Caracterización de un caso de intersexualidad porcina *(Sus scrofa domestica)*

Characterization of a case of porcine intersexuality (Sus scrofa domestica)

Manuela Caballero[1], Laura Reyes[1], Sofía Pérez[1.] Luis Carlos Veloza[2] MV, Msc, Alexandra Usuga [2] MVZ, PhD.

[1] Estudiante de pregrado. Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia, Universidad CES, Medellín, Colombia.

[2] Docente investigador Grupo INCA-CES. Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia, Universidad CES, Medellín, Colombia.

Abstract

The term hermaphroditism, intersex or intersexed refers to those individuals who present ambiguous genitalia, that is, without clear evidence of an assignable sex, Therefore, they are subjects with congenital anatomical differences that confuse the diagnosis of sex, because of the different degrees in variation of differentiation in reproductive organs, or by being genetically of one sex and phenotypically of the other. Pigs are one of the domestic species where is most common to find intersex animals. Sexual development disorders in pigs cause economic losses, because they can be associated with infertility, appearance of aggressive behavior and odor of meat products induced by androgens produced by testicular tissue. The objective of this clinical case was to characterize a case of porcine intersexuality (*Sus scrofa domestica*). For this purpose, a cytogenetic analysis of the pig with intersex was performed. The results of the cytogenetic analysis showed that the individual was a chimera consisting of 80% XX cells and 20% XY cells. Gonadal steroidal hormone levels were determined, with values of 5.00 pg/ml for estradiol, a value of 0.050 ng/ml

for progesterone, and a value of 0.025 ng/ml for total testosterone. The internal inspection of the reproductive organs identified female structures such as the vulva and vagina, but there was a lack of other female reproductive organs such as the uterus, cervix and ovaries. The male organs found were an atrophied testis and a normal testis. Histological findings found structures that could possibly be characterized as vagina, urethral duct and testicles where atrophied, and presence of structures resembling granulosa cells. The seminal vesicles were only evidenced microscopically, however, the histological architecture was not typical of a seminal vesicle. According to the above, it is concluded that this report corresponds to a case of freemartinism in a pig (*Sus scrofa domestica*), manifested by XX/XY chimerism. With the development and reporting of this case, clinical and academic enrichment on the behavior, variations, and prognosis of animals suffering from these conditions is helped. In addition, it seeks to raise awareness among producers about the species and the clinical, productive and reproductive consequences of this condition and its management.

Keywords: *Fertility, histology, intersex, porcine, sex**.***

Resumen

El término hermafroditismo, intersexo o intersexuados hace referencia a aquellos individuos que presentan unos genitales ambiguos, es decir, sin evidencia clara sobre el sexo asignable, por lo tanto, son sujetos con diferencias anatómicas congénitas que confunden el diagnóstico del sexo por diferentes grados de variación en la diferenciación de los órganos reproductivos, o por ser genéticamente de un sexo y fenotípicamente del otro. Los porcinos constituyen una de las especies domésticas en las cuales se presentan casos de intersexualidad con mayor frecuencia. Los trastornos del desarrollo sexual en los cerdos provocan pérdidas económicas, debido a que pueden estar asociados con infertilidad, aparición de comportamiento agresivo y mal olor de los productos cárnicos inducido por andrógenos producidos por el tejido testicular. El objetivo del presente caso clínico

fue caracterizar un caso de intersexualidad porcina (*Sus scrofa domestica*). Para ello se realizó un análisis citogenético, los resultados mostraron que el individuo era una quimera constituida por 80% de células XX y 20% células XY. Se determinaron los niveles de hormonas esteroidales gonadales, en donde se encontraron valores de 5.00 pg/ml para estradiol, un valor de 0.050 ng/ml para progesterona, y un valor de 0.025 ng/ml para testosterona total. A la inspección interna de los órganos reproductivos se identificaron estructuras femeninas como vulva y vagina, pero había carencia de los demás órganos reproductivos de hembra como útero, cérvix y ovarios. Los órganos masculinos encontrados fueron un testículo atrofiado y un testículo normal. En los hallazgos histológicos se encontraron estructuras que se podían caracterizar posiblemente como vagina, conducto de la uretra y testículos donde se evidenciaban conductos atrofiados y presencia de estructuras que asemejaban a las células de la granulosa. Las vesículas seminales solo se evidenciaron microscópicamente, sin embargo, la arquitectura histológica no fue la típica de una vesícula seminal. De acuerdo con lo anterior, se concluye que el presente reporte corresponde a un caso de freemartinismo en un porcino (*Sus scrofa domestica*), manifestado por un quimerismo XX/XY. Con el desarrollo y reporte del presente caso, se ayuda al enriquecimiento clínico y académico sobre el comportamiento, variaciones, y pronóstico de animales que sufren estas condiciones. Además, se busca concientizar a los productores de la especie, acerca de las consecuencias clínicas, productivas y reproductivas de esta condición y su manejo.

Palabras clave: *Fertilidad, histología, intersexualidad, porcino, sexo.*

Introducción

Los trastornos del desarrollo sexual, por sus siglas en inglés (DSD - *disorder of sex development*), son defectos congénitos del sistema reproductivo en los que los genitales son atípicos en relación con los cromosomas sexuales o las gónadas. Los DSD se pueden clasificar en tres categorías: DSD de cromosomas sexuales, DSD

XX y DSD XY (1). En la categoría de intersexo, los individuos humanos o animales, se pueden clasificar en: hermafroditas verdaderos, los pseudohermafroditas masculinos o femeninos y las quimeras. Entonces, se encuentran entidades con órganos genitales masculinos y femeninos en un mismo sujeto, los que poseen órganos genitales externos al sexo opuesto y los que tienen poblaciones celulares XX/XY. Por ejemplo, en el pseudohermafroditismo masculino, se ha manifestado la presencia de testículos con vulva pequeña o grande y clítoris amplio, que en ocasiones se abre al canal uretral. Este trastorno se ha reportado en diferentes especies como bovinos, felinos, caprinos, caninos, incluyendo la porcina, en la cual se ha detectado hasta un 20% en algunas camadas, o puede llegar a tener una prevalencia entre 0,2 y 0,6% en varios países (2). Los cerdos poseen 19 pares de cromosomas, para un total de 38 cromosomas, de los cuales 36 son autosomas y los dos últimos determinan el sexo, donde 38 XX origina hembras y 38 XY machos, de forma similar como ocurre en los humanos (3). Pinton y colaboradores demostraron que la intersexualidad en los cerdos está correlacionada con una anomalía en el cromosoma nueve (4). Sin embargo, aún se requiere continuar con la investigación del trastorno para dilucidar mejor este componente genético.

