

# Esteroides sexuales e inmunidad: el papel del estradiol sobre las células dendríticas

Cristián Togno-Peirce,\* Jorge Morales-Montor\*

\* Departamento de Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México.

**Sex steroids and immunity:  
the role of estrogens on dendritic cells**

## ABSTRACT

*It is well known that 17 $\beta$ -estradiol have diverse effects on the development of sexual traits, fertility and survival of neurons. On top of these effects, its participation as an important modulator of several immune functions has been described. For instance, estradiol participation has been invoked in relation to the immune sexual dimorphism, and, on sex associated incidence of several autoimmune diseases. Furthermore, its role during the resistance or susceptibility to many diverse infections (such as viral, bacterial and parasitic) has also been demonstrated. Dendritic cells (DCs) have a central role in the activation of the adaptative immune response, and in the maintenance of tolerance. In the last few years, the study of the effects of 17 $\beta$ -estradiol on DCs has shown that this hormone regulates their differentiation and function, in vitro as well as in vivo. Depending on the context, 17 $\beta$ -estradiol is able to exert benefic or deleterious effects. In the present communication, we summarize the described effects of estradiol on DCs, comparing the information obtained from studies in vitro versus the information from in vivo experiments.*

## RESUMEN

El estradiol (17 $\beta$ -estradiol) es una hormona esteroidea que tiene efectos biológicos bien conocidos en diferentes especies de vertebrados. Sus efectos se han descrito principalmente en el desarrollo de los caracteres sexuales, sobre la fertilidad, e incluso en la supervivencia de las neuronas. Además de participar en estos procesos biológicos, se ha demostrado que existen diversos efectos del estradiol sobre varias funciones del sistema inmune. Debido a su participación en la regulación de las respuestas inmunes, se le ha relacionado en el dimorfismo sexual inmunitario, a la frecuencia de enfermedades autoinmunes, y a la resistencia o susceptibilidad a varias infecciones, tanto virales y bacterianas, como parásitarias.

Las células dendríticas CDs (utilizaremos la abreviatura DCs, por sus siglas en inglés, que usaremos a lo largo de este escrito para evitar confusión con el término CD "cluster of differentiation") poseen un papel central en la activación de la respuesta inmune y en el mantenimiento de la tolerancia. En los últimos años, se ha demostrado que el estradiol regula la diferenciación, y algunas otras funciones de las DCs, tanto *in vitro*, como *in vivo*. En general, es importante destacar que el estradiol puede tener efectos benéficos o perjudiciales, dependiendo del contexto fisiológico. El presente trabajo presenta un resumen de los efectos descritos del estradiol sobre las DCs, comparando la información obtenida de los estudios *in vitro* contra los efectos del estradiol sobre las DCs *in vivo*, haciendo énfasis en su papel durante la enfermedad y el posible uso de ésta información para su aplicación clínica.

**Key words.** Sex steroids. Dendritic cells. 17 $\beta$ -estradiol. Immune system. Antigen presentation. Autoimmunity. Sexual dimorphism.

**Palabras clave.** Esteroides sexuales. Células dendríticas. 17 $\beta$ -estradiol. Sistema inmune. Presentación antigenica. Autoinmunidad. Dimorfismo sexual.

## INTRODUCCIÓN

Es bien conocido que algunas hormonas esteroideas, tales como los glucocorticoides poseen efectos sobre el sistema inmune.<sup>1</sup> Pero, los glucocorticoides son sólo un ejemplo de una extensa lista de hormo-

nas con efectos inmunorreguladores, que forman parte de una red de comunicación entre los sistemas inmune, nervioso central y endocrino. Mediante esta red de comunicación, se coordinan varios procesos biológicos, tales como el metabolismo, la reproducción y el desarrollo de diversas respuestas inmunes,

por lo que es muy importante para mantener la homeostasis en los vertebrados en general, y en los mamíferos en particular.<sup>1</sup> Entre las varias hormonas que participan en la comunicación neuroinmunoendocrina, se encuentran los esteroides sexuales, reconocidos por su participación en el desarrollo de los caracteres sexuales secundarios y su relación con la fertilidad. Sin embargo, también poseen una extensa gama de otros efectos, que no son sólo reproductivos sobre el organismo. Se ha demostrado previamente, que los esteroides sexuales modulan el estado de ánimo, la masa ósea, la presión arterial, la neuroprotección a enfermedades neurodegenerativas, pero, sobre todo, las funciones de varios tipos celulares dentro del sistema inmune.

El efecto de los esteroides sexuales sobre el sistema inmune merece atención, ya que varias enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso generalizado, la esclerosis múltiple y la artritis reumatoide, son más frecuentes en las mujeres que en los hombres. Por otro lado, las mujeres son más resistentes a varias infecciones (por varios patógenos), y es claro que las diferencias en susceptibilidad entre los sexos se pueden observar mejor en el laboratorio con diversos modelos animales. Se ha sugerido que las hembras poseen un sistema inmune más robusto que los machos, y que estas diferencias son el resultado, al menos en parte, de los efectos del 17 $\beta$ -estradiol (E2) sobre el sistema inmune.<sup>2-5</sup> Particularmente, el E2 afecta las funciones de células NK, macrófagos, mastocitos y linfocitos,<sup>5</sup> además de que puede modular la resistencia a infecciones parasitarias.<sup>6</sup> Sin embargo, los efectos del E2 sobre el sistema inmune dependen del contexto y no siempre necesariamente se relacionan a la resistencia contra las infecciones, como es en el caso de la cisticercosis experimental murina,<sup>6</sup> o a la susceptibilidad en la autoinmunidad, cómo en la encefalomielitis experimental autoinmune o el lupus eritematoso generalizado.<sup>7</sup> Los efectos del E2 sobre el sistema inmune son pleiotrópicos, y su participación en el desarrollo de las respuestas inmunes puede ser mejor entendido como la suma de los efectos del E2 sobre los distintos tipos celulares que participan en éstas. A su vez, los efectos del E2 sobre el sistema inmune varían en función del contexto en el que son analizadas, como discutiremos más adelante.

En el presente trabajo nos enfocamos a analizar y discutir los efectos del E2 sobre uno de los protagonistas del sistema inmune que sirven de interfase entre la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa, como son las DCs.

## LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS

Desde hace más de 30 años, las DCs se han reconocido como potentes estimuladoras de la respuesta proliferativa de los linfocitos T, y hoy se distinguen como las células presentadoras de antígenos más eficientes, ya que son superiores a los macrófagos en el desempeño de esta función.<sup>8</sup> Esta condición resalta su importancia en la defensa del organismo contra las infecciones y en el desarrollo de enfermedades autoinmunes.

Las DCs son capaces de endocitar células apoptóticas, y además también hacen lo propio a diversos patógenos y sus productos. Las DCs procesan y presentan a los productos de endocitosis a los linfocitos T en el contexto de moléculas del complejo principal de histocompatibilidad (CPH), en forma de complejos antigenicos. Las interacciones entre DCs y linfocitos T pueden llevar a la activación de la inmunidad adaptativa o a la generación de tolerancia periférica, dependiendo de las características de los elementos endocitados por las DCs, y de las condiciones en que esto ocurre.<sup>8,9</sup> En el primer caso, las DCs presentan complejos antigenicos junto con señales co-estimuladoras que son transmitidas por la expresión de las moléculas CD80 y CD86 (también llamadas B7.1 y B7.2, respectivamente), activando a aquellos linfocitos que reconozcan al complejo antigenico. Además de activar a los linfocitos T, las DCs pueden programar la diferenciación de los linfocitos T cooperadores hacia un perfil Th1 o Th2, mediante la secreción de citocinas y patrones de expresión de las moléculas co-estimuladoras.<sup>10</sup> En el segundo caso, las DCs pueden causar anergia o la apoptosis de los linfocitos T que reconocen los antígenos presentados por las DCs en ausencia de señales co-estimuladoras o por la expresión de moléculas accesorias supresoras como PD-L1 y PD-L2.<sup>11</sup>

Una vez iniciada la respuesta inmune, las DCs regulan la duración e intensidad de las respuestas con utilidad para el control de enfermedades inflamatorias.<sup>12</sup> También poseen funciones efectoras en las respuestas inmunes innatas, producen interferón alfa (IFN- $\alpha$ ) ante el reconocimiento de virus,<sup>13</sup> iniciando procesos inflamatorios tras reconocer patrones moleculares asociados a patógenos y activando a otras células de la inmunidad innata como las NK.<sup>14</sup>

