



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO
PARADIGMA INMUNOLÓGICO EN LA
FASE INTESTINAL DE *Trichinella spiralis*

Autor: Inés Gumiel Baena

D.N.I.: 05445989-A

Tutor: Juan José García Rodríguez

Convocatoria: 30/06/2015

RESUMEN

Las nematodosis intestinales afectan actualmente a casi un billón de personas, siendo una de las enfermedades infecciosas más prevalentes. Están asociadas con un curso crónico y altos niveles de morbilidad y discapacidad. Durante la evolución, han adquirido medios sofisticados de adaptación que les ha permitido, mediante la utilización de una serie de mecanismos, la supresión o evasión del sistema inmune con el fin de sobrevivir. De manera general, los nematodos gastrointestinales ponen en marcha una respuesta Th2 en el hospedador y están asociadas con una disminución de las enfermedades autoinmunes.

Trichinella spiralis es un nematodo gastrointestinal ampliamente distribuido. A diferencia de los demás nematodos gastrointestinales, no sigue el modelo común de respuesta Th2. Esto es así, debido a su diferencia de localización intestinal. Tras su entrada se desencadena una respuesta Th1 y tras ponerse en marcha la fase migratoria y muscular, se desencadena una respuesta Th2 que pondrá fin a la fase intestinal y la expulsión de los adultos del intestino.

Su capacidad inmunomoduladora está siendo objeto de una intensa actividad investigadora y se ha visto su posible utilización como herramienta terapéutica en numerosas enfermedades autoinmunes.

INTRODUCCIÓN

HISTORIA

La triquinelosis es una enfermedad producida por nematodos del género *Trichinella*. Es una parasitosis prevalente, que a pesar de las medidas preventivas que se realizan, hoy en día sigue suponiendo un problema en la salud pública [1].

Trichinella fue descubierta en el año 1835 como larva enquistada en los músculos de los cadáveres autopsiados en Londres por Peacock, Hilton y Paget. Pero el primero que describió y nombró las larvas enquistadas fue Richard Owen. Durante los siguientes 60 años, nuevas revelaciones del ciclo de vida del parásito, datos epidemiológicos y diagnóstico clínico se derivaron de la investigación realizada

principalmente en Alemania: Leuckart y Virchow demostraron que los quistes encontrados en músculo esquelético se convierten en gusanos, y que las hembras depositan las larvas en la pared del duodeno y éstas emigran hasta el músculo esquelético donde se enquistan y fue Friedrich von Zenker, el descubridor de las formas intestinales [2].

EPIDEMIOLOGÍA

Es una enfermedad parasitaria de los animales domésticos y silvestres, zoonosis importante, endémica en España y transmitida a humanos por el consumo de carne cruda o poco cocinada con larvas infectantes de este nematodo. Es de carácter cosmopolita, pero tiene mayor importancia en el este y sur de Europa así como en los EEUU [3].

En la Península Ibérica, con intensidad variable, hay una prevalencia constante de *Trichinella*, siendo el vehículo fundamental la carne de cerdo y jabalí. *T. spiralis* convive con la especie *T. britovi*, ampliamente distribuidas coexistiendo los ciclos doméstico y selvático. Aunque la vigilancia de esta enfermedad es continua, su presentación es de carácter estacional y en forma de brotes, debido a la actividad cinegenética del jabalí y a la matanza domiciliaria del cerdo burlando las inspecciones y controles pertinentes.

Durante la vigilancia epidemiológica entre los años **1993 y 2006** surgen numerosos brotes, la mayoría de ellos de ámbito familiar coincidiendo con las temporadas de mayor matanza de jabalí y matanza domiciliaria del cerdo. Se notificaron 29 brotes, con un total de 872 expuestos y 394 casos. El rango anual de brotes se encuentra entre uno y cinco brotes, siendo la mediana de dos brotes anuales [4].

En el año **2002** se notificó un brote en la comarca de la Vera (Cáceres) cuyo agente causal fue *T. britovi* y afectó a 16 personas de los 52 expuestos. Se inició el tratamiento en todos ellos tras el diagnóstico y ninguno desarrolló complicaciones [5].

En el año **2012** se notificaron 23 casos de triquinosis, 10 de ellos confirmados y 13 probables, lo que supuso una tasa de incidencia para ese año de 0,05 casos por 100.000 habitantes en castilla la Mancha y Castilla y León [6].

Debido a la importancia y predominio de la enfermedad, muchos esfuerzos actualmente se centran en la eliminación del nematodo de la cadena alimentaria,

mediante el cumplimiento de las normas sanitarias, control e inspecciones de animales susceptibles y educación al consumidor.

AGENTE ETIOLÓGICO

El agente etiológico de la triquinelosis es el nematodo *Trichinella spiralis*, perteneciente a la familia Trichinellidae que presenta un único género con más de diez especies reconocidas, algunas de las cuales no forman quistes musculares (tabla 1) [1].

Tabla 1. Principales especies de *Trichinella*, área geográfica y hospedadores principales [1]-

ESPECIES	ÁREA GEOGRÁFICA	HOSPEDADORES PRINCIPALES
QUÍSTICAS		
<i>T. spiralis</i> (T6, T8, T9)	Cosmopolita	Cerdos, animales sinantrópicos omnívoros y carnívoros silvestres
<i>T. britovi</i>	Eurasia	Cánidos, omnívoros y carnívoros silvestres
<i>T. nativa</i>	Eurasia, circumpolar	Carnívoros de la tundra y taiga, carnívoros marinos
<i>T. nelsoni</i>	África oriental, sur del Sáhara	Félidos, cánidos y otros carnívoros, omnívoros (suidos)
<i>T. murrelli</i>	Estados Unidos y sur de Canadá	Carnívoros salvajes, osos, caballos.
<i>T. patagoniensis</i> (T12)	Argentina	Pumas
NO QUÍSTICAS		
<i>T. pseudospiralis</i>	Cosmopolita	Aves rapaces, córvidos, mapaches y marsupiales.
<i>T. papuae</i>	Papúa Nueva Guinea, Tailandia	Cerdos salvajes, cocodrilos de agua salada
<i>T. zimbabwensis</i>	Zimbabwe, Mozambique, Etiopía	Cocodrilos del Nilo y varanos

Los **adultos machos** miden aproximadamente 1.2 mm x 60 µm. El extremo anterior presenta papilas cefálicas mientras que la parte posterior lleva un par de papilas cónicas. Un testículo simple está situado a corta distancia del extremo posterior del cuerpo y es donde se une al tubo genital. A diferencia de otros nematodos, no presenta espícula.

Las **hembras** miden unos 2.2 mm x 90 µm. Un ovario único se sitúa en la parte posterior del cuerpo con el oviducto, el receptáculo seminal, el útero y la vagina

formando un canal casi recto hasta la vulva que está situada en la cara ventral del cuerpo.

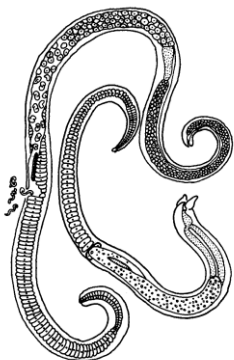


Ilustración 1. Adultos intestinales de *T. spiralis*: hembra y macho

En ambos sexos, la parte anterior del cuerpo está ocupada en gran medida por el esticosoma y por delante de éste, el esófago muscular. El esófago se une al intestino, que es un tubo simple, y delicado, que se extiende hasta el ano o cloaca en los machos. La boca lleva un estilete que puede hacer protusión. Así pues, *T. spiralis*, gracias al tamaño y a la forma de su cuerpo y a sus estructuras bucales, se adapta bien a la vida en el epitelio mucoso de las criptas y vellosidades [7].

