

Inmunología de la infección por helmintos

M.^a L. Caballero Soto

Servicio de Inmunología. Centro de Investigación Clínica. Instituto de Salud Carlos III. Madrid

La prevalencia global de infección por helmintos o gusanos parásitos, probablemente, excede a cualquier otra infección. Se estima que un tercio de la población mundial alberga una infección con helmintos intestinales (*Trichuris trichiura*, *Ascaris lumbricoides*, *Strongyloides stercoralis*, uncinarias)¹; entre 200 y 300 millones de personas se cree que están infectadas por alguna de las especies de esquistosomas (*Schistosoma mansoni*, *Schistosoma haematobium*, *Schistosoma japonicum*)², y más de 150 millones están infectados con alguno de los parásitos filariales patogénicos (*Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, *Loa loa*)³ (tabla I).

Estos grandes organismos extracelulares tienen complicados ciclos vitales. En el hombre pueden habitar en el intestino, en vasos sanguíneos, órganos linfáticos u otras localizaciones. Con frecuencia migran a través de tejidos hasta alcanzar el órgano definitivo en el que se asientan. Pueden sobrevivir durante años en el hospedador infectado, al que no tienen como objetivo destruir, debido a que han desarrollado estrategias de evasión ante la respuesta inmunitaria del hospedador.

Los helmintos inducen una expansión de los linfocitos Th2. No está claro si esta respuesta que incluye aumento de la concentración de IgE total, eosinofilia y mastocitosis es importante en la respuesta inmunitaria protectora o si es la responsable de la patología que se observa en algunas parasitosis o si, tal vez, interviene en los dos aspectos.

Un mejor entendimiento de la inmunología de las infecciones por helmintos, así como la búsqueda de rutas bioquímicas y moléculas exclusivas y vitales para el parásito sobre las que se pue-

da intervenir para inhibir su penetración y asentamiento en el hombre, constituyen las perspectivas actuales para el desarrollo de nuevos métodos de control mediante inmuno o quimioprofilaxis.

CARACTERÍSTICAS ANTIGÉNICAS DE LOS HELMINTOS

Los parásitos helmintos son de mayor tamaño y tienen estructuras y ciclos de vida más complejos que los protozoos. Esto hace que presenten mayor número de antígenos y que éstos tengan especificidad de estadio.

Los helmintos muestran distinta morfología según se encuentren en su fase de vida libre o en sus distintos hospedadores, por ejemplo las cercarias de esquistosomas pierden la cola bifurcada

Tabla I. Prevalencia global de infección por helmintos humanos

Parásito	Estimación	Referencia bibliográfica
Helmintos intestinales		
<i>Trichuris trichiura</i>	1/3 población mundial	1
<i>Ascaris lumbricoides</i>		
<i>Strongyloides stercoralis</i>		
uncinarias		
Esquistosomas		
<i>Schistosoma mansoni</i>	200-300 millones	2
<i>Schistosoma haematobium</i>		
<i>Schistosoma japonicum</i>		
Parásitos filariales		
<i>Wuchereria bancrofti</i>	>150 millones	3
<i>Brugia malayi</i>		
<i>Loa loa</i>		

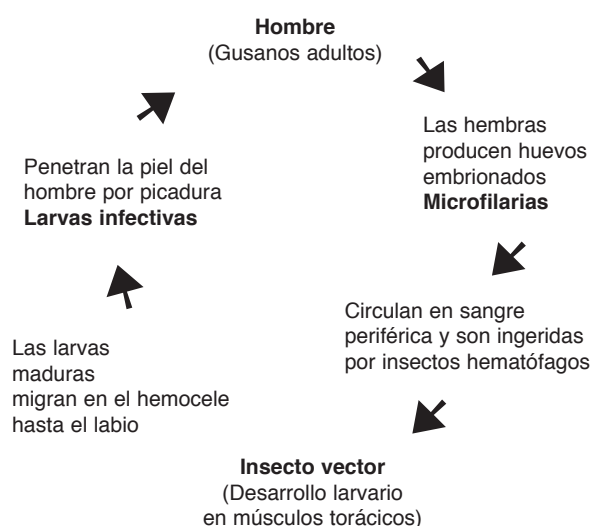


Fig. 1. Representación esquemática del ciclo de vida de las filarias humanas: *Wuchereria*, *Loa*, *Onchocerca*.

que necesitaban en el medio acuático al entrar en el hospedador. Los parásitos, en su penetración, al pasar de un medio aerobio a uno anaerobio necesitan una adaptación de su metabolismo. En las migraciones a través de los tejidos hasta asentarse en el definitivo, se ven sometidos a condiciones de estrés debido a cambios de temperatura, pH, productos de oxidación o radicales libres. En todos estos medios el parásito debe adaptarse, y se produce una continua activación de genes que conduce a la expresión de moléculas que le ayuden a esta adaptación. Una vez establecido, también desarrolla sus mecanismos de supervivencia mediante una acción evasiva frente a la respuesta inmunitaria del hospedador. En todos estos procesos existe una activa expresión génica que da lugar a moléculas potencialmente antigénicas y que son específicas de la fase del ciclo en la que el parásito se encuentre.

Las filarias proporcionan un buen sistema experimental para el estudio de antígenos estadio-específicos debido a la complejidad de su ciclo de vida y al requerimiento de un vector (artrópodo hematófago) (fig. 1). La forma infectiva para el hospedador mamífero es el tercer estadio larvario (L3) que es transmitido por picadura de mosquito. Las L3 son llevadas desde la piel a vasos linfáticos. En ellos alcanzan la madurez y las hembras adultas

producen un abundante número de microfilarias (Mf) o primer estadio larvario que circulan en la sangre del hospedador infectado. Cuando las Mf son ingeridas por un mosquito hematófago susceptible, migran a los músculos torácicos y, tras dos mudas, se desarrollan las L3 infectivas para el hombre.

Uno de los hechos más interesantes del ciclo de vida de las filarias es el bloqueo del desarrollo que sufre la Mf en el hospedador mamífero y el de la L3 en el vector artrópodo. Para ambas etapas del ciclo, el bloqueo marca el final de la fase de desarrollo en el mamífero (Mf) o en el mosquito (L3), lo que sugiere la posibilidad de que estos nematodos utilicen señales derivadas del hospedador reguladoras del desarrollo⁴.

Como en todos los nematodos, la transición de una etapa del ciclo de vida a la siguiente está caracterizada por una muda, en la cual, la nueva cutícula es sintetizada y la antigua eliminada. La glutatión peroxidasa cuticular, gp29, se expresa en todos los estadios del ciclo de vida examinados, aunque la cantidad relativa y el grado de glicosilación de la molécula varía entre las diferentes etapas⁵. Estudios mediante inmunofluorescencia han establecido que epítomos estadio-específicos están presentes en la superficie más externa de la L3, pero la naturaleza de estos epítomos es desconocida⁶.

A pesar del hecho de que las diferentes etapas del ciclo puedan ser morfológicamente y antigénicamente distintas, la identificación y caracterización funcional de proteínas estadio-específicas no ha sido sencilla⁴. Se han generado bibliotecas de cDNA preparadas de las diferentes etapas del ciclo de vida de filarias mediante transcripción inversa de RNA seguida de reacción en cadena de la polimerasa (RT-PCR) a partir de RNA aislado de las distintas etapas del ciclo: L3 del mosquito, L3 postinfectiva, L4 y adulto. Los patrones de expresión de cada mRNA varían a través de los diferentes estadios⁴.

Se ha generado una biblioteca de la etapa L3 postinfectiva (estadio crucial para la infección del hombre y otros mamíferos), en la cual los genes que se transcriben estarían implicados en los mecanismos de adaptación de la L3 a un ambiente completamente nuevo, donde toma las medidas adecuadas para evitar la respuesta inmune del hospedador y continúa su ciclo de desarrollo. No se

conoce nada acerca de los mecanismos moleculares o celulares implicados en estos procesos, pero los genes transcritos responsables del inicio del desarrollo de la L3 hacia la etapa de Mf juegan papeles clave en el ciclo de vida del parásito y, por tanto, podrían proporcionar posibles dianas para intervención quimioterapéutica o inmunológica⁴.

