

## Aplicaciones de los cerdos transgénicos en biomedicina y producción animal

J. Gadea<sup>1</sup>, F.A. García-Vázquez

Departamento de Fisiología. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. Campus de Espinardo. Murcia 30.100 España. <http://www.um.es/grupo-fisiovet>

### Resumen

Los animales transgénicos han supuesto un gran avance en el campo de la ciencia y de la salud. Los avances tecnológicos en este campo han permitido desarrollar una amplia variedad de cerdos transgénicos con diversos objetivos y aplicaciones. En este documento hemos descrito y analizado las diversas aplicaciones que los cerdos transgénicos han tenido y tienen en el ámbito biomédico y en el agropecuario. Entre estas aplicaciones en el campo de la salud destacamos los modelos de enfermedad humana, la generación de productos biofarmacéuticos y el trasplante de órganos de cerdos modificados a humanos (xenotrasplante). Por otra parte, la resistencia a las enfermedades, la mejora de los índices productivos y la reducción del efecto contaminante de la actividad ganadera son las principales aplicaciones de los cerdos transgénicos en producción animal. El uso de cerdos transgénicos está más desarrollado en el campo de la biomedicina que en el agropecuario, fundamentalmente por las limitaciones que existen actualmente en el consumo de productos alimentarios derivados de los organismos modificados genéticamente (OMG's).

**Palabras clave:** salud, modelos enfermedad, biofármacos, xenotrasplantes, mejora productiva, contaminación.

### Summary

#### Applications of transgenic pigs in biomedicine and animal production

Transgenic animals have been a great improvement for science and health. The latest technological developments have led to the generation of a broad variety of transgenic pigs with diverse aims and applications. In this manuscript, we describe and analyze the usage and applications of the transgenic pigs in biomedicine and agriculture. The applications of transgenic pigs in biomedicine included models for human diseases, production of bio-pharmacological substances and xenotransplantation. The agriculture applications of transgenic pigs are disease resistance, increases in the production and quality of animal products and pollution reduction. The use of transgenic pigs is higher in biomedicine than in agriculture. This is due to the severe restriction of consumption of food products derived from genetic modified organisms (GMO's).

**Key words:** health, disease model, bio-pharmacology, food products, xenotransplantation, pollution.

---

1. Autor al que dirigir la correspondencia. E-mail: [jgadea@um.es](mailto:jgadea@um.es)

## Introducción

Desde los primeros estudios de la década de los 80 que describían la producción de cerdos transgénicos mediante inyección pronuclear que expresaban la hormona de crecimiento (Pursel *et al.*, 1989) hasta nuestros días, se ha producido un gran avance tecnológico que ha permitido diseñar porcinos transgénicos con diferentes aplicaciones. A continuación pretendemos describir las aplicaciones más importantes de estos animales en el ámbito de la producción animal y de la biomedicina, así como avanzar las líneas de investigación en las que se está trabajando y que podrán hacerse realidad en un futuro próximo.

### Aplicaciones en el ámbito biomédico

El desarrollo de los animales transgénicos en general con aplicación en el ámbito biomédico ha tenido una amplia difusión en la últimas dos décadas y las previsiones son que la utilización de modelos transgénicos será aún mayor en los próximos años (Luney, 2007; Matsunari & Nagashiga, 2009).

Este progreso está basado, por una parte, en el avance tecnológico en los campos de la biología molecular y de la reproducción asistida, que posibilita hacer nuevas modificaciones genéticas en las células somáticas y clonaras mediante transferencia nuclear. Por otra parte, existe una demanda creciente de modelos animales de enfermedad y la generación de los animales transgénicos pueden tener un gran incentivo científico y económico, su uso no presenta objeciones éticas infranqueables y está bien aceptado por la sociedad ya que se tiene en consideración que estos animales van a tener una aplicación directa sobre la salud humana.

El ratón es el animal de laboratorio empleado con mayor frecuencia en la investigación biomédica (Grindon & Bhogal, 2005). Este animal presenta diversas particularidades

que hacen de él que sea el modelo de elección. Entre las que se incluye su pequeño tamaño, fácil manejo, reducido coste de adquisición y mantenimiento, intervalo entre generaciones corto, posibilidad de obtener ratones transgénicos con relativa facilidad técnica, etc. Sin embargo, en muchos casos es necesario finalizar los procesos de investigación con animales mayores que confirmen los resultados previos obtenidos con roedores en los estudios de la patogenia de las enfermedades o para evaluar nuevas estrategias terapéuticas (Laible, 2009). Entre las alternativas posibles, la especie porcina se presenta como un buen modelo para el estudio de la fisiología humana. En algunas ocasiones no es posible el uso de los pequeños roedores ya que estos tienen un tamaño reducido para medir los pequeños cambios que se producen en los parámetros fisiológicos. Igualmente, el cerdo es un buen modelo experimental para ciertas enfermedades humanas debido a que su sistema cardiovascular, digestivo e inmune o su piel son anatómica y fisiológicamente más similares al humano que los roedores u otros modelos de animales mayores (Niemann *et al.*, 2009).

En el ámbito de biomédico, el modelo porcino esta siendo utilizado para completar estudios realizados en fases anteriores con modelos de roedor o bien cuando el roedor no satisface los requisitos de los experimentos. Los cerdos transgénicos se han diseñado y utilizado para a) estudiar algunos aspectos importantes de determinadas enfermedades humanas, b) producir biofármacos en la leche o en otros fluidos corporales y c) la producción de órganos porcinos que pudieran ser transplantados a los humanos (xenotrasplantes).

### Cerdos transgénicos como modelo de enfermedad humana

En términos generales, el mayor uso de los organismos modificados genéticamente es

el estudio y conocimiento sobre la función y regulación de los genes para su posterior aplicación en la prevención y tratamiento de las enfermedades humanas (Matsunari & Nagashiga, 2009).

Entre el uso de los cerdos transgénicos como biomodelos de enfermedad humana (Tabla 1) destacan los trabajos para generar un tipo porcino de la retinitis pigmentosa (Petters *et al.*, 1997). Estos cerdos expresan un gen mutado de la rodopsina (Pro347Leu) y al igual que en los humanos se produce una pérdida temprana de la mayor parte de los fotorreceptores de tipo bastón de la retina lo que se traduce en una falta de visión en la oscuridad. Además, con el paso del tiempo los conos también degeneran y reducen la señal electrorretinográfica como ocurre en la enfermedad humana. El gran parecido fenotípico entre la enfermedad porcina y humana ha permitido su uso para estudiar las diversas fases de la enfermedad (Tso *et al.*, 1997; Li *et al.*, 1998) y como modelo experimental para ensayar nuevas terapias (Shaw *et al.*, 2001).

