



**FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

TRABAJO DE FIN DE GRADO

PAPEL DE LINFOCITOS $\gamma\delta$ EN HELMINTOSIS PARASITARIAS

Autor: BELÉN MINUE CID

Tutor: MARIA DEL CARMEN CUÉLLAR DEL HOYO

Convocatoria: Febrero

1. RESUMEN

Los linfocitos $T\gamma\delta$ son un tipo de linfocitos T cuya característica principal es la capacidad de respuesta amplia y rápida (debido a que no necesitan procesamiento antigénico), por lo que se les atribuye un papel fundamental en la inmunidad innata o inespecífica. Durante la inflamación infecciosa estos linfocitos se convierten en efectores y reguladores ejerciendo su papel inmunoprotector y reparando el tejido asociado. Se ha estudiado su papel en helmintosis parasitarias, observándose que, aunque no haya una clara relación entre el papel protector de estos linfocitos $T\gamma\delta$ y todas las helmintosis parasitarias, sí se puede afirmar que en muchas de ellas tienen un papel fundamental en la expulsión de larvas y gusanos y que en muchas ocasiones la acción de los linfocitos $T\gamma\delta$ precede a la activación de los $\alpha\beta$ (los linfocitos T más conocidos).

Además, las células T reguladoras, en las cuales se engloban estos linfocitos, pueden estar implicadas en el desarrollo de tumores, enfermedades autoinmunes e infecciosas, aunque no en la cronicidad de las mismas.

Abstract

$\gamma\delta$ T cells are a kind of T cells whose main characteristic, is their wide and fast (since they don't need antigen processing) answer capacity, and that is why they have this important role in non-specific immunity. During infectious inflammation these cells have effective and regulating functions and they play their protective role and they can even repair damaged tissue. Their function is widely studied in infections caused by helminthes. And, even though there is no clear relation between its protective role and all these parasites infections, it can be stated that in a lot of these infections $\gamma\delta$ T cells have a fundamental role in worm expulsion and in a lot of cases the action of these cells precede the action of $\alpha\beta$ T cells (the most known ones).

In addition, T cells, which $\gamma\delta$ T cells belong to, can be related with tumor development and autoimmune and infectious diseases, even though they cannot be related with these diseases' chronicity.

2. INTRODUCCIÓN

Este trabajo es el resultado de una revisión bibliográfica de la literatura en la que se analizan las características de los linfocitos T $\gamma\delta$ y las funciones que éstos desempeñan frente a una infección causada por un helminto.

Para ello se revisó la base de datos de Pubmed empleando la siguiente estrategia de búsqueda: gamma-delta T cells, helminths, cestodes, nematodes, trematodes.

Los resultados de la misma se expresan a continuación.

Características de los linfocitos T $\gamma\delta$

Hasta hace poco más de dos décadas se consideraba que todas las respuestas inmunes específicas eran realizadas por linfocitos T, que expresaban en su superficie un heterodímero con dos cadenas proteínicas denominadas α y β , que formaban parte del receptor de superficie TCR- $\alpha\beta$. En 1984 se descubrió un nuevo tipo de receptor del linfocito T con homología a las inmunoglobulinas y cuyos genes se reordenaban en algunos de estos linfocitos T, al que se denominó linfocito T gamma delta (LT $\gamma\delta$). Así pues, actualmente se conocen dos poblaciones distintas de linfocitos T dependiendo del tipo de receptor para antígeno que expresan en su membrana:

- Linfocitos T $\alpha\beta$, que expresan el receptor para antígeno TCR- $\alpha\beta$.
- Linfocitos T $\gamma\delta$ que expresan el receptor para antígeno TCR- $\gamma\delta$.

Los linfocitos T $\alpha\beta$ son los más frecuentes en sangre periférica (entre un 90 y un 95%), bazo y ganglios linfáticos, mediando respuestas inmunes específicas. Los linfocitos T $\gamma\delta$ solo se encuentran en un 5-10% en sangre periférica, y aparecen principalmente en epitelios, donde constituyen el 70% en los linfocitos intraepiteliales de las mucosas.

Hay dos características fundamentales que diferencian a ambos tipos de linfocitos. La primera es que los linfocitos T $\gamma\delta$ reconocen proteínas directamente sin el procesamiento antigénico previo por las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). La segunda es que no reconocen (o solo raramente) péptidos procesados por las células presentadoras de antígeno, sino que más bien reconocen metabolitos microbianos fosforilados y péptidos lipídicos. Así, los residuos de fosfato fueron los primeros ligandos relacionados con el reconocimiento antigénico de los TCR $\gamma\delta$. Además del reconocimiento anteriormente mencionado de antígenos proteicos no

procesados, otra propiedad de los $LT\gamma\delta$ es la de reconocer ligandos no peptídicos, superantígenos bacterianos, como la enterotoxina A del estafilococo y proteínas de shock térmico.

Así pues, la falta de necesidad de procesamiento del antígeno permite a los linfocitos $T\gamma\delta$ una **respuesta rápida**, y por su variedad en los modos de reconocimiento, una respuesta **amplia**; por lo que se le atribuye un importante papel en la inmunidad innata o inespecífica.

Los linfocitos $T\gamma\delta$ pueden clasificarse en dos poblaciones principales según la expresión del TCR: **V δ 1** y **V δ 2**. Los V δ 1 predominan en la piel, el intestino y el aparato genitourinario, mientras que los V δ 2 predominan en sangre periférica. La mayoría de los $LT\gamma\delta$ periféricos son doble negativos para CD4 y CD8 (CD4-CD8-); Sin embargo, los $LT\gamma\delta$ intestinales expresan con frecuencia CD8, siendo común la expresión del homodímero CD8 $\alpha\alpha$, un marcador de diferenciación extratímica. Un porcentaje variable de $LT\gamma\delta$ periféricos expresan CD28 (coestimulador de los $LT\alpha\beta$), CD40L (lo que implica su capacidad para interactuar con linfocitos B) o receptores NK como el NKG2D (mediador de la actividad citolítica).

