

Alteraciones histológicas asociadas a la muerte de un ternero clonado en una ganadería mexicana productora de ganado de lidia

Histological Alterations Associated with the Death of a Cloned Calf in a Mexican Bullfighting Cattle Ranch

Irma Tovar-Corona^{1*}, Violeta Ordóñez-Espinosa², Viridiana García-Jiménez¹, Rafael Ordóñez-Medina¹ y Perla Xóchitl Cruz-Robledo³

¹Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Cuautitlán Izcalli, México.

²Centro Médico Nacional 20 de Noviembre del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales para los Trabajadores del Estado (ISSSTE). Ciudad de México, México.

³Asesor independiente.

*Correo electrónico: mvzirmatovar@hotmail.com

RESUMEN

En los terneros clonados, las alteraciones de la placenta ocasionan defectos congénitos y alteraciones fisiológicas. El objetivo de este trabajo fue describir los hallazgos patológicos observados en un ternero que murió al nacer, así como las alteraciones encontradas en la placenta. El ternero, producto de la implantación de un embrión clonado en una vaquilla de lidia, fue recuperado a través de la técnica quirúrgica de cesárea. Al no mostrar signos vitales después de haber realizado maniobras de resucitación, se le practicó la necropsia. Anormalidades como el edema de la placenta, la presencia de múltiples placentomas voluminosos y algunos de escaso volumen fueron observadas. En el ternero se destacó la pigmentación amarilla de las pezuñas, la presencia de riñones pequeños con cápsula y corteza renal oscuras, tejido pulmonar compacto y pigmentado, así como la pleura con áreas oscuras. El estudio histológico de las muestras reveló corangiosis placentaria con cambio hialino, la presencia de un cordón umbilical triarterial, edema pulmonar, necrosis tubular aguda y congestión esplénica; además se observó la presencia de pigmentos de color verde oscuro en el tejido pulmonar y renal. Estos hallazgos condujeron a concluir que la muerte del ternero es imputable a las lesiones tisulares ocasionadas por una hipoperfusión crónica con hipoxia fetal debida a la hiperplasia capilar de las vellosidades placentarias. La presencia de los pigmentos biliares en el tejido renal, pulmonar y córneo de las pezuñas, así como la turbidez del líquido alantoideo se atribuyen al sufrimiento fetal prologando ocasionado por la hipoxia.

Palabras clave: Corangiosis placentaria; clonación; ternero clonado

ABSTRACT

Placental abnormalities led to congenital defects, physiological alterations, and death in cloned calves. The aim of this work was to describe pathological findings in a new-born dead cloned calf and associate those with placental chorangiosis. The cloned calf was obtained from a pregnant fighting heifer by caesarean section. The new-born calf did not show vital signs despite the resuscitation manoeuvres applied. So, calf necropsy was done, and histopathological lesions were studied and analysed. Macroscopic findings such as larger placentomes than normal, scarce small caruncles, and oedematous foetal membranes were observed. The cloned calf had yellowish hooves. Internal abnormalities were small kidneys with dark capsule and renal cortex, and compact, yellowish lung parenchyma with darker areas on the pleura. The histologic study of the samples revealed placental chorangiosis with hyaline change, tri-arterial umbilical cord, pulmonary oedema, renal acute tubular necrosis, and splenic congestion. Besides, dark greenish pigmented material was noticed in pulmonary and renal tissue. The cause of the death in this cloned calf was attributed to anatomopathological and histological findings such as pulmonary oedema, splenic congestion, and renal acute tubular necrosis. All those histological lesions are associated with chronic hypoperfusion and foetal hypoxia due to placental chorangiosis (capillary hyperplasia in terminal villi) and hyaline change. The presence of bile pigments in pulmonary and renal tissue, yellowish hooves and turbid allantoic fluid are attributed to long-standing foetal suffering caused by hypoxia.

Key words: Placental chorangiosis; cloning; cloned calf

INTRODUCCIÓN

El término clonación animal se refiere a un medio asexual de reproducción asistida, para producir copias genéticamente idénticas de cualquier animal sin el uso de espermatozoides [19]. Desde que tuvo éxito en ovejas (*Ovis aries*), la clonación por medio de la transferencia nuclear de células somáticas (TNCS) se ha incrementado de manera significativa en los mamíferos. Sin embargo, la elevada incidencia de fallas en la gestación y el alto riesgo de muerte fetal perjudican el desarrollo económico de esta tecnología, aún en los bovinos (*Bos taurus*), especie en la que la clonación es más exitosa en comparación con otras [4, 10]. Esta técnica permite hacer una copia de cualquier animal cuyo genotipo y fenotipo es bien conocido, a través de la producción lechera, si es una vaca, o a través de su progenie, si es un semental [10].

El proceso de la clonación por medio de TNCS es un método complejo de reproducción asistida que requiere microcirugía, cultivo y transferencia embrionaria [13]. El proceso incluye a) la maduración *in vitro* y enucleación de los ovocitos en metafase II, b) inserción del núcleo (Ácido desoxirribonucleico -ADN-) de una célula somática en el ovocito enucleado, c) activación del cigoto, d) cultivo *in vitro* del embrión y e) transferencia del embrión a una vaca receptora [20]. El individuo obtenido será genéticamente idéntico al donador de la célula somática [22].

El principio básico de la Transferencia Nuclear (TN) consiste en remover el núcleo de un ovocito maduro no fertilizado, el cual se denomina "ovocito recipiente", y transferir el núcleo de una célula llamada "donante". El ovocito recipiente brindará el ambiente necesario para que el núcleo de la célula donante se transforme y exprese los genes de un embrión, así como los elementos necesarios para que se produzcan las primeras divisiones celulares del cigoto (óvulo fecundado) y dará la información genética al embrión reconstituido [13].

La clonación puede ser usada para obtener múltiples copias de animales de alto valor genético, para producir animales transgénicos para la producción farmacéutica o preservar especies en peligro de extinción. Además, es una herramienta esencial para el estudio de la función de los genes, la huella genética, la reprogramación genómica, la regulación y desarrollo de enfermedades genéticas, la terapia de genes, y otros temas. Sin embargo, uno de los retos que enfrenta es su baja eficiencia (0-10 %) y alta incidencia de anomalías en los fetos y la placenta [22].

