



Capítulo 7

Respuesta inmune innata de la glándula mamaria

L.M. Gomez¹, MVZ, MSc, Dr.Sci,

J.C. Rodriguez-Leconte², MVZ, MSc, PhD, M.

M. Olivera-Angel³, MV, Dr. Sci Agr.

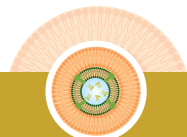
1.Introducción

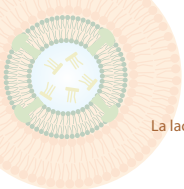
La inmunidad innata es el conjunto de mecanismos que actúan contra todos los microorganismos patógenos desde su primer contacto. Es inmediata, no específica, por cuanto no diferencia la clase o especie

1. Director de Investigación, Alura Animal Health and Nutrition.

2. Department of Pathology and Microbiology, Atlantic Veterinary College, University of Prince Edward Island, Molecular Immunology Laboratory.

3. Facultad de Ciencias Agrarias, Grupo de Investigación Biogénesis, Universidad de Antioquia.



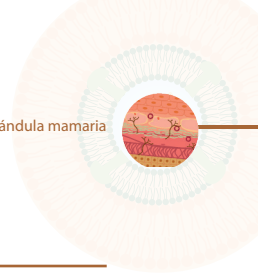


del agresor y no deja memoria del encuentro con el mismo. Si no logra controlarlo, induce una serie de procesos que llevan al desarrollo de la inmunidad adquirida (Rojas et al, 2017). La inmunidad innata tiene los siguientes componentes: factores constitutivos, barreras naturales, moléculas de reconocimiento, células, sistemas enzimáticos, fagocitosis e inflamación (Rojas et al, 2017).

Este tipo de inmunidad es la línea de defensa inicial cuando la glándula mamaria está expuesta a microorganismos causantes de mastitis (Rainard & Riollet, 2006). En dicho órgano, los componentes más importantes de la inmunidad innata son: el canal de la teta o pezón, que actúa como una barrera física y fuente de sustancias antimicrobianas, y algunas células y moléculas que facilitan la protección de esta (Sordillo, 2018) (ver Tabla 1).

Tabla 1. Funciones de los componentes de la inmunidad innata

Factor	Función principal
Canal del pezón	Músculos del esfínter que se contraen para bloquear la penetración bacteriana
	La queratina tiene actividad bacteriostática y forma una barrera
Receptores reconocedores de patrones (PRR)	Reconocimiento bacteriano y activación de la respuesta inflamatoria
Complemento	Bacteriolítico, facilita fagocitosis (opsonización)
Lactoferrina	Secuestro de hierro necesario para crecimiento bacteriano
Citoquinas	Inmunomodulación de la respuesta inmune innata
Oxilipinas	Regulación de microvasculatura
	Orquestación de respuestas proinflamatorias y de resolución de la inflamación
Células epiteliales	Reconocimiento de patógenos por PRR
Células endoteliales	Control del flujo sanguíneo para tejidos afectados
	Regulación de la migración y activación de leucocitos



Neutrófilos	Fagocitosis y eliminación de bacterias por la producción de radicales libres, enzimas antibacterianas y defensinas
	Formación de NETs (trampas extracelulares de neutrófilos)
Macrófagos	Fagocitosis y eliminación de bacterias
	Producción de citoquinas inmunoreguladoras y oxilípidos
	Remoción de detritos celulares
Células dendríticas	Fagocitosis de bacterias
	Producción de citoquinas
Células asesinas naturales	Identifica y ayuda a eliminar células infectadas del hospedero. Secreción de proteínas antibacterianas.

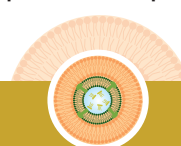
Fuente: Adaptado de Sordillo (2018)

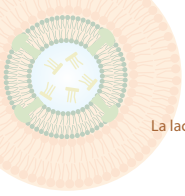
2. Defensas externas o barreras físicas del pezón

Las barreras físicas del pezón inician con la piel de epitelio escamoso estratificado, cuya última capa es de células muertas recubiertas de queratina, continúan con el tapón de queratina y terminan con el músculo circular del esfínter (Craven & William, 1985). (Figura 1).

Respecto al epitelio externo del pezón, cuando está intacto, se convierte en un medio hostil para el desarrollo de las bacterias porque inhibe su crecimiento. El canal del pezón después del epitelio está compuesto por fibroblastos, células grasas, músculo liso, vasos y nervios. El músculo liso se localiza en formas transversa, oblicua y longitudinal y termina en el esfínter que mantiene el cierre entre ordeños y evita la penetración de bacterias (Bitman et al., 1991; Paulrud, 2005). La anatomía del pezón se puede ver en la Figura 1.