La mayoría de los cerdos intersexuales son infértiles. A menudo muestran un comportamiento agresivo, tienen una piel más rígida y vellosa y pueden propagar el típico olor a jabalí desde la pubertad en adelante (5). La intersexualidad en los cerdos se ha detectado habitualmente sobre la base de la inspección anatómica y macroscópica de los órganos sexuales (5). Sin embargo, poco se conoce sobre la microestructura de los órganos intersexuales, las funciones y las interrelaciones entre sus componentes masculino y femenino y sus posibles transformaciones patológicas que resultan en infertilidad (5). Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue caracterizar un caso de intersexualidad porcina (*Sus scrofa domestica*).

Evaluación del paciente

Anamnesis

En el presente reporte de caso se abordó un paciente porcino (*Sus scrofa domestica*), perteneciente a la granja porcícola PorciCES, propiedad de la Universidad CES, ubicada en El Santuario, Antioquia, Colombia. El ejemplar era de línea genética PIC 410, con fecha de nacimiento del 6 de agosto de 2021, presentó un peso al nacimiento de 0,97 kg y al destete de 5,38 kg. En el examen clínico realizado al nacimiento del lechón, se evidenció presencia de vulva, bolsa escrotal y al menos uno de los dos testículos era palpable.

Examen clínico

El abordaje clínico de este caso se hizo previo al sacrificio, en este momento el ejemplar tenía 120 días y pesó 90 kg. Se inició con una anamnesis detallada del animal, acompañada de una inspección visual con el fin de detectar variables en la conformación anatómica, y se prestó especial atención a la conformación de los genitales externos, se realizó un examen clínico detallado y posteriormente todos estos datos se consignaron en un formato de historia clínica con el fin de ser analizados.

Ayudas diagnósticas

Análisis citogenético

Se realizó un cultivo de linfocitos para el análisis de los cromosomas, que se estableció a partir de sangre obtenida mediante la punción de la vena cava craneal utilizando un vacutainer calibre 21, y un tubo tapa verde. Posteriormente se refrigeró la muestra a 4°C para ser llevada al laboratorio. Los cultivos se realizaron siguiendo el método descrito por Moorhead (6). Se sembró sangre heparinizada (1mL

aproximadamente) en medio de cultivo RPMI 1640 (SIGMA) suplementado con Suero Fetal Bovino (GIBCO) al 10% y antibiótico penicilina-estreptomicina 100ug/mL – 100 UI, obteniendo un volumen final de 10 mL. Como mitógeno se agregó fitohemaglutinina (SIGMA) solución de trabajo al 1%. El cultivo se incubó a 37,5 °C durante 72 horas. Para obtener bandas R-replicativas (RBG) se agregó a las 66 horas, 5-Bromo deoxiuridina (BrdU) a una concentración de 2 mg/mL y para obtener cromosomas metafásicos, se agregó a las 71 horas colcemid a una concentración de 1%. Pasado el tiempo de cultivo estos se pasaron a tubos de centrifuga de 15 mL y se centrifugaron a 1000 rpm por 7 minutos, se descartó el sobrenadante cuidando la nube de linfocitos y luego se resuspendió con cuidado. Se agregó KCl a una concentración de 0,075M hasta completar un volumen de 7 mL y se incubó a 37°C durante 7 minutos, luego se volvió a centrifugar y después de descartar el sobrenadante se resuspendió y se agregó vigorosamente solución fijadora (metanol – ácido acético 3:1) hasta completar un volumen de 7 mL. Se volvió a centrifugar y descartar el sobrenadante y se agregó de nuevo solución fijadora. Este procedimiento se repitió hasta obtener un sobrenadante traslucido (7). Las muestras se gotearon sobre placas previamente limpiadas con alcohol y enfriadas, a una distancia de 50 cm aproximadamente. Estas placas se sometieron al protocolo de tinción para revelar las bandas RBG (8), con las respectivas modificaciones realizadas en el Laboratorio de Genética de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín (9). Los extendidos cromosómicos se evaluaron en un microscopio óptico ZEISS con objetivo de 100X, se analizaron 30 mitosis para cada uno de los casos.

Medición de hormonas gonadales esteroidales

La medición hormonal de testosterona y progesterona se realizó mediante radioinmunoensayo, para lo cual se tomó una muestra sanguínea de la vena cava craneal, mediante la metodología descrita previamente. Para la medición de testosterona y progesterona, se usaron kits comerciales (*Coat-A-Count Kit;*

Diagnostic Products Corporation) (10). La medición de estradiol, se realizó mediante ELISA competitiva (*Estradiol EIA Kit, Cayman Chemical Company*) (11).

Análisis histológico de las estructuras reproductivas

Para el análisis histológico de los órganos reproductivos, las estructuras y tejidos se conservaron en formaldehido al 10% en fragmentos de 0,5 cm x 0,5 cm, y se enviaron al laboratorio para su estudio, para lo cual se realizó una tinción con hematoxilina y eosina (H&E).

Resultados y discusión

Los trastornos sexuales son importantes por su influencia en la reproducción y otros procesos fisiológicos regulados por las hormonas gonadales. Uno de estos trastornos puede ser el hermafroditismo (presencia de gónadas masculinas y femeninas), pseudohermafroditismo (desarrollo de gónadas de un sexo opuesto) e intersexualidad (combinación de tejidos testiculares y ováricos en una gónada) (12). La forma más común de intersexualidad en los cerdos es la masculinización femenina (13).

Un animal intersexual puede ser definido como un individuo que posee gónadas de ambos sexos (ovarios y testículos) y presenta el tracto genital opuesto a las gónadas. Pero el fenómeno de la intersexualidad es más complejo. Para establecer el “sexo” de un individuo, debido a la naturaleza compleja del proceso, se requiere el uso de criterios más específicos en lugar de solo anatómicos (macroscópico o microscópico) estos criterios son más relevantes que los anteriores y determinan las características genéticas, el estado hormonal, pero también el análisis conductual (14).

En el presente reporte, se observó la presencia de vulva y bolsa escrotal en el presunto individuo hermafrodita; al momento de la palpación se encontró que uno

de los testículos era palpable, de consistencia firme, y móvil dentro de la bolsa escrotal (Figura 1). No había signos de inflamación a la palpación. Similar a lo encontrado por Chakrabarti (15), donde el lechón tenía un saco escrotal y una abertura vulvar. No se reportó presencia de vaina perpetua en abdomen ventral. El examen del saco escrotal reveló que el lechón solo tenía un testículo que se movía libremente y no había adherencia dentro del saco; la consistencia y textura del saco fue normal, similar a lo encontrado en el presente caso.