La clonación por medio de la TN ha sido un proceso ineficiente ya que, en los bovinos, sólo alrededor del 5-6 % de los embriones transferidos resultan en clones saludables y longevos [2, 10, 24]. Los embriones clonados con frecuencia mueren después de la implantación o durante la gestación [25]. Las células donantes de núcleos (carioplastos) son uno de los principales factores que afectan la eficiencia de la clonación. La capacidad de las células de fundirse con el citoplasto receptor y luego ser reprogramadas, depende de la línea celular utilizada como donante de núcleo. Los fibroblastos de piel y células del cúmulo pueden cultivarse, expandirse y congelarse sin perder su capacidad de soportar el desarrollo de embriones por TNCS [7].

La gestación se pierde muchas veces debido a la incorrecta función y desarrollo de la placenta [22, 24]. La mayoría de las pérdidas durante el primer trimestre son debidas a la implantación anormal y al pobre desarrollo placentario, lo que conduce a la muerte fetal (hasta en 50 %). Esta mortalidad es muy alta en comparación con la que se

produce en las concepciones naturales (2-4 %) o la reportada en los embriones producidos *in vitro* (10 %)[4, 10].

La pérdida de productos clonados por medio de TNCS se debe a las anomalías cromosómicas del embrión, los cambios hormonales, así como la transferencia embrionaria asincrónica y el rechazo inmunológico. La falta de desarrollo o el desarrollo anormal de los placentomas se observa comúnmente entre los días (d) 30 a 50. En el primer trimestre, puede haber escasa vascularización alantoidea, desarrollo retrasado o acelerado de los cotiledones y formación de menor número de placentomas [4]. La vascularidad y la placentación son indispensables para que la placenta pueda desarrollarse y el feto crezca de manera exponencial [10]. Cuando el número de placentomas se reduce demasiado (80 %) hay un alto riesgo de perder la gestación antes del d 90. Los fetos recuperados justo después de morir muestran un crecimiento normal, por lo que la falta de placentación normal parece ser la causa de la muerte más que las anomalías fetales *per se*, al impedir un adecuado contacto materno-fetal con escasa transferencia de nutrientes [4]. Además, hay evidencia de que el rechazo inmunológico contribuye a la pérdida embrionaria [10, 24] ocasionada posiblemente por la perturbación de la expresión de importantes antígenos clase I del complejo de histocompatibilidad de la placenta [9].

En los bovinos, 50 a 70 % de las gestaciones se pierde desde el d 50 y hasta el fin de la gestación —en contraste con la inseminación artificial que tiene un 5 % de pérdidas— ya que comúnmente la placenta de los clonados sólo tiene la mitad de los placentomas, los cuáles muestran sobrecrecimiento compensatorio y edema. En casos extremos los placentomas están ausentes al d 50 [10, 24]. Con frecuencia, la falta de placentomas es compensada con el incremento de su volumen, lo que favorece el sobrecrecimiento de los productos. Las pérdidas ocurridas en el último trimestre de la gestación que afectan al 25 % de las preñeces, se deben al sobrecrecimiento fetal, así como a las anomalías en la placenta y el feto. En todos los casos, la placenta parece ser el origen de la patología [4]. Los cambios placentarios más notables incluyen la reducción del número de placentomas, desarrollo vascular pobre, hidroalantoides, placentomegalia en la última fase de preñez, hipoplasia del epitelio trofoblástico y una alteración en la implantación. La fusión de los placentomas puede explicarse por el aumento en su volumen y el descenso en su número, ocasionando que áreas extensas de la membrana corioalantoidea carezcan de éstos. También se ha reportado un incremento en el número de microcotiledones accesorios funcionales. Otros cambios notables incluyen áreas extensas con sangre materna extravasada dentro de los placentomas. Las criptas de las carúnculas se dilatan y se unen a más de una vellosidad primaria del cotiledón [16]. Las anomalías placentarias pueden llevar a la falta de oxigenación fetal [9]. La placentomegalia e hidroalantoides pueden diagnosticarse por medio de la ecografía o palpación rectal. Este último produce lesiones fetales como el onfalocele, ascitis, cardiomegalia, esteatosis hepática e hidronefrosis, por lo que se recomienda la interrupción de la gestación por medio de la cesárea o el sacrificio de los animales afectados una vez que se diagnostica [4].

Las anomalías en la membrana amniótica hacia el d 120 de la gestación incluyen al edema focal y la presencia de una serie de nódulos en 38 % de los productos clonados. Estos cambios se acompañan por picos de hipercogénicidad o irregularidades detectadas ecográficamente alrededor del cordón umbilical [16]. También se ha observado el agrandamiento del cordón umbilical [10], que puede provocar sangrado excesivo luego del nacimiento y servir

como una vía de infección bacteriana. Si se sospecha de hemorragia interna, Fecteau y col. [9] recomiendan realizar un examen ecográfico de las estructuras umbilicales para localizar el vaso que sangra.

La excesiva acumulación de líquido alantoideo puede ser progresiva a partir de la segunda mitad de la gestación. Su volumen normal es de 8 a 15 litros (L), pero en esta condición se incrementa 10 veces, quizá porque los mecanismos de excreción-reabsorción del líquido alantoideo están alterados, o a causa del daño de la microestructura y la permeabilidad alterada de la membrana corioalantoidea. Su composición electrolítica (Na, K y Cl) difiere del líquido normal y se parece al líquido extracelular. La ruptura del tendón pre púbico es una posible complicación del hidroalantoideo [16].

El manejo de los terneros clonados es diferente al de otros, debido a su alto valor y la tendencia a desarrollar ciertas condiciones patológicas [9]. La asistencia del parto se considera necesaria porque la gestación se prolonga y el peso al nacimiento puede ser 25 % superior al normal [24]; el riesgo de distocia aumenta especialmente en vaquillonas receptoras primerizas [9]. Los recién nacidos clonados tienen glándulas adrenales normales, por lo que la gestación prolongada puede deberse a una falla de la placenta para responder al cortisol fetal, o a la falta de liberación de la hormona adrenocorticotrópica del feto. Cuando hay gestación prolongada se sugiere realizar la cesárea [24]. Generalmente se aplican 20 a 30 miligramos (mg) de dexametasona, acompañada o no de 25 mg de prostaglandina, 36 horas (h) antes de realizar la cirugía. Además de inducir la parición, el tratamiento con dexametasona mejora la viabilidad fetal porque estimula a las células alveolares tipo II para que produzcan fosfolípidos surfactantes, acelerando la maduración pulmonar [9].

