

# La biotecnología animal y la industria lechera

Jorge A. Piedrahita  
M.Sc., Ph.D.

Profesor Asistente de Embriología Molecular Escuela de Medicina Veterinaria y Centro de Biotecnología Animal Universidad de Texas A&M

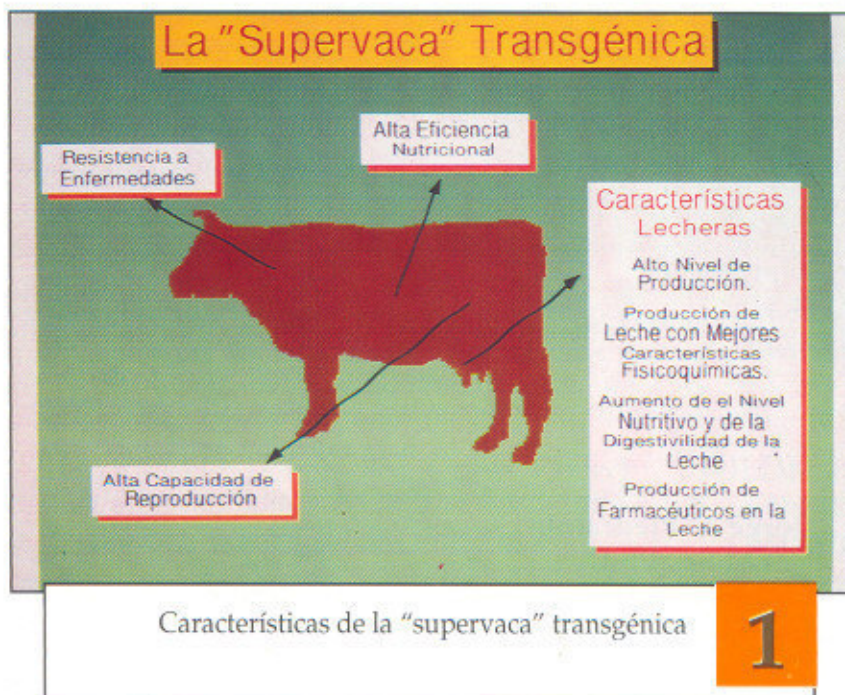
## Introducción

Entre los años 1955 y los años 1980 el promedio de producción lechera por vaca aumentó el 100% (9). Este aumento fue debido tanto a mejoras en el manejo de ganado y mejoras en los niveles nutricionales, como a mejoras en la selección genética. De estos componentes el más influyente fue la selección genética, ya que durante estos años la técnica de inseminación artificial facilitó la expansión de material genético de alta calidad. Uno de los resultados de esta expansión fue el rápido aumento en los niveles de producción en los países con acceso a genética de alta calidad, in-

cluyendo Colombia. Aunque la inseminación artificial como parte de un sistema de mejoramiento genético seguirá vigente, los aumentos en nivel de producción debidos a selección animal se ven reducidos o desacelerados ya que el material genético existente es de calidad muy superior. En otras palabras, es más sencillo influenciar positivamente sistemas de nivel subóptimo que sistemas ya optimados.

Por otro lado, la biotecnología animal ofrece la posibilidad de mejoramientos a nivel genético muy específicos y en una sola generación. Esta habilidad de modificar fenotipos específicos, sin causar

modificaciones en áreas no relacionadas a la producción lechera, ofrece altas posibilidades para el mejoramiento a corto plazo de la eficiencia de la producción. Con esta tecnología pronto será posible producir la "supervaca" transgénica, aquella con fenotipos específicos que mantengan o aumenten el nivel de producción y al mismo tiempo sea resistente a enfermedades, posea una alta capacidad de reproducción, contenga cambios en la microflora del rumen para aumentar la capacidad nutricional, y produzca leche con contenido proteínico modificado de acuerdo a las necesidades de la industria láctea y el consumidor (figura 1) (2, 10, 11).



### Áreas principales de investigación

En lo que respecta a los productos lácteos, dos áreas de utilización de animales transgénicos se planean: La primera, de aplicación biomédica, es la de la producción de proteínas de importancia en la medicina humana, en la glándula mamaria de los animales domésticos. Es así como proteínas de muy alto costo, utilizadas para la prevención o tratamiento de enfermedades humanas, están siendo producidas en las glándulas mamarias de ratones, cabras, y cerdos transgénicos (2, 11). Igualmente se predice en el futuro la habilidad de modifi-

car la caseína de la leche ya sea para cambiar sus propiedades físicoquímicas, de manera que produzcan productos procesados de mejor estabilidad o calidad, como para la producción, en vacas, de productos con propiedades similares a la leche materna humana para consumo de niños recién nacidos (10, 11).

