

# Alteraciones estructurales y vasculares en placentas de clones equinos y su relación con la eficiencia placentaria

## Structural and vascular alterations in placentas from cloned horses and their relationship with placental efficiency

FIORIMANTI, MR<sup>1,4</sup>; FERRARIO, M<sup>2,4</sup>; ORTIZ DE ELGUEA, MF<sup>3</sup>; GÓMEZ, KP<sup>1,4</sup>; CRISTOFOLINI, AL<sup>1,4</sup>; AUDAPSOUBIE, R<sup>2,4</sup>; PALLAROLS MOLINARI, NB<sup>3</sup>; MACCHIAVELLO VALDÉS, A<sup>3</sup>; SALVI, M<sup>2,4</sup>; MERKIS, CI<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup>Área de Microscopía Electrónica, Departamento Patología Animal. Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina. <sup>2</sup>Departamento Clínica Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina. <sup>3</sup>Centro de Rehabilitación y Hospital Equino Kawell, Buenos Aires, Argentina. <sup>4</sup>Instituto de Ciencias Veterinarias UNRC-CONICET (INCIVET).

### RESUMEN

El objetivo de este estudio fue describir las características macroscópicas y microscópicas de placentas de clones equinos y evaluar su eficiencia placentaria en comparación con placentas de gestaciones naturales. Se analizaron muestras obtenidas de yeguas receptoras de clones que parieron potrillos clonados (n=10) y de yeguas con gestaciones naturales (n=10). Se realizó un análisis estructural integral (macroscópico y microscópico) y se registraron el peso placentario, el peso al nacer de los potrillos y la eficiencia placentaria. En el grupo control se observó una superficie alantoidea íntegra, de color azul translúcido, y una superficie coriónica rojiza y aterciopelada, con presencia de microcotiledones. En contraste, las placentas de clones presentaron alteraciones estructurales severas, con reducción o ausencia de microcotiledones, engrosamiento del amnios, fibrosis, hematomas y signos de vasculopatía placentaria. A pesar de la viabilidad de los potrillos clonados, éstos mostraron menor peso al nacer y una eficiencia placentaria reducida, asociada a placentas significativamente más pesadas que las del grupo control. El análisis histológico confirmó una vasculopatía crónica caracterizada por fibrosis colágena perivascular concéntrica, engrosamiento de la túnica media y estenosis luminal, sugiriendo una disminución del flujo materno-fetal. Estas alteraciones macro y microestructurales podrían reflejar mecanismos compensatorios de insuficiencia placentaria.

**Palabras clave:** (clonación), (equinos), (placenta), (eficiencia placentaria)

## SUMMARY

The aim of this study was to describe the macroscopic and microscopic characteristics of placentas from cloned horses and to evaluate their placental efficiency compared with placentas from natural pregnancies. Samples were collected from recipient mares that delivered cloned foals (n=10) and from mares with natural pregnancies (n=10). A comprehensive structural (macroscopic and microscopic) analysis was performed, and placental weight, foal birth weight, and placental efficiency were recorded. In the control group, the allantoic surface appeared intact and bluish translucent, while the chorionic surface was reddish and velvety, with evident microcotyledons. In contrast, cloned placentas showed severe structural alterations, including reduction or absence of microcotyledons, amniotic thickening, fibrosis, hematomas, and signs of placental vasculopathy. Despite the viability of cloned foals, they exhibited lower birth weights and reduced placental efficiency, as cloned placentas were significantly heavier than those of controls. Histological analysis confirmed a chronic vasculopathy characterized by concentric perivascular collagen fibrosis, thickening of the tunica media, and luminal stenosis, suggesting decreased maternal–fetal blood flow. These macro- and microstructural alterations may reflect compensatory mechanisms associated with placental insufficiency.

**Keywords:** (cloning), (equines), (placenta), (placental efficiency)

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la clonación equina, una técnica basada en la transferencia nuclear de células somáticas (SCNT: somatic cell nuclear transfer), ha revolucionado la biotecnología reproductiva al permitir la reproducción de animales genéticamente idénticos<sup>4, 10, 18</sup>. Esta herramienta se utiliza principalmente para preservar líneas genéticas valiosas, mejorar la producción equina de ejemplares de alta performance deportiva y avanzar en la investigación biomédica. Sin embargo, a pesar de su potencial, la clonación presenta importantes limitaciones biológicas que afectan el desarrollo embrionario y placentario, lo que compromete tanto la viabilidad fetal como el bienestar animal<sup>11, 16</sup>.