Las pérdidas posnatales son extensas, los problemas que se reportan más comúnmente son insuficiencia respiratoria, hipertensión pulmonar, sobrepeso, vasos umbilicales expandidos, anomalías musculoesqueléticas, defectos congénitos diversos y función inmune anormal. Son causas comunes de hipoxemia persistente en los terneros neonatos: deficiencia de surfactante pulmonar, neumonía, hipertensión pulmonar persistente, anomalías cardíacas y respiratorias congénitas y encefalopatía neonatal. Las anomalías hematológicas son: mala regulación de la glucosa, anemia, azotemia (creatinina más de 2 mg·decilitros⁻¹) e hiperfibrinogenemia. También se ha reportado disfunción renal con riñones dilatados o displásicos [9]. Diversos autores coinciden en que la viabilidad de los terneros clonados desde que nacen hasta el destete es reducida, a pesar de los cuidados intensivos brindados. Wells [24] cita que los terneros que sobreviven después de las 24 h tienen un metabolismo y fisiología alterados, posiblemente relacionados con las anomalías placentarias y toma tiempo para que estos procesos se normalicen. Un tercio de las muertes puede ocurrir *in utero* o debido a la distocia; después 15 % de los terneros mueren antes del destete a causa de la gastroenteritis e infecciones umbilicales. Pero también reporta defectos cardiovasculares, musculoesqueléticos y neurológicos, aplasia tímica, así como mayor susceptibilidad para desarrollar infecciones pulmonares y desórdenes digestivos. Brisville y col. [3] encontraron en algunos recién nacidos, anomalías como la deformidad de los miembros y el engrosamiento del cordón umbilical, además de acidemia, hiperlactatemia, anemia, leucograma alterado, niveles bajos de proteína, albúmina y globulinas e incremento de los niveles de creatinina. También reportan que ciertos terneros que sobrevivieron 24 h desarrollaron anorexia, hipertermia idiopática, distensión ruminal, úlceras abomasales, intususcepción y dislocación abomasal.

La descendencia de los animales obtenidos por la TNCS es normal. El fenotipo que predomina es el del clonado y su producción de carne o leche no parece ser diferente a la de los animales criados de manera convencional, lo que determina la inocuidad de estos alimentos [24].

Yang y col. [25] modificaron el procedimiento de la TNCS para incrementar la eficiencia de la clonación y reducir las anomalías pre y posnatales. Ellos sugieren que el ovocito enucleado sea de la misma vaca que va a recibir el embrión clonado y a este procedimiento le denominaron "transferencia nuclear autóloga de células somáticas". Los ovocitos fueron obtenidos a través de la punción guiada por ultrasonido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se realizó en la Ganadería Rancho Cerro Frío, municipio de Huichapan, Hidalgo; México, cuyo propietario subvencionó la implantación de embriones clonados en varias vaquillas, con la finalidad de obtener copias de un semental de lidia de alto valor genético. Los procesos de clonación e implantación embrionaria fueron realizados en Estados Unidos de Norteamérica (EUA). Las vaquillas que desarrollaron gestación, se condujeron a la Ganadería Rancho Cerro Frío, en donde se obtendrían los terneros. Una de las vaquillas de lidia (*Bos taurus taurus*) utilizada como receptora de un embrión clonado, se programó a los 270 d de gestación para ser sometida a una cesárea. Se practicó una laparotomía en el flanco izquierdo, con la hembra en estación, previa sedación con xilacina (Procin®, Pisa, México), un método físico de contención, preparación del área quirúrgica y un bloqueo anestésico con lidocaína (Pisacaína, Pisa, México). La amplitud de la incisión en la pared abdominal permitió la exteriorización de la curvatura mayor del cuerno uterino gestante. Al incidir la pared uterina, una gran cantidad de líquido turbio se derramó fuera de la cavidad abdominal. La cabeza y miembros torácicos del producto se acercaron a la incisión y cuando la cabeza de éste se exteriorizó, se limpiaron los ollares y la boca para evitar la aspiración de líquidos, sin que el ternero mostrara signos vitales, aún sin haber realizado el desprendimiento fetal. Enseguida de su remoción se practicaron maniobras de resucitación por medio de masaje torácico, se administró un analéptico (Frecardyl, Vétoquinol, Francia) y se brindó respiración mecánica asistida a través de un ambú o reanimador manual (AirLife™ Reanimador manual para adultos, Vyaire, EUA); al no obtener resultado satisfactorio, se procedió a hacer la necropsia para revelar la causa de su muerte. Se obtuvieron muestras de los placentomas, cordón umbilical, pulmón, hígado, riñón y bazo. Los tejidos fueron fijados en formalina 10 % y enviados al laboratorio para su inclusión, tinción y análisis histológico.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el útero se observaron varios placentomas redondeados con un diámetro mayor de 8 centímetros y algunas microcarúnculas. La unión carúncula cotiledón se hallaba firme. Las membranas fetales se encontraban edematosas, con líquido amarillento (FIG.1). Estos hallazgos coinciden con lo reportado por Chavatte-Palmer y col. [4], Constant y col. [6] y Wells [24], quienes identificaron estas alteraciones placentarias y les atribuyeron ser la causa de la muerte de los terneros clonados.

Descripción macroscópica del ternero

El ternero de aproximadamente 30 kilogramos se encontró fenotípicamente normal de acuerdo con la especie y raza, tal como lo describen Chavatte-Palmer y col. [4]. El desgarre del cordón umbilical



FIGURA 1. Hallazgos morfológicos de la placenta y del ternero: (A) Aspecto externo del ternero; (B) Placentación; (C) Vejiga y estructuras umbilicales; (D) Hígado y vena umbilical; (E) Pezuña pigmentada

se dio de manera espontánea a nivel de la pared ventral abdominal, sin que haya quedado la membrana umbilical. No se percibió el engrosamiento de esta estructura como lo citan Brisville y col. [3]. El tejido córneo de las pezuñas se aprecia pigmentado de color amarillo. La vejiga, elongada y de pared delgada se encontraba unida al uraco. Las estructuras umbilicales en apariencia estaban normales. En el hígado, la vena umbilical y la vesícula biliar no se apreciaron anomalías (FIG.1).