Otro ejemplo interesante es el modelo descrito recientemente para estudiar ciertas alteraciones del sistema cardiovascular. Mediante la técnica de transferencia nuclear (clonación) se han producido cerdos minipig que *sobre-expresan* la enzima óxido nítrico sintetasa en las células endoteliales (Hao *et al.*, 2006). La función y estructura vascular y los procesos de hemostasia, así como la modulación del metabolismo del músculo esquelético y cardíaco está regulada en parte por la liberación de óxido nítrico mediada por la sintetasa de óxido nítrico de las células endoteliales. Por tanto este modelo puede ser importante para comprender la función de esta enzima en la regulación del metabolismo muscular y el sistema cardiorrespiratorio.

También cabe destacar los modelos porcinos de la diabetes mellitus que han sido recién-

temente descritos (Umeyama *et al.*, 2008), por la importancia que esta enfermedad tiene en nuestra sociedad. Mediante el uso combinado de técnicas de ICSI y de espermatozoides como vectores de la transgénesis se producen fibroblastos fetales que posteriormente son clonados para producir animales transgénicos. Los animales expresan un factor nuclear 1 alfa del hepatocito (HNF-1alpha) mutado y presentan la hiperglucemia característica de la diabetes mellitus.

Por otra parte, en el año 2008, Rogers *et al.* crearon cerdos transgénicos que sufrían fibrosis quística. Ésta es una enfermedad hereditaria autosómica recesiva y que se produce por la mutación en el gen que codifica el regulador de la conductancia de transmembrana (CFTR) de los canales de aniones. En esta enfermedad se alteran diversos órganos del enfermo como son el páncreas, hígado, intestino, pulmón, etc. pero realmente es la función respiratoria la más afectada. Estos cerdos han sido producidos por técnicas de transferencia nuclear donde se han utilizado células somáticas modificadas en las que se ha anulado el gen CFTR. Este modelo es realmente equivalente a la enfermedad humana y podrá permitir avanzar en el estudio de la misma. Como hemos comentado anteriormente el ratón es la especie comúnmente más usada para el estudio de enfermedades humanas. Aunque este modelo es satisfactorio en la gran mayoría de los casos, no siempre es el animal de elección. Este es el caso de la fibrosis quística donde los ratones transgénicos producidos no presentaban los síntomas pulmonares ni pancreáticos.

Actualmente se están diseñando nuevos porcinos transgénicos para estudiar enfermedades humanas muy importantes como son la atrofia muscular espinal (Lorson *et al.*, 2008) o diversas enfermedades neurodegenerativas (Lind *et al.*, 2007). Entre ellos destacamos los modelos porcinos de la enfer-

Tabla 1. Algunos ejemplos de cerdos transgénicos producidos como modelos de enfermedad humana  
 Table 1. Approaches to generated transgenic pig as models for human diseases

Biomodelos	Características	Metodología	Referencia
Retinitis pigmentosa	Gen mutado de la rodopsina (Pro347Leu)	Microinyección pronuclear	Peters et al., 1997
Cardiovascular	Sobre-expresión de la enzima oxidó nítrico sintetasa en las células endoteliales	Transferencia nuclear	Hao et al., 2006
Fibrosis quística	Gen mutado del regulador de la conductancia de transmembrana	Transferencia nuclear	Roger et al., 2008
Diabetes mellitus	Mutaciones en el factor nuclear 1 alfa del hepatocito (HNF-1alpha)	SMGT-ICSI y posterior clonación de fibroblastos fetales	Umeyama et al., 2008
Alzheimer	Mutación sueca (transgen APP695sw)	Transferencia nuclear	Kragh et al., 2009

medad de Alzheimer que recientemente han sido descritos (Kragh et al., 2009).

En los próximos años esperamos poder aplicar un gran número de modelos porcinos de enfermedad humana (Lunney, 2007), como ahora están disponibles para la comunidad científica miles de cepas de ratones transgénicos que sirven de objeto de estudio para una gran multitud de procesos de enfermedad humana.

#### Producción de bio-fármacos y bio-moléculas

Tras la generación de los primeros animales transgénicos de granja (Hammer et al. 1985; Brem et al., 1985), parecía razonable aplicar esta tecnología para producir animales transgénicos capaces de secretar de proteínas de interés biológico en la leche, la sangre, u otros órganos y tejidos de los animales transgénicos. En este sentido, la producción de proteínas y otras bio-moléculas con aplicación terapéutica ha tenido un gran desarrollo para su aplicación en enfermedades humanas (revisado por Keefer, 2004; Houbine, 2009).

Esta tecnología se ha aplicado con éxito en los pequeños rumiantes, convirtiendo a esto animales en grandes productores de proteínas de alto valor en su leche, como si fueran bio-reactores, con lo que se facilita enormemente su obtención y purificación. Actualmente están en el mercado los primeros productos bio-farmacéuticos después de un largo periodo de estudio y ensayos clínicos. Entre ellos destacamos la antitrombina recombinante humana producida en cabras transgénicas (ATryn®, GTC Biotherapeutics, USA) que ya está autorizada y disponible en el mercado como anticoagulante para el tratamiento de enfermos con deficiencia hereditaria de la antitrombina. Por otra parte, una proteína recombinan-

te humana el inhibidor de la esterasa C1 (Rhu-cin®, Pharming Group NV, Netherlands) producido en la leche de coneja, está en la fase clínica III y servirá para la terapia de los pacientes que sufren angioedema hereditario.

En cuanto a la especie porcina se refiere se han generado cerdos que producen en su leche proteínas de origen humano que podrían ser de utilidad terapéutica (Wall *et al.*, 1991). Entre estas sustancias se encuentran la proteína C (Velandar *et al.*, 1992), los factores VIII y IX de la coagulación (Paleyanda *et al.*, 1997; Van Cott *et al.*, 1999) para el tratamiento de la hemofilia, la albúmina humana (Naruse *et al.*, 2005), la eritropoyetina (*et al.*, 2006) y recientemente se ha descrito el factor de von Willebrand (Lee *et al.*, 2009) (Tabla 2).

La elección del cerdo para producir factores anti-hemolíticos está basada en la combinación de la capacidad que tiene una cerda transgénica para producir grandes cantidades de leche y la calidad biológica de las proteínas obtenidas (Van Cott *et al.*, 2004). Según los cálculos que describe Lubon *et al.* (1996), una cerda transgénica puede producir de 0,4 a 1,5 litros de leche por ordeño, se puede hacer hasta 5 ordeños por día durante unos 50 días de lactación en cada fase reproductiva y tienen dos por año. De manera que se pueden ordeñar entre 100 y 300 litros de leche por año. Por otra parte, las células epiteliales de la glándula mamaria de las cerdas son las únicas de entre las especies domésticas que completan las modificaciones post-transcripcionales necesarias para que los factores de coagulación VIII y IX tengan actividad biológica (Lindsay *et al.*, 2004).

