

Veterinaria México

Volumen 36
Volume

Número 3
Number

Julio-Septiembre 2005
July-September

Artículo:

Diferenciación sexual en el sistema nervioso central

Derechos reservados, Copyright © 2005:
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM

**Otras secciones de
este sitio:**

-  [Índice de este número](#)
-  [Más revistas](#)
-  [Búsqueda](#)

***Others sections in
this web site:***

-  [Contents of this number](#)
-  [More journals](#)
-  [Search](#)

Diferenciación sexual en el sistema nervioso central

Sexual differentiation in the central nervous system

Héctor Herrera Gutiérrez*

Marcela Vergara Onofre**

Adolfo Rosado-García***

Ana Ma. Rosales Torres**

Abstract

Reproductive expression in most vertebrates depends on the stereotypical expression of each individual's own sex conduct and this requires a series of physiological events that jointly integrate the sensorial and hormonal information. In the brain of males and females there are important anatomical and functional differences, for example, in the male rat the sexual dimorphic nucleus of the preoptic area (SDN-POA) is six times larger than in the female, while in the ventromedial and arcuate nucleus, synaptic connections are more abundant in the female than in males. From the initial studies, precursors of the present concept of sexual differentiation in the brain, it is suggested that in this process, besides the genetic sex, the hormonal environment that surrounds the neuronal tissue is also fundamental. In this sense, the gonads have a crucial role, since the secretion of the steroid hormones in a specific phase of the development of the central nervous system (CNS), called "critical period" is capable of causing morphological, anatomical, biochemical and physiological changes that give rise to permanent modifications and the establishment of sexually dimorphic structures. In domestic and laboratory mammals, as well as in other species, estradiol is a hormone that directs or causes sexual differentiation in the CNS, through mechanisms such as neurogenesis, apoptosis and differentiation or functionality of cells that are involved. Even though molecular techniques that are applied today in the biology sciences have greatly advanced, there are still many unknowns to elucidate in the scientific knowledge relative to this process in the reproductive area,. In this work, the present panorama knowledge of sexual differentiation of the CNS is presented in order to motivate or promote interest in the study of this topic and its possible application in animal production. The brain areas or zones that are considered dimorphic are described and we present a thorough review, although synthesized, of the effect that estradiol has on the modification of gene expression patterns that control the genesis of neurons and synapsis, or the apoptosis processes of the CNS and how this determines the amount of neurons that form the sexual dimorphic nuclei. Also, we present in chronological order the knowledge that was being developed on this topic, accordingly with the methodological tools that were available.

Key words: SEXUALLY DIMORPHIC, ESTRADIOL, CRITICAL PERIOD, NEUROGENESIS, APOPTOSIS.

Resumen

La expresión reproductiva en la mayoría de los vertebrados depende de que cada individuo asuma la conducta estereotípica propia de su sexo, para ello se requiere de una serie de eventos fisiológicos que integran coordinadamente la información sensorial y hormonal. En el cerebro de machos y hembras existen importantes diferencias anatómico-funcionales; por ejemplo, en la rata macho, el núcleo dimórfico sexual del área preóptica (NDS-APO) es seis veces más grande que en la hembra, mientras que en el núcleo ventromedial y arqueado de la hembra son más abundantes las conexiones sinápticas que en los machos. Desde los estu-

Recibido el 20 de agosto 2004 y aceptado el 22 de febrero de 2005.

*Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa-Xochimilco, Calzada del Hueso 1100, Col. Villa Quietud, 04960, México, D.F., Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, 19340, México, D.F.

**Departamento de Producción Agrícola y Animal, Laboratorio de Bioquímica de la Reproducción, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Calzada del Hueso 1100, Colonia Villa Quietud, 04960, México, D. F.

***Departamento de Biología de la Reproducción, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, 19340, México, D. F.

Correspondencia: Ana Ma. Rosales Torres, Departamento de Producción Agrícola y Animal, Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Calzada del Hueso 1100, Colonia Villa Quietud, 04960, México, D. F., Tel. 5483-7000, ext. 3082, fax: 5483-7583. Correo electrónico: anamaria@correo.xoc.uam.mx

dios iniciales precursores del concepto actual de la diferenciación sexual cerebral, se sugiere que en este proceso, además del sexo genético, el ambiente hormonal que rodea al tejido neuronal es fundamental. En este sentido, las gónadas juegan un papel crucial, ya que la secreción de hormonas esteroides en una fase específica del desarrollo del sistema nervioso central (SNC), llamado "periodo crítico" es capaz de ejercer cambios morfoanatómicos, bioquímicos y fisiológicos que dan lugar a modificaciones permanentes y a establecer estructuras sexualmente dimórficas. En mamíferos domésticos y de laboratorio, así como en otras especies, el estradiol es la hormona que dirige o provoca la diferenciación sexual del SNC, a través de mecanismos como la neurogénesis, apoptosis y diferenciación o funcionalidad de las células involucradas. No obstante que las técnicas moleculares que se aplican actualmente para el desarrollo de las ciencias biológicas han hecho grandes aportaciones al conocimiento científico sobre este proceso de la esfera reproductiva, aún quedan importantes incógnitas por dilucidar. En este trabajo se presenta un panorama actual del estado del conocimiento sobre la diferenciación sexual del SNC y con ello motivar o promover el interés para el estudio sobre este tema y su posible aplicación en la producción animal. En este trabajo se describen las áreas o zonas cerebrales que son consideradas dimórficas y se presenta una revisión profunda aunque sintética de los efectos que tiene el estradiol en la modificación de patrones de expresión de los genes que controlan los procesos de neurogénesis, sinaptogénesis o de la apoptosis del SNC y como esto determina el número de neuronas que componen los núcleos dimórficos sexuales. Además se presentan en forma cronológica los conocimientos que se tuvieron sobre este tema, de acuerdo con las herramientas metodológicas disponibles.

Palabras clave: DIMORFISMO SEXUAL, ESTRADIOL, PERIODO CRÍTICO,

Introduction

There are structural and functional differences in the central nervous system (CNS) of males and females. These differences involve a number of neurons, morphology and interconnections, that have been associated with changes in the brain physiology, cognitive and behavioral development. The morphological, physiological, biochemical and behavioral differences between males and females are called as a group: sexual dimorphism. This refers mainly to the differences there are in the size of the nucleus or brain circuit, that is a group of interconnected neurons with similar size and functional characteristics called CNS nucleus or area.

Among the most studied dimorphic nuclei are the preoptic area (POA), ventromedial nucleus (VMN), suprachiasmatic nucleus (SCN) all of which are subdivisions of the hypothalamus, the amygdala, and the *stria terminalis* (ST) are dimorphic areas that are intimately related with the hypothalamus. Many species show sexual differences in CNS structures that participate in the control of endocrine and behavioral functions, that are part of the reproductive processes including patterns essential for mating. The sexual differences in the CNS result from the secretion of hormones by the gonads during critical periods of perinatal development.¹

Most of the dimorphic circuits of the brain are part of the hypothalamus or are closely related to it. The hypothalamus represents an anatomical and

Introducción

En el sistema nervioso central (SNC) de machos y hembras se encuentran diferencias estructurales y funcionales. Estas diferencias involucran el número de neuronas, morfología e interconexiones, que han sido asociadas con cambios en la fisiología cerebral, desarrollo cognitivo y conducta. Las diferencias morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y del comportamiento de machos y hembras se denominan, en su conjunto, dimorfismo sexual, éste se refiere principalmente a diferencias en cuanto al tamaño del núcleo o circuito cerebral, se denomina área o núcleo del SNC a un grupo de neuronas interconectadas entre sí con características de tamaño y función similar.

Entre los núcleos dimórficos más estudiados se encuentran el área preóptica (APO), el núcleo ventromedial (NVM), el núcleo supraquiasmático (NSQ) (todos éstos son subdivisiones del hipotálamo), la amígdala, y la estría terminal (ST) son áreas dimórficas que se encuentran en íntima relación con el hipotálamo. Muchas especies muestran diferencias sexuales en estructuras del SNC que participan en el control de las funciones endocrinas y conductuales, los cuales son parte de los procesos reproductivos y que incluyen patrones esenciales durante el apareamiento. Las diferencias sexuales en el SNC es el resultado de la secreción de hormonas por parte de las gónadas durante periodos críticos del desarrollo que ocurre perinatalmente.¹

functional interphase between the nervous and the endocrine systems. In fact, in the brain, the largest concentration of sexual hormone receptors (androgens, estrogens and progesterone) are found in the hypothalamus.² Traditionally, the hypothalamus is known as the executive center of the body's homeostatic functions, as well as some others, such as: the regulation of food ingestion and body weight;³⁻⁵ aggressive behavior;⁶ territorial marking and urination posture;⁷ social, games and learning behaviors and their execution;⁸ laterality of brain functions, mainly in humans;⁹ behavior during mating;¹⁰ spontaneous activity and reaction to several sensorial stimuli.¹¹

The structure of the hypothalamus is complex as far as neuro-anatomical and neurochemical elements are concerned; it can be subdivided into four regions and more than 25 nuclei according to the anatomical and functional criteria. There is growing interest in trying to understand more in depth the structure and functions that differ between the male and the female. At this time, the effect that sexual hormones have on the neural development during the pre and early neonatal stages is known. The hormone that is considered to be the main hormone responsible for sexual differentiation in mammals is estradiol. The existence of sexual dimorphism in the CNS is due to the perinatal presence of estrogens, that may stimulate differences in the gene expression, depending on the sex; therefore, it is important to know if the development of characteristic areas for each sex is a result of the increase or decrease in the pattern of gene expression that regulates the neurogenesis and synaptogenesis process or the death of CNS neurons.

Sexual differentiation of the CNS

Dimorphism of the CNS

Sexual reproduction insures the continuity of the species in mammals. The determination of sex begins at the time of egg fertilization and continues with the gonadal differentiation; after that, with a fundamental event that is the differentiation of the central nervous system (CNS). This process is known as sexual differentiation of the brain. Sexual dimorphism in the CNS is a set of morphological, biochemical and behavioral differences between males and females that are mediated by estradiol during a critical period and when there is interaction between them, under normal conditions, they are capable of establishing sexually dimorphic structures in the early stages of birth.^{1,12} Numerous researches have given evidence to the fact that there is sexual dimorphism in the structure and functionality of the brain,¹³⁻¹⁷ indicating

La mayoría de los circuitos dimórficos del cerebro son parte del hipotálamo o están íntimamente relacionados con él. El hipotálamo representa una interfase anatómica y funcional entre el sistema nervioso y el sistema endocrino. De hecho, la mayor concentración de receptores a hormonas sexuales (andrógenos, estrógenos y progesteronas) en el cerebro se encuentran en el hipotálamo.² El hipotálamo tradicionalmente se conoce como el centro ejecutivo de funciones homeostáticas del cuerpo. Y algunas otras como la regulación de la ingesta de alimentos y peso corporal,³⁻⁵ conducta agresiva,⁶ marcaje de territorio y postura de micción,⁷ conducta social, de juego, aprendizaje y ejecución,⁸ lateralización de las funciones cerebrales, principalmente en el humano,⁹ el comportamiento durante la cópula,¹⁰ actividad espontánea y la reacción a varios estímulos sensoriales.¹¹

La estructura del hipotálamo es compleja tanto en términos neuroanatómicos como neuroquímicos, se puede subdividir en cuatro regiones y en más de 25 núcleos de acuerdo con criterios anatómicos y funcionales. Existe de esta manera un creciente interés que intenta entender más a fondo cómo la estructura y función difiere entre el macho y la hembra. Actualmente se conoce el efecto que tienen las hormonas sexuales sobre el neurodesarrollo en las etapas pre y neonatal temprana. La hormona considerada como principal responsable de la diferenciación sexual en los mamíferos es el estradiol. La existencia de dimorfismo sexual en el SNC se debe a la presencia perinatal de estrógenos, que podrían estar estimulando diferencias en los niveles de expresión génica dependiendo del sexo; por lo tanto, es importante conocer si el desarrollo de áreas características para cada sexo es resultado de un aumento o disminución del patrón de expresión de los genes que regulan el proceso de la neurogénesis, sinaptogénesis o de la muerte de las neuronas del SNC.

Diferenciación sexual del SNC

Dimorfismo del SNC

La reproducción sexual asegura la continuidad de las especies en los mamíferos. La determinación del sexo comienza en el momento de la fertilización y continúa con la diferenciación gonadal; posteriormente, con un evento fundamental que es la diferenciación del sistema nervioso central (SNC), proceso conocido como diferenciación sexual cerebral. El dimorfismo sexual en el SNC es un conjunto de diferencias morfológicas, bioquímicas y conductuales entre machos y hembras que son mediados por la acción del estradiol durante un periodo crítico, y que al interactuar entre

the presence of morphological, neurochemistry and physiological differences, as well as the existence of sexually specific neuronal circuits that form part of the somatic basis that could explain the importance of the participation of brain function in the reproductive mechanism of animals.