La morfología y volumen del bazo se encontró aparentemente normal. En el abomaso se observó edema y su pared delgada. No se apreciaron alteraciones anatómicas en el intestino. En la luz del retículo, omaso y abomaso se observó la presencia de líquido de color amarillo. El volumen renal se encontró disminuido y ambos riñones estaban rodeados de abundante tejido graso. Al corte, el color oscuro de la cápsula y corteza contrasta con el color rosado de la médula (FIG. 2).

El parénquima pulmonar se encontró visiblemente compacto y pigmentado de color amarillo; en la pleura visceral se identificaron áreas de tono oscuro. En el corazón no se apreciaron anomalías anatómicas (FIG. 3).

Hallazgos microscópicos

Las alteraciones reportadas en el estudio histopatológico son: (a) cordón umbilical triarterial, (b) corangiosis placentaria con degeneración hialina focal de las vellosidades coriales, (c) pulmón con edema y presencia de pigmento biliar (d) bazo con congestión vascular y extravasación de eritrocitos, y (e) riñón con necrosis tubular aguda y depósitos de pigmento biliar.

El cordón umbilical de este ternero clonado tenía 3 arterias, un conducto constituido por epitelio transicional urotelial (uraco) y carecía de vena (FIG. 4). Los cordones umbilicales normales tienen dos arterias y una vena. En este ternero, el vaso umbilical que se dirige hacia el hígado tiene la morfología y estructura histológica de una arteria: redondeado, con túnica media o muscular desarrollada y el diámetro luminal reducido. Tejerina [21] sugiere que la presencia de vasos umbilicales anormales ocasiona hipoxia.

La placenta muestra 10 a 20 capilares en cada vellosidad corial, y algunas vellosidades muestran cambio hialino (FIG. 5). Vafaei y col. [23] afirman que la corangiosis placentaria o hiperplasia capilar de las vellosidades placentarias (cambio vascular que afecta a las vellosidades coriónicas) y los cambios hialinos de las vellosidades son indicativos de hipoperfusión placentaria crónica. Gallo y col. [11] y González y col. [12] consideran que la corangiosis es el resultado de

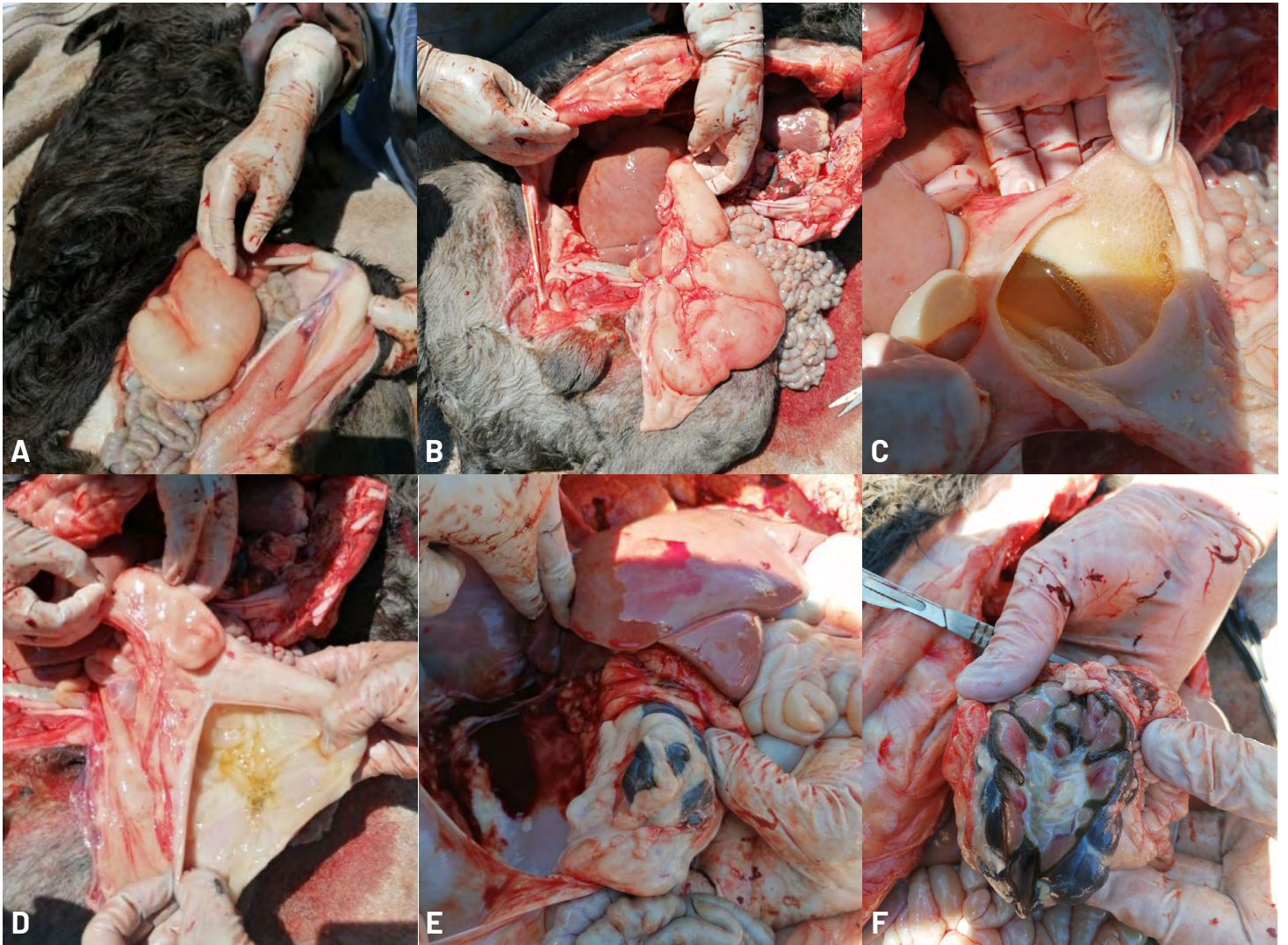


FIGURA 2. Hallazgos morfológicos de los órganos abdominales: (A) Abomaso; (B) Hígado, omaso, abomaso y asas intestinales; (C) Cavity reticular; (D) Cavity abomasal; (E) Riñón; (F) Corteza y médula renal