Por otra parte se han conseguido cerdos que producen hemoglobina humana (Swanson *et al.*, 1992; O'Donnell *et al.*, 1993) que pudiera servir de sustitutivo de la sangre humana. Esta hemoglobina puede ser purificada por una técnica relativamente sencilla

Tabla 2. Algunos ejemplos de cerdos transgénicos productores de sustancias en leche, sangre u órganos con valor terapéutico o farmacológico  
 Table 2. Approaches to generated transgenic pig for pharmaceutical production in the mammary gland, blood or tissues

Denominación	Lugar de producción	Metodología	Referencia
Hemoglobina humana	Sangre	Microinyección pronuclear	Swanson <i>et al.</i> , 1992
Proteína C	Leche	Microinyección pronuclear	Velandar <i>et al.</i> , 1992
Factor VII coagulación	Leche	Microinyección pronuclear	Paleyanda <i>et al.</i> , 1997
Factor IX coagulación	Leche	Microinyección pronuclear	Van Cott <i>et al.</i> , 1999
Albúmina humana	Hígado y otros	SMGT-ICSI	Naruse <i>et al.</i> , 2005
Eritropoyetina humana	Leche	Microinyección pronuclear	Park <i>et al.</i> , 2006
Factor von Willebrand	Leche	Microinyección pronuclear	Lee <i>et al.</i> , 2009

lla de cromatografía de intercambio iónico y podría servir como un componente principal del sustituto de la sangre humana.

Igualmente interesantes son las nuevas propuestas para producir proteínas en otros órganos del animal productores de fluidos que permiten una fácil recuperación del material objeto de interés. En este sentido son importantes las propuestas para producir proteínas en las vesículas seminales, ya que estas van a formar parte del plasma seminal como se ha aplicado en el ratón (Dyck *et al.*, 1999) o bien la producción de proteínas recombinantes en la glándula parótida y podrán ser recogidos en la saliva (Golovan *et al.*, 2001; Yan *et al.*, 2007).

Otra alternativa pudiera ser la utilización de la vejiga urinaria o el riñón como un bio-reactor lo que permitiría la recogida de proteínas recombinantes en la orina, como ya se ha descrito en el ratón (Kerr *et al.* 1998; Zhu *et al.*, 2003). Las ventajas que presenta este modelo son la facilidad para la recolección de la orina, la abundante cantidad de proteína que puede obtenerse y que permite recogerla durante toda la vida del animal.

En la mayoría de los casos se ha empleado la técnica de inyección pronuclear para generar estos animales, pero recientemente se han publicado los primeros avances en el uso de la transferencia nuclear para generar animales productores de eritropoyetina (Chon *et al.*, 2008) o del factor estimulante de la formación de colonias de granulocitos y macrófagos humanos (hGM-CSF) (Park *et al.*, 2008).

### Xenotrasplantes

En la actualidad, los avances en la medicina han permitido que los trasplantes de órganos sea una práctica rutinaria y que sea el tratamiento indicado para muchos cuadros clínicos que antes no podían ser atendidos. Sin embargo, la realidad demuestra que no

se dispone de los órganos humanos suficientes para cubrir las necesidades crecientes de los mismos (Deschamps *et al.*, 2005). Por tanto las listas de espera son cada vez mayores y muchos pacientes mueren antes de que el órgano adecuado sea encontrado. Por ello se buscan diversas alternativas entre las que se encuentra la posibilidad de utilizar órganos de animales, los llamados xenotrasplantes.

En esta situación, el cerdo se ha convertido en uno de los mejores candidatos para el xenotrasplante debido a su eficiencia reproductiva, a un aceptable intervalo entre generaciones, a que permite mantenerlo en condiciones sanitarias estrictas y a que presenta una relativa similitud anatómica y fisiológica con el humano (Ibrahim *et al.*, 2006). Teniendo en consideración que el xenotrasplante podría ofrecer una solución transitoria, permitiendo al paciente sobrevivir hasta que un órgano humano esté disponible. Aunque los avances en los últimos años han sido muy importantes en este campo, son diversos y complejos los problemas que aún no están resueltos como son el rechazo hiper-agudo de los órganos transplantados, la posibilidad de transmisión de enfermedades latentes a receptores de los órganos como los retrovirus endógenos porcinos (PERV) y aún está por abordar la solución al rechazo crónico (Niemman *et al.*, 2009).

El primer problema a resolver en este complejo trabajo del xenotrasplante es el del rechazo hiperagudo, ya que todos los mamíferos, excepto los humanos y los monos del viejo mundo, expresan en la superficie de las células una glicoproteína con un radical gal a(1-3) gal, de tal manera que estos individuos presentan de forma natural anticuerpos frente a este antígeno que se le denomina anticuerpo xenoreactivo natural (Xna). Cuando se realiza un trasplante de un órgano de un cerdo (hígado, riñón, etc.) a un primate superior (como indicador de lo

que ocurriría en el hombre) se produce una rápida reacción híper-aguda de rechazo al injerto. Este proceso de rechazo se caracteriza por una trombosis intravascular, pérdida de la integridad del endotelio que permite la extravasación de los componentes sanguíneos y finalmente el órgano transplantado pierde su funcionalidad. Este proceso está mediado por la activación del complemento por complejos antígeno-anticuerpo. La activación del complemento es el componente principal de la patogénesis del rechazo híper agudo, que funciona como un sistema de enzimas que se activan en cascada y controladas por una serie de proteínas reguladoras (denominadas Decay Acceleration Factor DAF, CD 46, CD 59).

Las estrategias para evitar el rechazo híper-agudo son, por una parte, evitar la expresión de los antígenos (radical gal a(1-3) gal) en el órgano del donante y por otra parte, reducir la activación del complemento en el receptor con las proteínas reguladoras (Petersen *et al.*, 2009).