## TIPOS DE DCs

Las DCs son un conjunto bastante heterogéneo de células que varían en fenotipo y función; sin embargo, la mayoría de estas células se puede distin-

uir por expresar niveles elevados de la molécula CD11c y de moléculas de la clase II del CPH (CPH-II). La clasificación de las DCs ha sido abordada recientemente en dos revisiones.<sup>15,16</sup>

Los estudios del efecto del E2 sobre las DCs se han enfocado a tres categorías de este tipo celular, reconocibles por la expresión de marcadores de membrana y diferencias funcionales, éstas son: las DCs convencionales (cDCs) caracterizadas por expresar los marcadores CD11c y CPH-II en ausencia de los marcadores B220 y NK1.1 (CD11c<sup>+</sup>/CPH-II<sup>+</sup>/B220<sup>-</sup>/NK1.1<sup>-</sup>), y en general secretan IL-12 en respuesta a los estímulos por lipopolisacáridos (LPS).<sup>15,16</sup> Las cDCs pueden ser subdivididas en varias categorías con base en la expresión de otros marcadores como CD11b, Ly6C y el homodímero CD8α.<sup>15,16</sup> El segundo grupo de DCs al que nos referiremos son las células dendríticas plasmacitoides (pDCs) que expresan los marcadores CD11c<sup>+</sup>/B220<sup>+</sup>/NK1.1<sup>-</sup> y niveles variables de CPH-II. Estas células se caracterizan por una abundante secreción de interferones del tipo I (IFN-I) en respuesta a varios tipos de patógenos intracelulares como los virus encapsulados.<sup>17</sup> El tercer tipo, son las recientemente descritas DCs asesinas productoras de interferón (IKDCs).<sup>18</sup> Las IKDCs pueden secretar IL-12, IFN-γ o IFN del tipo I dependiendo del estímulo, y se distinguen por expresar una combinación de marcadores de moléculas membranales característicos de DCs y de células NK que incluyen a CD11c<sup>+</sup>/CPH-II<sup>+</sup>/B220<sup>-</sup>/NK1.1<sup>+</sup>/CD49b<sup>+</sup>.<sup>19</sup> La naturaleza de las IKDCs es polémica, algunos sugirieron que en realidad son células NK activadas,<sup>20</sup> mientras que otros sostienen que su ontogenia difiere de las NK.<sup>21</sup>

#### ESTRADIOL Y SUS RECEPTORES

Los estrógenos son un conjunto de hormonas esteroideas que incluyen al estriol, la estrona y el estradiol. El estradiol (E2) es el más abundante y de mayor relevancia fisiológica en las mujeres en edad reproductiva. Los estrógenos son producidos por la aromatización de los andrógenos, por ejemplo, la testosterona sufre la pérdida del grupo angular C-19 y la formación de un anillo aromático y da origen al E2. La principal fuente de estrógenos son los ovarios y la placenta, aunque hay otros órganos importantes de producción de estrógenos como la piel y el cerebro.

Los estrógenos señalizan a través de receptores citoplasmáticos llamados receptor a estrógenos (RE), de los que hay dos subtipos principales, que son codificados por dos diferentes genes: el RE $\alpha$  y el

RE $\beta$ . La unión del E2 a los RE causa la dimerización del receptor y su translocación al núcleo, en donde interactúan con secuencias del DNA llamadas elementos de respuesta a estrógenos, y promueve o inhibe la expresión de genes. Cada dímero del RE posee distintas afinidades por los elementos de respuesta a estrógenos, y el número de cada isoforma de RE varía entre células, razón por la cual la gama de efectos del E2 es bastante amplia.<sup>22</sup>

A lo anterior se suman los efectos no genómicos del E2, mediados por receptores de membrana entre los que se incluye GPR30, que a diferencia de los receptores ubicados en el citoplasma generan efectos en tiempos muy cortos caracterizados por cambios en el flujo intracelular de iones y la fosforilación de proteínas, que a su vez pueden llevar a la activación de genes.<sup>23</sup>

#### DIFERENCIACIÓN DE DCs *IN VITRO*

Las DCs pueden diferenciarse a partir de precursores mieloides y linfoides contenidos en la población Lin<sup>-</sup>/c-kit<sup>+</sup>/Flt3<sup>+</sup> de las células de la médula ósea del ratón, entre los que se incluyen el progenitor multipotencial de médula ósea, el progenitor común mieloide y el progenitor común linfoidal.<sup>24</sup> Cabe resaltar que cada uno de los progenitores es capaz de generar pDCs y todos los subtipos de cDCs, es decir, el fenotipo de las cDCs no es un reflejo de su linaje mieloide o linfoidal, razón por la cual se ha considerado que los términos DCs "linfoides" (CD8α<sup>+</sup>) y DCs "mieloideos" (CD8α<sup>-</sup>) no son adecuados; sin embargo, siguen siendo frecuentes en la literatura.

Los precursores para la diferenciación de DCs *in vitro* se obtienen típicamente de la médula ósea de animales, o de monocitos periféricos CD14<sup>+</sup> de sangre periférica del humano.<sup>25</sup> Hay varios métodos para la diferenciación de DCs *in vitro*, pero únicamente se han empleado dos de éstos para el estudio de los efectos del E2 sobre las DCs. El primero de estos métodos consiste en cultivar durante aproximadamente ocho días precursores en un medio que contenga factor estimulante formador de colonia de granulocitos y macrófagos (GM-CSF, por sus siglas en inglés), lo que da origen a cDCs CD8α<sup>-</sup> "mieloideos". El GM-CSF puede ser empleado junto con otras citocinas como IL-4, generando DCs que presentan características distintas en comparación a las diferenciadas con GM-CSF únicamente.<sup>16,26,27</sup>

El segundo método para diferenciar DCs, es muy semejante al primero, pero en este caso GM-CSF es sustituido por el ligando de la tirosina cinasa Flt3

(Flt3-L), de esta manera se da origen a varios subtipos de cDCs y a pDCs. Los tipos de DCs generadas varían dependiendo del uso del GM-CSF o Flt3-L. Ambas citocinas tienen papeles importantes en la diferenciación de las DCs *in vivo*, el GM-CSF se ha relacionado a la resistencia contra infecciones y tumores, además de regular el desarrollo de inflamación patológica.<sup>28</sup> Flt3-L ha demostrado ser indispensable para el mantenimiento de varias poblaciones de DCs en condiciones fisiológicas (en ausencia de inflamación o infección).<sup>29,30</sup>

#### EFFECTOS DEL E2 SOBRE LA DIFERENCIACIÓN DE DCs *IN VITRO*

El efecto del E2 y la participación de los RE sobre la diferenciación de DCs en cultivos estimulados por el GM-CSF han sido abordados por varios grupos de investigadores y es el mejor caracterizado. El E2 es un componente relevante en los medios de cultivo para la diferenciación de DCs, a pesar de que esto no resulte obvio ya que en la mayoría de los cultivos se emplean medios “regulares” que contienen rojo fenol y suero fetal bovino, el primero es un agonista débil de los RE,<sup>31</sup> mientras que el suero fetal bovino contiene E2 y mantienen las concentraciones de esta hormona entre 0.03 y 0.55 nM.<sup>32,33</sup>

Varios grupos han demostrado que el porcentaje de DCs (CD11c<sup>+</sup>/CPH-II<sup>+</sup>) diferenciadas en cultivos estimulados por el GM-CSF, es considerablemente mayor en medios que contienen E2 en concentraciones entre 0.01 y 1.0 nM, en comparación a los medios que contienen concentraciones menores, o en los que se incluyó algún antagonista de los RE como ISI182, 780 (ISI) o Tamoxifen.<sup>30,32,34,35</sup> El aumento en el porcentaje de DCs estimulado por E2 es proporcional a la disminución en el porcentaje de células mieloides, caracterizadas por la expresión de marcadores CD11c<sup>+</sup>/Gr-1<sup>+</sup>/CPH-II<sup>+</sup>, que pueden contener precursores no diferenciados de las DCs.<sup>35,36</sup> El E2 no afecta la sobrevivencia de las células en los cultivos estimulados por el GM-CSF.<sup>34,36,37</sup>