Para lograr estos cambios genéticos se requieren avances en dos áreas de la investigación animal. Una de estas áreas es la identificación de genes únicos que sean capaces de causar cambios fenotípicos beneficiosos. Esta es un área de gran importancia debido a que la mayoría de fenotipos

de interés agrícola, como la producción lechera, son el resultado de expresión de múltiples genes y no de un gene únicamente. Por lo tanto la investigación está concentrada, en el momento, en el aumento a la resistencia a ciertas enfermedades (la cual ha sido correlacionada con cambios en un sólo gene) como brucelosis y aftosa, o con la identificación de mutaciones naturales que resulten en un fenotipo beneficioso. Por ejemplo, la oveja Booroola proveniente de Australia tiene una mutación, la cual causa aumento en su capacidad de reproducción. La expectación es que una vez identificado este cambio genético en el Booroola una modificación similar se podría introducir en el ganado lechero por medio de manipulación genética (1).

Aparte de la investigación en la identificación de los genes involucrados en impartir características de importancia agrícola, hay un gran empuje en el desarrollo de técnicas para incrementar la eficiencia de producción de animales transgénicos en bovinos, porcinos y ovinos. Esto se debe a que en el presente los costos de producción de animales transgénicos y ciertos problemas tec-

nológicos evitan la aplicación más generalizada de esta tecnología de punta.

### Métodos de producción de animales transgénicos

En el presente, existen tres técnicas de producción de mamíferos transgénicos: La inyección pronuclear, el uso de vectores retrovirales y la recombinación homóloga en células embrionarias madres (células EM).

#### La Inyección Pronuclear

La inyección pronuclear se basa en la introducción de 150-200 copias de un gene "artificial" en el pronúcleo de un cigoto recién fertili-

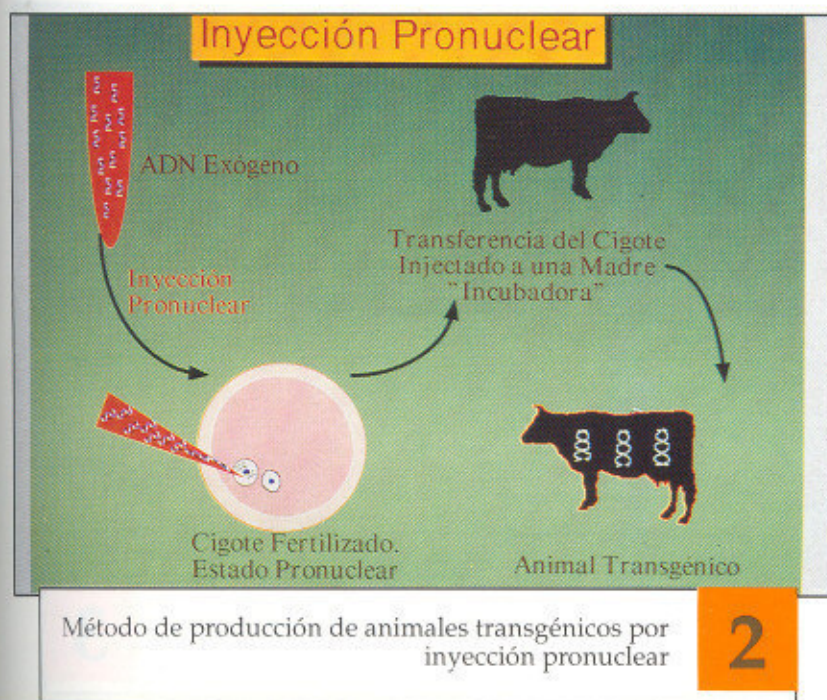
zado (Figura 2). Este ADN artificial, o exógeno, se integra en el ADN cromosómico, o endógeno, del embrión y una vez integrado es procesado de la misma manera que el ADN cromosómico. El resultado final es un cambio genético permanente, tanto en el animal modificado como en las futuras generaciones procedentes de ese animal. Esta técnica sufre de varios graves problemas, entre ellos: La baja eficiencia de inserción del ADN exógeno, con un promedio de un embrión en 100 inyectados resultando en el nacimiento de un animal transgénico; el problema es que el ADN se incorpora en el cromosoma

al azar, lo cual puede resultar en su incorporación en un lugar donde afecte genes importantes para la supervivencia del organismo; y la inhabilidad del gene artificial de funcionar de la manera planeada debido a problemas de regulación.