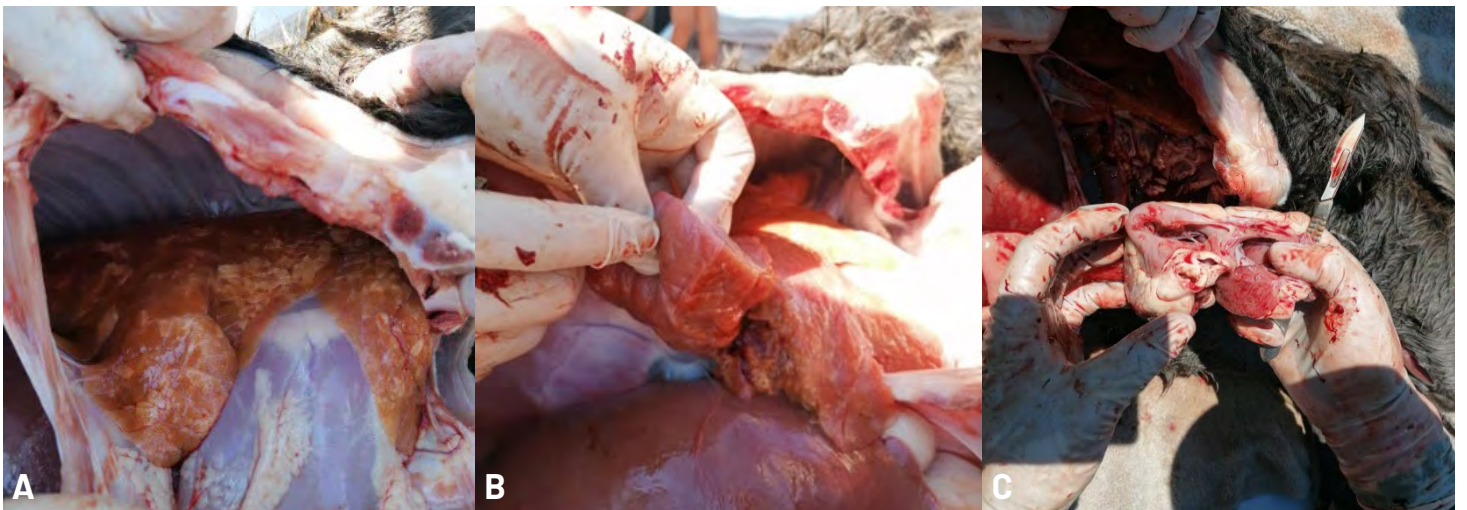


FIGURA 3. Hallazgos morfológicos de los órganos torácicos: (A) Pleura pulmonar; (B) Parénquima pulmonar; (C) Corazón

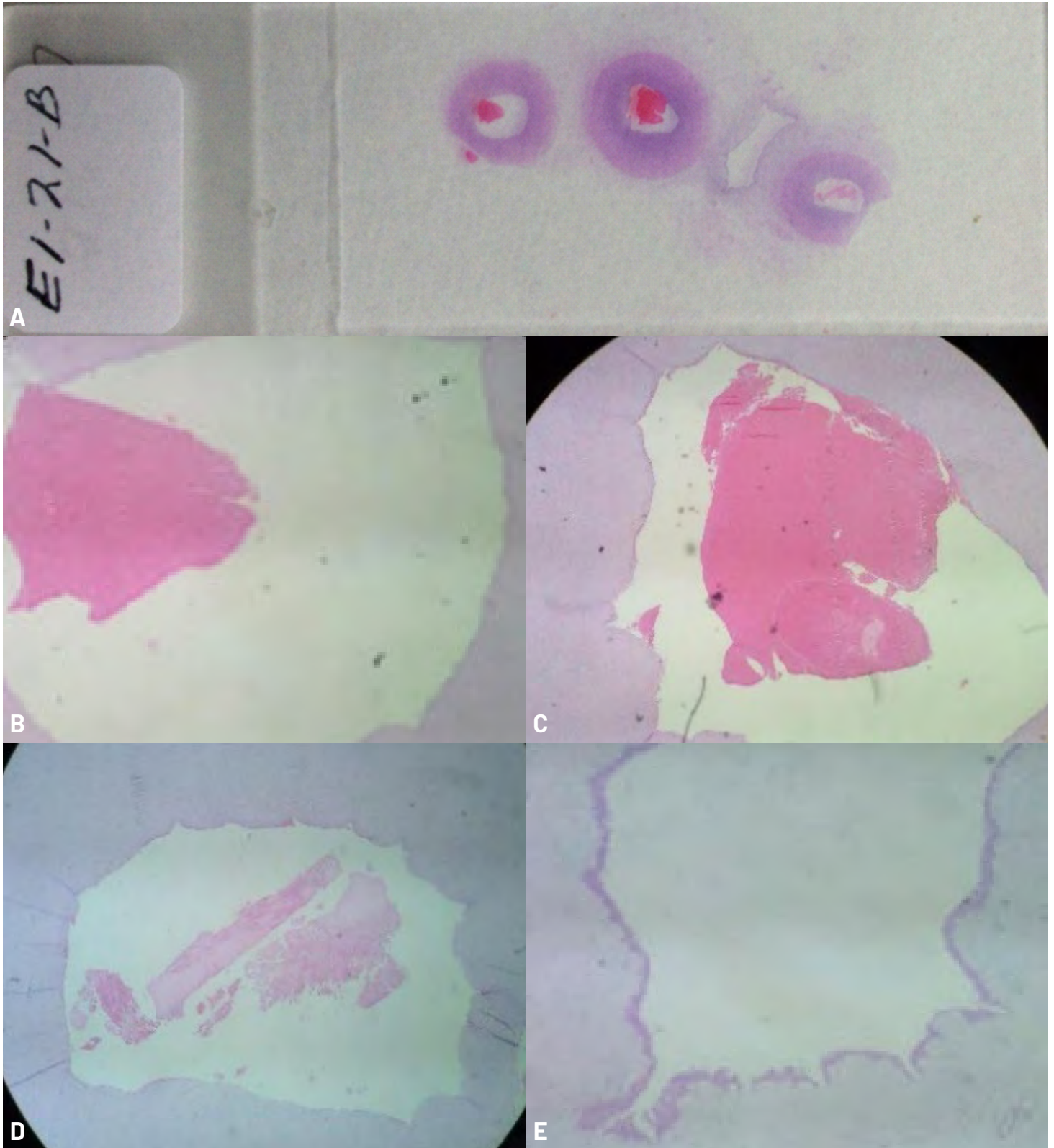


FIGURA 4. Hallazgos histológicos en el cordón umbilical: (A) Estructuras umbilicales, tinción hematoxilina-eosina (HE); (B) Arteria 40x; (C) Arteria 40x; (D) Arteria 40x; (E) Uraco.