La placenta equina, está formada por el corioalantoides, el amnios y la vasculatura placentaria que constituye el cordón umbilical. Se define como difusa, microcotiledónea y epiteliocoriónica<sup>1,9,13,20</sup>. La parte coriónica del alantocorion se encuentra adherida al endometrio por medio de los microcotiledones que contactan con el útero con excepción de una zona que corresponde al orificio cervical interno, denominada estrella cervical. El alantocorion es quien abastece al feto dentro del útero. Éste permite el intercambio respiratorio y de nutrientes entre la madre y el feto y es un órgano endocrinológicamente activo que

sintetiza y metaboliza hormonas importantes para el mantenimiento y desarrollo fetal<sup>5</sup>. El alantoamnios, al flotar libremente, permite el movimiento libre del feto dentro del útero y sólo se encuentra adherido al alantocorion en una pequeña parte del cordón umbilical<sup>12, 15</sup>.

Investigaciones previas han indicado que los períodos de gestación anormalmente prolongados están asociados con insuficiencia placentaria, lo que podría ocasionar una disminución en el suministro de nutrientes al feto en desarrollo<sup>14</sup>. La eficiencia placentaria es un parámetro clave que desempeña un papel crucial en el desarrollo fetal. Este índice está determinado por diversos factores, como el tamaño de la placenta, su estructura y la presencia de mecanismos especializados que facilitan el transporte de nutrientes esenciales al feto. Comprender estos aspectos es fundamental para evaluar la función placentaria y su impacto en el desarrollo fetal<sup>8</sup>.

El objetivo de este estudio fue realizar un análisis descriptivo de las características macroscópicas y microscópicas estructurales de placentas de clones equinos con respecto a placentas controles, y determinar el parámetro de eficiencia placentaria en ambos grupos de placentas analizadas.

## MATERIALES Y METODOS

### Animales

Se trabajó con muestras placentarias obtenidas inmediatamente después del parto de yeguas, raza Polo Argentino, que gestaron equinos obtenidos por la técnica de clonación (n= 10), atendidos en el Centro de Rehabilitación y Hospital Equino Kawell, Buenos Aires. Las placentas de equinos obtenidos por gestación natural, raza Sangre Pura de Carrera, y luego del parto a término (n= 10) fueron obtenidas de un Haras cercano a la ciudad de Río Cuarto, Córdoba. Ambos grupos correspondieron a yeguas con una edad media de  $11 \pm 5,1$  años (rango: 6–19 años), mantenidas bajo condiciones de manejo similares. De cada yegua gestante se registraron datos de su ficha clínica-ginecológica, días de gestación y tiempo de expulsión placentaria. Previo al parto, se evaluaron patologías preexistentes por diagnóstico ultrasonográfico transrectal realizado con un ecógrafo Sonosite Edge II (Fujifilm, Bothell, WA, EE. UU.), mediante medición del espesor combinado útero-placentario (ECUP) <sup>2,3</sup>.

Todos los procedimientos fueron aprobados por el Comité Institucional de Ética de la Investigación en Salud de la Universidad Nacional de Río Cuarto (CoEdI), Res. Rec. ODS-547/25.

### Obtención de placentas y análisis macroscópico

Una vez obtenidas las placentas de los grupos clones (Cl, n = 10) y control (Co, n = 10), la observación macroscópica fue realizada de manera inmediata por un único observador entrenado para asegurar uniformidad. Se corroboró la recuperación completa de cada placenta y se registraron el peso placentario (kg), así como el peso (kg) y el sexo de los potrillos al nacimiento. Posteriormente, las placentas fueron lavadas con solución salina de Hank's (SSH) (Gibco, USA) suplementada con 10.000 U/ml de penicilina G sódica, 10 mg/ml de sulfato de estreptomina y 2,5 µg/ml de fungizona, y se mantuvieron a 4 °C hasta su análisis en el laboratorio<sup>8</sup>. Parte del tejido placentario correspondiente al cuerno gestante se procesó mediante la técnica de microscopía óptica convencional para el análisis histológico.

### Eficiencia placentaria

El cálculo de la eficiencia placentaria (EP) se obtuvo mediante la siguiente fórmula: PNC/ PP; donde PNC significa peso al nacimiento del potrillo y PP es el peso placentario, indicando gramo de potrillo producido por gramo de placenta<sup>7,8</sup>.

