



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO FIN DE GRADO
**HIPÓTESIS DE LA HIGIENE: DE LA PATOGENIA A
LA ALTERNATIVA DE SALUD**

Autor: Mónica Pérez de Andrés

D.N.I.: 05943751E

Tutor: Juan José García Rodríguez

Convocatoria: 19 de febrero de 2016

RESUMEN

La incidencia de enfermedades autoinmunes y alergias ha aumentado en los países desarrollados en las últimas décadas. La Hipótesis de la Higiene relaciona este aumento con los cambios en las condiciones de vida de estos países que impiden el contacto con organismos infecciosos como los parásitos. Numerosos datos epidemiológicos confirman que los helmintos pueden tener un papel protector frente a procesos inflamatorios crónicos como la enfermedad inflamatoria intestinal. Los linfocitos T helper y T reguladores, los linfocitos B, las células dendríticas y los macrófagos son parte de los tipos celulares implicados en esta inmunorregulación ejercida por los helmintos.

Existen modelos animales que imitan el perfil inmunológico e histológico de la enfermedad inflamatoria intestinal donde se ha comprobado que una exposición controlada con helmintos puede mejorar notablemente los síntomas de la enfermedad. Diferentes ensayos clínicos realizados con helmintos como *Trichuris suis* y *Necator americanus* en pacientes con enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa confirman estos efectos beneficiosos. Estos datos indican la posible utilización de estos organismos como herramientas terapéuticas en numerosas enfermedades autoinmunes.

INTRODUCCIÓN Y ANTECEDENTES

En las últimas tres décadas se ha observado un aumento exagerado en la incidencia de enfermedades autoinmunes como asma, diabetes tipo 1, esclerosis múltiple, artritis reumatoide y enfermedad inflamatoria intestinal en países desarrollados [1] (Ilustración 1). En EEUU la prevalencia de asma en niños aumentó un 38% entre 1980 y 2003. Lo mismo sucedió en Australia y Escocia con un aumento del 56% y 59% respectivamente [2]. En cuanto a la enfermedad inflamatoria intestinal, la incidencia ha aumentado en los últimos 50 años de 8 a 14/100.000 personas en colitis ulcerosa y de 6 a 15/100.000 en enfermedad de Crohn.

Se sabe que la predisposición genética, determinados factores ambientales y una respuesta inmune anómala son los elementos que, combinados, son determinantes en la aparición de una enfermedad autoinmune. Puesto que en sólo unas décadas los factores

genéticos no han podido cambiar de manera tan brusca, los mayores sospechosos de esta nueva epidemia autoinmune son los factores ambientales. Junto con estos factores, se ha demostrado que las infecciones juegan un papel crítico en el mecanismo de autoinmunidad.

La Hipótesis de la Higiene postula que el descenso en la exposición a organismos infecciosos que se produce en los países industrializados da lugar a un aumento de la reactividad inmunitaria aumentando la aparición de alergias y enfermedades autoinmunes.

La mejora en las condiciones sanitarias, los procesos migratorios de zonas rurales a zonas urbanas, el acceso a agua limpia, el control en la producción de alimentos e incluso las campañas de vacunación han provocado una reducción en el contacto con organismos ancestrales con los que hemos coexistido y co-evolucionado durante milenios.

Desde sus inicios en 1989, esta teoría ha sido reforzada por sólidos datos experimentales, epidemiológicos y clínicos, aportando nuevas perspectivas a las futuras terapias.

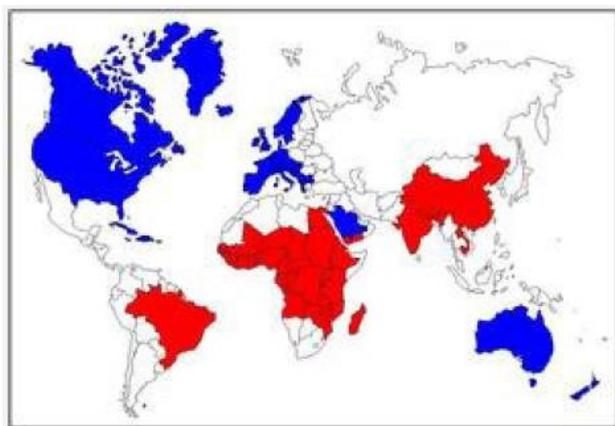


Ilustración 1. Las zonas señaladas en azul tienen elevada incidencia de enfermedades autoinmunes. Las zonas en rojo poseen una elevada incidencia de infecciones helmínticas [26].

A pesar de que se ha comprobado que tanto agentes virales como numerosas bacterias y parásitos contribuyen a la patogénesis de enfermedades autoinmunes, también se ha demostrado, por otro lado, que algunos helmintos pueden ejercer un efecto inmunomodulador e inmunosupresor con un papel protector ante alergias y enfermedades autoinmunes.

Entre las enfermedades consideradas autoinmunes se encuentra la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), una patología crónica en la que se produce una excesiva respuesta pro inflamatoria hacia las poblaciones bacterianas del tracto gastrointestinal.

El término EII incluye dos trastornos de etiología desconocida, la colitis ulcerosa (CU) y la enfermedad de Crohn (EC), que se definen según criterios clínicos, radiológicos, endoscópicos e histológicos. Ambas cursan de forma crónica con brotes de actividad inflamatoria. La CU afecta exclusivamente a la mucosa del colon en extensión variable, mientras que la EC puede afectar cualquier segmento del tracto gastrointestinal desde la boca hasta el ano con carácter discontinuo. En los casos en que es imposible diferenciar entre CU y EC se habla de colitis indeterminada.

Predomina en países industrializados, latitudes nórdicas y áreas urbanas. Cabe destacar que la prevalencia de esta enfermedad en países en vías de desarrollo es relativamente baja por lo que se ha propuesto que esto puede estar relacionado con la alta incidencia de infecciones por helmintos en estas zonas [3].

La EII se puede presentar a cualquier edad, en la mayoría de los casos aparece en la segunda y tercera década de la vida.