La Mf es una etapa interesante del ciclo porque constituye un reservorio de infección. En este estadio se ha identificado, mediante electroforesis, un complejo de proteínas que son altamente expresadas en Mf cultivadas bajo condiciones de hospedador mamífero e inmediatamente reprimidas cuando las Mf se transfieren a condiciones del vector (mosquito)⁷. Estas proteínas, diferencialmente expresadas, se comprobó que pertenecían a la familia de las proteínas de choque térmico (HSPs) de bajo peso molecular, cuyas funciones precisas permanecen desconocidas. Las HSP se inducen en respuesta a una variedad de estímulos ambientales como la temperatura elevada o condiciones de estrés oxidativo. Se ha sugerido que podrían estar relacionadas con el bloqueo del desarrollo de las Mf en el hospedador mamífero⁴.

En general, se han definido genes que son expresados de forma estadio-específica, regulados secuencialmente a lo largo del ciclo biológico del parásito, cuya importancia funcional es decisiva para asegurar su establecimiento y supervivencia en el hospedador.

MECANISMOS IMPLICADOS EN LA RESPUESTA INMUNE

En 1986, Mosmann *et al.*⁸ inician un concepto revolucionario en Inmunología al dividir las células T cooperadoras (Th) en dos poblaciones según los perfiles de citocinas implicadas. El papel de las células Th1 y Th2 ha llegado a constituir un dogma, con las afirmaciones categóricas que actualmente aparecen en libros de Inmunología, en las que las respuestas mediadas por células Th1 acaban con parásitos intracelulares y respuestas Th2 eliminan los extracelulares. Según Allen y Maizels⁹, sería importante no establecer afirmaciones tan categóricas dentro del tipo de respuesta Th1 o Th2 y, en lugar de esto, considerar la

existencia de mecanismos superpuestos implicados en la defensa inmunitaria mediante citocinas individuales y las rutas efectoras que son inducidas.

Las infecciones por helmintos han proporcionado algunas de las más claras evidencias del paradigma Th1/Th2 aplicado al sistema inmunitario humano¹⁰. Clones de células T específicos de nematodos aislados de individuos sanos generan citocinas del patrón de respuesta Th2, mientras que clones de células T contra antígenos bacterianos de los mismos individuos producen citocinas de respuesta Th1¹¹. Pacientes con esquistosomiasis o filariasis también muestran abundantes células T circulantes semejantes a una respuesta Th2 frente a los antígenos parasitarios¹²⁻¹⁴.

Consecuentemente con estas observaciones, el aumento del número de mastocitos y eosinófilos, así como las altas concentraciones de IgE e IgG4 son característicos de los individuos infectados por helmintos^{15, 16}. Se desconoce si la respuesta Th2 tras la infección por helmintos es beneficiosa para el hospedador o para el parásito^{17, 18}. Esta cuestión merece un cuidado interés debido a que la IgG4 puede bloquear los mecanismos mediados por IgE¹⁹, aunque ambos isotipos están promovidos por el mismo tipo de citocinas Th2.

Las demostraciones de que los eosinófilos y la IgE pueden matar parásitos *in vitro* ha provocado la extendida creencia de que estas respuestas Th2-dependientes son principalmente responsables de la destrucción de grandes parásitos extracelulares. Sin embargo, *in vivo* tiene lugar una notoria contradicción. En la mayoría de las infecciones por helmintos aparecen grandes cargas de parásito a pesar de las abundantes respuestas Th2 y la evidencia directa, *in vivo*, del papel de los eosinófilos, IgE o mastocitos para controlar la infección por helmintos es escasa⁹.

Existen dudas sobre si la interleucina 4 (IL-4) es crucial en el control de las infecciones por helmintos²⁰. Experimentos *in vivo*, con anticuerpos neutralizantes de IL-4, han mostrado que la expulsión del gusano es dependiente de la IL-4 durante la infección con *Trichuris muris*. No se requiere IL-4 para la expulsión en otras infecciones por helmintos intestinales, pero tiene un impacto importante sobre la intensidad de la infección y la producción de huevos²¹. A pesar del aparente papel de la IL-4 en estas infecciones intestinales,

ha sido muy difícil demostrar que el clásico fenotipo asociado con las respuestas Th2 sea responsable de los efectos perjudiciales sobre los parásitos. Es posible que la IL-4 esté actuando sobre una población de células existente (para inducir peristaltismo o producción de mucus, por ejemplo) y que la IL-4 derivada de la activación de linfocitos Th2 sea un efecto colateral de la infección. La IL-4 administrada directamente causa la expulsión del gusano *Nippostrongylus* en ratones SCID infectados, lo que demuestra que la IL-4 puede actuar independientemente de la respuesta inmune adquirida²¹.

La complejidad del paradigma Th1/Th2 es igualmente bien ilustrada en esquistosomiasis, donde estudios en humanos y ratón han originado diferentes conclusiones concernientes a las respuestas Th2 en la inmunidad protectora. En humanos, correlaciones epidemiológicas sugieren que IgE y eosinofilia pueden ser la clave de la inmunidad protectora²². En el ratón, sin embargo, varios estudios han indicado que la vacunación efectiva requiere células efectoras que secreten interferón gamma (IFN- γ) para la destrucción del parásito²³. Estudios en ratones han sugerido, incluso, que respuestas Th2 e IgE son beneficiosas para el parásito y, en realidad, aumentan la infección²⁴⁻²⁶.

CÉLULAS Y MOLÉCULAS EFECTORAS

Gran cantidad de estudios han demostrado que la capacidad para expeler nematodos intestinales está mediada inmunológicamente y, particularmente, que las células Th CD4+ son cruciales para la expulsión de los gusanos. Las células Th CD4+ regulan las respuestas inmunes por la secreción de citocinas. Como anteriormente se ha comentado, las células Th se han definido por los grupos de citocinas que secretan. Las células Th1 se han asociado, principalmente, con la secreción de IL-2 e IFN- γ y las células Th2, se han relacionado con la secreción de IL-4, IL-5, IL-6, IL-9 e IL-10²⁷.

Se ha demostrado que la expulsión del gusano parásito está controlada por citocinas del grupo Th2 que inducen una mastocitosis en la mucosa, eosinofilia intestinal y concentraciones elevadas de IgE en suero²⁸. La mucosa intestinal contribu-

ye a la prevención inmune al impedir el establecimiento de parásitos²⁹. No se conoce la función precisa de la mucosa intestinal pero, mediante ensayos *in vitro*, se ha demostrado que el atrapamiento de larvas de *Trichinella spiralis* en el mucus intestinal sólo ocurre en presencia de anticuerpos específicos. Esto sugiere que dichos anticuerpos inducen la captura del parásito por dos vías: por formación de una red cargada de anticuerpos que atrapa a la larva y por bloqueo de alguna función requerida para su progreso a través de la mucosa³⁰.

ALERGENOS Y RESPUESTA IgE

Los helmintos tienen una fuerte asociación con las reacciones de hipersensibilidad, atestiguada por los altos valores de IgE encontrados en la mayoría de las helmintiasis. Sin embargo, esta relación es, con frecuencia, paradójica: las reacciones alérgicas son raras en la gran infección y la mayoría son graves en casos en los que el parásito no se encuentra (como es el caso de la eosinofilia pulmonar tropical) o en exposiciones exógenas (ejemplo: trabajadores de laboratorio manipulando *Ascaris*)¹⁰. Entre los nematodos, el grupo de antígenos más importante es una familia denominada poliproteínas alérgicas de nematodos (NPA)³¹. La familia NPA fue definida por la molécula prototipo en *Ascaris*, ABA-1, principal constituyente del fluido corporal responsable de las respuestas alérgicas a este organismo³². Curiosamente, la respuesta de anticuerpos a estas moléculas parece estar bajo estricto control genético^{33, 34}.