En línea con lo anterior, el porcentaje de DCs generadas por progenitores en los que se ha suprimido la expresión del RE $\alpha$  (RE $\alpha^{-/-}$ ) es equivalente a la proporción de DCs generada en medios deficientes de esteroides, que es hasta cuatro veces menor a las DCs generadas en medios regulares (que contienen suero fetal bovino y por tanto E2) empleando precursores silvestres. Los precursores RE $\alpha^{-/-}$  no responden a diferencias en la concentración del E2, mientras que los efectos sobre el porcentaje de DCs derivadas de precursores RE $\beta^{-/-}$  son más modestos y responden a

cambios en la concentración del E2. Lo anterior implica que el RE $\alpha$  tiene un papel central en los efectos del E2 sobre la diferenciación de las DCs en cultivos estimulados por el GM-CSF.<sup>36,37</sup>

Las DCs diferenciadas en medios regulares que contengan suero fetal bovino son tan capaces como las DCs diferenciadas en medios que contienen 10.0 nM del E2 (mucho más de lo que contienen los medios regulares) para estimular la respuesta proliferativa en reacciones mixtas alogénicas, pero el número de DCs diferenciadas aumenta en función de la concentración del E2.<sup>32,36</sup>

#### EFFECTOS DEL E2 Y LOS RE EN LA COMPOSICIÓN DE DCs *IN VITRO* EN CULTIVOS ESTIMULADOS POR EL GM-CSF

Los cultivos de células de médula ósea contienen varios progenitores de linajes distintos, cada progenitor puede dar origen a distintos subtipos de cCDs al ser estimulados por GM-CSF.

El E2 regula la diferenciación de distintas subtipos de DCs a partir de un mismo progenitor purificado, es decir, progenitores que comparten un mismo fenotipo.<sup>37</sup> Además, los efectos del E2 son efectuados directamente sobre las células en diferenciación, y son independientes de la producción de factores de crecimiento por otras células de la médula ósea en el cultivo.<sup>36</sup>

Los efectos del E2 sobre la diferenciación de las DCs a partir de precursores de médula ósea estimulados por el GM-CSF varían entre las subpoblaciones de DCs (CD11c<sup>+</sup>/CPH-II<sup>+</sup>) diferenciadas,<sup>32,35,36</sup> estas subpoblaciones se pueden distinguir de las demás por la intensidad con la que expresan CD11b, así como por la presencia o ausencia de expresión de Ly6C, de manera que se pueden reconocer algunas subpoblaciones que expresan Ly6C y niveles de medios a altos de CD11b (CD11b<sup>brillante/med</sup>/Ly6C<sup>+</sup>) y una subpoblación que expresa niveles medios de CD11b pero que carece de Ly6C (CD11b<sup>med</sup>/Ly6C<sup>-</sup>).<sup>32,35,36</sup> Esta última presenta varias características semejantes a las células de Langerhans en la piel como la morfología, posesión de gránulos de Brübeck y transcripción de mRNA para Langerina.<sup>35</sup>

La diferenciación de las DCs Ly6C<sup>-</sup>/CD11b<sup>med</sup> que contiene a las DCs con características de Langerhans<sup>35</sup> depende del RE $\alpha$ <sup>36</sup> y su porcentaje es hasta cuatro veces mayor en los medios que contienen E2 en comparación a los medios deficientes en esteroides.<sup>32,35,36</sup> Las poblaciones de DCs Ly6C<sup>+</sup> parecen ser más heterogéneas en su dependencia por E2, mientras que la población de DCs Ly6C<sup>+</sup>/CD11b<sup>brillante</sup>

quizás sea favorecida por la presencia del E2,<sup>35</sup> el número absoluto de la subpoblación Ly6C<sup>+</sup>/CD11b<sup>med</sup> no es afectado por la concentración del E2.<sup>36</sup>

De cualquier manera, la concentración del E2 puede cambiar la composición de las DCs diferenciadas en cultivos estimulados por el GM-CSF. Las DCs Ly6C<sup>-</sup>/CD11b<sup>med</sup> son la subpoblación dominante de DCs diferenciadas por el GM-CSF en medios con concentraciones del E2 próximas o mayores a 0.1 nM, mientras que en concentraciones menores del E2, o en cultivos iniciados con precursores REα<sup>-/-</sup> la gran mayoría de las DCs diferenciadas corresponden a las Ly6C<sup>+</sup>/CD11b<sup>med/brillante</sup>.<sup>36</sup>

Las diferencias en la composición de DCs tienen consecuencias funcionales, ya que las DCs Ly6C<sup>+</sup>/CD11b<sup>brillante</sup> son más eficientes en la endocitosis de varias moléculas como dextran y albúmina en comparación a las Ly6C<sup>-</sup>/CD11b<sup>med</sup>.<sup>32</sup> Las DCs Ly6C<sup>-</sup>/CD11b<sup>med</sup> presenta una expresión menor del receptor semejante a Toll 4 (TLR4, por sus siglas en inglés), no obstante su expresión de moléculas del CPH y la molécula coestimuladora CD86 es más intensa tras la exposición a lipopolisacáridos (LPS). Las DCs Ly6C<sup>-</sup> en comparación a las DCs Ly6C<sup>+</sup> son más potentes en la estimulación de la respuesta proliferativa de linfocitos T en reacciones mixtas alo-génicas.<sup>35</sup>

#### CONSECUENCIAS FUNCIONALES RELACIONADAS A LA EXPOSICIÓN A E2 DURANTE LA DIFERENCIACIÓN DE DCs EN MEDIOS ESTIMULADOS POR EL GM-CSF *IN VITRO*

Además de moldear a las subpoblaciones durante la diferenciación de las DCs, la activación del REα regula la adquisición de funciones efectoras dentro de una misma subpoblación de DCs.<sup>36</sup> La expresión de moléculas del CPH-II en las DCs no estimuladas es proporcional a la concentración del E2 en el medio de cultivo, especialmente entre concentraciones de 0.01 a 0.1 nM. Estas diferencias también se observan tras algunos estímulos. La expresión de CD40, CD86 y CPH-II, así como la producción de IL-12 tras la estimulación por LPS u oligodeoxinucleótidos de citosina guanina (CpG), es mayor en las DCs diferenciadas en medios cuya concentración del E2 es 1.0 nM en comparación a las DCs diferenciadas en concentraciones menores. Sin embargo, la concentración del E2 durante la diferenciación de las DCs no parece tener efectos sobre la expresión de los marcadores mencionados arriba cuando las DCs son

estimuladas con RNA de doble cadena sintético (poli I:C) o a la combinación de IL-12 e IL-18.<sup>34</sup> Como sería de esperar, DCs diferenciadas en medio con concentraciones del E2 menores a 0.01 nM, son mucho menos eficientes en la estimulación de la respuesta proliferativa de los linfocitos T, aún tras ser estimuladas por ligandos de los TLRs incluyendo poli I:C,<sup>34-36</sup> esto podría relacionarse con una disminución en la expresión de moléculas del CPH y CD86 aún en las DCs Ly6C<sup>+</sup>.<sup>34,35</sup>

Sorpresivamente, las DCs REα<sup>-/-</sup> secretan más TNF-α, IL-6 e IL-12p70 al ser estimuladas por LPS o poli I:C, pero producen ligeramente menos citocinas al ser estimuladas por CpG en comparación a las DCs silvestres. Las DCs REα<sup>-/-</sup> como las DCs diferenciadas en medios deficientes de esteroides son sumamente ineficientes en la producción de IL-6 e IL-12p40 al ser estimuladas por CD40L y en la estimulación de la respuesta proliferativa de linfocitos T.<sup>36</sup>

#### E2 AFECTA LA DIFERENCIACIÓN DE MONOCITOS CD14<sup>+</sup> DE SANGRE HUMANAESTIMULADOS POR EL GM-CSF + IL-4 *IN VITRO*

Los RE probablemente regulen la diferenciación de DCs a partir de monocitos CD14<sup>+</sup> de sangre periférica estimulados *in vitro* por el GM-CSF e IL-4, ya que los antagonistas de los RE ICI 182,780 inhiben la expresión del marcador CD1a y la formación de procesos dendríticos. Sin embargo, las DCs diferenciadas a partir de precursores de sangre periférica presentan niveles comparables en la expresión de CD1a o formación de procesos dendríticos al ser cultivadas en medios con concentraciones del E2 entre 0.7 y 0.13 nM.<sup>33</sup>

#### E2 REDUCE LA VIABILIDAD DE LAS CÉLULAS EN LOS CULTIVOS ESTIMULADOS POR FLT3-L *IN VITRO*

Los efectos del E2 en la diferenciación de DCs a partir de cultivos estimulados por Flt3-L han sido menos estudiados, de hecho sólo encontramos un ejemplo en literatura.<sup>37</sup> En este estudio describen tres poblaciones de DCs, una población que corresponde a pDCs (CD11c<sup>+</sup>/B220<sup>+</sup>/CPH-II<sup>+</sup>), y dos poblaciones de cDCs (CD11c<sup>+</sup>/B220<sup>-</sup>/CPH-II<sup>+</sup>) una que podría corresponder a DCs "linfoides", es decir, CD8α<sup>+</sup> definida por los autores como (CD11c<sup>+</sup>/CD11b<sup>-/med</sup>) y otra población de cDCs que los autores definen como (CD11c<sup>+</sup>/CD11b<sup>+</sup>).<sup>37</sup> En concentraciones iguales o mayores a 0.1 nM, el E2 disminuye

Cuadro 1. Efectos de la concentración del E2 en el medio de cultivo de DCs del bazo cultivadas *ex vivo*.