Los síntomas más frecuentes de la colitis ulcerosa son: diarrea líquida y sanguinolenta, dolor abdominal cólico, fiebre y pérdida de peso. Puede manifestarse como una colitis fulminante con más de 6 deposiciones al día, con sangre abundante, anemia, hipalbuminemia, alteraciones hidroelectrolíticas, fiebre y taquicardia. La complicación más grave y frecuente en la CU de larga evolución es el cáncer.

Los síntomas más frecuentes en la EC son: abdominalgia, diarrea y retraso del crecimiento y desarrollo. El comienzo es con frecuencia insidioso en forma de anorexia, astenia, fiebre intermitente, manifestaciones articulares, orales o cutáneas. Esto condiciona, en ocasiones, un mayor retraso en el diagnóstico que en la CU.

La EII se considera multisistémica. En ocasiones las manifestaciones extradigestivas preceden a los síntomas intestinales: artralgia, artritis, conjuntivitis, esteatosis, hepatitis crónica autoinmune.

Los objetivos del tratamiento son inducir y mantener un estado de remisión clínica, prevenir las recaídas y mantener una nutrición y desarrollo adecuados [4] (Tabla 1).

Tabla 1. Tratamientos más comunes de la enfermedad inflamatoria intestinal [4].

Medicamento	Principio activo	Descripción
Aminosalicilatos	Mesalazina, sulfasalazina	Acción antiinflamatoria por inhibición de la vía de la lipoxigenasa en el metabolismo del ácido araquidónico.
Corticoesteroides sistémicos	Prednisona, metilprednisona	Muy efectivos para controlar la enfermedad activa. No inducen una remisión histológica.
Antibióticos	Metronidazol, ciprofloxacino	Disminuyen la inflamación crónica al disminuir la concentración luminal de las bacterias.
Inmunomoduladores	Azatioprina, 6-mercaptopurina, ciclosporina, tacrolimus,	Disminuyen la respuesta inmune excesiva.
Agentes anti TNF- α	Infliximab, adalimumab	Se une con gran afinidad a la citoquina TNF- α neutralizando su efecto proinflamatorio. No primera elección.

HISTORIA

El primer investigador que propuso esta teoría fue Greenwood, hace casi medio siglo. Autor de numerosos artículos y libros científicos sobre Inmunología, Greenwood analizó los motivos de ingreso de los pacientes en el University College Hospital de Ibadan, en Nigeria y concluyó que allí los procesos autoinmunes eran muy poco comunes. Además realizó encuestas a la población sobre la prevalencia de artritis reumatoide y revisando otras publicaciones se percató de que la misma situación se daba en otras áreas de África tropical. Esto le permitió llegar a la conclusión de que la incidencia tan baja en enfermedades en estas regiones se debe a la alteración inmunológica producida por múltiples infecciones parasitarias [5].

La relación inversa entre la disminución de infecciones en países industrializados y el aumento de enfermedades autoinmunes y alergias fue finalmente aclarada por David P. Strachan en 1989. Para estudiar la epidemiología de la alergia al polen realizó un estudio en 17.414 niños nacidos en Inglaterra durante una semana de marzo de 1958 a los que realizó un seguimiento hasta los 23 años. El estudio demuestra una relación

inversa entre el tamaño de las familias y la incidencia de alergias, concluyendo que las enfermedades alérgicas se pueden prevenir por infecciones transmitidas entre hermanos durante la infancia o adquiridas de forma prenatal debido a contactos de la madre con los hijos mayores [6].

PRUEBAS EPIDEMIOLÓGICAS

Numerosos estudios epidemiológicos han investigado la prevalencia de alergias y enfermedades autoinmunes relacionándolas con las condiciones de vida. La primera observación de Strachan ya citada anteriormente ha sido reproducida en un gran número de estudios [34-37]. Strachan *et al* han confirmado recientemente en un estudio con 500.000 niños de 52 países que el riesgo de desarrollar alergia al polen o eczema está inversamente relacionado con el número de hermanos de la unidad familiar, especialmente en los países desarrollados [7].

El hecho de tener mascota también se ha relacionado con una disminución en la prevalencia de enfermedades alérgicas. En un reciente metaanálisis que incluye 36 publicaciones Pelucchi *et al* confirmaron un efecto favorable en la exposición de niños a mascotas, especialmente perros, y la prevalencia de dermatitis atópica [8].

De la misma manera, la prevalencia de síntomas respiratorios en enfermedades atópicas fue comparado en una muestra aleatoria de adultos en Hamburgo (ex-Alemania Occidental) y Erfurt (ex-República Democrática Alemana). Se observó que, a pesar de que la contaminación debida al dióxido de azufre y las partículas en suspensión presentes en Erfurt, la incidencia de estos síntomas respiratorios como la hiperreactividad bronquial era mucho mayor en Hamburgo [9]. Las peores condiciones de vida que se daban en la Alemania del Este aumentaban la exposición de la población a agentes infecciosos, incluyendo helmintiasis durante la infancia, pudiendo reducir la incidencia de enfermedades atópicas [10].

Otro ejemplo ilustrativo se da en la región de Karelia. Situada en Europa nororiental, esta región tiene un área finlandesa, caracterizada por altos estándares de higiene, y un área rusa, con peor higiene y mayor índice de infecciones. Los finlandeses de esta región tienen una de las mayores prevalencias de enfermedades autoinmunes y alergias, mientras que la prevalencia en la población rusa es mucho menor a pesar de poseer los mismos antecedentes genéticos. Por ejemplo, la incidencia de diabetes tipo 1 es seis

veces mayor en la región finlandesa. La gran diferencia en el índice de infecciones entre las dos regiones es el mayor motivo por el que se cree que esto sucede [11].

La relación de la Hipótesis de la Higiene con la EII se debe a Weinstock que observó que la prevalencia de esta enfermedad comenzó a aumentar al mismo tiempo que disminuía la prevalencia de helmintiasis en EEUU. En regiones de África subsahariana la incidencia de esta patología es muy baja y no puede ser explicada por factores genéticos ya que la descendencia de las personas de estas zonas que migraron a Reino Unido y EEUU tiene una incidencia de EII cada vez más parecida a la de la población autóctona de estos dos países [12].