Se ha descrito el papel que desarrollan diversas proteínas inhibitoras del proceso de activación del complemento (DAF, CD 46, CD 59) en el rechazo híper-agudo. En consecuencia, se han generado diversos modelos porcinos que expresan estas proteínas reguladoras y que ha permitido aumentar notablemente la viabilidad del xenotransplante. El primer cerdo transgénico que expresaba DAF (Langford *et al.*, 1994) fue un gran avance, pero solamente el salto cualitativo, se ha conseguido al producir cerdos knock-out que no presentan el gen que codifica la enzima a1,3 galactosiltransferasa, de manera que no se forma el radical gal a(1-3) gal (Lai *et al.*, 2002; Phelps *et al.*, 2003; Kolber-Simons *et al.*, 2004), y también se ha combinado con la introducción del gen de otra transferasa de manera que disminuye el número de residuos antigénicos (Sharma *et al.*, 1996).

Posteriormente se han transferido órganos procedentes de cerdos knock-out y se ha conseguido mantener la viabilidad de un primate transplantado de corazón hasta 6 meses (Kuwaki *et al.* 2005) y más de tres meses la funcionalidad de un riñón transplantado (Yamada *et al.* 2005). Estos experimentos ponen de manifiesto los avances realizados en el control del rechazo híper-agudo, pero sin duda quedan muchos problemas por solucionar antes de su posible aplicación clínica (Ekser y Cooper, 2008).

Debido a la complejidad del proceso de rechazo, es necesario diseñar nuevos modelos poli-transgénicos que permitan solventar todos los mecanismos de rechazo (Matsunari & Nagashiga, 2009). Estos nuevos modelos pueden generarse a partir de cruzamientos de los animales de las líneas transgénicas ahora existentes y en combinación con la aplicación de las técnicas de transgénesis (microinyección, virus, espermatozoides como vector y transferencia nuclear) (Nottle *et al.*, 2007).

Otros ejemplos interesantes en este campo pueden ser el desarrollado en la producción de cerdos que puedan donar islotes pancreáticos a pacientes humanos que sufren diabetes (Hering y Walawalkar, 2009) o el uso de cartílagos procedentes de cerdos transgénicos que puedan tener aplicación en la cirugía de las articulaciones (Costa *et al.*, 2008). En la actualidad los estudios se encuentran en fase preclínica y en breve comenzará la fase clínica.

#### Aplicaciones en el ámbito de la producción animal

La transgénesis es una herramienta aplicable a la mejora de la producción animal como hasta ahora lo han sido los sistemas de selección genética convencional (revisado por Laible, 2009). A diferencia de lo que comentábamos previamente en relación al futuro prometedor de los cerdos transgénicos en el

ámbito biomédico, en el ámbito de la producción animal, los progresos técnicos en la transgénesis han permitido desarrollar estudios experimentales con éxito, pero se han quedado en el campo de la investigación y siguen estando lejos de las aplicaciones comerciales (Nieman *et al.*, 2009) (Tabla 3).

En este sentido, actualmente se presenta un problema grave relacionado con la falta de aceptación de la sociedad de los productos alimenticios modificados genéticamente, que son considerados o percibidos por el consumidor como dañinos o peligrosos (Varzacas *et al.*, 2007). Por otra parte, la autorización para comercializar productos derivados de estos animales transgénicos, supone que de acuerdo a la legislación vigente los productos derivados de estos animales deben ser sometidos un complejo, largo y costoso sistema de evaluación de la seguridad alimentaria. En consecuencia, muy pocas empresas pueden tener la capacidad de soportar los costes y el tiempo que conlleva la aprobación por las autoridades sanitarias de los permisos para comercializar los productos, cuando el beneficio esperado no es elevado.

Pasaremos a continuación a describir las experiencias más interesantes en la aplicación de esta tecnología a los sistemas agropecuarios, que se pueden agrupar en tres grandes áreas; las mejoras en la sanidad y bienestar animal, la mejora de los productos de origen animal y finalmente reducir el impacto medioambiental de la actividad ganadera.

#### Resistencia a enfermedades

En la producción animal las enfermedades de la ganadería suponen un gran problema por las cuantiosas pérdidas económicas que generan de forma directa y las restricciones que los problemas sanitarios suponen en los intercambios comerciales de animales y productos. En este sentido, se ha estimado que los procesos infecto-contagiosos en las gran-

jas suponen unos costes que varían entre un 17% a producción total en los países desarrollados y hasta un 50% en los países en vía de desarrollo (Whitelaw y Sang, 2005). Por tanto, la lucha contra las enfermedades aparece como un importante objetivo a conseguir con el uso de los animales transgénicos que fueran resistentes a las enfermedades comunes o más peligrosas.

La cría de animales resistentes a determinadas enfermedades podría significar un gran avance en la producción animal al reducir el uso de medicamentos y particularmente de antibióticos en algunos casos, mejorar las condiciones de bienestar animal, mejorar las tasas productivas y reproductivas y reducir la frecuencia de transmisión de enfermedades animales a humanos (zoonosis) (Muller y Brem, 1998).

Son de destacar las estrategias diseñadas en ratones por una parte para eliminar los genes relacionados con la susceptibilidad a la enfermedad, y por otra introduciendo nuevos genes que desarrollan resistencia. Utilizando las encefalopatías espongiiformes como ejemplo, por una parte se podría eliminar la susceptibilidad mediante la eliminación del gen PrP por lo que los ratones pierden la susceptibilidad a los priones causantes de las encefalopatías espongiiformes (Weissmann *et al.*, 1996). Mientras que para desarrollar resistencia a la enfermedad, la opción sería transferir genes que codifican anticuerpos capaces de neutralizar la actividad proteica PrP (Heppner *et al.* 2001) por lo que la prevención de esta enfermedad se puede conseguir mediante inmunidad pasiva en estos animales transgénicos.

Un ejemplo específico de la transgénesis porcina aplicada a la resistencia de enfermedades es la producción de cerdos resistentes al virus de la influenza. Para ello se ha utilizado el gen MX1 del ratón que confiere resistencia al virus de la gripe que se ha introducido en cerdos transgénicos. Sin



Tabla 3. Algunos ejemplos de cerdos transgénicos con aplicación en producción animal  
 Table 3. Approaches to generated *transgenic pigs for agricultural production*

Objetivo	Características	Metodología	Referencia
Incrementar el índice de crecimiento	Hormona del crecimiento (b-GH)	Microinyección pronuclear	Pursel et al., 1989
Aumentar resistencia a enfermedades	IgA de ratón	Microinyección pronuclear	Lo et al., 1991
Aumentar resistencia frente a influenza porcina	Proteína Mx de ratón	Microinyección pronuclear	Müller et al., 1992
Favorecer desarrollo muscular	CSK de <i>pollo</i>	Microinyección pronuclear	Pursel et al., 1992
Incrementar cantidad de lactosa en leche	$\alpha$ -lactoalbumina bovina	Microinyección pronuclear	Bleck et al., 1998
Aumentar porcentaje de magro	Insulin-like growth factor I (hIGF-1)	Microinyección pronuclear	Pursel et al., 1999 y 2004
Aumentar el aprovechamiento de los fosfatos, reducir contaminación	Fitasa	Microinyección pronuclear	Golovan et al., 2001
Incrementar porcentaje de ácidos grasos insaturados	Enzima desaturasa procedente de las espinacas	Microinyección pronuclear	Saeki et al., 2004
Incrementar porcentaje de ácidos grasos insaturados	Enzima desaturasa procedente de <i>Caenorhabditis elegans</i>	Transferencia nuclear	Lai et al., 2006

embargo, estos animales no son resistentes a la gripe debido a que no se ha conseguido un adecuado control de la expresión de este gen Mx1 (Muller *et al.*, 1992).