La ausencia de síntomas alérgicos en la infección por helmintos adquirida naturalmente, a pesar de la elevada concentración de IgE en suero y la aparición de eosinofilia, puede deberse a las concentraciones extremadamente altas de IgG4 bloqueante que está también presente en estos individuos^{16, 35-38}. Es interesante que el resultado clínico de las infecciones por helmintos puede, además, depender de la proporción de IgE e IgG4. Por ejemplo, en la filariasis, muchos individuos no presentan síntomas aparentes pero sí valores altos de Mf circulantes, mientras que otros han eliminado sus Mf pero desarrollan síntomas clínicos crónicos (elefantiasis). El primer grupo Mf+ tiene concentraciones de IgG4 extremadamente

altos con cifras bajas de IgE, mientras, en contraste, esta relación de isotipos de anticuerpos está invertida en pacientes con elefantiasis^{36, 37}. Aunque la producción de ambos isotipos IgE e IgG4 depende de la IL-4, la IgE es más susceptible de modulación por el IFN- γ que la IgG4³⁹. En un modelo de filariasis en ratón, ambas formas, la larva infectiva (L3) y el parásito adulto inducen altas concentraciones de IL-4, mientras que la etapa Mf que circula en el torrente sanguíneo induce IFN- γ . Quizá en esta enfermedad, el IFN- γ producido frente a las Mf modula la respuesta IgE que puede estar implicada en la eliminación del parásito y en la inmunopatología⁴⁰. En general, no hay evidencia de que los efectos bloqueantes sean más beneficiosos para el hospedador por prevenir el daño de las respuestas de hipersensibilidad, o benefician al parásito por impedir la eliminación del gusano (dependiente de IgE). Esta relación podría ser beneficiosa para ambos, a la vista de la larga historia coevolutiva de los gusanos parásitos con el sistema inmunitario de los mamíferos¹⁰.

La resistencia a la infección con *Schistosoma mansoni* y *S. haematobium* en humanos se ha asociado con la producción de IgE, mientras que la susceptibilidad está asociada con la presencia de isotipos no IgE, particularmente, IgG4^{41, 42}. Así, la susceptibilidad o resistencia a la infección puede depender de un balance entre las respuestas protectoras IgE y los anticuerpos bloqueantes de antígenos de las etapas infectivas.

INMUNOPATOLOGÍA

La patología producida por infecciones por helmintos es generalmente compleja, con componentes derivados de las lesiones directas y cambios ocasionados por el parásito, y de la respuesta inmune a la infección.

Así, por ejemplo, la infección por esquistosoma causa numerosos granulomas en el hígado como resultado de la respuesta inflamatoria frente a los huevos liberados por las hembras adultas. El granuloma depende de la producción de citocinas inflamatorias, en particular, del factor de necrosis tumoral α en respuesta a los antígenos procedentes de los huevos⁴³. Los macrófagos activados y eosinófilos son las principales células implicadas en la formación de estos granulomas. En clínica,

el daño se hace mayor al incrementarse el número de huevos atrapados en el hígado, con formación de lesiones granulomatosas que bloquean el flujo sanguíneo y causan hipertensión portal y fibrosis hepáticas¹⁰.

La formación de granulomas inducidos por huevos de *Schistosoma mansoni* ha servido como modelo útil *in vivo* para el estudio de la regulación de las células T cooperadoras y sus citocinas asociadas⁴⁴. Aunque está claro que citocinas Th1 y, en particular, la IL-2, juegan un importante papel en la iniciación de la respuesta granulomatosa⁴⁵⁻⁴⁷, estudios de depleción de citocinas han sugerido que la formación del granuloma, particularmente en sus fases de crecimiento y mantenimiento, se asocia con citocinas Th2^{45, 48-50}; el IFN- γ modula este proceso^{50, 51}. La IL-12, citocina producida por células B y macrófagos^{52, 53}, parece tener un papel endógeno y exógeno en la regulación de la formación del granuloma por huevos de esquistosoma⁵¹. La neutralización de la IL-12 endógena aumenta la inflamación granulomatosa. Cuando se administra IL-12 con huevos de esquistosoma actúa como un adjuvante reduciendo marcadamente la respuesta Th2 y la formación de granuloma en una administración posterior de huevos⁵¹. Se ha pensado si los efectos de la IL-12 son directos o mediados por el IFN- γ inducido. La IL-12 tiene una capacidad intrínseca para desencadenar la producción de citocinas Th1 y de suprimir respuestas Th2 en hospedadores normales como producto de la estimulación de la síntesis de IFN- γ . A pesar de sus mecanismos de acción, la IL-12 tiene un enorme potencial como adjuvante de la inducción preferencial de respuestas Th1. Sin embargo, se sugiere que en individuos con deficiencias en la producción de IFN- γ , la IL-12 administrada exógenamente puede, además de promover la producción de citocinas Th1, también exacerbar patologías dependientes de Th2⁴⁴.

PAPEL DEL ÓXIDO NÍTRICO

La inmunidad celular está clásicamente mediada por linfocitos T más células accesorias, principalmente macrófagos que operan contra patógenos dentro de los tejidos. Las células endoteliales, que tradicionalmente no se han considerado como parte del sistema inmunitario, pueden jugar un

papel importante en la inmunidad frente a helmintos como *Schistosoma mansoni* por medio de una destrucción del parásito dependiente del óxido nítrico⁵⁴.

Células endoteliales tratadas con citocinas mostraron un aumento en la expresión de mRNA de la forma inducible de la óxido nítrico sintetasa y, tanto la producción de óxido nítrico, como la destrucción de las larvas de esquistosoma se anularon por el tratamiento con inhibidores competitivos de la síntesis de óxido nítrico. La función efectora de las células endoteliales tratadas con citocinas fue similar a la de macrófagos de tejidos activados, aunque esta activación parece estar diferentemente regulada en estos dos tipos de células⁵⁴. La activación de macrófagos peritoneales por IFN- γ y otras citocinas o lipopolisacáridos (LPS) induce la producción de arginina dependiente de óxido nítrico, el cual sirve como molécula efectora de la muerte del parásito⁵⁵. La observación de que las células endoteliales son sensibles a señales de citocinas para la producción de óxido nítrico, sugirió que estas células puedan participar en la protección contra parásitos que poseen una etapa intravascular. Debido a que los esquistosomas permanecen en ambiente intravascular la mayor parte de su ciclo de vida en el hospedador mamífero, constituyen un modelo ideal con el que estudiar estas hipótesis. Estudios con líneas de células endoteliales murinas o humanas mostraron que estas células eran capaces de matar larvas de esquistosoma por un mecanismo que dependía de la arginina.

La producción *in vitro* de óxido nítrico requería señales de citocinas, con combinaciones de IFN- γ , TNF- α e IL-1⁵⁶. El lipopolisacárido (LPS) era también capaz de producir una señal adecuada⁵⁴.

Los principales blancos del óxido nítrico en el esquistosoma parecen ser enzimas que contienen un grupo Fe-S catalíticamente activo (tabla II). Estudios ultraestructurales de esquistosómula de la piel cultivadas con macrófagos activados mostraron que, a diferencia de una destrucción anticuerpo dependiente, la citotoxicidad mediada por macrófagos no se dirige contra la superficie del parásito. Dentro de la primera hora de incubación, la perturbación de las células del músculo subtegumental y de la mitocondria se hicieron notar. Siguió una desintegración progresiva de las estructuras internas del parásito tal que a las

Tabla II. Principales efectos del óxido nítrico sobre la esquistosómula

-
- Inactivación de enzimas críticos con centros Fe-S catalíticamente activos
 - Perturbación de las células del músculo subtegumental y de la mitocondria
 - Desintegración progresiva y vacuolización de las estructuras internas del parásito
 - Inhibición del metabolismo de la larva como posible causa de la muerte del parásito
-

48 horas de incubación los organismos se redujeron a una “concha” tegumental intacta rodeada de tejidos internos intensamente vacuolados y desorganizados⁵⁷. Este esquema es consistente con la posibilidad de que la inhibición del metabolismo de la larva esté implicada en la muerte del parásito mediada por macrófagos⁵⁶. Recientemente, se ha encontrado que la inactivación del enzima aconitasa o de la cadena de transporte de electrones implicada en la respiración mitocondrial por varios inhibidores químicos es tóxico para la esquistosómula⁵⁸, lo cual verifica la naturaleza crítica de las rutas metabólicas afectadas por el óxido nítrico para la supervivencia de esta etapa infectiva del parásito.