### Microscopía óptica convencional

Las muestras de tejido placentario obtenidas del cuerno gestante fueron fijadas en formol tamponado al 10%. Se deshidrataron, se incluyeron en parafina y se realizaron cortes histológicos de  $\pm 4-5$  µm. Los cortes fueron teñidos con hematoxilina/eosina para su evaluación microscópica.

**Hematoxilina/eosina.** Los cortes histológicos fueron desparafinados y rehidratados; posteriormente se colorearon con la solución de trabajo de hematoxilina de 2 a 3 minutos y se lavaron durante 5 minutos con agua corriente. Luego se colorearon con la solución de trabajo de eosina de 2-3 minutos y se lavaron, nuevamente, 5 minutos con agua corriente. Finalmente, los cortes fueron deshidratados y montados en Entellan (Merk ®). La observación se realizó a través de un microscopio óptico Axiophot (Carl Zeiss) y la adquisición de imágenes se obtuvo a través de una cámara digital Powershot G6, 7.1 megapixels (Canon INC, Japón) adosada al microscopio<sup>8</sup>.

### Análisis estadístico

Los datos fueron analizados estadísticamente utilizando el software InfoStat<sup>6</sup>. Se aplicó un modelo lineal general (ANOVA) que incluyó como efectos fijos el modelo reproductivo (placentas provenientes de yeguas control (Co) y clonadas (Cl) y el sexo del potrillo, así como su posible interacción. Cuando correspondía, se evaluó específicamente el efecto del sexo del potrillo sobre la eficiencia placentaria, y el efecto del modelo reproductivo sobre las restantes variables (días de gestación, tiempo de expulsión placentaria, peso de la placenta y de los potrillos). Las comparaciones de medias se realizaron mediante el test a posteriori LSD de Fisher. En los casos en que no se cumplieron los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, se utilizó el test no paramétrico de Kruskal Wallis. Los resultados se consideraron estadísticamente significativos cuando  $p \leq 0,05$ .

## RESULTADOS

### Análisis de los parámetros placentarios

En la Tabla 1 se presentan los registros de la historia clínica de cada yegua gestante, la presencia o ausencia de alteraciones placentarias durante la gestación, evaluadas mediante control ultrasonográfico transrectal, los días de gestación hasta el parto y el tiempo de expulsión placentaria. En las yeguas receptoras de embriones clonados se observó un aumento del espesor combinado útero-placentario (ECUP) en comparación con el grupo control, acompañado de edema subplacentario y pérdida de la definición de capas, hallazgos compatibles con placentitis. Por el contrario, las placentas del grupo control mantuvieron un patrón ecográfico normal (ECUP 0,93–1,22 cm), dentro del rango esperado para yeguas a término (Figura 1 A,B). Dentro del grupo control, todas las placentas se registraron como normales, sin alteraciones previas al parto. En el grupo de clones, 4 de 10 placentas presentaron signos compatibles con placentitis, mientras que las 6 restantes mostraron alteraciones ecográficas leves, como engrosamiento focal de membranas o acumulación moderada de líquido.

El análisis descriptivo de los potrillos al momento del parto mostró que, en el grupo control (n = 10), el peso medio fue de 50,30 kg (mínimo: 41,00 kg; máximo: 58,00 kg), con 2 hembras (20 %) y 8 machos (80 %). El peso medio de la placenta fue de 5,34 kg (mínimo: 4,5 kg; máximo: 6,5 kg). En el grupo de clones, el peso medio de los potrillos fue de 42,79 kg (mínimo: 31,35 kg; máximo: 52,00 kg), y todos fueron hembras (100 %) (n = 10). El peso medio de la placenta en este grupo fue de 6,9 kg (mínimo: 5 kg; máximo: 11 kg).

Se observaron diferencias en la eficiencia placentaria entre placentas de gestaciones naturales y de clones (9,48 vs 6,48;  $p < 0,05$ ) (Gráfico 1, A). Los días de gestación no mostraron diferencias significativas entre grupos, con medias de 345,30 días para el grupo control y 353,80 días para el grupo de clones ( $p > 0,05$ ). Tampoco se encontraron diferencias significativas en el tiempo de expulsión placentaria, con medias de 55,3 minutos para el grupo control y 61,3 minutos para el grupo de clones ( $p > 0,05$ ) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Características analizadas en el grupo control de gestaciones naturales (n=10) y en el grupo de clones equinos (n=10). Los valores se expresan como la media  $\pm$  desvío estándar, se consideran además los valores mínimos y máximos de cada variable analizada. Los asteriscos (\*) señalan diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0,05$ ).

