

XXIII REUNIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA
ASOCIACIÓN ARGENTINA DE VETERINARIOS
DE LABORATORIOS DE DIAGNÓSTICO



Romanela Beatriz Marcellino y Nirma Alicia González
Editoras

Fundada el 21 de noviembre de 1984

Personería jurídica 439/96

Afiliada a la World Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians (WAVLD)



17, 18 y 19 de noviembre 2021 - Modalidad virtual

***Asociación Argentina de Veterinarios
de Laboratorios de Diagnóstico***

XXIII Reunión Científico Técnica

Resúmenes

Romanela Beatriz Marcellino y Nirma Alicia González

Editoras

Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico
XXIII Reunión Científico Técnica: 17, 18 y 19 de noviembre 2021: modalidad virtual / editado
por Romanela Beatriz Marcellino; Nirma Alicia González.
1a ed. - Balcarce: Asoc. Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico, 2021.
Libro digital, PDF

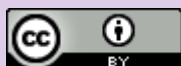
Archivo Digital: descarga y online
ISBN 978-987-21667-3-1

1. Veterinaria. 2. Medicina Veterinaria. 3. Educación Superior. I. Marcellino, Romanela
Beatriz, ed. II. González, Nirma Alicia, ed. III. Título.
CDD 636.08907

© Asociación Argentina de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico, 2021.

Primera edición: noviembre de 2021

ISBN 978-987-21667-3-1



Esta obra está bajo una **Licencia Creative Commons Atribución 2.5 Argentina**

http://creativecommons.org/licenses/by/2.5/ar/deed.es_AR

V1-ANÁLISIS PRELIMINAR DE LA APOPTOSIS INDUCIDA POR BoHV-4 EN CÉLULAS ENDOMETRIALES BOVINAS EN PRESENCIA DE INFECCIÓN NATURAL CON VDVB

F. Romeo^{1,3}; S.G. Delgado³; E. González-Altamiranda^{1,2}; E. Louge Uriarte²; S. Pérez^{1,4}; A. Verna^{1,2,*}

1. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Rivadavia 1917, C1033AAJ, Buenos Aires, Argentina. 2. Grupo de Sanidad Animal, IPADS Balcarce Instituto de innovación para la Producción Agropecuaria y el Desarrollo Sostenible, 7620 Balcarce, Argentina. 3. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata, Argentina. 4. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires (UNCPBA)/CIVETAN, Sede Tandil, Buenos Aires, Argentina. *Autor responsable: verna.andrea@inta.gob.ar

Introducción. Los virus han evolucionado y la clave de su éxito ha sido la capacidad de evadir los sistemas de defensa de la célula huésped para garantizar replicación y proliferación. El virus de la diarrea viral bovina (VDVB) y el *gammaherpesvirus bovino tipo 4* (BoHV-4) forman parte de los principales patógenos virales que infectan el útero del bovino siendo responsables de enormes pérdidas económicas. Las infecciones por BoHV-4 en el endometrio bovino generalmente se presentan en concomitancia con bacterias Gram negativas. No obstante, las coinfecciones con otros agentes virales, como el VDVB, también son comunes. El BoHV-4 posee dos genes antiapoptóticos (v-Flip y v-Bcl2) e induce la apoptosis de las células infectadas como finalización del ciclo de replicación viral. Resultados previos demostraron que la expresión génica y la replicación de BoHV-4 en células endometriales bovinas (CEB) se ve afectada por la infección natural con una cepa no citopática (NCP) del VDVB. El objetivo del presente trabajo fue evaluar cómo la infección natural en CEB con una cepa NCP de VDVB afecta la apoptosis inducida por BoHV-4 y lipopolisacárido bacteriano (LPS).

Materiales y métodos. Virus: Cepa 07/435 de BoHV-4. Células: Cultivos primarios de CEB, según método propuesto por Tebaldi *et al.* (2016). Los cultivos se analizaron para distintos patógenos de la reproducción, siendo un cultivo positivo para el genotipo 1 del VDVB-1 (CEB+VDVB). Se evaluó apoptosis inducida por los tratamientos BoHV-4 y/o LPS en las CEB y CEB+VDVB a diferentes tiempos post infección (p.i.) (12, 24, 48 hs), mediante la expresión de los transcritos antiapoptóticos (v-flip y v-Bcl2) por RT-PCR, y las alteraciones morfológicas nucleares con la tinción de DAPI, expresando los resultados como Índice Relativo de Apoptosis (IRA). Se realizó un análisis de varianza y comparaciones de medias, según la prueba de diferencia mínima significativa, en aquellos factores de estudio en donde los efectos fueron significativos ($\alpha:0,05$).

Resultados. Los ensayos de apoptosis en CEB infectadas con BoHV4 (+/- LPS) en presencia o ausencia del VDVB mostraron ausencia de la expresión del gen para v-Bcl2, mientras que los transcritos para el gen v-Flip se expresaron en todos los tratamientos. Cuando se estudió la muerte celular con DAPI, no se detectó interacción entre los tratamientos y los tiempos de lectura sobre el IRA para las CEB+VDVB expuestas al BoHV4, a LPS y a BoHV-4+LPS; sin embargo, se observó interacción

entre los niveles de tratamientos y los tiempos de medición sobre el IRA cuando las CEB fueron expuestas a BoHV4 y BoHV-4+LPS. Asimismo, se observó una diferencia significativa en los valores del IRA obtenidos solo a las 48hs en CEB expuestas a BoHV-4 y BoHV-4+LPS.

Discusión y conclusión. Las células que expresan proteínas tipo v-Flip están protegidas de la apoptosis inducida por la activación de Fas y/o de otros receptores relacionados. Por otra parte, la expresión del gen antiapoptótico v-Bcl2 puede establecer infecciones persistentes evitando la muerte celular (apoptosis). La expresión del gen v-Flip y la ausencia de expresión del v-Bcl2, podrían sugerir que la infección por BoHV-4 induciría la apoptosis en células endometriales mediante la vía de señalización mitocondrial. Sin embargo, serán necesarios posteriores estudios para comprender mejor la vía apoptótica involucrada en los cultivos primarios de CEB en presencia de una coinfección viral. A su vez, los valores obtenidos y la independencia del tiempo de infección sobre el IRA en presencia del VDVB podría estar relacionado con la estrategia de las cepas NCP-VDVB de evitar la inducción de la muerte celular. Por lo tanto, la apoptosis inducida por BoHV-4 en células permisivas puede verse alterada en células primariamente infectadas con VDVB. Este hallazgo podría estar indicando cambios en las vías de señalización y consecuencias significativas en los procesos de muerte celular *in vivo*, como las coinfecciones y persistencia del virus en sus hospedadores naturales.

Bibliografía

- Moran, P. *et al.* (2020). Analysis of the anti-apoptotic v-Bcl2 and v-Flip genes and effect on in vitro programmed cell death of Argentinean isolates of bovine gammaherpesvirus 4 (BoHV-4). *Microbial Pathogenesis*, doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104170.
- Tebaldi *et al.* (2016). Virus-Mediated Metalloproteinase 1 Induction Revealed by Transcriptome Profiling of Bovine Herpesvirus 4-Infected Bovine Endometrial Stromal Cells. *Biol Reprod*, doi: 10.1095/biolreprod.116.139097
- Romeo *et al.* (2021). Effect of bovine viral diarrhea virus on subsequent infectivity of bovine gammaherpesvirus 4 in endometrial cells in primary culture: An in vitro model of viral co-infection. *J Virol Methods*, doi: 10.1016/j.jviromet.2021.114097.