MECANISMOS DE EVASIÓN DEL PARÁSITO ANTE LA RESPUESTA INMUNE DEL HOSPEDADOR

Un requisito común a todas las infecciones parasitarias que progresan consiste en que los parásitos puedan evadir los efectos totales de las respuestas inmunes del hospedador y sobrevivir en éste durante largos períodos. Como ejemplos, entre las especies de nematodos que afectan al hombre, se encuentra el *Necator americanus* del que se sabe que vive entre 15-17 años tras la inoculación única de larvas infectivas⁵⁹; también *Onchocerca volvulus* tarda 18 años en desaparecer de poblaciones humanas en regiones endémicas cuando su transmisión ha sido suprimida a través de la eliminación de los insectos vectores^{60, 61}.

Existe, por tanto, la necesidad de entender los mecanismos de supervivencia del parásito, particularmente, debido a la implicación de las estrategias evasivas en la vacunación. Las vacunas convencionales (antiinfección) tienen el objetivo de

explotar la resistencia del hospedador ante la infección por el parásito, mediante el reconocimiento inmunológico de antígenos relevantes que sean capaces de provocar una rápida respuesta inmune adquirida, que limite la supervivencia del parásito y la oportunidad para desarrollar la enfermedad asociada. Sin embargo, este ideal puede no ser factible en el caso de nematodos. Hasta ahora, la inmunidad adquirida de la cual dependen la mayoría de las vacunas convencionales es débil y es improbable alcanzar los altos niveles de eficacia que serían deseables⁵⁹. La cronicidad de las infecciones por nematodos no se cuestiona, pero los mecanismos a través de los cuales se alcanza esta cronicidad permanecen en la polémica y los avances en este área están siendo muy lentos⁵⁹.

Los mecanismos de evasión empleados por nematodos, hasta ahora conocidos, se describen a continuación (tabla III).

1. *Muda de componentes de la superficie de la cutícula.* Mediante la aplicación de marcajes con isótopos radiactivos, el estudio de antígenos de superficie de nematodos ha demostrado que la cutícula no es enteramente inerte, como previamente se creía⁶². Los componentes de superficie son mudados y constituyen dianas para anticuerpos específicos a través de las cuales los mecanismos celulares citotóxicos pueden rodear y destruir parásitos. Su potencial papel en la supervivencia no es difícil de apreciar. Requiere continuas síntesis, transporte y expresión sobre la superficie. Si este ciclo fuera inhibido o meramente afectado, los gusanos podrían llegar a ser susceptibles a los efectores del hospedador. Los antígenos mudados se encuentran frecuentemente en etapas infectivas que pronto mudan a L4, donde tienen lugar otros mecanismos⁵⁹.

2. *Enzimas antioxidantes.* Los radicales de oxígeno se producen dentro de las células como parte normal del metabolismo oxidativo y la mayoría de los organismos aeróbicos poseen una serie de enzimas anuladoras del oxígeno que protegen a los tejidos, órganos y células con la eliminación de los radicales potencialmente perjudiciales de sitios donde podrían alterar la función de un órgano⁵⁹. Estos enzimas constituyen un sistema de regulación natural, que capacita a los organismos para emplear el metabolismo oxidativo y para protegerlos de los aspectos dañinos de sus productos. Los nematodos poseen cantidades relativa-

Tabla III. Mecanismos empleados por nematodos para evadir los efectos de la respuesta inmune del hospedador

— Muda de componentes de la superficie de la cutícula
— Enzimas antioxidantes
— Resituación en los tejidos
— Imitación molecular. Camuflaje con moléculas del hospedador o similares
— Inmunomodulación

mente altas de estos enzimas en comparación con los presentes en tejidos del hospedador, lo que sugiere que pueden ser empleados adicionalmente para protegerse contra los radicales libres de oxígeno liberados durante la respuesta del hospedador⁶³. El enzima más ampliamente estudiado es la superóxido dismutasa, la cual se ha detectado en distintas familias de helmintos, algunas veces en cantidades extraordinariamente altas⁶⁴⁻⁶⁶.

3. *Resituación en los tejidos.* Allí donde la resistencia viene mediada localmente, como por ejemplo en el sitio de fijación de un parásito, la separación y resituación en un nuevo sitio puede ser una solución temporal para evitar la resistencia del hospedador⁵⁹. El *Ancylostoma caninum* cambia su sitio de fijación a intervalos regulares, quizá tan frecuentemente como cada 4-6 horas⁶⁷. Observaciones con uncinarias en hamsters confirman que hay considerablemente más lesiones que gusanos, lo que sugiere una relocalización regular a sitios nuevos en busca de alimento. Al moverse a nuevos sitios escapan a la respuesta celular local⁵⁹.

4. *Camuflaje con moléculas de origen del hospedador o expresión de moléculas similares a las del hospedador sobre su superficie: imitación molecular.* La evolución paralela de hospedador y parásitos podría haber provocado una similitud antigénica entre las dos especies. De este modo, se minimizaría la disparidad antigénica y la inmunogenicidad, lo que permitiría a los parásitos causar infecciones crónicas⁵⁹. En esquistosomiasis se han identificado dos mecanismos distintos: uno implica la adsorción de una variedad de moléculas del hospedador sobre la superficie tegumental, entre las que se incluyen antígenos de los grupos sanguíneos y moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad⁶⁸; y el otro, la expresión sobre la superficie del parásito de productos génicos de esquistosoma con similitud a moléculas del hospedador⁶⁹.

5. *Inmunomodulación*. Es la actividad de cualquier factor de un parásito que reduce la efectividad de la inmunidad del hospedador o, de alguna forma, modula los intentos del hospedador para expresar una respuesta potencialmente protectora⁵⁹.

La literatura está repleta de información sobre la inmunodepresión inespecífica, fácilmente demostrable a lo largo de todas las clases del *phylum Nematoda*⁵⁹. Por el contrario, la inmunodepresión específica, como respuesta a los antígenos del parásito infectante, sólo está bien documentada en el caso de especies filariásicas^{70, 71}, pero incluso en éstas la cuestión no está completamente clara, porque una proporción de individuos con microfilaremia puede responder a antígenos filariales⁷².

Numerosos trabajos evidencian la existencia de la inmunodepresión o de factores inmunomoduladores derivados del parásito, pero en pocos casos se conoce qué moléculas son las responsables. El aislamiento y análisis de potenciales candidatos es extremadamente lento. Hay varias razones: los factores inmunomoduladores parecen ser lábiles, con vidas medias cortas *in vivo* y su aislamiento de los parásitos, bien extraídos directamente de los hospedadores o mantenidos *in vitro*, parece ser problemático.

Se han realizado estudios con extractos de parásitos y sus productos de excreción/secreción (ES) o fraccionamientos específicos de éstos, para medir sus propiedades inmunodepresoras *in vivo* o *in vitro*. No se conoce todavía bien el papel de las moléculas implicadas. El único punto en común de los estudios en los que estas fracciones de productos de parásitos se han investigado es que, en general, las moléculas implicadas parecen ser relativamente pequeñas (<50 kDa)⁵⁹. En microfilarias de *Brugia malayi* aparece la excepción, al encontrarse sorprendente actividad en fracciones excretora-secretora en rangos moleculares de 50-190 kDa⁷³; probablemente, ello se debe a que varias moléculas de diferente tamaño están implicadas o a que moléculas relativamente pequeñas tienen capacidad para formar unidades multiméricas. Se piensa que son moléculas similares a citocinas.

Se especula con la idea de que los parásitos nematodos hayan desarrollado moléculas similares, que recuerden funcionalmente a las del hos-

pedador, mediante las cuales modulan su inmunidad⁵⁹. Tras clonaje, se ha obtenido una molécula de 11 kDa, normalmente secretada por L4 y adultos de *Trichostrongylus colubriformis*⁷⁴. Al secuenciarla, este factor mostró una llamativa homología con una proteína humana inducida por el interferón gamma.