Funciones específicas de $LT\gamma\delta$:

- Capacidad de **respuesta rápida** contra agentes microbianos en la primera línea de defensa mediante el reconocimiento de fosfoantígenos, lípidos y proteínas no procesadas por MHC.
- **Acción citotóxica directa** ante células infectadas o tumorales mediante la secreción de perforinas y granzima B independiente de anticuerpos. Incluso pueden opsonizar y fagocitar directamente células infectadas.
- **Secreción de citoquinas proinflamatorias**, sobre todo Th1, fundamentalmente para el control de virus y bacterias intracelulares (como TNF- α e IFN- γ), o bacterias extracelulares y hongos (como la IL-17).
- Activación de la **respuesta inmune a nivel local** promoviendo la maduración de las células dendríticas y la respuesta anti infecciosa de los macrófagos y las células NK y aumentando la capacidad de resistencia a la invasión de las células epiteliales.
- **Estimulación y regulación de la inmunidad innata**. Los $LT\gamma\delta$ pueden regular a otras células implicadas en la respuesta inmunitaria innata mediante la producción de citoquinas inmunosupresoras como el TGF- β , o la IL10. Además pueden migrar a los órganos linfoides secundarios y colaborar con los linfocitos B en la producción de anticuerpos mediante la producción CXCR5; regular la actividad de los $LT\alpha\beta$ o eliminar LT reguladores.

- **Presentación de antígenos.** Los $\text{LT}\gamma\delta$ pueden procesar y presentar antígenos de patógenos (células infectadas, virus) a otras células inmunitarias, como los $\text{LT}\alpha\beta$.
- **Regeneración epitelial y curación de las heridas,** estimulando la producción de hialurónico por las células epiteliales o mediante la producción de factores de crecimiento epitelial, como el insulin-like growth factor (IGF-1) o el keratinocyte growth factor 1 y 2 (KGF-1, KGF-2).

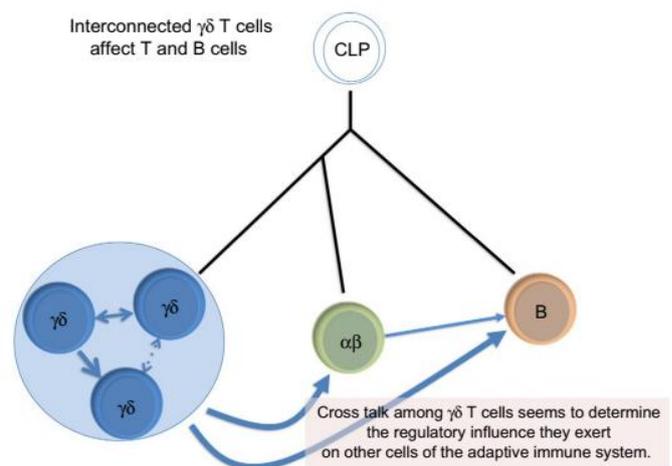
Durante la inflamación, tanto estéril como infecciosa, estos linfocitos se convierten en efectores y reguladores, y continúan con su papel en la resolución de la respuesta inmune y en la reparación de tejido asociado. Debido a que los linfocitos $\gamma\delta$ aparecen en la ontogenia, pueden contribuir a la protección inmune mucho antes en animales jóvenes.

Al igual que los linfocitos $\alpha\beta$, los $\gamma\delta$, expresan primero el TCR en el timo, pero su estancia en el mismo es más corta y no parecen ser sujeto de los mismos mecanismos de selección positiva y negativa como los $\alpha\beta$. Es evidente que los $\gamma\delta$ se diferencian en subconjuntos que se diferencian en cinética, localización tisular, expresión de TCR e incluso en función. También hay evidencia que sugiere la diferenciación de los linfocitos $\gamma\delta$ no acaba en el timo, aunque esta evidencia este menos clara en el caso de estos linfocitos que en el caso de los $\alpha\beta$.

No hay indicación del requerimiento de presentación de antígenos. La idea más contrastada es aquella en la cual el reconocimiento del ligando por los linfocitos $\gamma\delta$ se realiza por células B (Chien, Jores, & Crowley, 1996), pero sigue sin estar claro por qué este reconocimiento de ligando en células que no sean B podría estar evolutivamente conservado.

Especificidad de los linfocitos $\gamma\delta$

Cálculos anteriores al análisis actual de las respuestas antigénicas sobre el poder recombinatorio de los TCR $\gamma\delta$, sugirieron su habilidad para reconocer una gran cantidad de antígenos (Davis & Bjorkman, 1988), presuntamente vía TCR. Esto incluye proteínas, lípidos y otros carbohidratos y probablemente también ácidos nucleicos (Born et al, 2013). No parece haber un sesgo similar en lo observado con los linfocitos $\alpha\beta$, que casi exclusivamente reconocen péptidos pequeños en el contexto de una molécula presentadora de antígeno MHC.



El subsistema del linfocito $\gamma\delta$ y su influencia en células B y T.

Los modelos de ratones indican que estos linfocitos regulan el desarrollo entre ellos, al igual que las funciones, tamaño y el efecto de otros sobre otros linfocitos en la respuesta del sistema inmune. Los linfocitos $\gamma\delta$ pueden influenciar a las células B directamente o vía células $T\alpha\beta$, e incluso vía otros tipos celulares.

Estudios que conectan las subpoblaciones individuales de linfocitos $T\gamma\delta$ con discretos funcionamientos continúan aportando descubrimientos como las observaciones recientemente publicadas en las que la rifamicina, inhibidora de la vía mTOR, estimula a una subpoblación distinta de estos linfocitos para proteger contra carcinoma celular escamoso.

En un estudio sobre cómo los linfocitos $\gamma\delta$ regulan la hiperreactividad de las vías respiratorias, se encontró que las células que ayudan a mejorar esta respuesta, la subpoblación TCR- $V\gamma 1+$, se convierte en funcional ya como timocitos, mientras los timocitos TCR- $V\gamma 4+$ no son mejoradores de respuesta, igual que en el caso de los linfocitos periféricos $V\gamma 4\gamma\delta$ (Jin et al., 2009). Esta observación sugirió que la diferenciación funcional de los linfocitos $\gamma\delta$ comienza durante su maduración intratímica, lo cual fue posteriormente confirmado por el perfil de expresión de timocitos en el genoma.

Mientras los linfocitos $T\gamma\delta$ en la circulación y en tejidos linfáticos alcanzan algún nivel de competencia funcional ya en el timo, los linfocitos $T\gamma\delta$ epiteliales alcanzan la diferenciación ya bajo la influencia del ambiente del tejido epitelial específico.

