



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

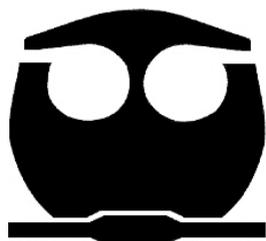
**“EFECTOS DE LA ADMINISTRACIÓN NEONATAL
DE TESTOSTERONA Y ESTRADIOL EN EL
DIMORFISMO SEXUAL INMUNOLÓGICO DEL
RATÓN”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

P R E S E N T A

MARCO ANTONIO AGUILAR MEDINA



MÉXICO, D.F.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Dr. Constantino III Roberto López Macías

VOCAL: Q.F.B. José Cordero Hernández

SECRETARIO: Dra. Carolina Guzmán Arriaga

1er. SUPLENTE: Dr. Guillermo Celestino Cardoso Saldaña

2° SUPLENTE: Q.F.B. Jesús Pedroza Gómez

**ESTE TEMA SE DESARROLLÓ EN EL DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA
DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS DE LA UNIVERSIDAD
NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.**

MARCO ANTONIO AGUILAR MEDINA
SUSTENTANTE

DRA. CAROLINA GUZMÁN ARRIAGA
ASESORA DEL TEMA

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por su apoyo, paciencia y por sus palabras tan acertadas y sabias en momentos difíciles de mi formación profesional y por su maravillosa labor al haberme inculcado los principios, valores y educación que me han llevado a convertirme en el ser humano y el profesionalista que soy.

A mis hermanos Rogelio y Mariana por haber sido un pilar muy importante y por haber sido la fuerza y el aliento que necesité en momentos determinantes de mi formación profesional.

A mi *alma mater*, la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Química por brindarme la posibilidad de adquirir el conocimiento que hoy forma parte de mi.

Al Instituto de Investigaciones Biomédicas y al Dr. Jorge Morales Montor por brindarme las facilidades para desarrollar este interesante proyecto.

A la Dra. Carolina Guzmán por ese gran apoyo que como tutora, maestra y amiga me ha brindado durante este tiempo, por su paciencia, por creer y confiar en mi y por enseñarme grandes valores éticos que también han contribuido en gran medida a mi formación profesional.

A los Profesores José Cordero y Constantino III R. López por su valiosa aportación en la revisión de este proyecto.

A las profesoras Isaura L. Carrera, Georgina M. Maya y Ma. Teresa Buentello por recordarme siempre la gran responsabilidad y compromiso que tengo en mis manos. Fue un honor haber aprendido de ustedes. Gracias mis queridísimas Maestras.

A las profesoras Perla Castañeda, Yolanda Castells, María Del Carmen Cortés y Araceli Mendieta por hacerme creer nuevamente que la humildad y la calidad humana deben ir de la mano con la Ciencia.

A mi gran Maestro y amigo Alberto Martínez. Gracias por enseñarme que la Ciencia no hay que hacerla fácil... ya es fácil y que para lograr algo se debe realizar con convicción y con "ganas".

A mis amigos Cuauhtémoc Guerrero, Michael J. Gómez, Zoe Villamil y Paola García por su gran apoyo durante esta importante etapa.

A Marisol Cruz, Marisol Martínez, Rebeca, Diana, Jovani; Ileana, Verónica, Sarahí, Cynthia; Iris y Roxana por compartir conmigo esos momentos de presión, depresión, éxito y frustración dentro de esa compleja pero maravillosa Carrera.

Gracias a todos ustedes.

Í N D I C E

I. RESUMEN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
1. RED DE COMUNICACIÓN NEUROINMUNOENDÓCRINA	3
1.1. Antecedentes	3
1.2. Mediadores de la comunicación y adaptación neuroinmunoendócrina	5
1.3. Citocinas	8
1.4 Eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HPA) e inmunomodulación	10
1.5. Inmunorregulación del sistema nervioso	12
2. DIMORFISMO SEXUAL DEL SISTEMA INMUNE	13
2.1. Dimorfismo sexual en la respuesta inmune	15
2.2. Esteroides sexuales y dimorfismo sexual	16
2.3. Dimorfismo sexual en la respuesta Inmunoendócrina	20

3. EFECTOS DE LA EXPOSICIÓN A ESTEROIDES SEXUALES	22
3.1. Administración neonatal de Propionato Testosterona (TP) y 17 β -Estadiol (E ₂)	24
3.2. Andrógenos, estrógenos y el sistema inmune	26
4. BALANCE Th1/Th2	28
4.1. La Hipótesis	28
4.2. Polarización Th1 y Th2	28
4.3. Hormonas sexuales y polarización de la respuesta inmune	29
5. INFECCIONES PARASITARIAS	32
5.1. <i>Taenia crassiceps</i>	33
5.2. Modelo experimental de cisticercosis murina	34
5.3. Respuesta inmune y esteroides sexuales en la cisticercosis murina por <i>T. crassiceps</i>	34
III. JUSTIFICACIÓN	36
IV. OBJETIVO GENERAL	38
IV.I. Objetivos Particulares	38
V. HIPÓTESIS	39

VI. METODOLOGÍA	40
VII. RESULTADOS	43
VII. I. Parámetros morfométricos	43
VII. I. I. Crecimiento	43
VII. I. II. Ciclo estral y apertura vaginal	45
VII. I. III. Distancia Ano-Genital (DAG)	46
VII. II. Carga Parasitaria	47
VII. III. Respuesta Th1/Th2	49
VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	55
IX. CONCLUSIONES	63
X. PERSPECTIVAS	64
XI. REFERENCIAS	65

I. RESUMEN

Avances significativos se han realizado en el campo de la inmunofisiología desde que Selye descubrió que “*estresantes agudos*” reducen el tamaño de los órganos linfoides y hoy se sabe que una variedad de hormonas afectan actividades funcionales de las células del sistema inmune.

Actualmente se acepta la comunicación bidireccional entre el sistema inmune y otros sistemas del cuerpo, particularmente dentro del contexto de la red neuroinmunoendócrina.

La importancia de la interacción entre los sistemas neuroendócrino e inmune se hace evidente en circunstancias como el embarazo, enfermedades autoinmunes y en algunas enfermedades infecciosas. En todos los casos, la evidencia disponible subraya la importancia de los esteroides sexuales como inmunorreguladores.

También, un dimorfismo sexual en la respuesta inmune de los humanos y otros mamíferos es obvia; las hembras producen reacciones inmunes humorales más vigorosas, son más resistentes a ciertas infecciones, como las bacterianas, y sufren mayor incidencia de enfermedades autoinmunes comparadas con los machos, además que existe evidencia de que las hormonas sexuales son capaces de regular procesos implicados en la respuesta inmune, incluyendo la maduración y selección de timocitos, la expresión del tránsito celular de moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad clase II (MHC II), proliferación de linfocitos y producción de citocinas, por citar algunos ejemplos.

Asimismo, está bien establecido que existe un dimorfismo sexual dentro del sistema inmune en donde los esteroides sexuales juegan un papel importante en la modulación de la función inmune explicando el dimorfismo sexual en la respuesta de dicho sistema.

Durante el desarrollo temprano, la mayoría de los órganos son susceptibles de sufrir adaptaciones de acuerdo al medio en que se diferencian. La exposición a diferentes hormonas, particularmente esteroides sexuales, podría establecer las diferencias inmunológicas entre sexos desde la etapa prenatal.

En el caso de las infecciones parasitarias, los esteroides sexuales juegan un papel importante en el curso de la infección. Por ejemplo, en la infección experimental por *Taenia crassiceps*, las interacciones inmunoendócrinas que ocurren entre el hospedero y el parásito han sido ampliamente descritas.

Una de las mejores observaciones clave para el control o el favorecimiento de esta y otras parasitosis, es la polarización de la respuesta inmune de los linfocitos T CD4⁺ en Th1 o Th2.

Con base en estos antecedentes, el objetivo de este trabajo fue estudiar los efectos producidos a nivel neuroinmunoendócrino de la administración de esteroides sexuales, particularmente Propionato de Testosterona (TP) y 17 β -Estradiol (E₂) en el establecimiento del dimorfismo sexual del sistema inmune durante el desarrollo neonatal.

II. MARCO TEÓRICO.

1. RED DE COMUNICACIÓN NEUROINMUNOENDÓCRINA.

1.1. Antecedentes.

Hace más de 70 años, Hans Selye publicó un artículo corto titulado “*Un Síndrome Producido por Diversos Agentes Nocivos*” [Selye, 1936] e hizo la observación original de que “*estresantes agudos*”, como la exposición al frío, la inyección de drogas tóxicas o el daño quirúrgico, resultaban en un rápido decremento en el tamaño del timo, los nódulos linfáticos y el bazo. Con este trabajo, Selye ofreció la primera evidencia morfológica que demostraba que dichos “*estresantes agudos*” afectaban el tejido linfoide. [Kelley, 1988].

A principios de los años 70 del siglo pasado, experimentos conducidos por Pierpaoli y sus colaboradores establecieron que un número de hormonas (p.e. Hormona del Crecimiento (GH), Tiroxina) modulaban propiedades funcionales del sistema inmune [Kelley, *et. al.*, 1988].

En la década de los años 80 de ese siglo, Blalock publicó sus ideas sobre sistemas recíprocos de comunicación entre el sistema inmune y endócrino. [Blalock, 1984]. Subsecuentemente se demostró que los estresantes agudos causaban la liberación de Adrenocorticotropina (ACTH) hipofisaria, que a su vez aumentaba la liberación de glucocorticoides de la glándula adrenal [Axelrod y Reisine, 1984].

A finales de los años 80, el concepto de que las hormonas alteraban las respuestas funcionales de las células del sistema inmune no era una idea nueva y se tenía evidencia de que hormonas diferentes a los glucocorticoides afectaban células linfoides, con algunas hormonas aumentando y otras suprimiendo diferentes aspectos de la respuesta inmune. Con esos y otros hallazgos, la idea de

una interacción entre el cerebro y otros sistemas del cuerpo había sido propuesta, formando un importante concepto en Inmunofisiología.

El concepto que había emergido de ese y otros estudios no fue sólo que las células linfoides eran afectadas por hormonas del sistema neuroendócrino, sino también que productos de estas células afectaban al sistema neuroendócrino. [Kelley, 1988].

Para concebir mecanismos de regulación neuroendócrina conectados con respuestas inmunes, primero es esencial determinar que la respuesta inmune en sí puede provocar esos cambios hormonales.

Durante el desarrollo y expresión de las funciones inmunes hay interrelaciones permanentes entre los componentes del sistema inmune y neuroendócrino. De estas interacciones bidireccionales pudo seguir que el actual estado de ambos sistemas a un tiempo dado está influenciado por la integración de sus funciones.

Esta comunicación en pocas palabras desarrolla el concepto de una red neuroinmunoendócrina e identifica algunas de sus implicaciones por la inmunorregulación. [Besedovsky y Sorkin, 1977].

El sistema inmune se encuentra en constante interacción con el sistema neuroendócrino y esta interacción, por ejemplo, asegura que la respuesta inmune y la respuesta inflamatoria se encuentren en homeostasis y en armonía con otras funciones del organismo, para mantener la salud. [Anisman, *et. al.*, 1996].

1.2. Mediadores de la comunicación y adaptación neuroinmunoendócrina.

En especies como ratones y ratas que al nacer sólo tienen niveles marginales de Inmunoglobulinas (Ig's) y en las que las respuestas inmunes son mínimamente efectivas durante los primeros días de vida extrauterina [Solomon, 1971], varios mecanismos endócrinos están también subdesarrollados en esta etapa, notablemente la diferenciación sexual, funcionamiento de la hipófisis, tiroides y glándulas adrenales [Jost, 1969; Jost, *et. al.*, 1973].

Las interacciones bidireccionales entre el sistema inmune y neuroendócrino influyen específicamente en actividades fisiológicas tan diversas como localización de linfocitos en tejidos, respuestas a anticuerpos, secreción hipotalámico-pituitaria de hormonas y transmisión de señales nerviosas. **Ver Fig. 1.**

Nuestro entendimiento de comunicaciones entre estos sistemas se ha incrementado por la delineación en la inervación de órganos inmunes, efectos de neuromediadores sobre células inmunes, y respuestas neuroendócrinas a citocinas inmunes individuales. [Goetzl y Sreedharan, 1992].

Al respecto, investigaciones en el pasado han caracterizado la inervación de órganos inmunes, se han descrito receptores compartidos y otras proteínas de superficie, e identificado hormonas, neuropéptidos y citocinas capaces de llevar mensajes en la red neuroinmunoendócrina. [Goetzl, *et. al.*, 1990]. La inervación de órganos inmunes por los sistemas sensorial y simpático posicionan terminales nerviosas sobre o muy cerca de linfocitos, macrófagos y mastocitos [Tollefson y Bulloch, 1990; Stead, *et. al.*, 1987; Lorton, *et. al.*, 1991].

Para el mantenimiento y función del circuito neuroinmunoendócrino hay un arreglo esencial de mediadores producidos por células de los sistemas inmune y neuroendócrino. El diálogo subyacente a esta compleja red de comunicación consiste en moléculas de señalización (hormonas, citocinas, interleucinas (IL's),

neuropéptidos, neurotransmisores) y sus receptores específicos, que suelen distribuirse por la interacción de estos sistemas. [Spangelo y Gorospe, 1995].

La generación de neuropéptidos por timocitos, linfocitos y otros leucocitos, y la producción de monocinas y linfocinas por células neuroendócrinas ha sido bien documentado en varias especies. La producción de citocinas inmunes por células neuronales es objeto de restricciones genéticas y provocadas por un estímulo específico, por ejemplo, el lipopolisacárido (LPS) bacteriano induce altos niveles de expresión de los genes para IL-6 y el Factor de Necrosis Tumoral α (TNF- α) en ratas Brown Norway (BN).

Los efectos de algunas citocinas inmunes sobre hormonas pituitarias son atribuibles exclusivamente a la acción del hipotálamo o del sistema nervioso central (SNC). Las interacciones entre células del sistema inmune y células del SNC y del sistema nervioso periférico, también están mediadas por neuropéptidos y citocinas.

En el caso del sistema neuroinmune ciertos mediadores suelen actuar por modificación celular capaz de reconocer o responder a señales sin provocar una respuesta directa. Estos efectos condicionados pueden considerarse en términos de tres mecanismos separados [Goetzl y Sreedharan, 1992]:

- El primero es un cambio en la naturaleza básica de una célula, como su diferenciación a otro fenotipo o la transformación a un diferente estado de reactividad a múltiples estímulos. (p.e. la inducción directa del desarrollo de mastocitos desde precursores de la médula ósea por el Factor de Crecimiento Nervioso (NGF) en ratas neonatas [Marshall, *et. al.*, 1990]).
- El segundo es una alteración en el nivel de expresión de un receptor o proteína de superficie celular, o en la concentración de algún factor intracelular envuelto en la transducción de una señal o comunicación con

otras células. (p.e. el incremento en la expresión de proteínas de antígenos humanos leucocitarios (HLA) inducida por citocinas inmunes [Goetzl y Sreedharan, 1992]).

- El tercero es una modificación transitoria por un mediador neuroinmune en la magnitud de una respuesta celular, como la proliferación o secreción de un factor, que es provocado por un estímulo específico primario. (p.e. en estudios sobre la acción de citocinas inmunes en funciones hipotalámico-pituitarias *in vitro*, concentraciones femtomolares de IL-2 inhibieron la despolarización, alterando directamente la liberación de FSH, LH y Prolactina (PRL) [Karanth y McCann, 1990]).

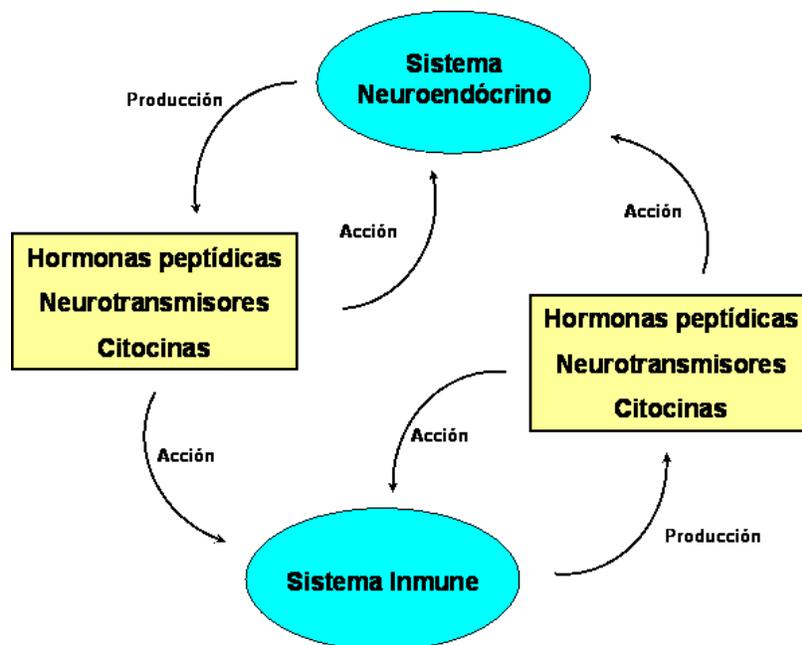


Fig. 1. Un circuito de comunicación molecular dentro y entre el sistema inmune y neuroendócrino comparte ligandos y sus receptores. **Modificado de Weigent y Blalock, 1987.**

1.3. Citocinas.

Las citocinas son proteínas producidas por varios tipos diferentes de células que median reacciones inmunes e inflamatorias, además son las principales mediadoras de la comunicación entre células del sistema inmune [Abbas, *et. al.*, 2007]. Las citocinas y moléculas de señalización relacionadas conducen profundos cambios regulatorios en la función de células diferenciadas, modulación de las funciones inmunes, respuesta al estrés, metabolismo, crecimiento y reproducción [Auernhammer y Melmed, 2001].

Citocinas como IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, TNF- α e Interferon γ (IFN- γ) afectan la secreción de hormonas hipotalámicas y de la pituitaria anterior tanto *in vitro* como *in vivo* y se han identificado receptores altamente específicos para IL-1, IL-2 e IL-6 en tejidos neuroendócrinos. [Spangelo y Gorospe, 1995]. **Ver Tabla 1.**

Citocina	Sistema	Efecto
IL-1	Células de la pituitaria	↑ PRL, LH; ↓ FSH
	Cultivos celulares de pituitaria	↑ ACTH, GH, TSH; ↓ PRL
IL-2	Células de la pituitaria	↑ ACTH
IL-6	Células de la pituitaria	↑ PRL
	Cultivos celulares de pituitaria	↑ PRL, GH, LH; sin efecto sobre ACTH
IFN- γ	Células de pituitaria anterior	↑ PRL
	Cultivos celulares de pituitaria	↓ Factor hipotalámico liberador del factor que induce la liberación de ACTH, PRL y GH

Tabla 1. Efecto de algunas citocinas sobre la pituitaria *in vitro*. ↑: aumento; ↓: disminución. Modificado de Besedovsky y Del Rey, 1996.

