

# Znanost bez spolne pristranosti: zašto trebamo mužjake i ženke

## *Science Without Gender Bias: Why We Need Both Males and Females*

D. Hunjadi, <sup>1\*</sup>M. Mandić<sup>2</sup>, M. Pavić Vulinović<sup>2</sup>



Slika autorice: Doroteja Hunjadi

### Sažetak

Spolne razlike i dimorfizam u anatomsko-histološkoj i fiziološkoj osnovi danas su važni istraživački izazov u znanstvenoj zajednici. Unatoč dobro poznatim razlikama među spolovima, mužjaci su dugo vremena bili dominantno zastupljeni u istraživanjima, ponajprije zbog manjih hormonskih oscilacija u usporedbi sa ženkama. Zbog postojana hormonskog ciklusa, istraživanja na ženkama trebala bi se provoditi u svim fazama ciklusa, što zahtijeva dodatno vrijeme i povećava financijske troškove. U ženki se ciklično izmjenjuju folikularna i lutealna faza spolnog ciklusa, koje su regulirane složenim interakcijama gonadotropnih i steroidnih hormona gonada. Nasuprot tome, spolni ciklus mužjaka biološki je jednostavniji, pri čemu dominira proces spermatogeneze reguliran gonadotropnim hormonima. Upravo je to jedan od glavnih razloga povijesne pristranosti prema muškom spolu u istraživanjima u području biomedicine. Danas je poznato da samo uključivanje obaju spolova u istraživanja nije dovoljno, već je nužno sustavno istraživati mehanizme nastanka i funkcionalne posljedice spolnih razlika u različitim područjima biomedicinskih istraživanja. U području toksikologije, imunologije, mikrobiologije i onkologije zabilježene su razlike između spolova u metabolizmu ksenobiotika, jačini imunskog odgovora, osjetljivosti na infekcije i odgovoru na antitumorske terapije. Istraživanja iz područja neuroznanosti dodatno upućuju na spolno uvjetovane razlike u aktivaciji centara uključenih u regulaciju ponašanja, emocija, pamćenja i odgovora na stres. Sve to upućuje na nužnost sustavnog uključivanja jedinki obaju spolova u znanstvena istraživanja. Takav je pristup ključan preduvjet za cjelovitije razumijevanje biologije životinjskih organizama, patoloških procesa koji ih zahvaćaju i uloge spolnog dimorfizma u oblikovanju dizajna i provedbi istraživanja, kao i u tumačenju dobivenih rezultata.

**Ključne riječi:** spolni dimorfizam, hormonalni ciklus, biomedicinska istraživanja, životinjski modeli

### Uvod

U suvremenoj znanosti sve je više dokaza o relevantnim razlikama između spolova, što privlači znatnu pozornost znanstvene zajednice. S biološkoga gledišta, između spolova postoje izražene razlike koje obuhvaćaju fiziološke i anatomske značajke, koje se na molekularnoj razini očituju kao razlike u genetskim i epigenetskim markerima. (FLANAGAN i

sur., 2014.; LEE i sur., 2018.; ARNOLD i sur., 2024.). U istraživanjima koja nisu primarno bila usmjerena na proučavanje reproduktivnog sustava, oba su spola često promatrana kao biološki ekvivalentna. Pritom su ženke, zbog hormonskih oscilacija, bile nedovoljno zastupljene, dok su mužjaci postupno postali standardni istraživački model (FLANAGAN i sur., 2014; CLOT, 2024.). U znanstvenoj literaturi također se opisuje spolni dimorfizam u veličini i fiziološkim značajkama. Stupanj spolnog dimorfizma

<sup>1</sup>Doroteja Hunjadi<sup>1\*</sup>, Mirna Mandić<sup>2</sup>, Mirela Pavić Vulinović<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, studentica, <sup>2</sup>Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Zavod za anatomiju, histologiju i embriologiju  
\*dopisni autor, dhunjadi@vef.hr

