

Diferenciación sexual del cerebro

Genética vs. epigenética

Los cerebros de hembras y machos difieren en varios caracteres fundamentales que apuntan a un mismo fin: maximizar el éxito reproductivo. A lo largo de la evolución varias estrategias han surgido para diferenciar el cerebro en dos fenotipos distintos y mutuamente agradables.

A través de los siglos el hombre ha intentado explicar cómo se originan estas diferencias (para revisión ver¹). Demócrito (c 460-371 a. C.) decía que nacía un hombre o una mujer, dependiendo de la semilla que preponderaba, y luego Anaxágoras (c 500-c 428 a. C.), agregó que dependía del lado del testículo de donde provenía el semen (teoría de la lateralidad). Empédocles (c 492-432 a. C.) propuso la teoría termal, el sexo dependía de la temperatura en la que se gestaba el huevo, un útero caliente producía machos. Aristóteles (384-322 a. C.) lo confirma por observaciones en cabras y ovejas, que producían más machos con los vientos cálidos; y agrega que el alma le llega al hombre a los 30 días de concebido, mientras que a la mujer le llega a los 80 días. Santo Tomás de Aquino (c 1225-1274) toma esta afirmación y agrega que la mujer es una *masa occasionatus*, es decir un hombre que no ha llegado a su total destino. Platón (427-347 a. C.), llega a proponer que la primer generación humana consistía solo de hombres, y que los hombres cobardes o malos renacieron como mujeres en la próxima generación. De todas estas teorías, solamente la térmica fue confirmada para sapos, iguanas y tortugas.

La literatura sobre las diferencias macroscópicas del cerebro humano presenta una increíble mezcla de observaciones científicas y sesgos culturales. En 1854 Huschke “demuestra” que el lóbulo frontal es más grande en un 1% en los hombres (citado en^{2,3}). En 1867 se llega a la conclusión que del análisis de las estructuras de las circunvoluciones del cerebro se puede inferir la inferioridad de las mujeres, y se afirma que el cerebro de mujer es de tipo “fetal o de simio” (citado en²). Todas estas afirmaciones fueron luego refutadas por numerosos investigadores. Finalmente se determina que las diferencias sexuales macroscópicas del cerebro se limitan al mayor tamaño del cuerpo calloso⁴ y la menor lateralización del cerebro en las mujeres⁵.

Pasaron 2500 años antes de que se descubriera el papel del cromosoma Y en la masculinización de las gónadas (1959). Alrededor de 1900 se vislumbró que las hormonas estarían involucradas en la diferenciación sexual. Los embriones de ambos sexos se desarrollan en forma idéntica durante los primeros dos meses de gestación, y sólo a partir de ese momento el desarrollo anatómico y fisiológico se diferencia para resultar en la formación de los fenotipos femenino y masculino. Esta divergencia está codificada por el par de cromosomas sexuales, que en la hembra son XX y en el macho XY. El sexo cromosómico se establece en el momento de la concepción, y la presencia del cromosoma Y dirige el desarrollo de testículos y luego de las características secundarias masculinas. En ausencia de las secreciones de los testículos el embrión se desarrollará anatómicamente en forma femenina. Esto se conoce como la teoría de Jost, o del control endocrino de la diferenciación sexual de gonadas y otras estructuras⁶. El embrión indiferenciado es femenino por naturaleza, y solamente en presencia de hormonas testiculares se induce la conversión del embrión indiferenciado en un fenotipo masculino. O, como dicen algunos, el sexo femenino es el *default*. Es decir por que la teoría de Santo Tomás podría tener una interpretación moderna: la mujer sería una *masa occasionatus* en la que por la falta de la acción de los andrógenos no se llega al fenotipo varón (“un hombre que no llega a destino”).