La longitud del canal del pezón es de entre 5 y 13mm; está conformado por pliegues de epitelio cúbico queratinizado y cubierto por una capa

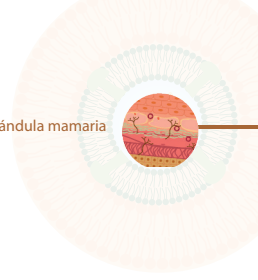




delgada de lípidos. Estos últimos son ácidos grasos (mirístico, palmitoleico y linoleico) que tienen actividad bactericida y bacteriostática preferencialmente sobre bacterias gram-positivas y más limitada sobre gram-negativas (Bitman et al., 1991; Craven & Williams, 1985). Entre ordeños el canal está cerrado por la contracción de los músculos que forman los pliegues y está sellado con un tapón de queratina, material ceroso producido por el epitelio cúbico que reviste el canal; esta sustancia crea una obstrucción física a las bacterias, especialmente en el período seco de la vaca. Cuando se ordeña, los primeros chorros de leche lavan el tapón de queratina y el canal del pezón se abre; al finalizar el ordeño, el canal permanece abierto al menos por dos horas (Paulrud, 2005). La única vía de acceso a la ubre es a través del orificio del pezón. Adicionalmente, el canal del pezón contiene proteínas ligadoras de calcio, a las cuales se les ha reportado actividad antimicrobiana (Smolenski, Cursons, Hine, & Wheeler, 2015). De esta manera, la glándula mamaria limita el acceso de microorganismos del exterior al lumen intramamario.

La leche de las vacas sanas contiene microbiota propia: *Stenotrophomonas*, *Psychrobacter*, *Bradyrhizobium*, *Corynebacterium*, *Pelomonas*, *Staphylococcus*, *Propionibacterium*, *Aeribacillus*, *Lachnospiraceae*, *Faecalibacterium*, *Bacteroides*, *Clostridiales*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Anaerococcus*, *Xanthomonadaceae*, *Bacteroidales*, *Lactobacillus*, *Porphyromonas*, entre otras (Addis et al., 2016). Esta microbiota es adquirida por el paso de la misma desde el intestino materno, por la migración de las células plasmáticas hasta la glándula mamaria.

El epitelio de la piel y el canal del pezón pueden estar colonizados por bacterias como *Staphylococcus* que en algún momento se pueden volver patógenas. Un estudio realizado en 1.358 canales de tetas de vacas clínicamente sanas mostró que el 84.5% tuvo al menos un microorganismo patógeno (Paduch & Krömker, 2011).



3. Defensas internas o intrínsecas

Lactoferrina

El hierro (Fe) es una de las fuentes requeridas para el crecimiento de la *E.coli*. Cuando la ubre está seca, la lactoferrina remueve el Fe de la ubre y así minimiza la multiplicación bacterial. Sin embargo, la acción de la lactoferrina durante la lactancia es menor debido a la dilución de esta enzima en el total de la leche y al citrato que contiene la leche, el cual compite con la lactoferrina por el Fe. El citrato de Fe puede ser usado por las bacterias como sustrato para su crecimiento (Nelson et al., 2018).

Lactoperoxidasa

Esta enzima puede inhibir el crecimiento de algunas bacterias Gram positivas y matar algunas Gram negativas. Sin embargo, para que actúe la lactoperoxidasa se requiere tiocianato, cuyas concentraciones en leche dependen de la alimentación. Además, para que la enzima actúe se requiere peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el cual es producido por las mismas bacterias (Burton & Erskine, 2003).

Complemento

Son proteínas que cuando actúan unidas producen una cascada que pueden matar la *E. coli*. No todas las coliformes son sensibles al complemento, especialmente las causantes de mastitis severas. (Sordillo, 2018).

4. Mecanismos de defensa inducibles

Reconocimiento de patógenos

La glándula mamaria tiene mecanismos para censar patógenos y así iniciar la activación de la inflamación. Las poblaciones celulares locales son