varira među vrstama i populacijama, a te se varijacije temelje na genetskim čimbenicima i djelovanju prirodne selekcije (STILLWELL i sur., 2010.). U sisavaca je spolni dimorfizam prisutan u većine vrsta, uključujući i čovjeka, a slične su razlike opisane i u brojnih vrsta ptica, gmazova, vodozemaca, riba i kukaca (CLOT, 2024.). S genetičkog stajališta, ženke proizvode manji broj većih gameta, dok mušjaci proizvode veći broj manjih gameta, što se u stručnoj literaturi opisuje pojmom anizogamije. Upravo se ta genetička značajka smatra ključnim evolucijskim čimbenikom u razvoju anatomskih i fizioloških prilagodbi specifičnih za pojedini spol (KAPPELER i sur., 2023.). S obzirom na širinu i složenost problematike, u ovom preglednom radu prikazat će se odabrani primjeri istraživanja spolnih razlika, ali i utjecaja spola na rezultate istraživanja te njihovu interpretaciju, s ciljem ilustriranja ključnih nalaza i istraživačkih pristupa, a ne iscrpnog obuhvata cjelokupnog područja.

### Anatomsko-histološke i fiziološke spolne razlike u životinja

Muški spolni sustav sastoji se od glavnih i akcesornih organa uključenih u stvaranje, pohranu i transport muških spolnih stanica, spermija. Glavni organi muškog spolnog sustava jesu sjemenici (lat. *testis*), nuzsjemenici (lat. *epididimis*), sjemenovodi (lat. *ductus deferens*) i mokraćnica (lat. *urethra masculina*) koja je ujedno sastavni dio kopulacijskog organa (lat. *penis*) (ČERVENY i sur., 2009.). Histološki gledano, stvaranje i sazrijevanje muških spolnih stanica, odnosno spermatogeneza, zbiva se u sjemenicima kao kontinuirani proces koji završava stvaranjem zrelog spermija. Glavnu ulogu u tom procesu imaju potporne stanice sjemenika. Osim spermatogeneze, sjemenici imaju važnu endokrinu ulogu u sintezi testosterona (KOZARIĆ, 1997.).

Ženski spolni sustav sastoji se od jajnika (lat. *ovarium*), jajovoda (lat. *tuba uterina*), maternice (lat. *uterus*), rodnice (lat. *vagina*), mokraćnice (lat. *urethra feminina*) i stidnice (lat. *vulva*) (KÖNIG i LIEBICH, 2009.). Jajnici imaju egzokrinu i endokrinu funkciju. Egzokrina uloga jajnika odnosi se na stvaranje i izlučivanje jajnih stanica, dok endokrina funkcija obuhvaća proizvodnju estrogena i progesterona. Proces formiranja i sazrijevanja jajnih stanica naziva se oogeneza, a završava oslobađanjem zrele jajne

stanice u procesu ovulacije (KOZARIĆ, 1997.). Jajnu stanicu prihvaćaju parni jajovodi koji ih prenose do maternice, gdje se oplođene jajne stanice mogu implantirati i razvijati (KÖNIG i LIEBICH, 2009.).

Razmnožavanje je složen biološki proces koji se regulira koordiniranim djelovanjem središnjega živčanog sustava, hipotalamusa, hipofize i gonada, uz utjecaj drugih čimbenika iz unutarnjega i vanjskog okruženja. U oba je spola glavni pokretač spolno-hormonske kaskade hipotalamus, koji iz neuroendokrinih stanica luči hormon za oslobađanje gonadotropina (GnRH). Hormon za oslobađanje gonadotropina zatim se prenosi do prednjeg režnja hipofize, gdje stimulira dva gonadotropna hormona, foliklostimulacijskog hormona (FSH) i luteinizacijskog hormona (LH). Gonadotropni hormoni potom stimuliraju gonade na proizvodnju spolno-specifičnih steroidnih hormona. Foliklostimulacijski hormon, u suradnji sa steroidnim hormonima gonada, sudjeluje u gametogenezi, dok uloga LH ovisi o spolu jedinke. U mužjaka potiče proizvodnju testosterona, dok je njegov utjecaj na jajnike složeniji. Gonadotropni hormoni u znatnoj mjeri reguliraju cikličnu aktivnost jajnika, koja uključuje folikularno i lutealno razdoblje. Tijekom folikularnog razdoblja LH stimulira proizvodnju testosterona iz specifičnih stanica jajnih folikula, koji se zatim pod utjecajem FSH pretvara u estrogen. Razine estrogena na kraju folikularnog razdoblja naglo se povećavaju, izazivajući pozitivnu povratnu spregu koja inducira preovulacijski val LH i potiče ovulaciju. Nakon ovulacije ostaci folikula tvore privremenu endokrinu strukturu, žuto tijelo, koje proizvodi progesteron. Povećane koncentracije progesterona uzrokuju promjene u maternici nužne za prihvaćanje embrija. U slučaju da ne dođe do oplodnje, započinje luteoliza, odnosno apoptoza stanica žutog tijela, nakon čega na njegovu mjestu nastaje ožiljak (GUYTON, 1986.a; GUYTON, 1986.b; SJAASTAD i sur., 2017.).