Por otra parte, para proteger al animal frente a determinadas enfermedades se puede inducir la producción de anticuerpos específicos frente a las mismas, sin que haya existido contacto previo con el antígeno. También se puede dirigir la producción de anticuerpos en los linfocitos que los liberan al torrente sanguíneo, proporcionando protección frente a enfermedades sistémicas. O bien, puede dirigirse a la producción de anticuerpos en la glándula mamaria, de manera que estos anticuerpos pasarían a los lactantes en el calostro y la leche. En el ganado porcino se han descrito experiencias interesantes en este sentido. Así, se han generado cerdos que producen inmunoglobulinas tipo-A con el objetivo de mejorar la resistencia frente a las infecciones (Lo *et al.* 1991). Por otra, Weidle *et al.* (1991) describen la producción de porcinos que presentan en el suero títulos elevados de anticuerpos monoclonales de ratón, lo que podría servir para proteger a los animales de enfermedades específicas. Posteriormente, un equipo español ha trabajado en la producción de anticuerpos monoclonales en leche frente a coronavirus intestinales como el virus de la gastroenteritis transmisible porcina (Castilla *et al.*, 1998; Sola *et al.*, 1998).

Estas posibilidades abren un nuevo horizonte en la sanidad animal, sin embargo el desarrollo de esta tecnología en los animales de granja está aún en una fase muy inicial y lejos de una aplicación a gran escala.

#### Mejoras en el crecimiento y la composición de la canal

Los primeros trabajos de transgénesis en ratón en los que se expresaba la hormona del crecimiento fueron muy alentadores. En

estos estudios se inyectaba a embriones de ratón el gen que codifica la hormona del crecimiento de la rata, de manera que los ratones transgénicos obtenidos tenían un desarrollo corporal entre 2 y 4 veces mayor que el de un ratón normal (Palmiter *et al.*, 1982). Estos estudios en ratón alentaron a la comunidad científica a aplicar esta tecnología para mejorar los índices de crecimiento corporal en diferentes especies domesticas, incluida la porcina.

Los primeros resultados importantes se consiguieron al producir cerdos que expresaban la hormona del crecimiento bovina (Pursel *et al.*, 1989). Los animales producidos mejoraban el índice de crecimiento (10-15% mayor ganancia media diaria) y índice de conversión del alimento (16-18% de aumento) y una reducción del porcentaje de grasa. Pero desafortunadamente, estos animales que expresaban la hormona del crecimiento mostraron determinados problemas de salud, tales como cojeras, úlceras peptídicas, letargias y alteraciones reproductivas (Pursel *et al.* 1989). Estos problemas de salud están asociados a fallos en el control de la expresión del transgén (Cifone *et al.*, 2002).

Otra experiencia interesante fue el uso de el gen c-ski para estimular el desarrollo muscular (Pursel *et al.*, 1992; Pursel y Rexroad, 1993), que induciría un hipertrofia muscular. Sin embargo, los resultados iniciales fueron muy dispares en los diversos animales generados, algunos de los cuales presentaban alteraciones musculares. Esta tecnología ha sido patentada posteriormente (US Patent 6218596).

Para terminar comentaremos que en los últimos años se han diseñado algunos cerdos con el objetivo de modificar las características de la canal. En este sentido, Pursel *et al.* (1999 y 2004) consiguen un cerdo transgénico que expresa Insulin-like Growth Factor I y presenta porcentajes de grasa reduci-

dos y un mayor componente magro siendo éste el producto de mayor interés comercial. Por otra parte, otra aplicación ha sido la de modificar la calidad de la carne para mejorar la calidad de la dieta de los consumidores. El objetivo principal es reducir el porcentaje de grasas saturadas y aumentar la cantidad de ácidos grasos insaturados (como los omega-3 que se encuentra en grandes cantidades en los pescados). Para ello se han utilizado genes que codifican la enzima denaturasa procedentes de las espinacas (Saeki *et al.*, 2004) o bien de *Caenorhabditis elegans* (Lai *et al.*, 2006).

El desarrollo de esta tecnología y la comercialización de los productos derivados de estos animales se ha detenido radicalmente, debido fundamentalmente a que los consumidores no aceptan el consumo de este tipo de alimentos.

#### Mejora en la producción de leche

La mejora del crecimiento y supervivencia de los animales de granja en sus fases iniciales puede conseguirse a través de la modificación de las características de la leche. Esto requiere la producción de animales transgénicos que produzcan leche: 1) en mayor cantidad, 2) con un alto contenido de nutrientes, 3) y/o que contenga proteínas con un efecto beneficioso.

En algunas especies de producción como la cabra y oveja, los nutrientes que la madre aporta a sus crías no están limitados, sin embargo, la producción de leche en las cerdas limita el crecimiento de los lechones y por lo tanto la producción porcina. Se han creado cerdos transgénicos que contienen el gen bovino  $\alpha$ -Lactoalbúmina ( $\alpha$ -LA), mediante el cual se mejora la producción y composición de la leche en las cerdas, incrementando hasta un 50% de la concentración total de esta proteína (Bleck *et al.* 1998). La expresión de este transgén lleva

asociado un incremento en la producción de leche y en consecuencia un aumento en el índice de crecimiento y de las tasas de supervivencia de los lechones (Noble *et al.* 2002).

#### Reducción del efecto contaminante de los purines

La industria porcina es reconocida como una fuente de contaminación de los suelos, por los altos contenidos en fósforo y el nitrógeno que presentan los purines, los cuales si no son bien gestionados contaminan el suelo y el agua. Una solución bastante atractiva a este problema es la generación de cerdos que expresan la enzima fitasa en sus glándulas salivares (Golovan *et al.*, 2001). Estos animales son capaces por tanto de aprovechar el fósforo que está en el alimento en forma de fitato, con el consiguiente ahorro en la formulación de los pienso. Al mismo tiempo al reducir el nivel del fósforo en las heces (entre un 30 y un 70%) se reduce el gran poder contaminante de suelos y aguas subterráneas. Este cerdo desarrollado en la Universidad de Guelph (Canada) a partir de una línea de Yorkside se ha conocido comercialmente con el nombre de Enviro-pig. En la actualidad se encuentra a la espera de autorización para su uso en el consumo humano, que implica un profundo estudio de los potenciales efectos perjudiciales del consumo de estos animales modificados.