PERSPECTIVAS PARA EL DESARROLLO DE VACUNAS CONTRA INFECCIONES POR HELMINTOS HUMANOS

Las infecciones por helmintos difieren en un importante número de mecanismos respecto a la mayoría de las demás enfermedades infecciosas (tabla IV). Estas diferencias tienen un importante impacto sobre las posibles estrategias para el control de la enfermedad. Primero, con pocas excepciones, los helmintos no se multiplican dentro del hospedador humano y requieren el paso a través del ambiente exterior y de un vector artrópodo u otros hospedadores invertebrados (como el caracol) para reproducirse y completar su ciclo vital. Esto ofrece la posibilidad de control a nivel de vector u otras medidas ambientales. Segundo, la infección por helmintos puede persistir durante años, una importante consideración cuando se contempla el control por quimioterapia o a nivel de vector. Por ejemplo, es necesario mantener los programas de control de oncocerquiasis mediante ivermectina (la cual es inactiva contra el gusano adulto) y el control del vector durante 10-15 años, lapso de la vida del gusano adulto⁷⁵. Tercero, los efectos clínicos de la infección no están directamente relacionados con la presencia o ausencia de

Tabla IV. Diferencias entre las infecciones por helmintos y las demás enfermedades infecciosas

-
- Los helmintos no suelen multiplicarse en el hospedador humano, pero requieren el paso a través de un vector u otro hospedador
 - La infección por helmintos puede persistir durante años
 - Los efectos clínicos de la infección no están relacionados con la presencia o ausencia de infección
 - La infección no está uniformemente distribuida en una población: la intensidad y prevalencia varían en función de la edad
 - La adquisición de inmunidad por efecto de la exposición a la infección es un fenómeno gradual y acumulativo
-

Tabla V. Estrategias para el control de las helmintiasis humanas y sus obstáculos

Estrategia	Obstáculo
— Quimioterapia a individuos infectados o distribución de fármacos en masa	— Problemas logísticos y económicos — Rápida reemergencia una vez interrumpida
— Control del vector molusquicidas, insecticidas, mejor tratamiento residuos	— Difícil implantación — Toxicidad ambiental — Resistencias — Reemergencia
— Desarrollo de vacunas ninguna ha alcanzado todavía el ensayo clínico humano	— Diferencias en los mecanismos inmunes efectores responsables de protección en diferentes especies (humana respecto a modelos animales)

infección, sino que dependen de una compleja interacción entre factores del hospedador y del parásito, que incluyen la carga total de gusanos, la duración de la infección y la respuesta inmune del hospedador⁷⁶. Cuarto, los datos de encuestas epidemiológicas en una variedad de infecciones por helmintos indican que la infección no está uniformemente distribuida en una población, con una significativa variación en la intensidad de la infección, particularmente, en los grupos de edades más jóvenes⁷⁶; tales variaciones necesitan ser consideradas cuando se diseñan las estrategias de control. Finalmente, la intensidad y prevalencia de la infección generalmente disminuye con el aumento de la edad, lo cual sugiere que la adquisición de la inmunidad, por efecto de exposición a la infección, es un fenómeno gradual y acumulativo⁷⁵.

ESTRATEGIAS PARA EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD (tabla V)

Quimioterapia. El control de la infección por helmintos mediante quimioterapia, ya sea dirigido a individuos identificados como infectados, o a través de la distribución de fármacos en masa, depende de un pequeño número de medicamentos: praziquantel para esquistosomiasis y otros parásitos cestodos, ivermectina y dietilcarbamacina (DEC) para filariasis y benzimidazoles (albenda-

zol) para geohelminetos. Aunque existen ejemplos de programas de control satisfactorios que utilizan quimioterapia, problemas logísticos y económicos han impedido la efectiva implantación de estrategias de control basadas en ella. Además, la experiencia sugiere que una vez que los programas se relajan, hay una rápida reemergencia de la infección⁷⁷.

Control del vector o alteración ambiental. Aunque existen las herramientas para el control de la transmisión de infecciones por helmintos (por ejemplo, molusquicidas para el control de esquistosomiasis, control del vector de oncocerquiasis y mejora del tratamiento de los residuos humanos para geohelminetos y esquistosomiasis), las estrategias de control basadas en estos métodos han sido difíciles de implantar. Entre los impedimentos está la toxicidad ambiental y el coste de la fabricación y aplicación de insecticidas y molusquicidas, así como la adquisición de resistencia a estos agentes.

Las condiciones económicas de muchas regiones, los rápidos crecimientos de la población y, sobre todo, cambios climáticos, guerra o condiciones ambientales alteradas, conducen a la emergencia de nuevas áreas de endemidad⁷⁵.

Desarrollo de vacunas. Ha sido un componente crucial para el satisfactorio control de muchas enfermedades infecciosas, mientras que el control es más difícil para las enfermedades contra las que no existen buenas vacunas (por ejemplo,

tuberculosis, inmunodeficiencia humana o malaria). Los criterios deseables para asegurar eficazmente el desarrollo de una vacuna son los siguientes⁷⁸: un entendimiento del mecanismo efector para eliminar la infección; un marcador reconocible de inmunidad (respuesta con anticuerpos específicos); presencia de un buen modelo animal y antígenos ya identificados para servir como fuente de epítomos de células B y T (estos epítomos no deberían variar o ser objeto de cambio antigénico).

Adicionalmente, para las infecciones por helmintos, en las que el parásito adulto puede vivir durante décadas en el hospedador humano y en las que las poblaciones están continuamente expuestas a nueva infección, la demostración de inmunidad espontáneamente adquirida en poblaciones humanas podría ser un aspecto a tener en cuenta cuando se contemplan las estrategias para el desarrollo de vacunas.

La carencia de vacunas disponibles en la actualidad contra enfermedades ocasionadas por helmintos refleja el hecho de que muchos de estos criterios no hayan sido satisfechos para la mayoría de estas infecciones.

INMUNIDAD ADQUIRIDA ESPONTÁNEAMENTE

Estudios epidemiológicos han encontrado evidencia de inmunidad protectora adquirida espontáneamente, hallazgo que apoya la idea de que puede ser posible el desarrollo de vacunas para el control de infecciones por helmintos. Principalmente se ha observado en esquistosomiasis y filariasis, en los que la carga de gusanos adultos generalmente aumenta en la infancia y adolescencia, pero se estabiliza o cae en la etapa adulta⁷⁶. Esta observación se puede explicar por la adquisición de la llamada inmunidad concomitante⁷⁹, en la cual, un individuo desarrollaría resistencia a una nueva infección mientras alberga parásitos adultos. La inmunidad concomitante se ha observado en modelos de infección por helmintos en animales.

Existe también evidencia de que personas con infección por helmintos, una vez tratadas, son resistentes a la reinfección a pesar de siguientes exposiciones al parásito^{35, 41, 80}. Se ha propuesto

que estos individuos desarrollan inmunidad concomitante, y una vez curados de la infección con gusanos adultos, son resistentes a nuevas infecciones.

En la infección por filarias, un pequeño grupo de individuos parecen estar libres de infección a pesar de largas etapas de residencia en áreas de alta endemicidad; a estos grupos se les llama inmune putativo o normal endémico⁸¹⁻⁸³. El entendimiento del mecanismo de resistencia a la infección en tales individuos podría hacer posible el desarrollo de vacunas u otras terapias que bloqueen la infección.

MECANISMOS INMUNES EFECTORES EN INFECCIÓN POR HELMINTOS EN EL HOMBRE QUE PUDIERAN RESULTAR DE INTERÉS EN LA PRODUCCIÓN DE VACUNAS

Los mecanismos responsables de la inmunidad en el hombre infectado por helmintos no están completamente entendidos. Mediante estudios en diferentes parasitosis, se sugiere la existencia de protección a través de varios mecanismos inmunes efectores (tabla VI) entre los que se incluye eosinófilos, respuesta humoral a través de IgE o respuesta celular polarizada hacia células T colaboradoras Th1 o Th2⁷⁵.