La **célula nodriza** es una estructura independiente y especializada que alberga la larva L1 infectante. Durante su formación, *T. spiralis* modula la arquitectura de la célula esquelética, interrumpe el ciclo celular, regula de manera negativa el programa miogénico y ajusta el metabolismo de la célula a sus propios requerimientos. De esta manera, la transforma en una nueva célula que lo alberga y favorece su supervivencia [8, 9].

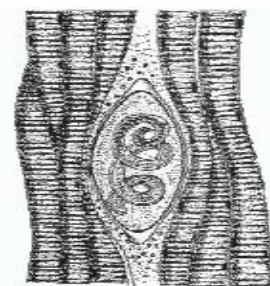


Ilustración 2. Célula nodriza de *T. spiralis*

Posee una cápsula de colágeno (IV y VI) y una red propia de capilares arteriales y venosos para mantener nutrida a la larva [10]. Esta angiogénesis es parecida a la que se produce en tumores, con un aumento de la expresión de Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (VEFG) [11, 12].

La célula nodriza formada es un medio eficaz de evasión de la respuesta inmunitaria, donde la larva permanece viva y puede sobrevivir durante varios años en espera de ser ingerido por otro hospedador. A partir de los 10 meses y si la larva muere, se transforma en un granuloma parasitario con calcificación distrófica posterior [3].

CICLO BIOLÓGICO

El ciclo biológico es directo y enteramente parasitario. Se le conoce como autoheteroxeno, porque un mismo hospedador soporta todas las fases del ciclo: el

intestino como hospedador definitivo; la circulación y el tejido muscular estriado, como hospedador intermediario.

Está sostenido por el hábito depredador, caníbal o carroñero de los hospedadores y consta de tres fases: intestinal, migratoria y muscular (Ilustración 3).

Fase intestinal: La infección comienza cuando el hospedador ingiere quistes de *Trichinella*, y éstos son digeridos por la acción del jugo gástrico. Las larvas liberadas son transportadas pasivamente por el peristaltismo al duodeno final y yeyuno. A continuación, invaden el epitelio mucoso: cada larva se introduce en una columna de enterocitos, que, al fundir sus citoplasmas, forman el sincitio que alberga los estados juveniles preadultos y se desarrollan rápidamente a través de 4 fases larvarias en un período de alrededor 30 horas. En el tercer día p.i., las hembras copulan con los machos de los sincitios contiguos.

Las hembras ponen embriones a partir del quinto día p.i. hasta su agotamiento o expulsión por la respuesta inmune que este estado provoca, al cambiar la respuesta inmunológica a la vía humoral Th2 dependiente.

Fase migratoria: Las larvas recién nacidas (LRN) atraviesan la lámina basal, alcanzando así los capilares mesentéricos que desembocan en los portales y linfáticos de la microvellosidad. Llegan al corazón derecho-pulmones-corazón izquierdo- y por la circulación arterial, alcanzan todo el organismo.

Durante el proceso de migración, las LRN alcanzan diversos órganos, siendo uno de ellos el pulmón donde se produce una respuesta inflamatoria alérgica. Las larvas capaces de evadir el proceso inflamatorio, alcanzarán de nuevo el torrente circulatorio hasta llegar a músculo estriado [13].

Fase muscular: tras la migración, las LRN alcanzan su tejido diana: fibra muscular esquelética. Un receptor específico fija la larva y gracias al impulso mecánico y auxiliada de su estilete bucal, perfora el sarcolema de la fibra, penetrando en el sarcoplasma. La fibra muscular parasitada es transformada en la célula nodriza, donde se mantendrá en espera hasta reiniciar de nuevo el ciclo en otro hospedador [1-3].

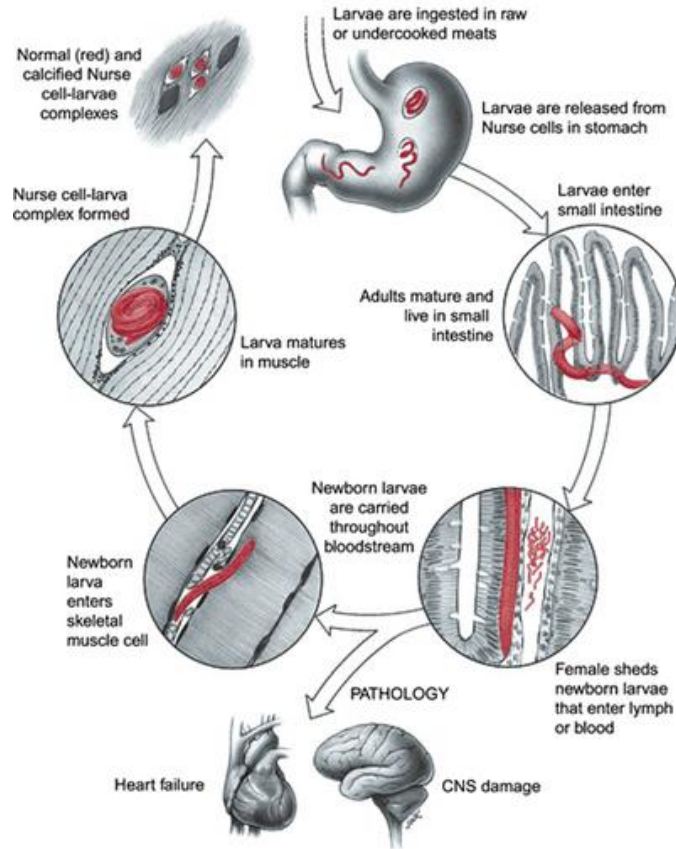


Ilustración 3. Ciclo biológico de *T. spiralis*

OBJETIVOS

Con el presente trabajo se pretende realizar una revisión bibliográfica acerca de la respuesta inmunológica intestinal característica de *T. spiralis*, nematodo gastrointestinal que no sigue el modelo común de respuesta inmune.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se ha realizado una revisión de la literatura científica de los últimos años con el fin de encontrar cuáles son los últimos descubrimientos en cuanto a los mecanismos inmunológicos mediados por *T. spiralis*, nematodo gastrointestinal capaz de desencadenar una repuesta Th1 en la fase intestinal, seguida de un cambio hacia la respuesta Th2 en la fase migratoria y quística.

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Las nematodosis intestinales afectan actualmente a casi un billón de personas, siendo una de las enfermedades infecciosas más prevalentes. Aunque muchas no son mortales, presentan un curso crónico y altos niveles de morbilidad y discapacidad. Su distribución es mundial, afectando más intensamente a las zonas tropicales y subtropicales, donde supone un gran problema sanitario [14].

Las infecciones helmínticas y su correspondiente respuesta inmune, son producto de una evolución a lo largo del tiempo entre el hospedador y el parásito. Los helmintos son agentes infecciosos crónicos que han adquirido medios de adaptación sofisticados con el fin de persistir durante períodos prolongados. La regulación inmune o inmunomodulación parásita es un concepto amplio que incluye supresión y conversión o cambio de la respuesta inmune del hospedador para el propio beneficio del parásito [15-17].

Los modelos murinos de infecciones parasitarias por nematodos constituyen herramientas *in vivo* que permiten comprender cuáles son las bases moleculares y celulares involucradas en la resistencia o susceptibilidad a este tipo de infecciones. La naturaleza exacta de la interacción entre hospedador y patógeno en infecciones por helmintos depende del tipo particular de parásito estudiado. Los cuatro principales modelos de nematodos gastrointestinales (NGI) son *Trichuris muris*, *Trichinella spiralis*, *Heligmosomoides polygyrus* y *Nippostrongylus brasiliensis*. Algunos permanecen dentro de la luz intestinal, mientras que otros forman granulomas como *Heligmosomoides polygyrus*, o invaden células epiteliales formando un sincitio intracelular como *Trichuris muris* o *Trichinella spiralis*. Aunque todos desarrollan un tipo de respuesta inmune común, existen marcadas diferencias en cada uno de ellos [18-22].