Sex linked neural and anatomical dimorphism should then be associated with differences in brain functions related to the neural and endocrine components of sexual activity. In the CNS there are different nuclei that show sexual dimorphism and that may be related directly with the reproductive physiology and behavior, and these are: ventromedial, suprachiasmatic and preoptic nuclei, amygdala and vomeronasal organ and *stria terminalis* (ST).¹⁸⁻²⁰

Structures that show sexual dimorphism

Ventromedial nucleus of the hypothalamus (VMN)

This nucleus regulates sexual behavior of females.^{21,22} In rats, females express sexual receptivity by means of a reflex response that is known as lordosis; this receptivity conduct is mediated by high estrogen and progesterone levels; otherwise, the female rejects the sexual approximations by the male. The case of sexual dimorphism in the VMN is interesting, since this is not due to the size or density of the nucleus, but rather to the structural complexity of the neurons. In the males, the synaptic density of this nucleus is greater than in the females,²³ and the number of synaptic contacts in the female varies throughout the estrus cycle, with more number of synapses and dendritic spines during pro-estrus than in diestrus.²⁴ In primates, neuronal and physiological activity of the VMN of the female is regulated besides, by the sexual act.²⁵

In studies performed in neurons belonging to the ventromedial nucleus of the hypothalamus it was observed that these responded to stimuli with estrogens (~ in 30%) and showed a significant increase in all the cellular components, nucleus, nucleoli, and cell soma, a notable increase in the amount of endoplasmic reticulum and the number of poly-ribosomes, indicators of an acceleration of cell metabolism and specifically of protein synthesis.²⁶ Steroidal hormones seem to participate in the neuritic growth and the synaptogenesis of the brain regions that show specific receptors for these hormones, especially in the prenatal stage, although this remodeling activity of the synapses of certain regions of the adult brain have also been reported in the ventromedial nucleus of the hypothalamus and arcuate nucleus.^{27,28}

sí en condiciones normales, son capaces de establecer estructuras sexualmente dimórficas en etapas tempranas del nacimiento.^{1,12} Numerosas investigaciones han presentado evidencia de que existe dimorfismo sexual en la estructura y funcionalidad del cerebro,¹³⁻¹⁷ señalando la presencia de diferencias morfológicas, neuroquímicas y fisiológicas, así como la existencia de circuitos neuronales sexualmente específicos que van a formar parte de las bases somáticas que podrían explicar la importancia de la participación de la función cerebral en el mecanismo reproductivo de los animales.

El dimorfismo neuroanatómico ligado al sexo debe entonces asociarse con diferencias en las funciones cerebrales relacionadas con el componente neuroendocrino de la actividad sexual. En el SNC se presentan diferentes núcleos que muestran dimorfismo sexual y que pueden relacionarse directamente con la fisiología y la conducta reproductiva, éstos son: núcleo ventromedial, supraquiasmático, preóptico, amígdala, órgano vomeronasal y estría terminal (ST).¹⁸⁻²⁰

Estructuras que presentan dimorfismo sexual

Núcleo ventromedial del hipotálamo (NVM)

Este núcleo regula la conducta sexual de las hembras.^{21,22} En ratas, las hembras expresan receptividad sexual por medio de una respuesta refleja que se conoce como lordosis, esta conducta de receptividad sexual se ve mediada por altos niveles de estrógenos y progesterona; de lo contrario, la hembra rechaza los acercamientos sexuales del macho. El caso de dimorfismo sexual en el NVM es interesante, ya que éste no se debe a diferencias en cuanto al tamaño o densidad del núcleo, sino a la complejidad estructural de las neuronas. En los machos la densidad sináptica en este núcleo es mayor que en las hembras,²³ y el número de contactos sinápticos en la hembra varía a través del ciclo estral, existiendo un mayor número de sinapsis y de espinas dendríticas durante el proestro que en el diestro.²⁴ En los primates, la actividad neurofisiológica del NVM de la hembra está regulada además por el acto sexual.²⁵

En estudios realizados en neuronas pertenecientes al núcleo ventromedial del hipotálamo, se observó que éstas respondieron a la estimulación con estrógenos (~ en 30%) y mostraron un aumento significativo en todos los componentes celulares, núcleo, nucleolo y soma celular, un incremento notable en la cantidad de retículo endoplásmico y en el número de polirribosomas, indicadores de una aceleración en el metabolismo celular y particularmente en la síntesis

Suprachiasmatic nucleus (SCN)

The SCN regulates the cyclic or circadian rhythms of the body. This nucleus generates and coordinates hormonal, physiological and behavioral rhythms with a 24-hour periodicity. In humans the SCN is morphologically different in men and women, it is spherical in men and oblongated in women.²⁹ Also, it has been demonstrated that there is a clear difference in volume and cell count of the SCN between heterosexual men and homosexual men; thus Swaab and Hoffman³⁰ found that the volume as well as the number of neurons is double in the SCN of homosexuals than that of heterosexuals. Neurochemistry of this nucleus also differs between homosexuals and heterosexuals; the SCN of homosexuals contains double the amount of neurons that immunoreact to vasopressin in comparison to heterosexuals.³⁰ The functional impact of this type of dimorphism has not been determined; it has been suggested that the neuronal circuit form could depend on the type of connections (afferent and efferent) that are established with other circuits.

In prairie dogs it has been demonstrated that in the male vasopressin is found in a higher amount, and this promotes the behaviors associated with reproduction such as aggressiveness, territoriality, monogamy and paternal behaviors.³¹ In laboratory animals it has been established that the SCN is also associated with sexual behavior. Sördersten *et al.*³² reported that the treatment of rats with anti-estrogens, during the neonatal period increases the behavior parameters of lordosis and mounting. In the same manner, if anti-estrogens are administered during the prenatal and postnatal period, there is an increase of 59% of neurons with vasopressin in the SCN, as well as a hetero-typical behavior in rats, in other words, there is a preference for the opposite sex; if the treatment with anti-estrogens is limited to the prenatal period these changes are not observed.³³ Kruijiver *et al.*³⁴ hurt the SCN of male rats to determine if they expressed "heterotypical" behavior, in terms of sexual behavior, yet that effect was not found. It has been observed that, rats treated with anti-estrogens, expressed "bisexual" behavior at the beginning of the night cycle and "heterosexual" behavior at the end of it, which confirms the importance of SCN in the expression of the sexual behavior, at least in rats it is so.³⁵ This implies that the SCN dimorphism is under the control of sexual hormones and postnatal factors contribute very importantly in this dimorphism, the same as in the preoptic area.

de proteínas.²⁶ Las hormonas esteroidales parecen participar en el crecimiento neurítico y en la sinaptogénesis de las regiones cerebrales que muestran receptores específicos para estas hormonas, sobre todo en la etapa prenatal, aunque también se ha referido esta actividad remodeladora de la sinapsis en algunas regiones del cerebro adulto, como el propio núcleo ventromedial del hipotálamo y el núcleo arqueado.^{27,28}

Núcleo supraquiasmático (NSQ)

El NSQ regula los ritmos cíclicos o ritmos circadianos del cuerpo. Este núcleo genera y coordina ritmos hormonales, fisiológicos y conductuales con una periodicidad de 24 horas. En humanos se ha encontrado que el NSQ es morfológicamente diferente en hombres y mujeres; esférico en hombres y oblongado en mujeres.²⁹ Además, se ha demostrado que existe una diferencia clara en el volumen y número de células del NSQ entre hombres heterosexuales y hombres homosexuales; así, Swaab y Hoffman³⁰ encontraron que tanto el volumen como el número de neuronas es el doble en el NSQ de homosexuales que en heterosexuales. La neuroquímica de este núcleo también difiere entre homosexuales y heterosexuales; el NSQ de homosexuales contiene el doble de neuronas inmunorreactivas a vasopresina en comparación con heterosexuales.³⁰ El impacto funcional de este tipo de dimorfismo no se ha determinado, se ha sugerido que la forma del circuito neuronal pudiese depender del tipo de conexiones (aférentes y eférentes) que éste establezca con otros circuitos.

En roedores de la pradera se ha demostrado que en el macho la vasopresina se encuentra en mayor cantidad, lo cual favorece las conductas asociadas con la reproducción, como la agresividad, territorialidad, monogamia y conducta paternal.³¹ En animales de laboratorio se ha establecido que el NSQ también está asociado con la conducta sexual. Sördersten *et al.*³² reportan que el tratamiento con antiestrógenos a ratas durante el periodo neonatal aumenta los parámetros de conducta de la presentación de lordosis y de monta. De igual modo, si se administran antiestrógenos durante el periodo prenatal y posnatal, se ve un aumento del 59% de las neuronas que contienen vasopresina en el NSQ, así como una conducta "heterotípica" en ratas; es decir, que presente una preferencia por el sexo opuesto; si el tratamiento con antiestrógenos se limita al periodo prenatal no se observan estos cambios.³³ En términos de conducta sexual, Kruijiver *et al.*³⁴ lesionaron el NSQ en ratas machos para determinar si expresaban conducta "heterotípica", pero no se encontró tal efecto. Se ha observado que ratas tratadas con antiestrógenos

Preoptic area

The preoptic area (POA) of the hypothalamus has been considered as the site where probably the differential regulation mechanism of dimorphic characteristics related to sex resides, including the control of sexual behavior and the cyclic liberation of gonadotrophins and the mechanism necessary for ovulation.^{36,37} The preoptic area is an area densely populated by neurons. The neuronal density in this region is several times greater than nearby regions. Taking this into consideration Gorski *et al.*³⁶ defined this area as a nucleus, the sexual dimorphic nucleus of the preoptic area (SDN-POA). The role that this nucleus has in the establishment of reproductive behavior and physiology, specifically in the rat, has been demonstrated in a clear manner by the results obtained with the lesions, as well as what has been observed with the direct action of steroid implants in the preoptic area of the neonatal female.³⁷

In humans the SDN-POA is known as the interstitial nucleus of the anterior hypothalamus-1 (INAH-1).³⁸ Nuclei INAH-2 through 4 have been described as dimorphic regions. Nevertheless, due to the proximity of these neuron "islands", it is debated if in reality INAH 1-4 represent anatomically and functionally independent neuronal groups. LeVay³⁹ confirmed sexual dimorphism in INAH-3, but not in INAH 1, 2 and 4. This same study also recorded dimorphism in INAH-3 in relation to sexual preference; INAH-3 is larger in heterosexual men, when compared to homosexual men and women.

Even though the neurons of the SDN-POA are capable of "capturing" steroids more quickly than the neurons situated in other nearby nuclei, the volume of this nucleus does not seem to be sensitive to the action of gonadal steroids in the adult. So, the treatment of gonadectomized adults, females and males, with exogenous steroid hormones, restores the copulatory behavior for both males and females, without modification of the size of the SDN-POA. On the other hand, it has been observed that in adult birds, steroids are capable of modulating the neuronal morphology, as well as the morphological aspect of the spinal cord of the rat; in other words, the dimorphic nucleus called spinal cavernous bulb nucleus. (SNB).²⁵

The SDN-POA area is important for the study of sexual differentiation, since the sexual differences in the volume of SDN-POA have been definitely established during the first postnatal week of the rat, in a manner almost simultaneous to the period when the functional sexual differentiation of the brain is established. Even though the nucleus is clearly demonstrable on day 19 after fertilization, it does not present

expresan conducta "bisexual" al inicio del ciclo nocturno y conducta "heterosexual" al final de él, lo cual confirma la importancia del NSQ en la expresión de la conducta sexual, al menos en ratas.³⁵ Esto implica que el dimorfismo del NSQ está bajo el control de las hormonas sexuales, y que factores posnatales contribuyen de manera importante en este dimorfismo, al igual que en el área preóptica.

Área preóptica

El área preóptica (APO) del hipotálamo ha sido considerada como el sitio donde probablemente reside el mecanismo de regulación diferencial de las características dimórficas relacionadas con el sexo, incluyendo el control de la conducta sexual y la liberación cíclica de gonadotrofinas y el mecanismo necesario para la ovulación.^{36,37} El área preóptica es un área densamente poblada de neuronas. La densidad neuronal en esta región es varias veces más grande que otras regiones cercanas. Con base en esto, Gorski *et al.*³⁶ definieron esta área como un núcleo, el núcleo dimórfico sexual del área preóptica (SDN-POA). Los resultados obtenidos mediante la provocación de lesiones, así como los observados como consecuencia de la acción directa de implantes de esteroides en el área preóptica de neonatos hembra, han demostrado de una manera bastante clara el papel que este núcleo desempeña en el establecimiento de la conducta y fisiología reproductiva específica de la rata.³⁷

En humanos el SDN-POA se conoce como el núcleo intersticial del hipotálamo anterior-1 (NIHA-1 o INAH-1, por sus siglas en inglés).³⁸ Además, se han descrito los núcleos NIHA-2 al 4 como regiones dimórficas. Sin embargo, debido a la proximidad anatómica de estas "islas" de neuronas, se debate si en realidad NIHA 1-4 representan grupos neuronales anatómica y funcionalmente independientes unos de otros. LeVay³⁹ confirmó dimorfismo sexual en el NIHA-3, pero no en NIHA 1, 2 y 4. Este mismo estudio también registra dimorfismo en el NIHA-3 en relación con la preferencia sexual, el NIHA-3 es mayor en hombres heterosexuales, comparado con hombres homosexuales y mujeres.