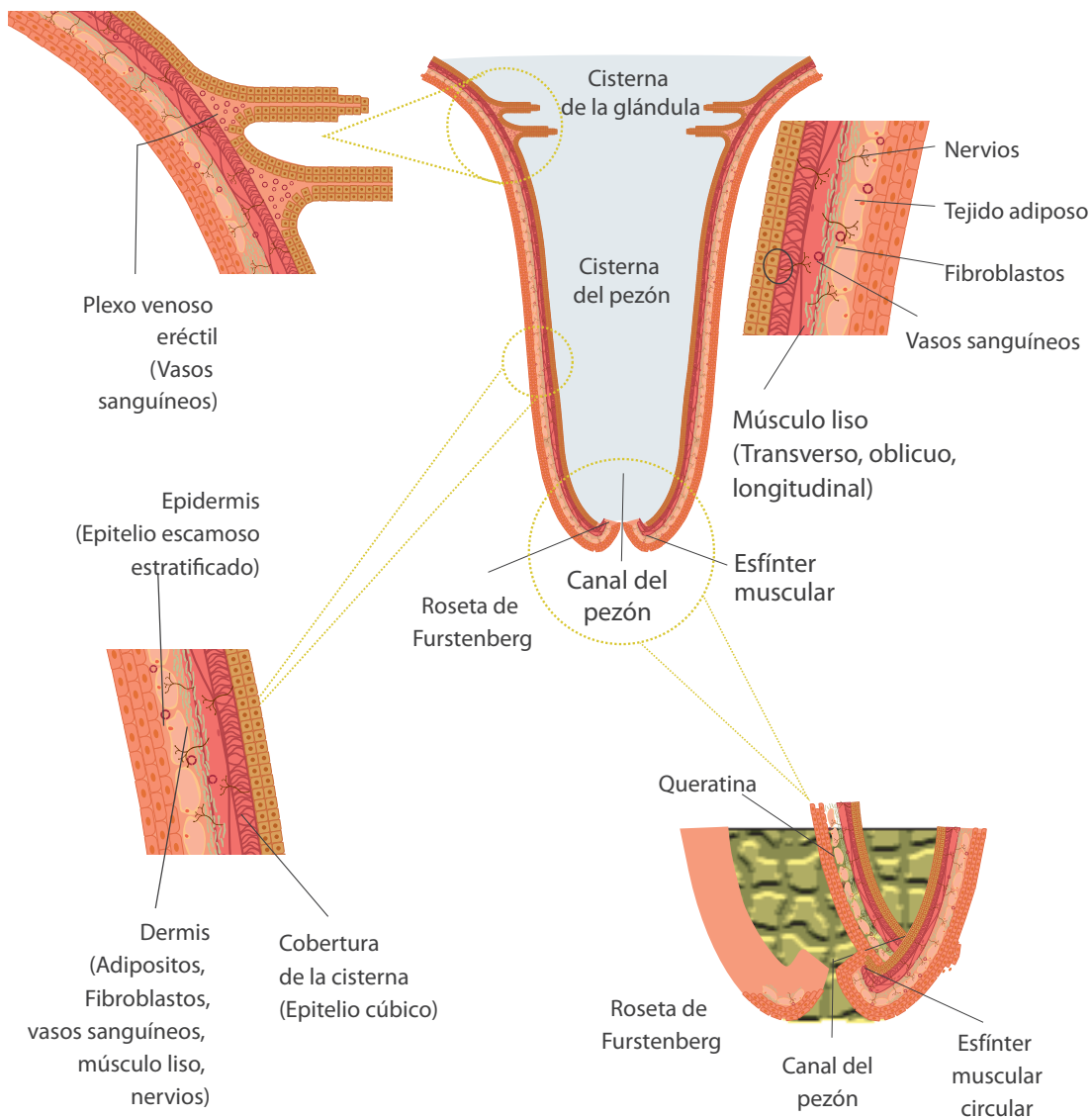
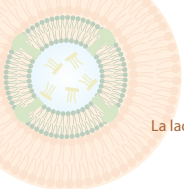
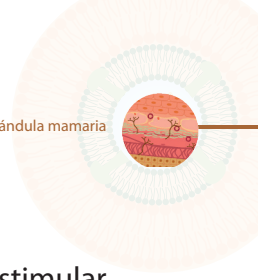


Figura 1. Estructura anatómica del pezón

Fuente: Olivera-Angel M, 2019



capaces de facilitar el reconocimiento de patógenos y pueden estimular varios procesos inmunológicos a través de la expresión de PRR. Estos procesos pueden interactuar con una diversidad de arreglos moleculares llamados patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP), que son inmunógenos típicos de los microorganismos patógenos.

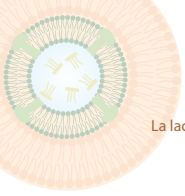
Un ejemplo de estos son los receptores tipo Toll (TLR), los cuales no solo se expresan en leucocitos sino también en las células epiteliales, endoteliales y fibroblastos de la glándula mamaria (Ibeagha-Awemu et al., 2008). Los TLR-2 y TLR-4 son los más importantes en la defensa inmune innata de la glándula mamaria, ya que son capaces de reconocer PAMPs de bacterias causantes de mastitis tipo Gram positivas (peptidoglicanos) y Gram negativas (lipopolisacáridos, LPS) respectivamente. Una vez se inicia la unión PRR-PAMP se activan señales intracelulares como la vía del factor de transcripción $\kappa\beta$ (NF κ β), la cual controla la expresión de citoquinas pro-inflamatorias (Liang, Zhou & Shen, 2004).