### Spol kao varijabla u istraživanjima

Prema istraživanju ZUCKER i sur. (2022.), ženke su dugo vremena bile zanemarivane u istraživanjima zbog pretpostavki da će rezultati biti varijabilniji zbog kompleksnoga spolnog ciklusa. Spolni ciklus ženki razlikuje se od ciklusa mužjaka i obuhvaća više uzastopnih faza. Prema WALD i WU (2010) te ZUCKER i sur. (2022) istraživanja na ženkama tre-

bala bi se provoditi tijekom svih faza ciklusa, što dodatno povećava vremenske zahtjeve, opseg potrebnog rada i financijske troškove provedbe istraživanja. Unatoč tome, stvaran opseg spolnih razlika u biologiji još uvijek nije u potpunosti poznat (ZUCKER i sur., 2022.). Za poboljšanje pretkliničkih i kliničkih istraživanja nije dovoljno samo uključiti ženke nego je nužno i sustavno ispitati postoje li značajne razlike između spolova i razlikuju li se rezultati istraživanja ovisno o spolu (BECKER i sur., 2005.; BELTZ i sur., 2019.; BUCH i sur., 2019.; ZUCKER i sur., 2022.). Navedena problematika obuhvaća širok spektar područja biomedicine, uključujući genetiku i epigenetiku, fiziologiju i patologiju, toksikologiju, imunologiju, mikrobiologiju, onkologiju i neuroznanost (CLOT, 2024.).

### Genetička i epigenetička istraživanja

Određivanje spola pokreće jedan ili dva ključna regulacijska gena koji iniciraju kaskadu genetskih i hormonskih procesa (BACHTROG i sur., 2014.; RENNERT i MULLER, 2021.; PRENTOUT i sur., 2025.). Ti geni aktiviraju transkripcijske čimbenike koji, zajedno s hormonima, reguliraju izražaj više gena čija se aktivnost razlikuje između mužjaka i ženki (engl. *sex-biased genes*, SBGs). Izražaj SBG-a može varirati između pojedinih tkiva i stadija embrionalnog razvoja (MAYNE i sur., 2016.; ZEMP i sur., 2016.; NAQVI i sur., 2019.; PRENTOUT i sur., 2025.). Zbog toga se u nekim istraživanjima spolovi često promatraju kao dvije odvojene „vrste“. Ipak, u ovom radu nastojimo prikazati sustavni pregled ključnih istraživanja koja ilustriraju spolne razlike na genetičkoj i epigenetičkoj razini, te prikazati njihove implikacije i ograničenja. RICHARDSON (2010.) predlaže novu perspektivu prema kojoj se spolovi trebaju promatrati unutar koncepta „dijadne vrste“, odnosno kao međusobno povezane cjeline. Takav pristup može smanjiti tendenciju shvaćanja spolova kao potpuno zasebnih, binarnih klasa u biomedicinskim istraživanjima i omogućuje kritičku analizu postojećih nalaza u genetici i epigenetici.

### Istraživanja u području fiziologije i patofiziologije

Spolne razlike prisutne su u mnogim aspektima fiziologije, a posljedično i u patofiziologiji, no mehanizmi njihove regulacije još uvijek nisu u potpunosti

razjašnjeni. Dugo se smatralo da na ove razlike utječu ponajprije čimbenici okoliša i hormoni (CLOT, 2024.). Jedna od istaknutih razlika jest dugovječnost ženki u odnosu na mužjake (AUSTAD i FISCHER, 2016.; GOODWIN i HOWLETT, 2018.). Prema CHENG i NELSON (2018.), ženke imaju veću stopu preživljavanja zahvaljujući još neotkrivenim fiziološkim značajkama koje ih štite od mnogih uzork smrti. Još je uvijek nedovoljno istraženo i pitanje fizioloških promjena u ženki tijekom gravidnosti (GALEA i sur., 2018.). Naglašava se da spolno-specifične fiziološke značajke ženki moraju biti sustavno uzete u obzir u istraživanjima kako bi se poboljšalo razumijevanje njihove fiziologije i patofiziologije (GALEA i sur., 2018.; GOODWIN i HOWLETT, 2018.).