Aunque las neuronas del SDN-POA son capaces de "captar" esteroides más rápidamente que las neuronas situadas en otros núcleos cercanos, el volumen de este núcleo no parece ser sensible a la acción de los esteroides gonadales en el adulto. Así, el tratamiento de adultos gonadectomizados, tanto hembras como machos, con hormonas esteroides exógenas, restaura la conducta copulatoria tanto masculina como femenina, sin modificar el tamaño del SDN-POA. Por otro lado, se ha observado que en pájaros adultos los esteroides sí son capaces de modular la morfología

significant sexual differences, until alterations in size are present in a period that is between birthing and 72 hours later. At time of birth, the volume of the SDN-POA is almost double in females yet during the next ten days there is a gradual increase in volume of the SDN-POA of males, while in this same period there are no significant changes in the size of the nucleus of the female.⁴⁰ This difference in the growth pattern results from the hormones of testicular origin that act in the male.^{41,42}

Amygdala

The amygdala is considered the center of emotions and regulator of aggressiveness, fear and anxiety reactions. The amygdala, as well as the hypothalamus is subdivided into several subnuclei by anatomical and functional criteria. The anterior portion of the corticomedial amygdala increases receptivity of female rats, while the posterior portion of the lateral nucleus reduces receptivity.⁴³ In contrast with the VMN, it is believed that the amygdala does not regulate directly lordosis responses in females, but rather contributes to the sexual motivation or excitement. In the rat males, this possibility is clearer, since it has been shown that the median amygdala contributes to sexual stimulation (evidenced by erection) without sexual contact.⁴⁴ It has been demonstrated that in humans the amygdala is associated with emotional learning and social conduct.^{45,46} The amygdala also plays an important role in sexual conduct. The Klüver-Bucy syndrome, in humans as well as monkeys, expresses hyper-sexuality, which includes sexual interest even for inanimate objects. This syndrome is associated with a loss of function of the amygdala. The amygdala is also the center where the sense of smell information is integrated, and this is important in the sexual behavior expression.

Stria terminalis (ST)

ST is the main efferent connection of the amygdala.⁴⁷ The ST may be divided into several regions. The base portion of ST (nuclei of the *stria terminalis* bed STBN) is 97% larger in volume in males than in females.⁴⁸ In rats, the lesion of the STBN alters the copulation sequence in males, by increasing the amount of penetrations before achieving ejaculation and in severe cases, they do not reach ejaculation; nevertheless, other aspects of the sexual repertoire do not have alterations.⁴⁹ In another study, it was demonstrated that if lesions were caused on the STBN of the rat, they could not be sexually stimulated.⁵⁰

neuronal, así como en el aspecto morfológico en la espina cordal de la rata; es decir, el llamado núcleo dimórfico espinal bulbo cavernoso (SNB).²⁵

El SDN-POA es un área importante en el estudio de la diferenciación sexual, porque las diferencias sexuales en el volumen del SDN-POA quedan definitivamente establecidas durante la primera semana de vida posnatal de la rata, de manera casi simultánea al periodo en que también queda asentada la diferenciación sexual funcional del cerebro. Aunque el núcleo es claramente demostrable el día 19 después de la fertilización, no presenta diferencias sexuales significativas en su volumen, sino que presenta alteraciones en su dimensión en un periodo que va del parto hasta 72 horas después de éste. Aunque al nacimiento, el volumen del núcleo SDN-POA es casi el doble en las hembras, durante los siguientes diez días hay un incremento gradual en el volumen del SDN-POA de los machos, mientras que en este mismo periodo no hay cambios significativos en el tamaño del núcleo de la hembra,⁴⁰ esta diferencia en el patrón de crecimiento es el resultado de las hormonas de origen testicular que actúan en el macho.^{41,42}

Amígdala

La amígdala es considerada como el centro de las emociones y regulador de reacciones de agresividad, miedo y ansiedad. La amígdala, al igual que el hipotálamo, se subdivide en varios subnúcleos por criterios anatómicos y funcionales. La porción anterior de la amígdala corticomedial aumenta la receptividad en ratas hembras, mientras que la porción posterior del núcleo lateral reduce la receptividad.⁴³ En contraste con el NVM, se cree que la amígdala no regula directamente respuestas lordóticas en las hembras, sino que contribuye a la motivación o excitación sexual. En las ratas machos, esta posibilidad es más clara, ya que se ha demostrado que la amígdala medial contribuye a la excitación sexual (evidenciándolo por la erección) sin contacto sexual.⁴⁴ Se ha demostrado que en humanos la amígdala está asociada con aprendizaje emocional y conducta social.^{45,46} La amígdala también juega un papel importante en la conducta sexual. En el síndrome Klüver-Bucy tanto humanos como monos expresan hipersexualidad, lo cual incluye interés sexual por objetos inanimados. Este síndrome está asociado con pérdida de la función de la amígdala. La amígdala es también un centro de integración de información olfativa, que es importante en la expresión de conducta sexual.

Estría terminal (ST)

La ST es la conexión eferente principal de la amígdala.

Dimorphic-sexual characteristics

Morphological

- The size of the sexual dimorphic nucleus of the preoptic area SDN - POA is six times larger in males than in females.⁵¹
- The paraventricular nucleus is larger in females than in males.¹⁵
- The amount and size of neurons of all the hypothalamus is greater in the male.^{52,53}
- The base of the *stria terminalis* nucleus is larger in males than in females.⁵⁴
- The median amygdala is 85% larger in males than in females.^{48,55}
- The size of the neuron nucleus, as well as the volume of the suprachiasmatic area is twice as large in the female.^{14,19,56}
- There is greater dendritic development in the preoptic area in the male.⁵⁷
- The amount and type of synapsis of the dendritic spines in the preoptic area of the hypothalamus is smaller in the female and this regulates the cyclic pattern of gonadotrophins liberation.¹⁵

Biochemical differences

- The expression and activity of the aromatase enzyme is greater in the male neurons than in those of the female.⁵⁸
- The synaptic connection of the ventromedial and arcuate nuclei are more abundant in the females than in the male.⁵⁹
- The levels of neurotransmitters exchanges in the hypothalamus are higher in the male than in the female.⁶⁰
- There are differences in the expression of calcium calmodulin which is higher in the male than in the female.⁶¹
- Enzymatic activity in the hypothalamus is greater in the male than in the female.^{62,63}

Behavioral differences:

IN THE MALE:

- Courtship that consists of the orientation of the male towards the female.
- Olfaction of the genital zone.
- Persecution all along the test box or round enclosure and marking of territory.⁶⁴
- Mating is characterized by the contact of the body of the female with the front legs of the male.
- Intromission consists of the insertion of the penis and ejaculation.⁶⁵

dala.⁴⁷ La ST se puede dividir en varias regiones. La porción base de la ST (núcleos de la cama de la estría terminal, NCET) es 97% más grande en volumen en machos que en hembras.⁴⁸ En ratas, la lesión del NCET altera la secuencia de copulación en machos, éstos aumentan la cantidad de penetraciones antes de lograr la eyaculación y, en casos severos, no logran la eyaculación; sin embargo, no existen alteraciones en otros aspectos del repertorio sexual.⁴⁹ En otro estudio se demostró que si se provocaban lesiones en el NCET de la rata, éstas no lograban tener una estimulación sexual.⁵⁰

Características dimórfico-sexuales

Morfológicas

- El tamaño del núcleo dimórfico sexual del área preóptica NDS- APO es seis veces mayor en machos que en hembras.⁵¹
- El núcleo paraventricular es más grande en hembras que en machos.¹⁵
- El número y el tamaño de las neuronas en todo el hipotálamo es mayor en el macho.^{52,53}
- La base del núcleo de la estría terminal es más grande en machos que en hembras.⁵⁴
- La amígdala medial es 85% mayor en machos que en hembras.^{48,55}
- El tamaño del núcleo de las neuronas, así como el volumen del área supraquiasmática, son aproximadamente dos veces más grande en la hembra.^{14,19,56}
- Mayor desarrollo dendrítico del área preóptica en el macho.⁵⁷
- El número y tipo de sinapsis en las espinas dendríticas del área preóptica del hipotálamo es menor en la hembra, lo cual regula el patrón cíclico de liberación de gonadotropinas.¹⁵

Diferencias bioquímicas

- La expresión y actividad de la enzima aromatasa es mayor en las neuronas de los machos que en la hembra.⁵⁸
- Las conexiones sinápticas en los núcleos ventromedial y arqueado son más abundantes en las hembras que en el macho.⁵⁹
- Los niveles de recambio de neurotransmisores en el hipotálamo son mayores en el macho que en la hembra.⁶⁰
- Existen diferencias en cuanto a la expresión del sistema calcio calmodulina, la cual es mayor en el macho que en la hembra.⁶¹
- La actividad enzimática en el hipotálamo es mayor en el macho que en la hembra.^{62,63}

IN THE FEMALE:

- Attraction.
- Proceptivity: small jumps called karting doping. Receptivity (changes in color of the genital region).
- Quick head movements and ear wiggling.
- Lordosis: Arching of the back in order to facilitate the intromission by the male.
- Production of odoriferous substances (pheromones).⁶⁵

Sexual differentiation of the CNS

The study of sexual differentiation of the CNS may be divided chronologically in four phases or periods: phenomenological, critical, anatomical and molecular. This division is made according to the historical moment and the methodological tools that are available then.

Phenomenological period

This comprises the stage of the decade of 1930 and beginning of the forties with works done by Pleiffer,⁶⁶ Wilson *et al.*^{67,68} These authors proposed that hormones in the gonadal origin of the newborn are capable of influencing neuroendocrine functions. To prove this, they performed ovarian tissue transplants in normal and castrated adult male rats where the graft showed follicular growth in both animals, yet if the transplant was performed in castrated males in the newborn stage, the ovarian tissue was capable of showing ovulation cycles such as a normal female would. From these results, it could be concluded that the absence of testicles in the male during the early postnatal stage caused in the adult a cyclic secretion pattern of gonadotrophin hormones. After that, the studies of Harris⁶⁹ helped us comprehend that the hypothalamus is the control site of the gonadotrophin secretion.

The studies by Phoenix *et al.*⁷⁰ and the Barraclough⁷¹ group were the first to propose that the gonadal hormones of the fetus acted directly on the hypothalamus. These authors indicated that if 1.25 mg of testosterone propionate (TP) was administered to females during the fetal stage and the first days after birth, it would cause anovulation, persistent estrus and they could acquire masculine characteristics during the adult stage; but if the administration was performed from five to ten days of age the effects were minimized. Nevertheless, in later works, the effects of TP on the CNS may happen up to 29 days of life.⁷²⁻⁷⁴ The conclusion derived from these events was that there are periods where the CNS has more susceptibility to gonadal hormones.¹⁸

Diferencias conductuales

EN EL MACHO:

- Cortejo que consiste en la orientación del macho hacia la hembra.
- Olfateo de la zona genital.
- Persecución a lo largo de la caja de prueba o rodete y marcaje de territorio.⁶⁴
- La monta se caracteriza por el contacto del cuerpo de la hembra con las extremidades anteriores del macho.
- La intromisión consiste en la inserción del pene y eyaculación.⁶⁵

EN LA HEMBRA:

- Atracción.
- Proceptividad: pequeños saltos llamados *karting doping*. Receptividad (cambios de coloración en la región genital).
- Movimientos rápidos de la cabeza y orejas, *ear wiggling*.
- Lordosis: Arqueamiento del lomo para facilitar la intromisión por parte del macho.
- Producción de sustancias odoríferas (feromonas).⁶⁵

Diferenciación sexual del SNC

El estudio de la diferenciación sexual del SNC la podemos dividir de forma cronológica en cuatro fases o periodos: fenomenológico, crítico, anatómico y molecular, esta división está dada de acuerdo con el momento histórico y las herramientas metodológicas disponibles.

Periodo fenomenológico

Comprende la etapa de la década de 1930 y principios de los años 40, con trabajos como los de Pleiffer⁶⁶ y Wilson *et al.*^{67,68} Estos autores propusieron que las hormonas de origen gonadal del neonato son capaces de influir en las funciones neuroendocrinas. Para comprobarlo, realizaron transplantes de tejido ovárico en ratas machos normales y castrados en la edad adulta, en donde el injerto sólo mostraba crecimiento folicular en ambos animales, pero si el transplante era realizado en machos castrados en una etapa neonatal, el tejido ovárico era capaz de presentar ciclos ovulatorios semejantes a los de una hembra normal. A partir de estos resultados se pudo concluir que la ausencia de testículos en el macho durante la etapa posnatal temprana, ocasionaba en el estado adulto un patrón de secreción cíclico de hormonas gonadotróficas.

