

Factores inmunológicos protectores frente a la infección por *Ascaris lumbricoides* en niños indígenas y criollos de comunidades rurales de Venezuela

Isabel Hagel^{1*}, Orquídea Rodríguez¹, *Pedro Sánchez², Patricia Rodríguez² & Miguel Palenque³

El objetivo de este trabajo fue estudiar los mecanismos inmunológicos involucrados en la protección a la infección por *Ascaris lumbricoides* en niños de diferentes comunidades rurales. La prevalencia y la carga parasitaria fueron determinadas por el método de Kato-Katz, los niveles de IgE específica frente a *A. lumbricoides* mediante la técnica de ELISA y el número de linfocitos T (CD3⁺; CD3⁺ CD4⁺) y B (CD20⁺; CD20⁺CD23⁺) circulantes por Citometría de Flujo. Los niños fueron clasificados según sus niveles de IgE en respondedores (>0,7UI/ml) y no respondedores (<0,7UI/ml), y se compararon los distintos parámetros de acuerdo a esta clasificación. Las cargas parasitarias fueron significativamente más bajas ($p < 0.0001$) en los niños respondedores. Las sub-poblaciones de linfocitos T y B circulantes fueron más elevadas ($p < 0.0001$) en los grupos de respondedores. Se observó una correlación negativa entre la carga parasitaria con los niveles de IgE específica anti *A. lumbricoides* y el número de linfocitos T CD4⁺ circulantes. Nuestros resultados sugieren un papel protector frente a la infección por *A. lumbricoides* tanto de la IgE específica como de la respuesta T cooperadora.

Palabras clave: *Ascaris lumbricoides*, IgE, linfocitos T CD4⁺.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones helmínticas gastrointestinales son endémicas en la mayoría de las poblaciones rurales de los países en vías de desarrollo (Allen & Maizels, 1996). Las mismas se asocian a los altos niveles de pobreza y a la falta de condiciones sanitarias adecuadas (Cooper, 2001). En trabajos realizados en otros países se han reportado que tanto factores ambientales asociados a la transmisión del parásito, así como, inmunológicos que determinan los mecanismos de defensa, influyen en la prevalencia e intensidad de estas infecciones (McSharry *et al*, 1999).

La característica más resaltante de la respuesta inmune contra los parásitos helmintos es la producción

de altos niveles de IgE total y específica. Los antígenos de los helmintos estimulan preferencialmente células T productoras de IL-4, las cuales selectivamente estimulan la producción de IgE en las células B (Maizels *et al*, 2004). También se ha estudiado en modelos *in vitro* que la IL-4 estimula la expresión del receptor de baja afinidad para la IgE (CD23) en linfocitos B obtenidos de amígdalas de donantes humanos (Yabuuchi *et al*, 2004). Estudios poblacionales han demostrado la importancia de la expresión del receptor CD23 en el control de la producción de IgE (Aberle *et al*, 1997).

En trabajos realizados en el África en comunidades rurales de bajo nivel socioeconómico, se demostró por primera vez el papel protector a nivel poblacional de los niveles de IgE específica frente a helmintos. Siendo los niveles de IgE específica anti-*Schistosoma haematobium* significativamente más altos en los grupos de niños resistentes a la re-infección, después de un tratamiento antihelmíntico (Hagan *et al*, 1991). En Venezuela, la producción de IgE específica frente a antígenos derivados de vermes adultos se ha relacionado con la resistencia frente a la infección por *A. lumbricoides* en el medio urbano (Hagel *et al*, 1993).

¹Laboratorios de Inmunoquímica - Instituto de Biomedicina, MSDS/UCV. Apto. 4043, Caracas 1010A

²Inmunohematología - Banco Municipal de Sangre. Alcaldía Mayor - Caracas - Venezuela.

³Clínica Experimental de Asma, Isla de Coche, Estado Nueva Esparta.