Las citocinas, también alteran el nivel de neurotransmisores (p.e. norepinefrina, serotonina y dopamina) en el SNC. IL's (p.e. IL-1, IL-2, IL-3 e IL-6) son producidas por células nerviosas y astrocitos del SNC, y las respectivas células blanco con receptores para esas IL's también se han encontrado en el SNC. [Anisman, *et. al.*, 1996]. **Ver Tabla 2.**

Citocina	Especie	Efecto <i>in vivo</i>	Efecto <i>in vitro</i>
IL-1	Rata	↓ NE y E; ↑ MHPG en Hy; ↑ HVA en Str y en la médula del Hy	-----
IL-1 α , β	Ratón	↑ Trp en todo el cerebro; ↑ MHPG, 5-HIAA y Trp pero no DOPAC.	-----
IL-1 β		-----	En el Cx influye en la preparación sináptica; ↑ la función del receptor A de GABA
IL-2		↑ NE en Hy y DA en Cx prefrontal, pero no 5-HT	-----
IL-3		-----	Efecto sobre neuronas septales primarias embrionicas, ↑ la actividad de ChAT.
IL-6		↑ actividad de 5-HT y DA en Hip y Cx prefrontal, pero no afecta la actividad de la NE central	-----

Tabla 2. Efecto de las citocinas sobre neurotransmisores del SNC y la actividad neuronal central *in vivo* e *in vitro*. ↑: aumento; ↓: disminución. ChAT: Acetil colintransferasa; Trp: Triptofano; HVA: Ácido hemovanílico; NE: Norepinefrina; E: Epinefrina; DA: Dopamina; 5-HT 5-hidroxitriptamina; MHPG. 3-metoxi-4-hidroxi-fenilglicol; DOPAC: Ácido 3,4-fenilhidroxiacético; 5-HIAA: Ácido 5-hidroxiindol-3-acético; GABA: Ácido gamma aminobutírico; Hy: Hipotálamo; Hip: Hipocampo; Str: Estriado; Cx: Corteza. **Modificado de Besedovsky y Del Rey, 1996.**

Por otro lado, se ha observado que la producción de citocinas también puede llevarse a cabo a través de órganos integrantes del eje Hipotálamo-hipófisis-adrenal (HPA). Por ejemplo, la síntesis y liberación de IL-6 en la hipófisis anterior ocurre en una población celular no parenquimal [Spangelo, *et. al.*, 1990]; posteriormente se identificó a las células de foliculostelato como la fuente de IL-6 en la hipófisis anterior [Vankelecom, *et. al.*, 1993]. Adicionalmente a la hipófisis anterior, el hipotálamo es un sitio de producción de citocinas.

Se ha reportado también que células del Lóbulo Hipofisario Neurointermedio (NIL) producen IL-6 *in vitro* dependiendo del tiempo y el número de células presentes [Spangelo, *et. al.*, 1994; Spangelo y Gorospe, 1995].

1.4. Eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HPA) e inmunomodulación.

En la década de los años 30 del siglo pasado, Smith demostró que la remoción de la glándula pituitaria en ratas causaba en el timo involución y atrofia. [Smith, 1930].

Resultados de estudios pioneros como este y otros llevaron a la hipótesis de que el desarrollo normal y funcionamiento del sistema inmune era significativamente dependiente de un factor o factores producidos por el eje HPA. Cabe señalar que existe una amplia evidencia que indica que un número de hormonas hipofisarias pueden actuar como moduladores de la función inmune y por consiguiente sirven como importantes mediadores en la comunicación bidireccional entre el sistema inmune y el sistema endócrino. [Spangelo y Gorospe, 1995].

Por ejemplo, la PRL y la Hormona del Crecimiento (GH) pueden servir como factores inmunomoduladores [Gala, 1991]; la ACTH es otra hormona (producida por la hipófisis anterior) que influye significativamente en la actividad del sistema inmune. En presencia de ciertas citocinas como IL-4 e IL-2, ACTH también promueve la activación de células B [Jonson y Torres, 1988].

Otras hormonas neurohipofisarias como la vasopresina (VP) y oxitocina (OT), pueden reemplazar el requerimiento de IL-2 como mitógenos de células T inducidos por producción de IFN- γ en células murinas de bazo [Blalock, 1989; Johnson, *et. al.*, 1988]. Además la VP también juega un papel importante, junto con la hormona liberadora de corticotropina (CRH), en el control del estrés inducido por la liberación de ACTH [Bartanusz, *et. al.*, 1993]. La Somatostatina (SOM), es otro ejemplo de un tetrapéptido derivado del hipotálamo, y conocido por su potente propiedad inhibitoria para la liberación de GH y significativamente inhibe la proliferación de linfocitos de las placas de Peyer y del bazo. [Stanisz, *et. al.*, 1986]. En la **Tabla 3** se describen algunos efectos de las citocinas sobre el eje HPA.

Citocina	Especie	Vía de administración	Efecto endócrino
IL-1	Rata	icv	↑ GH, PRL; ↓ TSH
IL-1 α	Ratón	ip	↑ ACTH
IL-1 β	Ratón	ip	↑ ACTH
IL-2	Rata	ip	↑ mRNA de POMC
	Paloma	icv	↑ PRL
IL-6	Ratón	ip	↑ ACTH
	Rata	iv	↑ ACTH, CRH

Tabla 3. Efecto de las citocinas sobre el eje HPA *in vitro*. ↑: aumento; ↓: disminución; POMC: Proopiomelanocortina; GH: Hormona del crecimiento; PRL: Prolactina; TSH: Tirotropina; ACTH: Adrenocorticotropina; CRH: Corticotropina; mRNA: RNA mensajero; icv: intracerebroventricular; ip: intraperitoneal; iv: intravenosa. **Modificado de Besedovsky y Del Rey, 1996.**

1.5. Inmunorregulación del sistema nervioso.

Una variedad de neuropéptidos, (llamados así porque son producidos por las células nerviosas), modulan las funciones inmunes. Por ejemplo, el péptido vasoactivo intestinal (VIP), SOM y la sustancia P afectan la proliferación de linfocitos, síntesis de inmunoglobulinas (Ig's) y la actividad de células NK (Natural killer). Se ha visto que hay receptores específicos para neuropéptidos sobre la superficie de los linfocitos [McKay y Bienenstock, 1994; Berczi, *et. al.*, 1996].

Existen evidencias que demuestran que el sistema nervioso está envuelto en la mediación de la respuesta neuroendócrina a la inmunización y el daño. En cambio, las citocinas afectan fibras nerviosas periféricas, que están involucradas en la señalización del SNC [Berczi y Nagy, 1994]. Por consiguiente, el sistema neuroendócrino y el sistema inmune están íntimamente interconectados uno al otro, y la estimulación de un sistema resulta de la estimulación del otro. [Anisman, *et. al.*, 1996]. **Ver Fig. 2.**

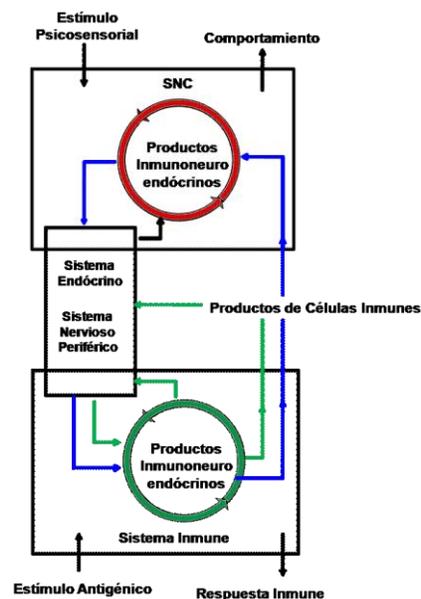


Fig. 2. La red de comunicación neuroinmunoendócrina. Los sistemas inmune, endócrino y nervioso pueden interactuar a múltiples niveles. Esquemáticamente pueden clasificarse como asas largas (azul) y cortas (verde). También hay interacciones dentro del cerebro (círculo rojo). La operación de esas interacciones puede ser modificada por actuación de estímulos primeramente sobre el sistema inmune o sobre el cerebro, por ejemplo el estímulo psicosensorial. El resultado de las interacciones neuroinmunoendócrinas puede resultar en la modulación inmune y/o conductual. **Modificado de Besedovsky y Del Rey, 2007.**

2. DIMORFISMO SEXUAL DEL SISTEMA INMUNE.

El dimorfismo en la función inmune de los humanos aparece en la infancia, pero no es claro si los mecanismos moleculares o celulares envueltos son los mismos a aquellos envueltos en la diferenciación sexual del cerebro. [Martin, 2000]. El sistema inmune, así como el sistema nervioso y el sistema endócrino, juegan un papel importante en la adaptación biológica, contribuyendo al mantenimiento de la homeostasis y al establecimiento de la integridad del cuerpo.

La excesiva activación del sistema inmune puede llevar a enfermedades autoinmunes, alergias, hipersensibilidad y anafilaxia, mientras que la supresión puede promover enfermedades infecciosas y cáncer.

Las enfermedades autoinmunes aparecen cuando el sistema inmune falla en discriminar entre los antígenos propios y los no propios; además son multifactoriales en su origen; elementos genéticos, inmunes, endócrinos y ambientales contribuyen a su desarrollo.

Algo importante pero que no está bien entendido, es si los factores que contribuyen al desarrollo de las enfermedades autoinmunes pueden incluir cambios en hormonas esteroides, como esteroides sexuales y glucocorticoides [Homo-Delarche, *et. al.*, 1991].

Por otro lado, parece que la susceptibilidad a la autoinmunidad es expresada en la etapa de la pubertad. La pubertad es un periodo de intensa reorganización molecular, fisiológica y anatómica en el cuerpo, y los cambios hormonales que ocurren en la pubertad exponen el marco para las diferencias biológicas que persisten a lo largo de la vida y que pueden contribuir al variable comienzo y progresión de la enfermedad en machos y hembras [Lamason, *et. al.*, 2006].

Para dar la autorregulación al sistema inmune dentro del mismo marco conceptual como en otros sistemas del cuerpo, este funcionamiento puede ser considerado dentro del contexto de una red de comunicación neuroinmunoendócrina.

En la comunicación bidireccional entre el sistema endócrino y el inmune, parece existir un dimorfismo sexual en ambos niveles. Los esteroides sexuales juegan un importante papel modulador en la función de la regulación inmune explicando el dimorfismo sexual observado en la respuesta inmune. [Olsen y Kovacs, 1996; Grossman, 1984.]

Además, factores fisiológicos pueden modular la respuesta inmune: estrés, distrés y una variedad de enfermedades psiquiátricas; notablemente desórdenes afectivos están cada vez más relacionados con la inmunosupresión. [Tecoma y Huey, 1985; Dorian y Garfinkel., 1987; Dantzer y Kelley, 1989; Khansari, *et. al.*, 1990].

Está bien establecido que existe un dimorfismo sexual en el sistema inmune. Las hembras tienen mayores niveles de Ig's, mayor respuesta de anticuerpos a antígenos, y mayor incidencia de enfermedades autoinmunes, como Lupus Eritematoso Sistémico (SLE), enfermedad de Grave's, Tiroiditis de Hashimoto, Síndrome de Sjörngen y esclerosis múltiple (por citar algunas) [Beeson, 1994; Gaillard y Spinedi, 1998] que los machos, sugiriendo que las diferencias hormonales entre ambos sexos pueden conferir algún efecto protector en los hombres o puede aumentar la susceptibilidad a esas enfermedades en mujeres.

Por ejemplo, en ratones, los síndromes autoinmunes espontáneos son más prevalentes y más severos en hembras comparado con los machos, y el curso de la enfermedad puede ser modulada por cambios en los niveles de esteroides gonadales. Un dimorfismo sexual está también presente en la función de la pituitaria-adrenal: las hembras tienen mayores niveles de corticosterona y mayor corticosteroidogénesis. [Gaillard y Spinedi, 1998].

Numerosos reportes experimentales aseguran que la administración de hormonas puede llevar a deprimir o estimular las respuestas inmunes dependiendo de las hormonas utilizadas, la dosis y el tiempo de administración. Por consiguiente, esos experimentos demuestran que cambios en los niveles de varias hormonas pueden influir considerablemente en la respuesta inmune. Adicionalmente, la posibilidad de que la respuesta inmune por sí misma pueda producir cambios en niveles hormonales y/o de neurotransmisores comienza a surgir [Weigent y Blalock, 1987].

2.1. Dimorfismo sexual en la respuesta inmune.

La primera línea de evidencia de un rol de los esteroides sexuales en la respuesta inmune es la presencia natural de un dimorfismo sexual inmunológico entre hembras y machos.

De hecho, las hembras parecen tener una respuesta innata más vigorosa, un timo más desarrollado, altas concentraciones de Ig's, respuestas primarias y secundarias más fuertes, mayor resistencia a la inducción de la tolerancia inmunológica y una mayor habilidad de rechazar tumores e injertos. La castración de machos jóvenes incrementa el peso del timo y lleva a intensificar la respuesta inmune [Homo-Delarche, *et. al.*, 1991].

La segunda línea de evidencia es que la mayoría de los pacientes que sufren varios tipos de enfermedades autoinmunes son hembras [Ansar Ahmed, *et. al.*, 1985; Talal y Ansar Ahmed, 1987; Schuurs y Verheul, 1990].

Diferentes procesos reproductivos, incluyendo la ovulación y la menstruación, son influenciados por el sistema inmune. Una condición reproductiva en la que el sistema inmune juega un papel pertinente es el embarazo. Por ejemplo, se ha postulado que las citocinas son importantes para crear un ambiente óptimo para la implantación [Laird, *et. al.*, 2003; Chaouat, *et. al.*, 2004.] y el parto [Keelan, *et. al.*,

2003]. Asimismo la expresión de la enfermedad es también afectada por el estatus reproductivo de la hembra [Bouman, *et. al.*, 2005].

Por ejemplo, el estrés representa la reacción del cuerpo a estímulos que perturban su equilibrio fisiológico u homeostasis, a menudo con efectos perjudiciales [Bateman, *et. al.*, 1989; Khansari, *et. al.*, 1990; Siiteri, 1979].

Es obvio que existen diferencias sexuales en el cerebro, que contribuyen a las diferencias en su fisiología y el comportamiento. Estudios en neuroquímica han revelado que en ciertas áreas del cerebro, el contenido y metabolismo de neurotransmisores está sexualmente diferenciado y bajo la influencia de los esteroides sexuales en la adultez [Homo-Delarche, *et. al.*, 1991].

2.2. Esteroides sexuales y dimorfismo sexual.

Los esteroides sexuales son hormonas pleiotrópicas que actúan sobre múltiples blancos incluyendo el SNC, hueso, órganos reproductivos y el sistema inmune, entre otros. Las hormonas sexuales también influyen en la maduración, activación y muerte de las células inmunes.

Mientras que las hormonas sexuales solas no son responsables de las diferencias del dimorfismo de género de la respuesta inmune o del desarrollo de una enfermedad autoinmune, niveles hormonales anormales proveen un campo fértil para otros factores (genéticos, infecciosos) para desencadenar enfermedad y pueden modular su curso. [Verthelyi, 2001].

Ya que la influencia del género sobre la respuesta inmune usualmente se hace aparente después de la maduración sexual, un papel crucial en este proceso ha sido atribuido a las hormonas sexuales, como los estrógenos y andrógenos [Grossman, 1985; Homo-Delarche, *et. al.*, 1991].

Adicional al dimorfismo sexual observado en la respuesta inmune, observaciones clínicas tienen ahora claramente establecido que mientras algunas enfermedades autoinmunes, como SLE, se agrava durante el embarazo; otras como la Artritis Reumatoide (RA), puede reducirse [Talal y Ansar Ahmed, 1987; Holmdahl, 1989].

Las hormonas sexuales afectan la función de los linfocitos T, B, células NK y macrófagos. Estudios tempranos mostraron que ratones hembras tienen mayores niveles de Ig's en suero y producen más anticuerpos a una variedad de heteroantígenos que los machos [Ahmed y Talal, 1990]; tienen una incidencia reducida de formación de tumores, además de rechazar injertos más rápidamente que los machos [Ahmed y Talal, 1990; Graff, *et. al.*, 1969]. Estos hallazgos son consistentes con el hecho de que las hembras montan respuestas inmunes humorales y mediadas por células más fuertes que los machos [Verthelyi, 2001].

Las hormonas sexuales, en particular, no sólo influyen en el sistema inmune, sino también afectan directamente la historia natural de las enfermedades autoinmunes. Los andrógenos, por estimulación de la hematopoyesis y la generación de un apropiado precursor celular, pueden activar células T supresoras derivadas del timo, llevando al decremento en la producción de anticuerpos. [Homo-Delarche, *et. al.*, 1991].

Por ejemplo, estudios recientes en humanos han mostrado que pacientes con RA presentan también una respuesta hipotalámica defectiva a un estímulo inmune inflamatorio y tienen una inadecuada producción de cortisol [Chikanza, *et. al.*, 1992.]

Otras evidencias clínicas y experimentales también indican que los esteroides gonadales pueden modular la función inmune. El sistema inmune es regulado por estrógenos y andrógenos gonadales y progesterona pero los niveles en circulación de esos esteroides pueden ser afectados por la función del sistema inmune.

Esas interacciones parecen ser mediadas por el eje hipotálamo-pituitaria-gónadas-timo y dependen de la Hormona Luteinizante (LH) hipofisaria liberada por factores tímicos bajo el control de los esteroides gonadales. [Grossman, 1985.], los cuales son los efectores finales del eje hipotálamo-hipófisis-gónadas (HPG). Ellos controlan la reproducción y el dimorfismo sexual fisiológico y del comportamiento. [Vamvakopoulos, 1995].

También, la respuesta al estrés y la reacción inmune/inflamatoria están asociadas con el dimorfismo sexual. La base de este dimorfismo tal vez sea por regulación de esteroides gonadales de los componentes de la respuesta al estrés.

Por otra parte, la reacción inmune/inflamatoria es mayor en hembras que en machos, tanto de humanos como otros animales, y concerniente a esto, las enfermedades autoinmunes inflamatorias tienen una prevalencia significativamente alta en el sexo femenino que en el masculino de varias especies. [Grossman, *et. al.*, 1991; Inman, R.D. 1978; Raveche, *et. al.*, 1979].

Por ejemplo, los estrógenos, generalmente, han demostrado la activación de algunos componentes de la reacción inmune/inflamatoria, mientras que los andrógenos la suprimen. [Raveche, *et. al.*, 1979; Allen, *et. al.*, 1983]. Se piensa también, que los estrógenos a concentraciones fisiológicas juegan un papel inmuno-estimulante, mientras que los andrógenos tienen un impacto antiinflamatorio. [Janele, *et. al.*, 2006]

En un estudio realizado por Janele y sus colaboradores, [Janele, *et. al.*, 2006] el Estradiol (E_2) estabilizó o incrementó la secreción inducida por un estímulo inmune de TNF, IL-2, IL-4, IL-6, IL-10 e IFN- γ en relación a la Testosterona (T). La T, en contraste, inhibió (IL-2, IL-4, IL-10) o tuvo tendencia a inhibir la secreción estimulada de esas citocinas (TNF, IFN- γ). Este efecto de E_2 fue pronunciado a concentraciones de 10^{-10} M ($T=10^{-7}$ M) en presencia de cortisol. E_2 (10^{-8} M, 10^{-9} M) y T (10^{-7} M) no cambiaron la expresión de receptores a glucocorticoides.