Phoenix *et al.*⁷⁰ proposed that estradiol could act fundamentally in two different manners: first in an “organization” stage, during the prenatal and early postnatal period and an “active” stage in the adult life. Thus, estrogens may have an early effect on the organization of neuronal tracks or substrates responsible for the reproductive behavior and after that they have an active effect on these substrates or tracks that were previously organized. The organization effect of estradiol derives in the sexual differentiation of the hypothalamus and the active effect of this hormone derives in the regulation of the activity of the sexually dimorphic neuronal circuits.^{70, 71}

Critical period

When the effect of steroids on the hypothalamus was known, a second phase of the study of sexual differentiation of the CNS began. During the decades of 1960 and 1970 a large amount of works helped define the time or “critical period” when the CNS is more susceptible to the effect of steroid hormones in the organization of the substrate and function of the CNS (Table 1), as well as to know which are the steroids that are most effective and the manner in which the steroid hormones may act upon the CNS.⁷⁵ Gorski and Warner⁷⁵ confirmed in their studies that the testicular androgens, through their main metabolite, estradiol, are responsible for the control of the

Posteriormente, los estudios de Harris⁶⁹ ayudaron a comprender que el hipotálamo era el sitio de control de la secreción de gonadotrofinas.

Los estudios de Phoenix *et al.*⁷⁰ y el grupo de Barraclough⁷¹ fueron los primeros en proponer que las hormonas gonadales del feto actuaban directamente sobre el hipotálamo. Estos autores señalaron que la administración de 1.25 mg de propionato de testosterona (PT) a hembras durante la etapa fetal y los primeros días después del nacimiento, provocaba anovulación, estro persistente y podrían adquirir características masculinas en la edad adulta; pero si la administración se realizaba de los cinco hasta los diez días de edad los efectos se veían minimizados, sin embargo, en trabajos posteriores se encontró que los efectos de PT sobre el SNC pueden ocurrir hasta los 29 días de vida.⁷²⁻⁷⁴ Con estos acontecimientos se llegó a la conclusión de que en el SNC existen periodos de mayor susceptibilidad a las hormonas gonadales.¹⁸

Phoenix *et al.*⁷⁰ propusieron que el estradiol podría actuar fundamentalmente en dos formas diferentes: primero en una etapa “organizacional” durante el periodo pre y posnatal temprano y una etapa “activa” en la edad adulta, para lo cual los estrógenos podrían actuar tempranamente en la organización de las vías o sustratos neuronales responsables de la conducta reproductiva y posteriormente tener un efecto activo de estos sustratos o vías que fueron

Cuadro 1

RELACIÓN ENTRE EL PERIODO DE GESTACIÓN Y EL PERIODO CRÍTICO
DE DESARROLLO EN LA DIFERENCIACIÓN SEXUAL DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL
DE ALGUNOS MAMÍFEROS

RELATIONSHIP BETWEEN THE GESTATION PERIOD AND THE CRITICAL PERIOD IN THE
DEVELOPMENT OF SEXUAL DIFFERENTIATION OF THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM OF
CERTAIN MAMMALS

<i>Species</i>	<i>Time of gestation (days)</i>	<i>Critical period (days after conception)</i>
Rat	20 a 22	18 a 27
Mouse	19-20	Postnatal
Hamster	16	Postnatal
Guinea pig	63-70	30-37
Ferret	42	Postnatal
Dog	58-63	Prenatal and postnatal
Bovine	280-285	80-100
Sheep	145-155	30-90
Rhesus monkey	146-180	40-60

copulatory behavior development characteristic of the male.

Dörner and Hinz⁷⁶ found that if testosterone is present in the male during the critical period, coming from the testicles in the case of an intact male or by an exogenous administration to a female or castrated male, these animals could remain permanently masculinized. The term masculinization makes reference to the capacity of showing characteristics and patterns that are typical of the male, such as the tonic secretion of gonadotrophins, copulatory behavior (mating),^{75,77} territorial marking, posture for urination,⁷ social behavior and games,⁸ spontaneous activity and reactions to several sensorial stimuli.¹¹

Defeminization is the loss of feminine characteristics, such as the tendency to show lordosis when in presence of the male, the presentation of cyclic ovulation patterns and gonadotrophin secretion.⁷⁸ Masculinization and feminization concepts make reference to an increase of the characteristics of a specific sex. Such concepts indicate the suppression of the attributes of the female or the male respectively.⁷⁹

Anatomical period

In 1973, Raisman and Field¹⁵ showed that dimorphism in the amount and type of synapses in the preoptic area of the hypothalamus of the female rat could be reverted by the administration of androgens during the neonatal stage, having as a result the reduction of reproductive behaviors during the adult age of the females. At this time, it is considered that estradiol is responsible for sexual differentiation of the male behavior and participates in the formation of dimorphic structures; estradiol comes from the aromatization of testosterone from the male testicles.^{80,81} In the male rat, there are two important peaks in the secretion of gonadal origin testosterone. The first testosterone peak comes about at 18 days of gestation⁸² and the second testosterone peak is seen two hours after birth.^{16,83} This peak is important for the development of the CNS of the male, the increase of testosterone on day 18 may be interrupted by stress of the mother or by the administration of anti-androgenic substances such as ciproterone acetate and this would cause demasculinization of the male offspring.^{82,84-86} Also the administration of aromatase inhibitors^{80,87} and estrogen antagonists⁸¹ avoid the masculinization in the rat's brain induced by testosterone. Clearly then, estradiol is the main sexual differentiation inducer; its presence takes the hypothalamus of males towards masculinization and its absence to the feminization of the females.

During the early postnatal period in the rat,

previamente organizadas. El efecto organizacional del estradiol conducen a la diferenciación sexual del hipotálamo y el efecto activo que tiene esta hormona, es regulando la actividad de los circuitos neuronales sexualmente dimórficos.^{70,71}

Periodo crítico

Al conocer el efecto que pudieran tener los esteroides en el hipotálamo, llevó a la segunda fase del estudio de la diferenciación sexual del SNC. Entre las décadas de 1960 y 1970, gran número de trabajos permitieron definir el tiempo o "periodo crítico" en que el SNC es más susceptible al efecto de las hormonas esteroides para organizar el sustrato y la función del SNC (Cuadro 1), así también se dieron a conocer cuáles son los esteroides más efectivos y la forma en que las hormonas esteroides pueden actuar en el SNC.⁷⁵ Gorski y Warner⁷⁵ confirmaron en sus estudios que los andrógenos testiculares, por medio de su principal metabolito, el estradiol, son responsables de controlar el desarrollo de la conducta copulatoria propia del macho.

Dörner y Hinz⁷⁶ encontraron que si la testosterona está presente en el macho durante el periodo crítico, ya sea proveniente de los testículos para el caso de un macho intacto o por la administración exógena a una hembra o macho castrado, estos animales podrían ser permanentemente masculinizados. El término masculinización se refiere a la capacidad de presentar características y patrones típicos del macho, como es la secreción tónica de gonadotrofinas, conductas copulatorias (monta),^{75,77} marcaje de territorio, postura de micción,⁷ conducta social y de juego,⁸ actividad espontánea y la reacción a varios estímulos sensoriales.¹¹

La desfeminización es la pérdida del desarrollo de las características femeninas, como la tendencia a mostrar lordosis por la presencia del macho, la presentación de patrones cíclicos de ovulación y de gonadotropinas.⁷⁸ Los conceptos de masculinización y feminización se refieren al aumento de las características de determinado sexo. Tales conceptos indican la supresión de los atributos de hembra y de macho, respectivamente.⁷⁹

Periodo anatómico

En 1973, Raisman y Field¹⁵ demostraron que el dimorfismo en el número y tipo de sinapsis en el área preóptica del hipotálamo de la rata hembra, podía ser revertido por la administración de andrógenos en una etapa neonatal, teniendo como resultado una disminución de las conductas reproductivas en la edad adulta de la hembra. Actualmente se admite que el

females as well as males have high plasma levels of estradiol,^{88,89} in the male, these are necessary as we have mentioned before, for the masculinization of the hypothalamus; in the female, high plasma levels of estradiol will produce hypothalamic masculinization. This does not occur in physiological conditions due to the presence of a protein with high affinity for the circulating estradiol, which is capable of blocking its activity, and is known as alfa-fetus protein.⁹⁰ This protein is present in high concentrations in plasma precisely in the period of greater CNS susceptibility to estradiol; the higher peak is recorded at 18 days of gestation and it tapers down gradually during the first seven days after birth (Figure 1).^{91,92}

The effect of testosterone, or its metabolite estradiol, on sexual differentiation of the CNS finally is manifested in an increase of neuronal tissue in certain areas of the hypothalamus. The increase in the amount of neurons may be due to three possibilities: the increase in synaptogenesis, the stimulation of neurogenesis, or else a participation of estradiol on the survival or prevention of neuronal death.^{93,94}

Molecular period

The genomic mechanism through which estradiol acts, modifying brain organization, is through its transcriptional effect, joining specific nuclear receptors called estrogen receptors (ER), which are decoded by two genes *erα* and *erβ*, the ER may have activity as homodimers or heterodimers; the hormone receptor (E₂-ER) joins certain DNA sequences, known as estrogen response elements (ERE). The initiation of the transcription occurs through an interaction of multiple factors, such as the E₂-ER-ERE complex and the union of other proteins that include co-activators, that help stabilize the transcription factors and promote the assembly of the initiation complex.^{95,98} In that manner, the estrogens have an effect on the organization of the CNS, in morphology as well as functionality and behavior of the adult animal. Estradiol and the union to its receptor participates actively in the regulation of many hypothalamic functions.⁹⁶ Two estradiol receptors are found in the brain (ER) *α* and *β*, that have very similar structures and high homology in the amino acid sequence between them.^{97,98} These two ER are found distributed in the anterior brain, hypothalamus and the amygdala, as well as in the subdivisions of these regions, especially in the regions or nuclei that are necessary for the reproductive functions.^{93,99,100} In the female rat, during development as well as the adult state, the mRNA levels and the receptor protein *α*, are higher than in the males,¹⁰¹ this is due to the estradiol that is present in the hypothalamus

estradiol es responsable de la diferenciación sexual hacia una conducta de macho y participa en la formación de estructuras dimórficas; el estradiol proviene de la aromatización de la testosterona de los testículos del macho.^{80,81} En la rata macho se ha establecido que existen dos picos importantes en la secreción de testosterona de origen gonadal. El primer pico de testosterona se presenta a los 18 días de edad gestacional⁸² y el segundo pico de testosterona se presenta a las dos horas después del nacimiento,^{16,83} este pico es importante para el desarrollo del SNC del macho; el incremento de testosterona el día 18 de gestación puede ser interrumpido por un estrés causado a la madre o por la administración de antiandrógenos como el acetato de ciproterona, en cuyo caso ocurriría desmasculinización en las crías machos.^{82,84-86} También la administración de inhibidores de aromatasa^{80,87} y antagonistas de estrógenos⁸¹ evitan la masculinización inducida por la testosterona en el cerebro de la rata. Es claro entonces que el estradiol es el principal inductor de la diferenciación sexual; su presencia lleva al hipotálamo de machos a la masculinización y su ausencia a la feminización en las hembras.

En el periodo posnatal temprano de la rata, tanto las hembras como los machos presentan altos niveles plasmáticos de estradiol,^{88,89} en el macho éstos son necesarios, como ya se mencionó, para masculinizar su hipotálamo; en la hembra, altos niveles plasmáticos de estradiol le producirían masculinización hipotalámica, lo cual en condiciones fisiológicas no ocurre debido a la presencia de una proteína con alta afinidad por el estradiol circulante, la cual es capaz de bloquear su actividad, denominada alfa-feto proteína.⁹⁰ Esta proteína está presente en altas concentraciones en el plasma justo en el periodo de mayor susceptibilidad del SNC al estradiol; el pico más alto se registró a los 18 días de edad gestacional y va declinando gradualmente durante los primeros siete días después del nacimiento (Figura 1).^{91,92}

El efecto de la testosterona, o sea de su metabolito, el estradiol sobre la diferenciación sexual del SNC, finalmente se manifiesta en el incremento de tejido neuronal en algunas áreas del hipotálamo. El aumento en el número de neuronas puede deberse a tres posibilidades: al incremento en la sinaptogénesis, a la estimulación de la neurogénesis, o bien, a la participación que el estradiol tenga en la sobrevivencia o prevención de la muerte neuronal.^{93,94}

Periodo molecular

El mecanismo genómico por el cual actúa el estradiol modificando la organización cerebral es por su efecto transcripcional, uniéndose a receptores específicos nucleares, llamados receptores a estrógenos (RE), los

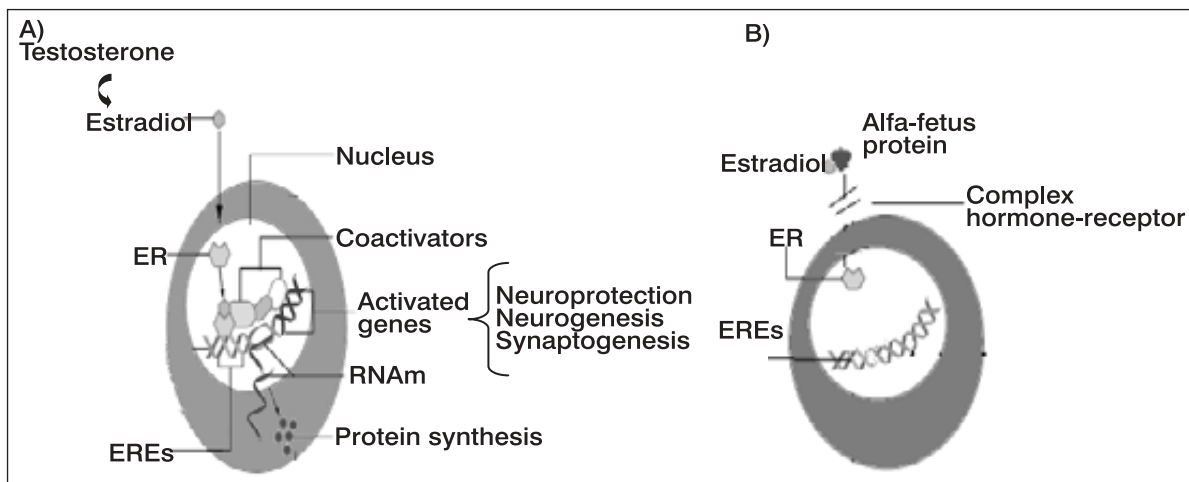


Figura 1. Participación del estradiol en la diferenciación sexual del cerebro en neuronas hipotálamicas. El proceso de la diferenciación involucra: A) la secreción de testosterona en las etapas fetal y posnatal temprana, la testosterona vía aromatización a estradiol, el estradiol media la traducción de proteínas que regularán la masculinización del cerebro. B) En la hembra la concentración de estradiol es mayor que en el macho, pero la presencia de una proteína de alta afinidad por el estradiol (α -feto proteína), la cual se encuentra durante el periodo crítico de diferenciación, impide que el estradiol tenga un efecto transcripcional, causando así la feminización del cerebro.