Inmunidad humoral. El balance de isotipos de anticuerpos antiparásito parece tener una importante relación con el nivel de protección. Por ejemplo, en esquistosomiasis, la concentración de

Tabla VI. Mecanismos inmunes efectores que muestran protección en infecciones por helmintos humanos

Infeción	Mecanismo inmune efector implicado
Esquistosomiasis bajas cargas de parásito y resistencia a reinfección	IgE, eosinofilia, respuesta Th2
Filariasis linfática meseta en la carga de parásitos y grupos libres de infección en áreas de alta endemicidad	Respuesta inmune Th1 Inmunidad larva-específica

IgE antiparásito y eosinofilia se asocian con bajas cargas de parásito^{80, 84} y con la resistencia a la reinfección tras quimioterapia curativa^{35, 85}, mientras que valores altos de IgG4 (frecuentemente identificado como anticuerpo bloqueante) se relacionan directamente con alta intensidad de infección⁷⁵. De acuerdo con estos datos, los antígenos empleados en las futuras vacunas deberían inducir bajos niveles de anticuerpos IgG4 específicos.

Respuesta inmune celular. Estudios sobre las respuestas inmunes celulares en filiarisis sugieren que una respuesta tipo Th1 hacia el antígeno del parásito se asocia con protección^{83, 86}. La proliferación de linfocitos en respuesta al antígeno del parásito, así como la producción de IL-2^{83, 86, 87} e interferón gamma^{86, 87} están aumentadas en los grupos inmune putativo. Además, la naturaleza estadio-específica de la inmunidad se demuestra por la respuesta proliferativa de células mononucleares sanguíneas periféricas frente a antígenos del estadio larvario, hecho no observado con antígenos de otras etapas del ciclo de vida del parásito⁸⁸. Por ello, las futuras vacunas deberían convertir a los sujetos en altos respondedores en el compartimento Th1.

MODELOS ANIMALES DE INMUNIDAD FRENTE A HELMINTOS

Mientras que existe mucha información acerca de la inmunidad en infecciones por helmintos de importancia veterinaria⁸⁹ está muy limitada en cuanto a modelos animales para estudio de inmunidad protectora frente a helmintos patogénicos humanos. Aunque hay variaciones significativas en los modelos estudiados, generalmente, la mayor protección se ha encontrado con extractos de parásitos vivos usados como vacunas. Las estrategias de inmunización mejor caracterizadas se encuentran con parásitos atenuados por radiación. Se han alcanzado niveles de protección del 70-90 % en modelos animales de esquistosomiasis, filiarisis, estrombiloidiasis y uncinarias. El modelo llamado de infección por goteo, quizás, es el que más recuerda al esquema de exposición a helmintos visto en la naturaleza.

Los mecanismos inmunes efectores de importancia identificados en modelos animales de infección por helmintos humanos no siempre coinciden

con los encontrados en estudios humanos. Por ejemplo, frente a la asociación de IgE (cuya expresión es dependiente de citocinas Th2) con la inmunidad frente a esquistosomiasis humana, en un modelo murino bien estudiado de esquistosomiasis, la citocina Th1 interferón gamma se asoció con la eliminación de la esquistosómula de los pulmones de los ratones inmunizados⁵¹. De igual manera, la asociación de respuesta Th1 con protección en filiarisis humana no es apoyada por datos de modelos animales, que sugieren un importante papel de las respuestas Th2 en la inmunidad mediada por larvas infectivas muertas^{90, 91}.

Las diferencias significativas observadas en los mecanismos inmunes efectores responsables de la protección en diferentes especies (humana respecto a modelos animales), incluso entre cepas de la misma especie (diferentes cepas de ratones)⁹² impiden la construcción de un marco teórico unificado para explicar el mecanismo de la inmunidad frente a helmintos⁷⁵ que pudiera ser utilizado en la elaboración de vacunas eficaces.

Así, mientras que un número de vacunas frente a helmintos se han comercializado para uso veterinario^{93, 94}, ninguna ha alcanzado todavía el ensayo clínico humano. Los mayores progresos se han visto en esquistosomiasis, en el que se han estudiado varios antígenos recombinantes^{95, 96} y se han identificado un número de vacunas candidatas en filiarisis humana⁹⁷.

CONCLUSIONES

El avance en la comprensión de la biología de la infección por helmintos y la naturaleza de la relación hospedador-parásito aumentarán las posibilidades de vencer los obstáculos potenciales para la implementación de programas de vacunación satisfactorios, mediante la identificación de antígenos y el posterior diseño de estrategias de vacunación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Warren KS, Bundy DAP, Anderson RM, et al. Helminth infections. En: Jamison D, Mosley WH, ed. Disease and disease control in developing countries. Washington DC: World Bank 1990; 745-92.

2. World Health Organization. The control of schistosomiasis. En: Report of a WHO Expert Committee. Ginebra: WHO Tech Rep Ser 1985; 728: 1-49.
3. World Health Organization. Lymphatic filariasis: the disease and its control. En: Fifth Report of the WHO Expert Committee on Filariasis. Ginebra: WHO Tech Rep Ser 1992; 821: 1-71.
4. Devaney E, Martin SAM, Thompson IJ. Stage-specific gene expression in lymphatic filarial nematodes. *Parasitol Today* 1996; 12: 418-24.
5. Cox-Singh J, Paine MJ, Martin SA, Devaney E. Stage specific differences in steady state levels of mRNA encoding the major surface glycoprotein of *Brugia pahangi*. *Trop Med Parasitol* 1994; 45: 352-4.
6. Carlow CK, Franke ED, Lowrie RC, Partono F, Philipp M. Monoclonal antibody to a unique surface epitope of the human filaria *Brugia malayi* identifies infective larvae in mosquito vectors. *Proc Natl Acad Sci (USA)* 1987; 84: 6914-8.
7. Devaney E, Egan A, Lewis E, Warbrick EV, Jecock RM. The expression of the small heat shock proteins in the microfilariae of *Brugia pahangi* and their possible role in development. *Mol Biochem Parasitol* 1992; 56: 209-17.
8. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136: 2348-57.
9. Allen JE, Maizels RM. Th1-Th2: reliable paradigm or dangerous dogma? *Immunol Today* 1997; 18: 387-92.
10. Allen JE, Maizels RM. Immunology of human helminth infection. *Int Arch Allergy Immunol* 1996; 109: 3-10.
11. Romagnani S. Human Th1 and Th2 subsets: doubt no more. *Immunol Today* 1991; 12: 256-7.
12. Mahanty S, Abrams JS, King CL, Limaye AP, Nutman TB. Parallel regulation of IL-4 and IL-5 in human helminth infections. *J Immunol* 1992; 148: 3567-71.
13. Williams ME, Montenegro S, Domingues AL, et al. Leukocytes of patients with *Schistosoma mansoni* respond with a Th2 pattern of cytokine production to mitogen or egg antigens but with a Th0 pattern to worm antigens. *J Infect Dis* 1994; 170: 946-54.
14. Zwingenberger K, Hohmann A, Cardoso de Brito M, Ritter M. Impaired balance of interleukin-4 and interferon- γ production in infections with *Schistosoma mansoni* and intestinal nematodes. *Scand J Immunol* 1991; 34: 243-51.
15. Hussain R, Hamilton RG, Kumarasiwami V, Adkinson NF, Ottesen EA. IgE responses in human filariasis. I: Quantitation of filaria-specific IgE. *J Immunol* 1981; 127: 1623-9.
16. Ottesen EA, Skvaril F, Tripathy SR, Poindexter RW, Hussain R. Prominence of IgG4 in the IgG antibody response to human filariasis. *J Immunol* 1985; 134: 2707-12.
17. Maizels RM, Bundy DAP, Selkirk ME, Smith DF, Anderson RM. Immunological modulation and evasion by helminth parasites in human populations. *Nature* 1993; 365: 797-805.
18. Wilson RA. Immunity and immunoregulation in helminth infections. *Curr Opin Immunol* 1993; 5: 538-47.
19. Hagan P. Reinfection, exposure and immunity in human schistosomiasis. *Parasitol Today* 1992; 8: 12-6.
20. Else KJ, Finkelman FD, Maliszewski CR, Grecis RK. Cytokine-mediated regulation of chronic intestinal helminth infection. *J Exp Med* 1994; 179: 347-51.
21. Urban JF, Maliszewski CR, Madden KB, Katona IM, Finkelman FD. IL-4 treatment can cure established gastrointestinal nematode infections in immunocompetent and immunodeficient mice. *J Immunol* 1995; 154: 4675-84.
22. Hagan P. IgE and protective immunity to helminth infections. *Parasite Immunol* 1993; 15: 1-4.
23. Pearce EJ, Sher A. Functional dichotomy in the CD4⁺ T cell response to *Schistosoma mansoni*. *Exp Parasitol* 1991; 73: 110-6.
24. Amiri P, Haak-Frendscho M, Robbins K, et al. Anti-immunoglobulin E treatment decreases worm burden and egg production in *Schistosoma mansoni*-infected normal and interferon gamma knockout mice. *J Exp Med* 1994; 180: 43-51.
25. Hogarth PJ, Folkard SG, Taylor MJ, Bianco AE. Accelerated clearance of *Onchocerca* microfilariae and resistance to reinfection in interleukin-4 gene knockout mice. *Parasite Immunol* 1995; 17: 653-7.
26. Pritchard DI. Immunity to helminths: is too much IgE parasite-rather than host-protective? *Parasite Immunol* 1993; 15: 5-9.
27. Mossman TR, Coffman RL. Th1 and Th2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Ann Rev Immunol* 1989; 7: 145-73.
28. Else KJ, Grecis RK. Cellular immune responses to the nematode *Trichuris muris*: I. Differential cytokine production during acute or chronic infection. *Immunology* 1991; 72: 508-13.
29. Miller HRP, Huntley JF, Wallace GR. Immune exclusion and mucus trapping during the rapid expulsion of *Nippostrongylus brasiliensis* from primed rats. *Immunology* 1981; 44: 419.