Las células T colaboradoras o helper, se dividen fenotípicamente en Th1 y Th2, dando lugar a una respuesta inmunitaria que se diferencia según el patrón de citoquinas existente. El tipo de respuesta desencadenada, determina el desenlace de la infección. Los papeles que desempeñan las células Th1 y Th2 en las infecciones parasitarias se ha estudiado exhaustivamente debido a que los perfiles de las citoquinas producidas son opuestos y poseen regulación cruzada. Por lo tanto diferenciamos:

- **Respuesta de tipo Th1:** característica de patógenos intracelulares y asociada a procesos inflamatorios, que secretan altos niveles de IL-12, IFN- γ y otros mediadores proinflamatorios.

- **Respuesta de tipo Th2:** caracterizada por altos niveles de IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 e IL-21; activación y expansión de células Th2 CD4+ y altos niveles de IgE en plasma, eosinófilos, mastocitos y basófilos. A diferencia de la respuesta Th1, este tipo de respuesta se desencadena frente a patógenos extracelulares [23].

Aunque los medios de inducción de la respuesta Th1 están bien caracterizados, los mecanismos por los cuales se pone en marcha una respuesta de tipo Th2 no se conocen bien. Una hipótesis inicial, sugiere que, a no ser que reciban los estímulos que dan lugar a una respuesta Th1, se producen respuestas de tipo Th2. Sin embargo, investigaciones más recientes sugieren que existen señales específicas que inducen a las células T la producción de citoquinas Th2, incluyendo probablemente interacciones célula-célula [20].

Recientemente se ha descubierto otro tipo de respuesta: **Th3**, asociada con la producción de células T reguladoras (Treg) que mantienen la homeostasia inmunitaria e impide reacciones de autoinmunidad [24, 25].

En los últimos 15 años, muchos de estos estudios han puesto de manifiesto que células Th1 CD4+ que expresan IFN- γ promueven la persistencia, el desarrollo del parásito y la susceptibilidad en el hospedador, mientras que la resistencia corre a cargo de las células Th2 CD4+ y sus citoquinas incluyendo IL-4, IL-9, IL-13, IL-25 e IL-33 [26-28].

Lo que está claro es que la **respuesta asociada a los NGI es de tipo Th2** [15]. La inducción de una respuesta Th2 en el hospedador es una posible estrategia que los nematodos adoptan y que incluso limitan o modifican. Entre las estrategias involucradas en la supresión y/o modulación de la respuesta inmune incluyen la inducción de células Treg y la modificación del fenotipo de macrófagos así como la producción de moléculas que son capaces de interferir con la presentación antigénica, mimetizar citoquinas, destruir quimioatrayentes y desarmar las respuestas efectoras en el hospedador [14].

Diversos estudios epidemiológicos han demostrado que este tipo de regulación inmunitaria está relacionada con una menor incidencia de enfermedades autoinmunes. La ‘‘hipótesis de la higiene’’ propone que el aumento de las alteraciones inmunitarias, incluyendo alergias y enfermedades autoinmunes, se debe a la mejora de la limpieza diaria y ausencia de patógenos frente a los cuales combatir.

Esta hipótesis ha captado interés en numerosas investigaciones acerca del papel que poseen los nematodos en la mitigación de enfermedades autoinmunes. Es decir, su capacidad inmunomoduladora puede ser utilizada como herramienta terapéutica en enfermedades tales como esclerosis múltiple, encefalomiелitis, asma, dermatitis atópica... etc [27, 29- 33].

MECANISMOS INMUNOLÓGICOS IMPLICADOS EN LAS NEMATODOSIS INTESTINALES

Las **células epiteliales intestinales** (IECs) han sido identificadas como potentes iniciadores de la respuesta Th2. La activación de estas células tras la exposición a antígenos helmínticos, es seguida del reclutamiento de células dendríticas y otras células inflamatorias que inician la respuesta inmune [26-28].

Las IECs sintetizan y liberan una serie de proteínas incluyendo **TSLP** (Thymic Stromal Lymphopietin), **IL-25 e IL-33**. La producción de TSLP favorece la activación de la respuesta Th2 a través de la vía $\text{NF}\kappa\beta$. Estudios in vitro sugieren que TSLP bloquea la producción de IL-12 e inhibe la habilidad de las células dendríticas (CDs) para promover la respuesta Th1 proinflamatoria (Ilustración 4) [34, 35].

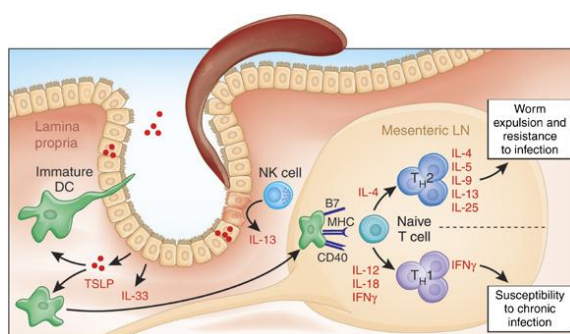


Ilustración 4. Mecanismos inmunológicos tras la infección por NGI [28]

Las interleucinas IL-25 e IL-33 también participan en la inducción de la respuesta tras la infección estimulando la liberación de otras citoquinas tales como IL-4, IL-5 e IL-13 por parte de células Th2, basófilos y mastocitos [26].

La diferenciación hacia una respuesta Th2 está conducida mediante la unión de **IL-4 e IL-13** a su receptor IL-4R α en la superficie de las células T, mediante la vía de activación STAT6. Estas citoquinas actúan sobre las IECs para inducir una variedad de cambios inmunológicos y fisiológicos (tabla 2) que conducen a la expulsión de los nematodos. Activan respuestas dependientes de IL-4R α en numerosas células, incluyendo las células epiteliales intestinales, células caliciformes, células musculares esqueléticas y macrófagos.

Estos cambios fisiológicos se basan en un aumento de la renovación epitelial y contractilidad del músculo liso intestinal, incremento de las secreciones luminales a través de un aumento de la permeabilidad intestinal y sensibilidad a determinados mediadores tales como prostaglandina E2, la cual estimula la secreción de fluido. Todo ello da lugar al desarrollo de un microambiente hostil para el parásito [36,37].

Tabla 2. Cambios inmunológicos y fisiológicos mediados por una respuesta Th2 tras la infección por NGI

CAMBIOS FISIOLÓGICOS	CAMBIOS INMUNOLÓGICOS
Aumento del renovamiento epitelial y contractilidad del musculo liso intestinal	Inducción de células T reguladoras (Treg)
Aumento de la permeabilidad del epitelio intestinal mediado por mastocitosis y MCP-1	Cambio de fenotipo de macrófagos: AAM Φ
Incremento de fluido mediante la secreción de mucus por las células caliciformes	Utilización de cistatinas

La IL-13 induce la diferenciación y maduración de las células caliciformes y expresión de RELM β e **incrementa la renovación celular**. El incremento de recambio de células epiteliales es un efecto directo y específico de la IL-13 producida por las células T y NK, en presencia de la infección. Esto ayuda a eliminar los parásitos que se han fijado

al epitelio y **reduce el área de superficie disponible para la colonización**. En cambio, bajo condiciones de respuesta Th1, el efecto es el contrario (Ilustración 5) [28].