Figure 1. Participation of estradiol in sexual differentiation in hypothalamus neurons of the brain. The differentiation process involves: A) testosterone secretion in the fetal and early post-natal stages, testosterone to estradiol through aromatization, estradiol mediated protein translation that shall regulate brain masculinization. B) In the female, estradiol concentration is higher than in the male but the presence of a protein with high affinity for estradiol (α -fetus protein) that is found during the critical differentiation period impedes the estradiol from having a transcriptional effect thus causing the feminization of the brain.

of the male, it deregulates the expression of ER α in the preoptic area (POA),¹⁰² while the expression levels of mRNA of ER β are higher than in females during the period of day 17 of gestation until 15 days after birth, that coincides with a greater synthesis of estradiol in the CNS.^{100,103,104} This indicates that the over-expression of ER β is accompanied by high levels of estradiol synthesis and the aromatase expression in the POA of the male which allows the sexual differentiation.^{104,105}

Estradiol mechanisms of action during sexual differentiation

The fundamental participation that estrogens have in the sexual differentiation process has been proven by several authors with the use of anti-estrogens such as tamoxifen, to determine if they have an effect on the neurodevelopment of the CNS.^{12,14,20} Tamoxifen was developed as a therapeutic agent against breast and uterine cancer;¹⁰⁶ it has been shown that tamoxifen in the adult organism joins intracellular estrogenic receptors and avoids their occupation by estradiol. Tamoxifen works in a similar manner in the developing organism,⁸¹ and impedes the formation of the receptor-estrogen complex; and in this manner, in the presence of tamoxifen, estrogens are not capable of any transcriptional activity.¹⁰⁷ The postnatal treat-

cuales son codificados por dos genes α y β , los RE pueden tener actividad como homodímero o heterodímero; el complejo hormona receptor (E₂-RE) se une a determinadas secuencias del ADN, conocidas como elementos de respuesta a los estrógenos (ERE). La iniciación de la transcripción ocurre a través de la interacción de múltiples factores, como el complejo E₂-RE-ERE y la unión de otras proteínas en las que se incluyen los coactivadores, que ayudan a estabilizar los factores de transcripción y promover el ensamble del complejo de iniciación de la transcripción.^{95,98} Los estrógenos tendrán así un efecto en la organización del SNC, tanto en la morfología como en la funcionalidad y la conducta del animal adulto. El estradiol y la unión a su receptor participan activamente en la regulación de muchas funciones hipotálamicas.⁹⁶ En el cerebro se encuentran dos tipos de receptores para estradiol (RE) el α y β , los cuales presentan estructuras muy similares y tienen una alta homología en la secuencia de aminoácidos entre ellos.^{97,98} Estos dos RE se encuentran distribuidos en el cerebro anterior, hipotálamo y amígdala, así como en las subdivisiones de estas regiones, sobre todo en las regiones o núcleos que son necesarios para las funciones reproductivas.^{93,99,100} En la rata hembra tanto en el desarrollo como en el estado adulto, los niveles de ARNm y la proteína del receptor α , son más altos que en los machos,¹⁰¹ esto se debe a que el estradiol presente en

ment with tamoxifen interferes with growth and differentiation of the SDN-POA, this has been proven by the reduction of 26% to 40% in the volume of the nucleus in male rats to which 10 to 100 µg of tamoxifen have been applied. In females, it has been seen that postnatal treatment with tamoxifen induces permanent anovulatory sterility, also a reduction in the volume of the SDN-POA.⁸¹ The inhibitory effect of tamoxifen in male rats seems to be due to its activity on two key points of the hypothalamus hormonal metabolism, since it has an inhibitory effect on aromatase, impeding aromatization of testicular androgens to estrogens and fundamentally interfering with the next interaction of estradiol on the ER.¹⁰⁸ The effect of the estrogenic antagonist, on the cerebral sexual functions, could be attributed to a possible estrogenic activity of these compounds,⁵² since the administration of tamoxifen may have an influence on the development and differentiation of the SDN-POA, due to a direct action on the steroidal hormone receptors of the central nervous system (CNS).

In studies by Döler,¹⁰⁹ female pregnant rats were treated with 200 µg of tamoxifen daily from the 16th day of gestation to the time of birth, after which the male offspring were subjected to treatment with 10 µg of tamoxifen during ten days, and as a result body and testicular weight reduction was observed without significant changes in the weight of the brain. The testicles of these animals were small and flaccid and in the adult age they did not show the presence of spermatozooids. According to other researches, a single dose of Tamoxifen applied two hours after birth, without taking into consideration the sex of the rats, was capable of provoking a slight, though evident, retardation in the pondered growth of males at 48 hours after administration, while in the females this effect was not significant. ($P < 0.05$)⁶¹ Therefore, it can be shown that perinatal estrogens stimulate the differentiation of the SDN-POA in female rat, while tamoxifen inhibits its differentiation in the male therefore, it seems to be clear that tamoxifen does not have an estrogenic effect on the differentiation of the SDN-POA.¹⁰⁸

It has been proposed that the establishment of neuronal connections of dimorphic areas must continue after the termination of the critical period, in order to complete a definitive functional organization of the dimorphic areas. This is compatible with the fact that steroids only act during the critical period promoting the development of a larger amount of neurons, since this increase in the amount of cells is necessary to establish proper neuronal function.¹¹⁰⁻

¹¹³ Steroids may influence the determination of the number of neurons that make up the dimorphic

el hipotálamo del macho, desregula la expresión de RE en el área preóptica (APO),¹⁰² mientras que los niveles de expresión de ARNm del ERβ son más altos que en las hembras en el periodo del día 17 de vida gestacional hasta 15 días después de nacidos, que coincide con el de mayor síntesis de estradiol en el SNC.^{100,103,104} Esto indica que la sobreexpresión de ERβ se acompaña de altos niveles en la síntesis de estradiol y la expresión de aromatasa en el APO del macho, lo cual permite la diferenciación sexual.^{104,105}

Mecanismos de acción del estradiol durante la diferenciación sexual

La participación fundamental que tienen los estrógenos en el proceso de diferenciación sexual se ha comprobado por diversos autores con el uso de antiestrógenos como el tamoxifen, para determinar si éste tiene efecto en el neurodesarrollo del SNC.^{12,14,20} El tamoxifen fue desarrollado como un agente terapéutico para el cáncer de mama y de útero;¹⁰⁶ se ha demostrado que el tamoxifen en el organismo adulto se une a receptores estrogénicos intracelulares y evita que éstos sean ocupados por el estradiol. El tamoxifen actúa en forma similar en el organismo en desarrollo,⁸¹ e impide que se forme el complejo receptor-estrógeno; de esta manera, en presencia de tamoxifen, los estrógenos no serán capaces de tener ninguna actividad transcripcional.¹⁰⁷ El tratamiento posnatal con tamoxifen interfiere con el crecimiento y diferenciación del SDN-POA, esto se ha comprobado por la reducción entre 26% y 40% en el volumen núcleo en ratas machos a los cuales se aplicó entre 10 y 100 µg de tamoxifen. En hembras se ha visto que el tratamiento posnatal con tamoxifen induce esterilidad anovulatoria en forma permanente, además de una reducción en el volumen del SDN-POA.⁸¹ El efecto inhibitorio del tamoxifen en ratas macho parece deberse a su actividad sobre dos puntos clave del metabolismo hormonal del hipotálamo, ya que tiene un efecto inhibitorio sobre la aromatasa, impidiendo la aromatización de los andrógenos testiculares a estrógenos y fundamentalmente, interfiriendo con la subsecuente interacción del estradiol con el RE.¹⁰⁸ El efecto de los antagonistas estrogénicos sobre las funciones sexuales cerebrales, podría atribuirse a una posible actividad estrogénica de estos compuestos,⁵² ya que la administración de tamoxifen puede tener influencia sobre el desarrollo y la diferenciación del SDN-POA, por tener una acción directa sobre los receptores a hormonas esteroidales del sistema nervioso central (SNC).

Según estudios realizados por Döhler,¹⁰⁹ en los cuales ratas hembras gestantes fueron tratadas con

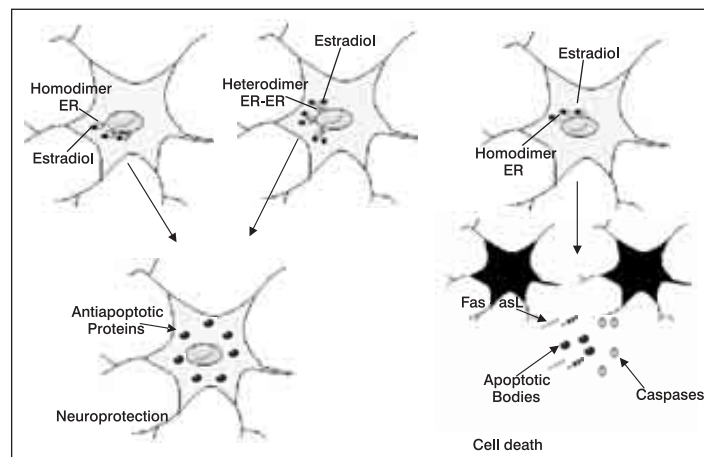


Figura 2. Modelo de acción del estradiol con diferente tipo de receptor en una neurona hipotalámica. A) La presencia del estradiol y el RE- pueden regular la neuroprotección, ya que el complejo hormona-receptor incrementa la expresión de genes antiapoptóticos, como el gen de la familia de bcl-2 y éstos pueden inhibir la muerte neuronal. B) La presencia de heterodímeros de receptores α y β pueden también regular los genes encargados de la supervivencia de la célula. C) El complejo estradiol-RE- β activa mecanismos, como el de Fas-FasL y caspasas, así como la disminución en la expresión de proteínas antiapoptóticas (Bcl-2 y Bcl-xL) y un aumento en la proapoptóticas (Bid, Bax y Bim).

Figure 2. Estradiol action model with a different type of receptor in the hypothalamus neuron. A) The presence of estradiol and ER- may regulate neuroprotection, since the hormone-receptor complex increments the antiapoptotic genes expression, such as the gene of the bcl-2 family and these may inhibit neuronal death. B) The presence of α and β receptor heterodimers may also regulate the genes in charge of the cell survival. C) The estradiol-ER- β complex activates mechanisms, such as Fas-FasL and caspases, as well as the reduction of antiapoptotic protein expression (Bcl-2 and Bcl-xL) and an increase in proapoptotic proteins (Bid, Bax and Bim).

nuclei. In summary, three possible mechanisms are suggested: a) Steroids may stimulate neurogenesis and prolong the period in which this occurs; b) Steroids may promote neuronal survival through neural protection during the critical differentiation period (Figure 2); c) They may also influence the neuronal location, in terms of neurochemical identification and functionality.