Estas observaciones epidemiológicas refuerzan la hipótesis de que agentes infecciosos como los helmintos pueden tener un papel protector frente a procesos inflamatorios crónicos y alergias.

El término helminto se utiliza en Parasitología para referirse a especies animales con unas características morfológicas determinadas que invaden el organismo de otras especies. Su clasificación se realiza según numerosos factores, incluyendo la morfología externa e interna de huevos, larvas y estados adultos. Se dividen en dos grupos: Platelminetos, incluye trematodos y cestodos, y Nematelminetos, que incluye los nematodos. Estos organismos suelen vivir en el tracto gastrointestinal aunque pueden colonizar otros órganos. Es importante remarcar que su finalidad no es eliminar al hospedador si no sobrevivir el mayor tiempo posible creando un estado de tolerancia. Los helmintos pueden modular el sistema inmunitario del hospedador para prevenir una activación que pueda eliminarlos pero sin causar una inmunodepresión tan grave que produzca la muerte del hospedador.

OBJETIVOS

Con el presente trabajo se pretende realizar una revisión bibliográfica acerca de la Hipótesis de la Higiene, una teoría reciente muy aceptada por la comunidad científica que justifica la creciente incidencia de enfermedades autoinmunes en los países desarrollados.

METODOLOGÍA

Se ha realizado una revisión de la literatura científica de los últimos diez años con el fin de encontrar datos epidemiológicos y bases inmunológicas que sustentan la Hipótesis de la Higiene para analizar posteriormente la posible utilidad de los helmintos en el tratamiento de la Enfermedad Inflamatoria Intestinal (colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn y colitis indeterminada).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La respuesta inmune frente a antígenos extraños requiere una coordinación perfecta de todas las células que participan en las diferentes fases de esta respuesta. El objetivo de la respuesta es la destrucción rápida de los agentes patógenos garantizando la mínima repercusión sobre la totalidad de las células y tejidos del organismo.

Los linfocitos T, junto con otros tipos celulares, secretan citoquinas, pequeñas proteínas con efectos autocrinos y paracrinos. Se diferencian en linfocitos T citotóxicos (CD8+) y linfocitos T helper (CD4+). La activación de los linfocitos T helper (Th) vírgenes debe hacerse por células dendríticas. Después de la primera presentación del antígeno, esta célula Th activada comenzará a secretar IL-2 lo cual permitirá la expansión clonal de la población. Las células producidas comenzarán a secretar otras citoquinas como IFN- γ , TNF- α , IL-4, IL-5, IL-10 o IL-13. Con una exposición antigénica prolongada, el perfil de citoquinas secretadas por las células T puede polarizarse a dos tipos de respuesta:

- **Respuesta Th1:** altamente efectiva en la eliminación de patógenos intracelulares, está caracterizada por la producción de IL-6, IL-12 e IFN- γ y TNF- α . Esta respuesta está muy presente en las enfermedades autoinmunes. La inflamación intestinal que ocurre durante la enfermedad de Crohn pertenece a una respuesta Th1.
- **Respuesta Th2:** esta respuesta es habitual en las enfermedades atópicas. Está caracterizada por la secreción de IL-4, IL-5, IL-9, IL-10, IL-13 e IgE, así como por un incremento en la producción de anticuerpos por las células B y en el reclutamiento de eosinófilos [17].

Las primeras conclusiones que se obtuvieron de los modelos animales de enfermedades autoinmunes infectados con helmintos sugerían que estos organismos inducen una fuerte respuesta Th2 que tiene un efecto protector ya que disminuye la respuesta Th1. Sin embargo, estas conclusiones no explican el concepto de la Hipótesis de la Higiene ya que aumentando la respuesta Th2, los helmintos deberían aumentar las enfermedades atópicas y se ha visto que el efecto protector de los helmintos también disminuye la prevalencia de alergias. Por tanto, existen otros actores celulares implicados en esta inmunorregulación como son las células Th17 y las células T reguladoras (Treg) (Ilustración 2) [17].

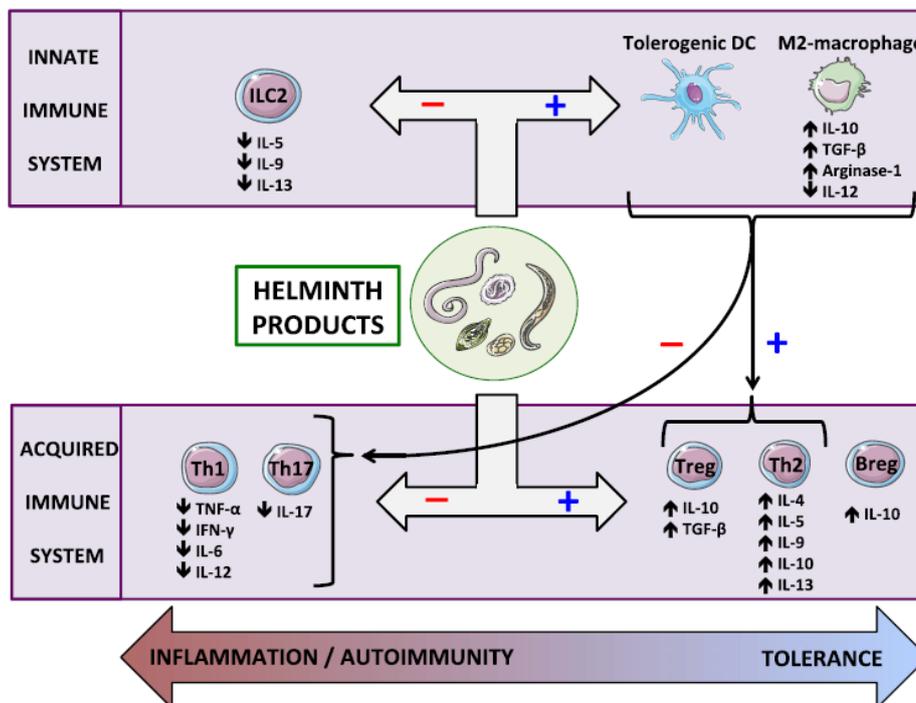


Ilustración 2. Efecto inmunorregulador de los helmintos sobre la respuesta innata y adaptativa del sistema inmune [17].