Comparado con los machos, los ratones hembras exponen una respuesta proliferativa incrementada de linfocitos T [Weinstein, *et. al.*, 1984] y una mayor producción de IFN- γ [Huygen y Palfliet, 1984; Cua, *et. al.*, 1995].

En roedores como los ratones, síndromes autoinmunes espontáneos también tiene mayor prevalencia en hembras que en machos. Este patrón se ha observado en modelos animales como por ejemplo en el modelo del ratón NZB/FW1 para SLE [Olsen y Kovacs, 1996]; otro ejemplo es el ratón NOD (Non-Obese Diabetic), un modelo animal para estudiar la diabetes humana tipo I [Pozzilli, *et. al.*, 1993].

Los andrógenos tienen un mayor efecto protector en modelo de ratón NOD para diabetes. Por ejemplo, la castración de ratones machos acelera el tiempo del comienzo de la diabetes, mientras que la implantación de pellets de dihidrotestosterona en hembras previene en gran parte el desarrollo de la diabetes evidente [Fox, 1992]. De manera interesante, los esteroides sexuales parecen tener influencia en la respuesta inmune vía el timo, mediante andrógenos y estrógenos unidos a sitios específicos. [Roubinian, *et. al.*, 1977].

La importancia de los esteroides sexuales y su influencia en las enfermedades autoinmunes se ilustra por la observación de que en su curso, estas pueden estar moduladas por cambios en los niveles de esteroides gonadales, obtenidos ya sea por gonadectomía o manipulación farmacológica de los niveles de Estrógenos o Testosterona y también por la observación de que la respuesta inmune está alterada durante el embarazo [Gaillard y Spinedi, 1998].

Otros estudios han demostrado que la pérdida de la inmunidad protectora inducida por la edad está primeramente relacionada con alteraciones en la función de los linfocitos T. Por ejemplo, el envejecimiento causa una disminución en el número de linfocitos T vírgenes y un incremento en la acumulación de linfocitos T de memoria. En general, los cambios relacionados con la edad en la producción de citocinas de linfocitos T (p. ej. IL-2, IL-4, IL-10, IFN- γ) sugieren el desarrollo de un

fenotipo Th2 (p. ej. IL-4, IL-10) que se opone a la predominancia de un fenotipo Th1 (p. ej. IL-2, IFN- γ) en individuos jóvenes. [Linton, *et. al.*, 1996; Miller, 1996; Kahlke, *et. al.*, 2000].

Adicionalmente a los efectos de la edad en la función inmune, varios estudios clínicos y epidemiológicos indican que los hombres jóvenes son más susceptibles a los efectos de una sepsis comparado con las mujeres [Meyers, *et. al.*, 1989; Schröder, *et. al.*, 1998].

Entender la fisiología de la interacción entre las hormonas sexuales y la función inmune y sus consecuencias patológicas potenciales puede proveer una idea dentro de las enfermedades autoinmunes y nuevas direcciones para su tratamiento. [Verthelyi, 2001].

2.3. Dimorfismo sexual en la respuesta inmunoendócrina.

Junto al dimorfismo sexual en la respuesta inmune, también hay un dimorfismo en la función de la pituitaria-adrenal. Comparado a las ratas machos, las ratas hembras tienen mayores niveles basales de corticosterona en plasma, un mayor incremento diario de corticosterona en plasma y mayor corticosteroidogénesis.

Además la ACTH o el estrés producen altos y más prolongados niveles de corticosterona en el plasma en las ratas hembras que en los machos. También hay una diferencia respecto al sexo en los receptores de glucocorticoides de la pituitaria de las ratas, con bajos niveles en las hembras por lo que el nivel de receptores a glucocorticoides sería dependiente de estrógenos. Todas estas observaciones claramente indican que los esteroides sexuales modulan tanto las actividades inmunes como las actividades del eje HPA [Turner, 1990].

En otro estudio llevado a cabo por Gaillard y Spinedi utilizando lipopolisacárido bacteriano (LPS) para demostrar si la administración de esteroides sexuales endógenos ejercía un efecto modulador *in vivo* en el eje HPA y la respuesta inmune, sugirió un papel predominantemente inhibitorio de la T sobre la respuesta del eje HPA a la endotoxina. [Gaillard y Spinedi, 1998].

La importancia de la T en modular al eje HPA en respuesta al LPS fue confirmada por la sustitución de la terapia experimental ya que la sustitución completa de T previno la elevación de la respuesta adrenal al LPS observada en animales gonadectomizados de ambos sexos. Sin embargo, sorpresivamente, la hiperrespuesta adrenal al LPS en ratones gonadectomizados de ambos sexos no sólo fue prevenida por la T, sino también por la administración de E₂.

Sin embargo, en ambos sexos, la T fue más efectiva que el tratamiento con estrógenos en disminuir el efecto de la gonadectomía sobre la secreción de TNF estimulada por el LPS, apoyando fuertemente una base para un dimorfismo sexual entre las hormonas y el sistema endócrino [Gaillard y Spinedi, 1998].

3. EFECTOS DE LA EXPOSICIÓN A ESTEROIDES SEXUALES

Los esteroides gonadales masculinizan y defeminizan el desarrollo neuroendócrino, incluyendo el comportamiento. La defeminización hace a los machos menos sensibles que las hembras a los estrógenos mostrando un comportamiento sexual femenino y una secreción cíclica de gonadotropinas. La masculinización hace a los machos más sensibles que a las hembras a los estrógenos por mostrar comportamiento sexual masculino. Por consiguiente la masculinización y la defeminización producen efectos opuestos sobre la sensibilidad a los estrógenos. [Nordeen y Yahr, 1983].

El resultado de más de cuatro décadas de investigación sobre diferentes especies de mamíferos ha establecido que el cerebro, así como el resto del sistema reproductivo es básica y esencialmente femenino. El macho para desarrollar características estructurales y funcionales típicas de sus especies, su cerebro debe ser expuesto a hormonas testiculares durante un periodo o periodos críticos del desarrollo. [Gorski, 2002].

El periodo crítico para la diferenciación sexual del cerebro del roedor se ha sugerido que se extiende desde la vida fetal tardía hasta la primera semana de vida postnatal [vom Saal y Bronson, 1980; Weisz y Ward, 1980].

Anteriormente, se creía que la exposición a andrógenos durante este periodo era responsable de la masculinización de varios parámetros nerviosos sexualmente dimórficos, incluyendo los comportamientos reproductivos masculino y femenino [Gorski, 1974], los mecanismos de liberación de gonadotropina [Barraclough, 1979] y varios índices morfológicos [Raciman y Field, 1973; Greenough, *et. al.*, 1977; Matsumoto y Arai, 1981].

En contraste con el ascenso de andrógenos durante este periodo crítico permite, en el adulto, la expresión del comportamiento femenino reproductivo, el

mantenimiento de la liberación cíclica de gonadotropina, y típicamente una morfología nerviosa más femenina. [Handa, *et. al.*, 1985].

La T ejerce su acción a través del receptor de andrógenos, localizado el citoplasma y núcleo de las células blanco. Los andrógenos unidos resultarán en la activación del DNA y transcripción de varias proteínas [Dohle, *et. al.*, 2003].

Por otra parte, E₂ es un regulador clave del crecimiento, la diferenciación y función en varios tejidos blanco, incluyendo los tractos tanto femenino como masculino, las glándulas mamarias y los sistemas esquelético y cardiovascular; y sus efectos biológicos predominantes están mediados a través de dos receptores intracelulares: ER α y ER β , los cuales ejercen su efecto en el núcleo de sus células blanco. [Hall, *et. al.*, 2001].

En años recientes se ha demostrado que los macrófagos tienen receptores a estrógenos, observaciones previas explicaron que un cierto número de sus funciones son moduladas por estrógenos incluyendo la fagocitosis que se ha demostrado que es regulada a la alta por estas hormonas.

Otras células como los mastocitos también tienen receptores altamente afines a los estrógenos, así como también los eosinófilos tienen tanto receptores a estrógenos como para andrógenos y se ha demostrado que en altas dosis, tanto *in vitro* como *in vivo*, los primeros incrementan la degranulación de los eosinófilos en la sangre humana. Se ha demostrado también que los estrógenos incrementan la actividad de las células B y la producción de anticuerpos [Roberts, *et. al.*, 2001].

Por otro lado, en algunas especies se ha visto que la conversión *in situ* de Testosterona a 17 β -Estradiol por la enzima citocromo P₄₅₀ Aromatasa (CYP 19) media la acción de la Testosterona [Resco y Roselli, 1997].

3.1. Administración neonatal de Propionato de Testosterona (TP) y 17 β -Estradiol (E₂).

En los mamíferos, la exposición a un andrógeno, notablemente la T, influye tanto en la visualización apropiada del comportamiento durante la adultez y el desarrollo de las diferencias sexuales anatómicas en el sistema nervioso. Los andrógenos perinatales también defeminizan el cerebro, interpretándose en la incapacidad del hipotálamo de sostener la ovulación y la inhibición del típico comportamiento sexual femenino, como la lordosis [Freeman, *et. al.*, 1998].

En el ratón, la estimulación androgénica de la hembra neonatal también promueve o facilita la diferenciación de mecanismos neuroendócrinos mediando un comportamiento agresivo. Las hembras ovariectomizadas normalmente no pelean, incluso cuando se les han dado grandes cantidades de andrógenos exógenos en la adultez. Las hembras administradas con andrógenos el día de su nacimiento muestran altos niveles de comportamiento de pelea seguido de una terapia de reemplazamiento de andrógenos en la adultez [Edwards, 1971].

Por ejemplo, el TP es sólo efectivo cuando se administra durante los primeros diez días postparto, suponiendo la existencia de un periodo andrógeno-sensitivo en la cría hembra por el desarrollo de efectos organizacionales [Barraclough, 1961].

Las hembras androgenizadas resultantes tienen un incremento en peso corporal [Swanson y van der Werff Ten Bosch, 1963; Tarttelin, *et. al.*, 1975], ovarios polifoliculares no ovulatorios desprovistos de cuerpo lúteo [Gerall y Kenney, 1970; McDonald, *et. al.*, 1972], aumento de comportamiento sexual masculino [Baum, 1979] y falla al mostrar respuesta a la lordosis cuando están sexualmente activas [Harris y Levine, 1965]. Una simple inyección de TP dentro de las 24 h de nacimiento interrumpe la vía femenina característica de secreción de corticosterona y la respuesta femenina normal del eje HPA al estrés, resultando en una vía similar a la vista en machos.

El efecto supresor de la administración neonatal de andrógenos en la vía de secreción de gonadotropina cíclica de la hembra adulta, se ha demostrado que es un fenómeno dependiente del tiempo y de la dosis [Gorski y Barraclough, 1963; Gorski, 1968].

Este efecto puede revertirse con tratamiento con E₂ en las ratas hembra adultas [Seale, *et. al.*, 2005]. Cabe señalar que la exposición perinatal a andrógenos transforma permanentemente ciertos tejidos, por ejemplo, el cerebro, los genitales, etc. Este proceso envuelve tanto la masculinización como la defeminización.

Aunque es importante recalcar que la administración de E₂ exógeno a roedores hembras recién nacidas también afecta los mecanismos celulares mediados por E₂ y que interfieren en la masculinización del cerebro [Schwars y McCarthy, 2008].

Ciertas funciones inmunes también son transformadas por la exposición temprana a esteroides; sin embargo, no se sabe si las capacidades de respuesta de los propios inmunocitos están directamente modificadas o si ellos están respondiendo a señales de otros tejidos masculinizados, por ejemplo, el cerebro. Varias evidencias apuntan a un efecto directo ya que los receptores a andrógenos y estrógenos están presentes en inmunocitos desarrollados. [Martin, 2000].

También, el tratamiento con estrógenos a ratas hembras recién nacidas, significativamente inhibe el crecimiento y diferenciación del ovario [Ikeda, *et. al.*, 2001]. Además la exposición neonatal de E₂ disminuye el número de folículos antrales pequeños induciendo la formación de folículos multiovocíticos [Kipp, *et. al.*, 2007].

Por ejemplo, en el caso de roedores macho, si la exposición a estrógenos es prolongada, la próstata de los roedores se afecta y por consiguiente su morfogénesis se ve afectada, así como también se ve afectada la diferenciación celular de una manera dosis-dependiente. Si la exposición es alta, esos disturbios

conlleven a secuelas permanentes en la próstata, que incluyen reducción en su tamaño, defectos en la diferenciación de sus células epiteliales, alterando su función secretora y reduciendo la respuesta a los andrógenos en la adultez. [Prins, *et. al.*, 2001].

Asimismo, un estudio realizado por Prins y colaboradores demostró que la exposición neonatal –la ventana crítica del desarrollo prostático– a dosis farmacológicas de E₂ resulta en una marcada patología prostática en la adultez, y que con el paso de la edad progresa hasta presentarse lesiones pre-neoplásicas de dicha glándula en ratas. [Prins, *et. al.*, 2008].

3.2. Andrógenos, estrógenos y el sistema inmune.

Tanto los andrógenos como los estrógenos tienen un papel en la regulación de la inmunidad del adulto incluyendo el balance Th1/Th2. La susceptibilidad del adulto a enfermedades autoinmunes y otras enfermedades está también relacionada con la exposición a esteroides. Dado que las células inmunes responden a esteroides gonadales en la adultez tal vez dependen de las vías de estimulación androgénica y estrogénica durante el desarrollo temprano. [Martin, 2000].

Particularmente, en el caso del sistema inmune, Ansar Ahmed y colaboradores han observado que la exposición neonatal a esteroides sexuales afectan de manera importante la capacidad inmune de ratones administrados con dichos esteroides, lo cual se ve evidenciado por cambios permanentes en los números de la subpoblación de linfocitos, en la producción de IL-2, la producción de autoanticuerpos, y la actividad de las células NK. [Ansar Ahmed, *et. al.*, 1985]. **Ver**

Fig. 3.

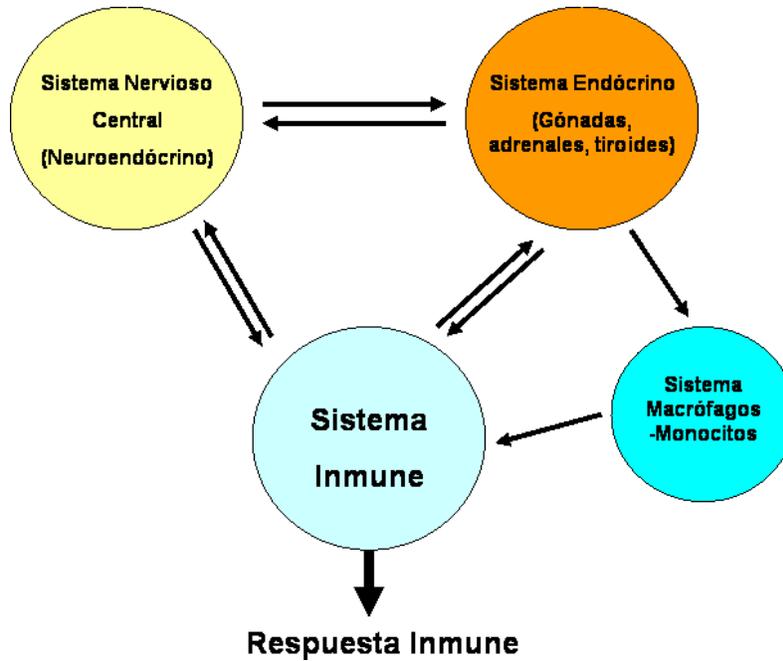


Fig. 3. La respuesta inmune está influenciada por múltiples sistemas. Existe una influencia bidireccional entre el sistema inmune y SNC, entre el sistema inmune y el endócrino (particularmente gonadal) y entre el sistema endócrino (gonadal) y SNC. Las hormonas sexuales actúan sobre el SNC, el sistema de macrófagos/monocitos, o sobre el mismo sistema inmune, afectando la respuesta inmune. **Modificado de Ansar Ahmed S, et. al., 1985.**

4. BALANCE Th1/Th2.

4.1. La Hipótesis.

Una teoría de la regulación inmune envuelve la homeostasis entre la actividad Th1 y Th2. La hipótesis Th1/Th2 surge de una investigación de 1986 [Mossmann, *et. al.*, 1986] sugiriendo que células T colaboradoras de ratón expresaban diferentes citocinas. Esta hipótesis fue adaptada a la inmunidad humana en 1989 [Mossmann, *et. al.*, 1989], con células Th1 y Th2 dirigiendo diferentes vías de la respuesta inmune.

Las células Th1 conducen la vía tipo 1 (“Inmunidad celular”) para combatir virus y otros patógenos intracelulares, eliminar células cancerosas y estimular las reacciones de hipersensibilidad de tipo tardía en piel. Las células Th2 conducen a la vía tipo 2 (“inmunidad humoral”) y la regulación a la alta de la producción de Ig’s para luchar en contra de organismos extracelulares. [Kidd, 2003].

4.2. Polarización Th1 y Th2.

La polarización celular es una característica fundamental de varios tipos celulares que deben desplegar y mantener dominios citoplasmáticos y dominios especializados asociados a membrana con la finalidad de desarrollar tareas específicas, incluyendo la diferenciación, el crecimiento y división celular, migración y transmisión de estímulos, o el desarrollo de la respuesta inmune [Vicente-Manzanares y Sánchez-Madrid, 2000].

Tanto la subpoblación de linfocitos Th1 y la subpoblación de linfocitos Th2 son producidas por una población de células T precursoras –células vírgenes–. El proceso por el cual se desarrolla la diferenciación de las células vírgenes a una

subpoblación u otra se conoce como polarización. Este proceso está dirigido principalmente por citocinas [Kidd, 2003]. **Ver Fig. 4.**

En general, las respuestas de tipo 1 están dominadas por linfocitos T que producen IFN- γ e IL-2. En contraste, las respuestas de tipo 2 están dominadas por linfocitos T productores de IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 e IL-13 [Morel y Oriss, 1998; De León-Nava y Morales-Montor, 2006].

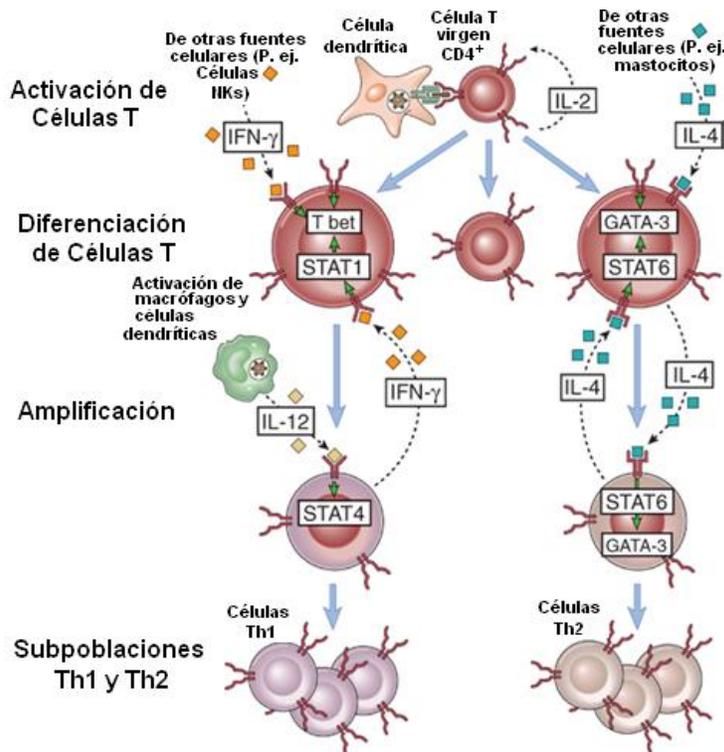


Fig. 4. Desarrollo de las subpoblaciones Th1 y Th2. Modificado de Abbas, *et al.*, 2007.

