

# Influencia de la restricción proteica durante el crecimiento sobre la mastitis en el ganado ovino: análisis de coexpresión génica tras un reto con lipopolisacárido de *E. coli*.

Rocío Pelayo<sup>1\*</sup> Pablo A.S. Fonseca<sup>2</sup> Beatriz Gutiérrez-Gil<sup>1</sup> María Alonso-García<sup>1</sup> Juan José Arranz<sup>1</sup> Aroa Suárez-Vega<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Producción Animal, Facultad de Veterinaria, Universidad de León, 24006, León (España).

<sup>2</sup> Instituto de Ganadería de Montaña (CSIC-Univ. de León), Grulleros, 24346, León (España)

\* [rpelg@unileon.es](mailto:rpelg@unileon.es)

## Resumen

El encarecimiento progresivo de las fuentes proteicas en la nutrición animal, junto con su impacto ambiental, ha puesto de relieve la necesidad de optimizar su uso en los sistemas de producción lechera. En este contexto, la reducción del contenido proteico de la dieta durante la recría se podría plantear como una estrategia para mejorar la rentabilidad y eficiencia del sector. Sin embargo, esta etapa incluye periodos críticos del desarrollo, como el crecimiento alométrico de la glándula mamaria, en los que una restricción proteica temprana podría tener efectos a largo plazo. En particular, estas alteraciones podrían influir en la expresión génica de la glándula mamaria en la edad adulta, con posibles repercusiones tanto a nivel productivo como en la respuesta inmune del animal. En este contexto, este estudio tuvo como objetivo evaluar si una restricción proteica durante la etapa prepuberal modifica la respuesta transcriptómica longitudinal de la glándula mamaria en ovejas adultas sometidas a un reto inflamatorio intramamario.

Se utilizaron 28 corderas de raza Assaf, asignadas a una dieta control (C) o a una dieta con restricción proteica (NPR; reducción del 44%) durante la fase de crecimiento alométrico de la glándula mamaria (3–5 meses de edad). A los 150 días postparto, las ovejas fueron sometidas a un reto inflamatorio mediante la inoculación intramamaria de 1 ml de un lipopolisacárido de *E. coli* (10 µg/mL de LPS). Se recogieron muestras de leche antes de la inoculación (0 h), y a las 6 y 24 h post-inoculación para su análisis mediante RNA-Seq. El análisis de expresión diferencial entre los grupos C y NPR en cada punto temporal se realizó utilizando el paquete de R *DESeq2*, considerando como genes diferencialmente expresados (DEGs) aquellos con un valor de *p* ajustado (*padj*) < 0.05 y  $|\log_2(\text{FoldChange})| \geq 1$ . Asimismo, se realizó un análisis de detección de módulos de genes co-expresados con Simple Tidy GeneCoEx, y se identificaron los módulos de genes que estaban significativamente enriquecidos en DEGs (*padj*<0.05) mediante un test hipergeométrico de Fisher. Por último, se llevó a cabo un análisis de enriquecimiento funcional con el paquete de R *clusterProfiler* de los módulos de interés.

En el análisis de coexpresión se identificaron siete módulos; tres (M7, M4 y M3) mostraron enriquecimiento significativo en DEGs entre C y NPR, con 145, 1938 y 1323 genes, de los cuales el 58%, 7% y 5% fueron DEGs, respectivamente. Entre estos módulos, cabe destacar el M4 en el que las ovejas C presentaron una sobreexpresión de genes (6h post-inoculación) relacionados con vías proinflamatorias, incluyendo la producción de citoquinas de la superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNF) o la respuesta inmunitaria innata. Se ha descrito que el TNF está implicado en la modulación de la respuesta inflamatoria durante procesos infecciosos, como en la mastitis aguda por *E. coli* en el ganado vacuno lechero. En conjunto, estos resultados sugieren que la nutrición temprana podría influir en la función de la glándula mamaria, con posibles efectos sobre la expresión génica y su respuesta frente a estímulos inflamatorios en la edad adulta.

*Keywords:* Nutrición temprana, Restricción proteica, Transcriptómica, Glándula mamaria.

**Agradecimientos:** Este trabajo ha sido cofinanciado por el proyecto «Horizonte Europa» de la Unión Europea (n.º 101136346, EUPAHW). Sin embargo, las opiniones y puntos de vista expresados son exclusivamente de los autores y no reflejan necesariamente los de la Unión Europea ni los de la

Agencia Ejecutiva de Investigación de la Unión Europea. Ni la Unión Europea ni la autoridad responsable de la concesión de la subvención se hacen responsables de los mismos.