Las células Th17 forman parte de otra población de células T helper que ha sido descubierta recientemente. Se caracterizan por la secreción de IL-17, la cual induce la expresión de mediadores inflamatorios de la respuesta innata como IL-6, proteínas de fase aguda y prostaglandinas E2. Las citoquinas producidas por células Th1 y Th2 pueden inhibir el desarrollo de las células Th17. Se ha demostrado que los niveles de IL-17 están aumentados en varias enfermedades inflamatorias como artritis reumatoide, asma y EII [15].

Las células Treg tienen una función inmunosupresora y un perfil de citoquinas distinto de las células Th1, Th2 o Th17. Al suprimir una excesiva respuesta Th1, Th2 y Th17, estas Treg juegan un importante papel en la prevención de enfermedades autoinmunes [16].

Estas células Treg se dividen a su vez en tres subgrupos:

- **Células Treg CD4+ CD25+:** inhiben la respuesta inmune a través del contacto directo con las células y a través de la producción de citoquinas inmunosupresoras.
- **Células tipo 1 Tr (Tr1):** secretan altos niveles de IL-10.
- **Células tipo 3 Tr (Tr3):** secretan principalmente TGF- β .

El equilibrio entre linfocitos Th1, Th2 y Treg es de especial interés cuando hablamos de respuesta inmune en el tracto gastrointestinal, ya que el intestino otorga un microambiente que facilita la diferenciación de las células Treg [18].

Se ha demostrado que las células Treg controlan las alergias mediadas por la respuesta Th2 y las enfermedades inflamatorias mediadas por la respuesta Th1/Th17 a través de la secreción de IL-10 y TGF- β [18].

Muchos experimentos constatan que los helmintos son capaces de modular el sistema inmunitario del hospedador inhibiendo la diferenciación Th17, promoviendo la polarización hacia una respuesta Th2 y aumentando la proliferación de las células Treg y, por tanto, la secreción de IL-10 y TGF- β . Esta modulación del perfil de células T contribuye al efecto protector de los parásitos frente a alergias y enfermedades autoinmunes [4,12,13,17,33].

Las células dendríticas constituyen un puente de unión entre la respuesta innata y la adaptativa. Su función es capturar, procesar y presentar antígenos a las células T. Patrones de reconocimiento como los receptores tipo Toll (TLR) o la familia de receptores lectina tipo C (CLR) son esenciales para este proceso. La activación de las células dendríticas es crucial para la polarización de las células T. Las células dendríticas pueden adoptar un fenotipo tolerogénico que, al contrario del fenotipo inmunogénico, es capaz de iniciar respuestas Treg y Th2. Los productos de excreción-secreción de los helmintos son capaces de modular la señalización de las células dendríticas hacia un perfil tolerogénico [19].

En estudios realizados con *Heligmosomoides polygyrus*, un helminto intestinal, se demostró que la infección con el parásito era capaz de prevenir o revertir la inflamación al infectar directamente a ratones con EII. Se demostró que *H. polygyrus* ofrecía protección alterando la función de las células dendríticas hacia un fenotipo regulador. Estas células dendríticas tolerogénicas disminuían las respuestas con IFN- γ e IL-17 de las células T [20].

Los helmintos también promueven la proliferación de células B-reguladoras (Breg) [21]. Además de los convencionales linfocitos B responsables de la activación de linfocitos T, esta familia de Breg ha demostrado regular negativamente la respuesta inmune produciendo citoquinas reguladoras, especialmente IL-10, a través de una interacción directa con linfocitos T patogénicos. La función reguladora de Breg ha sido desde entonces demostrada en varias condiciones patológicas entre ellas las enfermedades autoinmunes. La generación de Breg por helmintos ha sido demostrada en modelos animales de EII y esclerosis múltiple [22].

Además de modular células T, células dendríticas y Breg, los helmintos también ejercen sus efectos inmunomoduladores manipulando células de respuesta innata, especialmente los macrófagos. En respuesta a diversos estímulos los macrófagos pueden someterse a una activación clásica (macrófagos M1) o una polarización alternativa (macrófagos M2 o macrófagos alternativamente activados). Durante las infecciones con nematodos, los macrófagos adquieren esta polarización alternativa caracterizada por una baja expresión de IL-12, alta expresión de IL-10, TGF- β y arginasa-1 [17]. Se ha comprobado que estos macrófagos M2 se encuentra en mayores cantidades en pacientes con enfermedad de Crohn en periodo de remisión comparado con los niveles de pacientes que están experimentando un brote [23].

MODELOS ANIMALES

La EII es una enfermedad prácticamente limitada al ser humano. Es por ello que se han desarrollado diferentes modelos de ratones que la simulan. Estos modelos son útiles para estudiar los factores implicados en la homeostasis de la mucosa intestinal. También permiten descubrir los mecanismos de acción de algunos principios activos y predecir futuras estrategias terapéuticas para el control de la enfermedad.

Uno de los primeros modelos que se utilizó para estudiar el efecto de los helmintos en la inflamación intestinal se logró a través de la administración rectal de ácido trinitrobenceno sulfónico (TNBS) mezclado con alcohol. Se produce una patología inducida con inflamación Th1 que comparte muchas características con la enfermedad de Crohn. Esta alteración desaparece espontáneamente 4 semanas después de la instilación con TNBS [24]. En el experimento publicado por David E. Elliott [25] se utilizaron huevos de *Schistosoma mansoni* ya que este parásito induce una respuesta Th2. Se expuso a una parte de los ratones a 10,000 huevos no viables de *S. mansoni* en los días 14 y 4 antes de la instilación de TNBS. El resto de los ratones no fue expuesto al parásito. Al tercer día después de la administración de TNBS se realizó una extracción del colon y se procedió a valorar la inflamación al microscopio. Se compararon las muestras de los dos grupos de ratones y se observó que la exposición a huevos de *S. mansoni* mejoraba notablemente la inflamación inducida [25] (Ilustración 3). Además, diferentes parámetros inmunológicos fueron analizados comprobando que los ratones que habían sido expuestos al parásito tenían unos niveles más bajos de IFN- γ y un aumento en la producción de IL-4 e IL-10.