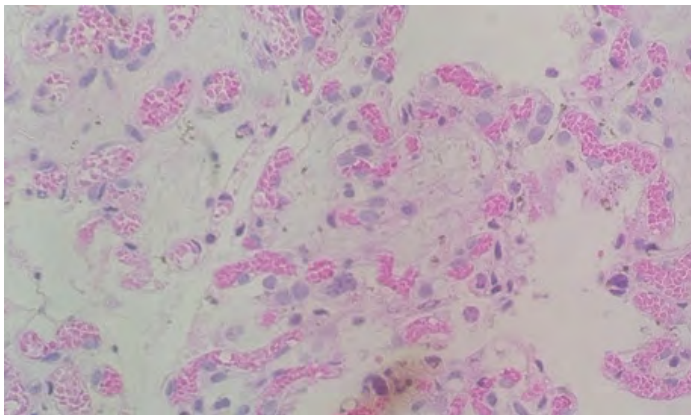


FIGURA 5. Placenta, tinción HE (40x)

una hipoxia crónica del tejido placentario y la relacionan con la hipoxia fetal crónica y la muerte del feto. Benirschke y col. [1] reportan, que la corangiosis crea un ambiente intrauterino adverso para el feto, ya que la placenta intenta agrandar su superficie de difusión.

La arquitectura histológica del hígado no presenta alteraciones (FIG. 6). En el bazo se identificaron alteraciones correspondientes a congestión vascular con extravasación de eritrocitos (FIG. 7). Esta lesión no ha sido descrita en terneros clonados, pero en éste estudio puede ser atribuida al sufrimiento fetal prolongado.

El tejido renal muestra necrosis tubular aguda (NTA) y material amorfo de apariencia biliar (FIG. 8). De acuerdo con Ortega y col. [15], al final de la gestación, la placenta es la responsable del aclaramiento de la sangre, por lo tanto, la función renal en esta etapa se caracteriza por una baja filtración glomerular. Entonces, la NTA en este ternero clonado probablemente se debió a la isquemia del tejido renal, producto de la hipoxia y la acidosis, las cuales predisponen a la NTA, como lo reportan Ortega y col. [15], Porth [17] y Tejerina [21].

En el tejido pulmonar, en fase alveolar, es evidente el edema y la presencia de material amorfo de apariencia biliar (FIG. 9). Islas [14] afirma que el crecimiento del tejido pulmonar de los fetos depende del balance entre la adecuada producción de fluidos y su drenaje, por lo tanto, el edema pulmonar se presenta cuando la salida de líquidos excede a la capacidad del sistema linfático. Tejerina [21] también cita que la hipoxia, la acidosis y la hipercapnia (incremento de la

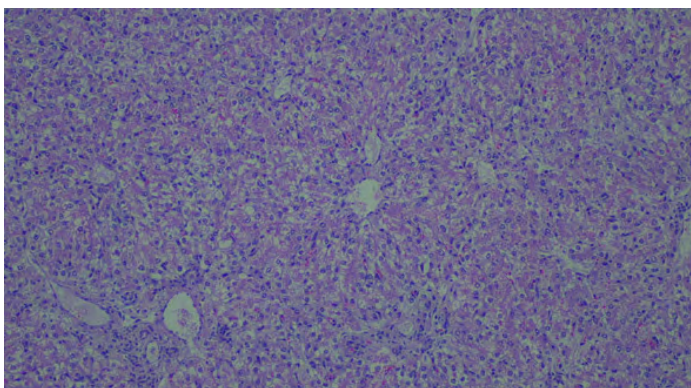


FIGURA 6. Hígado, tinción HE (40x)

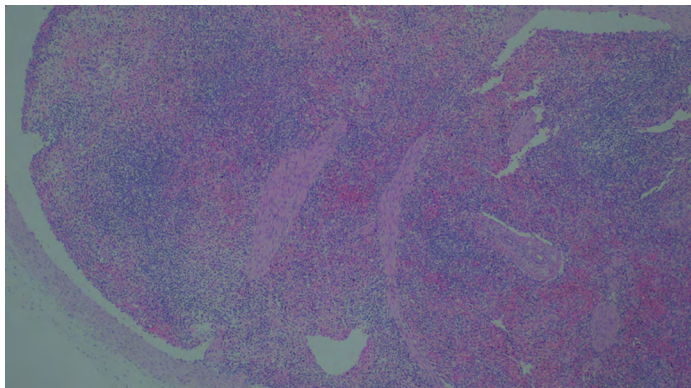


FIGURA 7. Bazo, tinción HE (40x)

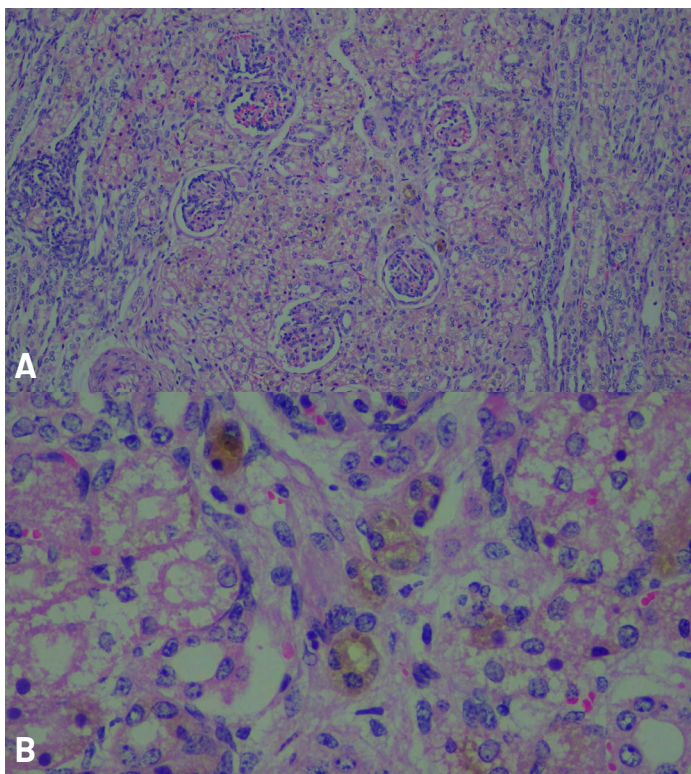


FIGURA 8. Riñón, tinción HE (A)[40x] y (B)[100x]

concentración de CO₂ en la sangre arterial) ocasionan hipertensión pulmonar, la cual puede favorecer a la presentación de edema pulmonar y hemorragia.