Neurogenesis

Several authors have published data that indicate that the time in which neurogenesis of the medial POA is performed, is around the 16th day of gestation.^{51,54,114} Administration of tritiated tamidine to females in different days of gestation, followed by the slaughter of their offspring 30 days after, showed through the autoradiographic analysis of the brains¹¹⁵ that neurogenesis in the medial POA stopped generally at 16 days of gestation. Nevertheless, neurogenesis of the POA neurons was longer and it continued up to the 20th day after conception. The Jacobson group,¹¹⁶ found two important differences in the POA neurogenesis that depend on the sex of the offspring. When thiamine-3H is injected on the 14th day of gestation, the mark index of the POA is initially larger in females than in males. These sexual differences are reverted at the 17th day of gestation,¹¹⁵ when the first

tamoxifen a dosis de 200 μ g diarios a partir del día 16 de gestación hasta el momento del parto, después del cual a las crías machos se les sometió a un tratamiento con 10 μ g de tamoxifen durante diez días, teniendo como resultado una reducción en el peso corporal y testicular, sin cambios significativos en el peso del cerebro. Los testículos de estos animales fueron pequeños y flácidos, y en la edad adulta no mostraban presencia de espermatozoides. Según investigaciones realizadas, una sola dosis de tamoxifen aplicada a las dos horas posnacimiento a ratas de sexo indistinto, fue capaz de provocar un retardo pequeño, pero evidente, en el crecimiento ponderal de los machos a las 48 horas de su aplicación, mientras que en las hembras este efecto no fue significativo ($P < 0.05$).⁶¹ Por tanto, se puede demostrar que los estrógenos perinatales estimulan la diferenciación del SDN-POA en ratas hembras, mientras que el tamoxifen inhibe su diferenciación en el macho, por lo cual parece claro que el tamoxifen no tiene un efecto estrogénico sobre la diferenciación del SDN-POA.¹⁰⁸

Se ha propuesto que el establecimiento de conexiones neuronales de áreas dimórficas debe continuar después de la terminación del periodo crítico, para completar la organización funcional definitiva de las áreas dimórficas. Esto es compatible con que los esteroides actúan sólo durante el periodo crítico, promoviendo el desarrollo de mayor número de neuro-

peak of testosterone secretion comes about during embryo development.^{109,117} Nevertheless, these results should be considered carefully, since in these works rats were sacrificed on the 30th day of life outside the womb, therefore, the results may be modified by different factors besides neurogenesis, such as migration and survival. In other experiments performed in the preoptic area of the rat, markers were used such as bromodexosuridine (BrdU), a product analogous to thymine, and an antibody specific for BrdU, for cells that were in proliferation, and administered to rats during the days 13 and 18 of gestation, indicating that the process of neurogenesis in the offspring occurred during this period of gestation.¹¹⁸

Sexual differences have been shown in the genesis of cells of the hypothalamus of adult male and female brains, under hormonal control, this causes defeminization and masculinization and it suggests that the estrogens regulate a high mitotic activity, while the cells that are proliferating in the preoptic area are correlated to age; in other words, the estrogens in the POA have a greater effect during the critical differentiation period.⁸¹

Neuroprotection

Several studies have established that certain steroid hormones (such as testosterone and estradiol) have an important role in the cerebral sexual differentiation; due to their neuroprotector function, estrogens may have a different effect in females and males, since there are differences in sensitivity of the tissue to these hormones, the type of receptor, the location of it and the amount of hormone that is present.^{119,120}

In a study performed *in vitro* with rat hypothalamus cells, it was detected that estrogens, were able to carry out their neuroprotector activity, but needed both types of receptors (α and β), since the cells that only had β receptors had a higher index of neuronal death,¹²¹ due to the antagonist effect of the β receptors over the estradiol neuroprotector effect.¹²² The neuroprotector effect of estrogens on hypothalamus cells is due to the action of this steroid on α receptor to induce an over-expression of antiapoptotic genes of the bcl-2 family, while in the case of cells that only express the β receptor, estradiol activates the primary apoptosis induction system Fas-FasL ligand.¹²³ Once the estrogens regulate the FasL expression, the system activates the caspase 10, that in turn activates caspase 3, and this activates the endonucleases that are in charge of fragmenting the DNA during the apoptosis process.¹²⁴ In the development of the CNS, close to half the CNS cells die.^{125,126} The neurons that die during the CNS development show signs of death by apoptosis and this type of death

nas, ya que este aumento en la cantidad de células es necesario para el establecimiento de las conexiones neuronales que se utilizarán después para el adecuado funcionamiento neuronal.¹¹⁰⁻¹¹³ Los esteroides pueden influir en la determinación del número de neuronas que componen los núcleos dimórficos. En resumen, se sugieren tres posibles mecanismos: a) Los esteroides pueden estimular la neurogénesis o prolongar el periodo en el que ésta ocurre; b) los esteroides pueden promover la supervivencia neuronal, mediante neuroprotección, durante el periodo crítico de diferenciación (Figura 2); c) también influyen sobre la localización neuronal, en términos de funcionalidad e identificación neuro-química.

Neurogénesis

Datos publicados por varios autores indican que el tiempo durante el cual se realiza la neurogénesis del APO medial de la rata, es alrededor del día 16 de vida gestacional.^{51,54,114} La administración de tamidina tritiada a hembras en diferentes días de gestación, seguida del sacrificio de sus crías 30 días después, demuestran por medio del análisis autorradiográfico de los cerebros¹¹⁵ que la neurogénesis en el APO media cesa, en general, a los 16 días de gestación. Sin embargo, la neurogénesis de las neuronas que forman el APO fue más prolongada y se observa que continúa hasta el día 20 después de la concepción. El grupo de Jacobson¹¹⁶ encontró dos diferencias importantes dependientes del sexo de la cría, en la neurogénesis del APO. Cuando la inyección de tiamina-3H se realiza el día 14 de la gestación, el índice de la marca del APO es inicialmente mayor en las hembras que en los machos. Esta diferencia sexual se revierte a los 17 días de gestación,¹¹⁵ momento que coincide con la presentación del primer pico de secreción de testosterona durante el desarrollo embrionario.^{109,117} Sin embargo, estos resultados deben ser considerados con cuidado, ya que en estos trabajos las ratas fueron sacrificadas hasta el día 30 de vida extrauterina, por lo que los resultados pueden ser modificados por otros factores diferentes a la neurogénesis propiamente dicha, como la migración y la sobrevivencia. En otros experimentos realizados en el área preóptica de la rata, se usaron marcadores como la bromodexosuridina (BrdU), un análogo de la timina, y un anticuerpo específico a BrdU, para células que se encuentran en proliferación, que fueron administrados a ratas durante los días 13 y 18 de la gestación, indicaron, que en las crías el proceso de neurogénesis ocurre en este lapso de la gestación.¹¹⁸

Se han demostrado diferencias sexuales en la génesis de células hipotalámicas de cerebros adultos

is an important mechanism to determine the size and shape of the CNS.¹²⁷ During sexual differentiation, the neuronal cells suffer an apoptotic process. Estradiol may regulate the cell death of neurons by apoptosis. Studies have been carried out where the apoptotic cells have been observed in the CNS sexual dimorphism development, as well as in natural and pathological processes.^{121,128-130}

Neurotransmitters

Hormones of the gonads activate sexual conduct through a local effect on the nervous system structures. This action is performed as part of the normal functioning of the neurons and modulates the interaction between them. In fact, it entails the interaction between gonadal hormones and neurotransmitters that act as chemical mediators in the interneuronal communication. There are evidences that suggest neurotransmitters could participate in the development of the sexual differences of the CNS, since the prenatal administration of drugs affect adrenergic, colinergic,¹³¹ serotonergic, dopaminergic¹³² and gabaergic systems,¹³³ these drugs are capable of modifying the development of sexual differences in the brain and reproductive conducts. Differences between sexes have been found in relation to neurotransmitters and the enzymatic activity on the serotonergic, dopaminergic, colinergic systems,¹³⁴ and on the number of their receptors.^{133,135,136} This dimorphism found in adult animals indicates functional sexual dimorphism and a possible structural dimorphism in the nuclei that synthesized these neurotransmitters and in the distribution patterns of the fibers that liberate them.

Conclusions

The sexual differentiation process is a result of the complex interaction of events that are mostly under intense investigation. Of course, estradiol is the main inducer of the sexual differentiation and acts in the early stages of neuronal development, that is presently known as "critical period". It is also known that estradiol causes permanent changes in the brain structures that impact reproductive processes. This hormone may regulate the transcription of several gene families involved in the neurogenesis, apoptosis, genesis of synapses, and intercellular communications (neurotransmitters) through a differential union to either α or β receptors.

The use of modern molecular biology techniques such as SAGE, microarrays and CGH are important tools that not only shall give a strong support to the advance in knowledge of cellular and molecular proc-

de machos y hembras bajo control hormonal, esto lleva a desfeminización y masculinización, y sugiere que los estrógenos regulan una alta actividad mitótica, mientras que las células en proliferación en el área preóptica se ven correlacionadas con la edad; o sea que los estrógenos en el APO tienen mayor efecto en el periodo crítico de diferenciación.⁸¹

Neuroprotección

A través de varios estudios se ha encontrado que algunas hormonas esteroides (como la testosterona y estradiol) desempeñan un papel importante en la diferenciación sexual cerebral, por su función neuroprotectora, los estrógenos pueden tener diferente efecto en hembras y en machos, debido a la distinta sensibilidad que presenta el tejido hacia estas hormonas, al tipo de receptor, la localización de éste y a la cantidad de hormona presente.^{119,120}

En un trabajo realizado *in vitro* con células hipotálamicas de rata, se encontró que para que los estrógenos ejerzan su acción neuroprotectora y, por consiguiente, en este caso un aumento en la supervivencia de las líneas celulares, las células deben presentar los dos tipos de receptores (α y β), ya que las células que sólo presentaron el receptor β tuvieron un mayor índice de muerte neuronal,¹²¹ debido muy probablemente al efecto antagónico que tiene la activación del receptor α sobre al efecto neuroprotector del estradiol.¹²² El efecto neuroprotector de los estrógenos en células hipotálamicas, se debe a que este esteroide actúa sobre el receptor α para inducir la sobreexpresión de genes antiapoptóticos de la familia de bcl-2, mientras que en el caso de las células que sólo expresan el receptor β , el estradiol activa el sistema primario de inducción de apoptosis Fas-Fas ligando.¹²³ Una vez que los estrógenos regulan la expresión del FasL, el sistema activa a la caspasa 10, que a su vez activa a la caspasa 3, y ésta a las endonucleasas, encargadas de fragmentar el ADN durante el proceso de apoptosis.¹²⁴ En el desarrollo del SNC, alrededor de la mitad de las células del SNC mueren,^{125,126} las neuronas que mueren durante el desarrollo del SNC presentan signos de muerte por apoptosis y este tipo de muerte es un importante mecanismo que determinará el tamaño y forma del SNC.¹²⁷ Durante la diferenciación sexual las células neuronales sufren un proceso apoptótico. El estradiol puede regular la muerte celular de las neuronas por apoptosis. Se han realizado estudios donde se observan células apoptóticas en el desarrollo del dimorfismo sexual del SNC, así como en procesos naturales y patológicos.^{121,128-130}

esses that shall determine specific sexual differences, but also they shall facilitate our understanding of the integral participation of all the genes involved in this important process of animal reproduction.

Acknowledgements

This work was partly supported by Grant # 37767-B from Conacyt, México.

Referencias

1. Neil J, MacLuski N, Naftolin F. Differentiation of the central nervous system. *Science* 1981; 211:1294-1302.
2. Pfaff D, Schwartz-Giblin S. Cellular mechanisms of female reproductive behaviors. In: E. Knobil, J. Neil, editors *The physiology of reproduction*. New York, Raven Press, Ltd; 1988; 1487-1568.
3. Bakker J, Van Ophemert J, Slob A. Hormonal regulation of adult partner preference behavior in neonatally ATD-treated male rats. *Behav Neurosci* 1993; 107:480-487.
4. Nance D, Gorski R. Facilitation of female sexual behavior in male rats by septal lesions: an interaction with estrogen. *Horm Behav* 1975; 6:289-299.
5. Nance D, Phelps C, Shryne J, Gorski R. Alterations by estrogen and hypothyroidism in the effects of loose septal lesion on lordosis behavior of male rats. *Brain Res Bull* 1977; 2:49-53.
6. Barr G, Gibbons J, Moyer K. Male-female differences and the influence of neonatal and adult testosterone on intraspecies aggressions in rats. *J Comp Physiol* 1976; 90:1169-1183.
7. Beach F A. Sexual attractivity, proceptivity and receptivity in the female mammals. *Horm Behav* 1976; 7:105-138.
8. Dawson J L, Cheung Y M, Lau R T S. Developmental effects of neonatal sex hormones on spatial and activity skills in the white rat. *Biol Psychol* 1975; 3:213-229.
9. Hines M. Prenatal gonadal hormones and sex differences in human behavior. *Psychol Bull* 1982; 92: 56-80.
10. Ehrhardt A, Baker S. Fetal androgens, human central nervous system differentiation, and behavior sex differences. In: Friedman RC, Richard RM, Vande Wiele RL, editors. *Sex differences in behavior*. Wiley, New York; 1974; 33-51.
11. Beatty W. Gonadal hormones and sex differences in nonreproductive behaviors in rodents: Organizational and activational influences. *Horm Behav* 1979; 12:112-118.
12. Barraclough C A. Modifications in reproductive function after exposure to hormones during the prenatal and early postnatal period. In: *Neuroendocrinology*. Martini L, Ganong W F, editors. New York: London Academic Press; 1967; 61-99.
13. Pfaff D W. Estrogens and Brain Function. *Neural analysis of a hormone-controlled mammalian reproductive behavior*. New York, Heidelberg, Berlin Springer-Verlag; 1980; 123-268.