Activación de la inflamación

La activación de la inflamación es un proceso fundamental en la eliminación del agente que está ocasionando el daño en la glándula mamaria. Un proceso eficiente de respuesta inmune en dicho órgano debería resolverse en menos de una semana y no causar ningún cambio apreciable en la leche o en los tejidos mamarios. Cuando la inflamación es severa, el daño de tejido es inminente y resulta en el desarrollo de una mastitis aguda o crónica descontrolada que contribuye significativamente a la pérdida de producción de leche. (Sordillo, 2018)

La activación del NF- $\kappa\beta$ es la vía de señalización principal en la glándula mamaria, los mediadores solubles que se producen una vez se activa esta vía son los que controlan la inflamación. Durante los estadios iniciales de inflamación en la glándula mamaria se producen grandes can-





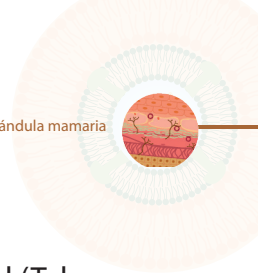
tidades de TNF- α e IL-1 β y en las etapas finales se producen IL-4, IL-10 e IL-17, algunas de las cuales están encargadas de resolver y finalizar la inflamación (Bannerman, 2009).

Otro grupo importante de moléculas de señalización inflamatoria son las conocidas como oxilipinas o eicosanoides. Dependiendo del sustrato de ácido grasos y la vía de oxigenación, las oxilipinas pueden funcionar potenciando o resolviendo la cascada inflamatoria (Mattmiller, Carlson & Sordillo, 2013; Serhan & Chiang, 2008). Por lo tanto, el efecto que las oxilipinas puedan tener sobre la inflamación dependerá del tiempo y la expresión de ciertos perfiles de ácidos grasos durante los procesos de la enfermedad, que a su vez están determinados por la dieta.

Los cambios en el metabolismo lipídico en las vacas de leche durante el parto alteran profundamente la composición y concentración de las oxilipinas en la glándula mamaria. En algunos casos este cambio puede ser responsable de la respuesta inflamatoria disfuncional y por ende de la pérdida en producción de leche (Sordillo, 2018).

Junto con las citoquinas, los oxilípidos tienen la capacidad de interactuar directamente con los vasos sanguíneos en la glándula mamaria y alterar el tono vascular y el flujo sanguíneo en los tejidos afectados. Así, se incrementa la vasodilatación de los capilares y la permeabilidad requerida para la migración de neutrófilos desde el torrente sanguíneo hacia la glándula mamaria, lo cual genera un incremento de los mismos en la leche (Ryman, Packiriswamy & Sordillo, 2015).

La resolución de la inflamación está controlada también por un grupo especial de oxilipinas como las resolvinas, protectinas y lipoxinas, las cuales limitan la infiltración de los neutrófilos a los tejidos afectados al potenciar la acción de los macrófagos en la limpieza de cuerpos apoptó-

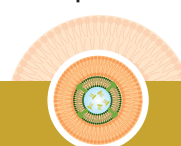


ticos y facilitar la restauración de los tejidos a su función normal (Tabas & Glass, 2013).

Células de la inmunidad innata

Durante la inflamación y diversas etapas de la fisiopatología hay reclutamiento de leucocitos residentes y generación de nuevos leucocitos. En homeostasis y ausencia de inflamación, los linfocitos y macrófagos son las células más abundantes en el lumen, con bajo número de neutrófilos. En las horas posteriores a la infección de la glándula mamaria, el conteo de células somáticas (SCC) puede pasar de 10^5 a 10^6 , las cuales en su mayoría son neutrófilos. La movilización de neutrófilos está controlada por citoquinas y oxilipinas, las cuales actúan directamente sobre la vasculatura para causar disminución en el flujo sanguíneo, con un incremento concomitante en la expresión de moléculas de adhesión celular en las células endoteliales, las cuales a su vez atraen moléculas de adhesión vascular y así facilitan la migración de leucocitos al sitio de la injuria (Hodgkinson, Carpenter, Smith, Molan & Prosser, 2007; Maddox, Aherne, Reddy & Sordillo, 1999). Los neutrófilos se marginan primero y luego se adhieren al endotelio local cerca del sitio de la infección. El movimiento de neutrófilos entre los tejidos se da por la acción de quimioquinas que se producen en el sitio de la lesión (Figura 2).