Cifuentes[5] y Tejerina [21] explican que, la hipoxia fetal y la isquemia desencadenan mecanismos compensatorios: (a) el flujo sanguíneo es dirigido hacia el cerebro, corazón y glándulas adrenales, a expensas del flujo que debieran recibir los riñones, el hígado, los pulmones, los intestinos, el bazo, el tejido óseo, los vasos sanguíneos, los músculos y la piel, (b) en el pulmón es insuficiente la producción de surfactante pulmonar, (c) el incremento de la motilidad intestinal que estimula la expulsión del meconio, el cual puede ser aspirado, (d) la hipoxia produce insuficiencia cardíaca, hipotensión, hipertensión pulmonar y falla renal,

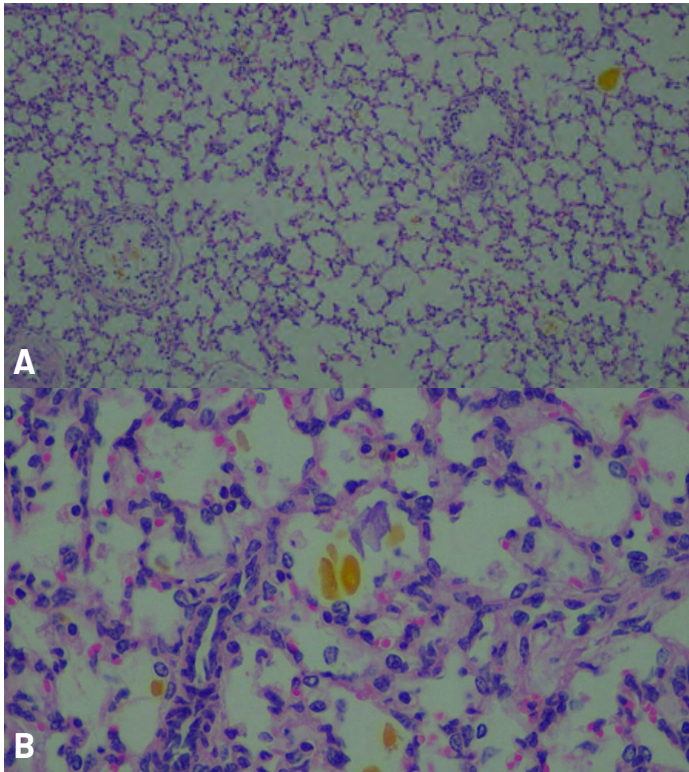


FIGURA 9. Pulmón, tinción HE (A)[40x] y (B)[100x]

(e) aparecen la hipoglicemia, hipocalcemia y acidosis metabólica, (f) finalmente, el sistema nervioso puede afectarse.

El meconio es una sustancia de color verde oscuro, inolora y estéril, proveniente del intestino fetal. Contiene 80 % de agua, trazas de líquido amniótico deglutido, material de descamación y secreciones gastrointestinales, así como biliverdina, enzimas pancreáticas, ácidos grasos volátiles, porfirinas, interleucina 8 y fosfolipasa [18]. En este estudio, en el tejido pulmonar y renal se observó un material amorfo de apariencia biliar, compatible con las características del meconio. Coto y col. [8] explican que el Síndrome de Aspiración de Meconio es ocasionado por un episodio previo de asfixia. Los factores predisponentes son todos aquellos relacionados con la hipoxia perinatal crónica y la acidosis. La hipoxia fetal estimula el peristaltismo intestinal (con relajación del esfínter anal y expulsión del meconio), así como la aspiración intrauterina. El meconio aspirado puede causar neumonía química, edema pulmonar y disfunción del surfactante pulmonar.

CONCLUSIONES

Los terneros clonados que no sobreviven pueden tener una apariencia normal, por lo tanto, es necesario practicar estudios de laboratorio, necropsias y exámenes histológicos para descubrir las alteraciones que presentan. En este estudio, la muerte del ternero es atribuida a las alteraciones histológicas encontradas, tales como edema pulmonar, congestión esplénica y necrosis tubular aguda, producidas por la hipoxia crónica. La corangiosis (mecanismo de adaptación y protección de la placenta) y los cambios hialinos de las vellosidades coriónicas, también fueron ocasionados por la hipoperfusión crónica.

La presencia de pigmentos biliares en el tejido pulmonar y renal, así como la pigmentación de las pezuñas y la turbidez del líquido alantoideo son atribuidos al sufrimiento fetal prolongado causado por la hipoxia, la cual provocó que el meconio fuera expulsado, deglutido y aspirado por el producto hacia el final de la gestación.

Estudios previos concluyen, que la placenta y el cordón umbilical de los terneros clonados presentan anomalías importantes, pero no describen las alteraciones microscópicas de estos tejidos. La corangiosis y la presencia de un cordón umbilical triarterial descritos en este trabajo, son hallazgos que no habían sido reportados.