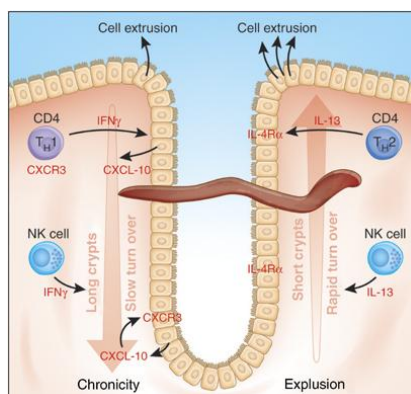


Ilustración 5. Citoquinas y control en la proliferación epitelial intestinal [28].

El **aumento de la permeabilidad** está mediado por diferenciación, maduración y **activación de mastocitos intraepiteliales e inducción de la liberación de MCP-1**. Este proceso también es estimulado por las interleucinas **IL-9, IL-5 y TGF-β**. La MCP-1 es una proteasa mastocitaria (proteasa de células cebadas de mucosa) que altera la integridad del epitelio intestinal dando lugar a un aumento de la permeabilidad y a un incremento de la expulsión de los nematodos [38].

Las **células caliciformes** son células epiteliales especializadas en secretar mucus, péptidos y otras moléculas bioactivas y están muy caracterizadas en la infección por nematodos intestinales. El **mucus creado por estas células forma una barrera física y proporciona una función amortiguadora** en la superficie de las células epiteliales intestinales [28].

Dentro de los cambios inmunológicos se encuentra la inducción de **células T reguladoras (Treg)**. El descubrimiento del mecanismo de inducción de las células T reguladoras, denominadas también células T supresoras, y de cómo estas células moderan las respuestas inmunitarias, constituyen el centro de una intensa actividad investigadora. Parece ser que son las células dendríticas las que polarizan a las células T hacia el fenotipo regulador tras la exposición de extractos parasitarios. Son células que expresan altos niveles de CD4, CD25 y Foxp3. En condiciones normales, las células Tregs regulan la respuesta frente a antígenos exógenos, manteniendo una homeostasia inmunológica y parece ser que tienen un papel fundamental en la inmunomodulación

por parte de los parásitos. Estas células producen citoquinas “down reguladoras”: IL-10 y TGF- β que inhibe la respuesta inflamatoria y protectora Th1 e interfiere con la activación de las células T [16, 39].

El cambio de fenotipo de macrófagos constituye otro mecanismo inmunomodulador: los denominados **macrófagos alternativamente activados (AAM Φ)** [15]. Son activados y reclutados por IL-4, IL-13, IL-10 e IL-21 y se caracterizan por expresar altos niveles de marcadores celulares como arginasa-1, ILR-4 α , receptor de manosa CD206 y la ausencia de expresión de iNOS.

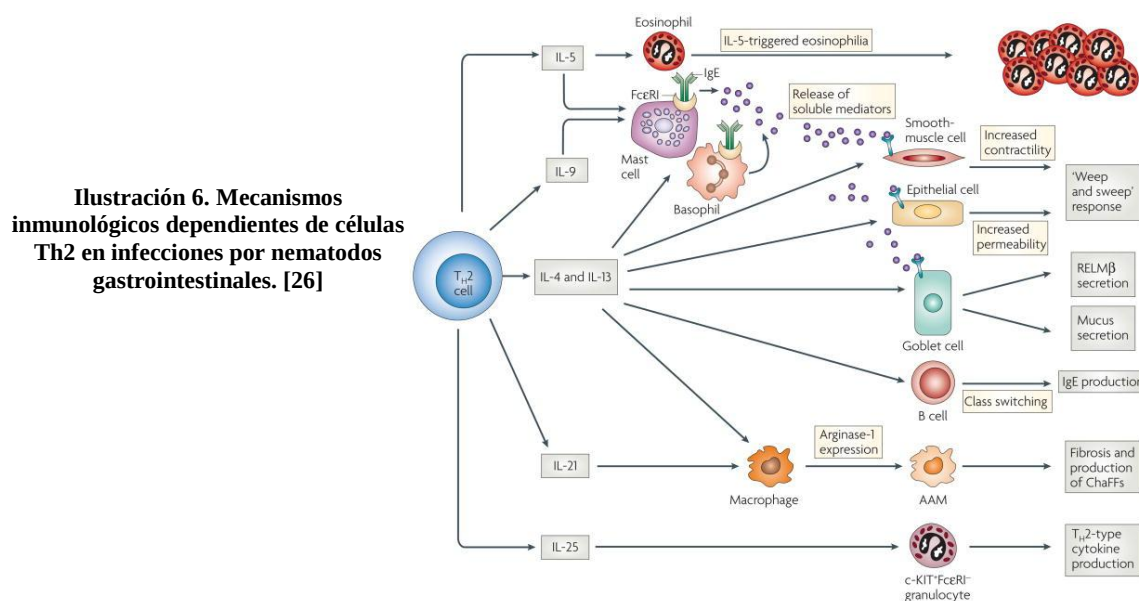
La importancia funcional de AAM Φ está emergiendo y su importancia radica en:

- Su papel inmunorregulador y supresión de la respuesta inflamatoria
- Actúan como células efectoras y de reparación tisular tras la invasión [15,16].

Además actúan mediante la unión a chitinas, diferentes proteínas expresadas por helmintos. La chintinasa y fizz family member proteins (ChaFFs) están involucradas en muchas funciones que contribuyen a la resistencia a los nematodos, incluyendo actividad enzimática entre otras, que dañan al parásito y promueven la respuesta de tipo TH2. Algunos ejemplos de ChaFFs son AMCase, Ym1, RELM α , RELM β , RELM γ [26, 40].

La **presencia de IgE y de eosinofilia** constituye el sello característico de la respuesta inmunitaria frente a las infecciones por helmintos y depende de las citoquinas secretadas por las células Th2. Tras la infección helmíntica, la IL-5 activa y recluta eosinófilos de manera rápida en la sangre y éstos migran al sitio de la infección donde se degranulan y liberan una serie de proteínas con efectos directos citotóxicos (ESGPs). Además, los eosinófilos portan receptores Fc para IgG y pueden desplegar citotoxicidad mediada por célula dependiente de anticuerpos. Otro efecto de los eosinófilos y sus proteínas es el remodelamiento de la herida y la eliminación de residuos tras la infección por lo que media la reparación tisular tras la invasión [26].

Otro recurso que utilizan los NGI es **la utilización de las cistatinas** con el fin de impedir el procesamiento antigénico. Las cistatinas son inhibidores reversibles de cisteín proteasas. Son moléculas involucradas en varios procesos biológicos y patológicos. Referente al sistema inmune, modulan la actividad de las catepsinas y la presentación antigénica. Inducen TNF- α , síntesis de IL-10 y estimulan la producción de IFN- γ . Las cistatinas aisladas de nematodos tienen propiedades inmunomoduladoras [41].



RESPUESTA INMUNE DURANTE LA INFECCIÓN DE *Trichinella spiralis*

La respuesta inmune llevada a cabo durante la fase intestinal de *T. spiralis* constituye un paradigma, y es esencial para su supervivencia a fin de completar el ciclo en el hospedador. Durante los diferentes estados del ciclo de vida de *T. spiralis*, éste interactúa con el sistema inmune con el fin de **evadir o limitar la respuesta inmune** a través de la liberación de un serie de proteínas en su entorno, las cuales son consideradas cruciales para la invasión y supervivencia en el interior del hospedador.

A diferencia de los demás nematodos gastrointestinales, *T. spiralis* no sigue el modelo común de respuesta inmune Th2, ya que necesita permanecer en el intestino durante un tiempo determinado para completar la formación de larvas y así poder continuar el ciclo. Este nematodo forma un sincitio intracelular en el epitelio intestinal por lo que los mecanismos de inducción de la respuesta inmune son a priori diferentes.