*Autor de Correspondencia:
isabelhagel@yahoo.com, ihagel@telcel.net.ve

Factores protectores frente a Ascaris lumbricoides

El objetivo de este trabajo fue evaluar las características inmunológicas posiblemente asociadas a la protección de la infección por *A. lumbricoides* en un grupo de niños provenientes de diferentes comunidades de la etnia Warao que habitan las riberas del Orinoco en el Estado Delta Amacuro, así como en grupos de niños rurales criollos de diferentes localidades del país, cuyas condiciones socio ambientales favorecen las infecciones helmínticas gastrointestinales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Poblaciones Estudiadas

Se realizó un estudio comparativo de la respuesta inmune frente a *A. lumbricoides* entre una población indígena Warao no seleccionada de 350 niños en edad escolar ($9,65 \pm 2,86$ años) balanceada de sexos y una población rural similar no indígena de 240 niños escolares ($9,72 \pm 2,35$). Los grupos de niños Warao pertenecían a las comunidades de Araguaymujo, Santa Rosa de Araguao (Caño Araguao, Municipio Antonio Díaz), Los Guires, Pueblo Blanco y Punta Pescador (Caño Macareo, Municipio Tucupita) e Isla Misteriosa (Caño Mánamo, Municipio Pedernales) y los rurales no indígenas a las comunidades de El Cardón, Isla de Coche, Estado Nueva Esparta y San Daniel, Estado Miranda.

Se solicitó por escrito el consentimiento informado para la participación en el programa a todos los representantes legales de los niños. Las comunidades fueron debidamente informadas de los objetivos del proyecto, a través de un taller previo al inicio del trabajo. Durante el período de trabajo los niños recibieron asistencia médica y tratamiento para las infecciones gastrointestinales y otras afecciones comunes de la infancia. El protocolo fue aprobado por la Comisión Ética del Instituto de Biomedicina y las autoridades de Salud locales de los respectivos Estados.

Determinación de la prevalencia y carga parasitaria

Se estudió la presencia de *A. lumbricoides* por observación directa de las muestras de heces, y el número de huevos/gramo de heces se determinó utilizando el método de Kato-Katz (Melvin & Brooke, 1989).

Determinación de inmunoglobulina E (IgE) específica a Ascaris lumbricoides

El antígeno de *A. lumbricoides* utilizado se obtuvo mediante purificación parcial de un liofilizado de cuerpo completo del helminto, con posterior valoración de proteínas presentes por el método de Bradford (Lynch *et al*, 1987).

La determinación de la IgE se realizó por una técnica de ELISA de “doble sándwich” estandarizada en nuestro laboratorio. Se formó un “pool” de sueros que anteriormente fueron evaluados mediante la técnica de Phadebas RAST de Pharmacia (Suecia) y cuyas concentraciones IgE específica a *A. lumbricoides* pertenecían al RAST clase 4, es decir, la concentración de IgE específica era mayor a 14.5 UI/ml. Para la elaboración de la curva de referencia se tomó sin y con diluciones del “pool” a 1:20, 1:50, 1:100, 1:200. Se sensibilizaron placas de microtitulación de polivinilo Dynatech Immunolon 4 con 100ul del antígeno de *A. lumbricoides*, a una concentración de 3 ug/pozo, diluido en buffer carbonato pH 9.6. Se utilizaron los sueros de los pacientes concentrados y luego se incubó con 1 ug de anticuerpo anti-IgE monoclonal de ratón por pozo, diluido con PBST-ALB 1%. El conjugado anti-IgG de ratón acoplado a peroxidasa de Sigma Immunochemicals (Missouri, EEUU) se utilizó a una dilución de 1/3000 en PBST-ALB 1%. El Revelado se realizó con el sustrato *O*-fenil diamina-di cloruro (Sigma) preparado en 25 ml de buffer citrato fosfato pH 5,5 (100ul/pozo). La reacción se detiene con 50ul de ácido sulfúrico 2.5 M y se lee a 492 nm en un espectrofotómetro para placas de microtitulación. Los resultados se reportan como Unidades Internacionales de IgE anti-*Ascaris*. (UI), basándose en la curva de referencia de PHARMACIA. De acuerdo a la clasificación de PHARMACIA, se consideran clínicamente significativos aquellos niveles de $IgE > 0,7 UI/ml$.

EVALUACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE RECEPTORES DE SUPERFICIE ASOCIADOS A LA PRODUCCIÓN DE IgE EN LINFOCITOS PERIFÉRICOS.

