

**Estudio in vitro de los mecanismos moleculares del plasma bovino rico en plaquetas en la modulación de la infección por gammaherpesvirus bovino 4 (BoGHV-4) y la respuesta al lipopolisacárido**

Lopez, S(1,3); Andreoli, V(2); Delgado, S(3); Romeo, F(1); Pereyra, S(1); Pérez, S(4); Verna, AE(1). \*

(1) Instituto de Innovación para la Producción Agropecuaria y Desarrollo Sostenible (IPADS, INTA-CONICET), Grupo de Salud Animal, Argentina; (2) Departamento de Ciencias Veterinarias, Universidad de Parma, Italia; (3) Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata; (4) Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN)-CONICET. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.

Contacto: *lopez.sofia@inta.gob.ar*

La endometritis bovina compromete la fertilidad y la supervivencia embrionaria. Patógenos como *Escherichia coli* (*E. coli*) y gammaherpesvirus bovino 4 (BoGHV-4) son inductores de esta patología. Se ha descrito que el lipopolisacárido (LPS) de *E. coli* se une a los receptores Toll tipo 4 (TLR4) presentes en las células endometriales, desencadenando una respuesta inflamatoria. En infecciones persistentes por BoGHV-4, se observa un aumento en la expresión del gen inmediato temprano 2 (IE2), induciendo la producción de interleuquina 8 (IL-8), citoquina proinflamatoria clave en la respuesta inflamatoria del endometrio. Los tratamientos convencionales están orientados a reducir la inflamación y mejorar la defensa uterina, afectando la fertilidad bovina. En este estudio se evaluó el efecto del plasma rico en plaquetas (PRP) sobre la expresión de genes relacionados con la infección por BoGHV-4 en presencia de LPS; considerando su potencial uso como una alternativa terapéutica gracias a su riqueza en factores de crecimiento. Para ello, se realizaron tres tratamientos: células endometriales bovinas (CEB) infectadas con la cepa BoGHV-4 07/435 a una MOI de 0.5 (V), y/o incubadas con LPS (LPS/V+LPS), en presencia de suero fetal bovino (SFB) o PRP al 10 %. Se extrajo el ARN de las células a las 4, 12, 24 y 48 hs. Cada muestra fue analizada por triplicado. Se evaluó la expresión génica de TLR4, IE2 e IL8 mediante RT-qPCR, utilizando como control endógeno el gen gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH). La expresión del TLR4 en células tratadas con V+LPS y SFB, aumentó significativamente ( $p < 0.05$ ) siendo 132 y 57 veces mayor a las 24 y 48 hs, respectivamente. En cambio, con PRP, la expresión fue estimulada a las 24 hs (9 veces mayor) pero inhibida a las 48 hs, aludiendo a que el PRP modula negativamente la expresión del TLR4 en tiempos prolongados en las células expuestas al V+LPS. La expresión del gen IE2 en presencia de V+LPS y SFB no mostró cambios significativos, mientras que con PRP aumentó significativamente ( $p < 0.05$ ) 0.8 veces a las 24 hs, lo que sugiere que el PRP podría favorecer la replicación del BoGHV-4 en fases tempranas de la infección.

La expresión de IL8 aumentó significativamente ( $p < 0.05$ ) en respuesta al LPS con SFB o PRP. Sin embargo, disminuyó gradualmente en presencia de V+LPS con PRP, hasta ser nula a las 48 hs, indicando que el PRP retrasa la expresión de moléculas proinflamatorias a tiempos tempranos. Los resultados obtenidos subrayan la importancia de profundizar en el estudio de las vías de señalización implicadas en la co-infección por E. coli y BoGHV-4, ya que esta interacción induce un estado de inflamación crónica. Comprender estos mecanismos es fundamental para el desarrollo de tratamientos basados en biomoléculas, que podrían ofrecer una alternativa eficaz al uso de antibióticos.