Tras su entrada, se produce el **desarrollo de una respuesta de tipo Th1** para permitir el desarrollo de los adultos y producción de larvas. Una vez finalizada la liberación de larvas y tras ponerse en marcha la fase migratoria, se produce un cambio en la respuesta inmune hacia la respuesta Th2 que pondrá fin a la fase intestinal y la expulsión de los adultos del intestino [42].

La **IL-12**, citoquina característica de la respuesta Th1, contrarresta los efectos de la respuesta Th2 en el comienzo de la infección, retrasando la expulsión de los parásitos y aumentando la carga muscular a través de una vía dependiente de IFN- γ . También suprime la hiperplasia de células caliciformes y disminución de IL-13 [43]. Mediante una vía independiente de IFN- γ esta interleucina actúa a varios niveles: impide la expulsión de los nematodos, favorece la cópula entre machos y hembras, suprime la eosinofilia intestinal, así como la supresión de la síntesis de IL-10 e IL-4 [44].

Otra característica es la presencia de **células Th17** acompañada del aumento de la interleucina proinflamatoria IL-17. TGF- β e IL-23 parecen contribuir en la diferenciación hacia Th17 durante la fase aguda [45].

Además, la **IL-18** actúa negativamente en la respuesta mastocitaria inhibiendo su desarrollo, y quizás promueva la supervivencia del parásito *in vivo*. Los ratones IL-18 KO, se vuelven más resistentes a la infección, expulsan los nematodos más rápido y como consecuencia, disminuye la carga de larvas en músculo. El aumento de la velocidad de expulsión de los adultos está relacionada con el aumento del número de mastocitos así como el aumento en la producción de IL-13 e IL-10 [46].

Durante el proceso de transformación de los **diferentes estados del ciclo de vida de *T. spiralis*** se liberan una serie de productos de excreción-secreción (TsES) involucrados a diferentes niveles:

- Modulan la respuesta inmune para su propio beneficio
- Reducen la inflamación producida por la invasión de las larvas en el músculo esquelético
- Participan en el proceso biológico de remodelación de la célula hospedadora que se transformará en célula nodriza

- Además, tras la invasión muscular, los productos ES permanecen en el organismo actuando como antígenos y/o como inmunomoduladores frente a terceros antígenos.

Estos productos de ES han sido caracterizados como cistatinas, serpinas, glicanos, mucinas, lecitinas u homólogos de citoquinas que **influyen en el procesamiento antigénico, presentación y la consecuente polarización de respuesta inmune** [47].

Las **células dendríticas** juegan un papel importante en la evasión de la respuesta inmune durante la infección de *T. spiralis*. Los TsES poseen un efecto sobre la funcionalidad de las CDs y con ello activación de células T. Tras la exposición de los antígenos de los diferentes estados del ciclo de *T. spiralis*, las CDs no desarrollan una maduración completa: inducen la expresión de diferentes marcadores celulares pero no de todos. A pesar del hecho de que las CDs adquieren un estado de maduración incompleto, su estado activo se refleja porque tienen la capacidad de presentar antígenos a las células T y producir diferente patrón de citoquinas.

Varios estudios ponen de manifiesto que los productos ES de *T. spiralis* (TsES) suprimen la maduración de CD estimuladas por la forma S del LPS de *E. coli* pero no la forma R de *N. meningitidis*. El efecto supresor de estos productos en la maduración de las CDs está restringido a TLR4 e interfieren con la expresión de numerosos genes relacionados con esta vía de transducción [43, 47].

Uno de los mecanismos de evasión más evidentes es la **expansión funcional de las células Treg** in vitro. La presencia de TsES in vitro da lugar a la expansión de células CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ (Treg). Estas células poseen un efecto supresor y liberan TGF- β con efecto antiinflamatorio [47].

Se ha demostrado que los cambios en las cinéticas de permeabilidad poseen paralelismo con las cinéticas de expulsión de NGI. La pérdida de integridad del epitelio intestinal mediada por una serie de proteasas, aumenta la permeabilidad durante la infección. Este cambio en la permeabilidad, crea un ambiente hostil para el parásito y favorece la expulsión acelerada de los adultos del intestino y se refleja porque el epitelio se vuelve opaco, amarillento y lleno de fluido. **Este proceso está mediado por el desarrollo de mastocitosis y liberación de MCP-1** [48, 49].

La hiperplasia de mastocitos o mastocitosis es crucial en la expulsión de *T. spiralis* del intestino. Los mastocitos expresan una gran variedad de moléculas efectoras incluyendo proteasas que actúan a nivel de las uniones estrechas intraepiteliales [50]. Una de las proteasas expresadas en los mastocitos intraepiteliales es la MCP-1. Esta proteasa, cuyos niveles en suero están aumentados tras la infección por *T. spiralis*, actúa indirectamente mediante la interrupción de la síntesis de ocludina (proteína transmembranal que mantiene las uniones intraepiteliales), probablemente interfiriendo con la ubiquitinación. La disociación de la ocludina de los enterocitos da como resultado un aumento de la permeabilidad y con ello, el desarrollo de un ambiente hostil para el parásito [48].

Además, en ratones mMCP-1 KO dio como resultado una expulsión decelerada de los nematodos y con ello, el aumento de la carga de larvas en músculo, por lo que demuestra que es MCP-1 es esencial para llevar a cabo la expulsión de los adultos [51, 52].

Numerosas citoquinas poseen un posible papel inmunológico frente a *Trichinella* durante la fase intestinal: IL-13, IL-4, IL-10 e IL-9.

Las **interleucinas IL-13 e IL-4** además de estimular la síntesis de IgE, de mastocitos y basófilos, actúan a través de la unión de IL-4R α y son las responsables de crear un ambiente hostil para el adulto y favorecer la expulsión para poner fin a la fase intestinal [43]. Los resultados de un estudio ponen de manifiesto que los infiltrados de células T en la mucosa producen IL-4 e IL-13 que actúan a diferentes niveles:

- Incrementan la contractilidad a través de la vía STAT6
- Incrementan la afinidad de los receptores muscarínicos a través de vías dependientes/independientes de STAT6
- Inducen hipertrofia muscular, probablemente vía inducción TGF- β [36].

La **IL-10** es necesaria para una respuesta intestinal fructífera como demuestran estudios en ratones IL-10 KO. El estudio resultó en una mayor susceptibilidad frente a una infección por *Trichinella*, retrasando la expulsión de los mismos y un aumento de la carga muscular. Esta interleucina limita la inflamación, suprimiendo los niveles de IFN-

γ y previniendo la producción de iNOS por células reclutadas en el sitio de la infección [43]. Además, durante la fase muscular donde *T. spiralis* forma un nicho intracelular, la IL-10 junto con TGF- β suprime la respuesta Th1, limitando la inflamación aguda en el músculo. La supresión de esta respuesta por IL-10 refleja otra adaptación biológica que limita los mecanismos de destrucción intracelular durante la fase muscular [53-56].

La **IL-9** parece ser que favorece el desarrollo de mastocitosis [19].

En el caso de **IL-5**, la expresión del gen que codifica la IL-5 durante la infección aumenta y es acompañado de eosinofilia intestinal. Los resultados de un estudio demuestran que la IL-5 es importante en el desarrollo de eosinofilia intestinal y contribuye, pero no es esencial, para desarrollar hipercontractilidad [57].

A diferencia de *Heligmosomoides polygyrus* y *Nippostrongylus brasiliensis* en los que la proteína **REL μ** contribuye la expulsión de los mismos, no es así en el caso de *T. spiralis*, debido probablemente a la diferencia de localización en el intestino [17].