Figura 1. Apariencia fenotípica del cerdo con intersexualidad.

Los resultados del análisis citogenético mostraron que el individuo era una quimera constituida por 80% de células XX (Figura 2) y 20% de células XY (Figura 3). Se establecieron 3 cultivos por muestra, en medio RPMI 1640, estimulado con fitohemaglutinina y tratada con pulso terminal de BrdU para obtener el bandeo RGB. Fueron evaluadas 30 mitosis. Los resultados mostraron una constitución cromosómica XY en seis de las mitosis evaluadas y XX en 24 mitosis. Los hallazgos del análisis cromosómico concuerdan con lo que exponen Okamoto y Masuda (16), donde se habla sobre los estudios recientes de cerdos intersexuales con cultivos de

leucocitos que han demostrado que la mayoría de los casos examinados tenían una constitución del cromosoma sexual XX con el cariotipo femenino independiente de su tipo de intersexualidad.

Se conoce que en los cerdos se observan dos tipos principales de trastornos del desarrollo sexual. El primero es un trastorno testicular u ovotesticular, con complemento cromosómico sexual femenino (XX) y falta del gen SRY. El segundo es el freemartinismo, manifestado por quimerismo XX / XY en leucocitos, como el presente reporte, mientras que en el caso presentado por Makovicky *et al* (5), quienes tenían el primer caso.

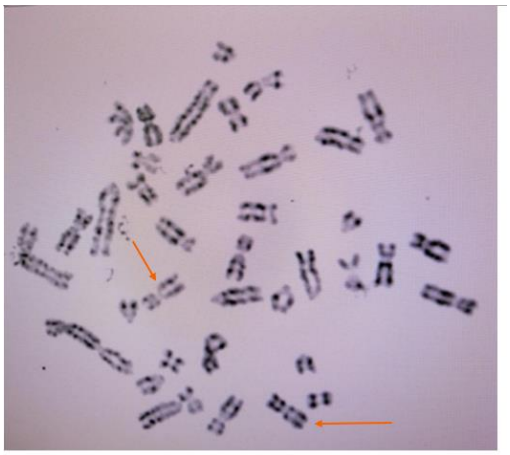

Figura 2. Análisis citogenético (XX). En la imagen se señalan con las flechas naranjas los cromosomas XX.

Figura 3. Análisis citogenético (XY). En la imagen se señalan los cromosomas X y Y.

En cuanto a los resultados de las hormonas evaluadas en sangre se obtuvo un valor de 5.00 pg/ml para el estradiol, un valor de 0.050 ng/ml de progesterona, y un valor de 0.025 ng/ml para testosterona total. A diferencia de lo observado en el presente reporte, Hunter, *et al* (17), reportaron concentraciones de estradiol y progesterona en plasma de cerdos intersexuales que correspondían con las esperadas en la fase folicular de un ciclo estral, pero las concentraciones de testosterona representaban aproximadamente una décima parte de los valores encontrados en verracos maduros (Estradiol 11.8 pg/ml – Progesterona <50 pg/ml). Por otro lado, se han

reportado valores de 17 βestradiol de 37.4 ± 6.4 pg/ml, y de testosterona sérica de 2.2 ± 0.5 ng/ml en cerdos prepúberes menores a cinco meses de edad, de pesos entre 73 - 80 kg y sin rasgos de intersexualidad (18). Además, en la literatura se reportan niveles de progesterona sérica en cerdas prepuberales menores a 2 ng/ml (19). Lo encontrado en el presente caso, demuestra niveles mucho más bajos a los reportados en ambos estudios, tanto para cerdos intersexuales como para cerdos sin ambigüedad de sexo.

La actividad endocrina podría ser una causa de anomalías morfológicas observadas en las gónadas intersexuales. Por ejemplo, las características y la posible causa del síndrome de ovario poliquístico pueden ser la hiperproducción de testosterona, que a su vez puede deberse a la hipersecreción de la hormona luteinizante (LH) y la secreción de la hormona estimulante del folículo (FSH) (20). Por otro lado, las hormonas producidas por las células testiculares de Leydig pueden inhibir la diferenciación y el desarrollo de las gónadas hembras e inducir la masculinización de los cerdos con todas sus consecuencias (21). Por lo tanto, el nivel sanguíneo de hormonas reproductivas podría ser un índice útil de estado intersexual, que se podría recomendar para su uso en la praxis veterinaria diaria (5).

Por otro lado**,** se realizó una inspección interna de los órganos reproductivos y se identificaron estructuras como vulva y vagina, pero había carencia de los demás órganos reproductivos de hembra como útero, cérvix y ovarios. Del aparato reproductivo masculino se encontró presencia de un testículo atrofiado y un testículo normal (Imagen 4). Adicionalmente se realizó el análisis histopatológico de todos los tejidos reproductivos tomados al momento la necropsia.