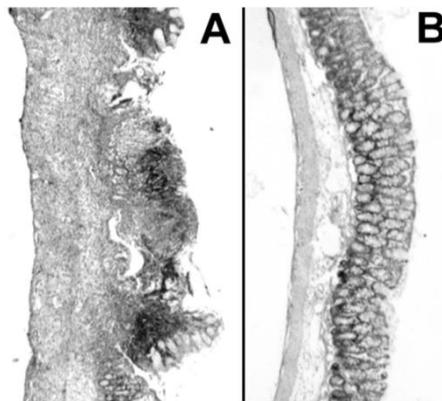


Ilustración 3: La imagen A es representativa del grupo de ratones control, no expuesto a huevos de *S. mansoni*, muestra engrosamiento de la pared, inflamación transmural y ulceración. La imagen B pertenece al grupo de ratones expuestos a los huevos del parásito y se observa una clara disminución de la alteración de la mucosa [25].

De la misma manera se infectó a un grupo de ratones con el nematodo intestinal *Trichinella spiralis* y después de un tiempo de recuperación se les indujo la patología con TNBS. Se comprobó a través de exámenes macroscópicos e histológicos que la infección previa con nematodos reducía la severidad de la inflamación, además de detectar una disminución en la expresión de citoquinas Th1 en el tejido colónico y un

aumento de respuesta Th2 [35]. Existen numerosas publicaciones donde se demuestra una reducción de la inflamación inducida por TNBS al exponer a los animales a helmintos como *Trichuris muris*, *Heligmosomoides polygyrus* o *Hymenolepis diminuta* [20,32,35].

Otra estrategia para generar EII es la inducción de defectos en la producción de IL-10 o de su receptor. Ratones con defectos en la producción de IL-10 o de su receptor desarrollan la inflamación colónica espontáneamente. La IL-10 es una citoquina inmunorreguladora importante para limitar las respuestas inmunes de la mucosa. Para aumentar la expresión de la enfermedad, a menudo se administra a los ratones anti-inflamatorios no esteroídicos (AINES), los cuales desencadenan una patología severa. Estos AINES alteran la producción de metabolitos protectores del ácido araquidónico haciendo a los animales más susceptibles a EII [38]. Esto ocurre también en la EII humana, donde la administración de diferentes tipos de AINES empeora la enfermedad [39,40].

Otra versión del modelo sin expresión de IL-10 es la reconstitución de ratones Rag. Son ratones que han nacido sin células T ni B funcionales a los que se reconstituye con células T que no expresan IL-10. Estos ratones también desarrollan una patología severa cuando se les administran AINES. La ventaja de este modelo es que los investigadores pueden manipular las células T reconstituidas haciendo que sea más útil para investigar los mecanismos de la enfermedad [24].

Esta patología inducida al inhibir completamente la producción de IL-10 se puede prevenir o revertir a través de la colonización de los animales con parásitos como *T. muris* o *H. polygyrus* [36,37].

ENSAYOS CLÍNICOS

Estos prometedores resultados en modelos animales dieron lugar a diferentes ensayos clínicos con el fin de evaluar la seguridad y el potencial terapéutico de los helmintos.

Debido a su capacidad patogénica, no todos los helmintos pueden utilizarse para este fin. Hay una serie de características ideales de un helminto que permiten su utilización terapéutica (Tabla 2) [41].

Tabla 2. Principales características para utilización terapéutica de helmintos [41].

Características ideales de un helminto para su utilización terapéutica
<ul style="list-style-type: none">- Baja o nula capacidad patogénica.- No se multiplica en el hospedador.- No puede transmitirse por contacto directo.- Produce una colonización autolimitada y asintomática en humanos.- No produce daños en pacientes con inmunodepresión.- No interacciona con el tratamiento habitual.- Puede ser erradicado con un antihelmíntico.- Puede ser aislado libre de otros patógenos potenciales.- Puede ser aislado o producido en grandes cantidades.- Puede ser estabilizado para su transporte y almacenamiento.- Fácil de administrar.

Hasta la fecha, dos especies de nematodos han sido utilizadas en terapia helmíntica con seres humanos: *Trichuris suis* y *Necator americanus*.

El hospedador definitivo de *T. suis* son los suidos, una familia de mamíferos artiodáctilos que incluye a los cerdos domésticos y los jabalíes entre otros. En el ser humano los huevos embrionados eclosionan en el intestino, de manera que las larvas L1 pueden producir una colonización corta y autolimitada. Esta colonización es asintomática pero suficiente para inducir la respuesta moduladora buscada. El ciclo no se completa ya que, para progresar hacia el estado adulto y alcanzar la madurez sexual, deben hallarse en el hospedador propio, por lo que las larvas serán eventualmente expulsadas del intestino quedando el paciente totalmente libre del parásito [26].

Sin embargo, en este punto cabe preguntarse cómo el parásito puede producir efectos inmunorreguladores en el hombre si no ha co-evolucionado con él, lo cual es uno de los condicionantes clave que justifican un efecto inmunorregulador y, por tanto, su utilización en terapéutica. Esto puede explicarse por la alta proximidad genética entre los suidos y los seres humanos que ha hecho que las especies de la clase Adenophorea, orden Trichocephalida como *T.suis* y *T.trichiura*, que los colonizan respectivamente, resulten morfológicamente indistinguibles. Esta similitud permite unos efectos inmunorreguladores de una adaptación co-evolutiva sin producir un ciclo de infección completo [27].