Los neutrófilos sanguíneos, que se caracterizan por el flujo rápido, circulan por los vasos. Cuando se requiere, se expresa la molécula marcadora funcional y fenotípica llamada CD62L, cuya acción soporta una rápida neutralización de las endotoxinas producidas por la bacteria y actúan como brazos moleculares para los neutrófilos sanguíneos, lo que permite que la velocidad del flujo de los neutrófilos disminuya y las células pueden fijarse a sus ligandos en las células endoteliales (Cano et al., 2017). Estos neutrófilos separados detectan señales bioquímicas



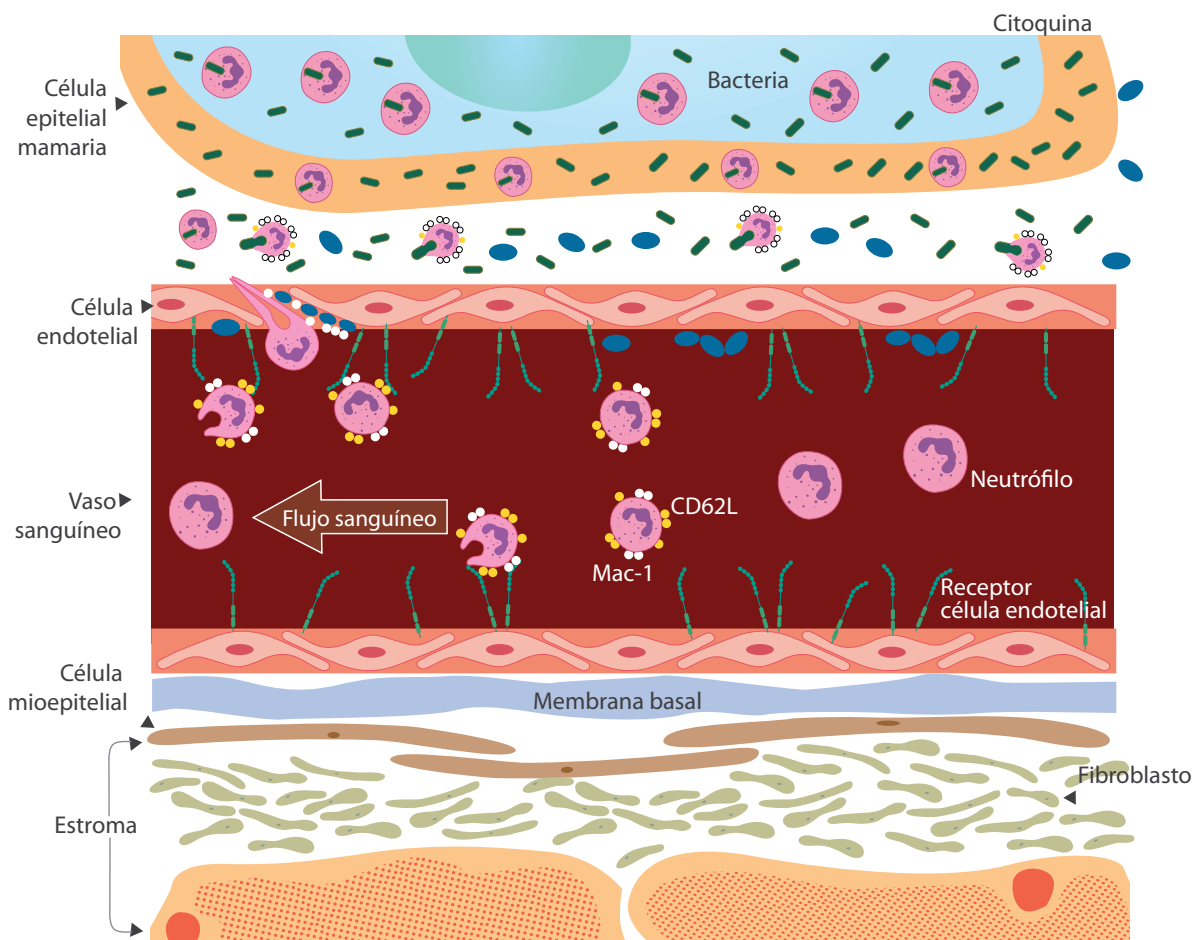
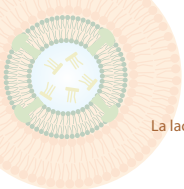
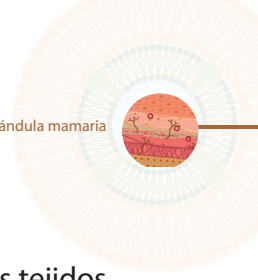


Figura 2. Mecanismo de migración de los neutrófilos de la circulación hacia la glándula mamaria

Fuente: adaptado de Burton & Erskine (2003)

(quimioquinas, citoquinas) en los sitios de la infección. Las células rápidamente se liberan del CD62L (clivaje proteolítico) e incrementa la expresión de receptores de reconocimiento que media la fagocitosis vía opsonización (Mac-1), los cuales son fundamentales para la hiperadherencia. La expresión del Mac-1 induce la expresión de la cadena 2 de la integrina Beta (CD18), lo que permite la migración o diapédesis de los neutrófilos al sitio blanco de la lesión (Burton & Erskine, 2003). La migra-



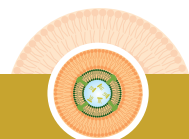
ción de neutrófilos puede ocurrir muy rápido y acumularse en los tejidos afectados entre 30 y 60 minutos después de la injuria (Sordillo, 2018).