4.3. Hormonas sexuales y polarización de la respuesta inmune.

Las hormonas sexuales, además, modulan una gran cantidad de fenómenos implicados en la respuesta inmune, incluyendo la maduración y selección de timocitos, el tránsito celular, la proliferación de linfocitos, la expresión de moléculas y receptores del MHC II y la producción de citocinas.

De acuerdo con estas observaciones, se sugiere que los estrógenos potencian la inmunidad mediada por células B y suprimen algunos aspectos dependientes de células T. La Testosterona parece suprimir tanto la respuesta mediada por células T como la mediada por células B [De León-Nava y Morales-Montor, 2006]. En la **Tabla 4** se describen algunos ejemplos de células inmunes en las cuales los esteroides sexuales ejercen su actividad.

Hormona	Fuente	Célula inmune blanco	Efecto principal
17 β -Estradiol	Ovario, testículos, glándulas suprarrenales, neuronas	Células B, mastocitos, células Th1 y Th2, macrófagos, células NK, eosinófilos	Activador policlonal de células B, promueve diferenciación a células plasmáticas, \downarrow la masa del timo y médula ósea, \uparrow las células secretoras de IL-10 e IL-6, \downarrow la producción de IFN- γ e IL-2, regula negativamente la actividad de NK's, \uparrow la fagocitosis por macrófagos; \uparrow la liberación de serotonina e histamina
Testosterona	Testículos, ovarios, neuronas	Células B, células T, macrófagos	\downarrow la respuesta de células B a mitógenos, \downarrow la secreción de serotonina e histamina por mastocitos, \downarrow la producción de IL-1, IL-6 y TNF- α
Progesterona	Testículos, ovario, neuronas	Células B, células T, células NK	\downarrow la actividad citotóxica de NK's, \uparrow la secreción de TNF- α , \downarrow la secreción de citocinas y la producción de óxido nítrico por macrófagos

Tabla 4. Efecto específico de hormonas sexuales sobre el sistema inmunológico. **Modificado de Arteaga, et. al., 2006.**

Otro aspecto en que se han observado diferencias asociadas al sexo es durante diversas enfermedades infecciosas. Estas incluyen dimorfismo sexual inmunitario o dimorfismo sexual asociado a parámetros de la infección [Morales-Montor, et. al., 2004; Zuk y McKean, 1996].

Desde esta perspectiva, la población de linfocito T colaboradores CD4⁺, es la encargada de organizar una respuesta inmune apropiada contra un reto antigénico particularmente mediante la polarización de la respuesta inmune. [De León-Nava y Morales-Montor, 2006]. La resistencia y susceptibilidad a diferentes enfermedades parasitarias ha sido asociada con la predominancia de respuestas inmunes tipo Th1 o Th2. [Terrazas, et. al., 1999]. **Ver Fig. 5.**

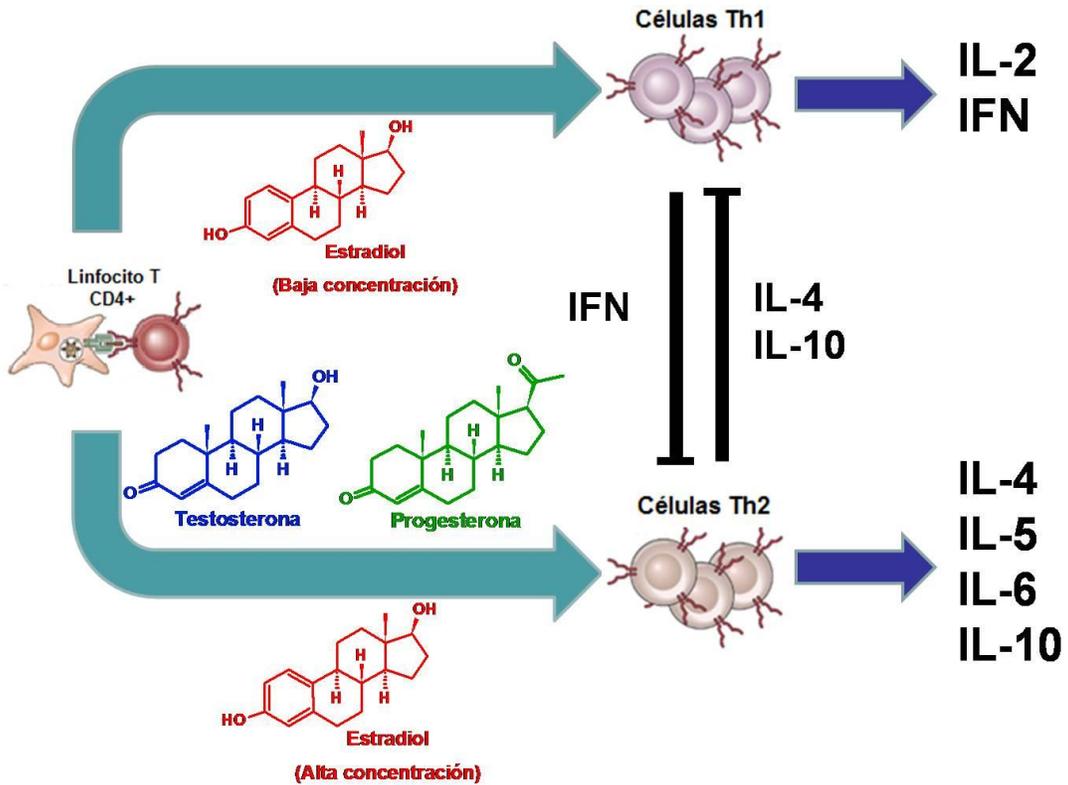


Fig. 5. Las citocinas producidas por las poblaciones de linfocitos Th1 y Th2 determinan sus funciones efectoras. Los esteroides sexuales inducen el desarrollo de una subclase e inhiben el desarrollo de otra. El Estradiol tiene un efecto dual dependiente de la concentración. La Progesterona y la Testosterona favorecen la expansión de las células Th2, lo que podría explicar su acción inmunosupresora durante diversas patologías. **Modificado de De León-Nava y Morales-Montor, 2006.**

5. INFECCIONES PARASITARIAS.

Evidencia acumulada algunos años atrás sugiere que la patología observada durante infecciones parasitarias es en parte debida a la desregulación de los componentes normales del sistema inmune, principalmente citocinas, anticuerpos, y poblaciones de células efectoras inmunes. [Ouaissi, 2007].

Las etapas iniciales de la enfermedad son generalmente caracterizadas por la inducción de linfoproliferación no específica, que se cree que interrumpe el reconocimiento de antígenos e interfiere con la respuesta inmune protectora.

Paradójicamente, en muchos casos un estado de inmunosupresión puede ser evidenciado. Esta hiperrespuesta a antígenos específicos y policlonales en infecciones parasitarias crónicas podría estar relacionada con citocinas inmunosupresivas (p. ej. IL-10 y TGF- β) secretadas por células presentadoras de antígenos y células T reguladoras (T_{reg}).

Una lista creciente de moléculas derivadas de parásitos capaces de ejercer actividades inmunomoduladoras encabezadas por la secreción polarizada de citocinas ha sido reportada [Maizels y Yazdanbakhsh, 2003; van der Kleij y Yazdanbakhsh, 2003].

Por ejemplo, durante el curso de la infección con la larva del helminto *Taenia crassiceps*, en ratones machos castrados y restituidos con Testosterona y Dihidrotestosterona, las cargas parasitarias disminuyeron considerablemente mientras que los niveles de IL-2 e IFN- γ se incrementaron. [Morales-Montor, *et. al.*, 2002].

Una de las observaciones clave para el control o favorecimiento de las parasitosis es la polarización de la respuesta inmune de los linfocitos T CD4⁺ en Th1 o Th2. [López-Moreno, 2002].

5.1. *Taenia crassiceps*.

Taenia crassiceps es un cestodo que en su forma adulta puede encontrarse en intestinos de cánidos de Europa y del Norte de América. La etapa larvaria o cisticerco de *T. crassiceps* causa una infección experimental crónica en ratones que se establece y se reproduce rápidamente por gemación en la cavidad peritoneal. [López-Briones, *et. al.*, 2003]. La larva de *T. crassiceps* puede encontrarse usualmente en tejidos subcutáneos, o en las cavidades pleural o peritoneal. La replicación asexual de la larva de *T. crassiceps* ocurre en roedores, que son los hospederos intermediarios.

Por otra parte, los zorros son los hospederos definitivos más importantes, aunque también se han reportado infecciones en perros y otros cánidos salvajes, incluyendo coyotes y lobos. Los hospederos intermediarios son usualmente roedores salvajes, incluyendo ratones y se han reportado también infecciones en hamsters. Otras especies incluyendo gatos, humanos, primates no humanos y posiblemente perros también pueden ser infectados [Folleto informativo: *Taenia* Infections. The Center for Food and Public Health]. Sin embargo, *T. crassiceps* puede infectar roedores de manera natural y experimentalmente. **Ver Fig. 6.**



Fig. 6. Ciclo Infeccioso de *Taenia crassiceps*. Tomado de Freeman, 1962.

5.2. Modelo experimental de cisticercosis murina.

La cisticercosis murina experimental causada por *T. crassiceps* ha sido usada como modelo de laboratorio en el cual se puede estudiar la participación de factores inmunológicos, genéticos y asociados al género en la resistencia y susceptibilidad a la infección. [Terrazas, *et. al.*, 1999]. Diferencias en la susceptibilidad a la cisticercosis por *T. crassiceps* fueron encontradas entre dos subespecies del ratón BALB/c: BALB/cAnN (susceptible) y BALB/cJ (resistente) [López-Briones, *et. al.*, 2003].

En animales de laboratorio como el ratón, el cisticerco de *T. crassiceps* induce una infección crónica [Freeman, 1962]. Este cisticerco crece en la cavidad peritoneal, donde se reproduce por gemación y de donde pueden ser obtenidos y contados individualmente para estimar que tan susceptibles son las diferentes cepas. La infección peritoneal con cisticercos de *T. crassiceps* a ratones susceptibles induce una depresión de la respuesta inmune celular [Sciutto, *et. al.*, 1995].

La susceptibilidad del hospedero y la intensidad de esta cisticercosis murina depende de la combinación de factores genéticos [Sciutto, *et. al.*, 1991] y sexuales [Sciutto, *et. al.*, 1991; Bojalil, *et. al.*, 1993; Huerta, *et. al.*, 1992].

5.3. Respuesta inmune y esteroides sexuales en la cisticercosis murina por *T. crassiceps*.

En el modelo experimental de cisticercosis murina, la infección de ratones neonatos con *T. crassiceps* induce una fuerte respuesta de tipo Th2. Actualmente, es ampliamente aceptado que una respuesta de tipo Th2 media la inmunidad protectora en contra de varios helmintos. Su papel en mediar la protección en contra de la cisticercosis murina no es clara [Rodríguez-Sosa, *et. al.*, 2002].

Estudios previos han encontrado que los ratones infectados con *T. crassiceps* desarrollan una respuesta de tipo Th1 durante la fase temprana de la infección, eventualmente estos ratones desarrollan una respuesta tipo Th2 que es asociada con un incremento en las cargas parasitarias [Terrazas, *et. al.*, 1998].

La cisticercosis por *T. crassiceps* causa una impresionante feminización en ratones machos durante la infección crónica (mayor a 4 semanas), caracterizada por el incremento de los niveles de Estradiol en suero 100 veces su nivel normal, mientras aquellos con Testosterona disminuyeron en un 85% [Morales-Montor, *et. al.*, 2001]. Actualmente se sabe que los estrógenos favorecen y los andrógenos dificultan la reproducción de cisticercos por al menos dos mecanismos:

1.- A través de la polarización por E_2 del balance Th1/Th2 del sistema inmune hacia una respuesta permisiva de tipo Th2, que es dependiente de IL-6 mediando la sobreexpresión de la enzima P_{450} Aromatasa, convirtiendo la T a E_2 y por lo tanto creando un asa de retroalimentación positiva favoreciendo la respuesta de tipo Th2, bloqueando en cambio la respuesta de tipo Th1 además del crecimiento de los parásitos. [Morales-Montor, *et. al.*, 2008].

2.- Los estrógenos y andrógenos actúan directamente sobre el sistema reproductivo del cisticerco, favoreciendo o dificultando, respectivamente, su reproducción asexual. Después de la infección, cuando las cargas parasitarias son por miles, los ratones machos, se estrogenizan, se deandrogenizan y disminuyen sus comportamientos copulativo, agresivo y social en asociación con la sobreexpresión de la enzima P_{450} Aromatasa testicular. [Morales-Montor, *et. al.*, 2008].

Este complejo control de las cargas parasitarias en la red neuroinmunoendócrina en la cisticercosis murina, y las consecuencias biológicas y del comportamiento en el hospedero, tal vez opere en otras infecciones de los mamíferos. [Morales-Montor, *et. al.*, 2008].

III. JUSTIFICACIÓN

Diversas perturbaciones durante el desarrollo fetal y postnatal desencadenan adaptaciones endocrinas que modifican permanentemente el metabolismo, incrementando la susceptibilidad para el desarrollo de enfermedades. El crecimiento y desarrollo fetal e infantil constituyen los periodos de mayor plasticidad celular y dependen en gran medida, además del componente genético, del ambiente intrauterino y postnatal en que se desenvuelve el individuo. En consecuencia, las etapas fetal y neonatal son las de mayor riesgo en la programación de la salud y la enfermedad. [Guzmán, *et. al.*, 2007].

Numerosos químicos liberados al ambiente por el hombre son capaces de alterar la función del sistema endócrino por su interacción con receptores hormonales.

Estos disruptores endocrinos son moléculas ambientales exógenas que pueden afectar la síntesis, secreción, transporte, metabolismo, unión, acción y catabolismo de las hormonas naturales del cuerpo. [Brevini, *et. al.*, 2005]. La exposición a disruptores estrógenicos durante periodos críticos pueden alterar el desarrollo de los órganos reproductivos, del sistema neuroendócrino y subsecuentemente el comportamiento. [Palanza, *et. al.*, 2002].

Los esteroides sexuales, como los andrógenos y 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. [De León-Nava y Morales-Montor, 2006].

Algunas evidencias clínicas y experimentales indican que la reactividad inmune es mucho mayor en hembras que en machos [Cohn, 1979]. Esta condición provee a las hembras de una incrementada resistencia a una variedad de infecciones [Goble y Konopka, 1971]. En el caso de las mujeres, éstas también tienen una

incidencia mucho mayor de ciertas enfermedades autoinmunes como enfermedades autoinmunes de tiroides y SLE durante los años reproductivos [Steinberg, *et al.*1979].

Estas observaciones sugieren fuertemente que el sistema reproductivo juega un papel importante en la regulación del sistema inmune [Simón y Lake Polan, 1994].

Por lo tanto, la alteración de la delicada comunicación entre los sistemas inmune y endócrino puede explicar diversas patologías en que existe susceptibilidad asociada al sexo y en las que los esteroides sexuales son factores clave.

Este estudio pretende determinar los efectos de la estrogenización o androgenización del ambiente endócrino durante una etapa crítica del desarrollo – el periodo neonatal– hacia el establecimiento del dimorfismo sexual inmunológico ante un reto antigénico.

IV. OBJETIVO GENERAL

- Evaluar los efectos de la administración neonatal de Estradiol y Testosterona en el dimorfismo sexual de la respuesta inmune del ratón ante la infección experimental con el cisticerco de *T. crassiceps*.

IV.I. OBJETIVOS PARTICULARES

- Obtener ratones hembras y machos estrogenizados y androgenizados mediante la administración de Estradiol y Propionato de Testosterona.
- Evaluar la carga parasitaria en los animales inoculados con *T. crassiceps* y tratados con Estradiol, Propionato de Testosterona y Vehículo.
- Cuantificar citocinas (IL-4 e IFN- γ) en el suero de ratones estrogenizados, androgenizados y control.
- Comparar los efectos de la estrogenización y de la androgenización en los ratones infectados con el cisticerco de *T. crassiceps*.

V. HIPÓTESIS

La administración de andrógenos a ratones neonatos generará que estos sean menos susceptibles ante la infección por el parásito *Taenia crassiceps*. Por el contrario, si se administran estrógenos a estos ratones, se espera una mayor susceptibilidad ante la infección por el cestodo que los administrados con andrógenos.

VI. METODOLOGÍA

Apareamiento, nacimiento y administración de Estradiol (E₂), Propionato de Testosterona (TP) y Aceite mineral (Vh): Se utilizaron ratones de la cepa BALB/cAnN de diez semanas de edad, los cuales fueron mantenidos en condiciones de luz/oscuridad de 12 x 12 horas con alimento y agua *ad libitum*; los procedimientos se realizaron de acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999.

El apareamiento se realizó con un macho por cada cuatro hembras y se dio un tiempo máximo de 5 días para que las hembras fueran preñadas. Con la aparición del tapón espermático, las hembras se consideraron preñadas, se separaron de las demás y a partir de este hecho se contó como el día cero de la gestación. Al nacimiento de las crías –en el día 19 de gestación– se determinó el sexo y la camada se ajustó a una n = 6 crías para integrar grupos como se describe en las tablas 1 y 2.

Grupos	Animales inoculados				Animales no inoculados			
	TPi		Vhi		TPsi		Vhsi	
Individuos por grupo	♀ = 6	♂ = 6	♀ = 6	♂ = 6	♀ = 6	♂ = 6	♀ = 6	♂ = 6
Individuos totales por grupo	12		12		12		12	
Población total	48							

Tabla 5. Descripción de los grupos que conforman el experimento. **TPi:** Animales inoculados con *T. crassiceps* y administrados con Propionato de Testosterona, **Vhi:** Animales inoculados con *T. crassiceps* y administrados con Aceite Mineral, **TPsi:** Animales sin inocular y administrados con Propionato de Testosterona, **Vhsi:** Animales sin inocular y administrados con Aceite Mineral; ♀: Hembras, ♂: Machos.

Grupos	Animales inoculados				Animales no inoculados			
	E2i		Vhi		E2si		Vhsi	
Individuos por grupo	♀ = 6	♂ = 6	♀ = 6	♂ = 6	♀ = 6	♂ = 6	♀ = 6	♂ = 6
Individuos totales por grupo	12		12		12		12	
Población total	48							

Tabla 6. Descripción de los grupos que conforman el experimento. **E2i:** Animales inoculados con *T. crassiceps* y administrados con Estradiol, **Vhi:** Animales inoculados con *T. crassiceps* y administrados con Aceite Mineral, **E2si:** Animales sin inocular y administrados con E2, **Vhsi:** Animales sin inocular y administrados con Aceite Mineral; ♀: Hembras, ♂: Machos.