Los primeros ensayos clínicos se realizaron con *T. suis* [32] (Ilustración 4). El primero se realizó sobre un pequeño grupo de pacientes con EC y otro con CU. La medicación de los pacientes no fue alterada, se mantuvieron las pautas y dosis del tratamiento. Los pacientes fueron monitorizados a través del índice de actividad de la EC (Crohn Disease Activity Index: CDAI) y la CU fue monitorizada por el índice de Walmsley (Simple Activity Index). Se les administró por vía oral 2500 huevos del helminto y se realizó un seguimiento cada dos semanas durante 12 semanas. Durante este periodo todos los pacientes mejoraron clínicamente sin ningún efecto adverso. Se produjo una remisión de la enfermedad en seis de los siete pacientes. Dado que la infección crónica con este parásito, mencionada anteriormente, no es posible, se propuso que los huevos de *T. suis* debían ser ingeridos cada 3 semanas para mantener la remisión de la enfermedad [28] (Tabla 3).

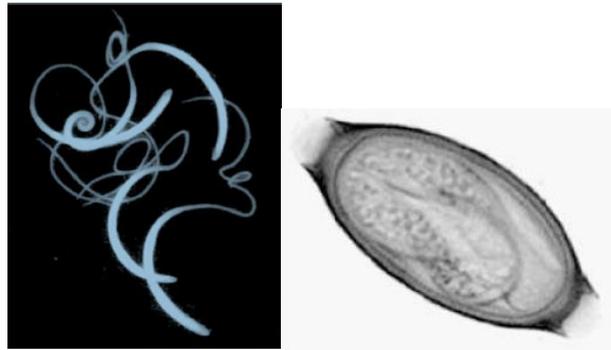


Ilustración 4. *Trichuris suis* en estado adulto aislado del hospedador y huevo de *T suis* (100x30µm)
[32].

En el segundo ensayo clínico con *T. suis*, 29 pacientes con EC fueron tratados con 2500 huevos cada 3 semanas. El 80% de los pacientes respondió al tratamiento y un 73% entraron en remisión en las 24 semanas de duración del estudio. No se observó ningún efecto adverso [29] (Tabla 3).

También se confirmó una mejora en los pacientes con CU en otro ensayo clínico llevado a cabo en la Universidad de Iowa. El estudio incluía 54 pacientes que recibían 2500 huevos de *T. suis* o placebo por vía oral cada dos semanas. Después de 12 semanas de tratamiento se observó una mejora en 13 de los 30 pacientes tratados con los huevos del helminto frente a 4 de los 24 pacientes a los que se administró el placebo. El tratamiento no produjo efectos secundarios [30] (Tabla 3).

Tabla 3. Resumen de ensayos clínicos realizados con *Trichuris suis* y *Trichuris trichiura* en pacientes con enfermedad inflamatoria intestinal.

Organismo	Pacientes	Método de tratamiento	Resultados clínicos	Año	Ref
<i>Trichuris suis</i>	4 pacientes EC 3 pacientes CU	1 dosis 2500 huevos Seguimiento 2/12 semanas	6 pacientes remisión No efectos adversos	2003	[28]
	29 pacientes con EC	2500 huevos cada 3 semanas/ 24 semanas	Respuesta al tto :80% Remisión: 73%	2005	[29]
	54 pacientes CU	2500 huevos cada 2 semanas/ 12 semanas	Mejora en 13 de los 30 pacientes sin placebo No efectos adversos	2005	[30]
<i>Trichuris trichiura</i>	1 paciente CU refractario a tratamiento	500 huevos y 1000 huevos 3 meses después	Dosis iniciales produjeron infección crónica que dio lugar a remisión. Nueva dosis después de la recaída.	2010	[3]

En un reciente estudio en un paciente con CU refractaria al tratamiento se investigaron los efectos de *Trichuris trichiura*, cuyo hospedador definitivo es el ser humano. El paciente entró en remisión durante 3 años después de la ingestión de dos dosis de huevos embrionados que provocaron una infección crónica. Después de una recaída, el paciente ingirió una tercera dosis de huevos que dio lugar a una mejora en los hallazgos histopatológicos. Esta remisión después de la reinfección se correlaciona con un aumento colónico y sistémico de células Th2 secretoras de IL-22 mientras que las células Th productoras de IFN- γ , IL-17 y TNF- α no habían cambiado. La IL-22 es una citoquina que aumenta la producción de mucus y la proliferación de células epiteliales, mejorando la función barrera de la mucosa. Se hipotetizó que la infección con *T. trichiura* da lugar a una inducción de células productoras de mediadores de respuesta Th2 e IL-22 y que éstas reducen la patología intestinal al mejorar la integridad de la mucosa [3] (Tabla 3).

El otro helminto más utilizado en ensayos clínicos es *Necator americanus*. En la infección con este nematodo la autoinfección, la infección por contacto directo y la hipobiosis (detención del desarrollo larvario) no se dan. Estos hechos lo convierten en un buen candidato para este tipo de ensayos clínicos [31].

Su hospedador definitivo es el hombre. Las larvas son administradas por vía percutánea y migran a través del sistema circulatorio y pulmones al intestino delgado donde sobreviven alimentándose de sangre de la mucosa. Dan lugar a infecciones de larga duración que, a más altas dosis, pueden causar síntomas gastrointestinales o anemia.

Se realizó un pequeño ensayo clínico con 9 pacientes con EC, 5 de ellos con la enfermedad en estado inactivo (remisión) y 4 con la enfermedad en estado activo (brotes). Estos pacientes fueron sometidos a una inoculación con 25-50 larvas en la semana 0 y fueron seguidos hasta la semana 27, donde se volvió a producir una nueva inoculación. Se utilizó el cuestionario de índice de actividad de la enfermedad de Crohn (CDAI) para monitorizar la mejoría de los pacientes. La reinoculación no causó efectos adversos aparentes. La enfermedad se reactivó en dos de los casos, pero el resto de pacientes experimentaron mejora en el índice de la enfermedad llegando a remisión en la semana 45 [31] (Tabla 4).