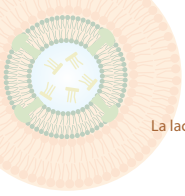
Otro proceso clave es la fagocitosis por neutrófilos y macrófagos, si bien las células dendríticas también lo pueden realizar en este contexto. Dicho proceso consiste en el englobamiento y encapsulación para su posterior destrucción mediante el estallido respiratorio con especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno. También hay ayuda de las enzimas mieloperoxidasa y superóxido dismutasa, que oxidan la membrana de las bacterias y ocasionan su completa destrucción (Cano et al., 2017).

Otro mecanismo de defensa innato del sistema inmune es la formación de las trampas extracelulares de neutrófilos (NET). Una vez las bacterias estimulan a los neutrófilos se produce liberación de material del núcleo (ADN e histonas), así como proteínas granulares y fibras extracelulares que funcionan para atrapar y matar microorganismos. Se ha demostrado que las NET proveen un foco de sustancias antibacterianas que se unen y matan bacterias independientemente de la fagocitosis de la glándula mamaria (Grinberg, Elazar, Rosenshine & Shpigel, 2008; Lippolis, Reinhardt, Goff & Horst, 2006). Las NET también sirven como una barrera física que previene la diseminación de las bacterias por los tejidos de la vaca.

Defensas solubles innatas

El componente soluble es el sistema del complemento que juega el papel más importante en la inmunidad innata contra patógenos a través de funciones de opsonización, eliminación de patógenos y quimiotaxis de fagocitos (Rainard, 2003). La cascada de las proteínas genera otro tipo de moléculas tales como como las anafilotoxinas y las opsoninas que facilitan la fagocitosis, el interferón gama (IFN), la proteína C reactiva, la lisozima, defensinas y otras moléculas antimicrobianas. El comple-





mento está presente en la leche de vacas sanas en concentraciones muy bajas (Lopera et al., 2017).

La “vía alterna”, como se conoce esta vía del complemento, es específica para bacterias, hongos y virus. Su forma de acción es depositar en la bacteria las opsoninas C3b y el C3bi, con lo que genera un fragmento proinflamatorio llamado C5a, responsable de iniciar la reacción inflamatoria o booster en la glándula mamaria. La acción de C5a depende de que la CEM exprese receptores en su zona apical, lo cual a su vez altera la permeabilidad epitelial, permitiendo que las fracciones del complemento lleguen a la leche (Rainard, 2003).

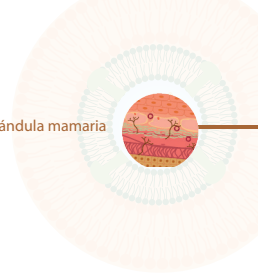
A través de la vía alterna del complemento se induce la acción quimiotáctica y se incita a la migración de los neutrófilos a través del epitelio mamario, los cuales a su vez inducen a la liberación de histamina desde los mastocitos y basófilos, vasodilatación, angiogénesis, permeabilidad vascular y reclutamiento de fagocitos al sitio de la inflamación (Lopera et al., 2017).

El complemento está presente en diferentes estados fisiológicos y patológicos en las vacas de leche. En el calostro, leches de animales sanos y secreciones de vacas secas se encuentra en bajas concentraciones (Rainard, 2003).

En la leche de una vaca sana la concentración de C3 es más baja que en el suero (2.5% del suero vs. 0.5% de la albúmina sérica bovina-ASB), mientras que en leche con mastitis la relación es inversa (Rainard, 2003).

Vía intracrina de la vitamina D (Vit D)

En los macrófagos de la glándula mamaria se da una vía intracrina de la vit D, asociada con los mecanismos de defensa innata de la misma en la mastitis bovina. Este mecanismo se da a través de la generación de óxido nítrico (uno de los más potentes microbicidas) y de la β -defensina



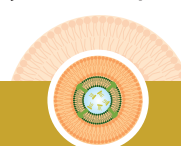
(péptido antimicrobiano contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas) que refuerza la acción bactericida (Nelson, Merriman, Poindexter, Kweh & Blakely, 2018).