Teoría hormonal de diferenciación sexual del cerebro

Los pasos que conducen a la masculinización de cuerpo y cerebro son asombrosamente consistentes en los mamíferos: el cromosoma Y contiene la región del gen SRY determinante sexual, que induce la transformación de las gónadas indiferenciadas en testículos. Estos secretan hormonas que masculinizan el resto del organismo. Si el gen SRY está ausente (como en las hembras que reciben un cromosoma X del padre) la gónada se desarrolla en ovario, y cuerpo y cerebro sin exposición a las hormonas testiculares toman una configuración femenina. El período de sensibilidad a las hormonas testiculares es acotado, y dichas hormonas en la adultez tendrán efectos menores en la configuración femenina⁷.

En los roedores, la teoría hormonal de diferenciación sexual del encéfalo es indiscutible. Los primeros experimentos demostraron que la exposición de cobayos hembra a testosterona *in utero* interfería en la tendencia de los animales a manifestar un comportamiento femenino. El tratamiento en la adultez tenía efectos mínimos y transitorios. Esto fue corroborado en conejos y ratas, llegándose a demostrar que la presencia de testosterona *in utero* o en el período neonatal masculinizaba el comportamiento sexual y la regulación de las gonadotropinas⁸.

Las ratas hembra y macho nacen con la capacidad latente de secretar gonadotropinas en forma cíclica, y la presencia de andrógenos durante el período neonatal diferenciará el control de estas secreciones, impidiendo la secreción cíclica en machos. Lo mismo sucede con el reflejo lordótico, y con la secreción de la hormona de crecimiento. La primera hipótesis proponía que el nivel de andrógenos presentes durante el período crítico perinatal masculinizaba el cerebro, y producía cambios organizativos en los comportamientos y perfiles anteriormente indicados. Esta hipótesis sufrió posteriores modificaciones: primero se determinó que el estrógeno era igualmente potente en diferenciar el cerebro, y se postuló que los efectos de los andrógenos se debían a su aromatización a estrógenos y, por lo tanto, actuando sobre receptores estrogénicos. Luego se determinó que el embrión no era hembra por *default* sino que necesitaba de cierto nivel de estrógenos para adquirir la capacidad de secretar gonadotropinas en forma cíclica. Finalmente se determinó que varias de las acciones masculinizantes de la testosterona eran por su acción sobre los receptores androgénicos y no solamente los estrogénicos.

Diferencias ultraestructurales en neuronas. Núcleos dimórficos sexuales

Este dimorfismo sexual funcional en el hipotálamo de la rata es acompañado por diferencias ultraestructurales en las neuronas. En especial se ha descrito la existencia de un núcleo dimórfico sexual del área preóptica que es notablemente mayor en la rata macho que en la hembra. La androgenización neonatal de una cría hembra produce el aumento del área de este núcleo y lo inverso ocurre con la castración neonatal del macho. Las diferencias estructurales se ven no sólo en el número de neuronas, sino en el tamaño nuclear y nucleolar, en la arborización dendrítica, la organización sináptica, y también a nivel molecular⁹.

La existencia de un núcleo dimórfico sexual en el hipotálamo originalmente descrita en aves y ratas, fue más tarde corroborada en otras especies como el gerbil y la codorniz, e incluso en ovejas y el humano (tercer núcleo intersticial en el hipotálamo anterior). Sin embargo, ha sido muy difícil homologar la localización y función de los núcleos dimórficos sexuales entre especies.

Posibles implicancias biológicas de la teoría hormonal

El período sensible para la organización "sexual" del hipotálamo por esteroides ocurre en la rata en el período neonatal; este período sería homólogo al tercer mes de gestación en el humano. Vimos que en

la rata hay una correlación entre los niveles de andrógenos/estrógenos durante la diferenciación encefálica y el comportamiento sexual en la vida adulta. Es interesante mencionar que el estrés reduce la secreción de testosterona. Se comprobó que si ratas preñadas eran sometidas a estrés por inmovilización tres veces por día a lo largo de la preñez, los machos tenían menos testosterona circulante en la etapa fetal y neonatal. Cuando estos animales eran adultos se observaba una clara disminución del comportamiento sexual masculino, y un aumento en la capacidad de producir una respuesta lordótica femenina. La hipótesis formulada era que la situación estresante durante la preñez producía un aumento en la secreción de glucocorticoides maternos. Estos pasaban a través de la placenta al feto y bloqueaban la secreción de testosterona por el testículo fetal.