	Concentración del E2	0.1nM	10 nM	0.1 uM	1.0 uM
Fenotipo de DCs					
MHC-I	=	=	=	=	=
MHC-II	=	↑	↑	↑	↑
CD40	=	↑	=	=	=
CD54	=	↑	=	=	=
CD80	=	=	=	=	=
CD86	=	=	=	=	=
Función de DCs					
Sobrevivencia de DCs	=	=	↑	=	=
Traslación de NfkBp65 al núcleo	=	=	↓	↓	↓
Endocitosis	=	↓	↓↓	↓↓	↓↓
Capacidad para estimular linfocitos T	=	↑	↓	↓	↓
Producción de citocinas					
IL-6	=	=	↑	↑	↑
IL-10	=	=	↑	↑	↑
IL-12	=	↓*	↑*	↑*	↓*
TNF-α	=	=	=	=	=

↑: Incrementa. ↓: Disminuye. \*: Las diferencias no llegan a ser estadísticamente significativas ( $P > 0.05$ ), pero se aproximan. Tabla desarrollada a partir de la información presentada por Yang L, *et al.*<sup>40</sup>

drásticamente la viabilidad de las células en los cultivos estimulados por Flt3-L, especialmente de las células que al final del cultivo no se diferencian en DCs, esto resulta en el aumento del porcentaje de DCs diferenciadas en relación al total de células viables, pero reduciendo notoriamente el número total de DCs que sobrevive al final del cultivo. Los efectos del E2 sobre la viabilidad de las células en los cultivos estimulados por Flt3-L son mediados principalmente por el REα.<sup>37</sup> Las subpoblaciones de DCs más sensibles al efecto del E2 en este modelo de diferenciación son las pDCs (CD11c<sup>+</sup>/B220<sup>+</sup>) y la subpoblación de cDCs “linfoides” (CD11c<sup>+</sup>/CD11b<sup>-med</sup>).<sup>37</sup> No parece haber diferencias en la respuesta a LPS o CpG entre las pDCs diferenciadas en medios deficientes en esteroides y las pDCs diferenciadas en medios con E2 en concentración de 1.0 nM, ambos grupos incrementan de manera semejante la expresión de CD40, CD86 y CPH-II. En contraste, E2 promueve la expresión de los marcadores mencionados en las cDCs al estimularlas con LPS.<sup>37</sup>

#### E2 REGULA LAS FUNCIONES DE LAS DCs DESPUÉS DE SU DIFERENCIACIÓN *IN VITRO*

Los efectos del E2 sobre las DCs no se limitan a su diferenciación, las DCs expresan los RE nuclea-

res y un receptor de estrógenos de membrana (GPR30).<sup>33,38,39</sup> Las DCs del bazo tienen un tiempo de vida de 10 a 14 días y las células de Langerhans permanecen en la piel por períodos mucho mayores,<sup>26</sup> durante este tiempo las concentraciones del E2 podrían tener efectos sobre las DCs presentes en los tejidos.

Las concentraciones próximas a 1.0 μM del E2 que se observan durante el último trimestre del embarazo, incrementan modestamente la supervivencia y aumentan significativamente la producción de IL-6 e IL-10 por las DCs del bazo mantenidas en cultivo, pero disminuyen la expresión de CD40, CD54, y la translocación de NFκB al núcleo, así como la capacidad de las DCs del bazo para estimular la respuesta proliferativa en cultivos mixtos alogénicos. Las concentraciones menores del E2, próximas 10 nM tienen efectos muy distintos, disminuyen la endocitosis, promueven la expresión de CD40 y CD54 así como la capacidad de las DCs para estimular respuestas proliferativas. E2 no parece regular la expresión de las moléculas coestimuladoras CD80 y CD86, ni tampoco la producción de IL-12 o TNF-α en ausencia de estímulos en los cultivos de DCs del bazo del ratón.<sup>40</sup>

Otro estudio basado en los efectos del E2 sobre DCs obtenidas a partir de monocitos CD14<sup>+</sup> de sangre periférica humana diferenciadas por el GM-CSF

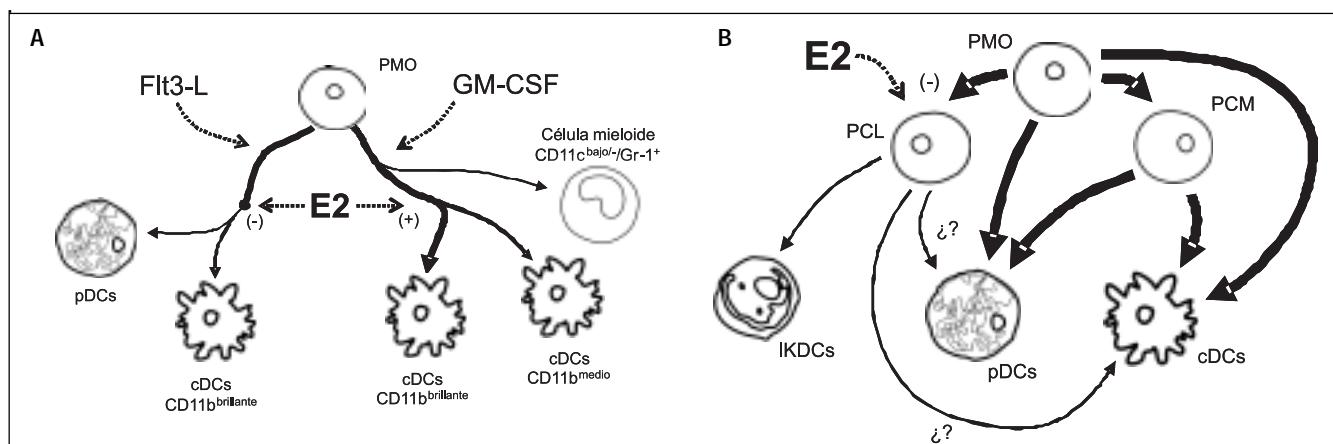
e IL-4 *in vitro*, demuestra que E2 promueve la secreción de CCL1 cuando las DCs son estimuladas por LPS. CCL1 es una quimiocina implicada en el reclutamiento de linfocitos T reguladores y Th2, sugiriendo que E2 y particularmente el RE tienen un papel importante en la colocalización de distintos tipos de linfocitos T y las DCs *in vivo*.<sup>33</sup> En este mismo estudio, reportan que las concentraciones del E2 no afectan la expresión de CPH-II, CD40, CD80, CD83, CD86, CD1a, ni tampoco la producción de la mayoría de las quimiocinas o la capacidad de las DCs para estimular la respuesta proliferativa cuando las DCs son expuestas a LPS. Sin embargo, la concentración del E2 en el medio regula la secreción de IL-10 e IL-12p70 por las DCs estimuladas mediante CD40L. De manera interesante, cuando las DCs son activadas por LPS previo a ser estimuladas por CD40L, producen menos citocinas en comparación a las DCs estimuladas únicamente por CD40L. En estas condiciones, las DCs que después de diferenciadas fueron cultivadas en medios con concentraciones cercanas a 0.1 uM del E2 mantienen un secreción mayor de ambas citocinas en comparación a las DCs mantenidas en concentraciones menores del E2, estas diferencias son más notorias en la producción de IL-10. En línea con lo anterior, cuando las DCs son estimuladas por LPS y CD40L, la producción de las citocinas IL-5, IL-10 e IL-13 por los linfocitos T aumenta en función de la concentración del E2 en el medio de las DCs que los estimularon, con los efectos más marcados en un rango de 0.001 a 0.1 uM.<sup>33</sup> Otro estudio presenta datos similares, la exposición

de las DCs a E2 previo a la activación de los linfocitos T disminuye la producción de IFN-γ y TNF-α por los linfocitos.<sup>41</sup>