Un experimento típico de producción de animales transgénicos es el descrito por Shamay et al. (7). Este grupo de investigadores produjo cerdos transgénicos con capacidad de sintetizar una proteína específica en su glándula mamaria. De 1.582 embriones inyectados, 254 resultaron en crías, 14 eran transgénicos y sólo 8 produjeron la proteína en la glándula mamaria. El nivel de producción de el mejor transgénico fue de 1 gr/litro. En bovinos la técnica es igualmente ineficiente y hasta el momento no existe un programa de producción de ganado transgénico utilizando la técnica de inyección pronuclear que haya dado resultados económicos.

#### Los Vectores Retrovirales

La técnica de vectores retrovirales hace uso de un retrovirus artificial para la introducción del material genético dentro del cromosoma del embrión en desarrollo (8). Tiene la ventaja de que el virus es altamente



eficiente y es capaz de infectar el 100% de los embriones tratados. Desafortunadamente, tienen varias desventajas, entre ellas, la inhabilidad de controlar en qué lugar se inserta el retrovirus en el cromosoma, problemas de regulación del gene artificial, y problemas técnicos en la construcción de los vectores retrovirales. Debido a la combinación de estos problemas esta técnica es de muy poco uso en la biotecnología animal. Por el contrario los vectores retrovirales son frecuentemente utilizados en la medicina humana para la terapia genética, ya que en este caso se necesita una gran eficiencia y los posibles problemas de regulación y de inserciones genéticas, son de secundaria importancia, puesto que sólo se utilizan en tratamientos de enfermedades letales e incurables.

### La Recombinación Homóloga

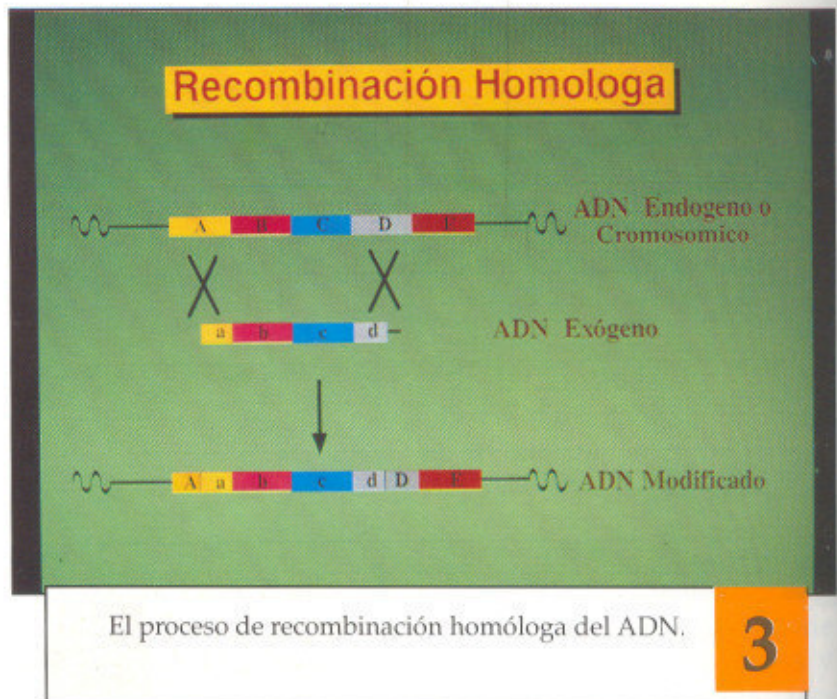
La técnica de recombinación homóloga en células embrionarias madres, aún siendo la más complicada, es la que tiene más potencial para revolucionar la biotecnología animal (3). El primer componente de esta técnica, la recombinación homóloga, hace uso, como su nombre indica, de regiones de homología entre el ADN exógeno y el ADN

endógeno, para insertar el ADN exógeno en áreas específicas del cromosoma. En otras palabras, usando esta técnica, se puede seleccionar el lugar en el cromosoma en donde el ADN exógeno irá a terminar.