El origen y destino de subpoblaciones de linfocitos T $\gamma\delta$

Los linfocitos $T\alpha\beta$ abandonan el timo tras nacer y migran a la periferia según van madurando. En la respuesta inmune, las células $CD4+$ se diferencian después en varias subpoblaciones caracterizadas por distintos perfiles de citoquinas. Los linfocitos $T\gamma\delta$ en cambio pueden abandonar el timo tanto como células maduras como células inmaduras que acabarán de madurar en la periferia. Además, algunas subpoblaciones $T\gamma\delta$ adquieren funciones efectoras ya en el timo embrionario, proporcionando una primera línea de respuesta inmune en recién nacidos. Los linfocitos $T\gamma\delta$ fetales existen en el timo esparcidos en superficies epiteliales. La primera capa de células generan IFN- γ que producen células

epidermales dendríticas TV γ 5 que llevan a cabo funciones cruciales en la epidermis y en el desarrollo de células tímicas epiteliales medulares especializadas. La siguiente capa comprende a células TV γ 6 que producen IL-17 que siembran capas epiteliales en el pulmón, lengua y tracto genital, al igual que en el hígado y cavidad peritoneal.

Se ha sugerido recientemente que todas las células $\gamma\delta$ T17 son de origen fetal. De hecho, solo los timocitos fetales son capaces de reconstituir el nódulo linfático periférico y células $\gamma\delta$ T17 dérmicas en adultos ratones con gen alelo silvestre. El desarrollo de las células T $\gamma\delta$ 17 desde precursores adultos se ha observado en quimeras mixtas de la medula ósea que contienen linfocitos T $\alpha\beta$ con un gen interrumpido IL-17, sugiriendo que la citoquina IL-17 producida por los linfocitos T $\alpha\beta$ suprime el desarrollo de células T $\gamma\delta$ 17 en ratones adultos.

Relevancia de linfocitos $\gamma\delta$ T17

- **Papel beneficioso de células $\gamma\delta$ T17 en infecciones fúngicas y bacterianas.** La evidencia del papel protector de células $\gamma\delta$ T17 actuando como primera línea de defensa en el hospedador contra patógenos microbianos viene de estudios sobre infecciones bacterianas y fúngicas. Los linfocitos T $\gamma\delta$ V γ 6V δ 1+ y/o V γ 4+ median el control temprano de *Escherichia coli* y *Listeria monocytogenes* en la cavidad peritoneal y en el hígado gracias a un reclutamiento de neutrófilos llevado a cabo por IL-17. Además, el mantenimiento de la tolerancia inmune entérica y la ausencia de respuesta a la flora comensal requieren supresión de células $\gamma\delta$ T17 intestinales por linfocitos T reguladores. Evidencia considerable también relaciona a las células T $\gamma\delta$ con la inmunidad frente a *Mycobacterium tuberculosis*. Una subpoblación de linfocitos T $\gamma\delta$ productora de IL-17 se ha descrito recientemente en la dermis y ha demostrado mediar la supervivencia inmune cutánea, ayudar a la expansión de células T $\alpha\beta$ específicas de *M.tuberculosis*, y promover el reclutamiento de neutrófilos.

Pacientes humanos con defectos genéticos en la vía IL-17A/IL-17F desarrollan candidiasis monocutánea crónica. Igualmente, en estudios con ratones, aquellos que carecen de IL-17A o IL-17RA son mucho más susceptibles de tener candidiasis crónica, y se sabe que las células $\gamma\delta$ T17 protegen entre las primeras 24 horas de infección pulmonar mediante el reclutamiento de neutrófilos. Sin embargo, en candidiasis orofaríngea las células $\gamma\delta$ T17 parecen tener menos importancia.

- **Papel beneficioso de células $\gamma\delta$ T17 en la vigilancia al estrés y vigilancia tumoral.** Otra importante función de los linfocitos T $\gamma\delta$ es la vigilancia frente al estrés y los tumores. Conocidos

ligandos $\gamma\delta$ TCR representan moléculas de estrés inducido, incluyendo proteínas MICA tipo MHC, CD1c y EPCR. IL-17 inicialmente demostró apoyar el crecimiento tumoral contribuyendo a la angiogénesis, pero después resultó claro que también contribuye a la respuesta de células T CD8 específicas del tumor. Recientemente un estudio ha demostrado un papel importante de células $\gamma\delta$ T17 potenciando respuestas contra tumores desencadenados por quimioterapia. Las células V γ 4+ y V γ 6+ contribuyen a la producción inicial de IFN- γ de células T específicas de tumor, mientras que en ratones carentes de células T $\gamma\delta$ o IL-17 no respondieron a la quimioterapia eficazmente. TGF- β e IL-6 no fueron requeridos, pero la producción de IL-17 por células T $\gamma\delta$ necesitaron IL-1 derivado de células dendríticas. Mientras se debate entre sí en ausencia de quimioterapia, los linfocitos T $\gamma\delta$ son antagonistas de tumor, resultados recientes indican que podemos por lo menos intentar utilizar células **$\gamma\delta$ T17 como soporte de terapia inmune.**

- **Papel patológico de células $\gamma\delta$ T17 en enfermedades autoinmunes inflamatorias.** Estas células $\gamma\delta$ T17 se han visto implicadas en varias enfermedades inflamatorias. En artritis inducida por colágeno y encefalomiелitis alérgica experimental las células $\gamma\delta$ T17 demostraron mejorar las funciones de Th17 y así desarrollar la enfermedad. En el modelo de la encefalomiелitis alérgica, las células $\gamma\delta$ T17 previenen la inducción de linfocitos T reguladores y parecen dejar a los linfocitos T $\alpha\beta$ ejercer su actividad supresora.

3. INTERVENCIÓN DE LOS LINFOCITOS T $\gamma\delta$ EN INFECCIONES CAUSADAS POR PARÁSITOS

A continuación se va a exponer el papel de los linfocitos T $\gamma\delta$ en diferentes helmintosis parasitarias.

3.1. INFECCIONES POR HELMINTOS

Son múltiples los parásitos que pueden establecerse en el tubo digestivo del humano, produciendo diferentes enfermedades. Básicamente se pueden dividir en dos grupos: protozoos (microscópicos) y helmintos (macroscópicos). En este trabajo se va a estudiar la influencia de los linfocitos T $\gamma\delta$ en algunos de ellos.

El término **helminto** se aplica a los representantes de determinados grupos zoológicos, que inicialmente comprendía platelmintos y nematelmintos, y que en la actualidad se emplea para todos aquellos parásitos que por su morfología tienen parecido con los gusanos.

- Platelmintos (planos). Son triblásticos; en su desarrollo embrionario forma tres hojas endodermo, ectodermo y mesodermo, donde está el parénquima, y son acelomados, es decir, sin cavidad corporal. La pared corporal en adultos tiene tegumento sincitial (citoplasma compartido por varias células), no tienen ni aparato respiratorio ni circulatorio, y tampoco tienen digestivo, y si lo tienen es incompleto (sin ano).