Tabla 4. Resumen de ensayos clínicos realizados con *Necator americanus* en pacientes con enfermedad de Crohn y en pacientes con intolerancia al gluten.

Organismo	Pacientes	Método de tratamiento	Resultados clínicos	Año	Ref
<i>Necator americanus</i>	5 pacientes EC inactiva 4 pacientes EC activa	Semana 0: 25-50 larvas Semana 27: nueva inoculación	Reactivación en 2 casos. En el resto remisión. No efectos adversos.	2006	[31]
	20 pacientes celíacos	5-10 larvas y exposición a gluten en semana 20.	Buena tolerancia de larvas pero no diferencia en respuesta sintomática a la exposición al gluten.	2011	[34]

Recientemente, se realizó un segundo estudio doble ciego controlado por placebo en una cohorte de 20 pacientes celíacos con *N. americanus*. Este consistía en inocular una dosis de 5-10 larvas a 10 de los pacientes. En la semana 20 post-infección se realizó una exposición de los sujetos al gluten esperando una mejora en los pacientes expuestos al parásito. La dosis de larvas fue bien tolerada y análisis inmunológicos demostraron una reducción en las citoquinas inflamatorias IFN- γ e IL-17 en biopsias duodenales comparadas con el grupo placebo. Sin embargo, no hubo diferencia en la respuesta sintomática a la exposición con gluten en la que todos los sujetos experimentaron los mismos síntomas: dolor, vómitos, diarrea, dolor de cabeza, entre otros [34] (Tabla 4).

CONCLUSIONES

El aumento en la incidencia de enfermedades autoinmunes en países industrializados está justificado por datos epidemiológicos, experimentales y clínicos que confirman la Hipótesis de la Higiene.

La enfermedad inflamatoria intestinal se caracteriza por una respuesta Th1 y Th17 exacerbada. Numerosos ensayos en animales así como ensayos clínicos demuestran, sin lugar a dudas, el efecto inmunomodulador de los parásitos en las enfermedades autoinmunes, un complejo mecanismo en el que numerosos tipos celulares de la respuesta inmune innata y adaptativa están implicados.

Las limitaciones deontológicas del uso de helmintos como agentes terapéuticos se pueden solucionar con la utilización de proteínas inmunogénicas derivadas de estos. Estas moléculas son una alternativa mucho más atractiva y segura que permite el desarrollo de nuevos fármacos, así como el desarrollo de vacunas que permitan la exposición en edades tempranas a estos organismos, mejorando la calidad de vida de millones de personas.

Un conocimiento más profundo de los mecanismos moleculares que permiten a los helmintos regular el sistema inmune de su hospedador es necesario para desarrollar tratamientos nuevos, más seguros y más efectivos para enfermedades autoinmunes como la enfermedad inflamatoria intestinal.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Zaccone P., Fehervari Z., Phillips J. M., Dunne D. W. & Cooke A. Parasitic worms and inflammatory diseases. *Parasite Immunol.*, 2006.; 28, 515–523.
- [2] Eder W, Ege MJ, von Mutius E. The asthma epidemic. *N Engl J Med.* 2006;23:2226–35.
- [3] Rose A. K. Whelan & Susanne Hartmann & Sebastian Rausch. Nematode modulation of inflammatory bowel disease. *Protoplasma* 2012; 249:871-886
- [4] Sociedad Española de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición pediátrica y Asociación Española de pediatría. *Protocolos diagnóstico-terapéuticos de Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátrica.* Madrid, 2010.
- [5] Greenwood BM. Autoimmune disease and parasitic infections in Nigerians. *Lancet.* 1968;2:380–2.
- [6] Strachan DP. Hay fever, hygiene and household size. *BMJ.* 1989;299:1259–60
- [7] Strachan DP, Ait-Khaled N, Foliaki S, Mallol J, Odhiambo J, Pearce N, et al. Siblings, asthma, rhinoconjunctivitis and eczema: a worldwide perspective from the International Study of Asthma and Allergies in Childhood. *Clin Exp Allergy.*2015;45:126–36.
- [8] Pelucchi C, Galeone C, Bach J-F, La Vecchia C, Chatenoud L. Pet exposure and risk of atopic dermatitis at the pediatric age: a meta-analysis of birth cohort studies. *J Allergy Clin Immunol.* 2013;132:616–22.
- [9] Nowak D, Heinrich JR, Jörres R, Wassmer G, Berger J, Beck E, et al. Prevalence of respiratory symptoms, bronchial hyperresponsiveness and atopy among adults: west and east Germany. *Eur Respir J.* 1996;9:2541–52.
- [10] Heinrich J, Hoelscher B, Frye C, Meyer I, Wjst M, Wichmann HE. Trends in prevalence of atopic diseases and allergic sensitization in children in Eastern Germany. *Eur Respir J.* 2002;19:1040–6
- [11] Kondrashova A, Seiskari T, Ilonen J, Knip M, Hyöty H. The “Hygiene hypothesis” and the sharp gradient in the incidence of autoimmune and allergic diseases between Russian Karelia and Finland. *APMIS.*2013;121:478–93..
- [12] Joal V. Weintsock, David E. Elliott. Helminths and the IBD Hygiene Hypothesis. *Inflamm Bow Dis.* Volume 15. Number I, January 2009.
- [13] Maizels R. M., Balic A., Gomez-Escobar N., Nair M., Taylor M. D., and Allen J. E.. Helminth parasites—masters of regulation. *Immunological Reviews.* 2004; vol. 201, no. 1, pp. 89–116.
- [14] Abbas A. K., Murphy K. M., and Sher A., “Functional diversity of helper T lymphocytes,” *Nature.*1996; vol. 383, no. 6603, pp. 787–793.
- [15] Zhang Z., Hinrichs D. J., Lu H., Chen H., Zhong W., and Kolls J. K., “After interleukin-12p40, are interleukin-23 and interleukin-17 the next therapeutic targets for inflammatory bowel disease?” *International Immunopharmacology.* 2007; vol. 7, no.4, pp. 409–416.
- [16] Thompson C. and Powrie F., “Regulatory T cells,” *Current Opinion in Pharmacology,* 2004. vol. 4, no. 4, pp. 408–414.
- [17] Versini M., Jeandel PY., Bashi T., Bizzaro G., Blank M. and Shoenfeld Y.. Unraveling the Hygiene Hypothesis of helminthes and autoimmunity: origins, pathophysiology, and clinical applications.. *BMC Medicine* 2015; 13:81.
- [18] Kim JM, Rasmussen JP, Rudensky AY. Regulatory T cells prevent catastrophic autoimmunity throughout the lifespan of mice. *Nat Immunol.* 2007;8:191–7.