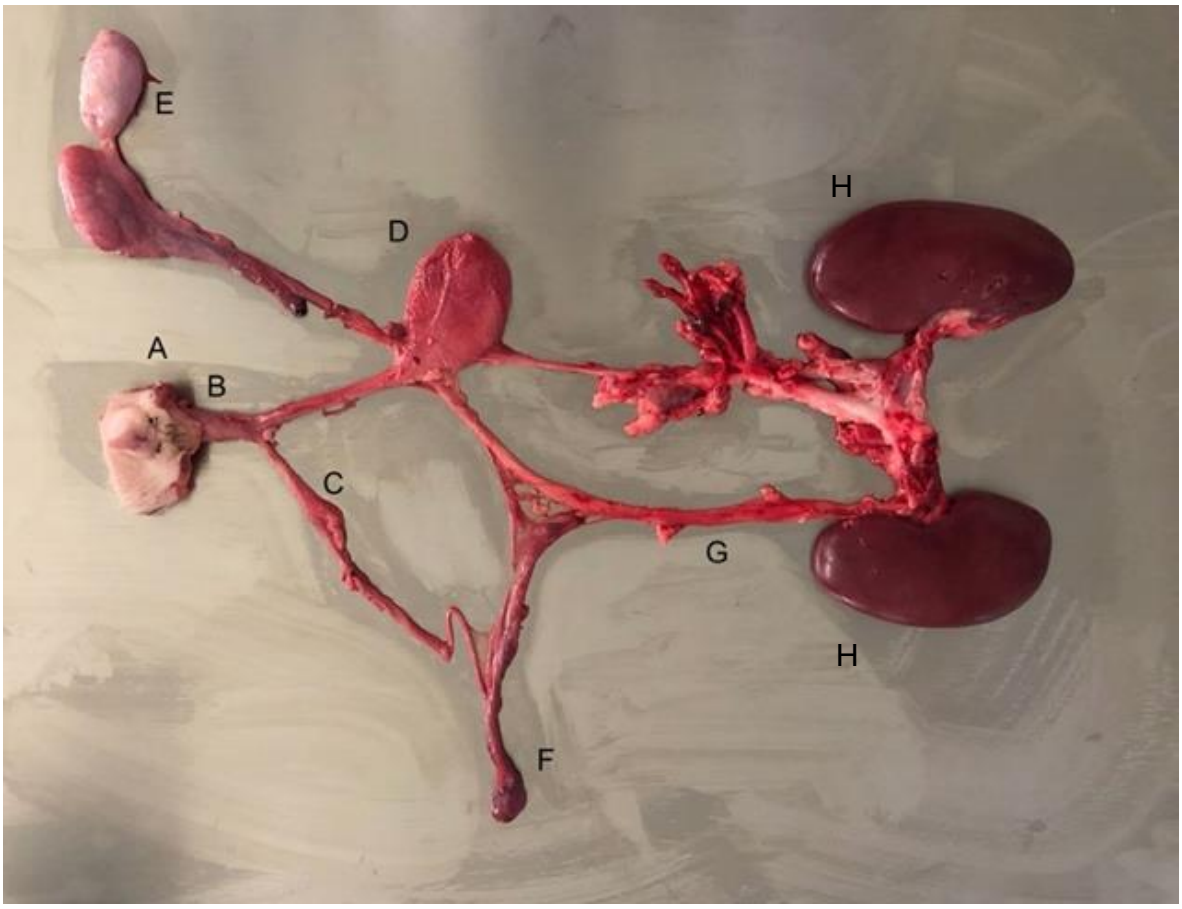

Figura 4. Inspección macroscópica de órganos reproductivos. A) Vulva, B) Vagina, C) Conducto accesorio de la uretra, D) Vejiga, E) Testículo, F) Testículo atrofiado, G) Uréter, H) Riñones.

El análisis histológico de la vagina (Figura 4B e Figura 5), se observó que estaba compuesta por epitelio estratificado plano y presentaba estructuras glandulares en la submucosa, lo cual es compatible con la estructura histológica de una vagina sin alteraciones.

Al análisis del conducto accesorio de la uretra (Imagen 4C e Imagen 6) se encontró un conducto urinario con epitelio de transición, en el que se observaron múltiples estructuras compatibles con la uretra. En la posible uretra se encontró epitelio urinario en algunas partes, pero en otras se evidenciaron múltiples zonas con epitelio simple plano y cúbico, lo que podría sugerir una atrofia; igualmente, se

encontraron varias estructuras quísticas lo que permitió caracterizarlo correctamente como uretra.

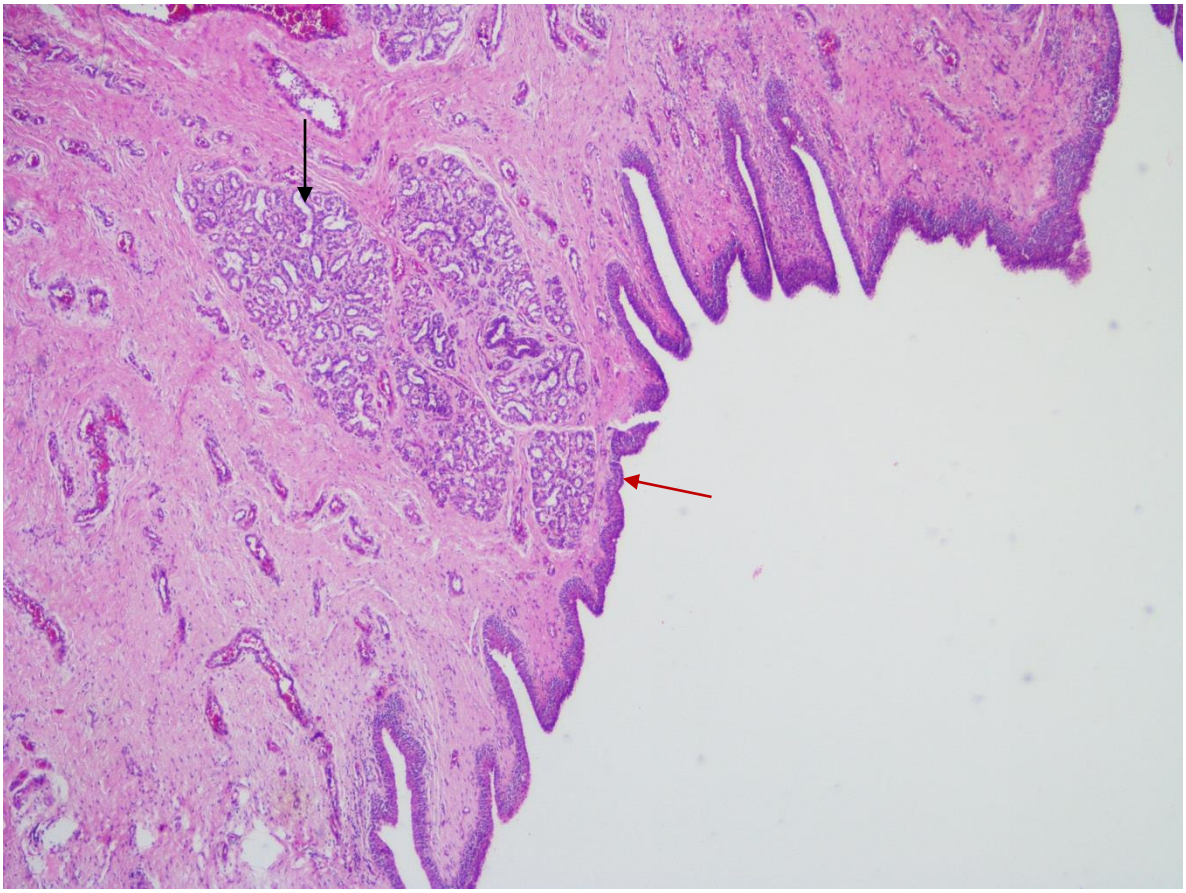

Figura 5. Análisis histológico de la vagina (10X). En la imagen, la flecha roja señala el epitelio estratificado de recubrimiento. La flecha negra señala estructuras compatibles con glándulas de la vagina con posible función secretora.