## EFFECTOS DEL E2 SOBRE LAS DCs *IN VIVO*

A diferencia de lo que podría esperarse a partir de los experimentos *in vitro*, en donde se ha demostrado que el E2 reduce el número pDCs por su efecto sobre la viabilidad de precursores estimulados por Flt3-L<sup>37</sup> y altera las proporciones de cDCs diferenciadas en respuesta al GM-CSF,<sup>32,35,36</sup> en el modelo murino la administración de cápsulas de liberación prolongada del E2 reduce drásticamente el número de los progenitores linfoideos pero no afecta el número de pDCs diferenciadas en la médula ósea ni en el bazo,<sup>34,42</sup> por lo que se ha sugerido que al menos en condiciones fisiológicas las pDCs derivan de un progenitor mieloide resistente al E2.<sup>42</sup>

En ausencia de estímulos inmunes o de condiciones estresantes, el rango de concentraciones del E2 observados entre hembras gonadectomizadas, intactas y tratadas con cápsulas de liberación prolongada del E2 (manteniendo niveles constantes de esta hormona semejantes a los del estro) no afectan el número absoluto de DCs (CD11c<sup>+</sup>/CPH-II<sup>brillante</sup>) en el bazo o la composición de las cDCs, es decir el porcentaje de DCs CD11b<sup>+</sup>, CD8α<sup>+</sup>, ni la expresión de CD40 o CD86.<sup>34</sup> Sin embargo, la exposición a niveles constantes del E2 disminuye el número de IKDCs en el bazo y en la médula ósea,<sup>20,34</sup> promueve su pro-



**Figura 1.** Efectos del E2 sobre la diferenciación de las DCs. **A.** Efectos del E2 en la generación de DCs *in vitro* a partir de precursores de médula ósea (PMO). **B.** Efectos del E2 *in vivo* sobre la diferenciación de DCs a partir de progenitores de médula ósea, observado en la composición de DCs del bazo. Flt3-L: ligando de la tirosina cinasa Flt3; GM-CSF: Factor estimulante formador de colonia de macrófagos y monocitos; PCL: Precursor común linfoides; PCM: Precursor común mieloide; IKDCs: Células dendríticas asesinas productoras de interferón; pDCs: Células dendríticas plasmacitoideas; cDCs: Células dendríticas convencionales; Promueve (+); Inhibe (-). El grosor de las flechas indica el número de DCs diferenciadas.

ducción de IFN- $\gamma$  al ser estimuladas por la combinación de IL-12 e IL-18<sup>34</sup> y tiene el efecto contrario cuando las IKDCs son estimuladas por CpG.<sup>20</sup>

#### ESTRADIOL PROTEGE A LAS DCs DEL CHOQUE HEMORRÁGICO *IN VIVO*

Varios reportes informan que hay diferencias marcadas entre los sexos en el funcionamiento del sistema inmune después de las lesiones hemorrágicas o de procedimientos quirúrgicos. La sepsis y falla orgánica múltiple es más frecuente en los hombres y las personas de edad avanzada, en comparación a las mujeres en edad reproductiva que tienden a presentar un mejor progreso.<sup>43</sup> Estas observaciones se han estudiado en modelos animales de trauma hemorrágico, en los que se confirma que las hembras de ratón durante el proestro mantienen un mejor funcionamiento cardiovascular e inmune en comparación a machos y hembras en otras etapas del ciclo estral. La administración del E2 tiene efectos protectores en los machos. La inmunosupresión durante el periodo post-choque se caracteriza por deficiencia en las funciones de varias células inmunes entre las que se encuentran linfocitos B y T, macrófagos y DCs, además se observa una fuerte liberación de IL-6 y TNF- $\alpha$  al poco tiempo de la hemorragia, seguida por un pico elevado de IL-10. La administración del E2 junto con suero durante el rescate tiene la facultad de mantener los niveles de citocinas semejantes a los de animales sanos.<sup>44,45</sup>

Tan sólo dos horas después del choque hemorrágico se observa una reducción en el porcentaje de DCs (CD11c) en el bazo, las DCs que permanecen disminuyen drásticamente la expresión del TLR4 y la producción de las citocinas TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-12 ante el estímulo por LPS, además de la producción de IFN- $\gamma$  estimulada por IL-12.

En los modelos animales no parece haber efecto del trauma sobre la expresión de CD80 y CD86 en las DCs del bazo, pero si en la expresión de CPH-II y de CD83 que es disminuida al igual que su capacidad para activar la respuesta proliferativa de linfocitos T.<sup>43,46</sup>

Al igual que con las funciones de otras células del sistema inmune como los macrófagos, la administración subcutánea del E2 (50ug/k de masa corporal) previene los efectos del trauma hemorrágico en las DCs del bazo, disminuyendo la tasa de apoptosis de las DCs, promoviendo la secreción de IL-12 e IFN- $\gamma$  en respuesta a LPS, así como la activación de linfocitos Th1.<sup>44,45</sup>

Tanto la administración del E2 como del propil pizazole triol (PPT), un agonista del RE $\alpha$  protegen a

machos y hembras, mientras que el antagonista selectivo del RE $\beta$ , diarilpropionitrilo no presentó efectos protectores, sugiriendo que la benevolencia de los estrógenos sobre las DCs durante el trauma hemorrágico son mediadas a través del RE $\alpha$ . Los autores de este estudio sugieren que los efectos del E2 sobre las DCs son una de las causas de las diferencias observadas entre los sexos en el desarrollo de sepsis tras el choque hemorrágico.<sup>47</sup>

#### E2 SOBRE LAS DCs EN LA ESCLEROSIS MÚLTIPLE *IN VIVO*

La esclerosis múltiple es una enfermedad crónica en la que el paciente sufre la desmielinización del sistema nervioso central, y se considera que posee al menos un componente autoinmune contra antígenos de la mielina,<sup>48</sup> entre los que se incluyen linfocitos Th1 y Th17. En años recientes los linfocitos Th17 han ganado interés, estos linfocitos se caracterizan por la secreción de las citocinas IL-17 y en menor medida IL-21, poseen un papel importante en el desarrollo de varias enfermedades inflamatorias autoinmunes.<sup>68</sup> Los linfocitos Th17 pueden permear la barrera hematoencefálica mediante la secreción de IL-17 e IL-22, participando en la inflamación del sistema nervioso central y en el reclutamiento de otras células inmunes, además, los linfocitos Th17 poseen actividad citolítica.<sup>69</sup>

La esclerosis múltiple ha sido ampliamente estudiada en modelos animales de encefalomielitis experimental autoinmune (EEA) en los que se induce una respuesta autoinmune contra antígenos restringidos al sistema nervioso central con el empleo de adyuvantes.<sup>49</sup>

Como en muchas otras enfermedades autoinmunes, la incidencia de la esclerosis múltiple es notoriamente mayor en las mujeres en comparación a los hombres. Posiblemente las diferencias entre los sexos sea el resultado de varios factores, pero se piensa que las hormonas sexuales tiene un papel determinante.<sup>50</sup> De manera interesante, se ha reportado que los niveles séricos del E2 de los hombres que padecen esta enfermedad son más del doble en comparación a hombres sanos,<sup>51</sup> quizás estas diferencias sean consecuencia de la aromatización de la testosterona a E2 estimulada por el incremento de citocinas pro inflamatorias.<sup>52</sup> Sin embargo, los niveles elevados del E2 en los hombres se presentan durante las recaídas y en períodos de remisión, y son siempre menores a los niveles del E2 en las mujeres en el último trimestre del embarazo, que como veremos tiene efectos protectores, sugiriendo que la concen-

tracción del E2 en la sangre puede estar relacionada al desarrollo de la enfermedad en ambos sexos.