### Istraživanja u području toksikologije

Većina se toksikoloških istraživanja fokusira na toksikokinetičke procese, uključujući apsorpciju, distribuciju, metabolizam i eliminaciju, pri čemu je većina istraživanja provedena na ljudima (GOCHFELD, 2017.). Istraživanja pokazuju da aktivnost enzima citokrom P450 i drugih enzima koji sudjeluju u biotransformaciji i olakšavaju uklanjanje tvari iz organizma, imaju jasnu razliku u aktivnosti između spolova (WOLBOLD i sur., 2003.; SCANDLYN i sur., 2008.; SOLDIN i MATTISON, 2009.; WAXMAN i HOLLOWAY, 2009.; SOLDIN i sur., 2011.; YANG i LI, 2012.; BOŽIČEVIĆ i sur., 2025.). Uklanjanje nepotrebnih i štetnih tvari iz organizma moguće je putem urina, fecesa, znoja ili preko pluća. Istraživanja upućuju da spol znatno utječe na renalnu eliminaciju koja je u ženki sporija nego u mužjaka, s posljedičnom dugotrajnijom retencijom ksenobiotika u organizmu (CHENG i KLAASEN, 2009.; TREVISAN i sur., 2012.; KWEKEL i sur., 2013.; JOSEPH i sur., 2015.; BOŽIČEVIĆ i sur., 2025.). U toksikologiji spol može znatno utjecati na odgovor organizma na izloženost ksenobiotičima, uključujući njihove toksikokinetičke i toksikodinamičke procese, što u konačnici oblikuje ishod intoksikacije (GOCHFELD, 2017.).

### Istraživanja u području mikrobiologije i imunologije

Spolne razlike utječu i na patogenezu raznih bolesti, uključujući i one uzrokovane mikrobnim infekcijama. Novija istraživanja sve češće upućuju na razlike u dijagnozi, kliničkoj slici i patogenezi infek-

cija mikrobnim patogenima (POTLURI i sur., 2017.). Osim razlika u patogenezi i kliničkoj slici bolesti, postoje i znatne spolno-specifične razlike u imunskom odgovoru. Imunosni sustav ženki tipično razvija snažniji stanično posredovan i humoralni odgovor u usporedbi s mužjacima, što može utjecati na učinkovitost cjepiva, smanjenje količine patogena, ali i na predispoziciju za autoimunosne i upalne bolesti (KLEIN i FLANAGAN, 2016.; POTLURI i sur., 2017.).

### Istraživanja u području onkologije

Sve opisane spolne razlike očituju se i u području onkologije (SECHZER i sur., 1994.; LEE i sur., 2018.). U onkološkim istraživanjima pristranost prema spolovima ovisi o specifičnom problemu koji se istražuje. Primjerice, ženke se češće upotrebljavaju u istraživanjima antitumorskih lijekova zbog dokaza da pokazuju izraženiji poslijeterapijski odgovor (ADAMS i sur., 2015.; LEE i sur., 2018.), dok se mužjaci češće upotrebljavaju u istraživanjima hepatocelularnih karcinoma zbog veće prevalencije u odnosu na ženke (WANG i sur., 2015.; LEE i sur., 2018.). Unatoč tome, broj pretkliničkih istraživanja koja interpretiraju svoje rezultate ovisno o istraživanom spolu ili o omjeru spolova u uzorku i dalje je nizak. LEE i sur. (2018.) ističu da je taj propust znatan problem u onkološkim istraživanjima jer otežava interpretaciju rezultata i primjenjivost nalaza na oba spola.