#### Conclusiones y perspectivas de futuro

Como podemos comprobar las aplicaciones de los cerdos transgénicos son muy variadas tanto en el campo biosanitario como el de la producción animal y se desarrollarán en gran medida en las próximas décadas una vez que los avances tecnológicos en esta área permitan aumentar la eficiencia de los procesos y se mejoren las metodologías empleadas.

A la luz de la información ahora disponible las aplicaciones en el ámbito biomédico son las que más se van a desarrollar en un futuro próximo y en concreto la generación de animales que sirvan de modelos de enfermedad tienen mayor campo de desarrollo, fundamentalmente porque el balance entre riesgo beneficio es claramente favorable. Las aplicaciones en el campo de la producción animal están severamente limitadas por las autorizaciones que se necesitan para asegurar la seguridad alimentaria de estos productos.

### Agradecimientos

A todos los miembros del grupo de investigación Fisiología de la Reproducción de la Universidad de Murcia y al Dr. Alfonso Gutiérrez-Adán del INIA por el gran trabajo desarrollado en los estudios de transgénesis porcina. Éstos han sido financiados por el Ministerio de Ciencia e Innovación (proyectos AGL-2006-03495 y AGL-2009-12512-C02-01) y la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia - Fundación Séneca (proyectos 10BIO2005/01-6463 y 08752/PI/08).

### Bibliografía

Bleck GT, White BR, Miller DJ, Wheeler MB. Production of bovine alpha-lactalbumin in the milk of transgenic pigs. *J Anim Sci.* 1998 Dec; 76(12):3072-8.

Brem G, Brenig B, Goodman HM, Selden RC, Graf F, Kruff B, Springmann K, Hondele J, Meyer J, Winnacker EL, Kräusslich H. Production of transgenic mice, rabbits and pigs by microinjection into pronuclei. *Zuchthygiene*, 1985, 20: 251-252.

Castilla J, Sola I, Pintado B, Sánchez-Morgado JM, Enjuanes L (1998) Lactogenic immunity in transgenic mice producing recombinant anti-

bodies neutralizing coronavirus. *Adv Exp Med Biol* 440: 675-86.

Cho SK, Hwang KC, Choi YJ, Bui HT, Nguyen VT, Park C, Kim JH, Kim JH. Production of transgenic pigs harboring the human erythropoietin (hEPO) gene using somatic cell nuclear transfer. *J Reprod Dev.* 2009 Apr; 55(2):128-36.

Cifone D, Dominici FP, Pursel VG, Turyn D. Inability of heterologous growth hormone (GH) to regulate GH binding protein in GH-transgenic swine. *J Anim Sci.* 2002 Jul; 80(7):1962-9.

Costa C, Brokaw JL, Fodor WL. Characterization of cartilage from H-transferase transgenic pigs. *Transplant Proc.* 2008 Mar; 40(2):554-6.

Deschamps JY, Roux FA, Saï P, Gouin E. History of xenotransplantation. *Xenotransplantation.* 2005 Mar; 12(2):91-109.

Dyck MK, Gagné D, Ouellet M, Sénéchal JF, Bélanger E, Lacroix D, Sirard MA, Pothier F. Seminal vesicle production and secretion of growth hormone into seminal fluid. *Nat Biotechnol.* 1999 Nov; 17(11):1087-90.

Ekser B, Cooper DK. Update: cardiac xenotransplantation. *Curr Opin Organ Transplant.* 2008 Oct; 13(5):531-5.

Golovan SP, Meidinger RG, Ajakaiye A, Cottrill M, Wiederkehr MZ, Barney DJ, Plante C, Pollard JW, Fan MZ, Hayes MA, Laursen J, Hjorth JP, Hacker RR, Phillips JP, Forsberg CW. Pigs expressing salivary phytase produce low-phosphorus manure. *Nat Biotechnol.* 2001 Aug; 19(8):741-5.

Grindon C, Bhogal N. The fourth EC report on the statistics of laboratory animal use: trends, recommendations and future prospects. *Altern Lab Anim.* 2005 Aug; 33(4):417-26.

Hammer RE, Pursel VG, Rexroad CE Jr, Wall RJ, Bolt DJ, Ebert KM, Palmiter RD, Brinster RL. Production of transgenic rabbits, sheep and pigs by microinjection. *Nature.* 1985 Jun 20-26; 315(6021):680-3.

Hao YH, Yong HY, Murphy CN, Wax D, Samuel M, Rieke A, Lai L, Liu Z, Durtschi DC, Welbern VR, Price EM, McAllister RM, Turk JR, Laughlin MH, Prather RS, Rucker EB. Production of