Como se puede ver en la figura 3, el gene endógeno, o gene X, está compuesto de varias regiones que definen su identidad única (su "huella dactilar" genética). Utilizando métodos de ingeniería genética se construye el ADN exógeno conteniendo varias de las regiones que definen el gene X (se hace una copia de las "huellas dactilares"). Al introducir el ADN exógeno en

la célula, las regiones de homología entre el gene endógeno y el exógeno actúan como pequeños imanes y se atraen mutuamente. Esta atracción causa que el ADN exógeno identifique, entre el ADN cromosomal completo, el ADN endógeno conteniendo las mismas regiones de homología.

Una vez encontradas las regiones de homología, el ADN exógeno reemplaza a el ADN endógeno haciendo uso del proceso de recombinación homóloga. Este tipo de inserción difiere de aquel que ocurre en la inyección pronuclear y los vectores retrovirales en el que la re-



combinación homóloga el ADN es intercambiado y en los otros dos el ADN es añadido.

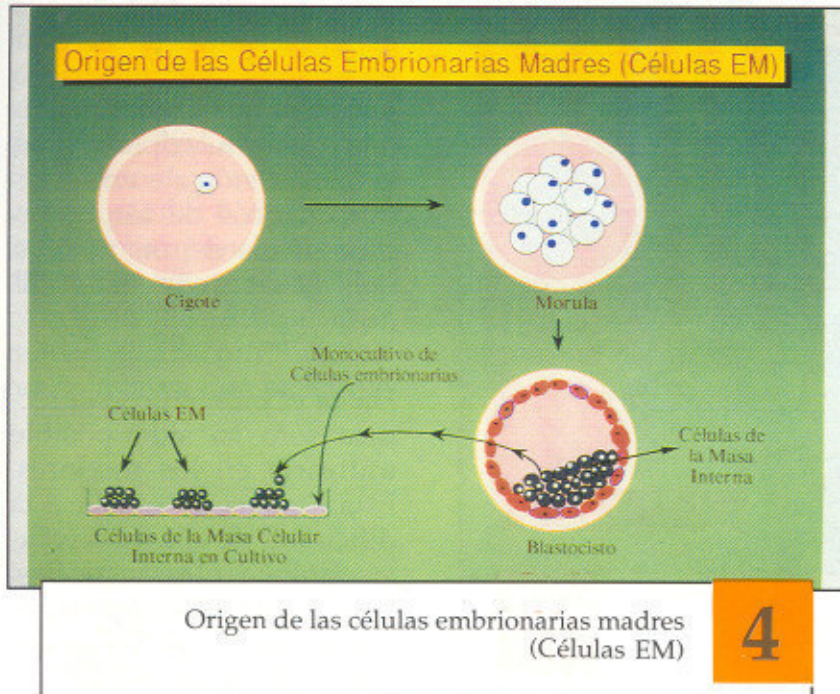
El gran poder de esta técnica es que permite la modificación específica de cualquier gene del animal, incluyendo el remplazo del gene original por un gene novedoso. Es así como ya ha sido posible modificar genes específicos con el propósito de estudiar los efectos de los cambios genéticos en la fisiología del animal. Por ejemplo, en estudios enfocados al discernimiento de la función de la apolipoproteína E en el proceso de transporte de colesterol en la sangre,

nuestro grupo de investigación demostró la posibilidad de introducir cambios específicos en el gene codificado por esa proteína (6) y como esos cambios resultaron en un cambio fisiológico afectando la arteriosclerosis prematura (12). Este tipo de modelos animales de enfermedades humanas permiten el análisis controlado de los efectos de terapias experimentales en el desarrollo de la enfermedad.

Lamentablemente, en el momento la eficacia (el número de eventos de recombinación homóloga por el número de células tratadas) de la técnica es en-

tre 1 en 10.000 y 1 en 1'000.000, por lo que no es posible utilizarla directamente en embriones. De ahí la importancia de las células embrionarias madres (células EM). Las células EM tienen propiedades muy especiales que las hacen claves para la producción de animales transgénicos. Estas células son obtenidas de embriones en los primeros días de desarrollo (el período preimplantatorio, estado de blastocisto). Durante este período el embrión está compuesto por dos tipos de células: La trofoblástica, y las células de la masa celular interna (figura 4). Las células de la masa interna son las que se convertirán en el organismo adulto durante el desarrollo embrionario. En otras palabras, estas células contienen toda la información genética para producir un organismo adulto.