### Istraživanja u području neuroznanosti i ponašanja

Povijesno gledano, u istraživanjima iz neuroznanosti uglavnom su upotrebljavani mužjaci (WILL i sur., 2017.). Iako neuroznanost nije jedino biomedicinsko područje obilježeno spolnom pristranošću, upravo istraživanja povezana s ponašanjem pokazuju jednu od izraženijih razina takve pristranosti (BEERY i ZUCKER, 2011.; WILL i sur., 2017.). DERNTL i sur. (2024.) ističu da životinjski modeli imaju ključnu ulogu u proučavanju utjecaja spola na moždanu funkciju i ponašanje. Istraživanja pokazuju da spolno specifični obrasci aktivacije hipotalamičkih neuronskih krugova različito utječu na ponašanje ženki i mužjaka miševa (YANG i sur., 2013.; DERNTL i sur., 2024.). Takvi nalazi otvaraju mogućnosti za detaljnije istraživanje moždanih mehanizama u podlozi spolnih razlika u ponašanju.

U tom su kontekstu istraživanja moždanih procesa ovisnih o spolu često usmjerena na funkcije poput regulacije hranjenja, pamćenja, emocija i odgovora na stres, s obzirom na jasne spolne razlike u prevalenciji, simptomatologiji, težini i kliničkom tijeku poremećaja povezanih s tim procesima (DERNTL i sur., 2024.). Primjer spolno specifičnih razlika u moždanim funkcijama jest uvjetovanje straha, pri čemu mužjaci češće pokazuju ukočenost, dok su ženke sklonije aktivnim reakcijama (DERNTL i sur., 2024.). Nadalje, aktivnost određenih neuronskih populacija povezana je i s reproduktivnim i roditeljskim ponašanjem. Ti neuroni pripadaju strukturama koje uključuju motorne neurone kralježnične moždine te neurone prednjeg i medijalnog hipotalamusa. Anatomski gledano, te strukture pokazuju spolni dimorfizam, što se objašnjava trofičkom regulacijom preživljavanja i smrti stanica u perifernim organima koje ti neuroni inerviraju ili reguliraju (PURVES i sur., 2016.).

### Zaključak

Biološke razlike između mužjaka i ženki važan su čimbenik koji može znatno utjecati na rezultate znanstvenih istraživanja. Povijesna sklonost upotrebi mužjaka kao standardnog modela često je bila motivirana praktičnim razlozima, poput manje hormonske varijabilnosti i jednostavnije eksperimentalne organizacije. Međutim, takav pristup ograničava cjelovito razumijevanje bioloških procesa i može dovesti do nepotpunih ili pristranih zaključaka.

Suvremeni znanstveni pristupi sve više naglašavaju potrebu sustavnog uključivanja obaju spolova u istraživanja kako bi se bolje razumjele razlike u fiziologiji, metabolizmu, razvoju bolesti i odgovoru na terapiju. Kritički gledano, iako uključivanje ženki povećava metodološku složenost, trajanje i troškove istraživanja, izostavljanje spolne dimenzije dugoročno može smanjiti znanstvenu vrijednost i primjenjivost dobivenih rezultata. Stoga se uravnoteženo uključivanje obaju spolova, uz analizu spolno specifičnih mehanizama, smatra nužnim korakom prema pouzdanijim i primjenjivijim spoznajama u biološkim i biomedicinskim znanostima.