Debido al alto costo de esta prueba y a las dificultades logísticas para el traslado apropiado de las muestras desde localidades de difícil acceso en el país, se seleccionaron al azar 80 muestras de niños Warao y 120 de niños criollos para este estudio. Las muestras fueron analizadas utilizando un citómetro de flujo

(FACScan Brand Flow) de Beckton Dickinson. Se realizó un marcaje de inmunofluorescencia directa de los antígenos de superficie en las células en muestras de sangre completa utilizando anticuerpos monoclonales contra las diferentes sub-poblaciones de linfocitos, y marcaje de color dual Ficoeritrina-Ficocianina (FITC-PE) obtenidos de las casas comerciales. Las combinaciones respectivas de anticuerpos monoclonales se especifican a continuación:

Combinación de anticuerpos	Marcaje	Casa Comercial
CD3-CD4	FITC/PE	Dako/Dako
CD3-CD8	FITC/PE	Dako/Dako
CD20-CD21	PE/FITC	Dako/Kaltac
CD20-CD23	PE/FITC	Dako/Kaltac

Se utilizó el siguiente protocolo: Se tomaron 5 ml de sangre completa en tubos de EDTA de los niños de los diferentes comunidades y las mismas fueron transportadas a temperatura ambiente en una cava acondicionada. El procesamiento de las muestras se realizó dentro de las 24 horas siguientes. Se tomaron 50 ul de sangre completa y se incubaron por 10 minutos con 5 ul de anticuerpo monoclonal marcado de acuerdo a cada combinación como se indicó en la tabla, utilizando un blanco para cada combinación. Luego se incubaron las mismas con 2 ml de buffer lisis y se centrifugaron a 25000 rpm por 10 minutos. Se descartaron los sobrenadantes y se resuspendieron las muestras en 100 ul de PBS. Las muestras fueron leídas en el Citómetro. Se realizó para cada análisis una adquisición de 10.000 eventos. Los resultados fueron presentados en valores en absolutos de linfocitos (mm^3) calculados a partir de las cuentas totales de linfocitos obtenidas de las hematologías practicadas simultáneamente a los niños.

Análisis estadísticos

Para comparar los valores absolutos de linfocitos entre los diferentes grupos se aplicó la prueba de Welch t Test para muestras con distribución normal, pero con distintas desviaciones Standard. En el caso de los valores de carga parasitaria, se calculó el logaritmo del número de huevos/gr. de heces para cada caso, comparándose las medias aritméticas de los logaritmos. Luego los valores logarítmicos fueron transformados y los resultados fueron expresados como media

geométrica y media geométrica + una desviación Standard. La prevalencia de *A. lumbricoides* fue comparada utilizando Fisher exact Test reportándose los valores de p y de riesgo relativo (RR) para cada caso. Para establecer las correlaciones entre las variables como expresión de receptores y niveles de IgE, se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson.

RESULTADOS

Encontramos una elevada prevalencia de *A. lumbricoides* tanto en la población Warao (72%) como en la rural criolla (78%), la intensidad de la infección, fue similar en ambos grupos (media geométrica: 4500 huevos / grs. de heces en los niños Warao y 5200 huevos / grs. de heces en el grupo criollo).

Para estudiar la capacidad de producir IgE específica frente al parásito como mecanismo protector frente a esta infección, se clasificaron los niños de acuerdo a sus niveles de IgE específica frente a *A. lumbricoides* en: respondedores, aquellos que de acuerdo a los estándares internacionales de PHARMACIA presentaron niveles de IgE específica clínicamente significativos ($>0,7$ UI/ml) y no respondedores aquellos cuyos niveles de IgE específica se encontraron por debajo de este valor. Se compararon los parámetros parasitológicos e inmunológicos de acuerdo a esta clasificación, tanto en el grupo de niños Warao como en el criollo.

En la Tabla I se observa que la proporción de niños respondedores fue similarmente baja en ambos grupos. No observamos diferencias en cuanto a la prevalencia de este parásito según los niveles de IgE específica. Sin embargo, la intensidad de la infección por *A. lumbricoides* fue significativamente menor en los niños respondedores de ambos grupos ($p < 0,0001$).

Encontramos además una correlación negativa entre el logaritmo del número de huevos / grs. de heces y los niveles de IgE específica anti *A. lumbricoides* (Coeficiente de Correlación de Pearson = -0.65) (Fig. 1).