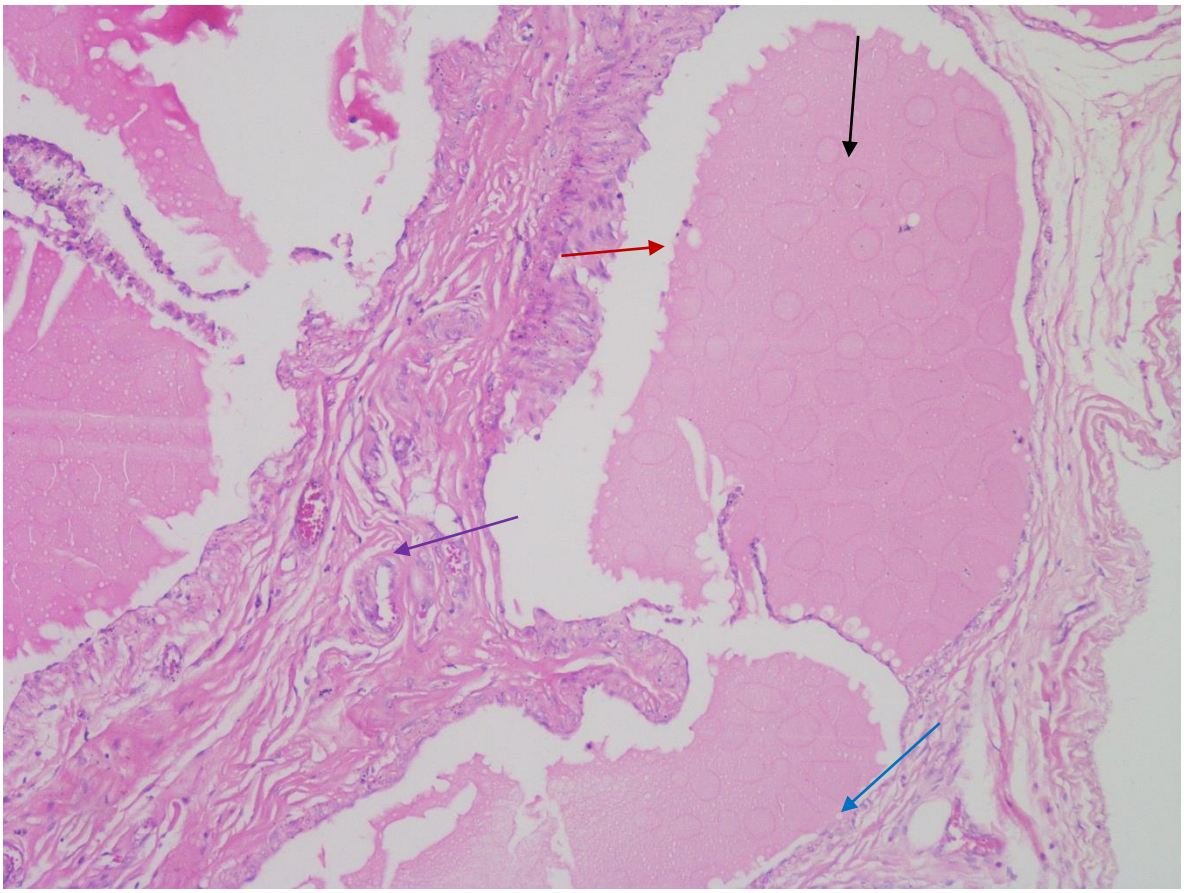

Figura 6. Análisis histológico del conducto accesorio de la uretra (10X). En la imagen la flecha morada señala el intersticio. La flecha negra las estructuras quísticas. La flecha roja señala el epitelio de transición. La flecha azul señala la atrofia del epitelio.

Por otro lado en el análisis del testículo atrofiado (Figura 4F e Figura 7) se observó una estructura histológica compuesta por conductos seminales con abundantes células intersticiales de citoplasma amplio eosinofílico, que están reemplazando el tejido conectivo entre esos conductos; sin embargo, los conductos se encontraban disminuidos de tamaño, vacuolizados; además se evidenciaron algunas células inmaduras las cuales formaban estructuras similares a conductos seminales, que tenían apariencia de tortuosos, ramificados y atrofiados, núcleos grandes llenos de cromatina dispersa. No se encontraron espermatozoides maduros, pero sí espermatogonias (Figura 7).