Neurotransmisores

Las hormonas gonadales activan la conducta sexual mediante un efecto local en las estructuras del sistema nervioso. Esta acción se realiza como parte del funcionamiento normal de las neuronas y modula la interacción entre ellas. Ello, de hecho, supone la interacción entre las hormonas gonadales y los neurotransmisores que actúan como mediadores químicos en la comunicación interneuronal. Existen evidencias que sugieren que los neurotransmisores podrían participar en el desarrollo de las diferencias sexuales del SNC, ya que la administración prenatal de fármacos afectan sistemas adrenérgicos, colinérgicos,¹³¹ serotoninérgicos, dopaminérgicos¹³² y gabaérgicos,¹³³ estos fármacos son capaces de modificar el desarrollo de las diferencias sexuales en el cerebro y de las conductas reproductivas. Se han encontrado diferencias entre los sexos en cuanto al contenido de neurotransmisores y de la actividad enzimática en los sistemas serotoninérgico, dopaminérgico, colinérgico,¹³⁴ y en el número de sus receptores.^{133,135,136} Este dimorfismo encontrado en animales adultos indica dimorfismo sexual funcional y un posible dimorfismo estructural en los núcleos que sintetizan estos neurotransmisores y en los patrones de distribución de las fibras que los liberan.

Conclusiones

El proceso de diferenciación sexual cerebral es resultado de una interacción compleja de eventos, que en su mayoría son motivo de intensas investigaciones. Es claro que el estradiol es el principal inductor de la diferenciación sexual y que actúa en etapas tempranas del desarrollo neuronal, que actualmente se conoce como "periodo crítico". También se sabe que el estradiol ocasiona cambios permanentes en estructuras del cerebro que impactan los procesos reproductivos. Esta hormona puede regular la transcripción de varias familias de genes involucrados en los procesos de neurogénesis, apoptosis, sinaptogénesis y en la comunicación intercelular (neurotransmisores) a través de la unión diferencial a los receptores α o β .

El uso de técnicas modernas de biología molecular como SAGE, microarreglos y CGH son importantes herramientas que no sólo darán un fuerte apoyo para continuar avanzando en el conocimiento de los procesos celulares y moleculares que determinaran las diferencias sexo específicas, sino que permitirán comprender de forma integral la participación de todos los genes involucrados en este importante proceso de la reproducción animal.

14. Dörner G, Staudt J. Structural changes in the preoptic anterior hypothalamic area of the male rat. Following neonatal castration and androgen treatment. *Neuroendocrinology* 1968; 3:136-140.
15. Raisman G, Field P M. Sexual dimorphism in the neuropil area of the rat and its dependence on neonatal androgen. *Brain Res* 1973; 54:1-29.
16. Gorski R. Sexual dimorphism of the brain. *J Anim Sci* 1985; 61:1001-1004.
17. Allen L S, Hines M, Shryne J E, Gorski R A. Two sexually dimorphic cell groups in the human brain. *J Neurosci* 1989; 9: 497-506.
18. Goy R, McEwen B. Sexual differentiation of the brain. Cambridge: Mass Mit press; 1980.
19. Robinson S M, Fos T O, Dikkes P, Pearlstein R A. Sex differences on the shape of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area and suprachiasmatic nucleus of the rat: 3-D computer reconstructions and morphometrics. *Brain Res* 1986; 371:380-384.
20. Döhler K, Hines M, Coquelin A, Davis F, Shryne J, Sickmöler P, *et al.* Pre- and posnatal influence of an estrogen antagonist and an androgen antagonist on differentiation of the preoptic area in male and female rats. *Neuroendocrinology* 1986; 42:443-448.
21. Davis P, McEwen B, Pfaff D. Localized behavioral effects of triated estradiol implants in the ventromedial hypothalamus of female rats. *Endocrinology* 1979; 104:898-903.
22. Pfaff D, Sakuma Y. Facilitation of the lordosis reflex of female rats from the ventromedial nucleus of the hypothalamus. *J Physiol London* 1979; 288:189-202.
23. Miller L, Aoki A. Stereological analysis of the hypothalamic ventromedial nucleus. II. Hormone induced changes in the synaptogenic pattern. *Dev Brain Res* 1991; 61:189-196.
24. Cohen R, Pfaff D. Ventromedian hypothalamic neurons in the mediation of long-lasting effects of estrogen on lordosis behavior. *Prog Neurobiol* 1992; 38:423-453.
25. Oomura Y, Aon S, Koyama Y, Fujita I, Yoshimatsu H. Central control of sexual behavior. *Brain Res Bull* 1989; 20:863-870.
26. Carrer H F, Aoki A. Ultrastructural changes in the hypothalamic MVN of ovariectomized rats after estrogen treatment. *Brain Res* 1982; 240:221-233.
27. Lustig R H, Ping H, Wilson M, Federoff H J. Ontogeny sex dimorphism and neonatal sex determination of synapse-associated messenger RNAs in rat brain. *Mol Brain Res* 1993; 20:101-110.
28. Law S, Apostolakis E, Samora P, O' Malley B, Clark, J. Hormonal regulation of hypothalamic gene expression. Identification of multiple novel estrogen induced genes. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1994; 51:131-136.
29. Swaab D F, Fliers E, Partinlan T. The suprachiasmatic nucleus of the human brain in relation to sex, age and dementia. *Brain Res* 1985; 342:37-44.
30. Swaab D, Hofman M. An enlarged suprachiasmatic nucleus in homosexual men. *Brain Res* 1990; 537:141-148.
31. Young L, Wang Z, Insel T. Neuroendocrine bases of monogamy. *Trends Neurosci* 1998; 21:71-75.

Agradecimientos

Este trabajo estuvo parcialmente apoyado por el Conacyt de México (37767-B).

32. Sördersten P, Hansen S, Srebro B. Suprachiasmatic lesions disrupt the daily rhythmicity in the sexual behavior of normal male rats and male rats treated neonatally with antiestrogen. *J Endocrinol* 1981; 88:125-130.
33. Swaab D, Siob A, Houtsmuller E, Brand T, Zhou J. Increased number of vasopressin neurons in the suprachiasmatic nucleus (SCN) of 'bisexual' adult male rats following perinatal treatment with the aromatase blocker ATD. *Dev Brain Res* 1995; 85:273-279.
34. Kruijver F, De Jonge F, Van den Broek W, Van der Woude T, Endert E, Swaab D. Lesions of the suprachiasmatic nucleus do not disturb sexual orientation of the adult male rat. *Brain Res* 1993; 624: 342-346.
35. Bakker J, Van Ophemert J, Slob A K. Hormonal regulation of adult partner preference behavior in neonatally ATD-treated male rats. *Behav Neurosci* 1993; 107: 480-487.
36. Gorski R A, Harlan R E, Jacobson C D, Southam A M. Evidence for the existence of a sexually dimorphic nucleus in the preoptic area of the rat. *J Comp Neurol* 1980; 193:529-539.
37. Montano M M, Welshons W V, vom Saal F S. Free estradiol in serum and brain uptake of estradiol during fetal and neonatal sexual differentiation in female rats. *Biol Reprod* 1995; 53:1198-207.
38. Allen L S, Hines M, Shryne J E, Gorski R A. Two sexually dimorphic cell groups in the human brain. *J Neurosci* 1989; 9: 497-506.
39. LeVay S. A difference in hypothalamic structure between heterosexual and homosexual men. *Science* 1991; 253:1034-1037.
40. Jacobson C, Shryne J, Shapiro F, Gorski R. Ontogeny of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area. *J Comp Neurol* 1980; 193:519-529.
41. Lauber M. Ontogeny of 5 alpha-reductase (type 1) messenger ribonucleic acid expression in rat brain: early presence in germinal zones. *Endocrinology* 1996; 137:2718-2730.
42. Hutchison J B, Wozniak A, Beyer C, Karolczak M, Hutchison R E. Steroid metabolizing enzymes in the determination of brain gender. *J Steroid Biochem Mol Biol* 1999; 69:85-96.
43. Masco D, Carrer H. Sexual receptivity in female rats after lesion or stimulation in different amygdaloid nuclei. *Physiol Behav* 1980; 24:1073-1080.
44. Kondo Y, Sachs B D, Sakuma Y. Importance of the medial amygdala in rat penile erection evoked by remote stimuli from estrous females. *Behav Brain Res* 1997; 88:153-160.
45. Morris J, Öhman A, Dolan R. Conscious and unconscious emotional learning in the human amygdala. *Nature* 1998; 393: 467-470.
46. Adolphs R, Travel D, Damasio A R. The human

- amygdala in social judgement. *Nature* 1998; 393: 470-474.
47. Weller K, Smith D. Afferent connections to the bed nucleus of the stria terminalis. *Brain Res* 1982; 232:255-270.
 48. Hines M, Allen L S, Gorski R A. Sex difference in subregions of the medial nucleus of the amygdala and the bed nucleus of the stria terminalis of the rat. *Brain Res* 1992; 579: 321-326.
 49. Claro F, Segovia S, Guilamon A, Del Abril A. Lesions, in the medial posterior region of the BST, impair sexual behavior in sexually experienced and inexperienced mate rats. *Brain Res Bull* 1995; 36:1-10.
 50. Liu Y, Salamone J, Sachs B D. Lesions in medial preoptic area and bed nucleus of stria terminalis: differential effects on copulatory behavior and noncontact erection in mate rats. *J Neurosci*. 1997; 17:5245-5253.
 51. Gorski R. Evidence for morphological sex differences within the medial preoptic area for the rat brain. *Brain Res* 1978; 148:333-346.
 52. Arnold A, Gorski R A. Gonadal steroid induction of structural sex differences in the central nervous system. *Annu Rev Neurosci* 1984; 7:413-442.
 53. Hammer Jr R P, Jacobson C D. Sex difference in dendritic development of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in the rat. *Int J Devl Neurosci* 1984; 2:77-85.
 54. Goldstein L A, Kurz E M, Sengelaub D R. Androgen regulation of dendritic growth and retraction in the development of a sexually dimorphic spinal nucleus. *J Neurosci* 1990; 10:935-946.
 55. Kerchner M, Malsburry C, Ward O, Ward I. Sexually dimorphic areas in the rat medial amygdala: resistance to the desmasculinizing effect of prenatal stress. *Brain Res* 1995; 672:251-260.
 56. Dörner G, Hinz G. Androgen-dependent brain differentiation and life span. *Endocrinology* 1975; 65:378-380.
 57. Greenough W, Carter C S, Steerman C, DeVoogd T J. Sex differences in dendritic patterns in hamster preoptic area. *Brain Res* 1977; 126:63-72.
 58. Lephart E, Simpson E, Ojeda S. Brain aromatase enzyme activity during prenatal development in the rat. *J Neuroendocrinol* 1992; 4:29-36.
 59. Breedlove S. Sexual differentiation of the brain and behavior. In: Becker J, Breedlove S, editors, *Behav Endocrinol*. Cambridge Ma: The Mit press; 1992; 39-70.
 60. Breedlove S. Sex on the brain. *Nature* 1997; 389:801-807.
 61. Rodriguez M, Vergara O, Chavarria M, Rosado A, Reyes A. Changes in hypothalamic calmodulin concentration induced by perinatal hormone manipulation in the rat. *Pharm Biochem Behav* 1998; 61:1-6.
 62. Griffiths E C, Hooper K C. Effect of neonatal androgen on the activity of peptidases in the rat brain inactivating luteinizing hormone-releasing hormone. *Horm Res* 1976; 7:218-226.
 63. Negri-Cesi P, Colciago A, Motta M, Martini L, Celotti F. Aromatase expression and activity in male and female cultured rat hypothalamic neurons: effect of androgens. *Mol Cell Endocrinol* 2001; 178:1-10.
 64. Dewsbury D. Copulatory behavior of rats (*Ratus norvegicus*) as a function of prior copulatory experience. *Anim Behav* 1968; 17:217-273.
 65. Dewsbury D. Description of sexual behavior in research on hormone-behavior interactions. In: *Endocrine control of sexual behavior*. Beyer C, editor. New York: Raven Press; 1979: 3-32.
 66. Pleiffer C. Sexual Differences of the hypophysis and their determination by the gonad. *Am J Anat* 1936; 58:195-225.
 67. Wilson J, Young W, Halmiton J. Technic suppressing development of reproductive function and sensitivity to estrogen in the female rat. *J Biol Med* 1949; 13:189-202.
 68. Wilson J, Halmiton J, Young W. Influence of age and presence of the ovaries on reproductive function in rats injected with androgens. *Endocrinology* 1941; 29:784-789.
 69. Harris G. Sex hormones brain development and brain function. *Endocrinology* 1964; 75:627-648.
 70. Phoenix C, Goy R, Young W. Organizing action of prenatally administered testosterone propionate on the tissue mediating mating behavior in the female guinea pig. *Endocrinology* 1959; 65:369-382.
 71. Barraclough C A. Production of anovulatory sterile rats by single injection of testosterone propionate. *Endocrinology* 1961; 68:62-67.
 72. Swanson H, Van Der Werff J. The early androgen syndrome; effects of prenatal testosterone propionate. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1965; 50:379-390.
 73. Brown-Grant K. On "critical periods" during the postnatal development of the rat. *Colloques del Institut Nationale de la Santé et Recherche Medicale INSERN. International Symposium Sex and endocrinology perinatal period*, editor INSERN Paris France, 1974. 32:357-376
 74. Davis E, Shryne J, Gorski R. A revised critical period for the sexual differentiation of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in the rat. *Neuroendocrinology* 1995; 62:579-585.
 75. Gorski R, Warner J. Gonadal activity and sexual differentiation of the hypothalamus. *Endocrinology* 1965; 76:226-239.
 76. Dörner G, Hinnz G. Homosexuality of neonatally castrated male rats following androgen substitution in adulthood. *Ger Med Mon* 1967, 12:281-283.
 77. Castro-Vazquez A, McCann S. Cyclic variations in the increased responsiveness of the pituitary to luteinizing hormone-releasing hormone (LHRH) induced by LHRH. *Endocrinology* 1975; 97:13-9.
 78. Christensen L W, Gorski R A. Independent masculinization of neuroendocrine systems by intracerebral implants of testosterone or estradiol in the neonatal female rat. *Brain Res* 1978; 146:325-340.
 79. Toren-Allerand C. On the sexual differentiation of the central nervous system morphogenetic consequences of the steroidal exposure and possible role of α -protein. *Prog Brain Res* 1984; 61:63-97.