T. spiralis **inhibe la expresión de iNOS-2 y con ello, la formación de NO** a través de vía dependiente IL4-R α /STAT6 [58]. El óxido nítrico (NO) es una molécula efectora que actúa restringiendo el crecimiento de bacterias, hongos, helmintos, y protozoos en hospedadores infectados. Sin embargo, la producción excesiva de NO está involucrado en numerosas condiciones patológicas jugando un papel importante en la Diabetes Mellitus, enfermedad inflamatoria intestinal, y otras como artritis reumatoide [59].

Además, la presencia de antígenos estado-específicos constituye **una evasión antígeno dependiente**. Los anticuerpos específicos frente a antígenos de los adultos no se unen a los antígenos de las LRN durante la fase migratoria. De hecho, los anticuerpos específicos frente a las LRN aparecen en la 4ª semana p.i., cuando el parásito ya se ha establecido en la célula nodriza y de esta manera no puede ser atacado [43].

INMUNOMODULACIÓN Y POSIBLE UTILIZACIÓN DE *T. spiralis* O SUS PRODUCTOS EN EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES AUTOINMUNES

T. spiralis establece una infección crónica y para ello utiliza una serie de mecanismos de evasión y supresión de la respuesta inmune con el fin de persistir y garantizar su supervivencia en el hospedador [42].

Los productos de ES (TsES) participan en estos mecanismos y actualmente están siendo estudiados como potentes inmunomoduladores en numerosas enfermedades autoinmunes. Durante la infección, el desarrollo de células Treg y respuesta Th2 da como resultado el freno de la respuesta Th1 excesiva y característica de enfermedades autoinmunes crónicas tales como colitis, encefalomiелitis autoinmune, Diabetes tipo I, alergias...etc. (Ilustración 7) [43].

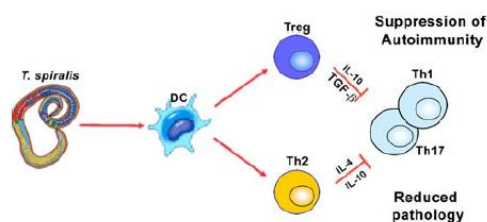


Ilustración 7. Inmunomodulación de *T. spiralis* y posible utilización terapéutica [42].

En el caso de *T. spiralis*, se ha estudiado su uso en colitis, encefalomiелitis autoinmune, alergias y sepsis polimicrobial, entre otras (Tabla 3).

La **colitis** es una enfermedad autoinmune asociada con la producción de IFN- γ e IL-17. Estudio sobre la actividad de los TsES en células dendríticas, resultan en la polarización de una respuesta mixta Th1/Th2 con la predominancia Th2. Las CDs en este caso impulsan la síntesis y liberación de mediadores antiinflamatorios tales como IL-19 y TGF- β así como la síntesis de células Treg con la consecuente mejoría de las manifestaciones y parámetros inflamatorios característicos de la enfermedad [60, 61].

Los antígenos L1 mejora los síntomas de la **enfalomiелitis autoinmune**. Dicha enfermedad cursa con inflamación y desmielinización del sistema nervioso central mediada por células Th1 frente a la mielina así como el fenotipo Th17. Algunos estudios indican que la estimulación de CDs con antígenos ES de la larva L1 incrementa la producción de citoquinas antiinflamatorias (IL-4, TGF- β , IL-10) mientras que disminuye la producción de IL-17 e IFN- γ . Además, se vio acompañado de un aumento de las células Treg que junto con las citoquinas antiinflamatorias contribuyó a la mejoría de la enfermedad [62, 63].

Se ha investigado el efecto de TsES en modelos de ratón con **sepsis polimicrobial**. Se ha observado que el tratamiento con TsES en ratones con sepsis polimicrobial inducida reduce la mortalidad y disminuye el daño producido en los órganos. Se reducen los niveles de numerosas citoquinas inflamatorias (TNF- β e IL-6) y aumenta citoquinas antiinflamatorias tales como IL-10 Y TGF- β . Los TsES son potentes ligandos del receptor de manosa MR. El mecanismo de acción está mediado por la inhibición de MyD88 (proteína que media la ruta activada por TLR) y nF κ β mediante una vía dependiente de MR. Éste, es expresado en varias células innatas como MCFs, CDs y varias células epiteliales, y media numerosos procesos como endocitosis, fagocitosis, activación de macrófagos y CD. [64]

Tabla 3. Utilización de TsES como herramienta terapéutica en enfermedades autoinmunes.

ENFERMEDAD AUTOINMUNE	EFEECTO	MECANISMO	Referencias
Colitis	Mejoría	Inducción de respuesta Th2 con producción de IL-10 y TGF- β Inducción de Tregs	[60, 61]
Enfermedad autoinmune	Mejoría		[62, 63]
Alergia	Mejoría		[65]
Sepsis polimicrobial	Aumento de supervivencia y reducción de daños en órganos	Inhibición de MyD88 y nF- κ β (vía dependiente de MR)	[64]

CONCLUSIONES

Trichinella spiralis es un nematodo gastrointestinal que desarrolla una enfermedad crónica mediante el establecimiento de mecanismos de supresión y evasión de la respuesta inmune. La respuesta inmune característica de los NGI es de tipo Th2, en cambio, en *T. spiralis*, debido a su localización intracelular en el intestino, desarrolla una respuesta Th1 en la fase intestinal y una vez finalizada, produce un cambio hacia la respuesta Th2.

Las enfermedades autoinmunes se caracterizan por la exacerbación de determinadas respuestas inmunológicas en el individuo. Las respuestas Th1 y Th17 son las responsables de la progresión y severidad de dichas enfermedades.

Las últimas evidencias epidemiológicas proponen que existe una relación inversa entre las enfermedades autoinmunes o enfermedades alérgicas y las infecciones helmínticas. Desde entonces, un número significativo de estudios han proporcionado un gran apoyo con evidencias de que ciertos helmintos o sus productos podrían ser beneficiosos al actuar como potentes inmunomoduladores.

En el caso concreto de *Trichinella spiralis*, se ha visto en modelos animales que mejora el resultado de algunas enfermedades como colitis ulcerosa, encefalomiелitis autoinmune o sepsis polimicrobial, pero son necesarias muchas investigaciones para comprender los mecanismos inmunológicos y así poder desarrollar tratamientos con el fin de mejorar este tipo de patologías.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Gottstein B, Pozio E, Nöckler K Epidemiology, diagnosis, treatment, and control of Trichinellosis. Clin Microbiol Rev. 2009 Jan;22(1):127-45
- [2] Ch. Beaver; R.C. Jung; E.W. Cupp Craig Faust. Parasitología clínica, MASSON EDITORES, 2003
- [3] Edoardo Pozio. World distribution of *Trichinella* spp. Infections in animals and humans. Vet Parasitol. 2007 Oct 21;149(1-2):3-21. Epub 2007 Aug 6
- [4] A. Martín Granado, EV. Martínez Sánchez, MC. Valera Martínez, LP. Sánchez Serrano, P. Ordóñez Banegas, A. Torres Frías, A. Díaz García, G. Hernández Pezzi. Vigilancia epidemiológica de brotes de triquinosis en España. Temporadas 1994/1995 a 2005/2006. 2007 vol. 15 nº 4/37-48 ISSN: 1135: 6286
- [5] J. Herráez García, L. A. León García, C. Lanusse Senderos, M. Cortés Blanco, A. García Cabañas. Brote de triquinosis en La Comarca de la Vera (Cáceres) causado por *T. britovi*. AN. MED. INTERNA (Madrid) Vol. 20, N.º 2, pp. 63-66, 2003