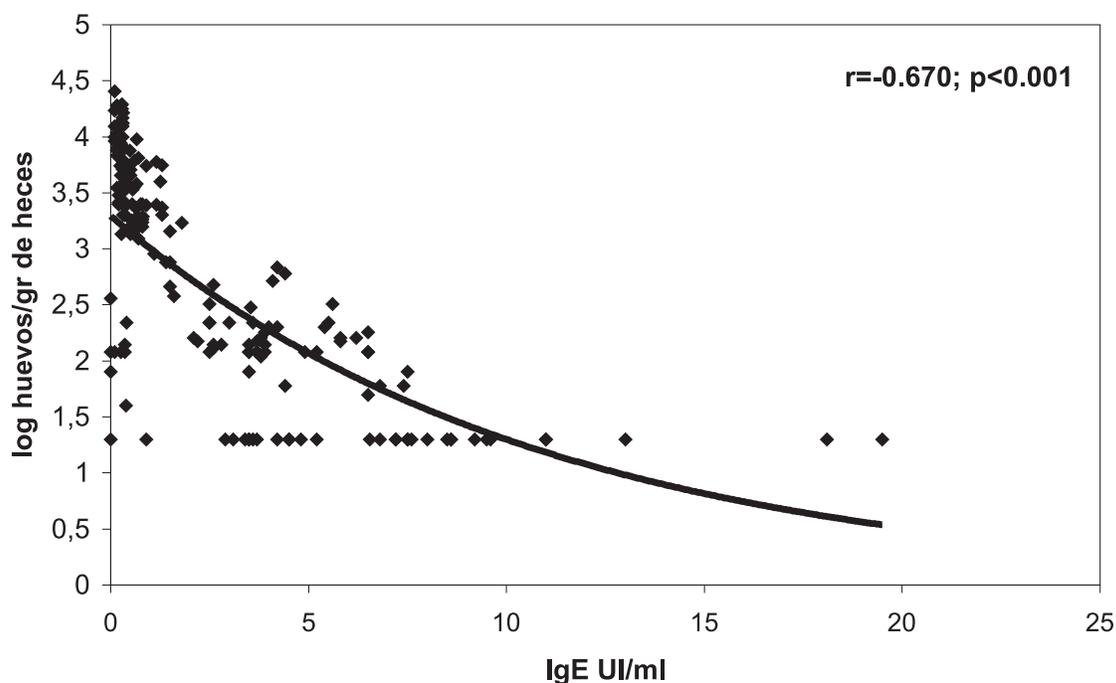
En la Tabla II se observa que el número circulante de linfocitos T cooperadores ($\text{CD3}^+ \text{CD4}^+$) fue significativamente mayor ($p < 0,0001$) en los niños respondedores de ambos grupos. Similarmente, encontramos que el número de linfocitos B activados (CD20^+) así como, el número de aquellos que expresan el receptor de baja afinidad para la IgE ($\text{CD20}^+ \text{CD23}^+$) fue significativamente más alto en los niños

Tabla I. Infección por *Ascaris lumbricoides* de acuerdo a la capacidad de producir IgE específica frente a antígenos derivados del parásito adulto, en niños del medio rural venezolano (*).

	Waraos (n=350)			Criollos (n=280)		
	Respondedores (n=70)	No respondedores (n=280)	Significancia estadística	Respondedores (n=78)	No respondedores (n=202)	Significancia estadística
Prevalencia (%)	67	75	p = 0,2257 RR: 0,7395	75	80	p = 0,4165 RR: 0,8290
Media geométrica del N° huevos / gr. heces (media geom. + 1 DS)	2300 (4800)	5720 (7000)	t =5,978 p <0,0001	2120 (4200)	5430 (6980)	t =11,87 p <0,0001

(*) Los grupos de niños fueron clasificados de acuerdo a los niveles de IgE específica *A. lumbricoides* en respondedores (> 0,7UI/ml) y no respondedores (<0,7UI/ml), se determinó la presencia de *A. lumbricoides* utilizando el método de Kato. La prevalencia de la infección entre los grupos fue comparada mediante Fisher Exact Test. Se calcularon los logaritmos de los valores de los huevos / grs. de heces y las medias de los mismos fueron comparadas por Welch t Test. Los valores logarítmicos fueron transformados y expresados como media geométrica y media geométrica + 1ds.

Fig. 1. Asociación entre niveles de IgE específica anti-*Ascaris lumbricoides* e intensidad de la infección (*).