Tienen tamaño variable, desde 2-3 mm a 2-3m en el caso de las tenias. Son monoicos (ambos aparatos reproductores) excepto *Schistosoma* que tiene uno u otro. Tienen un sistema excretor protonefridial, tienen comienzo de cerebralización, y pueden ser monozoicos o polizoicos (el cuerpo como una unidad o varias).

3.2. INFECCIONES CAUSADAS POR TREMATODOS.

Es importante el ciclo biológico: la mayoría es diágenea, con dos generaciones, una reproducción asexual y otra sexual en el hospedador definitivo. El hombre elimina en heces los huevos, embrionados o no, se desarrollan los miracidios que entran en el molusco o caracol por ingesta o penetración, cuando abandonan el caracol son cercarias donde desarrollan las colas para moverse en el agua. A partir de aquí estas cercarias pueden seguir unas vías:

◇ Vía percutánea: penetran en el hombre como cercaria siendo primer hospedador intermediario.

◇ Pueden ir a un segundo hospedador intermediario donde se transforma en metacercaria, que luego llegará al hombre por ingestión.

◇ Enquistamiento en plantas acuáticas que son ingeridas por el hombre.

A continuación se estudia la función de los linfocitos $T\gamma\delta$ en las helmintosis provocadas por estos parásitos.

Fasciola hepatica

Es un trematodo parásito del hígado que infecta a una gran variedad de mamíferos, incluyendo humanos. La **fascioliasis** puede ser una enfermedad crónica, con gusanos adultos sobreviviendo hasta 12 años en el hospedador. La patología más grave causada por *F. hepatica* incluye fibrosis debida a un trauma severo inducido por las larvas que migran al hígado causando inflamación, edema y fibrosis de la vía biliar debido a la presencia de estados adultos.

La naturaleza de la respuesta inmune protectora frente a *F.hepatica* no ha sido definida todavía. Tanto los mecanismos de inmunidad humoral como los de inmunidad celular parecen tener importancia ante la resistencia a *F.Hepatica*. Sin embargo, en las siguientes observaciones se sugiere que los anticuerpos por sí mismos no son suficientes para la inmunidad protectora.

En ratones y humanos las infecciones helmínticas son generalmente caracterizadas por niveles altos de IgE y eosinófilos, inducidos por la IL-4 e IL-5. Estas citoquinas son producidas por la citoquina Th2 de la CD4+. Sin embargo, la inmunidad en esquistosomosis experimental causada por *Schistosoma mansoni* parece ser dependiente de subpoblaciones Th1 de las células T que produce IL-2 e IFN- γ . La inmunidad protectora aparentemente la llevan a cabo macrófagos activados por IFN- γ que, in vitro, son capaces de matar esquistosomulas. Además, la regulación de las respuestas de células Th1 por la derivación de células Th2 en ratones que padecen la infección al poner los huevos parece jugar un papel importante en la cronicidad de la infección. En contraste con el modelo del ratón, estudios realizados con ratas y *S.mansoni* han sugerido el papel fundamental de las células Th2 en la inmunidad a través de la estimulación de IgE, eosinófilos y mastocitos. En este modelo, la inmunidad celular esta mediada por eosinófilos y macrófagos, los cuales en presencia de anticuerpos específicos incluyendo IgE, son activados para matar esquistosómulas in vitro.

En cuanto a los linfocitos T $\gamma\delta$, en un estudio, éstos fueron estimulados con antígenos de adultos de *F.Hepatica*, alcanzando niveles de aproximadamente el 50% a las seis semanas del cultivo, coincidiendo con una disminución en la proliferación de *F.Hepatica*. La disminución de la mayoría de estos linfocitos debido a una lisis celular mediada por anticuerpos y el sistema del complemento, no previno la capacidad de las células supervivientes de responder al antígeno, y de hecho a menudo resultó en un aumento de respuestas proliferativas. Además, cuando dos líneas celulares que no disminuyeron de linfocitos T $\gamma\delta$ fueron clonadas tras tres semanas, sólo los clones de linfocitos T $\gamma\delta$ se obtuvieron, y estos clones no proliferaron en respuesta a *F.Hepatica*.

Éstas y otras observaciones indicaron que el extracto de adultos de *F.Hepatica* preferentemente estimula la proliferación de células T CD4+ in vitro, y, aunque no se ha demostrado formalmente, sugiere que **la presencia de linfocitos T $\gamma\delta$ pueda impedir la habilidad de las células T CD4+ de proliferar frente a *F.Hepatica*.**

Schistosoma japonicum

La esquistosomosis es una enfermedad endémica en muchas regiones tropicales y subtropicales, incluyendo China y Filipinas. La progresión de esquistosomosis desde la deposición del huevo hasta el desarrollo de granulomas maduros en el hígado y fibrosis hepática se han asociado con patrones de expresión temporales de genes. Basándonos en estos patrones, los neutrófilos pueden jugar un papel significativo en la determinación de la infección. El reclutamiento de neutrófilos al hígado se ha asociado con el desarrollo de fibrosis en otras enfermedades crónicas del hígado, sugiriendo así que puedan contribuir a fibrosis en esquistosomosis.

La IL-17 se ha asociado con infiltración en el hígado durante la esquistosomosis, y se relaciona con el desarrollo de fibrosis. De las células que se sabe secretan IL-17, los linfocitos $T\gamma\delta$ juegan un papel primordial en el sistema inmune. Estas células, como ya se ha explicado anteriormente, representan una pequeña población de todos los linfocitos T, y son la primera línea de defensa del hospedador contra patógenos. Estos linfocitos secretan Th1 y el factor de necrosis tumoral (TNF- α), Th2 y células presentadoras de antígenos como citoquinas IL-12 bajo diferentes circunstancias. También se sabe que producen IFN- γ , IL-17, IL-4, IL-5, IL-10, IL-13, TGF- β y factor estimulante de colonias granulocíticas (GM-CSF). Hay muchas subpoblaciones de células $T\gamma\delta$ que tienen distintas funciones en la inflamación y la autoinmunidad. Ex vivo, los linfocitos $T\gamma\delta$ en la población de linfocitos intestinales intraepiteliales pueden ser activados con un anticuerpo anti-TCR y concretamente, los linfocitos TV γ 2 producen IL-17.

El número de neutrófilos en el hígado, en sangre, y en bazo aumentan seis semanas después de la infección, y permanecen elevados hasta 12 semanas después. A su vez, los niveles de IL17 también aumentaron. Y mientras que el número de IL17 productoras de células TV δ 2 no aumentó significativamente, se demostró, mediante la disminución de **células $T\gamma\delta$, que ayudaban a reclutar neutrófilos para la formación granulomas causados por huevos de *S.japonicum* y contribuían a la agravación de fibrosis hepática.** Se comprobó que la habilidad de los linfocitos $T\gamma\delta$ de producir citoquinas como IL17A e IFN- γ disminuyó a medida que avanzaba la infección.