- [6] Centro Nacional de Epidemiología. Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual 2012. Madrid, 2014.
- [7] Cordero del Campillo M, Rojo- Vázquez FA editores. Parasitología veterinaria. Ed. Interamericana-McGraw Hill; 1999. CL
- [8] Goutam Patra, Saikat Sarkar. Nurse cell Biology of *Trichinella spiralis*. International Journal of Advancements in Research & Technology, Volume 3, Issue 4, April-2014 133 ISSN 2278-7763
- [9] Zhiliang Wu, Lj Sofronic-Milosavljevic, [...], and Yuzo Takahashi *Trichinella spiralis*: nurse cell formation with emphasis on analogy to muscle cell repair Parasit Vectors, 2008; 1:27
- [10] Polvere RI, Kabbash CA, Capó VA, Kadan I, Despommier DD. *Trichinella spiralis*: synthesis of type IV and type VI collagen during nurse cell formation. Exp Parasitol. 1997 Jul;86(3):191-9
- [11] Kang YJ, Jo JO, Cho MK, Yu HS, Ock MS, Cha HJ. *Trichinella spiralis* infection induces angiogenic factor thymosin β 4 expression. Vet Parasitol. 2011 Sep 27;181(2-4):222-8. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.03.058. Epub 2011 Apr 12.
- [12] Capó VA, Despommier DD, Polvere RI. *Trichinella spiralis*: vascular endothelial growth factor is up-regulated within the nurse cell during the early phase of its formation.J Parasitol. 1998 Apr;84(2):209-14.
- [13] Gentilini MV, Nuñez GG, Roux ME, Venturiello SM. *Trichinella spiralis* infection rapidly induces lung inflammatory response: the lung as the site of helminthocytotoxic activity. Immunobiology. 2011 Sep;216(9):1054-63. doi: 10.1016/j.imbio.2011.02.002. Epub 2011 Feb 23.
- [14] Maizels RM, Yazdanbakhsh M. Immune regulation by helminth parasites: cellular and molecular mechanisms. Nat Rev Immunol. 2003 Sep;3(9):733-44
- [15] Maizels RM, Balic A, Gomez-Escobar N, Nair M, Taylor MD, Allen JE. Helminth parasites-masters of regulation. Immunol Rev. 2004 Oct;201:89-116
- [16] Else KJ. Have gastrointestinal nematodes outwitted the immune system? Parasite Immunol. 2005 Oct-Nov;27(10-11):407-15.
- [17] Rick M. Maizels, Edward J. Pearce, David Artis,, Maria Yazdanbakhsh, and Thomas A. Wynn Regulation of pathogenesis and immunity in helminth infections j. Exp. Med. Vol 2016 No. 10 2059-2066
- [18] Zaph C, Cooper PJ, Harris NL. Mucosal immune responses following intestinal nematode infection.Parasite Immunol. 2014 Sep;36(9):439-52. doi: 10.1111/pim.12090.
- [19] Grencis RK. Th2-mediated host protective immunity to intestinal nematode infections. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 1997 Sep 29;352(1359):1377-84.
- [20] Gause WC, Urban JF Jr, Stadecker MJ. The immune response to parasitic helminths: insights from murine models. Trends Immunol. 2003 May;24(5):269-77.
- [21] Maizels RM, Hewitson JP, Smith KA. Susceptibility and immunity to helminth parasites. Curr Opin Immunol. 2012 Aug;24(4):459-66. doi: 10.1016/j.coi.2012.06.003. Epub 2012 Jul 12.
- [22] MacDonald AS, Araujo MI, Pearce EJ. Immunology of parasitic helminth infections. Infect Immun. 2002 Feb;70(2):427-33.
- [23] Thomas J. Kindt, Richard A. Goldsby, Barbara A. Osborne, Janis Kuby. Kuby Immunology W. H. Freeman, 2007
- [24] Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. Nat Rev Immunol. 2003 Apr;3(4):331-41.
- [25] Grainger JR, Smith KA, Hewitson JP, McSorley HJ, Hargus Y, Filbey KJ, Finney CA, Greenwood EJ, Knox DP, Wilson MS, Belkaid Y, Rudensky AY, Maizels RM. Helminth secretions induce de novo T cell Foxp3 expression and regulatory function through the TGF- β pathway. J Exp Med. 2010 Oct 25;207(11):2331-41. doi: 10.1084/jem.20101074. Epub 2010 Sep 27.
- [26] Robert M. Anthony, Laura I. Rutitzky, [...], and William C. Gaus Protective immune mechanisms in helminth infection Nat Rel Immunol. 2007 Dec; 7(12): 975-987
- [27] Henry J. McSorley and Rick M. Maizel Helminth Infections and Host Immune Regulation. Clin Microbiol Rev. 2012 Oct; 25(4) 585-608
- [28] Artis D, Grencis RK. The intestinal epithelium: sensors to effectors in nematode infection. Mucosal Immunol. 2008 Jul;1(4):252-64. doi: 10.1038/mi.2008.21. Epub 2008 May 13.