30. Carlisle MS, McGregor DD, Appleton JA. Intestinal mucus entrapment of *Trichinella spiralis* larvae induced by specific antibodies. *Immunology* 1991; 74: 546-51.
31. McReynolds LA, Kennedy MW, Selkirk ME. The polyprotein allergens of nematodes. *Parasitol Today* 1993; 9: 403-6.
32. McGibbon AM, Christie JF, Kennedy MW, Lee TDG. Identification of the major Ascaris allergen and its purification to homogeneity by high-performance liquid chromatography. *Mol Biochem Parasitol* 1990; 39: 163-72.
33. Christie JF, Fraser EM, Kennedy MW. Comparison between the MHC-restricted antibody repertoire to Ascaris antigens in adjuvant-assisted immunization or infection. *Parasite Immunol* 1992; 14: 59-73.
34. Allen JE, Lawrence RA, Maizels RM. Fine specificity of the genetically controlled immune response to the native and recombinant gp15/400 (polyprotein allergen) of *Brugia malayi*. *Infect Immun* 1995; 63: 2892-8.
35. Hagan P, Blumenthal UJ, Dunn D, Simpson AJC, Wilkins HA. Human IgE, IgG4 and resistance to reinfection with *Schistosoma haematobium*. *Nature* 1991; 394: 243-5.
36. Maizels RM, Sartono E, Kurniawan A, Partono F, Selkirk ME, Yazdanbakhsh M. T cell activation and the balance of antibody isotypes in human lymphatic filariasis. *Parasitol Today* 1995; 11: 50-6.
37. Kurniawan A, Yazdanbakhsh M, Van Ree R, et al. Differential expression of IgE and IgG4 specific antibody responses in asymptomatic and chronic human filariasis. *J Immunol* 1993; 150: 3941-50.
38. Hussain R, Poindexter RW, Ottesen EA. Control of allergic reactivity in human filariasis: predominant localization of blocking antibody to the IgG4 subclass. *J Immunol* 1992; 148: 2731-7.
39. King CL, Nutman TB. IgE and IgG subclass regulation by IL-4 and IFN- γ in human helminth infection: assessment by B cell precursor frequencies. *J Immunol* 1993; 151: 458-65.
40. Lawrence RA, Allen JE, Osborne J, Maizels RM. Adult and microfilarial stages of the filarial parasite *Brugia malayi* stimulate contrasting cytokine and Ig isotype responses in BALB/c mice. *J Immunol* 1994; 153: 1216-24.
41. Dunne DW, Butterworth AE, Fulford AJC, et al. Immunity after treatment of human schistosomiasis: association between IgE antibodies to adult worm antigens and resistance to reinfection. *Eur J Immunol* 1992; 22: 1483-94.
42. Hagan P. IgE and protective immunity to helminth infections. *Parasite Immunol* 1993; 15: 1-4.
43. Amiri P, Locksley RM, Parslow TG, et al. Tumor necrosis factor α restores granulomas and induces parasite egg-laying in schistosome-infected SCID mice. *Nature* 1992; 356: 604-7.
44. Wynn TA, Jankovic D, Hieny S, et al. IL-12 exacerbates rather than suppresses T helper 2-dependent pathology in the absence of endogenous IFN- γ . *J Immunol* 1995; 154: 3999-4009.
45. Wynn TA, Eltoun I, Cheever AW, Lewis FA, Gause WC, Sher A. Analysis of cytokine mRNA expression during primary granuloma formation induced by eggs of *Schistosoma mansoni*. *J Immunol* 1993; 151: 1430-40.
46. Mathew RC, Ragheb S, Boros DL. Recombinant IL-2 therapy reverses diminished granulomatous responsiveness in anti-L3T4-treated, *Schistosoma mansoni* infected mice. *J Immunol* 1990; 144: 4356-61.
47. Cheever AW, Finkelman FD, Caspar P, Heiny S, Macedonia JG, Sher A. Treatment with anti-IL-2 antibodies reduces hepatic pathology and eosinophilia in *Schistosoma mansoni* infected mice while selectively inhibiting T cell IL-5 production. *J Immunol* 1992; 148: 3244-8.
48. Henderson GS, Conary JT, Summar M, McCurley TL, Colley DG. In vivo molecular analysis of lymphokines involved in the murine immune response during *Schistosoma mansoni* infection. I. IL-4 mRNA, not IL-2 mRNA, is abundant in the granulomatous livers, mesenteric lymph nodes, and spleens of infected mice. *J Immunol* 1991; 147: 992-7.
49. Chensue SW, Terebuh PD, Warmington KS, et al. Role of interleukin-4 and γ -interferon in *Schistosoma mansoni* egg-induced hypersensitivity granuloma formation: orchestration, relative contribution and relationship to macrophage function. *J Immunol* 1992; 148: 900-6.
50. Lukacs NW, Boros DL. Lymphokine regulation of granuloma formation in murine *Schistosomiasis mansoni*. *Clin Immunol Immunopathol* 1993; 68: 57-63.
51. Wynn TA, Eltoun I, Oswald IP, Cheever AW, Sher A. Endogenous interleukin 12 (IL-12) regulates granuloma formation induced by eggs of *Schistosoma mansoni* and exogenous IL-12 both inhibits and prophylactically immunizes against egg pathology. *J Exp Med* 1994; 179: 1551-61.
52. D'Andrea A, Rengaraju M, Valiante NM, et al. Production of natural killer cell stimulatory factor (interleukin 12) by peripheral blood mononuclear cells. *J Exp Med* 1992; 176: 1387-98.
53. Stern AS, Podlaski FJ, Hulmes JD, et al. Purification to homogeneity and partial characterization of