Características	Control (n=10)	Desvío estándar	Mín	Máx	Clones (n=10)	Desvío estándar	Mín	Máx	p valor
Patologías preexistentes	No				Si Placentitis (4/10)				
Días de gestación (DDG)	345,30	6,62	334,00	356,00	353,80	16,28	332,00	378,00	p=0,1435
Tiempo de expulsión placenta (min)	55,30	47,08	14,00	143,00	61,30	47,32	15,00	150,00	p=0,7795
Peso de placenta (Kg)	5,34	0,53	4,50	6,50	6,90 *	2,14	5,00	11,00	p $\leq$ 0,05
Peso de potrillo (Kg)	50,30	5,74	41,00	58,00	42,79 *	7,31	31,35	52,00	p $\leq$ 0,05
Eficiencia placentaria	9,48	1,14	6,62	10,74	6,48 *	1,24	4,73	7,91	p $\leq$ 0,05

DDG: días de gestación. min: minutos. kg: kilogramos.

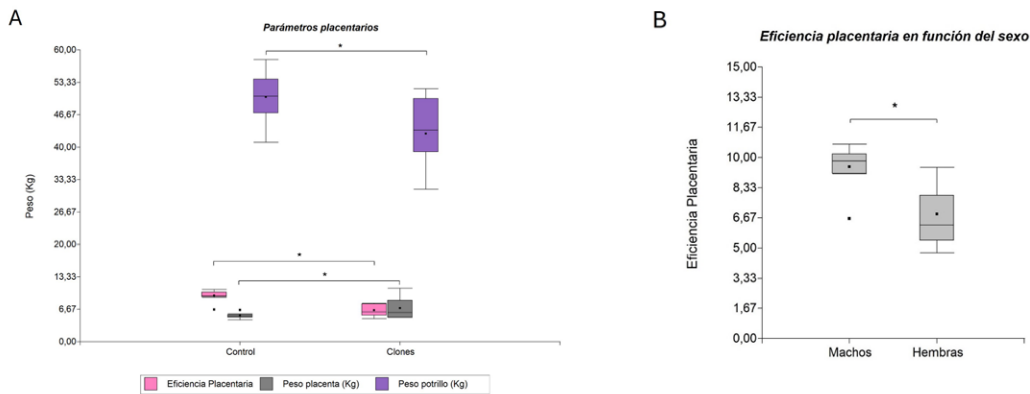
\*: asteriscos indican diferencia significativa respecto al grupo control ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 1.** A. Imagen ultrasonográfica transrectal de una yegua del grupo control (Co) a término de gestación, con espesor combinado útero-placentario (ECUP) entre 0,93 y 1,22 cm, estructura ecográfica homogénea y sin evidencia de edema o desprendimiento placentario. B. Ultrasonografía de una yegua receptora del grupo clones equinos (CI) a los 348 días de gestación, donde se observa incremento del ECUP (2,06 cm) y presencia de edema subplacentario, sin signos de desprendimiento.

El sexo de los potrillos influyó sobre la eficiencia placentaria, con mayores valores en

machos comparados con hembras ( $p < 0,05$ ) (Gráfico 1, B).

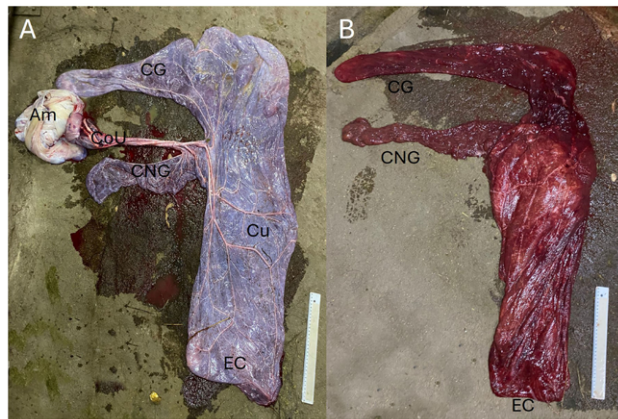


**Gráfico 1. A.** Análisis estadístico de parámetros placentarios, eficiencia placentaria, peso placentario (Kg) y peso del potrillo al nacimiento (Kg). Asteriscos señalan diferencias estadísticamente significativas entre los grupos Control vs. Clones, ( $p < 0.05$ ). **B.** Eficiencia placentaria según el sexo del potrillo, Machos vs. Hembras, sin considerar el efecto del modelo reproductivo. Asteriscos señalan diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.05$ ).