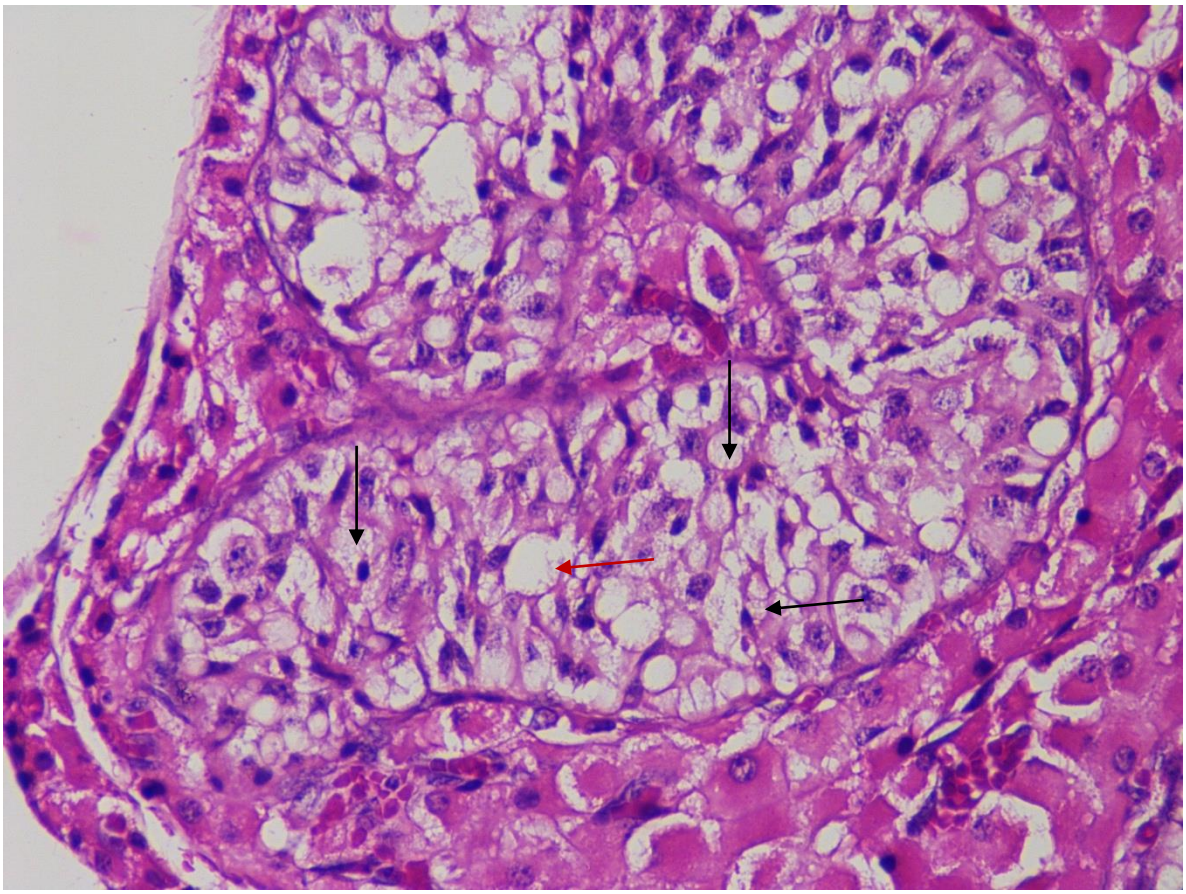

Figura 7. Análisis histológico del testículo atrofiado (40X)**.** Las flechas negras señalan las posibles espermatogonias. La flecha roja señala la vacuolización del epitelio.

Se encontró presencia de células intersticiales pero no se puede asegurar que son de Leydig, hay células de citoplasma amplio eosinofílico con núcleo central o paracentral que se asemejan a células de la granulosa (Imagen 8). Lo anterior difiere a lo hallado por Makovicky, *et al* (5), quién encontró que, al análisis del testículo, estaba representado por células eosinofílicas ovaladas con núcleos excéntricos basófilos que se asemejaban a las células de Leydig. Solo un pequeño número de células estromales y ninguna célula dentro del canal testicular estaban proliferando (5).

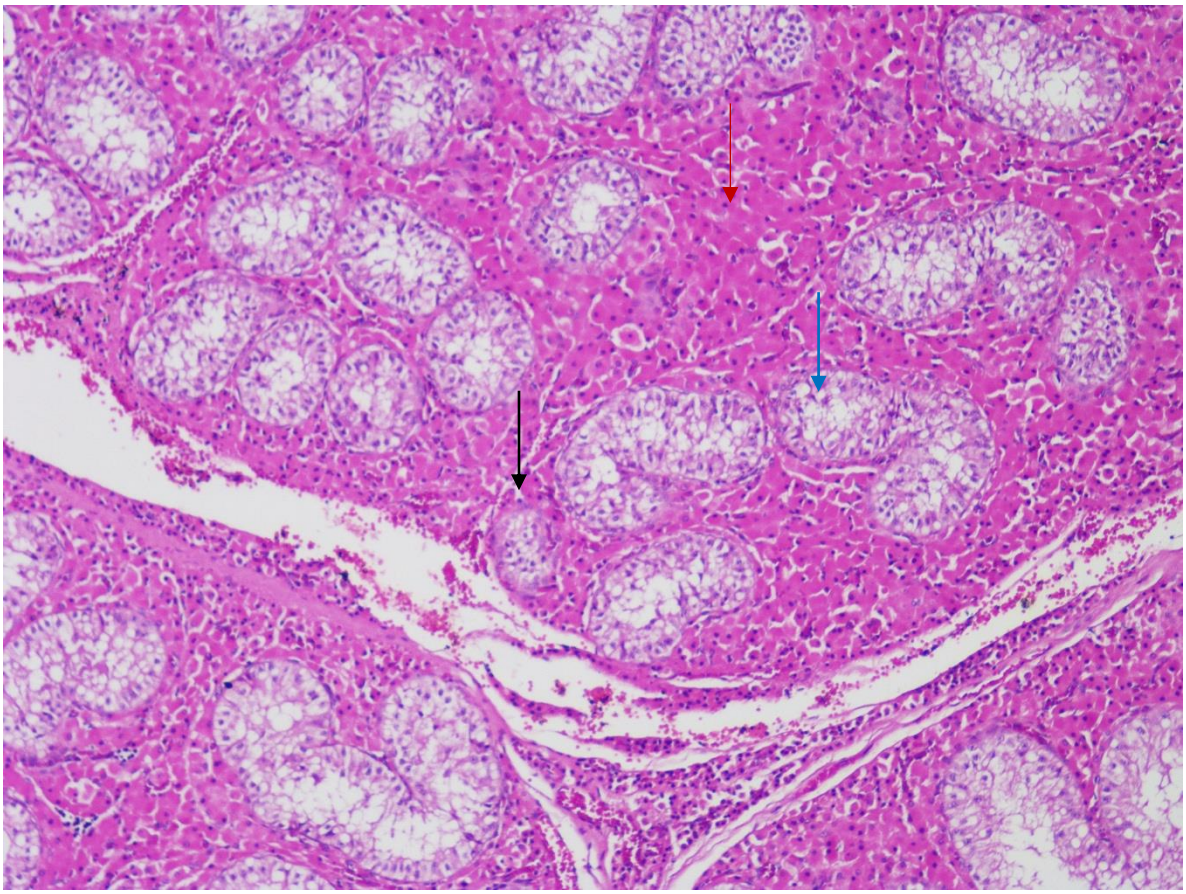

Figura 8. Análisis histológico del testículo atrofiado (10X). La flecha azul señala un conducto tortuoso. La flecha negra señala un conducto atrofiado. La flecha roja señala células que se asemejaban a las células de la granulosa.

Makovicky, *et al* (5), sustentan que, si las gónadas masculinas son dominantes, la aparición de tejido ovárico en el testículo puede inducir una malformación testicular (testículo pequeño no desarrollado). En el presente caso, al momento del análisis histológico se reportaron hallazgos de tejido ovárico, específicamente células compatibles con células de la granulosa en el tejido testicular, pudiendo esto confirmar tal hipótesis. El análisis histológico realizado por Mackoviky, *et al* (5), reveló que el órgano contenía dos partes distintas: tejidos ováricos y testiculares representados en proporciones iguales, a diferencia de nuestros hallazgos en los que hubo predominancia de tejido testicular. Por otro lado, Tiranti *et al* (22) en casos de intersexualidad han reportado que la presencia de tejido testicular en el

compartimento ovárico dominante, da como resultado la aparición de ovotestis cerca del cuerno del útero, a veces con elementos testiculares que pueden identificarse a simple vista, difiriendo del presente reporte de caso, en el cual el tejido testicular fue el dominante.