- endothelial nitric oxide synthase (eNOS) over-expressing piglets. *Transgenic Res.* 2006 Dec; 15(6):739-50.
- Heppner FL, Musahl C, Arrighi I, Klein MA, Rüllicke T, Oesch B, Zinkernagel RM, Kalinke U, Aguzzi A. Prevention of scrapie pathogenesis by transgenic expression of anti-prion protein antibodies. *Science.* 2001 Oct 5; 294(5540):178-82.
- Hering BJ, Walawalkar N. Pig-to-nonhuman primate islet xenotransplantation. *Transpl Immunol.* 2009 Jun; 21(2):81-6.
- Houdebine LM. Production of pharmaceutical proteins by transgenic animals. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2009 Mar; 32(2):107-21.
- Ibrahim Z, Busch J, Awwad M, Wagner R, Wells K, Cooper DK. Selected physiologic compatibilities and incompatibilities between human and porcine organ systems. *Xenotransplantation.* 2006 Nov; 13(6):488-99.
- Kragh PM, Nielsen AL, Li J, Du Y, Lin L, Schmidt M, Bøgh IB, Holm IE, Jakobsen JE, Johansen MG, Purup S, Bolund L, Vajta G, Jørgensen AL. Hemizygous minipigs produced by random gene insertion and handmade cloning express the Alzheimer's disease-causing dominant mutation APPsw. *Transgenic Res.* 2009 Aug; 18(4):545-58.
- Keefer CL. Production of bioproducts through the use of transgenic animal models. *Anim Reprod Sci.* 2004 Jul; 82-83:5-12.
- Kerr DE, Liang F, Bondioli KR, Zhao H, Kreibich G, Wall RJ, Sun TT. The bladder as a bioreactor: urothelium production and secretion of growth hormone into urine. *Nat Biotechnol.* 1998 Jan; 16(1):75-9.
- Kolber-Simonds D, Lai L, Watt SR, Denaro M, Arn S, Augenstein ML, Betthausen J, Carter DB, Greenstein JL, Hao Y, Im GS, Liu Z, Mell GD, Murphy CN, Park KW, Rieke A, Ryan DJ, Sachs DH, Forsberg EJ, Prather RS, Hawley RJ. Production of alpha-1,3-galactosyltransferase null pigs by means of nuclear transfer with fibroblasts bearing loss of heterozygosity mutations. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 May 11; 101(19):7335-40.
- Kuwaki K, Tseng YL, Dor FJ, Shimizu A, Houser SL, Sanderson TM, Lancos CJ, Prabharasuth DD, Cheng J, Moran K, Hisashi Y, Mueller N, Yamada K, Greenstein JL, Hawley RJ, Patience C, Awwad M, Fishman JA, Robson SC, Schuurman HJ, Sachs DH, Cooper DK. Heart transplantation in baboons using alpha1,3-galactosyltransferase gene-knockout pigs as donors: initial experience. *Nat Med.* 2005 Jan; 11(1):29-31.
- Lai L, Kolber-Simonds D, Park KW, Cheong HT, Greenstein JL, Im GS, Samuel M, Bonk A, Rieke A, Day BN, Murphy CN, Carter DB, Hawley RJ, Prather RS. Production of alpha-1,3-galactosyltransferase knockout pigs by nuclear transfer cloning. *Science.* 2002 Feb 8; 295(5557):1089-92.
- Lai L, Kang JX, Li R, Wang J, Witt WT, Yong HY, Hao Y, Wax DM, Murphy CN, Rieke A, Samuel M, Linville ML, Korte SW, Evans RW, Starzl TE, Prather RS, Dai Y. Generation of cloned transgenic pigs rich in omega-3 fatty acids. *Nat Biotechnol.* 2006 Apr; 24(4):435-6.
- Laible G. Enhancing livestock through genetic engineering-recent advances and future prospects. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2009 Mar; 32(2):123-37.
- Langford GA, Yannoutsos N, Cozzi E, Lancaster R, Elsome K, Chen P, Richards A, White DJ. Production of pigs transgenic for human decay accelerating factor. *Transplant Proc.* 1994 Jun; 26(3):1400-1.
- Lee HG, Lee HC, Kim SW, Lee P, Chung HJ, Lee YK, Han JH, Hwang IS, Yoo JI, Kim YK, Kim HT, Lee HT, Chang WK, Park JK. Production of Recombinant Human von Willebrand Factor in the Milk of Transgenic Pigs. *J Reprod Dev.* 2009 Jun 11.
- Li ZY, Wong F, Chang JH, Possin DE, Hao Y, Petters RM, Milam AH. Rhodopsin transgenic pigs as a model for human retinitis pigmentosa. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1998 Apr; 39(5):808-19.
- Lind NM, Moustgaard A, Jelsing J, Vajta G, Cumming P, Hansen AK. The use of pigs in neuroscience: modeling brain disorders. *Neurosci Biobehav Rev.* 2007; 31(5):728-51.

- Lindsay M, Gil GC, Cadiz A, Velandar WH, Zhang C, Van Cott KE. Purification of recombinant DNA-derived factor IX produced in transgenic pig milk and fractionation of active and inactive subpopulations. *J Chromatogr A*. 2004 Feb 13; 1026(1-2):149-57.
- Lorson MA, Spate LD, Prather RS, Lorson CL. Identification and characterization of the porcine (*Sus scrofa*) survival motor neuron (SMN1) gene: an animal model for therapeutic studies. *Dev Dyn*. 2008 Aug; 237(8):2268-78.
- Lubon H, Paleyanda RK, Velandar WH, Drohan WN. Blood proteins from transgenic animal bioreactors. *Transfus Med Rev*. 1996 Apr; 10(2):131-43.
- Lunney JK. Advances in swine biomedical model genomics. *Int J Biol Sci*. 2007 Feb 10; 3(3):179-84.
- Müller M, Brenig B, Winnacker EL, Brem G. Transgenic pigs carrying cDNA copies encoding the murine Mx1 protein which confers resistance to influenza virus infection. *Gene*. 1992 Nov 16; 121(2):263-70.
- Müller M, Brem G. Transgenic approaches to the increase of disease resistance in farm animals. *Rev Sci Tech*. 1998 Apr; 17(1):365-78.
- Naruse K, Ishikawa H, Kawano HO, Ueda H, Kurume M, Miyazaki K, Endo M, Sawasaki T, Nagashima H, Makuuchi M. Production of a transgenic pig expressing human albumin and enhanced green fluorescent protein. *J Reprod Dev*. 2005 Aug; 51(4):539-46.
- Niemann H, Kues W, Carnwath JW. Transgenic Farm Animals: Current Status and Perspectives for Agriculture and Biomedicine. In: Engelhard M, Hagen K, BoysenIn M, eds. *Genetic Engineering in Livestock. New Applications and Interdisciplinary Perspectives*. Berlin, Springer, 2009: 1-30.
- Noble MS, Rodriguez-Zas S, Cook JB, Bleck GT, Hurley WL, Wheeler MB. Lactational performance of first-parity transgenic gilts expressing bovine alpha-lactalbumin in their milk. *J Anim Sci*. 2002 Apr; 80(4):1090-6.
- Nottle MB, Beebe LF, Harrison SJ, McIlpatrick SM, Ashman RJ, O'Connell PJ, Salvaris EJ, Fiscaro N, Pommey S, Cowan PJ, d'Apice AJ. Production of homozygous alpha-1,3-galactosyltransferase knockout pigs by breeding and somatic cell nuclear transfer. *Xenotransplantation*. 2007 Jul; 14(4):339-44.
- O'Donnell JK, Martin MJ, Logan JS, Kumar R. Production of human hemoglobin in transgenic swine: an approach to a blood substitute. *Cancer Detect Prev*. 1993; 17(2):307-12.
- Paleyanda RK, Velandar WH, Lee TK, Scandella DH, Gwazdauskas FC, Knight JW, Hoyer LW, Drohan WN, Lubon H. Transgenic pigs produce functional human factor VIII in milk. *Nat Biotechnol* 1997; 15:971-975.
- Palmiter RD, Brinster RL, Hammer RE, Trumbauer ME (1982) Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein-growth hormone fusion genes. *Nature* 300:611-615.
- Park JK, Lee YK, Lee P, Chung HJ, Kim S, Lee HG, Seo MK, Han JH, Park CG, Kim HT, Kim YK, Min KS, Kim JH, Lee HT, Chang WK. Recombinant human erythropoietin produced in milk of transgenic pigs *J Biotechnol*. 2006 Apr 10; 122(3):362-71.
- Park KW, Choi KM, Hong SP, Han GS, Yoo JY, Jin DI, Seol JG, Park CS. Production of transgenic recombined piglets harboring the human granulocyte-macrophage colony stimulating factor (hGM-CSF) gene from porcine fetal fibroblasts by nuclear transfer. *Theriogenology*. 2008 Dec; 70(9):1431-8.
- Phelps CJ, Koike C, Vaught TD, Boone J, Wells KD, Chen SH, Ball S, Specht SM, Polejaeva IA, Monahan JA, Jobst PM, Sharma SB, Lamborn AE, Garst AS, Moore M, Demetris AJ, Rudert WA, Bottino R, Bertera S, Trucco M, Starzl TE, Dai Y, Ayares DL. Production of alpha 1,3-galactosyltransferase-deficient pigs. *Science*. 2003 Jan 17; 299(5605):411-4.
- Petersen B, Carnwath JW, Niemann H. The perspectives for porcine-to-human xenografts. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*. 2009 Mar; 32(2):91-105.
- Petters RM, Alexander CA, Wells KD, Collins EB, Sommer JR, Blanton MR, Rojas G, Hao Y, Flo-