En forma similar, se demostró que la testosterona de los fetos machos de ratas gestantes sometidas a la ingestión de alcohol durante la preñez era menor, y esto impedía la adecuada masculinización de estructuras dimórficas sexuales lo que se traducía en la adultez en una feminización del comportamiento, y una disminución en el área del núcleo dimórfico sexual del área preóptica del hipotálamo¹⁰.

Con estos resultados en roedores, se hizo un análisis retrospectivo de la cantidad de homosexuales que habían nacido en la Segunda Guerra Mundial, y los resultados indicaron que la incidencia era significativamente mayor en hombres nacidos entre 1944-45¹⁰. Se atribuía que el efecto estresante del momento histórico sobre las mujeres embarazadas en este período podría haber producido una disminución de testosterona fetal que no alcanzaría para masculinizar ciertas estructuras del hipotálamo.

Los que apoyaban una base orgánica para el desarrollo de ciertas conductas homosexuales probaron además que el tratamiento con estrógenos y progesterona en un grupo de homosexuales afeminados lograba producir la respuesta fásica de la hormona luteinizante, respuesta que no se observa normalmente en hombres¹¹.

Sin embargo, la mayoría de los resultados descritos en la literatura corresponden a ratas y ratones, y en el humano no se ha constatado en forma inequívoca el efecto masculinizante de la testosterona fetal sobre la organización encefálica del comportamiento sexual¹². Incluso se ha demostrado que ciertos marcadores de exposición prenatal a andrógenos, como la relación de la longitud del segundo y cuarto dedo (que es menor en varones que en mujeres), no está aumentada en varones homosexuales comparada con los heterosexuales, aunque sí está disminuida en mujeres homosexuales¹².

Recientemente ha surgido la teoría del "efecto del orden fraternal", que podría apoyar la teoría de la participación hormonal en la diferenciación sexual del encéfalo en humanos. Varios trabajos estadísticos demuestran que la homosexualidad en el hombre se correlaciona con el número de hermanos varones mayores del individuo; a mayor cantidad, mayor probabilidad de homosexualidad. No sucede lo mismo con hermanas mujeres, o hermanos varones menores, y tampoco sucede lo mismo en las mujeres homosexuales. Este efecto del orden fraternal podría reflejar una progresiva inmunización de algunas madres a antígenos ligados al cromosoma Y por cada feto macho, y concomitantemente a los efectos de anticuerpos anti proteínas codificadas por el cromosoma Y en la diferenciación sexual del cerebro¹³.

Estadísticas hechas en EE. UU., Canadá y el Reino Unido consideran que entre un 15 a 29%, según los estudios, de los hombres homosexuales pueden atribuir su homosexualidad al efecto del orden fraternal, esto sería una minoría pero validaría en cierto modo la teoría de *imprinting* del cerebro por parte de proteínas relacionadas al desarrollo gonadal.

¿Y los cromosomas sexuales?

Como describimos, las manipulaciones hormonales pueden revertir muchos de los dimorfismos sexuales del cerebro en animales, por lo que quedaría la impresión que el sexo genético de las células cerebrales es irrelevante a su fenotipo sexual. En otras palabras, que las células XX y XY (con la excepción

fundamental de los linajes de células germinales) son funcionalmente equivalentes, hasta que son diferenciadas por la acción de las hormonas gonadales. Este paradigma ha sido cuestionado¹⁴.