Las vesículas seminales se evidenciaron microscópicamente pero no macroscópicamente, se observó arquitectura histológica, pero no fue la típica de una vesícula seminal, ya que las glándulas se observaron irregulares, tortuosas y con presencia de mucho tejido intersticial (Figuras 9 y 10).

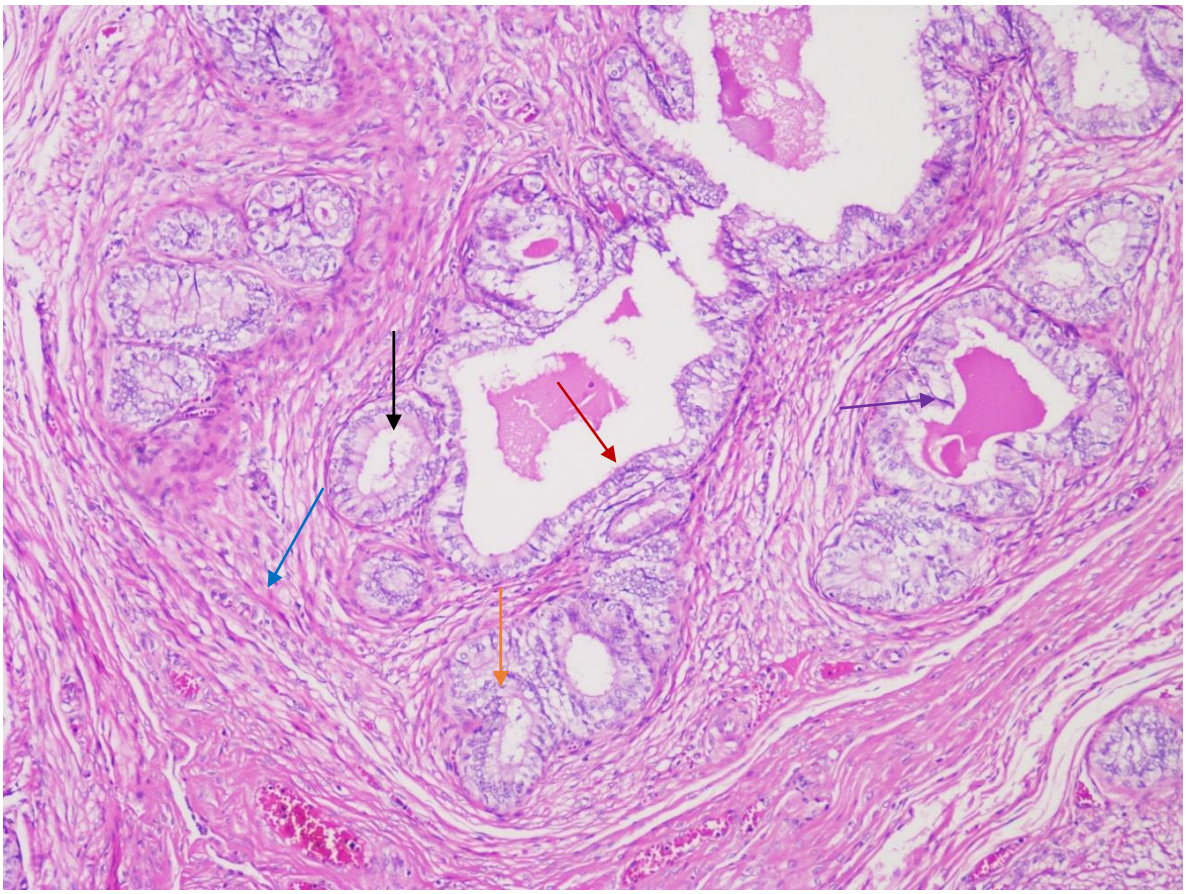

Figura 9. Análisis histológico de las vesículas seminales (10X). La flecha roja señala el epitelio cilíndrico simple. La flecha azul señala el tejido intersticial. La flecha negra señala una glándula normal. La flecha naranja señala una glándula tortuosa. La flecha morada señala una glándula irregular.