## Literatura

- ADAMS, G. N., L. ROSENFELDT, M. FREDERICK, W. MILLER, D. WALTZ, K. KOMBRINCK (2015): Colon cancer growth and dissemination relies upon thrombin, stromal PAR-1, and fibrinogen. *Cancer Res.* 75, 4235-4243.
- ARNOLD, A. P., S. L. KLEIN, M. M. MCCARTHY, J. S. MOGIL (2024): Male-female comparisons are powerful in biomedical research. *Nature* 629, 37-40.
- AUSTAD, S. N., K. E. FISCHER (2016): Sex differences in lifespan. *Cell Metab.* 23, 1022-1033.
- BACHTROG, D., J. E. MANK, C. L. PEICHEL, M. KIRKPATRICK, S. P. OTTO, T-L. ASHMAN, M. W. HAHN, J. KITANO, I. MAYROSE, R. MING, N. PERRIN, L. ROSS, N. VALENZUELA, J. C. VAMOSI (2014): Sex Determination: Why So Many Ways of Doing It?. *PLoS Biol.* 12, e1001899.
- BECKER, J. B., A. P. ARNOLD, K. J. BERKLEY, J. D. BLAUSTEIN, L. A. ECKEL, E. HAMPSON, J. P. HERMAN, S. MARTS, W. SADEE, M. STEINER (2005): Strategies and methods for research on sex differences in brain and behavior. *Endocrinology* 146, 1650-1673.
- BEERY, A. K., I. ZUCKER (2011): Sex bias in neuroscience and biomedical research. *Neurosci. Biobehav. Rev.* 35, 565-572.
- BELTZ, A. M., A. K. BEERY, J. B. BECKER (2019): Analysis of sex differences in pre-clinical and clinical data sets. *Neuropsychopharmacol.* 44, 2155-2158.
- BOŽIČEVIĆ, L., K. JAGIELLO, A. SOSNOWSKA, M. STEPNIK, M. DUSINSKA, I. LYNCH, N. PERANIĆ, I. CAPIJAK, V. FESSARD, M. R. CIMPAN (2025): Sex and Gender Dimensions in Hazard and Risk Assessment of Engineered Nanomaterials. *WIREs Nanomedicine and Nanobiotechnology.* 17, e70034.
- BUCH, T., K. MOOS, F. M. FERREIRA, H. FRÖHLICH, C. GEBHARD, A. TRESCH (2019): Benefits of a factorial design focusing on inclusion of female and male animals in one experiment. *J. Mol. Med.* 97, 871-877.
- CHENG, C. C., J. NELSON (2018): Physiological basis for sex-specific differences in longevity. *Curr. Opin. Physiol.* 6, 57-64.
- CHENG, X., C. D. KLAASSEN (2009): Tissue Distribution, Ontogeny, and Hormonal Regulation of Xenobiotic Transporters in Mouse Kidneys. *Drug Metab. Dispos.* 37, 2178-2185.
- CLOT, C. (2024): Role of the biological sex in physiology and pathology. *Disertacija, Université Côte d'Azur, Nica, Francuska.*
- ČERVENY, C., H. E. KÖNIG, H-G. LIEBICH (2009): Muški spolni organi (organa genitalia masculina). U: *Anatomija domaćih životinja.* 1. izd. (Zobundžija, M., K. Babić, V. G. Kantura, Ur.), Naklada Slap, Zagreb, str. 417-434.
- DERNTL, B., S. R. HAGE, M. HALLSCHMID (2024): Making Sense of Sex in Neuroscience. *Biol. Psychiatry Glob. Open Sci.* 4, e100292.
- FLANAGAN, K. L. (2014): Sexual dimorphism in biomedical research: a call to analyse by sex. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 108, 385-387.
- GALEA, L. A. M., W. QIU, P. DUARTE-GUTERMAN (2018): Beyond Sex Differences: Short and Long-Term Implications of Motherhood on Women's Health. *Curr. Opin. Physiol.* 6, 82-88.
- GOCHFELD, M. (2017): Sex Differences in Human and Animal Toxicology: Toxicokinetics. *Toxicol. Pathol.* 45, 172-189.
- GOODWIN, S. F., S. E. HOWLETT (2018): Editorial overview: Daylighting Sex Differences in Physiology. *Curr. Opinion in Physiol.* 6, 3-5.
- GUYTON, A. C. (1986a): Rasplodne i hormonske funkcije mužjaka. U: *Medicinska fiziologija.* (Pokrajac, N., M. Boranić, V. Fišter, F. Čulo, Ur.), Medicinska knjiga, Beograd-Zagreb, str. 1360-1378.
- GUYTON, A. C. (1986b): Fiziologija žene prije trudnoće i ženski spolni hormoni. U: *Medicinska fiziologija.* (Pokrajac, N., M. Boranić, V. Fišter, F. Čulo, Ur.), Medicinska knjiga, Beograd-Zagreb, str. 1380-1400.
- JOSEPH, S., T. J. NICOLSON, G. HAMMONS, B. WORD, B. GREEN-KNOX, B. LYN-COOK (2015): Expression of Drug Transporters in Human Kidney: Impact of Sex, Age, and Ethnicity. *Biol. Sex Differ.* 6, 1-15.
- KAPPELAR, P. M., S. BENHAIEM, C. FICHEL, L. FROMHAGE, O. P. HÖNER, M. D. JENNIONS, S. KAISER, O. KRÜGER, J. M. SCHNEIDER, C. TUNI, J. VAN SCHAİK, W. GOYMANN (2023): Sex roles and sex ratios in animals. *Biol. Res.* 98, 462-480.
- KOZARIĆ, Z. (1997): Spolni sustav. U: *Veterinarska histologija.* (Kozarić, Z., Ur.), Naklada Karolina, Zagreb, str. 195-210.
- KÖNIG, H. E., H-G. LIEBICH (2009): Ženski spolni organi (organa genitalia feminina). U: *Anatomija domaćih životinja.* 1. izd. (Zobundžija, M., K. Babić, V. G. Kantura, Ur.), Naklada Slap, Zagreb, str. 435-452.
- KLEIN, S. L., K. L. FLANAGAN (2016): Sex differences in immune responses. *Nat. Rev. Immunol.* 16, 626-638.
- KWEKEL, J. C., V. G. DESAI, C. L. MOLAND, V. VIJAY, J. C. FUSCOE (2013): Sex Differences in Kidney Gene Expression During the Life Cycle of F344 Rats. *Biol. Sex Differ.* 4, 14.
- LEE, S., W. J. KIM, Y. JEON, C. H. LIM, K. SUN (2018): Specification of Subject Sex in Oncology – A Related Animal Studies. *Acute Crit. Care.* 33, 178-184.
- MAYNE, B. T., T. BIANCO-MIOTTO, S. BUCKBERRY, J. BREEN, V. CLIFTON, C. SHOUBRIDGE, C. T. ROBERTS (2016): Large scale gene expression meta-analysis reveals tissue-specific, sex-biased gene expression in humans. *Front. Genet.* 7, 183-183.