### Análisis macroscópico placentario

A partir de la observación y el análisis macroscópico de las placentas, en el grupo control, se pudo observar la integridad de la superficie alantoidea, presentando un color blanco azulado translucido, con vasos tortuosos prominentes (Figura 2, A). La superficie coriónica, se destacó

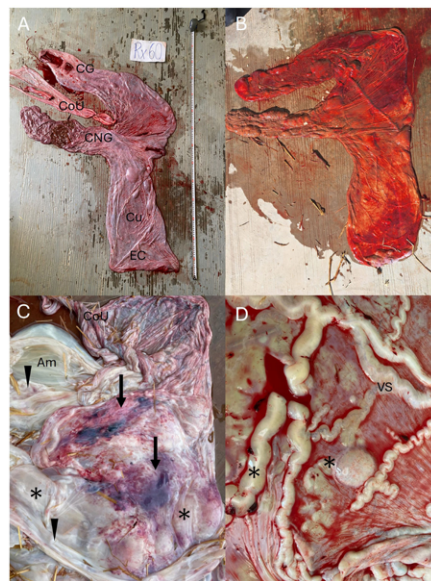
por un color rojizo y de aspecto aterciopelado, caracterizado por la presencia de microcotiledones (Figura 2, B). También se consideró la integridad del cordón umbilical, formado por las arterias, venas y uraco umbilicales, que comprenden la porción amniótica del ombligo, de apariencia en espiral (Figura 2, A, CoU).



**Figura 2.** Placenta equina del grupo control (Co), normal, en forma de "F" para su evaluación macroscópica. **A.** Superficie alantoidea de color blanco azulado translucido, con vasos tortuosos prominentes. **B.** Superficie coriónica, de color rojizo y aspecto aterciopelado, caracterizado por la presencia de microcotiledones. **CG.** cuerno gestante; **CNG.** cuerno no gestante; **CoU.** cordón umbilical; **Am.** amnios; **Cu.** cuerpo; **EC.** estrella cervical.

Al analizar las placentas del grupo de clones equinos, se hallaron diversas alteraciones patológicas, en la superficie alantoidea se encontraron zonas edematosas y otras zonas de fibrosis (Figura 3, A). En la superficie coriónica, se observó ausencia de microcotiledones, con un aspecto amarronado y pérdida del color rojizo

característico (Figura 3, B). El amnios se observó engrosado en el 60% de las placentas, con vasos sanguíneos tortuosos y presencia de hematomas (Figura 3, C y D). Es de especial importancia mencionar que, a pesar de las alteraciones halladas en las placentas de clones equinos analizadas, se obtuvo un 100% de natalidad de los potrillos gestados.



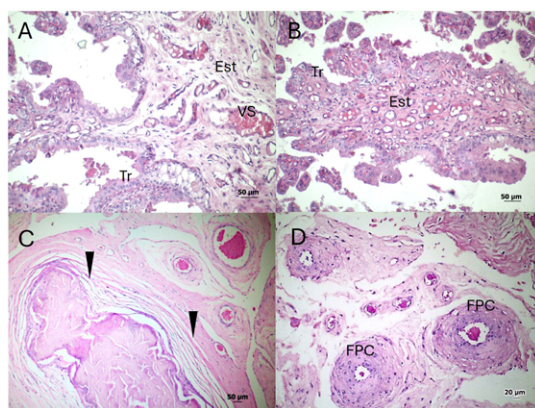
**Figura 3.** Placenta de clones equinos (Cl) en forma de "F" para su evaluación macroscópica. **A.** Superficie alantoidea de aspecto laxo, zonas de necrosis y hematomas. **B.** Superficie coriónica, de color rojizo con zonas amarronadas, pérdida de aspecto aterciopelado con hemorragias. **C:** Amnios con presencia de edema (asteriscos), pequeños hematomas (flechas) y fibrosis (puntas de flecha). **D:** Imagen ampliada del amnios, con vasos tortuosos y engrosados, se observan vasos sanguíneos con morfología serpiginosa. Los asteriscos señalan presencia de edema evidenciada por su superficie brillante. **CG.** cuerno gestante; **CNG.** cuerno no gestante; **CoU.** cordón umbilical; **Am.** amnios; **Cu.** cuerpo; **EC.** estrella cervical; **VS.** vasos sanguíneos.