En los modelos de EEA y en el humano, durante el periodo final del embarazo hay una marcada disminución en la severidad de la enfermedad y en el número de recaídas.<sup>53,54</sup> Algunos estudios sostienen que en este periodo, la respuesta proliferativa de los linfocitos T, la secreción de citocinas proinflamatorias, Th1 y Th17 disminuyen significativamente, mientras que aumenta el porcentaje de células T reguladoras.<sup>54</sup> La protección se limita al periodo final del embarazo, fuera de este periodo la producción de las citocinas IL-2, 4, 10, 17 e IFN- $\gamma$  y la respuesta proliferativa de los linfocitos T son iguales a los de individuos no embarazados. El suero de los animales en el último periodo del embarazo es capaz de inhibir la respuesta proliferativa y la secreción de IL-2 *in vitro*.<sup>54-58</sup> Los efectos protectores del E2 sobre el sistema inmune en la EEA dependen de la expresión del RE $\alpha$  y no son mediados directamente sobre los linfocitos T reactivos a la mielina,<sup>59</sup> pero están relacionados al efecto de esta hormona sobre macrófagos y DCs.<sup>60,61</sup> Desde hace varios años se ha considerado que las DCs tienen un papel importante en el desarrollo de la EEA,<sup>62</sup> por otro lado, pueden inducir tolerancia y posiblemente tengan potencial terapéutico en la esclerosis múltiple.<sup>63</sup>

Durante la etapa activa de la enfermedad las DCs migran hacia el cerebro y se localizan en los focos inflamatorios junto con linfocitos T, en donde presentan marcadores de maduración como CPH-II, y moléculas coestimuladoras. Se sabe que pueden activar linfocitos T durante el inicio de la enfermedad y se ha sugerido que también pueden participar en la expansión del repertorio de linfocitos reactivos a determinantes de la mielina.<sup>64</sup> En los modelos animales, el tratamiento con E2 una semana antes de la inducción de la EEA, reduce dramáticamente el porcentaje de DCs (CD11c $^+$ /CD11b $^+$ ) en el cerebro, antes, durante el inicio, y en el pico de la encefalomielitis. Una vez que la EEA ha iniciado, la disminución del número de DCs observada en el cerebro se extiende al bazo y los nódulos linfáticos, en donde las DCs restantes producen menos TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ .<sup>41</sup> De manera interesante, los ratones nulos en la expresión de IL-4 o IL-10 también son protegidos por el tratamiento con E2 de los síntomas de la EEA, tanto como sus contrapartes silvestres, sugiriendo que la protección brindada por el E2 no depende de Th2.<sup>65</sup> Algunos autores reportan que no hay diferencias en la expresión de las moléculas coestimuladoras CD80 y CD86, ni en las moléculas accesorias supresoras PD-L1 y PD-L2 antes, durante el emba-

razo o al término de éste.<sup>54</sup> Sin embargo, la protección del E2 durante la EEA depende de la expresión de PD-1, el receptor de PD-L1 y PD-L2, que a su vez se asocia a una disminución en el porcentaje de linfocitos Th17.<sup>41,70</sup>

El E2 también posee efectos protectores en las ratas con EEA; sin embargo, en este modelo el E2 puede incrementar la expresión de CD80 y CD86 en las DCs, aunque también se observa una disminución en su capacidad para estimular a los linfocitos T reactivos a la mielina.<sup>66</sup> La reducción de la respuesta proliferativa de los linfocitos T probablemente esté relacionada a un incremento de la síntesis de la enzima indolemina 2,3-dioxigenasa (IDO) estimulado por el E2 en las DCs.<sup>66,58</sup>

#### EFFECTOS DEL E2 SOBRE LAS DCs EN EL DESARROLLO DE MIASTENIA GRAVIS *IN VIVO*

La administración de cápsulas de liberación prolongada del E2 tres semanas antes de la inmunización aumenta la respuesta Th1 contra el receptor de acetilcolina (AChR). En los animales tratados ocurre un incremento en la producción de IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , e IL-6, sin afectar la producción de IL-4 e IL-10. En este estudio, E2 se relaciona a un aumento en el número de linfocitos Th1 y anticuerpos fijadores de complemento (IgG1a e IgG1b) reactivos al AChR. Sin embargo, los efectos mencionados dependen de la administración de cápsulas de liberación prolongada del E2 tres semanas antes de la inoculación, ya que la administración de las cápsulas del E2 al momento de la inoculación no genera ninguno de los efectos mencionados.

Catorce días después de la inmunización, los autores analizaron la composición de células en el bazo, encontrando que en estas condiciones E2 aumenta el número de linfocitos B y de DCs "linfoides" (CD11c $^+$ /CD11b $^-$  CD8 $\alpha^+$ ). También encontraron que las células del bazo estimuladas con células de *Staphylococcus aureus* e IFN- $\gamma$  de los animales tratados con E2 producen más IL-12. Sugieren que este efecto puede estar relacionado con el incremento en el número de DCs CD8 $\alpha^+$ , que en comparación con las DCs CD8 $\alpha^-$  producen más IL-12 y son mejores promotoras de la activación de linfocitos Th1.<sup>67</sup>

#### CONCLUSIONES

Los efectos del E2 sobre las DCs dependen del contexto en el que se estudien; sin embargo, parece ser que hay algunas constantes. E2 y el RE $\alpha$  parecen ser indispensables en la estimulación de las DCs

por CD40L *in vitro*, la constancia de este requerimiento tiene que ser confirmada *in vivo*, ya que hay varias diferencias entre los resultados *in vitro* e *in vivo*. Entre las diferencias más notorias se encuentran los efectos del E2 en la diferenciación de las DCs, *in vitro* E2 promueve la diferenciación de cDCs a partir de precursores de medula ósea estimulados por el GM-CSF, mientras que reduce los número de pDCs diferenciadas a partir de los mismos precursores estimulados por Flt3-L. E2 no parece afectar el número de cDCs o pDCs en el bazo ni en otros órganos, sino que disminuye el número de IKDCs, probablemente por efectos sobre los precursores linfoides.

Por otro lado, las concentraciones del E2 observadas durante el embarazo pueden regular las funciones de las DCs después de su diferenciación, esto podría tener importancia en algunas circunstancias como en el choque hemorrágico, pero es interesante notar la necesidad de tratar a los animales con E2 varios días antes del reto antigenico para observar efectos de esta hormona en el desarrollo de las enfermedades experimentales autoinmunes mencionadas en este trabajo.

El E2 tiene efectos pleiotrópicos sobre las células del sistema inmune, los cuales se manifiestan durante las condiciones fisiológicas y en el desarrollo de las respuestas inmunes, esta regulación incluye a las DCs, a las que el E2 puede estimular como promotoras de Th1 o Th2, activadoras o supresoras dependiendo del contexto en el que esto se estudie. El estudio de los efectos del E2 sobre las DCs en el desarrollo de las respuestas inmunes puede ser una valiosa fuente de información sobre los mecanismos que causan el dimorfismo sexual observado tanto en la autoinmunidad como en la resistencia a las infecciones.

## PERSPECTIVAS

Recientemente se ha descubierto que las células dendríticas tienen distintas funciones efectoras durante la respuesta inmune. Es cada vez más grande el número de trabajos que atribuyen a estas células acciones clave para suprimir una respuesta inmune contra antígenos propios, previniendo o favoreciendo enfermedades autoinmunes. También existen evidencias de que las DCs controlan respuestas inmunes contra bacterias, virus, parásitos y hongos. La remoción o reducción de esta población celular puede provocar el desarrollo espontáneo de varias enfermedades autoinmunes y puede potenciar la respuesta inmune contra diversos agentes patógenos. A

pesar de la importancia biológica de estas células, no escapan a la regulación por parte de los esteroides sexuales. Así, se abre la posibilidad de que la terapia hormonal sea una opción prometedora para combatir o poder manipular el tipo de respuesta inmune a favor de la salud del paciente. Los esteroides sexuales, como los estrógenos, podrían operar suprimiendo o activando la función celular con base en un estímulo diferente y en el tejido blanco, proporcionando, en parte, una explicación a las diferentes susceptibilidades, entre mujeres y hombres, hacia algunas infecciones y enfermedades autoinmunes. En conjunto, estas evidencias sugieren que el efecto del estradiol no puede generalizarse y afirmar que tiene en particular un efecto específico potenciando o inhibiendo el desarrollo de DCs. Un entendimiento más claro de esta red de interacciones inmunoendocrinas está cambiando considerablemente nuestra concepción de la fisiología y podría afectar profundamente el tratamiento de diversas enfermedades.