Las células EM son derivadas directamente del cigoto en desarrollo (figura 4). Básicamente, las células de la masa celular interna son removidas del embrión y transferidas a un medio de cultivo especial que estimula su división pero inhibe su habilidad de diferenciarse en tejidos adultos. El resultado de esta doble inhibición/estimulación es



la proliferación de las células embrionarias madres en alto número y por tiempo indefinido sin pérdida de potencial genético. Debido a su habilidad de dividirse continuamente e indefinidamente es posible obtener en exceso de 100 millones de células en un plato de petri de 10 cm de circunferencia. Lo cual significa que, aún usando técnicas tan ineficientes como la recombinación homóloga en cada plato, se pueden obtener varios eventos positivos.

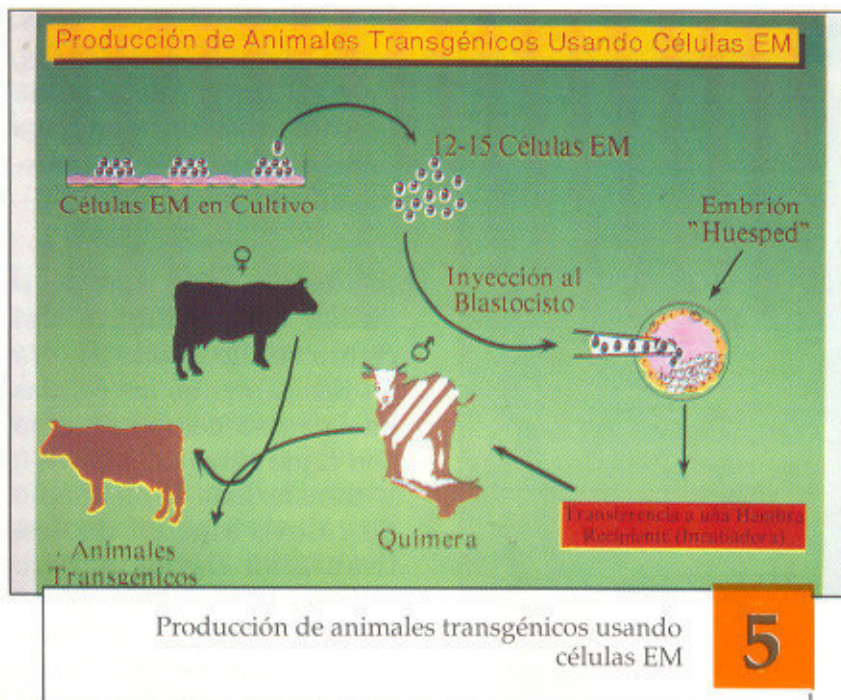
La propiedad más importante de las células EM es su habilidad de diferenciarse de una manera normal cuando son introducidas en

un embrión "huésped". Como se ve en la figura 5, un pequeño número de células EM son inyectados cerca a la masa celular interna de un embrión huésped. Este embrión inyectado, transferido a una hembra que actúa como incubadora, se desarrolla normalmente con las células del embrión huésped controlando el desarrollo de las células EM. El resultado de esta interacción es el nacimiento de una quimera, un animal compuesto por tejidos derivados del embrión huésped y tejidos derivados de las células EM. Ya que los testículos o los ovarios también pueden ser derivados de las células EM, cuando el

animal se reproduce pasan las características genéticas de la célula EM a la siguiente generación. O visto de otra manera, usando esta técnica, una célula en cultivo puede dar lugar a un organismo vivo.

Esta propiedad de poder producir un animal de una célula mantenida in vitro permite modificar genéticamente las células EM en cultivo, y sólo cuando los cambios genéticos han sido confirmados y analizados se continúa con la producción de una quimera. Por lo tanto, sólo animales transgénicos con la modificación deseada son producidos. Desde un punto de vista agrícola, la propiedad de poder preseleccionar in vitro las modificaciones genéticas antes de invertir altas cantidades de dinero en la producción de un animal transgénico, permitirán la producción de animales transgénicos de importancia agrícola de una manera más eficiente y generalizada.

Hasta el momento esta técnica sólo ha sido posible utilizarla en los roedores. Esta limitación se debe a la dificultad de aislar las células EM en otras especies. Previas investigaciones por nuestro grupo (4,5) han demostrado la posibilidad de



aislar células EM en porcinos, más no han logrado identificar las condiciones que ayuden a mantener estas células EM en un estado genéticamente estable por largos períodos de tiempo. En bovinos los problemas técnicos son similares con grupos reportando informalmente la habilidad de aislar las células más no de mantenerlas. En el momento, el enfoque de la investigación en el área del aislamiento de las células EM en bovinos, ovinos, y porcinos, es en el descubrimiento de proteínas embrionarias o uterinas que permitan la proliferación e inhiban la diferenciación de estas células EM in vitro.