Las células XX y XY tienen un diferente complemento de genes, lo que podría determinar diferencias intrínsecas en las células, en forma independiente al entorno hormonal. Las células XY tienen genes asociados al cromosoma Y que están ausentes en las células XX. Sin embargo, en los mamíferos el cromosoma Y es pobre en genes (solamente 27 proteínas diferentes parecerían ser codificadas por el cromosoma Y humano) y, además, la expresión de varios de estos genes está limitada a un único tipo de células, las germinales masculinas. Más aún, la mayoría de los genes codificados por el cromosoma Y tienen un gen correspondiente en el cromosoma X, con similar secuencia codificante. Una segunda diferencia entre los XX y XY es que las células XX tienen una doble dosis de genes X, pero esta diferencia está mitigada por el silenciamiento transcripcional de un cromosoma X en cada célula no germinal XX. Sin embargo, la inactivación del X es incompleta, y en humanos por lo menos el 19% de los genes X escapan a la inactivación, y podrían estar constitutivamente más expresados en la mujer. Poco se sabe del efecto de las diferencias en el dosaje de X sobre el desarrollo del cerebro, y además, dado que las células XX pero no las XY reciben un cromosoma X del padre, un *imprinting* paternal de genes X podrían alterar la expresión de esos genes en una manera sexo específica¹⁵.

Se han buscado diferencias entre las células XX y XY independientes del entorno hormonal, que puedan interferir en la diferenciación sexual del cerebro. Tal diferencia es sugerida en la demostración que los embriones macho y hembra se desarrollan a distintas velocidades, aun en etapas anteriores al comienzo de la diferenciación gonadal. En los ratones por ejemplo, tanto los genes X como los Y contribuyen a esta diferencia sexual. Embriones XXY se desarrollaron más rápido que los XX, y los embriones XX se desarrollaron más lentamente que los mXO (X derivado de la madre)¹⁴.

En el cerebro también se observan diferencias sexuales prenatales relacionadas al sexo genético de las células. Por ejemplo, en cultivos sexo-específicos de células embrionarias del mesencéfalo o diencefalo, se desarrollan diferencias fenotípicas entre las células XY y las XX: las mesencefálicas y las diencefálicas desarrollan distinto número de receptores dopaminérgicos y neuronas con prolactina respectivamente. Esto ocurre antes de las diferencias sexuales en los andrógenos séricos¹⁴.

Cuando intentamos dilucidar la participación de los cromosomas sexuales en diferencias encontradas en adultos se complica la situación por la presencia de las secreciones gonadales. El experimento ideal sería exponer células XX y XY a un entorno de hormonas gonadales idéntico a lo largo del desarrollo, para poder afirmar que las diferencias observadas en fenotipo son atribuibles sólo a los genes sexuales.

Un ratón mutante sexualmente confundido

Un modelo interesante para estudiar el papel del complemento de cromosomas es el ratón transgénico espontáneo que tiene una delección de Sry (gen determinante del desarrollo gonadal masculino) en el cromosoma Y (Y-). Estos ratones XY- con un genoma macho (con la excepción de Sry) tienen ovarios (y por ende son hembras). Por inserción transgénica se agregó el gen Sry en un autosoma, produciendo machos XY- Sry. Cuando se cruzaban los machos XY-Sry con hembras XX, se producían cuatro tipos de descendencia: XX y XY- (hembras), y XXSry y XY-Sry (machos con testículos). Comparando el fenotipo XX y XY- se puede evaluar si el complemento de cromosomas sexuales influencia el fenotipo en un entorno hormonal femenino, mientras que comparando XXSry vs XY-Sry se puede comparar los fenotipos en un entorno masculino.

Se evaluaron varios fenotipos del cerebro dimórfico sexual y de comportamiento, usando estos cuatro genotipos para determinar si las diferencias sexuales son en parte causadas por las diferencias de

complemento de genes de los cromosomas sexuales. Se determinó que, en general, los ratones con testículos (XXSry o XY-Sry) son más masculinos que los ratones con ovarios (XX o XY-) lo que avalaría la teoría gonadal hormonal. Sin embargo, algunas diferencias sexuales en el cerebro se relacionaban al complemento de cromosomas sexuales y no a la presencia de gónada. Por ejemplo, la densidad de innervación vasopresinérgica en el septum lateral y el contenido de neuronas dopaminérgicas en cultivos eran distintos en células provenientes de animales XY con respecto a los XX¹⁶.