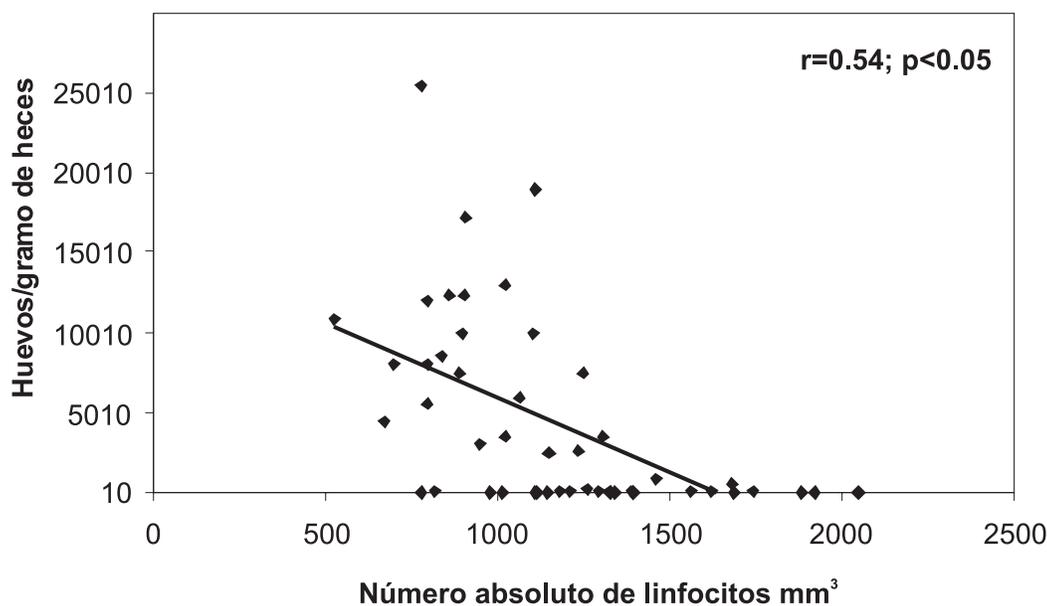
(*) Los niveles de IgE específica fueron determinados mediante el método de ELISA y la carga parasitaria mediante el método de Kato. Se calculó el coeficiente de correlación de Pearson entre estas variables, en un número total de 452 niños evaluados.

Tabla II. Sub-poblaciones de linfocitos circulantes de acuerdo a la capacidad de producir IgE específica anti *Ascaris lumbricoides* en niños del medio rural venezolano (*).

	Waraos (n=80)			Criollos (n=120)		
	Respondedores (n=16)	No respondedores (n=64)	Significancia estadística	Respondedores (n=33)	No respondedores (n=87)	Significancia estadística
CD3+	2850±605	1890±345	t = 6,104 p<0,0001	2780±703	1920±650	t = 6,07 p<0,0001
CD3+CD4+	1840± 340	950±120	t = 10,113 p<0,0001	1920±695	1110±150,5	t = 6,637 p<0,0001
CD20+	650±308	480±127	t = 2,162 p<0,0001	680±225	450±185	t = 5,239 p<0,0001
CD20+CD23+	280±120	105,6±65,5	t = 5,630 p<0,0001	250±108,6	116,4±72,3	t = 6,593 p<0,0001

(*) Los grupos de niños fueron clasificados de acuerdo a los niveles de IgE específica *A. lumbricoides* en respondedores ($e > 0,7\text{UI/ml}$) y no respondedores ($<0,7\text{UI/ml}$). El número de linfocitos circulantes fue analizado mediante Citometría de Flujo (FACScan Brand Flow, Beckton Dickinson). Se determinaron las medias aritméticas de los valores de los mismos para cada grupo y las mismas fueron comparadas mediante Welch t Test.

Fig. 2. Asociación entre el número absoluto de linfocitos T cooperadores y la intensidad de la infección por *Ascaris lumbricoides* (*).



(*) Los linfocitos T CD4⁺ fueron estudiados mediante Citometría de flujo y la carga parasitaria se determino utilizando el método de Kato. Se calculó el coeficiente de correlación de Pearson entre estas variables, en un numero total de 200 niños.

respondedores de ambos grupos ($p < 0.0001$) comparado con los no respondedores. Encontramos también, una correlación inversa entre el N° de huevos / grs. de heces y el número de células T circulantes CD4⁺ (Fig. 2).

DISCUSIÓN

La infección crónica por helmintos gastrointestinales, particularmente *A. lumbricoides* constituye una característica común en niños rurales en condiciones de pobreza. De hecho, de acuerdo a los parámetros de la Organización Mundial de la Salud, se consideran un indicador de sub-desarrollo (Gordon *et al*, 2004). Si bien, los aspectos ambientales tales como hacinamiento y condiciones sanitarias limitadas se han asociado a la alta prevalencia de la infección por estos parásitos en el país (Hagel *et al*, 2001), la intensidad de las mismas parece ser un problema más complejo en donde tanto factores extrínsecos como intrínsecos al individuo juegan un papel fundamental.