- [19] Torres-Aguilar H, Blank M, Jara LJ, Shoenfeld Y. Tolerogenic dendritic cells in autoimmune diseases: crucial players in induction and prevention of autoimmunity. *Autoimmun Rev.* 2010;10:8–17.
- [20] Hang L, Setiawan T, Blum AM, Urban J, Stoyanoff K, Arihiro S, et al. Heligmosomoides polygyrus infection can inhibit colitis through direct interaction with innate immunity. *J Immunol.* 2010;185:31849.
- [21] Khan AR, Amu S, Saunders SP, Fallon PG. The generation of regulatory B cells by helminth parasites. *Methods Mol Biol.* 2014;1190:143–62.
- [22] Sattler S, Ling G-S, Xu D, Husaarts L, Romaine A, Zhao H, et al. IL-10- producing regulatory B cells induced by IL-33 (Breg(IL-33)) effectively attenuate mucosal inflammatory responses in the gut. *J Autoimmun.* 2014;50:107–22.
- [23] Hunter MM, Wang A, Parhar KS, Johnston MJ, Van Rooijen N, Beck PL, McKay DM. In vitro-derived alternatively activated macrophages reduce colonic inflammation in mice. *Gastroenterology* 2010; 138(4):1395–1405.
- [24] Weinstock J.V. and Elliott.. Translatability of helminth therapy in inflammatory bowel Diseases. *Int J Parasitol.* 2013 March ; 43(0): 245–251
- [25] Elliott D.E, Li J., Blum A., Metwali A., Qadir K., Urban J.F. Jr., Weinstock J.V., Exposure to schistosome eggs protects mice from TNBS-induced colitis. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology.* 2003 Vol. 284 no. 3, G385-G391.
- [26] Iñigo Pallardo Fernández; Enfermedades Autoinmunes, tratamiento con Trichuris suis y otros helmintos-Ars Pharm. 2015; 56(2): 65-75
- [27] Cutillas C, Callejón R, de Rojas M, Tewes B, Ubeda JM, Ariza C, Guevara DC, Trichuris suis and Trichuris trichiura are different nematode species. *Acta Trop.* 2009; 111:299–307.
- [28] 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
- [29] Summers RW, Elliott DE, Urban JFJ, Thompson R, Weinstock JV. Trichuris suis therapy in Crohn's disease. *Gut.* 2005;54(1):87–90.
- [30] Summers RW, Elliott DE, Urban JF Jr, Thompson RA, Weinstock JV. Trichuris suis therapy for active ulcerative colitis: a randomized controlled trial. *Gastroenterology* (2005) 128 (4):825–832
- [31] 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;55(1):136–7.
- [32] Weinstock JV, Summers RW, Elliott DE. Role of helminths in regulating mucosal inflammation. *Springer Semin Immun.* 2005; 27:249–271
- [33] Helena Helmbj. Human helminth therapy to treat inflammatory disorders- where do we stand? *BMC Immunology* 2015; 16:12
- [34] Daveson AJ, Jones DM, Gaze S, McSorley H, Clouston A, Pascoe A, Cooke S, Speare R, Macdonald GA, Anderson R, McCarthy JS, Loukas A, Croese J. Effect of hookworm infection on wheat challenge in celiac disease—a randomised double-blinded placebo controlled trial. *PLoS One* 2011; 6(3):e17366
- [35] Khan WI, Blennerhasset PA, Varghese AK et al. Intestinal nematode experimental infection ameliorates experimental colitis in mice. *Infect Immun* 2002; 70:5931.
- [36] Elliott DE, Setiawan T, Metwali A et al. Heligmosomoides polygyrus inhibits established colitis in IL-10-deficient mice. *Eur J Immunol* 2004; 34:2690

- [37] Elliott DE, Urban JF Jr, Argo CK et al. Does the failure to acquire helminthic parasites predispose to Crohn's disease? *FASEB* 2000; *J* 14:1848
- [38] Berg DJ, Zhang J, Weinstock JV, Ismail HF, Earle KA, Alila H, Pamukcu R, Moore S, Lynch RG. Rapid development of colitis in NSAID-treated IL-10-deficient mice. *Gastroenterology*. 2002; 123:1527–1542.
- [39] Takeuchi K, Smale S, Premchand P, Maiden L, Sherwood R, Thjodleifsson B, Bjornsson E, Bjarnason I. Prevalence and mechanism of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced clinical relapse in patients with inflammatory bowel disease. *Clin. Gastroenterol. Hepatol*. 2006; 4:196–202
- [40] Chan SS, Luben R, Bergmann MM, Boeing H, Olsen A, Tjønneland A, Overvad K, Kaaks R, Kennedy H, Khaw KT, Riboli E, Hart AR. Aspirin in the aetiology of Crohn's disease and ulcerative colitis: a European prospective cohort study. *Aliment. Pharmacol. Therapeut*. 2011; 34:649–655.
- [41] Elliott DE, Summers RW, Weinstock JV.. Helminths as governors of immune-mediated inflammation. *Int J Parasitol*. 2007 Apr;37(5):457-64.
- [42] Ruysseers NE , DeWinter BY, DeMan JG, Loukas A, Herman AG, Pelckmans PA and Moreels TG. Worms and the Treatment of Inflammatory Bowel Disease: Are Molecules the Answer? *Clinical and Developmental Immunology*. 2008; Article ID 567314