- NAQVI, S., A. K. GODFREY, J. F. HUDGES, M. L. GOOHEART, R. N. MITCHELL, D. C. PAGE (2019): Conservation, acquisition, and functional impact of sex-biased gene expression in mammals. *Science*. 365, eaaw7317.
- POTLURI, T., K. ENGLE, A. L. FINK, L. G. VOM STEEG, S. L. KLEIN (2017): Sex Reporting in Preclinical Microbiological and Immunological Research. *mBio* 8, e01868-17.
- PURVES, D., M. L. PLATT (2016): Spol, seksualnost i mozak. U: *Neuroznanost*. 5. izd. (Heffer, M., L. Puljak, S. Kostić, Ur.), Medicinska naklada, Zagreb, str. 669-694.
- PRENTOUT, D., A. MUYLE, N. ZEMP, A. E. FILALI, B. BOUS-SAU, P. TOUZET, J. KÄFER, G. B. MARAIS (2025): Evolution of Sex Biased Gene Expression During Transitions to Separate Sexes in the *Silene* Genus. *MBE* 42, 1-14.
- RENNER, S. S., N. A. MÜLLER (2021): Plant sex chromosomes defy evolutionary models of expanding recombination suppression and genetic degeneration. *Nat. Plants*. 7, 392–402.
- RICHARDSON, S. S. (2010): Sexes, species, and genomes: why males and females are not like humans and chimpanzees. *Biol. Philos.* 25, 823-841.
- SCANDLYN, M. J., E. C. STUART, R. J. ROSENGREN (2008): Sex-Specific Differences in CYP450 Isoforms in Humans. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 4, 413–424.
- SECHZER, J. A., V. C. RABINOWITZ, F. L. DENMARK, M. F. MCGINN, B. M. WEEKS, C. L. WILKENS (1994): Sex and gender bias in animal research and in clinical studies of cancer, cardiovascular disease, and depression. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 736, 21-48.
- SJAASTAD, Ø. V., O. SAND, K. HOVE (2017): Razmnožavanje. U: *Fiziologija domaćih životinja*. (Milinković Tur, S., M. Šimpraga, Ur.), Naklada Slap, Zagreb, str. 683-734.
- SOLDIN, O. P., D. R. MATTISON (2009): Sex Differences in Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. *Clin. Pharmacokinet.* 48, 143–157.
- SOLDIN, O. P., S. H. CHUNG, D. R. MATTISON (2011): Sex Differences in Drug Disposition. *J. Biomed. Biotechnol.* 2011, 7–9.
- STILLWELL, R. C., W. U. BLANCKENHORN, T. TEDER, G. DAVIDOWITZ, C. W. FOX (2010): Sex Differences in Phenotypic Plasticity Affect Variation in Sexual Size Dimorphism in Insects: From Physiology to Evolution. *Annu. Rev. Entomol.* 55, 227-245.
- TREVISAN, A., F. CHIARA, M. MONGILLO, L. QUINTIERI, P. CRISTOFORI (2012): Sex-Related Differences in Renal Toxicodynamics in Rodents. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* 8, 1173–1188.
- WALD, C., C. WU (2010): Biomedical research of mice and women: the bias in animal models. *Science*. 327, 1571–1572.
- WANG, S. H., S. H. YEH, C. W. SHIAU, K. F. CHEN, W. H. LIN, T. F. TSAI (2015): Sorafenib action in hepatitis B virus X-activated oncogenic androgen pathway in liver through SHP-1. *J. Natl. Cancer Inst.* 107, pii: djv190.
- WAXMAN, D. J., M. G. HOLLOWAY (2009): Sex Differences in the Expression of Hepatic Drug Metabolizing Enzymes. *Mol. Pharmacol.* 76, 215–228.
- WILL, T. R., S. B. PROAÑO, A. M. THOMAS, L. M. KUNZ, K. C. THOMPSON, L. A. GINNARI, C. H. JONES, S-C. LUCAS, E. M. REAVIS, D. M. DORRIS, J. MEITZEN (2017): Problems and Progress regarding Sex Bias and Omission in Neuroscience Research. *eNeuro* 4, e0278-17.
- WOLBOLD, R., K. KLEIN, O. BURK, et al. (2003): Sex Is a Major Determinant of CYP3A4 Expression in Human Liver. *Hepatology* 38, 978–988.
- YANG, C. F., M. C. CHIANG, D. C. GRAY, M. PRABHAKARAN, M. ALVARADO, S. A. JUNTTI (2013): Sexually dimorphic neurons in the ventromedial hypothalamus govern mating in both sexes and aggression in males. *Cell*. 153, 896–909.
- YANG, L., Y. LI (2012): Sex Differences in the Expression of Drug-Metabolizing and Transporter Genes in Human Liver. *J. Drug Metab. Toxicol.* 3, 1–20.
- ZEMP, N., R. TAVARES, A. MUYLE, D. CHARLESWORTH, G. A. B. MARAIS, A. WIDMER (2016): Evolution of sex-biased gene expression in a dioecious plant. *Nat. Plants*. 2, e16168.
- ZUCKER, I., B. J. PRENDERGAST, A. K. BEERY (2022): Pervasive Neglect of Sex Differences in Biomedical Research. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 14, a039156.