A los cuatro días posteriores al nacimiento, se les administró a las crías TP a una dosis de 50 µg/ratón o E₂ a una dosis de 5 µg/ratón o Aceite Mineral vía s.c. según fue el caso.

Crecimiento: Las crías fueron pesadas desde su nacimiento hasta el día veintiuno de vida (destete) para determinar la ganancia de masa corporal.

Ciclo estral: Una vez que las hembras estrogenizadas, androgenizadas y control presentaron apertura vaginal, se les realizó frotis durante diez días y las muestras obtenidas fueron teñidas y observadas al microscopio para determinar la etapa del ciclo estral en la que se encontraban.

Distancia Anogenital: Al día veintiuno de vida, se utilizó un vernier para determinar la distancia anogenital de hembras y machos estrogenizados, androgenizados y control.

Infección: A las seis semanas de edad, cada animal de los grupos TPi, E2i y Vhi fue inoculado con veinte cisticercos de *Taenia crassiceps* vía i.p. de aproximadamente 1 mm de diámetro suspendidos en PBS y en condiciones de esterilidad.

Sacrificio: Ocho semanas después de la infección, los ratones fueron anestesiados con CO₂, se obtuvo una muestra sanguínea mediante punción cardiaca, y después fueron sacrificados por dislocación cervical. Se hizo un corte en la cavidad peritoneal para obtener los cisticercos, los cuales fueron suspendidos en PBS y finalmente se realizó el conteo de los mismos.

Extracción de suero y cuantificación de IL-4 e IFN-γ: La sangre fue introducida en tubos Eppendorf; se permitió que coagulara, se separó el coágulo con un palillo y se centrifugó a 1500 rpm durante 15 minutos, a 4 °C. Al término del centrifugado,

se extrajo el suero, y este se conservó a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta el momento de la cuantificación de IL-4 e IFN- γ .

La cuantificación de citocinas se realizó mediante la técnica cuantitativa de ELISA en sandwich. Un microplato de inmunoensayo es cubierto previamente con un anticuerpo (anticuerpo de captura) específico para IL-4 o IFN- γ . Los estándares, el control, y la muestra fueron colocados dentro de los pocillos del microplato con lo que cualquier cantidad de IL-4 e IFN- γ presente en la muestra quedó unida al anticuerpo inmovilizado.

Después se realizó un lavado para eliminar toda sustancia que no estuviera unida al anticuerpo primario y después se procedió a adicionar un agente compuesto por un anticuerpo-enzima y se adicionó un sustrato a los pocillos. La reacción de la enzima con el sustrato produjo una reacción colorida, la cual se detuvo al adicionar una solución "Stop".

Finalmente la intensidad del color se midió en un espectrofotómetro a una longitud de onda (λ) de 450 nm (con una corrección de λ de 540 a 570 nm). Esta intensidad de color de la muestra fue proporcional a la concentración de IL-4 o IFN- γ presente en la misma.

Análisis Estadístico

Los datos se presentaron como Media \pm Error estándar (EE). Posteriormente fueron analizados por una ANOVA de una vía seguido de una prueba Post hoc *t* de Fischer considerando los resultados como significativos a una $P < 0.05\%$.

VII. RESULTADOS

VII. I. Parámetros morfométricos.

VII. I. I. Crecimiento

1. Crecimiento de ratones neonatos administrados con E₂

El crecimiento de los ratones tratados con E₂ se muestra en la **Figura 7**.

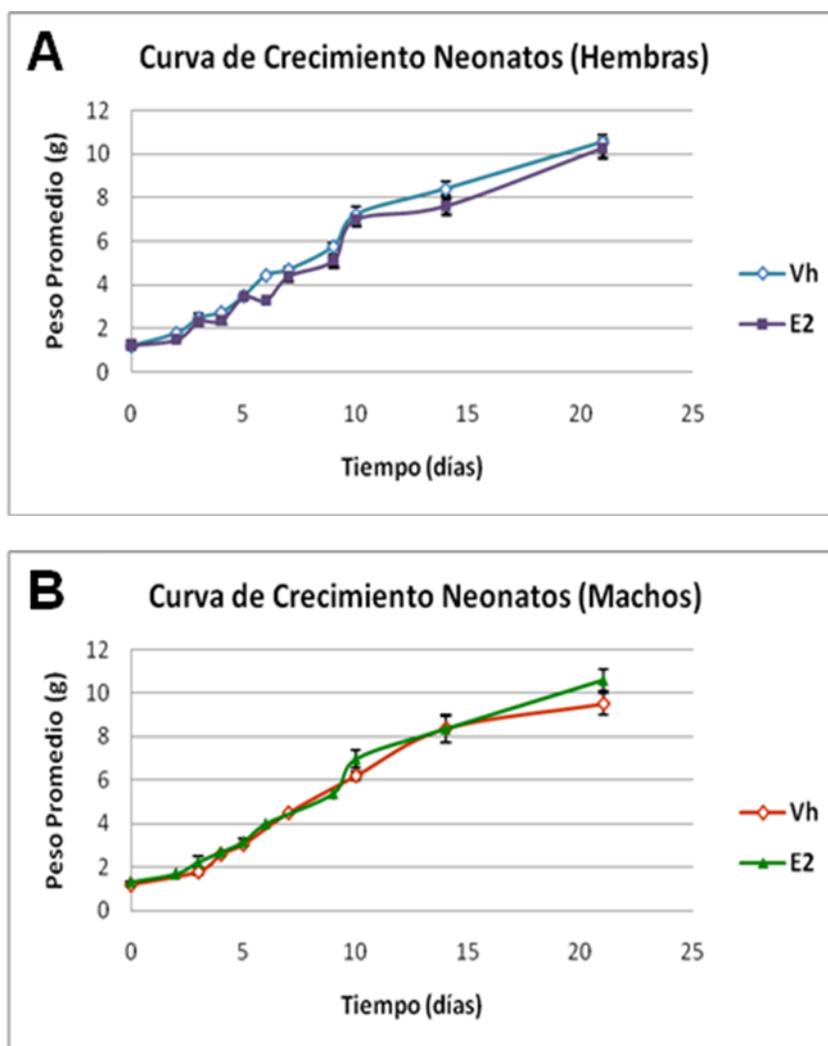


Fig. 7. Curvas de crecimiento de ratones estrogenizados. El crecimiento de neonatos hembras (**Fig. 7A**) y machos (**Fig. 7B**) administrados con E₂ en el día cuatro de vida. Se monitoreó el crecimiento desde el nacimiento hasta el destete (día 21 de edad) para determinar la ganancia de masa corporal. n = 6; Media ± EE.

2. Crecimiento de ratones neonatos administradas con TP

El crecimiento de los ratones tratados con TP se muestra en la **Figura 8**.

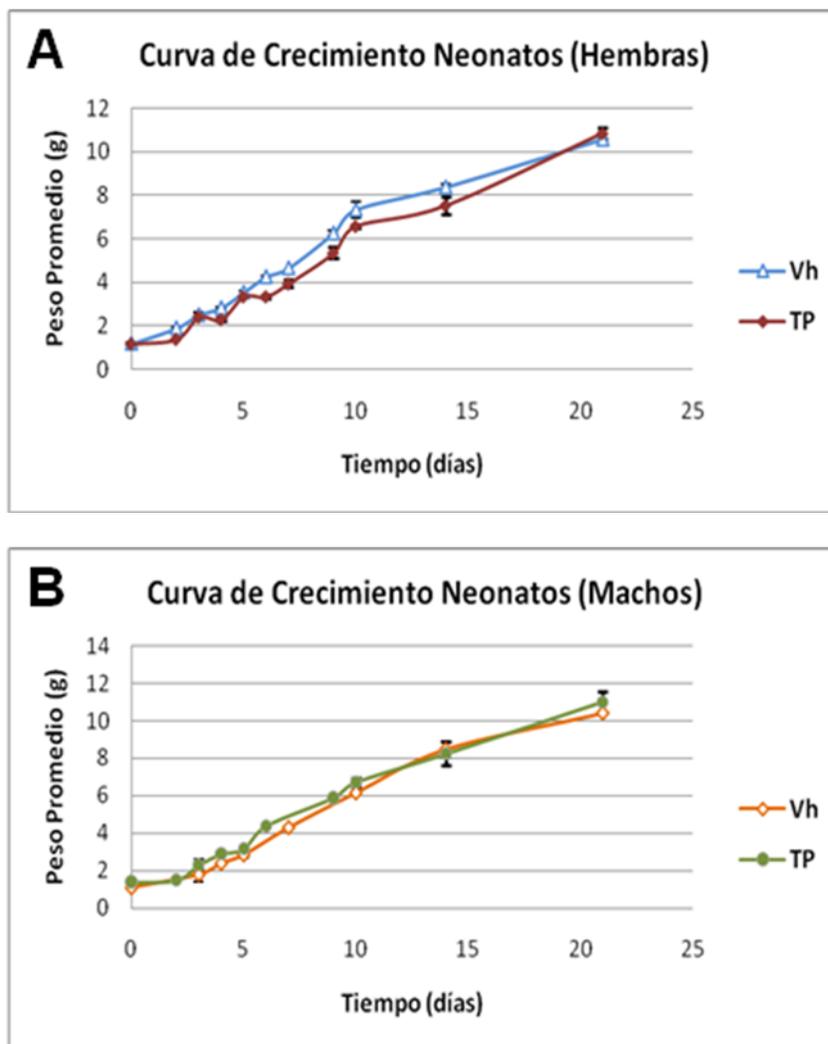


Fig. 8. Curvas de crecimiento de ratones androgenizados. El crecimiento de neonatos hembras (**Fig. 8A**) y machos (**Fig. 8B**) administrados con TP en el día 4 postnatal. Se procedió de la misma forma que para los neonatos administrados con E₂ para la determinación de la ganancia de masa corporal, monitoreando el peso desde el nacimiento hasta el día 21 de vida. n = 6; Media ± EE.

En cuanto al crecimiento, no se observaron diferencias entre los ratones tratados con Vh en comparación con los ratones hembras y machos estrogenizados (**Fig. 7**). De la misma manera, los animales hembras y machos androgenizados no presentaron diferencias respecto a los animales Vh del grupo (**Fig. 8**).

VII. I. II. Ciclo estral y apertura vaginal.

1. Ciclo estral de hembras tratadas con E₂

La **Figura 9** muestra un ejemplo representativo de la comparación de una hembra vehículo y una hembra estrogenizada. Las hembras administradas con E₂ presentaron apertura vaginal a temprana edad (29.3 ± 0.3 días respecto a las hembras control con 30.3 ± 0.4 días) e iniciado su ciclo estral estas presentaron estros persistentes mientras que las hembras administradas con TP no presentaron apertura vaginal debido probablemente al efecto ocasionado por la administración de TP por lo tanto el ciclo estral no se presentó

Para ambos tratamientos, las hembras control presentaron ciclos estrales con sus etapas normales, es decir, no hubo alteración en el ciclo.

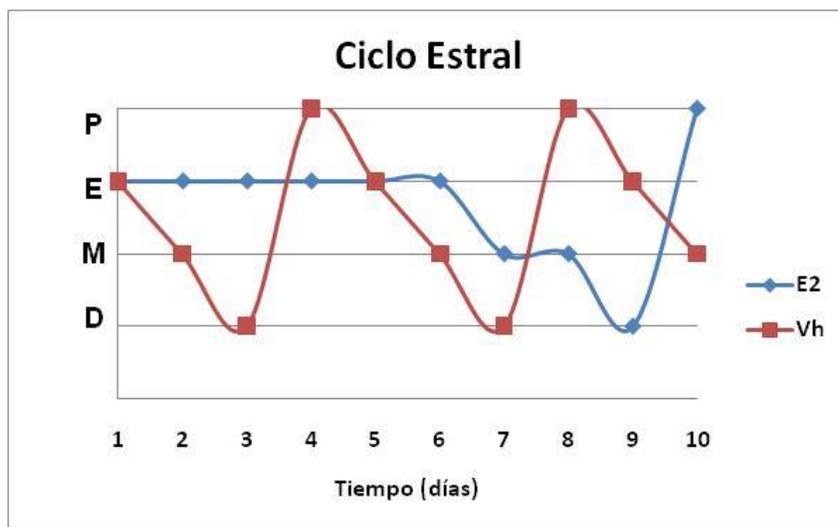


Fig. 9. Ciclo estral. Se monitoreó el ciclo estral de las hembras estrogenizadas y control durante diez días con la finalidad de determinar las etapas del ciclo. La gráfica muestra un ejemplo representativo de cada grupo. **P:** Proestro; **E:** Estro; **M:** Metaestro; **D:** Diestro.

2. Ciclo estral de hembras tratadas con TP

Los datos de las hembras administradas con TP no se muestran, ya que hubo ausencia de la apertura vaginal.

VII. I. III. Distancia Ano-Genital (DAG)

1. DAG de ratones tratados con E₂

La **Figura 10** muestra la DAG obtenida al día veintiuno postnatal de las hembras y machos estrogenizados con respecto a los ratones control.

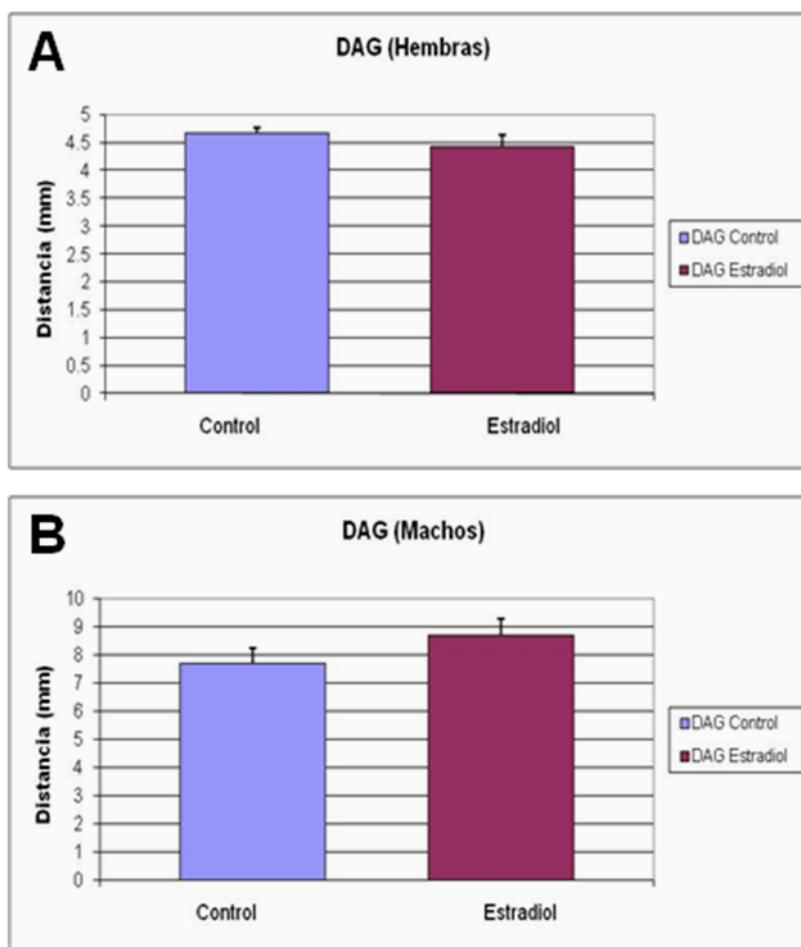


Fig. 10. Distancia Ano-Genital. Se monitoreó la DAG en el día 21 de edad de hembras (**Fig. 10A**) y machos (**Fig. 10B**) estrogenizados y control. Media \pm EE.

VII. II. Carga Parasitaria

1. Carga parasitaria de ratones tratados con E₂

Se observó un marcado dimorfismo sexual en los animales infectados con *T. crassiceps* (**Fig. 11**).

Dentro del grupo de animales tratados con E₂, el mayor número de parásitos se encontró en las hembras Vh, asimismo en los machos Vh, el conteo parasitario fue alto pero no tan marcado como el de la hembras Vh.

Por otro lado, las hembras tratadas con E₂ resultaron tener una cantidad mucho menor de parásitos con respecto al grupo de hembras Vh y de igual forma esta observación ocurrió en los machos tratados con E₂ mostrándose a partir de este resultado, una marcada abolición de la susceptibilidad asociada al sexo en las hembras E₂, a la mostrada por los individuos de los otros grupos experimentales (**Fig. 11A**).

2. Carga parasitaria de ratones tratados con TP

En el caso del grupo tratado con TP tanto las hembras Vh como las hembras TP presentaron alta carga parasitaria y se observó que la susceptibilidad asociada al sexo pareció no haberse visto afectada debido al tratamiento. De la misma forma los machos Vh y machos TP presentaron cargas parasitarias moderadas, sin embargo el número de parásitos contabilizados en los machos TP fue las más baja de los cuatro grupos experimentales (**Fig. 11B**).