A pesar de las dificultades existentes se prevé que en los próximos 5 años se van a elucidar las condiciones que permitan el aislamiento de células EM en los bovinos, ovinos y porcinos. Una vez las células EM sean aisladas no se prevé ninguna dificultad en producir los cambios genéticos por medio de recombinación homóloga ya que se ha de-

mostrado que las enzimas responsables de facilitar este tipo de recombinación están conservadas en las especies mamíferas.

### Conclusión

La biotecnología animal, en particular la producción de animales transgénicos, tiene el potencial de revolucionar la industria lechera de una manera casi inconcebible. Utilizando estas técnicas será posible en unos años "diseñar" la composición de la leche para aumento o mejoramiento de las características ya sea nutritivas o fisicoquímicas. Es decir, habrá hatos especializados en producción de leche para productos procesados (quesos, yogures, kumis, etc.), hatos especializados en producción de leche para consumo de humanos recién nacidos, o hatos especializados en la producción de leche conteniendo proteínas de valor para la industria farmacéutica, por mencionar algunos.

Con el desarrollo de la tecnología que nos permitirá lograr todos estos avances, es imperativo comenzar a educar al consumidor sobre la sanidad y seguridad de los productos de animales transgénicos. Este proceso educacional debe comenzar años antes de la posible introducción de productos resultantes de la tecnología transgénica y debe consistir en una explicación en términos generales de la tecnología utilizada en la producción de animales transgénicos. Una vez el consumidor comprenda como son producidos estos animales, entenderá de que los animales transgénicos no son unos "monstruos" a los que hay que temer sino unos animales superiores con características específicamente diseñadas para el beneficio del consumidor. Tampoco hay que dejar olvidar que la aplicación de esta tecnología será para el beneficio no sólo de los productores y procesadores de productos lácteos sino para la sociedad en general.

**Bibliografía**

BINDON, B. M.; PIPER, L.R. Booroola (F) gene: Mayor gene affecting ovine ovarian function. En: Genetic Engineering of animal, and Agricultural perspective. (1986); p. 67 - 93.

EBERT, K.m.; J. P. Selgrat. Changes in domestic lives tock through genetic engineering. En: Snimsl Applications of Research in Mammalian Development. (1991); p. 233 - 266.

KOLLER, b.; O., Smithies. Altering genes in animals by gene targeting. En: Annual Reviews in Immunology. N° 10 (1992); p. 705 - 730.

PIEDRAHITA, J.A. et al. Generation of mice carrying a mutant apolipoprotein E gene inactivated by gene targeting in mouse embryonic stem cells. En: Proceedings of the National Academy of Sciences. New York. N° 89 (1992); p. 4471 - 4475.

PIEDRAHITA, J.A.; G.B., Anderson; R.M., Bon Durant. Influence of feeder layer type on the efficiency of isolation of porcine embryo - derived cell lines. En: Theriogenology. N° 34 (1990); p. 865 - 877.

PIEDRAHITA, J.A.; G.B., Anderson; R.M., Bon Durant. On the isolation of

embryonic stem (ES) cells: Comparative behavior of murine, porcine and ovine embryos. En: Theriogenology. N° 34 (1990); p. 879 - 901.

SHAMAY, A. et al. Production of the mouse whey acidic protein in transgenic pigs during lactation. En: Journal of Animal Science. N° 69 (1991); p. 4552 - 4562.

SORIANO, P. et al. Tissue specific and ectopic expression of genes introduced into transgenic mice by retroviruses. En: Science. N° 234 (1986); p. 1409 - 1413.

VOELKER, D.E. Dairy herd improvement associations. En: Journal of Dairy Science. New York. Vol. 64C (1981); p. 1269 - 1276.

WILMUT, I. et al. Modification of milk composition. En: Journal of Reproduction and Fertility. N° 43 (1992); p. 265 - 275.

WILMUT, I. et al. Production of pharmaceuticals in milk. En: Experientia. N° 47 (1991); p. 905 - 192.

ZHANG, S.H. et al. Spontaneous hypercholesterolemia and arterial lesions in mice lacking apolipoprotein E. En: Science. N° 258 (1992); p. 468 - 471.