## Abstract

Gender differences and sexual dimorphism in anatomical, histological and physiological foundations are currently a major topic within the scientific community. Despite well-known differences between sexes, males have traditionally been used as the standard research subjects, largely due to their relatively stable hormonal profiles compared to females. Due to the female hormonal cycle, studies often need to be conducted across multiple phases of the cycle, which requires additional time and financial resources. This has been one of the primary reasons for the historical bias towards male specimens. It is now recognized that merely including both sexes in research is not sufficient; it is also necessary to investigate the mechanisms underlying sex-related differences across various aspects of biomedical research. In females, the follicular and luteal phases of the reproductive cycle are regulated by complex hormonal interactions between gonadotropic hormones and gonadal steroid hormones. In contrast, the male reproductive cycle is relatively simpler, with spermatogenesis serving as the primary process regulated by gonadotropic hormones. These differences may influence both research outcomes and methodological approach. Sex determination is governed by a small number of genes, yet their activation leads to the expression of thousands of other sex-specific genes. In fields such as toxicology, immunology, microbiology and oncology, differences have been documented in xenobiotic metabolism, the strength of immune responses, susceptibility to infections, and responses to antitumor therapies. Neuroscientific studies also show differences in the activation of brain centres involved in the regulation of behaviour, emotions, memory, and stress. All of the above highlights the necessity of systematically including individuals of both sexes in scientific research. Such an approach represents a key prerequisite for a more comprehensive understanding of the biology of animal organisms, the pathological processes that affect them, and the role of sexual dimorphism in shaping research design and implementation, as well as in the interpretation of the results obtained.

**Key words:** sexual dimorphism, hormonal cycle, biomedical research, animal models