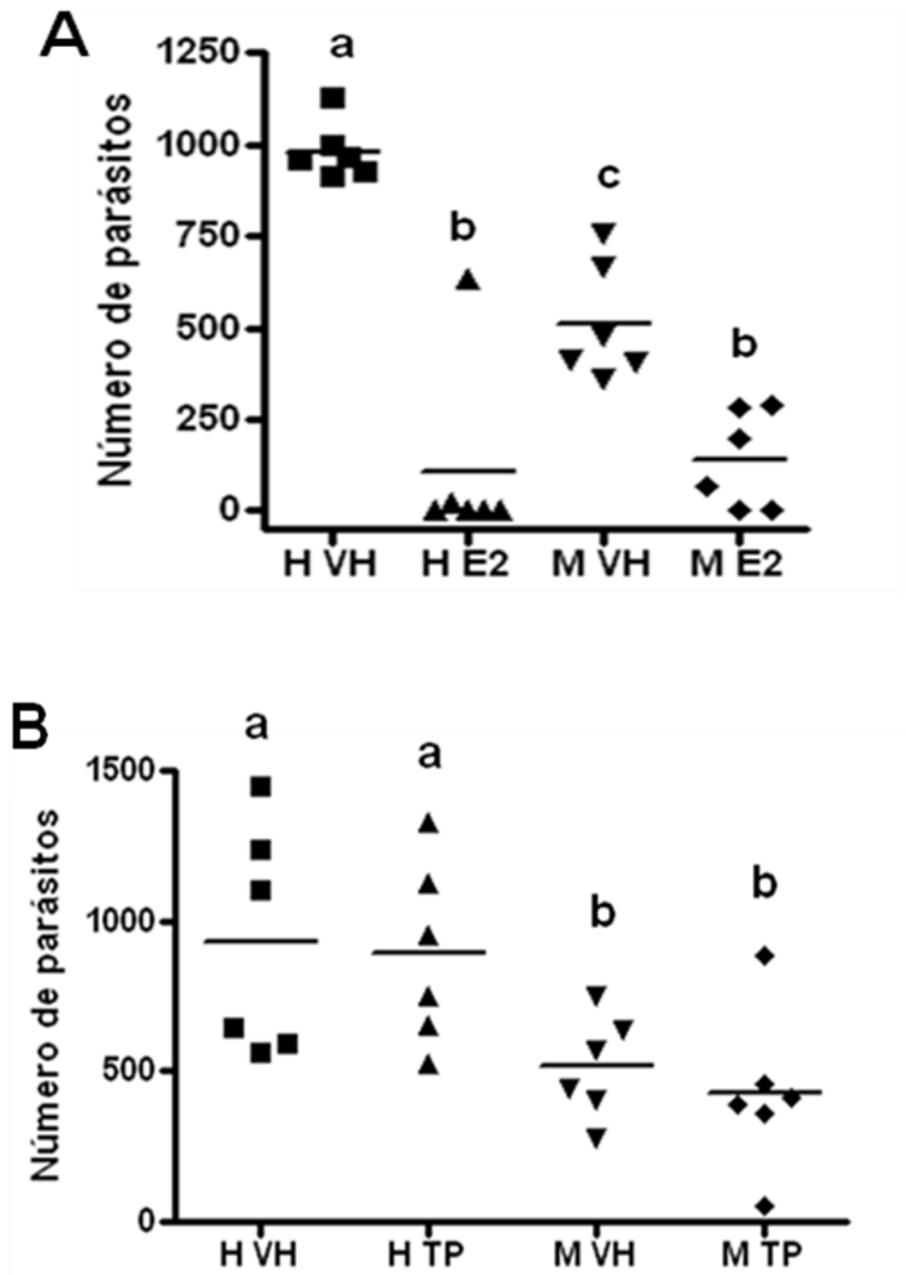


Fig. 11. Efecto de la administración neonatal de E₂ y TP sobre la carga parasitaria. A los cuatro días posteriores al nacimiento, se les administró a las crías TP (50 µg/ratón), E₂ (5 µg/ratón) o Aceite Mineral. A las seis semanas de edad fueron infectados con veinte cisticercos de *T. crassiceps*. Las gráficas muestran la cantidad de cisticercos recuperados de la cavidad peritoneal a las ocho semanas post-infección. **Carga Parasitaria de animales tratados con E₂ (Fig. 11A):** H VH vs H E₂ P < 0.001; H VH vs M VH P < 0.001; H VH vs M E₂ P < 0.001; H E₂ vs M VH P < 0.01; H E₂ vs M E₂ P > 0.05; M VH vs M E₂ P < 0.01. **Carga Parasitaria de animales administrados con TP (Fig. 11B):** P < 0.05 para letras diferentes. Para ambas gráficas, cada punto representa una carga parasitaria individual.

VII. III. Respuesta Th1/Th2

1. Concentraciones de IFN- γ e IL-4 en suero de ratones tratados con E₂

En el caso de los animales tratados con E₂, sorpresivamente, las hembras E₂ infectadas presentaron un aumento considerable en los niveles de IFN- γ frente a las no infectadas y frente a los otros grupos experimentales tanto infectados como no infectados, los cuales presentaron niveles similares (**Fig. 12A**).

Por otra parte, el nivel sérico de IL-4 en machos E₂ infectados fue el más elevado de todos los grupos experimentales, mientras que en las hembras Vh infectadas y E₂ infectadas los niveles de IL-4 son moderadamente altos con respecto a las hembras vehículo infectadas por lo que es probable que este comportamiento se presente como consecuencia de la infección por el parásito. (**Fig. 12B**).

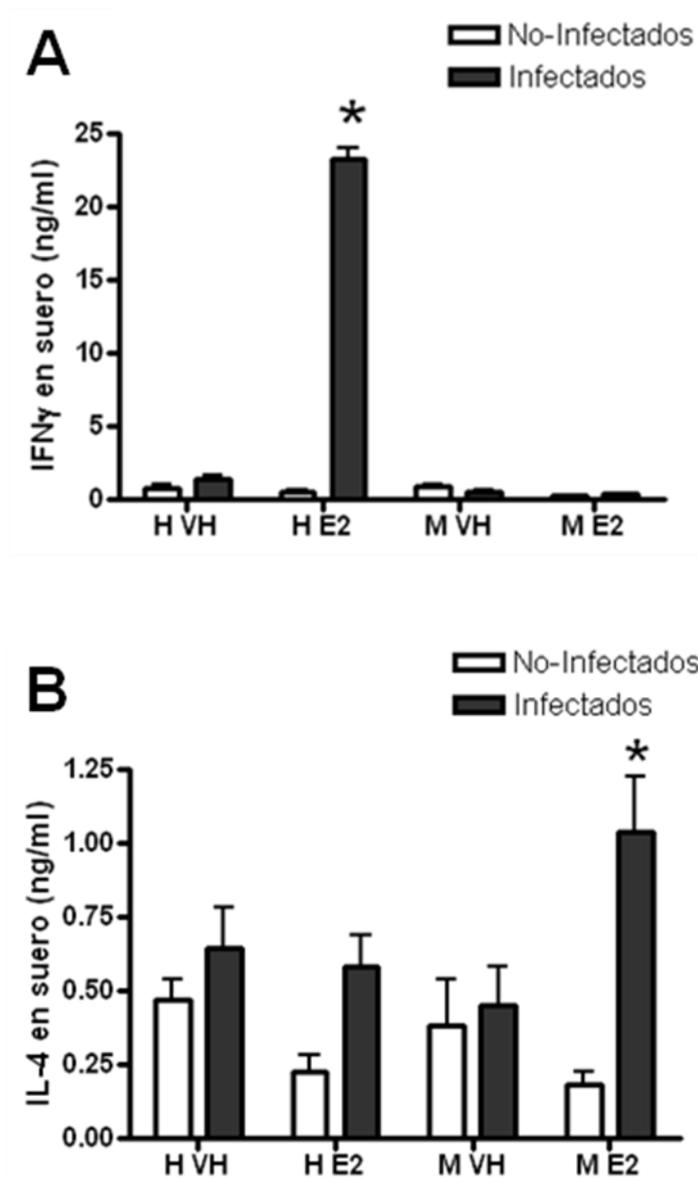


Fig. 12. Concentraciones de IFN- γ e IL-4 en el suero de los ratones estrogenizados a las ocho semanas de infección. A los cuatro días posteriores al nacimiento, las crías fueron administradas con TP (50 μ g/ratón), E₂ (5 μ g/ratón) o Aceite Mineral. A las seis semanas de edad fueron infectadas con veinte cisticercos de *T. crassiceps*. Después de ocho semanas de infección se colectaron muestras de suero. La inmunidad de tipo Th1 representada por los niveles séricos de IFN- γ (Fig. 12A; $P < 0.001$) mostró un incremento sumamente elevado en las hembras infectadas estrogenizadas, mientras que para los otros grupos se muestran niveles similares. Por otra parte, los niveles de IL-4 (Fig. 12B; $P < 0.01$) presentaron una tendencia a la alta en ambos grupos de hembras, mientras que en los machos estrogenizados los niveles séricos fueron significativamente altos. Media \pm EE.

2. Concentraciones de IFN- γ el IL-4 en suero de ratones tratados con TP

En el caso del grupo de animales tratados con TP los resultados no fueron tan dramáticos como en los grupos tratados con E₂ sin embargo puede notarse una elevación considerable del nivel de IFN- γ en el suero de las hembras TP infectadas. Cabe señalar que la concentración sérica de IFN- γ de las hembras Vh, machos Vh y machos TP tanto infectados como no infectados fue similar pero baja con respecto a las hembras TP infectadas (**Fig. 13A**).

Asimismo, los niveles de IL-4 en las hembras TP infectadas fueron similares a los presentados por las hembras Vh no infectadas, en cambio, en las hembras Vh infectadas el nivel sérico de IL-4 fue elevado pero con una menor concentración comparado con las hembras TP infectadas y las hembras Vh no infectadas. Las hembras TP infectadas, a diferencia de los otros grupos de hembras antes mencionados fueron los más bajos (**Fig. 13B**).

Contrario a las hembras, los grupos de machos Vh infectados y no infectados y machos TP infectados como no infectados, IL-4 se comporta de manera similar mostrando niveles mucho más bajos que en los grupos experimentales de hembras y a diferencia de estas, el grupo de machos TP infectados mostró la menor concentración de IL-4 (**Fig. 13B**).

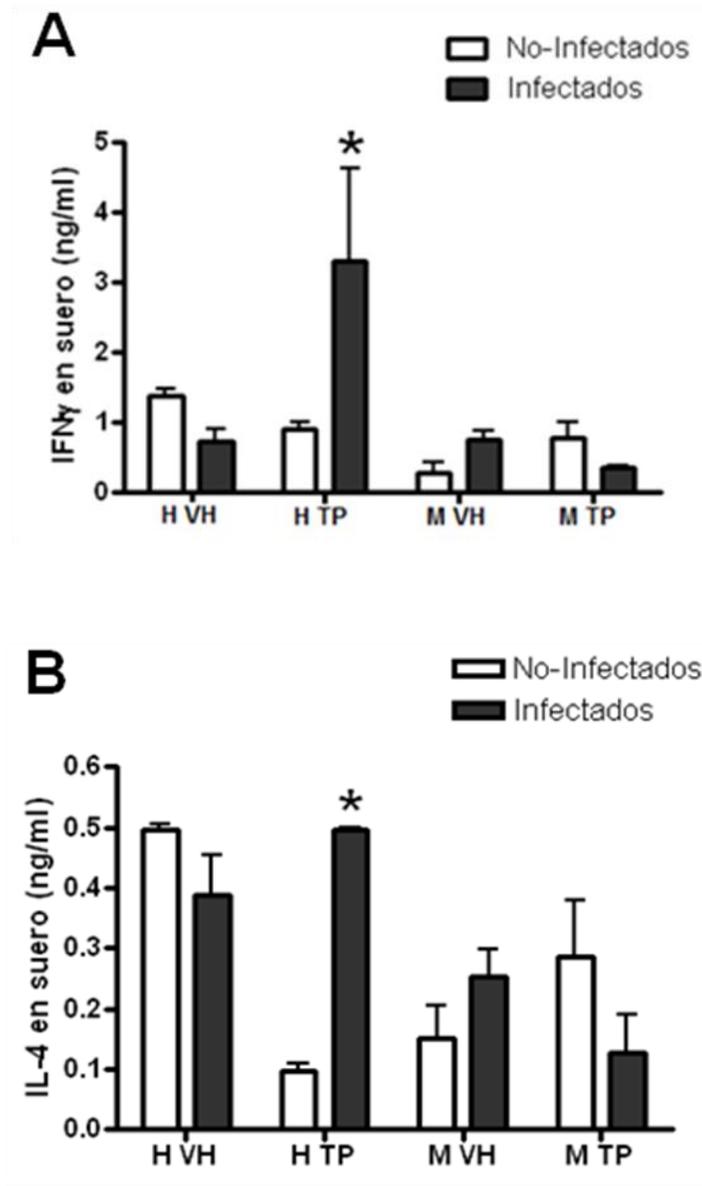


Fig. 13. Concentraciones de IFN- γ e IL-4 en el suero de los ratones androgenizados a las ocho semanas de infección. A los cuatro días posteriores al nacimiento, las crías fueron administradas con TP (50 μ g/ratón), E₂ (5 μ g/ratón) o Aceite Mineral. A las seis semanas de edad fueron infectadas con veinte cisticercos de *T. crassiceps*. Después de ocho semanas de infección se colectaron muestras de suero. Las diferencias significativas en niveles séricos de IFN- γ (**Fig. 13A; P < 0.05**) e IL-4 (**Fig. 13B; P < 0.05**) en los grupos de hembras podría estar asociado a la administración de TP y a su efecto defeminizante. En los machos este comportamiento fue diferente, lo que podría estar asociado a una susceptibilidad mayor de las hembras al efecto de los andrógenos influenciado el ambiente inmunoendócrino.

Lo anteriormente descrito se resume en la **Tabla 7**.

Tx	Vh				Estradiol				Propionato de Testosterona			
Crecimiento	SC				SC				SC			
Ciclo estrol	SC				Estro persistente				NA			
Apertura vaginal	SC				Precoz				NA			
DAG	SC				SC				Mayor			
Infección												
Tx	Vh				Estradiol				Propionato de Testosterona			
Grupo	Control		Infectado		Control		Infectado		Control		Infectado	
Sexo	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
Carga Parasitaria	NA	NA	921.7 ±53	489.1 ±64*	NA	NA	2.1 ±2.1*	114.7 ±52*	NA	NA	890.2 ±136.4	427.0 ±120*
IFN- γ	0.76 ±0.22	0.84 ±0.07	1.34 ±0.31	0.49 ±0.10	0.51 ±0.13	0.26 ±0.07	3.23 ±0.79	0.37 ±0.05	0.91 ±0.10	0.79 ±0.02	3.31 ±1.30	0.35 ±0.04
IL-4	0.46 ±0.07	0.38 ±0.15	0.64 ±0.13	0.45 ±0.13	0.22 ±0.05	0.18 ±0.04	0.58 ±0.11	1.04 ±0.18	0.09 ±0.01	0.28 ±0.09	0.49 ±0.00	0.13 ±0.06

Tabla 7. Comparación de resultados entre tratamientos. A los cuatro días posteriores al nacimiento, las crías de ratones BALB/cAnN fueron administradas con TP (50 $\mu\text{g}/\text{ratón}$), E₂ (5 $\mu\text{g}/\text{ratón}$) o Aceite Mineral. A las seis semanas de edad fueron infectadas con veinte cisticercos de *T. crassiceps*. Después de ocho semanas de infección se colectaron muestras de suero. En esta tabla pueden observarse de manera condensada los datos obtenidos del estudio previamente reportado. Es evidente que la administración de TP y E₂ modificó el ambiente endócrino de hembras y machos. **SC:** Sin Cambios. **NA:** No Aplica. * P<0.05.

La **Tabla 7** permite visualizar de manera más clara los efectos producidos en los ratones administrados con ambos tratamientos. Se puede observar que tanto E₂ como TP produjeron cambios macroscópicos visibles, como en el caso de la DAG donde se apreció que para ambos tratamientos este parámetro morfométrico resultó en una mayor dimensión en las hembras.

En el caso de la cuenta parasitaria pudo observarse la sorpresiva disminución de cisticercos en las hembras administradas con E₂, mientras que las hembras administradas con TP no presentaron diferencias significativas en cuanto a la cuenta parasitaria.

Respecto a la secreción de IFN- γ se observó una diferencia significativa en el grupo de hembras E₂ infectadas, no así para el grupo de hembras TP infectadas donde no hubo diferencias significativas para esta citocina.

Para IL-4 las hembras TP infectadas presentaron diferencias significativas mientras que en el caso del grupo administrado con E₂ estas diferencias se observaron en el grupo de machos E₂ infectados.

VIII. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El sistema inmune se encuentra regulado normalmente por hormonas y citocinas que, relacionadas íntimamente, propician su adecuado control.

Particularmente, en este estudio se encontró que la administración neonatal de E_2 produjo cambios importantes en la susceptibilidad asociada al sexo ante la infección por *T. crassiceps* a la llegada de la adultez [Guzmán, *et. al.*, 2009].

Sorpresivamente, la hipótesis planteada para el presente estudio no coincide con el resultado obtenido, ya que no se esperaba la aparición de un efecto protector durante la infección por *T. crassiceps* en el grupo de hembras infectadas y administradas con E_2 , lo que demostró que la exposición temprana a dicha hormona modificó la actividad del sistema inmune causando fuertes cambios en la susceptibilidad asociada al sexo, llevando a una resistencia ante la infección por el parásito de *T. crassiceps* a las hembras estrogenizadas.

Se puede pensar también que el efecto de la administración de estrógenos, haya influenciado en la masculinización de otros órganos implicados en la red de comunicación neuroinmunoendócrina, por ejemplo, el cerebro.

Estudios realizados en los años 70 del siglo pasado describieron que el tratamiento de hembras neonatas con E_2 exógeno, originalmente administradas como controles para T, también inducía una completa masculinización del cerebro y del comportamiento [Schwarz y McCarthy, 2008].

Ahora es evidente que varias áreas sexualmente dimórficas del cerebro contienen niveles sustanciales tanto de la enzima Citocromo P₄₅₀ Aromatasa (CYP 19), enzima responsable de la conversión de T a E_2 , como altas densidades de receptores a Estrógenos. Es evidente que la administración de E_2 durante periodos críticos del desarrollo es responsable por mucho de la diferenciación

sexual del cerebro [Schwarz y McCarthy, 2008] y que dicha afección pueda influir en el ambiente endócrino de los individuos.

Cabe señalar que, durante la manipulación de los animales tratados con E₂ tanto las hembras como los machos presentaron una conducta más agresiva que los administrados con el tratamiento control, además de que las hembras estrogenizadas presentaron una conducta masculinizada observada por el hecho de que dichas hembras adquirirían un comportamiento de monta al entrar en contacto con otras hembras.

En los ratones administrados con TP no se presentaron cambios más allá de una conducta agresiva tanto en hembras como en machos.

En los grupos tratados con E₂ no se observaron diferencias significativas tanto en hembras como en machos estrogenizados respecto a los grupos control y presentaron una DAG casi de las mismas dimensiones.

Respecto a la cuenta parasitaria se pudo evidenciar de manera dramática la disminución del número de parásitos presentes en las hembras administradas con E₂ así como también una disminución, si bien no tan marcada como el grupo de hembras E₂ infectadas, del número de parásitos en el grupo de machos E₂ infectados, lo que lleva a aseverar que la administración de E₂ pudo haber inducido un efecto potenciador de la respuesta inmune del huésped lo que se traduce en una disminución de la susceptibilidad ante la infección por *T. crassiceps*, así como la pérdida del dimorfismo sexual característico de esta infección.

En cambio en los individuos administrados con TP el número de parásitos se comportó típicamente al haber presentado una susceptibilidad asociada al sexo con un conteo parasitario sin cambios importantes, lo cual muestra que el efecto observado es mediado directamente por estrógenos. El TP es un análogo de la T,

que no es aromatizable, por lo que la administración de T podría inducir el mismo efecto que el E₂.

Lo antes descrito puede explicarse, en lo que concierne a la administración de E₂, en que la administración neonatal de este esteroide propició un aumento en la expresión de IFN- γ en las hembras infectadas, el cual juega un papel sumamente importante en la defensa contra la infección por el parásito al favorecer la polarización de la respuesta inmune a una respuesta mediada por IFN- γ , que es la respuesta protectora en esta infección [Guzmán, *et. al.*, 2009].

Además, la administración de esteroides exógenos muestra una regulación a la alta del sistema inmune, específicamente la respuesta inmune celular, por el incremento natural del número y la función de las células NK. Los hallazgos obtenidos en este estudio también respaldan esta noción, ya que los niveles séricos de IL-4 e IFN- γ están incrementados en una manera sexualmente dimórfica como respuesta al tratamiento neonatal con E₂.

En las hembras tratadas con TP, si se presentaron diferencias significativas respecto a los niveles séricos de ambas citocinas, lo que podría asociarse a la masculinización de estas hembras. Sin embargo, esto no se observó en los machos androgenizados, por lo que podría haber una mayor susceptibilidad del sistema inmune neonatal de las hembras a los esteroides sexuales.