En este estudio se descarta la presencia de infección uterina (bacteriana, viral o protozoaria) porque no se encontró evidencia histológica de ésta.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al propietario y personal de la Ganadería Rancho Cerro Frio su disponibilidad y el apoyo material para realizar este estudio.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BENIRSCHKE, K.; BURTON, G.; BAERGEN, R. Benign tumors and chorangiosis. In: **Pathology of the Human Placenta**. 6th. Ed. Springer, London. Pp 747-760. 2012.
- [2] BRESSAN, F.; SANGALLI, J.; PESSÔA, L.; PIRES, P.; MEIRELLES, F. Insights on bovine genetic engineering and cloning. **Pesq. Vet. Bras.** 33(1): 113-118. 2013.
- [3] BRISVILLE, A.; FECTEAU, G.; BOYSEN, S.; DESROCHERS, A.; DORVAL, P.; BUCZINSKI, S.; LEFEBRE, R.; HÉLIE, P.; BLONDIN, P.; SMITH, L. Neonatal morbidity and mortality of 31 calves derived from somatic cloning. **J. Vet. Intern. Med.** 27: 1218-1227. 2013.
- [4] CHAVATTE-PALMER, P.; FONG, R.; CAMOUS, S.; LE CLEAC'H, N.; JAMMES, H.; GUILLOMOT, M. The Placenta of Bovine Clones. **Acta Scientie Vet.** 39(1): 227-242. 2001.
- [5] CIFUENTES, J. Asfixia perinatal. **Medwave.** 3(10): e 1954. 2003. <https://doi.org/cwq833>.
- [6] CONSTANT, F.; GUILLOMOT, M.; HEYMAN, Y.; VIGNON, X.; LAIGRE, P.; SERVELY, J.; RENARD, J.; CHAVATTE-PALMER, P. Large Offspring or Large Placenta Syndrome? Morphometric Analysis of Late Gestation Bovine Placentomes from Somatic Nuclear Transfer Pregnancies Complicated by Hydrallantois. **Biol. Reprod.** 75: 122-130. 2006.
- [7] CORTEZ, J.; MURGA, N.; SEGURA, G.; RODRÍGUEZ, L.; VÁSQUEZ, H.; MAICELO, J. Capacidad de Dos Líneas Celulares para la Producción de Embriones Clonados mediante Transferencia Nuclear de Células Somáticas. **Rev. Inv. Vet.** Perú. 28(4): 928-938. 2017.
- [8] COTO, G.; LÓPEZ, J.; FERNÁNDEZ, B.; ÁLVAREZ, F.; IBÁÑEZ, A. Recién nacido con dificultad respiratoria: enfoque diagnóstico y terapéutico. **Protocolos Diagnóstico Terapéuticos de la AEP: Neonatología**. Asociación Española de Pediatría. Pp 289. 2008.
- [9] FECTEAU, M.; PALMER, J.; WILKINS, P. Neonatal Care of High-Risk Cloned and Transgenic Calves. **Vet. Clin. Food Anim.** 21: 637-653. 2005.

- [10] GALLI, C.; DUCHI, R.; CROTTI, G.; TURINI, P.; PONDERATO, N.; COLLEONI, S.; LAZZARI, G. Bovine Embryo Technology. **Theriogenol.** 59: 599-616. 2003.
- [11] GALLO, J.; NAVARRO, M.; MARTÍNEZ DE LA O., R.; SOTELO, R.; PERALES, E. Corangiosis placentaria como causa de mortalidad perinatal. **Progresos Diagn. Trat. Prenat.** 18(1): 37-40. 2006.
- [12] GONZÁLEZ, M.; TARAZONA, J.; ALENDA, C.; JIMÉNEZ, B. Muerte perinatal en una gestación múltiple asociada a corangiosis placentaria. **An. Pediatric.** (Barc). 65(6): 632-633. 2006. En línea. <https://bit.ly/3SsWfSW>. 15/05/2022.
- [13] KEEFER, C. Artificial Cloning of Domestic Animals. **PNAS.** 112(29): 8874-8878. 2015. <https://doi.org/f7j3qh>.
- [14] ISLAS, L. Líquido pulmonar fetal. **Rev. Med. Hosp. Gen. Mex.** 69(4): 221-225. 2006.
- [15] ORTEGA, P.; SANAHUJA, M.; LUCAS, J.; ÁLVAREZ, O.; ZAMORA, I. Insuficiencia renal aguda en el período neonatal. En: **Protocolos de Neonatología.** 2da. Ed. Asociación Española de Pediatría. Pp 411-422. 2008. En línea. <https://bit.ly/3dQ00mn>. 15/05/2022.
- [16] PETER, A. Bovine placenta: a review of morphology, components, and defects from terminology and clinical perspectives. **Theriogenol.** 89: 693-705. 2013.
- [17] PORTH, C. Acute Kidney Injury and Chronic Kidney Disease. In: **Essentials of Pathophysiology.** 4th. Ed. Wolters Kluwer, Philadelphia. Pp 639-655. 2015.
- [18] SÁNCHEZ, M. Controversias en la evaluación del meconio. Nueva clasificación. **Rev. Latin. Perinat.** 20(3): 141-148. 2017.
- [19] SELOKAR, N. Cloning of breeding buffalo bulls in India: Initiatives & challenges. **Indian J. Med. Res.** 148(1): 120-124. 2018.
- [20] STRINGFELLOW, D.; RIDDEL, K.; GIVENS, M.; GALIK, P.; SULLIVAN, E.; DYKSTRA, C.; ROBL, J.; KASINATHAN, P. Bovine Viral Diarrhea virus (BVDV) in cell lines used for somatic cell cloning. **Theriogenol.** 63: 1004-1013. 2005.
- [21] TEJERINA, H. Asfixia neonatal. **Rev. Soc. Boliv. Pediatría.** 46(2): 145-150. 2007.
- [22] TIAN, X.; KUBOTA, C.; ENRIGHT, B.; YANG, X. Cloning animals by somatic cell transfer - biological factors. **Reprod. Biol. Endocrinol.** 1: 98. 2003. <https://doi.org/ddjtqh>.
- [23] VAFAEI, H.; KARIMI, Z.; AKBARZADEH-JAHROMI, M.; ASADIAN, F. Association of placental chorangiosis with pregnancy complication and prenatal outcome: a case-control study. **BMC. Pregnancy and Childbirth.** 21(1): 99. 2021. <https://doi.org/jd7s>.
- [24] WELLS, D. Animal cloning: problems and prospects. **Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.** 24(1): 251-264. 2005.
- [25] YANG, X.; MA, Q.; YAN, J.; ZHAO, J.; LI, H.; SHEN, H.; LIU, H.; HUANG, Y.; ZENG, Y.; ZENG, F. Improved efficiency of bovine cloning by autologous somatic cell nuclear transfer. **Reprod.** 132: 733-739. 2006.