Estos resultados demostraron que el complemento de cromosomas sexuales marca una diferencia en el fenotipo del cerebro, pero no resuelven aún cuáles genes son los importantes. Sin embargo, los testículos de ratones XX-Sry no son totalmente normales, por ejemplo no producen esperma, por lo que es posible que no produzcan niveles normales de testosterona en los períodos sensibles para las diversas regiones cerebrales, lo que causaría una masculinización incompleta. Es técnicamente difícil medir los niveles de testosterona fetal en estos animales para descartar este sesgo. Lo ideal para demostrar que los genes sexuales afectan la diferenciación sexual neural en forma independiente de las gónadas, sería comparar los cerebros de ratones XX e XY en los cuales se impide genéticamente el desarrollo de gónadas.

El pájaro de dos sexos nos enseña

Otro modelo utilizado para dilucidar el problema fue el pájaro pinzón. En esta especie el macho es homogamético (ZZ) y la hembra heterogamética (ZW). Dentro de estas colonias surgen ejemplares mutantes espontáneos que tienen ambos sexos: el pinzón lateral ginandromórfico. Este tiene plumaje macho y un testículo en el lado derecho, y plumaje femenino y ovario en el izquierdo. El DNA genómico mostró que los genes W estaban presentes predominantemente en el lado izquierdo de cerebro y cuerpo, y la expresión de genes asociados a Z era superior en el lado derecho. En este modelo, dos cerebros genéticamente distintos se desarrollan en el mismo ambiente gonadal. Si las hormonas gonadales fueran la única causa de diferenciación sexual, entonces ambos lados del cerebro deberían tener un fenotipo sexual equivalente. Sí, por otro lado, el complemento de cromosomas sexuales participara en la diferenciación sexual, el lado derecho debería ser más masculino que el izquierdo. Las medidas de las regiones que controlan el canto, que son dimórficas sexuales, de hecho apoyaron ambas hipótesis. Dichas regiones eran más grandes en el lado derecho (diferencia atribuible al sexo genético de las células cerebrales). Pero además el sistema del canto del lado izquierdo del cerebro era más masculino que aquel de la hembra normal, sugiriendo que factores hormonales causarían una parcial masculinización de la mitad hembra del cerebro¹⁷.

En los humanos, las oportunidades de detectar el efecto de los cromosomas sexuales en el desarrollo del cerebro se limitan a estudios de personas con deleciones espontáneas, translocaciones o duplicaciones de genes cromosomas sexuales (XO, XXY o XYY). Sin embargo, la constitución genética anómala generalmente influye la secreción gonadal, lo que confunde las interpretaciones. La indicación general parece ser que el papel de los cromosomas sexuales es menor en relación al principal factor masculinizante de la testosterona, pero que, sin embargo, debería ser tomada en consideración.

Epílogo

Es probable que los mecanismos hormonales y genéticos que influyen el desarrollo del dimorfismo sexual en el cerebro de aves y mamíferos estén entrelazados y sean interdependientes, siendo el panorama aún más complejo en humanos, en los que se agrega el aprendizaje, la experiencia y el inconsciente. En los modelos animales las diferencias sexuales del cerebro pueden contribuir a mejorar la eficiencia sexual reproductiva. Alternativa es la hipótesis que propone que la especie debe sobrellevar

y compensar las diferencias de los genomas de XX y XY en células no germinales; dichas diferencias no son más que un producto del compromiso de la especie a cromosomas sexuales heteromórficos. La evolución ha favorecido mecanismos que reducen las diferencias entre células XX y XY en aquellas funciones no relacionadas a la reproducción¹⁸. En este escenario sería importante considerar que las diferencias sexuales a nivel molecular o celular causadas tanto por la expresión de los cromosomas sexuales como por acción de las hormonas pueden no solo generar sino también prevenir diferencias sexuales en distintas funciones y comportamientos. Es la teoría de la compensación.