Cabe señalar que el comportamiento de IFN- γ debido a la administración de TP fue similar entre el grupo de hembras TP infectadas y el grupo de las hembras infectadas administradas con E₂ mostrándose un incremento en la concentración de esta citocina (el nivel fue más alto pero no en la misma magnitud con aproximadamente 3 ng/mL en el grupo de TP vs aproximadamente 23 ng/mL en el grupo de E₂).

Es importante mencionar también que los efectos de dicha administración neonatal pudieron ser mediados por mecanismos celulares implicados en la activación de la respuesta inmune a consecuencia de la administración de esteroides exógenos, los cuales tienen su efecto a diferentes niveles del metabolismo favoreciendo o suprimiendo la expresión de ciertas moléculas clave para defensa del organismo del hospedero ante la infección por *T. crassiceps*.

Los efectos fisiológicos producidos a consecuencia de la administración de E₂ pudieron observarse al inicio de la pubertad en el caso de las hembras administradas con dicha hormona por mostrar una apertura vaginal temprana y estros persistentes lo que se tradujo en una alteración en el ciclo estral de dichas hembras provocando periodos mucho más largos.

Contrario a este efecto, debido a la administración de TP, se observó una ausencia en la apertura vaginal de las hembras administradas con dicho esteroide exógeno y en casos aislados presencia de machos criptorquídicos (resultados no mostrados).

Ya que las hormonas ejercen su actividad debido a su unión con sus receptores nucleares por activación de la transcripción génica y la maquinaria celular, para la subsecuente expresión de ciertas moléculas encargadas de propiciar cambios en el hospedero, los cambios antes mencionados pudieron producirse de manera temprana debido a la administración de dichas moléculas disruptoras produciendo cambios drásticos en órganos blanco del hospedero.

Por ejemplo, se ha demostrado que la administración de esteroides exógenos regulan a la alta el sistema inmune, específicamente la respuesta inmune celular, incrementando la función y número de células NK [Loria, *et. al.*, 1998]. La exposición neonatal puede alterar los órganos reproductivos y el sistema neuroendócrino [Palanza, *et. al.*, 1999]. O *in útero* pueden afectarse el tracto urogenital y el sistema nervioso [Brevini, *et. al.*, 2005].

Durante el periodo neonatal, el cerebro de los roedores es altamente sensitivo a la influencia de esteroides sexuales, y la exposición a estas hormonas, incluyendo la T y su metabolito E₂, induce una variedad de efectos durante el periodo crítico de diferenciación del cerebro que son necesarios para la diferenciación sexual del mismo.

La administración de E₂ exógeno a roedores hembras recién nacidas también puede influir en los mecanismos celulares mediados por el E₂ y que interfieren en la masculinización del cerebro [Schwarz y McCarthy, 2008].

Se ha demostrado también que la administración de altas dosis (50 a 500 µg) de TP en ratas, entre la primera y las 24 horas de vida, defeminiza completamente a las hembras. [Thomas, *et. al.*, 1983].

En contraste, las hembras tratadas con pequeñas dosis (5 µg) de TP en el mismo periodo de tiempo muestran diferentes niveles de desarrollo lordótico indicando una mayor sensibilización a los andrógenos inmediatamente después del nacimiento que a las 24 horas en ratas hembras, y que la mostrada en machos [Thomas, *et. al.*, 1983]. Por tanto, es claro, que la administración de esteroides sexuales tiene efectos en diferentes aspectos tanto fisiológicos como conductuales del sujeto.

También, ciertas funciones inmunes son transformadas por la exposición temprana a esteroides; sin embargo, no se sabe si las capacidades de respuesta de los propios inmunocitos están directamente modificadas o si ellos están respondiendo a señales de otros tejidos masculinizados, por ejemplo, el cerebro.

Varias evidencias apuntan a un efecto directo ya que los receptores a andrógenos y estrógenos están presentes en inmunocitos desarrollados. [Martin, 2000].

Con lo anteriormente descrito se podría explicar que la administración tanto de E₂ como de TP haya producido cambios visibles en la fisiología de los ratones administrados potenciando la actividad de las hormonas endógenas de dichos animales al adelantar o retrasar la pubertad en los individuos experimentales, así como también en aspectos conductuales de los individuos implicados en el estudio.

Aunado a esto se encontró que la administración de una dosis única de E₂ puede provocar una protección ante la infección por *T. crassiceps* y así modificar de manera permanente la función del sistema inmune. [Guzmán, *et. al.*, 2009].

Cabe señalar que en la información descrita en la **Tabla 7**, es evidente que la administración de E₂ y TP influenciaron el ambiente endócrino de hembras y machos ya que se observaron modificaciones importantes debido a la administración de ambos esteroides sexuales, lo que se tradujo en todas las alteraciones y/o cambios previamente descritos.

Es probable también que la estrogenización haya potenciado la masculinización del cerebro y del ambiente endócrino, y por consiguiente, afectando a otros sistemas con los que interactúa, entre estos, el sistema inmune incidiendo en este de forma directa y favoreciendo el efecto protector ante la infección por el parásito en las hembras tratadas con E₂.

Varios estudios han descrito que las hormonas sexuales aparentemente juegan un papel importante en las diferencias en la susceptibilidad asociada al sexo en ciertas enfermedades infecciosas y autoinmunes y se ha demostrado repetidamente que el sexo y sus esteroides asociados, influyen de manera significativa en varios aspectos del sistema inmune.

La presencia de receptores a hormonas en células del sistema inmune y sus efectos inmunomodulatorios han sido bien conocidos desde hace tiempo y

actualmente es claro que la red neuroinmunorregulatoria es fundamental para el hospedero y para transferir la inmunidad a su descendencia; esta red juega también un papel importante en la fisiología intestinal y regeneración de tejidos así como en la sanación y la reproducción por citar algunos ejemplos. [Simón, *et. al.*, 1994].

Se ha descrito también que la Testosterona parece suprimir la respuesta mediada tanto por células B como por células T y adicionalmente a los diferentes factores inmunes implicados en la regulación de la compleja red de citocinas, se ha encontrado evidencia de que el género es un factor importante en la determinación de las vías de secreción de esas proteínas, y que sugieren que los esteroides sexuales también son responsables de esas diferencias.

Por otra parte se ha encontrado que las hembras de diferentes especies producen concentraciones más altas de Ig's circulantes que los machos y que desencadenan una respuesta humoral más pronunciada en contra de la infección, además de que los estrógenos incrementan la respuesta de células B tanto in vivo como in vitro mientras que los andrógenos y la Progesterona disminuyen la producción de anticuerpos. [De León-Nava, *et. al.*, 2009].

Aunque se han evidenciado ampliamente las alteraciones programadas por la exposición neonatal a compuestos disruptores endócrinos y que estos afectan la fisiología normal del eje reproductivo; las adaptaciones que sufre un individuo en los estadíos más tempranos de su vida, en respuesta al ambiente uterino y postnatal, modifican su organismo a nivel metabólico para asegurar su supervivencia a corto plazo por lo cual estas mismas adaptaciones pudieran no ser tan benéficas a largo plazo, y poner en riesgo la salud en la etapa adulta.

Recientemente se ha descubierto que no sólo la exposición a disruptores endócrinos durante periodos críticos del desarrollo causa anomalías en la vida

adulta sino que también esas anormalidades son transgeneracionales. [Guzmán y Zambrano, 2007].

Por tal motivo será necesario profundizar en el estudio de los efectos adversos ocasionados por la administración de hormonas exógenas y cuáles serían las consecuencias de utilizarlas dentro de futuras terapias para el tratamiento de enfermedades.

Finalmente, se ha establecido que las hormonas esteroideas ejercen su efecto por mecanismos no genómicos mediante la acción de estas hormonas sobre receptores de superficie desencadenando cascadas de señalización, aceptándose actualmente que la ruta principal de la actividad biológica de estas hormonas es por medio de receptores nucleares específicos. [De León-Nava, *et. al.*, 2009].

IX. CONCLUSIONES

Los resultados arrojados por esta investigación apoyan y favorecen el hecho de que una dosis única de E₂ en la etapa neonatal puede conferir protección en contra de la infección por el cisticerco de *T. crassiceps*, mientras que la administración en el mismo periodo de TP no produce cambios, en lo referente al contexto sexualmente dimórfico que, si bien, se ha evidenciado la acción de la Aromatasa en el cerebro favoreciendo la masculinización del ambiente endócrino, no se logró apreciar dicha influencia en los animales androgenizados.

X. PERSPECTIVAS

Será necesario profundizar en cómo los compuesto exógenos utilizados en este estudio favorecen los mecanismos celulares implicados en la polarización de la respuesta inmune ante las infecciones parasitarias, así como en las consecuencias que conllevaría el uso de estos compuestos y poder así utilizar este conocimiento para la creación de nuevas terapias experimentales en contra de otras enfermedades parasitarias.

XI. REFERENCIAS

Abbas, A.K., Lichtman, A.H., Pillai, S. Cellular and Molecular Immunology. 6th Edition. Saunders Elsevier. Philadelphia, PA. 2007.

Ahmed, S.A., Talal, N. 1990. Sex hormones and the immune system--Part 2. Animal data. Baillieres Clin Rheumatol. 4(1):13-31.

Allen, J.B., Blatter, D., Calandra, G.B., Wilder, R.L. 1983. Sex hormonal effects on the severity of streptococcal cell wall-induced polyarthritis in the rat. Arthritis Rheum. 26(4), 560-3.

Anisman, H., Baines, M.G., Berczi, I., Bernstein, C.N., Blennerhassett, M.G., Gorczynski, R.M., Greenberg, A.H., Kisil, F.T., Mathison, R.D., Nagy, E., Nance, D.M., Perdue, M.H., Pomerantz, D.K., Sabbadini, E.R., Stanis, A., Warrington, R.J., 1996. Neuroimmune mechanisms in health and disease: 1. Health. CMAJ. 155(7), 867-874.

Ansar Ahmed S., Penhale, W.J., Talal, N. 1985. Sex hormones, immune responses, and autoimmune diseases. Mechanisms of sex hormone action. Am J Pathol. 121(3), 531-51.

Arteaga, M., Chavarría, A., Morales Montor, J. 2002. Immunoneuroendocrine communication network and homeostasis regulation: the use of hormones and neurohormones as immunotherapy. Rev Invest Clin. 54(6), 542-9.

Auernhammer, C.J., Melmed, S., 2001. The central role of SOCS-3 in integrating the neuro-immunoendocrine interface. J Clin Invest. 108(12), 1735-1740.

Axelrod, J., Reisine, T.D., 1984. Stress hormones: their interaction and regulation. *Science*. 224(4648):452-9.

Barraclough, C.A. 1961. Production of anovulatory, sterile rats by single injections of testosterone propionate. *Endocrinology*. 68, 62-7.

Barraclough, C. A.1979. Sex differentiation of cyclic gonadotropin secretion. *Adv. Biosci.* 25, 433-450.

Bartanusz, V., Jezova, D., Bertini, L.T., Tilders, F.J., Aubry, J.M., Kiss, J.Z., 1993. Stress-induced increase in vasopressin and corticotropin-releasing factor expression in hypophysiotrophic paraventricular neurons. *Endocrinology*. 132(2), 895-902.

Bateman, A., Singh, A., Kral, T., Solomon, S. 1989. The immune-hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocr Rev.* 10(1), 92-112.

Baum, M.J. 1979. Differentiation of coital behavior in mammals: a comparative analysis. *Neurosci Biobehav Rev.* 3(4), 265-84.

Beeson, P.B. 1994. Age and sex associations of 40 autoimmune diseases. *Am J Med.* 96(5), 457-62.

Berczi, I., Chalmers, I.M., Nagy, E., Warrington, R.J., 1996. The immune effects of neuropeptides. *Baillieres Clin Rheumatol.* 10(2), 227-257.

Berczi, I., Nagy, E. Neurohormonal control of cytokines during injury. In. Rothwell, N.J., Berkenbosch, F., editors. *Brain control of the response to injury*. New York: Cambridge University Press, 1994, 32-107.

Besedovsky, H.O., del Rey, A., 1996. Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. *Endocr Rev.* 17(1), 64-102.

Besedovsky, H.O., Rey, A.D. 2007. Physiology of psychoneuroimmunology: a personal view. *Brain Behav Immun.* 21(1), 34-44.

Besedovsky, H.O., Sorkin, E., 1977. Network of immune-neuroendocrine interactions. *Clin. Exp. Immunol.* 27, 1-12.

Blalock, J.E., 1984. The immune system as a sensory organ. *J. Immunol.* 132(3), 1067-1070.

Blalock, J.E., 1989. A molecular basis for bidirectional communication between the immune and neuroendocrine systems. *Physiol Rev.* 69(1), 1-32.

Bojalil, R., Terrazas, L.I., Govezensky, T., Sciutto, E., Larralde, C. 1993. Thymus-related cellular immune mechanisms in sex-associated resistance to experimental murine cysticercosis (*Taenia crassiceps*). *J Parasitol.* 79(3), 384-9.

Bouman, A., Heineman, M.J., Faas, M.M. 2005. Sex hormones and the immune response in humans. *Hum Reprod Update.* 11(4), 411-23.

Brevini, T.A., Zanetto, S.B., Cillo, F. 2005. Effects of endocrine disruptors on developmental and reproductive functions. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord.* 5(1), 1-10.

Chaouat, G., Ledée-Bataille, N., Dubanchet, S., Zourbas, S., Sandra, O., Martal, J. 2004. TH1/TH2 paradigm in pregnancy: paradigm lost? Cytokines in pregnancy/early abortion: reexamining the TH1/TH2 paradigm. *Int Arch Allergy Immunol.* 134(2), 93-119.

Chikanza, I.C., Petrou, P., Kingsley, G., Chrousos, G., Panayi, G.S. 1992. Defective hypothalamic response to immune and inflammatory stimuli in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 35(11):1281-8.

Cohn, D.A. 1979. High sensitivity to androgen as a contributing factor in sex differences in the immune response. *Arthritis Rheum.* 22, 1218-1233

Cua, D.J., Hinton, D.R., Stohlman, S.A. 1995. Self-antigen-induced Th2 responses in experimental allergic encephalomyelitis (EAE)-resistant mice. Th2-mediated suppression of autoimmune disease. *J Immunol.* 155(8),4052-9.

Dantzer, R., Kelley, K.W. 1989. Stress and immunity: an integrated view of relationships between the brain and the immune system. *Life Sci.* 44(26), 1995-2008.

De León-Nava, M. A., Nava, K., Soldevila, G., López-Griego, L., Chávez-Ríos, J. R., Vargas-Villavicencio, J.A., Morales-Montor, J. 2009. Immune sexual dimorphism: Effect of gonadal steroids on the expression of cytokines, sex steroids receptors, and lymphocyte proliferation. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 113(1-2), 57-64.

De León-Nava, M.A., Morales-Montor, J. 2006. Immune sexual dimorphism: can sex steroids affect the Th1/Th2 cytokine profile? *Rev Invest Clin.* 58(2), 161-9.

Dohle, G.R., Smit, M., Weber, R.F. 2003. Androgens and male fertility. *World J Urol.* 21(5), 341-5.

Dorian. B., Garfinkel, P.E. 1987. Stress, immunity and illness--a review. *Psychol.* 17(2), 393-407.

Edwards, D.A. 1971. Neonatal administration of androstenedione, testosterone or testosterone propionate: effects on ovulation, sexual receptivity and aggressive behavior in female mice. *Physiol Behav.* 6(3), 223-8.

Fox, H.S. 1992. Androgen treatment prevents diabetes in nonobese diabetic mice. *J Exp Med.* 175(5), 1409-12.

Freeman, L.M., Arora, T., Rissman, E.F. 1998. Neonatal androgen affects copulatory behavior in the female musk shrew. *Horm Behav.* 34(3), 231-8.

Freeman, R.S. 1962. Studies on the biology of *Taenia crassiceps* (Zeder, 1800) Rudolphi 1810 (Cestoda). *Can J Zool.* 40, 969-990.

Gaillard, R.C., Spinedi, E. 1998. Sex- and stress-steroids interactions and the immune system: evidence for a neuroendocrine-immunological sexual dimorphism. *Domest Anim Endocrinol.* 15(5), 345-52.

Gala, R.R., 1991. Prolactin and growth hormone in the regulation of the immune system. *Proc Soc Exp Biol Med.* 198(1), 513-527.

Gerall, A. A., Kenney, A.M. 1970. Neonatally androgenized females responsiveness to estrogen and progesterone. *Endocrinology.* 87(3),560-6.

Goble, F.C., Konopka, E.A. 1971. Sex as a factor in infectious disease. *Trans NY Acad Sci.* 35, 325-346

Goetzl, E.J., Adelman, D.C., Sreedharan, S.P., 1990. Neuroimmunology. *Adv Immunol.* 48, 168-190.

Goetzl, E.J., Sreedharan, S.P., 1992. Mediators of communication and adaptation in the neuroendocrine and immune systems. *FASEB J.* 6(9), 2646-2652.

Gorski, R.A. 1968. Influence of age on the response to parnatal administration of a low dose of androgen. *Endocrinology.* 82(5), 1001-4.

Gorski, R.A. 1974. The neuroendocrine regulation of sexual behavior. *Adv Psychobiol.* 2, 1-58.

Gorski, R.A. 2002. Hypothalamic imprinting by gonadal steroid hormones. *Adv Exp Med Biol.* 511,57-70; discussion 70-3.

Gorski, R.A., Barraclough, C.A. 1963. Effects of low dosages of androgen on the differentiation of hypothalamic regulatory control of ovulation in the rat. *Endocrinology.* 73, 210-6.

Graff, R.J., Lappé, M.A., Snell, G.D. 1969. The influence of the gonads and adrenal glands on the immune response to skin grafts. *Transplantation.* 7(2):105-11.

Greenough, W.T., Carter, C.S., Steerman, C., DeVogd, T.J. Sex differences in dendritic patterns in hamster preoptic area. 1977. *Brain Res.*126(1), 63-72.

Grossman, C.J. 1984. Regulation of the immune system by sex steroids. *Endocr Rev.* 5(3), 435-55.

Grossman, C.J. 1985. Interactions between the gonadal steroids and the immune system. *Science.* 227(4684), 257-61.

Grossman, C.J., Roselle, G.A., Mendenhall, C.L. 1991. Sex steroid regulation of autoimmunity. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 40(4-6), 649-59.

Grossman, C.J. 1989. Possible Underlying mechanism of sexual dimorphism in the immune response, fact and hypothesis. *J Steroid Biochem,* 34, 241-51.

Guzmán, C., Camacho-Arroyo, I., De León-Nava, M. A., Morales-Montor, J. 2009. Neonatal exposure to estradiol induces resistance to helminth infection and changes in the expression of sex steroid hormone receptors in the brain and spleen in adult mice of both sexes. *Brain Behav. Immun.* 23(5), 709-15.

Guzmán, C., Zambrano, E. 2007. Endocrine disruptor compounds and their role in the developmental programming of the reproductive axis. *Rev Invest Clin.* 59(1), 73-81.

Hall, J. M., Couse, J. F., and Korach, K. S. 2001. The multifaceted mechanisms of estradiol and estrogen receptor signaling. *J. Biol. Chem.* 276(40), 36869–36872.