En este estudio comparamos el posible efecto de la capacidad de producir IgE específica frente a *A. lumbricoides* sobre la prevalencia e intensidad de esta infección entre una población no seleccionada de niños escolares Warao de diferentes localidades del Estado Delta Amacuro y una población similar proveniente de diferentes localidades rurales del país. Encontramos que la capacidad de producir niveles clínicamente significativos de IgE, se asoció negativamente a la carga parasitaria en ambos grupos, indicando el papel protector de esta inmunoglobulina. Sin embargo, la proporción de niños con niveles de IgE específica clínicamente significativos fue muy baja tanto en Waraos como en criollos. Mientras apenas alrededor del 20% de los niños responden adecuadamente al parásito, la mayoría presenta niveles apenas detectables de IgE frente al parásito. Así, los factores que pudieran influir en la capacidad de producir IgE, podrían ser determinantes en la modulación de la intensidad parasitaria en la población infantil. En este sentido, observamos que los niños respondedores, presentaron un aumento significativo en el número de linfocitos T cooperadores (CD3⁺CD4⁺) y linfocitos B, particularmente aquellos isotípicamente específicos para IgE (CD20⁺ CD23⁺) comparados con los no respondedores. Esta situación podría ser un reflejo de la estimulación preferencial de la respuesta "tipo TH2" por parte de antígenos parasitarios. Se ha demostrado que *A. lumbricoides* estimula la diferenciación de linfocitos TH2, productores de citocinas tales como IL-

4 e IL-13 en poblaciones endémicas (Cooper *et al*, 1999) y que las mismas están asociadas a la protección frente a la infección en poblaciones endémicas (Turner *et al*, 2003). Por otra parte, otros estudios han demostrado que la IL-4 es un factor esencial en la estimulación de la expresión del CD23 en linfocitos B cultivados *in vitro* en presencia de antígenos derivados de parásitos helmintos (Yamaoka *et al*, 1993). Así, los antígenos parasitarios podrían estimular la producción de IgE mediante la inducción de la expresión del CD23 a través de una vía dependiente de células TH2.

Además encontramos una correlación negativa entre el número de células T cooperadoras circulantes y la carga parasitaria. Otros trabajos realizados en modelos experimentales han demostrado que citocinas como la IL-4 derivadas de células TH2 promueven directamente mecanismos pro inflamatorios en la mucosa gastrointestinal, aumentando la producción de moco y la descamación de las células caliciformes, lo cual crea un mecanismo inhóspito para el desarrollo de las larvas a vermes adultos (Hayes *et al*, 2004). De esta manera, niños con una mayor capacidad de desarrollar respuestas tipo TH2 podrían ser más inmunocompetentes frente al parásito.

Estudios previos han sugerido la importancia del factor genético en el desarrollo de estas capacidades. Así, polimorfismos en el receptor para la IL-4 asociados a una mayor producción de IgE, son más frecuentes en poblaciones tropicales en donde estas parasitosis son endémicas (Burchard *et al*, 1999). También, trabajos recientes realizados en la población rural china han indicado que polimorfismos asociados al factor transductor específico para TH2, STAT6, podrían ser un factor protector al asociarse negativamente a la intensidad de la infección por *A. lumbricoides* (Peisong *et al*, 2005). Más aún estudios realizados en la Isla de Coche en Venezuela, en estas mismas poblaciones han demostrado que polimorfismos asociados al receptor B adriérgico se asocian positivamente a la producción de IgE específica anti *A. lumbricoides* (Ramsay *et al*, 1999). Así, la capacidad de desarrollar respuestas protectoras tipo TH2 podrían estar asociadas a factores genéticos en estas poblaciones. Sin embargo, los resultados de este trabajo sugieren que el mismo no se relacionaría a las características étnicas de un grupo en particular, sino más bien a la variabilidad genética dentro de la población venezolana ya que la proporción de niños respondedores y la distribución del número de linfocitos T y B circulantes con respecto a la producción de IgE

específica fue similar en los niños Warao comparados con los criollos.

Por otra parte, factores ambientales también pueden afectar la producción de IgE específica frente a estos parásitos. En trabajos anteriores hemos demostrado que indicadores de desnutrición tales como la talla baja, afectan la capacidad de desarrollar respuestas de memoria inmunológica, disminuyendo la capacidad de producir anticuerpos IgE específicos frente al parásito (Hagel *et al*, 2003). Además, los parásitos helmintos desarrollan mecanismos de evasión competentes. Se ha demostrado que estimulan la producción de elevados niveles de IL-10 (Maizels *et al*, 2004), una citocina producida tanto por el epitelio como por células T reguladoras, cuya función es la de modular los procesos inflamatorios (Proudfoot, 2004). Esta citocina ha demostrado tener la capacidad de inhibir la proliferación antígeno específica de células TH2 (Del Prete *et al*, 1993; Groux *et al*, 1996) lo cual podría a su vez suprimir el desarrollo de la respuesta IgE en poblaciones expuestas crónicamente a estos parásitos.