Para concluir, mientras que **es probable que los linfocitos $T\gamma\delta$ contribuyan a la patogénesis de esta infección**, también es importante anotar que no fueron necesarios para la formación del granuloma. Además, los neutrófilos se encontraron alrededor de granulomas

hepáticos cuando disminuyeron los niveles de TCRV γ 2. También hay evidencia de que bloqueando la citoquina IL-17A se reduce el número de neutrófilos presente en el hígado pero no los elimina.

3.3. INFECCIONES CAUSADAS POR CESTODOS.

Hay dos subclases: pseudofílidos y ciclofílidos. En el primer grupo el ciclo biológico es acuático y hay dos hospedadores intermedios; en el primero se desarrolla la larva procercoide y en el segundo la plerocercóide; el hospedador definitivo es el hombre o mamífero donde se desarrolla el cestodo adulto en el intestino, del intestino salen por las heces y van al agua donde sale el coracidio nadando y alcanza al primer hospedador intermedio y luego al segundo. En los ciclofílidos sin embargo, es terrestre, siendo el hospedador definitivo el hombre. El cestodo se instala en el intestino delgado, por acción de las sales biliares, el escólex se invagina y se fija a la mucosa intestinal y comienza su desarrollo hasta su total desarrollo a adulto, lo cual hace que salgan por las heces los huevos que se produce por la rotura de anillos, que van al suelo. Los huevos son embrionados y son ingeridos por hospedadores intermedios donde se desarrolla la larva cisticercóide o cisticerco, que luego pasan al hospedador definitivo por ingestión cerrándose el ciclo.

Taenia solium y *Mesocestoides corti*

La neurocisticercosis (NCC) es la enfermedad parasitaria más común del sistema nervioso central humano y es causado por la presencia de metacestodos en el cerebro. Las convulsiones son la manifestación clínica más común asociada a neurocisticercosis y menos comúnmente puede haber cefaleas, aumento de presión intracraneal y alteración del estado mental. La infección cerebral ocasionada por *Mesocestoides corti* ha sido utilizada como modelo para NCC. La respuesta inmune del SNC en ratones fue caracterizada por la inducción de la patología severa del SNC y un reclutamiento masivo de linfocitos T $\gamma\delta$ y macrófagos.

Basándonos en los análisis obtenidos en un estudio, no parece que la infección induzca la acción de estos linfocitos. Hasta donde se sabe, los linfocitos T $\gamma\delta$ no se han descrito como un tipo celular importante en los infiltrados inflamatorios cerebrales. Es posible que una respuesta temprana en el SNC ayude a establecer un ambiente en el que predominen citoquinas y así promocionar la vía Th1. Estos linfocitos se sabe que producen IL-2 e IFN- γ .,

que son una fuente probable de estas citoquinas en la infección temprana. También es interesante la regulación de la citoquina **IL-15** en la infección, ya que se sabe que causa proliferación y **previene la apoptosis de los linfocitos T $\gamma\delta$** .

Por estos motivos, los linfocitos T $\gamma\delta$ parecen jugar un papel crucial en la inmunopatogénesis de la NCC

Echinococcus granulosus

La infección causada por los estadios larvarios de *Echinococcus granulosus* representa una enfermedad endémica severa alrededor del mundo. Estudios recientes han demostrado que los linfocitos T $\gamma\delta$ tienen capacidad protectora en infecciones helmínticas. La infección de *Nippostrongylus brasiliensis* (como se verá posteriormente), se puede frenar gracias los linfocitos T $\gamma\delta$ a través de la rápida expulsión de gusanos adultos desde el intestino y limitando la producción de huevos. Estos linfocitos producen IL-17 para mediar la inflamación neutrofílica para limitar la supervivencia del parásito. Algo similar ocurre con *Schistosoma japonicum* como ya se ha explicado anteriormente. Sin embargo, la presencia de estos linfocitos en hidatidosis (la enfermedad causada por *E.granulosus*) permanece dudosa.

Como ya se sabe, los linfocitos T $\gamma\delta$ pueden dividirse en dos subpoblaciones, V δ 1 y V δ 2. Ambos son fenotípica y funcionalmente distintos, ya que los primeros son inmunorreguladores mientras que los segundos son inmunoestimuladores (Hua et al., 2013; Kress et al., 2006).

Examinando a pacientes con hidatidosis crónica, el estudio en que nos centramos demostró que los linfocitos T $\gamma\delta$ circulantes fueron significativamente disminuidos debido a una reducción de las subpoblaciones V δ 2, pero no de subpoblaciones V δ 1. Además, se encontró que la expresión de NKG2D de estas disminuidas subpoblaciones V δ 2 en hidatidosis fue regulada. Este descenso de células TV δ 2 mostró un rango de proliferación más bajo, y el descenso de IFN- γ reveló una disminuida citotoxicidad potencial, sugiriendo un anormal estado suprimido de células V δ 2.

La nula alteración de células TV δ 1 en hidatidosis reveló que las células T reguladoras pueden no están implicadas en la infección crónica, aunque estudios acumulativos han demostrado que estas células juegan un papel crucial en el desarrollo de tumores, enfermedades autoinmunes y enfermedades infecciosas. El papel exacto de los linfocitos T $\gamma\delta$ en la progresión de esta infección tiene que continuar siendo investigado.

3.4. INFECCIONES CAUSADAS POR NEMATODOS.

En cuanto a morfología son metazoos triblásticos (tres hojas embrionarias: ectodermo, endodermo y mesodermo), pseudocelomados (la cavidad corporal tiene un líquido pseudocelómico donde flotan las vísceras). Tienen el cuerpo cilíndrico, aparato digestivo completo, desde la boca hasta el ano. La mayoría son dioicos y algunos con dimorfismo sexual; tienen sistema nervioso y excretor, y sin embargo carecen de sistema circulatorio y respiratorio, y tienen tamaño muy variable, desde 1mm hasta 1 metro.

En el ciclo vital de los nematodos existen cinco fases separadas y cuatro mudas. Uno de estos estados es el que tiene la capacidad de cambio ecológico.