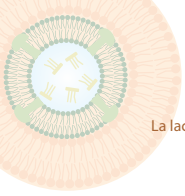
El estímulo de los macrófagos activados mediante la interacción de receptores TLR con las PAMP, como son el LPS y los péptidoglicanos, conduce a la producción de la enzima CYP27B1 e induce el paso de 25 (OH) D3 a 1,25 (OH)₂ D3, que es el metabolito activo de la vit D. La vit D activa a su receptor (VDR) hormonal nuclear que funciona como un factor de transcripción. Así, se produce la expresión de los genes de sintetasa de óxido nítrico inducible (*iNOS*), de β -defensina 3 y otras. El óxido nítrico reacciona dentro del fagolisosoma con las moléculas de radicales libres y forma moléculas nitrogenadas como el peroxinitrito, que contribuye a eliminar la bacteria dentro del macrófago (Nelson et al., 2018).

Cómo llegan a la leche las células somáticas

El reclutamiento local de leucocitos (macrófagos y linfocitos) y neutrófilos en la leche procedentes de la sangre es el mecanismo más importante de defensa de la glándula mamaria bovina. Cuando la ubre se encuentra con una infección activa, los neutrófilos corresponden entre el 59 y el 99% de las células somáticas, dependiendo del estado de lactancia (Burton & Erskine, 2003).

La defensa contra infecciones intramamarias se dificulta por el volumen de leche y sus componentes sólidos como la grasa y las caseínas, que pueden bloquear el reclutamiento de moléculas del sistema inmune. Para superar el problema del volumen de leche, que produce dilución de células y moléculas, la glándula mamaria debe reclutar un sinnúmero de moléculas necesarias para la respuesta inmune local durante la fase aguda inflamatoria. Los principales efectores de dicha respuesta son los neutrófilos y anticuerpos



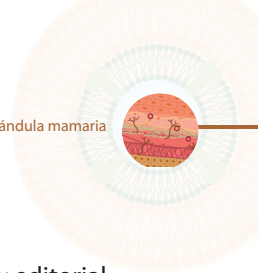


opsonizantes. Las poblaciones bacterianas de *E.coli*, *K.pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus agalactiae* pueden duplicarse cada 30 minutos en la glándula mamaria y requieren grandes cantidades de anticuerpos opsonizantes y neutrófilos nuevos (tienen una vida media de 4 horas) en las primeras 12 a 18 horas post-infección para combatirla (Smith, 1994).

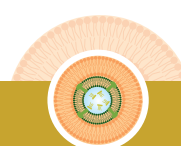
Las infecciones intramamarias inducen a un flujo mayor de neutrófilos sanguíneos y pueden llegar a concentraciones tan altas como 4×10^6 /mL en cuestión de horas. Una vaca lactante puede tener un total diario de 2×10^{11} neutrófilos, de los cuales cerca de la mitad están circulando libremente en la sangre y la otra mitad están entre nichos de almacenamiento en médula ósea o adheridos a las paredes de vasos sanguíneos. Existe una relación positiva entre la capacidad que tiene el animal de movilizar neutrófilos a la ubre y la respuesta a las infecciones intramamarias: las vacas que lo hacen más rápido y eficiente son las que mejor resuelven la infección (Paape, Hafs & Snyder, 1963).

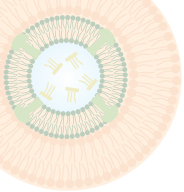
Bibliografía

- Addis, M., Tanca, A., Uzzau, S., Oikonomou, G., Bicalho, R., & Moroni, P. (2016). The bovine milk microbiota: insights and perspectives from-omics studies. *Molecular BioSystems*, 12(8), 2359-2372.
- Bannerman, D. (2009). Pathogen-dependent induction of cytokines and other soluble inflammatory mediators during intramammary infection of dairy cows. *Journal of animal science*, 87(suppl_13), 10-25.
- Bitman, J., Wood, D., Bright, S., Miller, R., Capuco, A., Roche, A., & Pankey, J. (1991). Lipid composition of teat canal keratin collected before and after milking from holstein and Jersey cows. *Journal of dairy science*, 74(2), 414-420.
- Burton, J. L., & Erskine, R. J. (2003). Immunity and mastitis some new ideas for an old disease. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 19(1), 1-45.
- Cano, L.E., Rojas, W., Gomez L.M., Aristizabal, B., Lopera, D. (2017). Granulocitos, Mastocitos, Plaquetas y fibroblastos. En Rojas, W., Anaya, J.M., Gomez, L.M., Aristizabal, B.,