## REFERENCIAS

1. Besedovsky HO, del Rey A. Immune-Neuro-Endocrine interactions: Facts and Hypotheses. *Endocrine Rev* 1996; 17: 64-102.
2. Whitacre CC, Reingold SC, O'Looney PA. A gender gap in autoimmunity. *Science* 1999; 283: 1277-8.
3. De León-Nava MA, Morales-Montor J. Immune sexual dimorphism: can sex steroids affect the Th1/Th2 cytokine profile? *Rev Invest Clin* 2006; 58: 161-169.
4. Klein SL. The effects of hormones on sex differences in infection: from genes to behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 2000; 24: 627-638.
5. Roberts CW, Walker W, Alexander J. Sex-associated hormones and immunity to protozoan parasites. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 476-88.
6. Morales-Montor J, Baig S, Hallal-Calleros C, Damian RT. *Taenia crassiceps*: androgen reconstitution of the host leads to protection during cysticercosis. *Experi Parasitol* 2002; 100: 209-16.
7. Matejuk A, Bakke AC, Hopke C, Dwyer J, Vandembark AA, Offner H. Estrogen Treatment Induces a Novel Population of Regulatory Cells, Which Suppresses Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *J Neuroscience Res* 2004; 77: 119-26.
8. Blander JM. Signalling and phagocytosis in the orchestration of host defence. *Cell Microbiol* 2007; 9: 849-50.
9. Steinman RM. The control of immunity and tolerance by dendritic cell. *Pathol Biol* 2003; 51: 59-60.
10. Böttcher I, Bellinghausen I, König B, Knop J, Saloga J. Different regulation of T helper 1- and T helper 2-promoting cytokine signalling factors in human dendritic cells after exposure to protein versus contact allergens. *Immunol* 2008; 123: 139-44.
11. Collins M, Ling V, Carreño BM. The B7 family of immune-regulatory ligands. *Genome Biol* 2005; 6(6): 223 (doi:10.1186/gb-2005-6-6-223).
12. Fujita S, Seino K, Sato K, Sato Y, Eizumi K, et al. Regulatory dendritic cells act as regulators of acute lethal systemic inflammatory response. *Blood* 2006; 107: 3656-64.
13. Fonteneau JF, Gilliet M, Larsson M, Dasilva I, Muñiz C, et al. Activation of influenza virus-specific CD4+ and CD8+ T cells: a new role for plasmacytoid dendritic cells in adaptive immunity. *Blood* 2003; 101: 3520-6.

14. Chan CW, Housseau F. The 'kiss of death' by dendritic cells to cancer cells. *Cell Death Differ* 2008; 15: 58-69.
15. Sato K, Fujita S. Dendritic Cells-Nature and Classification. *Allergol International* 2007; 56: 183-91.
16. Naik SH. Demystifying the development of dendritic cell subtypes, a little. *Immunol Cell Biol* 2008; 86: 439-52.
17. Smit JJ, Lindell DM, Boon L, Kool M, Lambrecht BN, Lukacs NW. The balance between plasmacytoid DC versus conventional DC determines pulmonary immunity to virus infections. *PLoS ONE* 2008; 3(3): e1720.
18. Taieb J, Chaput N, Ménard C, et al. A novel dendritic cell subset involved in tumor immunosurveillance. *Nat Med* 2006; 12: 214-19.
19. Spits H, Lanier LL. Natural killer or dendritic: what's in a name? *Immunity* 2007; 26: 11-16.
20. Vosshenrich CA, Lesjean-Pottier S, Hasan M, Richard-Le Goff O, Corcuff E, et al. CD11cloB220+ interferon-producing killer dendritic cells are activated natural killer cells. *J Exp Med* 2007; 204: 2569-78.
21. Welner RS, Pelayo R, Garrett KP, Chen X, Perry SS, et al. Interferon-producing killer dendritic cells (IKDCs) arise via a unique differentiation pathway from primitive c-kitHiCD62L+ lymphoid progenitors. *Blood* 2007; 109(11): 4825-31.
22. Chen JQ, Delannoy M, Cooke C, Yager JD. Mitochondrial localization of ERalpha and ERbeta in human MCF7 cells. *Am J Physiol Endocrinol* 2004; 286: E1011-E1022.
23. Madak-Erdogan Z, Kieser KJ, Kim SH, Komm B, Katzenellenbogen JA, Katzenellenbogen BS. Nuclear and extranuclear pathway inputs in the regulation of global gene expression by estrogen receptors. *Mol Endocrinol* 2008; 22: 2116-27.
24. D'Amico A, Wu L. The early progenitors of mouse dendritic cells and plasmacytoid predendritic cells are within the bone marrow hemopoietic precursors expressing Flt3. *J Exp Med* 2003; 198: 293-303.
25. Kiertscher SM, Roth MD. Human CD14+ leukocytes acquire the phenotype and function of antigen-presenting dendritic cells when cultured in GM-CSF and IL-4. *J Leukoc Biol* 1996; 59: 208-18.
26. Jacobs B, Wuttke M, Papewalis C, Seissler J, Schott M. Dendritic cell subtypes and in vitro generation of dendritic cells. *Horm Metab Res* 2008; 40: 99-107.
27. Angelov GS, Tomkowiak M, Marcais A, Leverrier Y, Marvel J. Flt3 Ligand-Generated Murine Plasmacytoid and Conventional Dendritic Cells Differ in Their Capacity to Prime Naive CD8 T Cells and to Generate Memory Cells In Vivo. *J Immunol* 2005; 175: 189-95.
28. Fleetwood AJ, Cook AD, Hamilton JA. Functions of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor. *Crit Rev Immunol* 2005; 25: 405-08.
29. Maraskovsky E, Brasel K, Teepe M, Roux ER, Lyman SD, et al. Dramatic increase in the numbers of functionally mature dendritic cells in Flt3 ligand-treated mice: multiple dendritic cell subpopulations identified. *J Exp Med* 1996; 184: 1953-62.
30. McKenna HJ, Stocking KL, Miller RE, Brasel K, De Smedt T, et al. Mice lacking flt3 ligand have deficient hematopoiesis affecting hematopoietic progenitor cells, dendritic cells, and natural killer cells. *Blood* 2000; 95: 3489-97.
31. Berthois Y, Katzenellenbogen JA, Katzenellenbogen BS. Phenol red in tissue culture media is a weak estrogen: implications concerning the study of estrogen-responsive cells in culture. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 2496-2500.
32. Paharkova-Vatchkova V, Maldonado R, Kovats S. Estrogen preferentially promotes the differentiation of CD11c + CD11b(intermediate) dendritic cells from bone marrow precursors. *J Immunol* 2004; 172: 1426-36.
33. Uemura Y, Liu TY, Narita Y, Suzuki M, Matsushita S. 17 Beta-estradiol (E2) plus tumor necrosis factor-alpha induces a distorted maturation of human monocyte-derived dendritic cells and promotes their capacity to initiate T-helper 2 responses. *Hum Immunol* 2008; 69: 149-57.
34. Siracusa MC, Overstreet MG, Housseau F, Scott AL, Klein SL. 17b-Estradiol Alters the Activity of Conventional and IFN-Producing Killer Dendritic Cells. *J Immunol* 2008; 180: 1423-31.
35. Mao A, Paharkova-Vatchkova V, Hardy J, Miller MM, Kovats S. Estrogen selectively promotes the differentiation of dendritic cells with characteristics of Langerhans cells. *J Immunol* 2005; 175: 5146-51.
36. Douine-Echinard V, Laffont S, Seillet C, Delyp L, Krust A, et al. Estrogen Receptor a, but Not b, Is Required for Optimal Dendritic Cell Differentiation and of CD40-Induced Cytokine Production. *J Immunol* 2008; 180: 3661-9.
37. Carreras E, Turner S, Paharkova-Vatchkova V, Mao A, Dascher C, Kovats S. Estradiol Acts Directly on Bone Marrow Myeloid Progenitors to Differentially Regulate GM-CSF or Flt3 Ligand-Mediated Dendritic Cell Differentiation. *J. Immunol* 2008; 180: 727-38.
38. Kawasaki T, Choudhry MA, Suzuki T, Schwacha MG, Bland KI, Choudhry IH. 17b-Estradiol's salutary effects on splenic dendritic cell functions following trauma-hemorrhage are mediated via estrogen receptor-a. *Mol Immunol* 2008; 45(2): 376-85.
39. Sapino A, Cassoni P, Ferrero E, Bongiovanni M, Righi L, et al. Estrogen receptor {alpha} is a novel marker expressed by follicular dendritic cells in lymph nodes and tumor-associated lymphoid infiltrates. *Am J Pathol* 2003; 163: 1313-20.
40. Yang L, Hu Y, Hou Y. Effects of 17b-estradiol on the maturation, nuclear factor kappa B p65 and functions of murine spleen CD11c-positive dendritic cells. *Mol Immunol* 2006; 43: 357-366.
41. Liu HY, Buenafe AC, Matejuk A, Ito A, Zamora A, et al. Estrogen Inhibition of EAE Involves Effects on Dendritic Cell Function. *J Neuroscience Res* 2002; 70: 238-48.
42. Harman BC, Miller JP, Nikbakht N, Gerstein R, Allman D. Mouse plasmacytoid dendritic cells derive exclusively from estrogen-resistant myeloid progenitors. *Blood* 2006; 108: 878-85.
43. Kawasaki T, Choudhry MA, Schwacha MG, Fujimi S, Lederer JA, et al. Trauma-hemorrhage inhibits splenic dendritic cell proinflammatory cytokine production via a mitogen-activated protein kinase process. *Am J Physiol Cell Physiol* 2008; 294: 754-64.
44. Raju R, Bland KI, Chaudry IH. Estrogen: A Novel Therapeutic Adjunct for the Treatment of Trauma-Hemorrhage-Induced Immunological Alterations. *Mol Med* 2008; 14: 213-21.
45. Angele MK, Frantz MC, Chaudry IH. Gender and sex hormones influence the response to trauma and sepsis: potential therapeutic approaches. *Clinics* 2006; 61: 479-88.
46. Kawasaki T, Fujimi S, Lederer JA, Hubbard WJ, Choudhry MA, et al. Trauma-hemorrhage induces depressed splenic dendritic cell functions in mice. *J Immunol* 2006; 177: 4514-20.
47. Kawasaki T, Choudhry MA, Suzuki T, Schwacha MG, Bland KI, Chaudry IH. 17b-estradiol's salutary effects on splenic dendritic cell functions following traumahemorrhage are mediated via estrogen receptor alpha. *Mol Immunol* 2008; 45: 376-85.
48. Wingerchuk DM, Lucchinetti CF, Noseworthy JH. Multiple sclerosis: current pathophysiological concepts. *Lab Invest* 2001; 81: 263-81.
49. Baxter AG. The origin and application of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Nat Rev Immunol* 2007; 7: 904-12.
50. Eskandari F, Webster JI, Sternberg EM. Neural immune pathways and their connection to inflammatory diseases. *Arthritis Res Ther* 2003; 5: 251-65.