Anisakis simplex

La anisakidosis es una de las infecciones causadas por nematodos más relevantes en España. Su ciclo biológico consta de un estadio huevo, cuatro estadios larvarios y uno adulto (Mattiucci y Nascetti, 2008). Además de sus hospedadores definitivos e intermediarios, pueden participar también hospedadores accidentales. La mayoría de los patógenos entran en nuestro organismo a través de las mucosas, siendo el intestino uno de los principales sistemas. Por ello, entre el 80 y el 85% de las células inmunocompetentes se concentran en el tejido linfóide asociado al intestino, donde los $LT\gamma\delta$ van a ser particularmente importantes.

En la anisakidosis existe la posibilidad de que los productos larvarios de *Anisakis simplex* actúen como mediadores de inmunosupresión, dado que pueden interactuar, de forma directa, con las CDs de la mucosa intestinal, las cuales podrían producir señales tolerogénicas capaces de inducir cambios en las poblaciones de $LT\alpha\beta$ y $\gamma\delta$.

En un estudio realizado para conocer los anticuerpos en individuos sanos anti-*Anisakis simplex*, se seleccionó a una población estudio, en la cual se observaron en los resultados niveles de IgM específica significativamente superiores en el grupo de las mujeres en comparación con los hombres. De acuerdo con los grupos de edad, los niveles de Igs totales anti-*A.Simplex* fueron superiores en los sujetos menores de 55 años y disminuyeron a partir de esa edad, con un descenso marcado en los niveles de IgM anti-*A.Simplex*. Sin embargo, con los niveles de IgG e IgE se observó lo contrario. Los niveles de IgG anti-*A.Simplex* se alzaron de manera discreta en el grupo de edad de 36-55 años.

Por otro lado, la positividad de los anticuerpos anti-*A.Simplex* se relacionó con el descenso de células CD56+ $\alpha\beta$ así como todos los subtipos de LT $\gamma\delta$, especialmente en el caso de IgA anti-*A.Simplex*.

Se definieron los valores normales en sujetos sanos para LT $\alpha\beta$ y $\gamma\delta$ y sus subtipos. Se analizaron entonces los niveles de anticuerpos anti-*A.Simplex* y se relacionaron con el déficit de células T $\alpha\beta$ $\gamma\delta$ en pacientes sépticos.

Al analizar las variaciones en los niveles de anticuerpos IgS anti-*A.Simplex*, se observó un descenso estadísticamente significativo para las poblaciones CD3+CD8+ y CD3+CD56+ $\gamma\delta$. Por el contrario, para la población CD3+CD4+ $\alpha\beta$ este hecho solo se dio respecto a los niveles de IgM anti-*A.Simplex*. Los anticuerpos IgA anti-*A.Simplex* mostraron los niveles más bajos en el grupo de pacientes con déficit de $\alpha\beta$ (CD4+ y CD8+), así como todas las poblaciones de células T $\gamma\delta$. Estas diferencias fueron más acusadas en el caso de las poblaciones CD3+CD8+ $\gamma\delta$ + y CD3CD56+ $\gamma\delta$ +

Finalmente, los pacientes que presentaron un déficit de células T CD56+ $\gamma\delta$ a lo largo de la evolución del cuadro séptico, presentaron una probabilidad de morir ocho veces superior a los pacientes sin ese déficit.

Se ha demostrado que los LT $\gamma\delta$ (V δ 2+) son capaces de inducir IgG, IgA y IgM, pero no la producción de IgE por las células B (Petrasca y Doherty, 2014). Como ya se ha mencionado antes, la IgA es la inmunoglobulina más frecuente en las mucosas, que es el lugar donde más se acumulan los LT $\gamma\delta$. De este modo, se ha descrito que los ratones deficientes en LT $\gamma\delta$ no son capaces de sintetizar IgA, lo cual sugiere que estos linfocitos están implicados en la síntesis de IgA por parte de los linfocitos B. Esto confirmaría el papel de estas células en la producción de IgA por los linfocitos B específicos de los antígenos de *Anisakis*.

Sería lógico pensar que a menor cantidad de LT $\gamma\delta$, menor producción de IgA anti-*A.Simplex* y por tanto menor protección frente al parásito y peor pronóstico. Y efectivamente, los resultados demostraron una relación inversamente proporcional entre la severidad de la sepsis y las inmunoglobulinas anti-*A.Simplex* (IgM e IgA), con lo que **un paciente con déficit de LT $\gamma\delta$ podría tener peor pronóstico.**

Con lo cual, podemos concluir que los anticuerpos IgA específicos son protectores frente a la infección por *Anisakis* y los LT $\gamma\delta$ son compensadores de la deficiencia de este isotipo de inmunoglobulina por la existencia de una correlación inversa de ambos marcadores en sujetos sanos.

Trichinella spiralis

Para abordar las células T TCR $\gamma\delta$ en el control del tiempo de respuesta de la mucosa a infecciones parasitarias entéricas, en un estudio se utilizó a ratones C57BL, infectados oralmente con 200 larvas de *T.Spiralis*.

Tradicionalmente, la característica distintiva de infección helmíntica es eosinofilia, IgE elevada y mastocitosis. La infección de *T.Spiralis* en ratones provoca una fuerte inmunidad, caracterizada por respuestas inflamatorias intestinales. Esta inmunidad elimina a los parásitos intestinales presentes en la infección primaria después de aproximadamente dos meses, el mismo tiempo que es cepa-dependiente, y proporciona resistencia considerable al reto. La resistencia es dependiente de células T, y parece estar funcionalmente relacionado con el nivel de respuesta inflamatoria intestinal, y en particular con las actividades de los mastocitos de la mucosa.

A pesar de los extensos estudios, no está claro qué componentes de estas respuestas son protectores y como interactúan para conseguir la expulsión inmune de los nematodos del tracto alimentario. También, sorprendentemente, poco se sabe del papel de la respuesta inmune de la mucosa. Los linfocitos intraepiteliales (IEL) se han caracterizado extensamente en ratones. La función de esta población heterogénea de células T sigue sin ser conocida, pero estos IEL están localizados estratégicamente en el sitio de entrada de muchos patógenos. Un estudio reciente de Dillon et al., postuló que los i-IEL aislados de ratones infectados con *T.Spiralis* producen niveles elevados de IL-3 y factores estimuladores de colonias granulocíticas cuando se enfrentan in vitro a antígenos derivados de *Trichinella*.

La resistencia a la infección se asocia a la expulsión acelerada de los adultos, un descenso en la fecundidad de gusanos hembra, y un descenso en la carga muscular larval.