80. McEwen B, Lieberburg I, Chaptal C, Krey L. Aromatization: important for sexual differentiation of the neonatal rat brain. *Horm Behav* 1977; 9:249-263.
81. Döhler K, Hines M, Coquelin A, Davis F, Shryne J, Gorski R A. Pre-and posnatal influence of testosterone propionate and diethylstilbestrol on differentiation of the sexually dimorphic nucleus of the preoptic area in male and female rats. *Brain Res* 1984; 302:291-295.
82. Weisz J, Ward I. Plasma testosterone and progesterone titers of pregnant rats, their male and female fetus and neonatal offspring. *Endocrinology* 1980; 106:306-316.
83. Rhoda J, Corbier P, Roffi J. Gonadal steroid concentrations in serum and hypothalamus of the rat at birth: aromatization of testosterone to 17 β -estradiol. *Endocrinology* 1984; 114:1754-60.
84. Dörner G, Staudt J. Perinatal structure sex differentiation of the hypothalamus in rats. *Neuroendocrinology*. 1969; 5:136-140.
85. Stylianopoulou F. Effect of maternal adrenocorticotropin injections on the differentiation of sexual behavior of the offspring. *Horm Behav* 1983; 17:324-331.
86. Perakis A, Styliannopoulou F. Effects of a prenatal androgen peak on rat brain sexual differentiation. *J Endocrinol* 1985; 36:415-416.
87. Amateau J, QALT J, Stamps L, McCarthy M. Brain estradiol content in newborn rats: sex differences regional heterogeneity, and possible de Novo synthesis by the female telencephalon. *Endocrinology* 2004; 145:2906-2917.
88. Weisz J, Gunsalus P. Estrogen levels immature rats. True spurious-ovarian or adrenal. *Endocrinology* 1973; 93:57-65.
89. Babichev V, Shishkina I, Peryshkova T. The effect of neonatal castration of male rats on the level of sex-hormone receptors in the hypothalamus and hypophysis of adult animals. *Biomed Sci* 1990;1:189-192.
90. Nuñez E, Sayu L, Engelmann F, Benassayg C, Crepy O, Jayle M. Origine embryonnaire de la protéine sérique fixant l'estradiol chez la ratte impubère. *Acad Sci Paris* 1971; 273:242-245.
91. Ali M, Kaul H, Sahib M. Ontogeny and distribution of alpha-fetoprotein in feto-neonatal rat brain. *Brain Res* 1981; 227:618-621.
92. Mujoo K, Ali M, Sahib M. Isolation, characterization, and synthesis of alpha-fetoprotein from neonatal rat brain. *J Neurochem* 1983; 41:1223-1228.
93. Tobet S. Genes controlling hypothalamic development and sexual differentiation. *Eur J Neurosci* 2002; 16:373-376.
94. Simerly R. Wired for reproduction: Organization and development of sexually dimorphic circuits in the mammalian forebrain. *Ann Rev Neurosci* 2002; 25:507-536.
95. Beato M. Gene regulation by steroid hormone. *Cell* 1989; 56:335-344.
96. Pelletier G, Liao N, Follea N, Govindan M. Mapping of estrogen receptor-producing cells in the rat brain by *in vitro* hybridization. *Neurosci Lett* 1988; 9:23-38.
97. Kuiper G, Enmark E, Peito-Huikko M, Nilsson S, Gustafsson J. Cloning of a novel receptor expressed in rat prostate and ovary. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93:5925-5930.
98. Klinge M. Estrogen receptor interactions with co-activators and co-repressors. *Steroids* 2000; 65:227-251.
99. Pfaff D, Keiner M. Atlas of estradiol-concentrating cells in the central nervous system of the female rat. *J Comp Neurol* 1973; 151:121-158.
100. Don Carlos L, McAbee M, Ramer-Quinn, D, Stancik D. Estrogen receptor mRNA levels in the preoptic area of neonatal rats are responsive to hormone manipulation. *Dev Brain Res* 1995; 84:253-260.
101. Zhou Y, Shughrue P, Dorsa D. Estrogen receptor protein is differentially regulated in the preoptic area of the brain and in the uterus during the rat estrous cycle. *Neuroendocrinology* 1995; 61:276-283.
102. Yokosuka M, Okamura H, Hayashi S. Postnatal development and sex difference in neurons containing estrogen receptor-alpha immunoreactivity in the preoptic brain, the diencephalon, and the amygdala in the rat. *J Comp Neurol* 1997; 389:81-93.
103. Beyer C, Wozniak A, Hutchinson J. Sex specific aromatization of testosterone in mouse hypothalamic neurons. *Neuroendocrinology* 1993; 58:673-681.
104. Karolczak M, Beyer C. Developmental sex differences in estrogen receptor -B-mRNA expression in the mouse hypothalamus/preoptic region. *Reprod Neuroendocrinol* 1998; 68:229-234.
105. Patrone C, Pollio G, Vegeto E, Enmark E, Curtis I, Gustafsson J, *et al.* Estradiol induced differential neuronal phenotypes by activating estrogen receptor α or β . *Endocrinology*. 2000; 141:1839-1845.
106. Gottardis M, Jordan V. Antitumor actions of keoxifene and tamoxifen in the N-nitrosomethylurea-induced rat mammary carcinoma model. *Cancer Res* 1987; 47:4020-4024.
107. Watanabe T, Inoue S, Ogawa S, Ishii Y, Hirio H, Ikeda K, *et al.* Agonistic effect of tamoxifen is dependant on cell type, ERE-promoter context, and estrogen receptor subtype: functional difference between estrogen receptors α and β . *Biochem Biophys Res Commun* 1997; 236:140-145.
108. Döhler K, Srivastava S, Shryne J, Jarzab B, Sipos A, Gorski R A. Differentiation of the sexually dimorphic nucleus in the preoptic area of the rat brain is inhibited by postnatal treatment with an estrogen antagonist. *Neuroendocrinology* 1984; 38:297-301.
109. Döhler K, Hines M, Coquelin A, Davis F, Shryne J, Sickmöler, P, *et al.* Pre and postnatal influence of an estrogen antagonist and an androgen antagonist on differentiation of the preoptic area in male and female rats. *Neuroendocrinology* 1986; 42:443-448.
110. Lawrence J, Raisman G. Ontogeny of synapses in a sexually dimorphic part of the preoptic area in the rat. *Brain Res* 1980; 183:466-471.
111. Williams R, Herrup K. The control of neuron number. *Annu Rev Neurosci* 1988; 11:423-453.
112. Garcia-Segura L, Chowen J, Parducz A, Naftolin F. Gonadal hormones as promoters of structural synaptic plasticity: cellular mechanisms. *Prog Neurobiol* 1994; 44:279-307.

113. Woolley C. Estrogen-mediated structural and functional synaptic plasticity in the female rat hippocampus. *Horm Behav* 1997 ; 34:140-148.
114. Altman J, Bayer S. Development of the diencephalons in the rat: II. Correlation of the embryonic development of the hypothalamus with the time or origin of its neurons. *J Comp Neurol* 1978; 182:973-994.
115. Bernstein P, Peltz S, Ross J. The poli A- binding protein complex is a mayor determination of mRNA stability *in vitro*. *Mol Cell Biol* 1989; 9:659-670.
116. Jacobson C, Gorski R. Neurogenesis of the sexually dimorphic nucleus of the medial preoptic area in the rat. *J Comp Neurol* 1981; 196:519-529.
117. Matsumoto A, Arai Y. Neuronal plasticity in the deafferented hypothalamic arcuate nucleus of adult female rats and its enhancement by treatment with estrogen. *J Comp Neurol* 1986; 197:197-205.
118. Nishizuka M, Sumida H, Kano Y, Arai Y. Formation of neurons in the sexually dimorphic anteroventral periventricular nucleus of the preoptic area of the rat: effects of prenatal treatment with testosterone propionate. *J Neuroendocrinol* 1993; 5:569-573.
119. Green P, Simpkins J. Neuroprotective effects of estrogens. Potential mechanisms of action. *Int. J Dev Neurosci* 2000; 18:347-358.
120. Garcia-Segura L, Azcoita I, Lidia L, DonCarlos L. Neuroprotection by estradiol. *Prog Neurobiol* 2001; 63:29-60.
121. Nielsen J, Mor G, Naftolin F. Estrogen-regulated developmental neuronal apoptosis is determined by estrogen receptor subtype and the Fas/Fas ligand system. *J Neurobiol* 2000; 43:64-78.
122. Temple J, Fugger H, Li X, Shetty S, Gustafsson J, Risman E. Estrogen receptor β regulates sexually dimorphic neural responses to estradiol. *Endocrinology* 2001; 142:510-513.
123. Mor G, Kohen F, García-Velasco J, Nilsen J, Brown W, Naftolin F. Regulation of Fas Ligand expression in breast cancer cells by estrogen: Functional differences between estradiol and tamoxifen. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2000; 73:185-194.
124. Gutierrez L, Eliza M, Niven-Fairchild T, Naftolin F, Mor G. The Fas-Fas-Ligand system: a mechanism for immune evasion in human breast carcinomas. *Breast Cancer Res Treat* 1999; 54:245-253.
125. Oppenheim R W. Cell death during development of the nervous system. *Annu Rev Neurosci* 1991; 14:453-501.
126. Mooney S, Miller M. Expression of bcl-2, bax y caspase 3 in the brain of the developing rat. *Dev Brain Res* 2000; 123:103-117.
127. Chia Y, Roth A, Flavell A, Rakic P. Mechanisms of programmed cell death in the developing brain. *Trends Neurosci* 2000; 23:291-297.
128. Davis E, Popper P, Gorski R. The role of apoptosis in sexual differentiation of the rat sexually dimorphic nucleus of the preoptic area. *Brain Res* 1996; 734:10-18.
129. Maki Y, Kazunari Y, Zenro K, Tadashi S, Mitsuhiro K. The distributions of apoptotic cells in the medial preoptic areas of male and female neonatal rats. *Neurosci Res* 2000; 36:1-7
130. Adrienne M, Ceccatelli S, Orrenius S. Role of mitochondria in neuronal apoptosis. *Deve Neurosci* 2000; 22:348-358.
131. McEwen B, Parsons B. Gonadal steroid action on the brain: neurochemistry and neuropharmacology. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1982; 22:555-598.
132. Döhler K. The pre and posnatal influence of hormones and neurotransmitters on sexual differentiation of the mammalian hypothalamus. *Int Rev Citol* 1991; 131:1-55.
133. Segovia S, Perez-Laso C, Guillamon A. Early posnatal diazepam exposure alters sex differences in the rat brain. *Brain Res Bull* 1991; 26:899-904.
134. De Vries G, Buijs R, Van Leeuwen F. Sex differences in vasopressin and others neurotransmitter systems in the brain. *Prog Brain Res* 1984; 61:185-203.
135. Avissar S, Sokolovsky M. Studies of muscarine receptors in mouse and rat hypothalamus: a comparison of sex and cyclical differences. *Neuroendocrinology* 1981; 32:295-302.
136. Orensanz L, Guillamón A, Ambrosio E, Segovia S, Aznara M. Sex differences in alpha-adrenergic receptors in the rat brain. *Neurosci Lett* 1982; 30:275-278.