- Cano, L.E., Lopera, D. (eds) *Inmunología*. pp 45-56. Medellín, Colombia: editorial Corporación para Investigaciones Biológicas CIB
- Craven, N., & Williams, M. (1985). Defences of the bovine mammary gland against infection and prospects for their enhancement. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 10(1), 71-127.
- Grinberg, N., Elazar, S., Rosenshine, I., & Shpigel, N. Y. (2008). β -Hydroxybutyrate abrogates formation of bovine neutrophil extracellular traps and bactericidal activity against mammary pathogenic *Escherichia coli*. *Infection and immunity*, 76(6), 2802-2807.
- Hodgkinson, A., Carpenter, E. A., Smith, C., Molan, P. C., & Prosser, C. G. (2007). Adhesion molecule expression in the bovine mammary gland. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 115(3-4), 205-215.
- Ibeagha-Awemu E.M., Lee J.W., Ibeagha A.E., Bannerman D.D., Paape M.J., Zhao X. (2008) Bacterial lipopolysaccharide induces increased expression of toll-like receptor (TLR) 4 and downstream TLR signaling molecules in bovine mammary epithelial cells. *Vet Res*. 39(HASTA ACÁ CURSIVA)(2):11.
- Liang, Y., Zhou, Y., & Shen, P. (2004). NF-kappaB and its regulation on the immune system. *Cell Mol Immunol*, 1(5), 343-350.
- Lippolis, J. D., Reinhardt, T. A., Goff, J. P., & Horst, R. L. (2006). Neutrophil extracellular trap formation by bovine neutrophils is not inhibited by milk. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 113(1-2), 248-255.
- Lopera, D., Rojas, W., Cano, L. E., Gomez, L. M., & Aristizabal, B. H. . (2017). Sistema del complemento In W. Rojas, Anaya, J. M., Gomez, L. M., Aristizabal, B. H., Cano, L. E., & Lopera (Ed.), *Inmunología* (pp. 80-93). Medellín, Colombia: Editorial Corporación para Investigaciones Biológicas CIB.
- Maddox, J. F., Aherne, K. M., Reddy, C. C., & Sordillo, L. M. (1999). Increased neutrophil adherence and adhesion molecule mRNA expression in endothelial cells during selenium deficiency. *Journal of leukocyte biology*, 65(5), 658-664.
- Mattmiller, S., Carlson, B. A., & Sordillo, L. (2013). Regulation of inflammation by selenium and selenoproteins: impact on eicosanoid biosynthesis. *Journal of nutritional science*, 2.
- Nelson, C. D., Merriman, K. E., Poindexter, M. B., Kweh, M. F., & Blakely, L. P. (2018). Symposium review: Targeting antimicrobial defenses of the udder through an intrinsic cellular pathway. *Journal of dairy science*, 101(3), 2753-2761.





- Paape, M., Hafs, H., & Snyder, W. (1963). Variation of estimated numbers of milk somatic cells stained with wright's stain or pyronin y–methyl green stain. *Journal of dairy science*, 46(11), 1211-1216.
- Paduch, J., & Krömker, V. (2011). Colonization of the teat skin and the teat canal of lactating dairy cattle by mastitis pathogens. *Tierärztliche Praxis. Ausgabe G, Grosstiere/ Nutztiere*, 39(2), 71-76.
- Paulrud, C. O. (2005). Basic concepts of the bovine teat canal. *Veterinary research communications*, 29(3), 215-245.
- Rainard, P. (2003). The complement in milk and defense of the bovine mammary gland against infections. *Veterinary research*, 34(5), 647-670.
- Rainard, P., Riollet, C., (2006). Innate immunity of the bovine mammary gland. (cursiva) *Veterinary Research* 37(hasta acá la cursiva), 369–400
- Rojas, W., Cano, L. E., Gomez, L. M., Aristizabal, B. H., & Lopera, D. . (2017). Generalidades y definiciones In W. Rojas, Anaya, J. M., Gomez, L. M., Aristizabal, B. H., Cano, L. E., & Lopera, D. (Ed.), *Inmunología* (pp. 3-14). Medellín, Colombia: Editorial Corporación para Investigaciones Biológicas CIB.
- Ryman, V. E., Packiriswamy, N., & Sordillo, L. M. (2015). Role of endothelial cells in bovine mammary gland health and disease. *Animal health research reviews*, 16(2), 135-149.
- Serhan, C., & Chiang, N. (2008). Endogenous pro-resolving and anti-inflammatory lipid mediators: a new pharmacologic genus. *British journal of pharmacology*, 153(S1), S200-S215.
- Smith, J. A. (1994). Neutrophils, host defense, and inflammation: a double-edged sword. *Journal of leukocyte biology*, 56(6), 672-686.
- Smolenski, G. A., Cursons, R. T., Hine, B. C., & Wheeler, T. T. (2015). Keratin and S100 calcium-binding proteins are major constituents of the bovine teat canal lining. *Veterinary research*, 46(1), 113.
- Sordillo, L. M. (2018). *Mammary gland immunobiology and resistance to mastitis*. *Veterinary clinics: food Animal Practice*, 34(3), 507-523.
- Tabas, I., & Glass, C. K. (2013). Anti-inflammatory therapy in chronic disease: challenges and opportunities. *Science*, 339(6116), 166-172.