Ratones infectados con *T.Spiralis* y tratados con Ciclosporina A, lo cual se sabe que es un inhibidor selectivo de la activación de linfocitos T, fallaron en la expulsión de los parásitos. Se ha demostrado que TCR $^+$ $\alpha\beta$ CD3 $^+$, TCR $^+$ $\gamma\delta$ CD3 $^+$, TCR $\gamma\delta$ +Ly-2 $^+$ i-IEL descendieron en los días 4 y 7 post-infección, y después descendieron drásticamente en los ratones infectados con *T.Spiralis*. Éstas y otras teorías refuerzan la idea de que **la expulsión de los adultos de *T.Spiralis* desde el intestino depende de la cinética de los linfocitos T $\gamma\delta$ en los i-IEL**. Dado que los resultados indican que la proporción de linfocitos T $\gamma\delta$ en i-IEL aumentó significativamente en el día 4 pero los linfocitos T $\alpha\beta$ no, se sugirió que la respuesta de linfocitos T $\gamma\delta$ puede preceder la activación de los linfocitos T $\alpha\beta$. En la fase temprana de infección los linfocitos T $\gamma\delta$ pueden ser capaces de iniciar y supervisar las respuestas de los T $\alpha\beta$ frente a agentes infecciosos por la expresión juiciosa de citoquinas.

Nippostrongylus brasiliensis

El impacto de nematodos parásitos intestinales es evidente a dos niveles: primero hay un impacto directo en la salud humana con más de un millón de personas afectadas por estos parásitos, y segundo el ganado se ve afectado también, llevando a una productividad reducida y costes aumentados.

La infección con *N.Brasiliensis* induce respuestas fuertes de citoquinas Th2, hiperplasia de células caliciformes y una producción de mucus aumentada, a la vez que la expulsión del nematodo.

Un estudio proporcionó la evidencia de que las células T $\gamma\delta$ juegan un papel protector contra la infección de *N.Brasiliensis*. La deficiencia de TCR- $\gamma\delta$ de células T también se asoció con la reducción en la expresión de células caliciformes y la producción de IL-13 se vio aumentada durante la infección. Estos resultados indican que estos linfocitos T $\gamma\delta$ son capaces de producir citoquinas tipo Th2 y contribuir al mantenimiento de la integridad epitelial en el intestino.

La infección natural con *N.Brasiliensis* comprende penetración larval en la piel seguido de migración pulmonar antes de llegar al intestino. Puede ser posible que los linfocitos T $\gamma\delta$ extra intestinales en el pulmón puedan tener un impacto en el ciclo del nematodo. Sin embargo, considerando la dinámica de la infección observada en ratones TCR- $\delta^{-/-}$, es poco probable que los linfocitos T $\gamma\delta$ tengan efectos significativos en el estadio migratorio tisular extra intestinal de *N.Brasiliensis* porque otras larvas similares fueron detectadas en el fenotipo silvestre de ratones y los mismos TCR- $\delta^{-/-}$ a los seis días. El mayor impacto mediado por células T $\gamma\delta$ en *N.Brasiliensis* fue evidente por la supervivencia de parásitos en el intestino y una reducción en el número de huevos en heces.

Los mecanismos de aclaramiento del nematodo desde el intestino han sido estudiados extensamente, y el papel predominante de células T Th2 CD4+ TCR- $\alpha\beta$ está bien establecido. Las células T $\gamma\delta$ **pueden participar directamente en la inmunidad protectora** o pueden actuar modulando el desarrollo de la respuesta celular T $\gamma\delta$. Para finalizar, la ausencia de células T $\gamma\delta$ lleva a una inducción retardada de una respuesta protectora por parte de citoquinas Th2, hiperplasia retardada de células caliciformes al igual que una producción retardada de MUC2 y TFF3. Todas estas características se sabe que contribuyen a una inmunidad protectora contra nematodos entéricos y se propone así que los linfocitos T $\gamma\delta$ sean importantes en la coordinación de estas respuestas.

Dictyocaulus viviparus

El estudio en el que se basa esta revisión describe la activación inespecífica policlonal de linfocitos desde el ganado primitivo de *D.Viviparus* tras la estimulación in vitro con un homogeneizado de gusanos adultos.

Entre las subpoblaciones estudiadas, el número de CD4, CD8 y TCR- $\gamma\delta$ que expresan linfocitos tras el cultivo fueron suficientes (>200) para evaluar la proliferación en casi todas las muestras. Las proporciones de linfocitos que co-expresan TCR $\gamma\delta$ y CD8 fueron significativamente mayores en cultivos estimulados con *D.Viviparus* que en los cultivos control, y significativamente menores que en cultivos estimulados con Concanavalina A. También, entre los linfocitos positivos para solo uno de los dos antígenos con células de superficie diferenciadas, las proporciones de linfocitos proliferados fueron mayores en los cultivos estimulados de *D.Viviparus* que en los cultivos control. La estimulación in vitro del homogeneizado de *D.Viviparus* indujo la proliferación de células que expresan TCR $\gamma\delta$. Esto puede resultar interesante ya que un estudio previo sobre respuestas mediadas por células hacia la infección por *D.Viviparus* mostró un mayor influjo de células presentadoras de TCR $\gamma\delta$ en los pulmones dos semanas después de la infección experimental en terneros, y juzgando por el tamaño de estas células parecieron estar activadas. Es posible que este influjo fuera una respuesta al tejido dañado surgido de la invasión de los pulmones, pero resultados recientes apoyan una estimulación directa por los nematodos o por sustancias resultadas de ellos.

Entre los linfocitos que expresan TCR $\gamma\delta$, proliferaron en una proporción mayor células CMH clase 2 positivas que negativas en respuesta a la estimulación por *D.Viviparus*, mientras que en cultivos estimulados con Concanavalina A no se observaron estas diferencias.

La relevancia de la activación policlonal inducida por el homogeneizado de *D.Viviparus* no se conoce actualmente y por este motivo sería interesante saber que sustancias de los parásitos conceden las propiedades estimulantes y si están presentes en todos los estados del desarrollo.

Por estos motivos, sería necesario investigar más para conseguir un entendimiento mejor sobre las interacciones parásito-hospedador para llevar a cabo el desarrollo de adecuadas vacunas recombinantes.

4. CONCLUSIONES

El presente trabajo pretende buscar una respuesta a la pregunta de si los linfocitos $T\gamma\delta$ influyen o tienen alguna repercusión en la inmunidad frente a ciertas helmintosis parasitarias. Y la conclusión es que, aunque haya evidencias del papel protector de los mismos, no en todas las infecciones helmínticas tienen el mismo papel, por lo menos demostrado.