- [29] Osada Y, Kanazawa T. Parasitic helminths: new weapons against immunological disorders. J Biomed Biotechnol. 2010;2010:743758. doi: 10.1155/2010/743758. Epub 2010 Feb 10.
- [30] McSorley HJ, Hewitson JP, Maizels RM. Immunomodulation by helminth parasites: defining mechanisms and mediators. Int J Parasitol. 2013 Mar;43(3-4):301-10. doi: 10.1016/j.ijpara.2012.11.011. Epub 2013 Jan 3.
- [31] Maizels RM, Hewitson JP, Murray J, Hargus YM, Dayer B, Filbey KJ, Grainger JR, McSorley HJ, Reynolds LA, Smith KA. Immune modulation and modulators in *Heligmosomoides polygyrus* infection. Exp Parasitol. 2012 Sep;132(1):76-89. doi: 10.1016/j.exppara.2011.08.011. Epub 2011 Aug 22.
- [32] Weinstock JV, Elliott DE. Helminths and the IBD hygiene hypothesis. Inflamm Bowel Dis. 2009 Jan;15(1):128-33. doi: 10.1002/ibd.20633.
- [33] J. O. Fleming. Helminth therapy and multiple sclerosis. International Journal for Parasitology 43 (2013) 259-274
- [34] Humphreys NE, Xu D, Hepworth MR, Liew FY, Grecis RK. IL-33, a potent inducer of adaptive immunity to intestinal nematodes. J Immunol. 2008 Feb 15;180(4):2443-9.
- [35] Ziegler SF, Roan F, Bell BD, Stoklasek TA, Kitajima M, Han H. The biology of thymic stromal lymphopoietin (TSLP). Adv Pharmacol. 2013;66:129-55. doi: 10.1016/B978-0-12-404717-4.00004-4.
- [36] Akiho H, Blennerhassett P, Deng Y, Collins SM. Role of IL-4, IL-13, and STAT6 in inflammation-induced hypercontractility of murine smooth muscle cells. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2002 Feb;282(2):G226-32.
- [37] Madden KB, Yeung KA, Zhao A, Gause WC, Finkelman FD, Katona IM, Urban JF Jr, Shea-Donohue T. Enteric nematodes induce stereotypic STAT6-dependent alterations in intestinal epithelial cell function. J Immunol. 2004 May 1;172(9):5616-21.
- [38] Pennock JL, Grecis RK. The mast cell and gut nematodes: damage and defence. Chem Immunol Allergy. 2006;90:128-40.
- [39] Maldonado RA, von Andrian UH. How tolerogenic dendritic cells induce regulatory T cells. Adv Immunol. 2010;108:111-65. doi: 10.1016/B978-0-12-380995-7.00004-5.
- [40] David Artis, Mei Lun Wang, Sue A. Keilbaugh, Weimian He, Mario Brenes, Gary P. Swain, Pamela A. Knight, Deborah D. Donaldson, Mitchell A. Lazar, Hugh R. P. Miller, Gerhard A. Schad, Phillip Scott, and Gary D. Wu. RELM β /FIZZ2 is a goblet cell-specific immune-effector molecule in the gastrointestinal tract. Proc Natl Acad Sci U S A. 2004 Sep 14; 101(37): 13596–13600
- [41] Vray B, Hartmann S, Hoebeke J. Immunomodulatory properties of cystatins. Cell Mol Life Sci. 2002 Sep;59(9):1503-12.
- [42] Ilic N, Gruden-Movsesijan A, Sofronic-Milosavljevic L. *Trichinella spiralis*: shaping the immune response. Immunol Res. 2012 Apr;52(1-2):111-9. doi: 10.1007/s12026-012-8287-5.
- [43] Bruschi F, Chiumiento L. Immunomodulation in trichinellosis: does *Trichinella* really escape the host immune system? Endocr Metab Immune Disord Drug Targets. 2012 Mar;12(1):4-15.
- [44] Helmbj H, Grecis RK. IFN-gamma-independent effects of IL-12 during intestinal nematode infection. J Immunol. 2003 Oct 1;171(7):3691-6.
- [45] Fu Y1, Wang W, Tong J, Pan Q, Long Y, Qian W, Hou X. Th17: a new participant in gut dysfunction in mice infected with *Trichinella spiralis*. Mediators Inflamm. 2009;2009:517052. doi: 10.1155/2009/517052. Epub 2009 Nov 18.
- [46] Helena Helmbj and Richard K. Grecis. IL-18 Regulates intestinal mastocytosis and Th2 cytokine Production Independently of IFN- During *Trichinella spiralis* Infection J Immunol 2002; 169:2553-2560; doi: 10.4049/jimmunol.169.5.2553
- [47] Aranzamendi C, Fransen F, Langelaar M, Franssen F, van der Ley P, van Putten JP, Rutten V, Pinelli E *Trichinella spiralis*-secreted products modulate DC functionality and expand regulatory T cells in vitro. Parasite Immunol. 2012 Apr;34(4):210-23. doi: 10.1111/j.1365-3024.2012.01353.x.
- [48] Jacqueline R. McDermott, Ruth E. Bartram, Pamela A. Knight, Hugh R. P. Miller, David R. Garrod, and Richard K. Grecis Mast cells disrupt epithelial barrier function during enteric nematode infection. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003 Jun 24; 100(13): 7761–7766.
- [49] Gustowska L, Ruitenber EJ, Elgersma A, Kociecka W. Increase of mucosal mast cells in the jejunum of patients infected with *Trichinella spiralis*. Int Arch Allergy Appl Immunol. 1983;71(4):304-8.

- [50] Zaph C, Cooper PJ, Harris NL. Mucosal immune responses following intestinal nematode infection. *Parasite Immunol.* 2014 Sep;36(9):439-52. doi: 10.1111/pim.12090.
- [51] Pamela A. Knight, Steven H. Wright, Catherine E. Lawrence, Yvonne Y.W. Paterson, and Hugh R.P. Miller Delayed Expulsion of the Nematode *Trichinella spiralis* In Mice Lacking the Mucosal Mast Cell–Specific Granule Chymase, Mouse Mast Cell Protease-1
- [52] Ha TY, Reed ND, Crowle PK. Delayed expulsion of adult *Trichinella spiralis* by mast cell-deficient W/W^v mice. *Infect Immun.* 1983 Jul;41(1):445-7.
- [53] Beiting DP, Gagliardo LF, Hesse M, Bliss SK, Meskill D, Appleton JA. Coordinated control of immunity to muscle stage *Trichinella spiralis* by IL-10, regulatory T cells, and TGF-beta. *J Immunol.* 2007 Jan 15;178(2):1039-47.
- [54] Bruschi F, Chiumiento L. *Trichinella* inflammatory myopathy: host or parasite strategy? *Parasit Vectors.* 2011 Mar 23;4:42. doi: 10.1186/1756-3305-4-42.
- [55] Beiting DP, Bliss SK, Schlafer DH, Roberts VL, Appleton JA. Interleukin-10 limits local and body cavity inflammation during infection with muscle-stage *Trichinella spiralis*. *Infect Immun.* 2004 Jun;72(6):3129-37.
- [56] M.V. Fabre, D.P. Beiting, S.K. Bliss, and J.A. Appleton Immunity to *Trichinella spiralis* muscle infection *Vet Parasitol.* 2009 Feb 23; 159(3-4): 245–248.
- [57] Vallance BA, Blennerhassett PA, Deng Y, Matthaei KI, Young IG, Collins SM. IL-5 contributes to worm expulsion and muscle hypercontractility in a primary *T. spiralis* infection. *Am J Physiol.* 1999 Aug;277(2 Pt 1):G400-8.
- [58] Ka Bian, Meng Zhong, Yael Harari, Mildred Lai, Norman Weisbrodt and Ferid Murad Helminth regulation of host IL-4Rα/Stat6 signaling: Mechanism underlying NOS-2 inhibition by *Trichinella spiralis* 3936-3941 March 15, 2005. Vol 102 no.11
- [59] Catherine E. Lawrence, Jacqueline C. M. Paterson, Xiao-Qing Wei, Foo Y. Liew, Paul Garside, and Malcolm W. Kennedy Nitric oxide mediates intestinal pathology but not immune expulsion during *Trichinella spiralis* Infection in Mice1
- [60] Yang X, Yang Y, Wang Y, et al. Excretory/Secretory Products from *Trichinella spiralis* adult worms ameliorate DSS-induced colitis in mice. 2014;9(5):e96454. doi:10.1371/journal.pone.0096454.
- [61] Khan WI, Blennerhasset PA, Varghese AK, Chowdhury SK, Omsted P, Deng Y, Collins SM. Intestinal nematode infection ameliorates experimental colitis in mice. *Infect Immun.* 2002 Nov;70(11):5931-7.
- [62] Lj. Sofronic-Milosavljevic, I. Radovic, N. Ilic, I. Majstorovic, J. Cvetkovic, A. Gruden-Movsesijan Application of dendritic cells stimulated with *Trichinella spiralis* excretory–secretory antigens alleviates experimental autoimmune encephalomyelitis. *Med Microbiol Immunol.* 2013 Jun;202(3):239-49. doi: 10.1007/s00430-012-0286-6. Epub 2013 Jan 11
- [63] Gruden-Movsesijan A1, Ilic N, Mostarica-Stojkovic M, Stosic-Grujicic S, Milic M, Sofronic-Milosavljevic Lj. *Trichinella spiralis*: modulation of experimental autoimmune encephalomyelitis in DA rats. *Exp Parasitol.* 2008 Apr;118(4):641-7. doi: 10.1016/j.exppara.2007.12.003. Epub 2008 Jan 28.
- [64] Linlin Du, Lihua Liu, Yang Yu, Hui Shan, and Leiqing Li, “*Trichinella spiralis* Excretory-Secretory products protect against polymicrobial sepsis by suppressing MyD88 via mannose receptor,” *BioMed Research International*, vol. 2014, Article ID 898646, 11 pages, 2014. doi:10.1155/2014/898646
- [65] Park HK, Cho MK, Choi SH, Kim YS, Yu HS. *Trichinella spiralis*: infection reduces airway allergic inflammation in mice. *Exp Parasitol.* 2011 Feb;127(2):539-44. doi: 10.1016/j.exppara.2010.10.004. Epub 2010 Oct 30.