### Análisis microscópico placentario

En las placentas provenientes de gestaciones normales (Figura 4, A y B) se observó un estroma corial laxo, con disposición regular de fibras colágenas finas y presencia de vasos de luz amplia, revestidos por un endotelio continuo y sin engrosamiento de sus paredes. Las vellosidades coriónicas mostraron un trofoblasto bien conservado, con núcleos uniformes y citoplasma basófilo, y ausencia de depósitos hialinos o fibrosis. El espacio intervascular se encontraba bien definido y sin evidencias de necrosis ni edema.

En contraste, las placentas de gestaciones clonadas (Figura 4, C y D) presentaron alteraciones estructurales notorias, consistentes con una severa vasculopatía placentaria crónica. Se evidenció un marcado engrosamiento del estroma perivascular, fibrosis

colágena concéntrica y áreas extensas de hialinización del tejido conectivo. A nivel vascular, se observaron vasos sanguíneos con un lumen significativamente reducido (estenosis), debido al engrosamiento de sus paredes, y una consecuente pérdida de la arquitectura vascular normal (Figura 4, D). El engrosamiento mural fue notable, con un claro predominio a nivel de la túnica media, lo que provocó una severa estenosis al observarse paredes vasculares que superaban considerablemente el calibre de su propio lumen. Además, algunos vasos de mediano calibre exhibieron una morfología serpigiosa y una intensa deformación luminal. No se detectó infiltrado inflamatorio significativo en las áreas afectadas. Estas alteraciones reflejan una vascularización deficiente y una remodelación tisular desorganizada, hallazgos consistentes con los cambios morfofisiológicos detectados a nivel macroscópico.



**Figura 4.** Comparación histológica entre placenta equina correspondiente a cuerno gestante. **A y B.** grupo control (Co), normal, estroma corial laxo con fibras colágenas finas, vasos de luz amplia y trofoblasto íntegro. **C y D.** Placenta de clones equinos (Cl): engrosamiento estromal, fibrosis colágena perivascular concéntrica y áreas de hialinización del tejido conectivo con reducción luminal vascular. Puntas de flecha señalan áreas de fibrosis rodeando a una estructura amorfa de aspecto hialino. Se destaca una vasculopatía severa caracterizada por engrosamiento mural prominente (a expensas de la túnica media) que genera estenosis y marcada reducción luminal vascular. **Tr.** trofoblasto; **Est.** estroma; **VS.** vasos sanguíneos; **FPC.** fibrosis perivascular concéntrica. Tinción Hematoxilina/Eosina, Escala = 50 µm.

### DISCUSIÓN

El presente estudio sobre la placenta de clones equinos y su eficiencia placentaria aporta evidencia sobre las alteraciones estructurales observadas en las placentas de equinos clonados en comparación con aquellas provenientes de gestaciones naturales. Se identificaron diferencias significativas en la eficiencia placentaria, con valores inferiores en el grupo de clones, lo que sugiere un menor rendimiento de la placenta en la transferencia de nutrientes hacia el feto. Estos hallazgos concuerdan con estudios previos que indican que las gestaciones clonadas presentan una mayor incidencia de anomalías placentarias, lo que podría afectar la viabilidad fetal y el desarrollo

neonatal<sup>4, 19</sup>. La placenta equina es de tipo difusa, microcotiledónea y epiteliocorial, lo que implica una íntima relación entre los microcotiledones coriales y las criptas endometriales para el intercambio de nutrientes<sup>17</sup>. Sin embargo, en este estudio se observó una reducción o ausencia de microcotiledones en las placentas de clones equinos, lo que puede comprometer su función nutricional. Otros estudios, han indicado que la insuficiencia placentaria es un factor determinante en la prolongación de la gestación y la disminución del peso al nacer en clones equinos<sup>18</sup>. Si bien se observó una leve prolongación en los días de gestación de los clones equinos, esta diferencia no resultó estadísticamente significativa. Esta