Curiosamente, no en todas las helmintosis los linfocitos $T\gamma\delta$ tienen un papel en la inmunidad frente al patógeno, en este caso el helminto correspondiente, como sucede en la infección por trematodos (*F.hepatica* y *S.japonicum*). En el caso de otros parásitos no se conoce la función o simplemente no tiene relevancia (*D.Viviparus*) Sin embargo, y como era de esperar, en muchos otros casos adquieren un papel protector, disminuyendo la presencia del helminto o acelerando su expulsión, como es el caso de *Anisakis simplex*, con lo que podemos concluir que la función de estos linfocitos $T\gamma\delta$ depende del tipo de helminto que provoca la infección.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Referencias generales utilizadas:

Born WK, Huang Y, Reinhardt R, Huang H, Sun D et al. $\gamma\delta$ T Cells and B Cells. *Advances in Immunology* 2017; VOL:0065-2776.

Kisielow J, Kopf M. The origin and fate of $\gamma\delta$ T cell subsets. *Current opinion in Immunology* 2013; 25:181-188.

Zamora de la Fuente V. Estudio del papel inmunomodulador de los antígenos larvarios de *Anisakis simplex* (tesis doctoral). Universidad de Valencia. 2017.

- Referencias empleadas sobre características de los linfocitos T $\gamma\delta$ han sido:

Andreu-Ballester JC, Amigó-García V, Catalán-Serra I, Gil-Borrás R, Ballester F, Almela-Quilis A, et al. Deficit of gammadelta T lymphocytes in the peripheral blood of patients with Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 2011;56(9):2613-2622.

Benet Campos CM. Determinación de anticuerpos antianisakis y relación con las subpoblaciones linfocitarias $\alpha\beta$ y $\gamma\delta$ en pacientes con enfermedad de Crohn (tesis doctoral). Universidad de Valencia. 2015.

Benet-Campos C, Cuellar C, Garcia-Ballesteros C, Zamora V, Gil-Borrás R, Catalan-Serra I, et al. Determination of Anti-Anisakis Simplex Antibodies and Relationship with alphabeta and gammadelta Lymphocyte Subpopulations in Patients with Crohn's Disease. *Dig Dis Sci* 2017 Apr;62(4):934-943.

Catalan Serra. Estudio del papel de los linfocitos T gamma-delta en la enfermedad de Crohn (tesis doctoral). Universidad de Valencia. 2015.

Fay N, Larson E, Jameson J et al. Chronic inflammation and $\gamma\delta$ T Cells. *Frontiers in Immunology* 2016; 6:210.

García-Ballesteros C. Apoptosis linfocitaria según receptor TCR- $\alpha\beta$ y TCR- $\gamma\delta$ en sujetos sanos (tesis doctoral). Universidad de Valencia. 2015.

Lawand M, Déchanet-Merville J, Dieu-Nosjean. Key features of Gamma-Delta T-Cells Subsets in Human Diseases and Their Immunotherapeutic Implications. *Frontiers in Immunology* 2017;8:361.

Wu D, Wu Pin, Qiu F, Wei Q et al. Human $\gamma\delta$ T-cell subsets and their involvement in tumor immunity 2016. *Cellular & Molecular Immunology* 2017; 14:245-253.

Zamora de la Fuente V. Estudio del papel inmunomodulador de los antígenos larvarios de *Anisakis simplex* (tesis doctoral). Universidad de Valencia. 2017.

- Las referencias bibliográficas para trematodos han sido:

Brown W, Davis W, Dobbelaere A.E, RiceFitch A.C. CD4+ T-Cell Clones obtained from cattle chronically infected with *Fasciola hepatica* for adult worm antigen express both unrestricted and Th2 cytokine profiles, *Infection and Immunity* 1994; 62:818-827.

Chen D, Luo X, Xie H, Gao H et al. Characteristics of IL-17 induction by *Schistosoma japonicum* infection in C57BL/6 mouse liver. *Immunology* 2013; 139:523-532.

McCole DF, Doherty ML, Baird AW, Davis WC, McGill K, Torgerson PR. Concanavalin A-stimulated proliferation of T cell subset-depleted lymphocyte populations isolated from *Fasciola hepatica*-infected cattle. *Vet Immunol Immunopathol* 1998 Dec 11;66(3-4):289-300.

Yu X, Luo X, Xie H, Chen D, Li L, Wu F et al. Characteristics of $\gamma\delta$ T cells in *Schistosoma japonicum*-infected mouse mesenteric lymph node. *Parasitol Res* 2014; 113:3393-3401.

Zheng L, Hu H, Wang Y, Huang X, Xu Y et al. Recruitment of neutrophils mediated by V γ 2 $\gamma\delta$ T Cells deteriorates liver fibrosis induced by *Schistosoma japonicum* infection in C57bl/6 Mice, *Infection and Immunity* 2017; 85:1020-16.

- Referencias empleadas en el estudio de cestodos:

Cardona AE, Gonzalez PA, Teale JM. CC chemokines mediate leukocyte trafficking into the central nervous system during murine neurocysticercosis: role of gamma delta T cells in amplification of the host immune response. *Infect Immun* 2003 May;71(5):2634-2642.

Londono DP, Alvarez JI, Trujillo J, Jaramillo MM, Restrepo BI. The inflammatory cell infiltrates in porcine cysticercosis: immunohistochemical analysis during various stages of infection. *Vet Parasitol* 2002 Nov 11;109(3-4):249-259.

Wang H, Li M, Zhang X, He F, Zhang S et al. Impairment of peripheral Vdelta2 T cells in human cystic echinococcosis, *El Sevier* 2017; 174:17-24.

- Referencias empleadas para el estudio de nematodos fueron:

Bozic F, Forcic D, Mazuran R, Marinculic A, Kozaric Z, Stojcevic D. gamma delta TCR+ intestinal intraepithelial lymphocytes (i-IEL) in reaction against intestinal nematode *Trichinella spiralis*. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 1998 Jul;21(3):201-214.

Inagaki-Ohara K, Sakamoto Y, Dohi T, Smith AL. gammadelta T cells play a protective role during infection with *Nippostrongylus brasiliensis* by promoting goblet cell function in the small intestine. *Immunology* 2011 Dec;134(4):448-458.

Hagberg M, Lunden A, Hoglund J, Morrison DA, Waller KP, Wattrang E. Characterization of bovine lymphocytes stimulated in vitro by *Dictyocaulus viviparus* homogenate. *Parasite Immunol* 2008 Jun-Jul;30(6-7):342-353.

Zamora de la Fuente V. Estudio del papel inmunomodulador de los antígenos larvarios de *Anisakis simplex* (tesis doctoral). Universidad de Valencia. 2017.