

## EFFECTO DE LA INOCULACIÓN INTRAMAMARIA DE UN LIPOPOLISACÁRIDO SOBRE LA VARIACIÓN TEMPORAL DEL TRANSCRIPTOMA DE LAS CÉLULAS SOMÁTICAS DE LA LECHE EN EL GANADO OVINO: RESULTADOS PRELIMINARES.

Pelayo<sup>1</sup>, R., Fonseca<sup>1\*</sup>, P.A.S., Marina<sup>1</sup>, H., Gutiérrez-Gil<sup>1</sup>, B., Arranz<sup>1</sup>, J.J. y Suárez-Vega<sup>1</sup>, A.

<sup>1</sup>Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, Campus de Vegazana s/n, León 24071, Spain. \*Email: psouf@unileon.es

### INTRODUCCIÓN

En el ganado ovino lechero las infecciones mamarias adquieren una relevancia económica evidente, debido principalmente a la reducción de la producción de leche, la disminución de la calidad de la misma y el rechazo de la leche tras la administración de antibióticos (Gelasakis *et al.*, 2015). Tras la inyección intramamaria de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, se han observado diferencias en la respuesta inmune de los animales (Bannerman *et al.*, 2004). Por ello, cada vez son más frecuentes los estudios transcriptómicos que analizan la respuesta inmune de la glándula mamaria a diferentes agentes etiológicos con el fin de comprender la fisiopatología de la mastitis y desarrollar estrategias de control adecuadas. El objetivo de este trabajo fue el análisis del transcriptoma de las células somáticas de la leche (MSCs) en tres puntos de muestreo diferentes en ovejas Assaf de primera lactación para caracterizar la dinámica de la respuesta inmune innata frente a la inoculación de un lipopolisacárido (LPS) de *Escherichia coli*.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se analizaron diez ovejas sanas de raza Assaf al final de su primera lactación (~ día 150 tras el parto). Se les administró una infusión intramamaria de LPS de *E. coli* en una de las glándulas. Se recogieron muestras individuales de leche de la glándula mamaria inoculada en tres puntos temporales: "0h" (muestra de leche de la ubre recogida antes del desafío con LPS), y a las "6h" y "24h" post inoculación. El RNA extraído de las MSCs se secuenció mediante la tecnología RNA-Seq, y los datos generados se sometieron a un análisis de expresión génica diferencial (DE) entre todos los pares de puntos temporales posibles. El flujo de análisis incluyó alineamiento frente al genoma ovino ARS-UI\_Ramb\_v2.0 con STAR (Dobin *et al.*, 2013); y la cuantificación con RSEM v.1.3.3 (Li and Dewey, 2011). El análisis DE se realizó mediante dos aproximaciones estadísticas distintas; una paramétrica (DESeq2; Love *et al.*, 2014) y otra no paramétrica (suma de rangos de Wilcoxon). Finalmente, se realizó un análisis de enriquecimiento funcional de ontología génica (GO) con clusterProfiler (Yu *et al.*, 2012).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En base a las tres comparaciones por pares realizadas (0h-6h, 0h-24h y 6h-24h), se definieron tres grupos de genes expresados diferencialmente (DEGs): genes de respuesta inflamatoria general (1,686 genes con menor expresión a las 0h), de respuesta inflamatoria aguda (271 genes con mayor expresión a las 6h) y tardía (67 genes con mayor expresión a las 24h). El análisis de enriquecimiento funcional se ha limitado a los DEGs identificados por ambas aproximaciones estadísticas y de forma compartida entre los tres puntos temporales. En general, los términos GO asociados a la respuesta inflamatoria temprana incluían procesos relacionados con la respuesta inmune mediada por neutrófilos, mientras que en la respuesta tardía se encontraron términos funcionales asociados a la proliferación epitelial celular, entre otros. Asimismo, la expresión de los genes relacionados con la síntesis de proteína y grasa de la leche se vio disminuida a las 6h y 24h post-LPS.

### CONCLUSIÓN

Tras la infección experimental con LPS, el análisis del transcriptoma de la glándula mamaria mostró una respuesta inflamatoria diferente a lo largo de los tres puntos temporales estudiados, con una clara división entre DEGs de respuesta inflamatoria aguda y DEGs de respuesta tardía.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bannerman, D., *et al.* 2004. Clin. Diagn. Lab. Immunol. 11: 463–472
- Dobin, A., *et al.* 2013. Bioinformatics, 29: 15–21
- Gelasakis, A., *et al.* 2015. Vet. Microbiol. 181: 136–146
- Li, B., *et al.* 2011. BMC Bioinformatics. 12: 1–16
- Love, M.I., *et al.* 2014. Genome Biol. 15
- Yu, G., *et al.* 2012. Omi. A J. Integr. Biol. 16: 284–287.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha recibido financiación del programa de investigación e innovación Horizonte 2020 de la Unión Europea bajo el acuerdo de subvención nº 772787 (SMARTER).