observación podría estar influenciada por la limitación del tamaño muestral, que podría haber reducido la potencia para detectar diferencias menores. Sin embargo, los datos obtenidos proporcionan información valiosa sobre la gestación de clones equinos, contribuyendo a la comprensión de su fisiología reproductiva. Las alteraciones macroscópicas encontradas en las placentas clonadas luego del parto, tales como edema, fibrosis y alteraciones vasculares, podrían estar relacionadas con las placentitis detectadas por ultrasonografía durante la gestación que evidenciaron un incremento del ECUP y, en consecuencia con la insuficiencia placentaria<sup>1, 2, 3, 16</sup>. El análisis microscópico respaldó estos hallazgos al confirmar la presencia de una severa vasculopatía en el lecho vascular placentario, caracterizada por fibrosis colágena perivascular concéntrica, engrosamiento de la túnica media y estenosis luminal en múltiples arteriolas, lo que compromete el flujo sanguíneo materno-fetal y reduce el aporte de oxígeno y nutrientes hacia los tejidos fetales. Estos hallazgos sugieren que dichas alteraciones inciden directamente en el desarrollo de una insuficiencia placentaria, comprometiendo el intercambio materno-fetal<sup>13</sup>. En términos de eficiencia placentaria, se halló que las placentas de clones eran significativamente más pesadas que las del grupo control, lo que podría sugerir una menor capacidad funcional en relación con su masa<sup>7</sup>. El menor peso al nacimiento de los potrillos clonados, en relación con el peso placentario, podría estar asociado con la reducida eficiencia placentaria, lo que enfatiza la importancia del correcto desarrollo placentario en la viabilidad fetal<sup>5</sup>. Este hallazgo es análogo a lo reportado en investigaciones previas de nuestro laboratorio, donde se observó que, en placentas de cabras sometidas a una restricción nutricional, se produce un aumento del peso placentario<sup>8</sup>. Por lo tanto, placentas más pesadas no reflejan una mejor capacidad de transporte de nutrientes, sino que pueden ser el resultado de mecanismos compensatorios en un ambiente uterino adverso. En estos casos, la alteración en la vascularización y el incremento del tejido conjuntivo reducen la eficiencia placentaria, afectando el desarrollo fetal de manera similar a lo observado en los equinos clonados<sup>8</sup>. Finalmente, es relevante considerar que, a pesar de las alteraciones placentarias observadas en los clones, todos los potrillos fueron viables. Esto sugiere que, si bien la clonación impacta en la estructura y función placentaria, los mecanismos compensatorios

que aseguran la supervivencia fetal requieren ser dilucidados. Sin embargo, estas alteraciones podrían influir en la salud neonatal y en el desarrollo posterior de los potrillos, lo que amerita estudios adicionales sobre la función placentaria a nivel histológico y molecular<sup>12, 15</sup>. En consecuencia, se requieren futuros estudios, con un mayor número de individuos, que permitan abordar un análisis histomorfológico y microvascular placentario, con el fin de identificar y comprender las alteraciones subyacentes que comprometen la eficiencia placentaria para desarrollar estrategias terapéuticas que optimicen el intercambio materno-fetal.

## CONCLUSIÓN

Nuestros hallazgos indican que, aunque los clones equinos presentan viabilidad y sobrevivencia, muestran una marcada reducción en la eficiencia placentaria en comparación con gestaciones naturales. El incremento del peso placentario en los clones, acompañado de alteraciones estructurales significativas, incluyendo vasculopatía crónica, se traduce en una menor capacidad de transporte de nutrientes. Estos cambios sugieren la activación de mecanismos compensatorios a dilucidar, destinados a mantener el desarrollo fetal frente a condiciones adversas durante la gestación.

## AGRADECIMIENTOS

Se agradece la participación especial de las personas que colaboraron en la recolección de datos y toma de muestras placentarias: Martina Garay, Omar Morel, Erica Hansson, Florencia Sarasola, Amaia Arrieta, Maximiliano Gianotti, Florencia Regis y Leandro Pereyra.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Brinsko, S. P.; Blanchard, T. L.; Varner, D. D. Transrectal ultrasonography in broodmare practice. *Manual of Equine Reproduction*. 2011; 3rd ed.: 1-9. Mosby Elsevier, Maryland Heights, Mo.
2. Bucca, S., Fogarty, U., Collins, A., & Small, V. (2005). Assessment of feto-placental well-being in the mare from mid-gestation to term: transrectal and transabdominal ultrasonographic features. *Theriogenology*, 64(3), 542-557. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2005.05.011>