En conclusión, los resultados de este trabajo mostraron que la IgE específica frente a *A. lumbricoides* es un factor protector frente a la infección en el medio rural. La producción de la misma podría estar asociada a la estimulación de la respuesta TH2 por antígenos derivados del parásito. A pesar de la endemicidad y cronicidad de estas infecciones en el medio rural, la capacidad de producir esta IgE específica frente a antígenos parasitarios resultó ser limitada en la población infantil evaluada. La misma podría estar asociada a la relación entre factores genéticos presentes en la población venezolana con el ambiente y la calidad de vida. Es importante señalar que la respuesta inmune de los niños Warao mostró un comportamiento similar a la de los criollos, indicando que el desarrollo de estas respuestas en estos niños no depende de factores inherentes a la etnia. Si bien, consideramos que debido a las condiciones ambientales del medio rural no sería posible eliminar estas infecciones en la población infantil, la identificación de los grupos más susceptibles así como las características asociadas a la protección de estas enfermedades, podría ser de utilidad en el diseño de estrategias de control más adecuadas.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Sra. Loana Gutiérrez, por su valiosa colaboración en la preparación de este

manuscrito, así como, al personal médico y enfermeras de los Estados Delta Amacuro, Miranda y Nueva Esparta por su participación activa en la atención a los niños. Apreciamos también la colaboración prestada por la Sra. Yelitza Barrios y el señor Dimas González de la División de Helminología, Dirección Sectorial de Salud Ambiental, del Ministerio de Salud y Desarrollo Social en la práctica de los exámenes de heces en las distintas comunidades. Deseamos destacar la importancia del apoyo logístico prestado por la Guardia Nacional de Venezuela que hizo posible la evaluación de comunidades de difícil acceso.

Este trabajo fue financiado por el Programa de Atención Especial al Indígena, Fundación Proyecto PAIS/ Guardia Nacional y el Proyecto Milenio, Instituto de Biomedicina/FONACIT-4572-Ve.

IMMUNOLOGICAL FACTORS PROTECTIVE FOR *Ascaris lumbricoides* INFECTION IN INDIGENOUS AND NATIVE CHILDREN FROM RURAL COMMUNITIES IN VENEZUELA

SUMMARY

The objective of this work was to study the immunological mechanisms involved in the protection for *A. lumbricoides* infection in rural Venezuelan children. The prevalence and the intensity of the infection were measured by the Kato-Katz technique, the levels of specific anti *A. lumbricoides* IgE by ELISA method and the number of circulating T and B lymphocytes subpopulations by Flow Cytometry. The children were classified according to their IgE levels in responders (>0,7UI/ml) and non responders (<0,7UI/ml), and the different parameters were compared according to this classification. Worm burdens were significantly lower ($p<0.0001$) in the groups of responders. Circulating T and B subpopulations were more elevated ($p<0.0001$) in the responder children. A negative correlation between worm burden and specific IgE levels, and also between circulating T CD4+ lymphocytes was observed. Our results suggest a protective role of the specific IgE levels and CD4+ helper T cells against *A. lumbricoides* infection.

Key words: *Ascaris lumbricoides*, IgE, CD4+, T lymphocytes.