- cytotoxic lymphocyte maturation factor from human B-lymphoblastoid cells. Proc Natl Acad Sci (USA) 1990; 87: 6808-12.
54. Oswald IP, Eltoun I, Wynn TA, et al. Endothelial cells are activated by cytokine treatment to kill an intravascular parasite *Schistosoma mansoni*, through the production of nitric oxide. Proc Natl Acad Sci (USA) 1994; 91: 999-1003.
 55. James SL, Glaven J. Macrophage cytotoxicity against schistosomula of *Schistosoma mansoni* involves arginine-dependent production of reactive nitrogen intermediates. J Immunol 1989; 143: 4208-12.
 56. James SL. Role of nitric oxide in parasitic infections. Microbiol Rev 1995; 59: 533-47.
 57. McLaren DJ, James SL. Ultrastructural studies of the killing of schistosomula of *Schistosoma mansoni* by activated macrophages in vitro. Parasite Immunol 1985; 7: 315-31.
 58. Fouad S, Oswald IP, Sher A, James SL. Susceptibility of larval stages of *Schistosoma mansoni* to killing by activated macrophages correlates with parasite metabolic activity. Am J Trop Med Hyg 1994; 51: 230 (abstract).
 59. Behnke JM, Barnard CJ, Wakelin D. Understanding chronic nematode infections: evolutionary considerations, current hypotheses and the way forward. Int J Parasitol 1992; 22: 861-907.
 60. Roberts JMD, Neumann E, Gockel CW, Highton RB. Onchocerciasis in Kenya, 9, 11 and 18 years after elimination of the vector. Bull WHO 1967; 37: 195-212.
 61. Plaisier AP, Oortmarssen GJ van, Remme J, Habema JDF. The reproductive lifespan of *Onchocerca volvulus* in West African Savanna. Acta Tropica 1991; 48: 271-84.
 62. Philipp M, Rumjanek FD. Antigenic and dynamic properties of helminth surface structures. Mol Biochem Parasitol 1984; 10: 245-68.
 63. Callahan HL, Crouch RK, James ER. Helminth anti-oxidant enzymes: a protective mechanism against host oxidants? Parasitol Today 1988; 4: 218-25.
 64. Knox DP, Jones DG. A comparison of superoxide dismutase distribution in gastrointestinal nematodes. Int J Parasitol 1992; 22: 209-14.
 65. Sánchez-Moreno M, León P, García-Ruiz MA, Monteoliva M. Superoxide dismutase activity in nematodes. J Helminthol 1987; 61: 229-32.
 66. Rhoads ML. *Trichinella spiralis*: identification and purification of superoxide dismutase. Exp Parasitol 1983; 56: 41-54.
 67. Kalkofen UP. Attachment and feeding behaviour of *Ancylostoma caninum*. Z Parasit 1970; 33: 339-54.
 68. Smithers SR, Terry RJ. The immunology of schistosomiasis. Adv Parasitol 1976; 14: 399-422.
 69. Damian RT. Molecular mimicry revisited. Parasitol Today 1987; 3: 263-6.
 70. Piessens WF, McGreevy PB, Piessens PW, et al. Immune responses in human infections with *Brugia malayi*-specific cellular unresponsiveness to filarial antigens. J Clin Invest 1980; 65: 172-9.
 71. Piessens WF, Ratiwayanto S, Tuti S, et al. Antigen specific suppressor cells and suppressor factors in human filariasis with *Brugia malayi*. New Eng J Med 1980; 302: 833-7.
 72. Lammie PJ, Leiva LE, Ruff AJ, Eberhard ML, Lowrie RC, Katz SP. Bancroftian filariasis in Haiti: preliminary characterization of the immunological responsiveness of microfilaremic individuals. Am J Trop Med Hyg 1988; 38: 125-9.
 73. Wadde AA, Vickery AC, Piessens WF. Characterization of immunosuppressive proteins of *Brugia malayi* microfilariae. Acta Tropica 1987; 44: 343-52.
 74. Dopheide TAA, Tachedjian M, Phillips C, Frenkel MJ, Wagland BM, Ward CW. Molecular characterization of a protective, 11-kDa excretory-secretory protein from the parasitic stages of *Trichostrongylus colubriformis*. Mol Biochem Parasitol 1991; 45: 101-8.
 75. McCarthy JS, Nutman TB. Perspective: prospects for development of vaccines against human helminth infections. J Infect Dis 1996; 174: 1384-90.
 76. Maizels RM, Bundy DA, Selkirk ME, Smith DF, Anderson RM. Immunological modulation and evasion by helminth parasites in human populations. Nature 1993; 365: 797-805.
 77. World Health Organization. Lymphatic filariasis infection and disease: control strategies. En: Report of a consultative meeting. Ginebra: WHO 1994; 1-29.
 78. Ada GL. Vaccines. En: Paul W, ed. Fundamental Immunology, 3.^a ed. Nueva York: Raven Press 1993; 1309-52.
 79. Smithers SR, Terry RJ. The immunology of schistosomiasis. Adv Parasitol 1976; 14: 399-422.
 80. Rihet P, Demeure CE, Bourgois A, Prata A, Dessein AJ. Evidence for an association between human resistance to *Schistosoma mansoni* and high anti-larval IgE levels. Eur J Immunol 1991; 21: 2679-86.
 81. Weller PF, Ottesen EA, Heck L, Tere T, Neva FA. Endemic filariasis on a Pacific island. I. Clinical, epidemiologic, and parasitologic aspects. Am J Trop Med Hyg 1982; 31: 942-52.
 82. Elson LH, Guderian RH, Araujo E, Bradley JE, Days A, Nutman TB. Immunity to onchocerciasis: identification of a putatively immune population in

- a hyperendemic area of Ecuador. *J Infect Dis* 1994; 169: 588-94.
83. Ward DJ, Nutman TB, Zea-Flores G, Portocarrero C, Luján A, Ottesen EA. Onchocerciasis and immunity in humans: enhanced T cell responsiveness to parasite antigen in putatively immune individuals. *J Infect Dis* 1988; 157: 543-63.
 84. Hagan P, De Jesús AM, Almeida RP, et al. IgE and protective immunity to helminth infections. Correlation between cell-mediated immunity and degree of infection in subjects living in an endemic area of schistosomiasis parasite. *Immunol* 1993; 15: 1-4.
 85. Roberts M, Butterworth AE, Kimani G, et al. Immunity after treatment of human schistosomiasis: association between cellular responses and resistance to reinfection. *Infect Immun* 1993; 61: 4984-93.
 86. Soboslay PT, Luder CG, Hoffman WH, et al. Ivermectin-facilitated immunity in onchocerciasis; activation of parasite-specific Th1-type responses with subclinical *Onchocerca volvulus* infection. *Clin Exp Immunol* 1994; 96: 238-44.
 87. Elson LH, Calvopina M, Paredes W, et al. Immunity to onchocerciasis: putative immune persons produce a Th1-like response to *Onchocerca volvulus*. *J Infect Dis* 1995; 171: 652-8.
 88. Steel C, Guinea A, Ottesen EA. Evidence for protective immunity to bancroftian filariasis. *J Infect Dis* 1996; 174: 598-605.
 89. Lightowers MW. Vaccination against animal parasites. *Vet Parasitol* 1994; 54: 177-204.
 90. Bancroft AJ, Grecis RK, Else KJ, Devaney E. Cytokine production in BALB/c mice immunized with radiation attenuated third stage larvae of the filarial nematode, *Brugia pahangi*. *J Immunol* 1993; 150: 1395-402.
 91. Lange AM, Yutanawiboonchai W, Scott P, Abraham D. IL-4 and IL-5 dependent protective immunity to *Onchocerca volvulus* infective larvae in BALB/c - BYJ mice. *J Immunol* 1994; 153: 205-11.
 92. Murrell KD, Clarek S, Dean DA, Vannier WE. Influence of mouse strain on induction of resistance with radiated *Schistosoma mansoni* cercariae. *J Parasitol* 1979; 65: 829-31.
 93. Johnson KS, Harrison GB, Lightowers MW, et al. Vaccination against ovine cysticercosis using a defined recombinant antigen. *Nature* 1989; 338: 585-7.
 94. Miller TA, Steves FE, Baker JD, et al. Industrial development and field use of the canine hookworm vaccine. *Adv Parasitol* 1978; 16: 333-42.
 95. Dunne DW, Hagan P, Abath FG. Prospects for immunological control of schistosomiasis. *Lancet* 1995; 345: 1488-91.
 96. Berquist NR. Controlling schistosomiasis by vaccination: a realistic option. *Parasitol Today* 1995; 11: 191-6.
 97. Grieve RB, Wisnewski N, Frank GR, Tripp CA. Vaccine research and development for the prevention of filarial nematode infections. *Pharm Biotechnol* 1995; 6: 737-68.

M.^a Luisa Caballero Soto
Servicio de Inmunología
Centro de Investigación Clínica
Instituto de Salud Carlos III
Sinesio Delgado, 10
Madrid