner via interference with dendritic cell function. *Infect Immun*. 2006 Dec;74(12):6632-41.
46. Bashir ME, Andersen P, Fuss IJ, Shi HN, Nagler-Anderson C. An enteric helminth infection protects against an allergic response to dietary antigen. *J Immunol*. 2002 Sep 15;169(6):3284-92.
47. Wilson MS, Taylor MD, Balic A, Finney CA, Lamb JR, Maizels RM. Suppression of allergic airway inflammation by helminth-induced regulatory T cells. *J Exp Med*. 2005 Nov 7;202(9):1199-212.
48. Moreels TG, Nieuwendijk RJ, De Man JG, De Winter BY, Herman AG, Van Marck EA, et al. Concurrent infection with *Schistosoma mansoni* attenuates inflammation induced changes in colonic morphology, cytokine levels, and smooth muscle contractility of trinitrobenzene sulphonic acid induced colitis in rats. *Gut*. 2004 Jan;53(1):99-107.
49. Heylen M, Ruysers NE, Gielis EM, Vanhomwegen E, Pelckmans PA, Moreels TG, et al. Of worms, mice and man: an overview of experimental and clinical helminth-based therapy for inflammatory bowel disease. *Pharmacol Ther*. 2014 Aug;143(2):153-67.
50. Pineda MA, McGrath MA, Smith PC, Al-Riyami L, Rzepecka J, Gracie JA, et al. The parasitic helminth product ES-62 suppresses pathogenesis in collagen-induced arthritis by targeting the interleukin-17-producing cellular network at multiple sites. *Arthritis Rheum*. 2012 Oct;64(10):3168-78.
51. Wammes LJ, Mpairwe H, Elliott AM, Yazdanbakhsh M. Helminth therapy or elimination: epidemiological, immunological, and clinical considerations. *Lancet Infect Dis*. 2014 Jun 26.

52. Kahn M, Barney NP, Briggs RM, Bloch KJ, Allansmith MR. Penetrating the conjunctival barrier. The role of molecular weight. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1990 Feb;31(2):258-61.
53. Souza VM, Faquim-Mauro EL, Macedo MS. Extracts of *Ascaris suum* egg and adult worm share similar immunosuppressive properties. *Braz J Med Biol Res.* 2002 Jan;35(1):81-9.
54. Mo HM, Liu WQ, Lei JH, Cheng YL, Wang CZ, Li YL. *Schistosoma japonicum* eggs modulate the activity of CD4+ CD25+ Tregs and prevent development of colitis in mice. *Exp Parasitol.* 2007 Aug;116(4):385-9.
55. Fleming JO. Helminth therapy and multiple sclerosis. *Int J Parasitol.* 2013 Mar;43(3-4):259-74.
56. Cooper PJ, Chico ME, Rodrigues LC, Ordonez M, Strachan D, Griffin GE, et al. Reduced risk of atopy among school-age children infected with geohelminth parasites in a rural area of the tropics. *J Allergy Clin Immunol.* 2003 May;111(5):995-1000.
57. Matisz CE, McDougall JJ, Sharkey KA, McKay DM. Helminth parasites and the modulation of joint inflammation. *J Parasitol Res.* 2011;2011:942616.