REFERENCIAS

- Aberle N., Gagro A., Rabatic S., Reiner-Banovac Z. & De Karis A. (1997). Expression of CD23 antigen and its ligands in children with extrinsic and intrinsic asthma. *Allergy*. **52**: 1238-1242.
- Allen J.E. & Maizels R.M. (1996). Immunology of helminth infection. *Int. Arch. Allergy Immunol.* **109**: 3-10
- Burchard E.G., Silverman E.K., Rosenwaser L.J., Borish L., Yandava C., Pillari A. *et al*, (1999). Association between a sequence variant in the IL-4 gene promoter and FEV (1) in asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* **160**: 919-922.
- Cooper E. (1991). Intestinal parasitosis and the modern description of diseases of poverty. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* **85**: 168-170.
- Cooper P.J., Chico M., Sandoval C., Espinel I., Guevara A., Kennedy M., *et al*, (2000). Human infection with *Ascaris lumbricoides* is associated with a polarized cytokine response. *J. Infect. Dis.* **182**: 1207-1213.
- Del Prete G., De Carli M., Almerigogna F., Giundizi M.G., Biagiotti R. & Romagnani S. (1993). Human IL-10 is produced by both type I helper (TH1) and type 2 (TH2) T cell clones and inhibits their antigen specific proliferation and cytokine production. *J. Immunol.* **150**: 353-360.
- Groux H., Bigler M., de Vries J.E. & Roncarolo M.G: (1996). Interleukin-10 induces a long-term antigen-specific anergic state in human CD4+ T cells. *J. Exp. Med.* **184**: 19-29
- Hagan P., Blumenthal U.J., Simpson J.G. & Wilkins II. A. (1991). Human IgG, IgG4 and resistance to reinfection with *Schistosoma haematobium*. *Nature*. **349**: 243-245
- Hagel I., Salgado A., Rodríguez O., Ortiz D., Hurtado M., Puccio F., *et al*, (2001). Factores que influyen en la prevalencia e intensidad de las parasitosis intestinales en Venezuela. *Gac. Med. Caracas.* **109**: 82-90.
- Hagel I., Lynch N.R., Di Prisco M.C., Pérez M. & Rojas E. (1993). *Ascaris* reinfection of slum children: relation with the IgE response. *Clin. Exp. Immunol.* **94**: 80-83.
- Hagel I., Lynch N.R., Puccio F., Rodríguez O., Luzondo R. & Rodríguez P., *et al*, (2003). Defective regulation of the protective IgE response against the Intestinal helminth *Ascaris lumbricoides* in malnourished children. *J. Trop. Ped.* **49**: 1-7
- Hayes K., Bancroft A. & Grencis R. (2004). Immune mediated regulation of chronic intestinal nematode infection. *Immunol. Rev.* **201**: 75-88.
- Lynch, N.R. Lopez, R. & Di Prisco M.C. (1987). Allergic reactivity and socio-economic level in a tropical environment. *Clin. Allergy.* **17**: 199-207.
- Maizels R., Balic A., Gomez –Escobar N., Meera N., Taylor M.D. & Allen J.E. (2004). helminths parasites: Master of regulation. *Immunol. Rev.* **201**: 89-116.
- McsSharry C., Xia., Holland C. V. & Kennedy M. W.(1999). Natural immunity to *Ascaris lumbricoides* associated with immunoglobulin E antibody to ABA-1 Allergen and inflammation indicators in children. *Infect. Immun.* 484-489 p.
- Melvin D. & Brooke M. (1989). *Métodos de laboratorio para diagnóstico de parasitosis Intestinales.* pp: 203-208. Editorial Mexicana, México
- Peisong G., Yamasaki A., Mao X.Q. Enomoto T., Feng Z., Gloria-Bottini F., *et al*, (2005). An asthma-associated genetic variant of STAT6 predicts low burden of *Ascaris* worm infestation. *Genes Immun.* **6**: 1-70.
- Proudfoot L. (2004). Parasitic helminthes tip the balance: potencial anti-inflammatory therapies. *Immunology.* **113**: 438-440.
- Ramsay C., Hayden C., Triller K. J. Burton P.R. Hagel I. Palenque M., *et al*. (1999). Association of polymorphisms in the b₂ adrenoreceptor gene with higher levels of parasitic infection. *Hum. Genet.* **104**: 269-274.
- Turner J., Faulkner H., Kamgno J., Cormont F., Van Snick J., Else K, *et al*, (2003). Th2 cytokines are associated with reduced worm burdens i a human intestinal helminth infection. *J. Infect. Dis.* **188**:1768-1675.
- Yabuuchi S., NakamuraT, Kloetzer W.S. & Reff M.E. (2002). Anti-CD23 monoclonal antibody inhibits germline C epsilon transcription in B cells. *Int.*

Immunopharmacol. **2**: 453-461.

Yamaoka K., Kolb J.P., Miyasaka N., Inuo G. & Fujita K. (1994). Purified excretory-secretory component of filarial parasite enhances Fcε RII/CD23 expression on human splenic B and T cells and IgE synthesis

while potentiating T-helper type 2-related cytokine generation from cells. *Immunology*. **81**: 507-512.

UNICEF (1998) *El estado de Salud Infantil: Una Emergencia Silenciosa*.