51. Andrés C, Rodríguez-Sáinz MC, Muñoz-Fernández MA, López-Lazareno N, Rodríguez-Mahou M, Vicente A, et al. Short-term sequential analysis of sex hormones and helper T cells type 1 (Th1) and helper T cells type 2 (Th2) cytokines during and after multiple sclerosis relapse. *Eur Cytokine Netw* 2004; 15: 197-202.
52. Spangelo BL, Judd AM, Isakson PC, McLeod R. Interleukin-6 stimulates anterior pituitary hormones release in vitro. *Endocrinol* 1989; 125: 575-80.
53. Vukusic S, Hutchinson M, Hours M, Moreau T, Cortinovis-Tourniaire P, Adeleine P, Confavreux C. The Pregnancy In Multiple Sclerosis Group. Pregnancy and multiple sclerosis (the PRIMS study): clinical predictors of post-partum relapse. *Brain* 2004; 127: 1353-1360.
54. McClain MA, Gatson NN, Powell ND, Papenfuss TL, Gienapp IE, et al. Pregnancy suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis through immunoregulatory cytokine production. *J Immunol* 2007; 179(12): 8146-52.
55. Langer-Gould A, Garren H, Slansky A, Ruiz PJ, Steinman L. Late Pregnancy Suppresses Relapses in Experimental Autoimmune Encephalomyelitis: Evidence for a Suppressive Pregnancy-Related Serum Factor. *J Immunol* 2002; 169: 1084-91.
56. Saraste M, Väistönen S, Alanen A, Airas L. Finnish Multiple Sclerosis And Pregnancy Study Group. Clinical and immunologic evaluation of women with multiple sclerosis during and after pregnancy. *Gend Med* 2007; 4: 45-55.
57. Matejuk A, Bakke AC, Hopke C, Dwyer J, Vandenberg AA, Offner H. Estrogen Treatment Induces a Novel Population of Regulatory Cells, Which Suppresses Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *J Neuroscience Res* 2004; 77: 119-26.
58. Xiao BG, Liu X, Link H. Antigen-specific T cell functions are suppressed over the estrogen-dendritic cell-indoleamine 2,3-dioxygenase axis. *Steroids* 2004; 69: 653-9.
59. Polanczyk M, Zamora A, Subramanian S, Matejuk A, Hess DL, et al. The protective effect of 17beta-estradiol on experimental autoimmune encephalomyelitis is mediated through estrogen receptor-alpha. *Am J Pathol* 2003; 163: 1599-605.
60. Vege E, Belcredito S, Etteri S, Ghisletti S, Brusadelli A, et al. Estrogen receptor- $\alpha$  mediates the brain antiinflammatory activity of estradiol. *PNAS* 2003; 100: 9614-19.
61. Polanczyk MJ, Jones RJ, Subramanian S, Afentoulis M, Rich C, et al. T Lymphocytes Do Not Directly Mediate the Protective Effect of Estrogen on Experimental Autoimmune Encephalomyelitis. *Am J Pathol* 2004; 165: 2069-77.
62. Gautam AM, Glynn P. Lewis rat lymphoid dendritic cells can efficiently present homologous myelin basic protein to encephalitogenic lymphocytes. *J Neuroimmunol* 1989; 22: 113-21.
63. Zhang QH, Link H, Xiao BG. Efficacy of peripheral tolerance induced by dendritic cells is dependent on route of delivery. *Autoimmun* 2004; 23: 37-43.
64. Serafini B, Columba-Cabezas S, DiRosa F, Aloisi F. Intracerebral recruitment and maturation of dendritic cells in the onset and progression of experimental autoimmune encephalomyelitis. *Am J Pathol* 2000; 157: 1991-2002.
65. Ito A, Bebo BF Jr, Matejuk A, Zamora A, Silverman M, et al. Estrogen treatment down-regulates TNF-alpha production and reduces the severity of experimental autoimmune encephalomyelitis in cytokine knockout mice. *J Immunol* 2001; 167: 542-52.
66. Zhang QH, Hu YZ, Cao J, Zhong YQ, Zhao YF, Mei QB. Estrogen influences the differentiation, maturation and function of dendritic cells in rats with experimental autoimmune encephalomyelitis. *Acta Farmacol Sin* 2004; 25: 508-13.
67. Delpy L, Douin-Echinard V, Garidou L, Bruand C, Saoudi A, Guéry JC. Estrogen Enhances Susceptibility to Experimental Autoimmune Myasthenia Gravis by Promoting Type 1-Polarized Immune Responses. *J Immunol* 2005; 175: 5050-7.
68. Bettelli E, Korn T, Oukka M, Kuchroo VK. Induction and effector functions of T(H)17 cells. *Nature* 2008; 453(7198): 1051-7.
69. Kebir H, Kreymborg K, Ifergan I, Dodelet-Devillers A, Cayrol R, et al. Human TH17 lymphocytes promote blood-brain barrier disruption and central nervous system inflammation. *Nat Med* 2007; 13: 1173-5.
70. Wang C, Dehghani B, Li Y, Kaler LJ, Proctor T, et al. Membrane estrogen receptor regulates experimental autoimmune encephalomyelitis through up-regulation of programmed death 1. *J Immunol* 2009; 182: 3294-303.
71. Bebo BF Jr, Dehghani B, Foster S, Kurniawan A, Lopez FJ, Sherman LS. Treatment with selective estrogen receptor modulators regulates myelin specific T-cells and suppresses experimental autoimmune encephalomyelitis. *Glia* 2009; 57: 777-90.

*Reimpresos:*

**Biol. Cristian Togno-Peirce**

Departamento de Inmunología,  
Instituto de Investigaciones Biomédicas,  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
AP 70228,  
Ciudad Universitaria  
04510 México, D.F.  
Tel.: 5622-3158, fax: 5550-3982/5622-3842  
Correo electrónico: cristiantogno@yahoo.com

Recibido el 6 de febrero de 2009.  
Aceptado el 13 de noviembre de 2009.