Finalmente, considerando que la vulnerabilidad a ciertos desórdenes mentales muestra una incidencia distinta entre los sexos¹⁵, es un desafío determinar el papel relativo de las hormonas gonadales y el complemento de genes de los cromosomas sexuales en estos desórdenes⁸.

Damasia Becú de Villalobos

Instituto de Biología y Medicina Experimental-CONICET

Buenos Aires

e-mail: dbecu@dna.uba.ar

1. Swaab DF, Hofman MA. Sexual differentiation of the human brain. A historical perspective. *Prog Brain Res* 1984; 61: 361-74.
2. Mall FP. On several anatomical characters of the human brain, said to vary according to race and sex, with special reference to the weight of the frontal lobe. *Am J Anat* 1909; 9: 1-32.
3. Console GM, Gomez Dumm CL, Brown OA, Ferese C and Goya RG. Sexual dimorphism in the age changes of the pituitary lactotrophs in rats. *Mech Ageing Dev* 1997; 95: 157-66.
4. DeLacoste-Utamsing C, Holloway RL. Sexual dimorphism in the human corpus callosum. *Science* 1982; 216: 1431-2.
5. Wada JA, Clarke R, Hamm A. Cerebral hemispheric asymmetry in humans. Cortical speech zones in 100 adults and 100 infant brains. *Arch Neurol* 1975; 32: 239-46.
6. Jost A. Hormonal factors in the sex differentiation of the mammalian foetus. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1970; 259: 119-30.
7. Barraclough CA. Modifications in reproductive function after exposure to hormones during the prenatal and early postnatal period. In: edited by Martini L Ganong WF, Neuroendocrinology (eds). New York: Academic Press, 1967; p 61-99.
8. Becu-Villalobos D, Gonzalez Iglesias A, Diaz-Torga GS and Libertun C. Sexual differentiation and gonadotropins secretion in the rat. *Cell Mol Neurobiol* 1997; 17: 699-715.
9. Lacau-Mengido IM, Gonzalez Iglesias A, Lux-Lantos V, Libertun C and Becu-Villalobos D. Ontogenic and sexual differences in pituitary GnRH receptors and intracellular Ca²⁺ mobilization induced by GnRH. *Endocrine* 1998; 8: 177-83.
10. Dorner G. Sexual differentiation of the brain. *Vit Horm* 1981; 38: 325-81.
11. Dorner G, Docke F, Gotz F, Rohde W, Stahl F, Tonjes R. Sexual differentiation of gonadotrophin secretion, sexual orientation and gender role behavior. *J Steroid Biochem* 1987; 27: 1081-7.
12. Rahman Q. The neurodevelopment of human sexual orientation. *Neurosci Biobehav Rev* 2005; 29: 1057-66.
13. Blanchard R. Quantitative and theoretical analyses of the relation between older brothers and homosexuality in men. *J Theor Biol* 2004; 230: 173-87.
14. Arnold AP, Xu J, Grisham W, Chen X, Kim YH and Itoh Y. Minireview: Sex chromosomes and brain sexual differentiation. *Endocrinology* 2004; 145: 1057-62.
15. Davies W, Wilkinson LS. It is not all hormones: alternative explanations for sexual differentiation of the brain. *Brain Res* 2006; 1126: 36-45.
16. De Vries GJ, Rissman EF, Simerly RB, et al. A model system for study of sex chromosome effects on sexually dimorphic neural and behavioral traits. *J Neurosci* 2002; 22: 9005-14.
17. Wade J, Arnold AP. Functional testicular tissue does not masculinize development of the zebra finch song system. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 5264-8.
18. De Vries GJ. Minireview: Sex differences in adult and developing brains: compensation, compensation, compensation. *Endocrinology* 2004; 145: 1063-8.