3. Canisso, I. F., Ball, B. A., Erol, E., Squires, E. L., & Troedsson, M. H. T. (2015). Comprehensive review on equine placentitis. *Proceedings of the American Association of Equine Practitioners (AAEP)*, 61, 490–509.
4. Cortez, J.; Hardwicke, K.; Cuervo-Arango, J.; Grupen, C. Cloning horses by somatic cell nuclear transfer: Effects of oocyte source on development to foaling. *Theriogenology*. 2023; 203: 99–108. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.03.018>
5. Davies Morel, M. C. G. Equine Reproductive Physiology, *Breeding and Stud Management*. 2003; 2nd ed.: Chapter 5, 53–58.
6. Di Rienzo, J.; Casanoves, F.; Balzarini, M.; Gonzalez, L.; Tablada, M.; Robledo, C. InfoStat versión P 2019. Argentina: Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba.
7. Dwyer, C.; Calvert S.; Farish M.; Donbavand J.; Pickup H. 2005. Breed, litter and parity effects on placental weight and placentome number, and consequences for the neonatal behaviour of the lamb. *Theriogenology*. 63:1092- 1110. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2004.06.003
8. Fiorimanti, M.; Cristofolini, A.; Benzoni, A.; Bozzo, A.; Díaz, T.; Flores-Bracamonte, C.; Audap Soubie, R.; Coniglio, V.; Cavaglieri, L.; Barbeito, C.; Merkis, C. Eficiencia placentaria en cabras restringidas nutricionalmente durante la gestación. *Ab Intus* 2021, 7(4), 35–42.
9. Frazer, G. *Alteraciones del aparato reproductor. Medicina Interna Equina*. 2005; 2ª ed.: Vol. 2. Editorial Interamericana, McGraw-Hill, Buenos Aires, Argentina.
10. Galli, C.; Lagutina, I.; Duchi, R.; Lazzari, G. Cloning of Equines. *Principles of Cloning*. 2014; 2nd ed.: 287–297. Academic Press, USA.
11. Lanci, A.; Merlo, B.; Grandis, A.; Mariella, J.; Castagnetti, C.; Iacono, E. Gross and histological examination of Wharton's Jelly in the equine umbilical cord. *Theriogenology*. 2023; 209: 184–192. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2023.06.032>.
12. Morressey, P. How to perform a field assessment of the equine placenta. *50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*. 2004; Denver, CO, USA. En: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20053193827>. Consultado el 15 de febrero de 2025.
13. Neto da Silva, A. C.; Costa, A. L.; Teixeira, A.; et al. *Colágeno y microvascularización en placentas de yeguas jóvenes y mayores*. Axon Comunicación. 2022. En: <https://axoncomunicacion.net>. Consultado 28 noviembre de 2024.
14. Olivera, R.; Moro, L. N.; Jordan, R.; et al. Bone marrow mesenchymal stem cells as nuclear donors improve viability and health of cloned horses. *Stem Cells Cloning*. 2018; 11: 13–22. En <https://doi.org/10.2147/SCCAA.S151763>.
15. Paradis, M. R. Equine Neonatal Medicine. *A Case-Based Approach*. 2006; Chapter 1: 5–6.
16. Pozor, M. A.; Sheppard, B.; Hinrichs, K.; Kelleman, A. A.; Macpherson, M. L.; Runcan, E.; Choi, Y.-H.; Diaw, M.; Mathews, P. M. Placental abnormalities in equine pregnancies generated by SCNT from one donor horse. *Theriogenology*. 2016; 86(6): 1573–1582. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.05.017>.
17. Steven, D. H. Placentation in the mare. *J. Reprod. Fertil. Suppl*. 1982; 31: 41–55.
18. Troedsson, M.; Sage, A. Evaluación del feto y la placenta en la yegua. *Recent Advances in Equine Reproduction*. 2001; B.A. Ball (Ed). En: <https://www.ivis.org/library/recent-advances-equine-reproduction/evaluaci%C3%B3n-del-feto-y-de-la-placenta-en-la-yegua>. Consultado 10 de diciembre de 2024.
19. Verstraete, M.; Carneiro, F.; Orellana-Guerrero, D.; Daels, P.; Fernandes, C.; Dini, P. Transcriptomic analysis of the chorioallantois of equine cloned pregnancies. *J. Equine Veterinary Science*. 2022; 113: 28.
20. Wooding, F.; Burton, G. *Comparative Placentation: Structure, Functions and Evolution*. 2008. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.