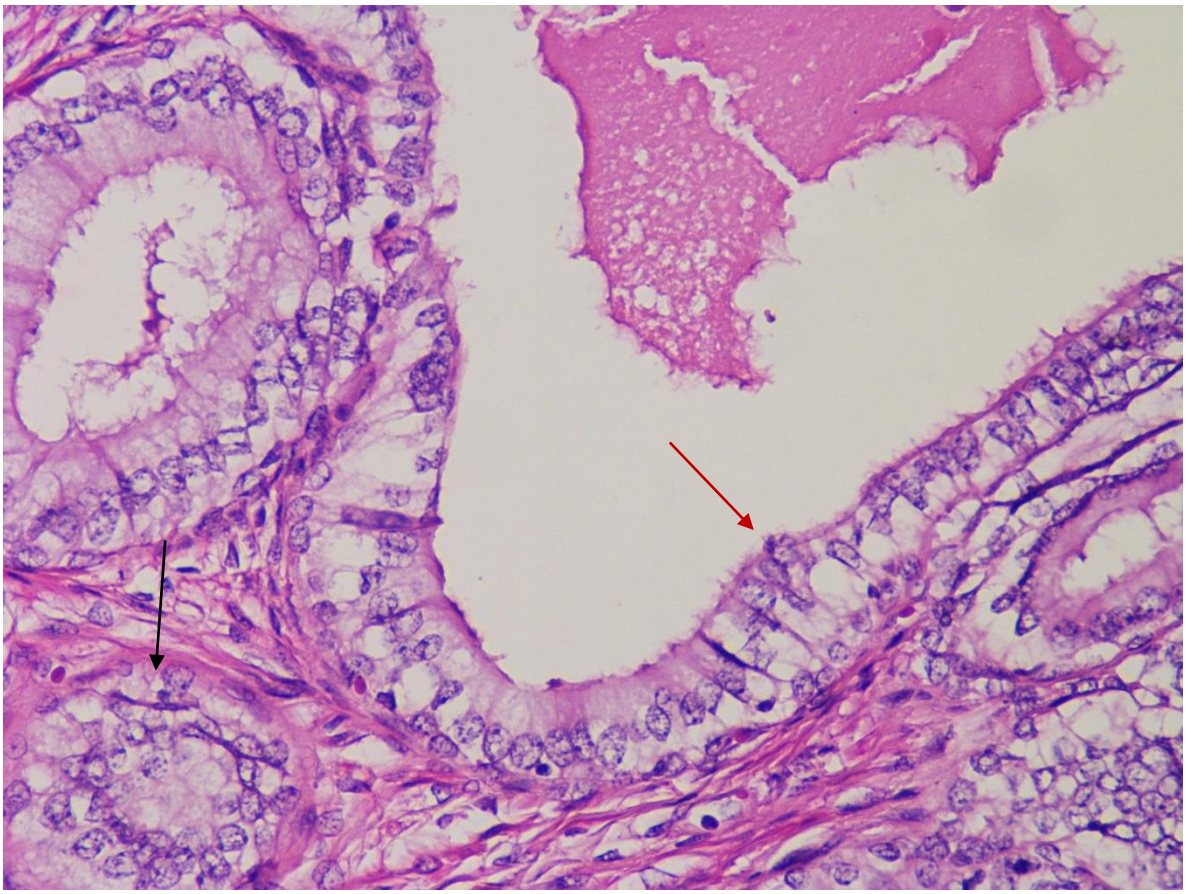

Figura 10. Análisis histológico de las vesículas seminales (40X). La flecha negra señala una estructura que no tiene la forma característica de una glándula ya que no se observó un lumen delimitado, por lo que estaba totalmente inmadura. La flecha roja se señala el epitelio desorganizado.

Conclusiones

De acuerdo con los resultados de los análisis citogenético, macroscópico, histológico y hormonal, se puede concluir que el presente reporte corresponde a un caso de freemartinismo en un porcino (*Sus scrofa domestica*), manifestado por un quimerismo XX/XY. Este reporte contribuye al entendimiento y estudio de la intersexualidad en la especie porcina. Los análisis citogenéticos son una herramienta importante para diagnosticar de forma certera estos casos, sin

embargo, acompañarlo de análisis genéticos permitirían un mayor entendimiento sobre los tipos y causas de intersexualidad que pueden presentarse.

Referencias

1. Szczerbal I, Nowacka-Woszuk J, Dzimira S, Matuszczyk A, Iskrzak P, Switonski M. Elevated incidence of freemartinism in pigs detected by droplet digital PCR and cytogenetic techniques. Livestock Science, 2019; 219 (January 2019): 52-56.

2. Reinartz M, Márquez M, Ramírez L, López J. Relación entre Quimerismo XX/XY y el fenotipo Pseudohermafrodita Masculino.Rev Fac.Nal. Agr.Medellín. 2001; 54 (1-2):1159-1167.

3. Henao F, Gómez G, Uriel J, Castaño G. Evaluación citogenética e histopatológica de un cerdo intersexo. Porcicultura Colombiana. 1997; 52: 45 - 53.

4. Pinton A, Pailhoux E, Piumi F, Rogel-Gaillard C, Darré R, Yerle M, Cotinot C. A case of intersexuality in pigs associated with a de novo paracentric inversion 9 (p1. 2; p2. 2). Animal genetics. Febrero de 2002; 33 (1): 69-71.

5. Makovicky P, Sirotkin A. V, Makovicky P. A Case of Intersexuality in a Pig: Histological View. International Journal of applied research in veterinary medicina, 2020;18 (1): 6 – 10.

6. Defendi V, Billingham R. E, Silvers W. K, Moorhead, P. (1960). Immunological and karyological criteria for identification of cell lines. Journal of the National Cancer Institute 1960. 25 (2): 359-385.

7. Spowart G. Mitotic Metaphase Chromosome Preparation from Peripheral Blood for High Resolution. En: Chromosome Analysis Protocols Methods in Molecular Biology. Gosden, J.R. (eds). 1994: 1-10.

8. Camargo M, & Cervenka J. Patterns of DNA replication of human chromosomes. II. Replication map and replication model. American journal of human genetics. 1982. 34 (5): 757.

9. López Ortiz J. Modelo experimental para el estudio cromosómico en células de mamíferos. [Trabajo de grado de Maestría en Biología] Medellín: Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, Facultad de Ciencias, Escuela de Biociencias; 2002.

10. Matamoros R, Gomez C, Andaur M. Hormonas de utilidad diagnóstica en Medicina Veterinaria. Arch Med Vet. 2002; 34(2): 167-182.

11. Araujo M, Paulo O, Camargo L, Paranzini C, Marqui F, Oliveira H, Souza F, Oba E. Gonadal Steroid Hormones Levels in a Bitch with True Bilateral Hermaphroditism. J. Pharm. Pharmacol. 2018; 6: 521-525.

12. Maxie G, Jubb, Kenedy, Palmers. Patología de animales domésticos. Elsevier. 2016; 798.

13. Bansal N, Roy KS, Sharma DK, Sharma R. Estudio anatómico sobre el hermafroditismo verdadero en un cerdo indio (Sus scrofa domesticus). J Vet Sci. 2005; 6 (1): 83-85.

14. Ciornei C, Cotea C. V, Solcan C, Beek J, Cornillie P. Morphological, histological and cytogenetics aspects in male pseudohermaphrodites domestic pigs (Sus scrofa domestica). Lucrări Științifice-Medicină Veterinară, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară" Ion Ionescu de la Brad" Iași. 2011; 54(1): 37-44

15. Chakrabarti A. Hermafroditismo en un cerdo cruzado: un estudio de caso. Rev. Cienc Agric. 2016; 8(36): 1744-1745.

16. Okamoto A, Masuda H. Cytogenetic studies of intersex swine. Proc. Jpn. Acad. B: Phys. Biol. Sci. 1977 Dec; 53(7): 276-281.

17. Hunter, RHF, Baker, TG, Cook B. Morphology, histology and steroid hormones of the gonads in intersex pigs. Reproduction. 19983; 64(1): 217-222.

18. Molinari C, Battaglia A, Grossini E, Mary DASG, Vassanelli C, Vacca G. The effect of dehydroepiandrosterone on regional blood flow in prepubertal anaesthetized pigs. Physiol. J. 2004; 557(1): 307-319.

19. Hafez E. S. E. Reproducción e inseminación artificial en animales. 7a ed. McGraw-Hill Interamericana, México; 2002.

20. Faubert J, Battista MC, Baillageon JP. Symphosium de fisiología y endocrinología: acción de la insulina y lipotoxicidad en el desarrollo del

síndrome de ovario poliquístico: una revisión.J Anim Sci. 2016; 94 (5): 1803-1811.

21. Villagómez DA, Parma P, Radi O, Di Meo G, Pinton A, Iannuzzi L, King WA. Citogenética clásica y molecular de los trastornos del desarrollo sexual en animales domésticos.Res del genoma del citogenio. 2009; 126 (1-2): 110-131.

22. Tiranti IN, Genghini RN, Quintana HG, Wittouck P. Morphological and karyotypic characterization of intersex pigs with hernia inguinalis. J Agr Sci. 2002; 138(3): 330-340.