Handa, R.J., Corbier, P., Shryne, J.E., Schoonmaker, J.N., Gorski, R.A. 1985. Differential effects of the perinatal steroid environment on three sexually dimorphic parameters of the rat brain. *Biol Reprod.* 32(4), 855-64.

Harris, G.W., Levine, S. 1965. Sexual differentiation of the brain and its experimental control. *J Physiol.* 181(2), 379-400.

Holmdahl, R. 1989. Estrogen exaggerates lupus but suppresses T-cell-dependent autoimmune disease. *J Autoimmun.* 2(5), 651-6.

Homo-Delarche, F., Fitzpatrick, F., Christeff, N., Nunez, E.A., Bach, J.F., Dardenne, M. 1991. Sex steroids, glucocorticoids, stress and autoimmunity. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 40(4-6), 619-37.

Huerta, L., Terrazas, L.I., Sciutto, E., Larralde, C. 1992. Immunological mediation of gonadal effects on experimental murine cysticercosis caused by *Taenia crassiceps* metacestodes. *J Parasitol.* 78(3), 471-6.

Huygen, K., Palfliet, K. 1984. Strain variation in interferon gamma production of BCG-sensitized mice challenged with PPD II. Importance of one major autosomal locus and additional sexual influences. *Cell Immunol.* 85(1), 75-81.

Ikeda, Y., Nagai, A., Ikeda, M.A., Hayashi, S. 2001. Neonatal estrogen exposure inhibits steroidogenesis in the developing rat ovary. *Dev Dyn.* 2001 221(4), 443-53.

Inman, R.D. 1978. Immunologic sex differences and the female predominance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 21(7), 849-52.

Janele, D., Lang, T., Capellino, S., Cutolo, M., Da Silva, J.A., Straub, R.H. 2006. Effects of testosterone, 17beta-estradiol, and downstream estrogens on cytokine secretion from human leukocytes in the presence and absence of cortisol. *Ann N Y Acad Sci.* 1069, 168-82.

Johnson, H.M., Torres, B.A., 1988. Immunoregulatory properties of neuroendocrine peptide hormones. *Prog Allergy*. 43, 37-67.

Jost, A., 1969. The extent of foetal endocrine autonomy. *Foetal Autonomy*. Ciba Foundation Symposium (ed. by G. E. W. Wolstenholme and M. O'Connor) p. 79. Churchill, London.

Jost, A., Vigier, B., Prépin, J., Perchellet, J.P., 1973. Studies on sex differentiation in mammals. *Recent Prog Horm Res*. 29, 1-41.

Kahlke, V., Angele, M.K., Schwacha, M.G., Ayala, A., Cioffi, W.G., Bland, K.I., Chaudry, I.H. 2000. Reversal of sexual dimorphism in splenic T lymphocyte responses after trauma-hemorrhage with aging. *Am J Physiol Cell Physiol*. 278(3), C509-16.

Karanth, S., McCann, S.M., 1990. Anterior pituitary hormone control by interleukin 2. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 88(7), 2961-2965.

Keelan, J.A., Blumenstein, M., Helliwell, R.J., Sato, T.A., Marvin, K.W., Mitchell, M.D. 2003. Cytokines, prostaglandins and parturition--a review. *Placenta*. 24 Suppl A:S33-46.

Kelley, K. W., 1988a. Cross-Talk between the immune and endocrine system. *J Anim Sci*. 66, 2095-2108.

Kelley, K.W., Davila, D.R., Brief, S., Simon, J., Arkins, S., 1988b. A pituitary-thymus connection during aging. In: Pierpaoli, W. Spector, N.H., Jankovic, B. (Ed.) *Neuroimmunomodulation: Interventions in aging and cancer*. 521, 88-98. New York Academic of Sciences, New York.

Khansari, D.N., Murgu, A.J., Faith, R.E. 1990. Effects of stress on the immune system. *Immunol Today*. 11(5), 170-5.

Kidd, P. 2003. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Altern Med Rev*. 8(3), 223-46.

Kipp, J.L., Kilen, S.M., Bristol-Gould, S., Woodruff, T.K., Mayo, K.E. 2007. Neonatal exposure to estrogens suppresses activin expression and signaling in the mouse ovary. *Endocrinology*. 148(5), 1968-76.

Laird, S.M., Tuckerman, E.M., Cork, B.A., Linjawi, S., Blakemore, A.I., Li, T.C. 2003. Hum Reprod A review of immune cells and molecules in women with recurrent miscarriage. *Update*. 9(2),163-74.

Lamason, R., Zhao, P., Rawat, R., Davis, A., Hall, J.C., Chae, J.J., Agarwal, R., Cohen, P., Rosen, A., Hoffman, E.P., Nagaraju, K. 2006. Sexual dimorphism in immune response genes as a function of puberty. *BMC Immunol*. 7:2.

Linton, P.J., Haynes, L., Klinman, N.R., Swain, S.L. 1996. Antigen-independent changes in naive CD4 T cells with aging. *J Exp Med*. 184(5), 1891-900.

López-Briones, S, Lamoyi E, Fragoso G, Soloski MJ, Sciutto E. 2003. *Taenia crassiceps* cysticercosis: immune response in susceptible and resistant BALB/c mouse substrains. *Parasitol Res*. 90(3), 236-42.

López-Moreno, H.S. 2002. Tissue cestodiasis: role of helper type 1 and 2 T-lymphocytes. *Salud Publica Mex*. 44(2), 145-52.

Loria, R.M., Padgett, D.A. 1998. Control of the immune response by DHEA and its metabolites. *Rinsho Byori*. 46, 505-517.

Lorton, D., Bellinger, D.L., Felten, S.Y., Felten, D.L., 1991. Substance P innervation of spleen in rats: nerve fibers associate with lymphocytes and macrophages in specific compartments of the spleen. *Brain Behav Immun*. 5(1), 29-40.

Maizels, R.M., Yazdanbakhsh, M. 2003. Immune regulation by helminth parasites: cellular and molecular mechanisms. *Nat Rev Immunol*. 3(9), 733-44.

Marshall, J.S., Stead, R.H., McSharry, C., Nielsen, L., Bienenstock, J., 1990. The role of mast cell degranulation products in mast cell hyperplasia. I. Mechanism of action of nerve growth factor. *J Immunol*. 144(5), 1886-1892.

Martin, J.T. 2000. Sexual dimorphism in immune function: the role of prenatal exposure to androgens and estrogens. *Eur J Pharmacol*. 405(1-3), 251-61.

Matsumoto, A., Arai, Y. 1981. Effect of androgen on sexual differentiation of synaptic organization in the hypothalamic arcuate nucleus: an ontogenetic study. *Neuroendocrinology*. 33(3), 166-9.

McDonald, P.G., Doughty, C. 1972. Inhibition of androgen-sterilization in the female rat by administration of an antioestrogen. *J Endocrinol*. 55(2), 455-6.

McKay, D.M., Bienenstock, J., 1994. The interaction between mast cells and nerves in the gastrointestinal tract. *Immunol Today*. 15(11), 533-538.

Meyers, B.R., Sherman, E., Mendelson, M.H., Velasquez, G., Srulevitch-Chin, E., Hubbard, M., Hirschman, S.Z. 1989. Bloodstream infections in the elderly. *Am J Med.* 86(4), 379-84.

Miller, R.A.1996. The aging immune system: primer and prospectus. *Science.* 273(5271), 70-4.

Morales-Montor, J., Baig, S., Hallal-Calleros, C., Damian, R.T. 2002. *Taenia crassiceps*: androgen reconstitution of the host leads to protection during cysticercosis. *Exp Parasitol.* 100(4), 209-16.

Morales-Montor, J., Baig, S., Mitchell, R., Deway, K., Hallal-Calleros, C., Damian, R.T. 2001. Immunoendocrine interactions during chronic cysticercosis determine male mouse feminization: role of IL-6. *Immunol.* 167(8), 4527-33.

Morales-Montor, J., Chavarría, A., De León, M.A., Del Castillo, L.I., Escobedo, E.G., Sánchez, E.N., Vargas, J.A., Hernández-Flores, M., Romo-González, T., Larralde, C. 2004. Host gender in parasitic infections of mammals: an evaluation of the female host supremacy paradigm. *J Parasitol.* 90(3), 531-46.

Morales-Montor, J., Escobedo, G., Vargas-Villavicencio, J.A., Larralde, C. 2008. The neuroimmunoendocrine network in the complex host-parasite relationship during murine cysticercosis. *Curr Top Med Chem.* 8(5), 400-7.

Morel, P.A., Oriss, T.B. 1998. Crossregulation between Th1 and Th2 cells. *Crit Rev Immunol.* 18(4), 275-303.

Mosmann, T.R., Cherwinski, H., Bond, M.W., Giedlin, M.A., Coffman, R.L. 1986. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol.* 136(7), 2348-57.

Mosmann, T.R., Coffman, R.L. 1989. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol.* 7,145-73.

Nordeen, E.J., Yahr, P. 1983. A regional analysis of estrogen binding to hypothalamic cell nuclei in relation to masculinization and defeminization. *J Neurosci.* 3(5), 933-41.

Olsen, N.J., Kovacs, W.J.1996. Gonadal steroids and immunity. *Endocr Rev.* 17(4):369-84.

Ouaissi, A. Regulatory cells and immunosuppressive cytokines: parasite-derived factors induce immune polarization. *J Biomed Biotechnol.* 2007(4), 94971.

Palanza, P., Morellini, F., Parmigiani, S., vom Saal F. S. 1999. Prenatal exposure to endocrine disrupting chemicals: effects on behavioral development. *Neurosci Biobehav Rev.* 23(7), 1011-27.

Pozzilli, P., Signore, A., Williams, A.J., Beales, P.E. 1993. NOD mouse colonies around the world--recent facts and figures. *Immunol Today.* 14(5), 193-6.

Prins, G.S., Birch, L., Habermann, H., Chang, W.Y., Tebeau, C., Putz, O., Bieberich, C. 2001. Influence of neonatal estrogens on rat prostate development. *Reprod Fertil Dev.*13(4), 241-52.

Prins, G.S., Tang, W.Y., Belmonte, J., Ho, S.M. 2008. Perinatal exposure to oestradiol and bisphenol A alters the prostate epigenome and increases susceptibility to carcinogenesis. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 102(2), 134-8.

Raisman, G., Field, P.M. 1973. Sexual dimorphism in the neuropil of the preoptic area of the rat and its dependence on neonatal androgen. *Brain Res.* 54,1-29.

Raveche, E.S., Tjio, J.H., Boegel, W., Steinberg, A.D. 1979. Studies of the effects of sex hormones on autosomal and X-linked genetic control of induced and spontaneous antibody production. *Arthritis Rheum.* 22(11), 1177-87.

Resko, J.A., Roselli, C.E. 1997. Prenatal hormones organize sex differences of the neuroendocrine reproductive system: observations on guinea pigs and nonhuman primates. *Cell Mol Neurobiol.* 17(6), 627-48.

Roberts, C.W., Walker, W., Alexander, J. 2001. Sex-associated hormones and immunity to protozoan parasites. *Clin Microbiol Rev.* 14(3), 476-88.

Rodríguez-Sosa, M., David, J.R., Bojalil, R., Satoskar, A.R., Terrazas, L.I. 2002. Cutting edge: susceptibility to the larval stage of the helminth parasite *Taenia crassiceps* is mediated by Th2 response induced via STAT6 signaling. *J Immunol.* 168(7), 3135-9.

Roubinian, J.R., Papoian, R., Talal, N. 1977. Effects of neonatal thymectomy and splenectomy on survival and regulation of autoantibody formation in NZB/NZW F1 mice. *J Immunol.* 118(5), 1524-9.

Schröder, J., Kahlke, V., Staubach, K.H., Zabel, P., Stüber, F. 1998. Gender differences in human sepsis. *Arch Surg.* 133(11), 1200-5.

Schuurs, A.H., Verheul, H.A. 1990. Effects of gender and sex steroids on the immune response. *J Steroid Biochem.* 35(2), 157-72.

Schwarz, J.M., McCarthy, M.M. 2008. Cellular mechanisms of estradiol-mediated masculinization of the brain. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 109(3-5), 300-6.

Schwarz, J.M., McCarthy, M.M. 2008. Steroid-induced sexual differentiation of the developing brain: multiple pathways, one goal. *J Neurochem.* 2008. 105(5), 1561-72.

Sciutto, E., Fragoso, G., Baca, M., De la Cruz, V., Lemus, L., Lamoyi, E. 1995. Depressed T-cell proliferation associated with susceptibility to experimental *Taenia crassiceps* infection. *Infect Immun.* 63(6), 2277-81.

Sciutto, E., Fragoso, G., Diaz, M.L., Valdez, F., Montoya, R.M., Govezensky, T., Lomeli, C., Larralde, C. 1991. Murine *Taenia crassiceps* cysticercosis: H-2 complex and sex influence on susceptibility. *Parasitol Res.* 77(3), 243-6.

Seale, J.V., Wood, S.A., Atkinson, H.C., Harbuz, M.S., Lightman, S.L. 2005. Postnatal masculinization alters the HPA axis phenotype in the adult female rat. *J Physiol.* 563(Pt 1), 265-74.

Selye, H., 1936. A Syndrome Produced by Diverse Nocuous Agents. *Nature.* 138, 32.

Siiteri, P.K. 1979. Sex hormone production and action. *Arthritis Rheum.* 22(11), 1284-94.

Simón, C. Lake Polan, M. 1994. Cytokines and Reproduction. West J Med. 160(5), 425-429.

Smith, J.E., 1930. Effect of hypophysectomy on the involution of the thymus in the rat. Anat. Rec. 47, 119-129.

Solomon, J.B., 1971. Ontogeny of defined immunity in mammals. Foetal and Neonatal Immunology p. 234. North Holland Publishing Company, Amsterdam.

Spangelo, B.L., deHoll, P.D., Kalabay, L., Bond, B.R., Arnaud, P., 1994. Neurointermediate pituitary lobe cells synthesize and release interleukin-6 in vitro: effects of lipopolysaccharide and interleukin-1 beta. Endocrinology. 135(2), 556-563.

Spangelo, B.L., Gorospe, W.C., 1995. Role of the cytokines in the neuroendocrine-immune system axis. Front Neuroendocrinol. 16(1):1-22.

Spangelo, B.L., Judd, A.M., Isakson, P.C., MacLeod, R.M., 1990. Interleukin-1 stimulates interleukin-6 release from rat anterior pituitary cells in vitro. Endocrinology. 128(6), 2685-2692.

Stanisz, A.M., Befus, D., Bienenstock, J., 1986. Differential effects of vasoactive intestinal peptide, substance P, and somatostatin on immunoglobulin synthesis and proliferations by lymphocytes from Peyer's patches, mesenteric lymph nodes, and spleen. J Immunol. 136(1), 152-156.

Stead, R.H., Tomioka, M., Quinonez, G., Simon, G.T., Felten, S.Y., Bienenstock, J., 1987. Intestinal mucosal mast cells in normal and nematode-infected rat intestines are in intimate contact with peptidergic nerves. *Proc Natl Acad Sci USA*. 84(9), 2975-2979.

Steinberg, A.D., Melez, K.A., Raveche, E.S., Reeves, J.P., Boegel, W.A., Smathers, P.A., Taurog, J.D., Weinlein, L., Duvic, M. 1979. Approach to the study of the role of sex hormones in autoimmunity. *Arthritis Rheum*. 1979. 22(11), 1170-6.

Swanson, H.E., van der Werff Ten Bosch, J. 1963. Sex differences in growth of rats, and their modification by a single injection of testosterone propionate shortly after birth. *J Endocrinol*. 26, 197-207.

Taenia Infections. Institute for International Cooperation in Animal Biologics. The Center for Food and Public Health. Iowa State University. College of Veterinary Medicine. May 1, 2005.

Talal, N., Ansar Ahmed, S. 1987. Sex hormones and autoimmune diseases: a short review. *Int J Immunotherapy*. 3, 65-70.

Tarttelin, M.F., Shryne, J.E., Gorski, R.A. 1975. Patterns of body weight change in rats following neonatal hormone manipulation: a "critical period" for androgen-induced growth increases. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 79(1), 177-91.

Tecoma, E.S., Huey, L.Y. 1985. Psychic distress and the immune response. *Life Sci*. 36(19), 1799-812.

Terrazas, L.I., Bojalil, R., Govezensky, T., Larralde, C. 1998. Shift from an early protective Th1-type immune response to a late permissive Th2-type response in murine cysticercosis (*Taenia crassiceps*). J Parasitol. 84(1),74-81.

Terrazas, L.I., Cruz M, Rodríguez-Sosa M, Bojalil R, García-Tamayo F, Larralde C. 1999. Th1-type cytokines improve resistance to murine cysticercosis caused by *Taenia crassiceps*. Parasitol Res. 85(2), 135-41.

Thomas, D.A., Howard, S.B., Barfield, R.J. 1983. Influence of androgen on the development of sexual behavior in the rat. II. Time and dosage of androgen administration during the neonatal period and masculine and feminine copulatory behavior in females. Horm Behav. 17(3),308-15.

Tollefson, L., Bulloch, K., 1990. Dual-label retrograde transport: CNS innervation of the mouse thymus distinct from other mediastinum viscera. J Neurosci Res. 25(1), 20-28.

Turner, B.B. 1990. Sex difference in glucocorticoid binding in rat pituitary is estrogen dependent. Life Sci. 46(19), 1399-406.

Vamvakopoulos, N.V. 1995. Sexual dimorphism of stress response and immune/inflammatory reaction: the corticotropin releasing hormone perspective. Mediators Inflamm. 4(3), 163-74.

van der Kleij, D., Yazdanbakhsh, M. 2003. Control of inflammatory diseases by pathogens: lipids and the immune system. Eur J Immunol. 33(11), 2953-63.

Vankelecom, H., Matthys, P., Van Damme, J., Heremans, H., Billiau, A., Deneef, C., 1993. Immunocytochemical evidence that S-100-positive cells of the mouse anterior pituitary contain interleukin-6 immunoreactivity. *J Histochem Cytochem.* 41(2), 151-156.

Verthelyi, D. 2001. Sex hormones as immunomodulators in health and disease. *Int Immunopharmacol.* 1(6), 983-93.

Vicente-Manzanares, M., Sánchez-Madrid, F. 2000. Cell polarization: a comparative cell biology and immunological view. *Dev Immunol.* 7(2-4), 51-65.

vom Saal, F.S., Bronson, F.H. 1980. *Science.* Sexual characteristics of adult female mice are correlated with their blood testosterone levels during prenatal development. 208(4444), 597-9.

Weigent, D.A., Blalock, J.E. 1987. Interactions between the neuroendocrine and immune systems: common hormones and receptors. *Immunol Rev.* 100, 79-108.

Weinstein, Y., Ran, S., Segal, S. 1984. Sex-associated differences in the regulation of immune responses controlled by the MHC of the mouse. *J Immunol.* 132(2), 656-61.

Weisz, J., Ward, I.L. 1980. Plasma testosterone and progesterone titers of pregnant rats, their male and female fetuses, and neonatal offspring. *Endocrinology.* 106(1), 306-16.

Zuk, M., McKean, K.A. 1996. Sex differences in parasite infections: patterns and processes. *Int J Parasitol.* 26(10), 1009-23.