- wers WL, Banin E, Cideciyan AV, Jacobson SG, Wong F. Genetically engineered large animal model for studying cone photoreceptor survival and degeneration in retinitis pigmentosa. *Nat Biotechnol.* 1997 Oct; 15(10):965-70.
- Pursel VG, Pinkert CA, Miller KF, Bolt DJ, Campbell RG, Palmiter RD, Brinster RL, Hammer RE. Genetic engineering of livestock. *Science.* 1989 Jun 16; 244(4910):1281-8.
- Pursel VG, Suttrave P, Wall RJ, Kelly AM, Hughes SH.. Transfer of cSKI gene into swine to enhance muscle development. *Theriogenology.* 1992; 37:278. (Abstr.).
- Pursel VG, Rexroad RE Status of research with transgenic farm animals. *J Anim Sci (Suppl).* 1993; 71:10-19.
- Pursel VG, Wall RJ, Mitchell AD, Elsasser TH, Solomon MB, Coleman ME, DeMayo F, Schwartz RJ. Expression of insulin-like growth factor I in skeletal muscle of transgenic swine. In: Murray JD, Anderson GB, McGloughlin MM, Oberbauer AM, eds. *Transgenic Animals in Agriculture.* Wallingford, UK: CAB International, 1999:131-144.
- Pursel VG, Mitchell AD, Bee G, Elsasser TH, McMurtry JP, Wall RJ, Coleman ME, Schwartz RJ. Growth and tissue accretion rates of swine expressing an insulin-like growth factor I transgene. *Anim Biotechnol.* 2004 May; 15(1):33-45.
- Rogers CS, Stoltz DA, Meyerholz DK, Ostedgaard LS, Rokhlina T, Taft PJ, Rogan MP, Pezzulo AA, Karp PH, Itani OA, Kabel AC, Wohlford-Lenane CL, Davis GJ, Hanfland RA, Smith TL, Samuel M, Wax D, Murphy CN, Rieke A, Whitworth K, Uc A, Starner TD, Brogden KA, Shilyansky J, McCray PB Jr, Zabner J, Prather RS, Welsh MJ. Disruption of the CFTR gene produces a model of cystic fibrosis in newborn pigs. *Science.* 2008 Sep 26; 321(5897):1837-41.
- Saeki K, Matsumoto K, Kinoshita M, Suzuki I, Tasaka Y, Kano K, Taguchi Y, Mikami K, Hirabayashi M, Kashiwazaki N, Hosoi Y, Murata N, Iritani A. Functional expression of a Delta12 fatty acid desaturase gene from spinach in transgenic pigs. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2004 Apr 27; 101(17):6361-6.
- Sharma A, Okabe JF, Birch P, Platt JL, Logan JS (1996) Reduction in the level of gal a(1-3) gal in transgenic mice and pigs by the expression of an a(1.2) fucosyl transferase. *Proc Natl Acad Sci USA.* USA 93:7190-7195.
- Shaw LC, Skold A, Wong F, Petters R, Hauswirth WW, Lewin AS. An allele-specific hammerhead ribozyme gene therapy for a porcine model of autosomal dominant retinitis pigmentosa. *Mol Vis.* 2001 Jan 26; 7:6-13.
- Smolenski RT, Forni M, Maccherini M, Bacci ML, Slominska EM, Wang H, Fornasari P, Giovannoni R, Simeone F, Zannoni A, Frati G, Suzuki K, Yacoub MH, Lavitrano M. Reduction of hyperacute rejection and protection of metabolism and function in hearts of human decay accelerating factor (hDAF)-expressing pigs. *Cardiovasc Res.* 2007 Jan 1; 73(1):143-52.
- Sola I, Castilla J, Pintado B, Sánchez-Morgado JM, Whitelaw CB, Clark AJ, Enjuanes L (1998) Transgenic mice secreting coronavirus neutralizing antibodies into the milk. *J Virol* 72:3762-3772.
- Swanson ME, Martin MJ, O'Donnell JK, Hoover K, Lago W, Huntress V, Parsons CT, Pinkert CA, Pilder S, Logan JS. Production of functional human hemoglobin in transgenic swine. *Biotechnology (N Y).* 1992 May; 10(5):557-9.
- Tso MO, Li WW, Zhang C, Lam TT, Hao Y, Petters RM, Wong F. A pathologic study of degeneration of the rod and cone populations of the rhodopsin Pro347Leu transgenic pigs. *Trans Am Ophthalmol Soc.* 1997; 95:467-79.
- Umeyama K, Watanabe M, Nagashima H. Expression of dominant-negative mutant hepatocyte nuclear factor 1 alpha transgene leads to impaired islet development and diabetes in pigs. *Proceedings of the Swine in Biomedical Research Conference.* San Diego, 2008 abstract 54.
- Van Cott KE, Butler SP, Russell CG, Subramanian A, Lubon H, Gwazdauskas FC, Knight J, Drohan WN, Velander WH. Transgenic pigs as bio-reactors: a comparison of gamma-carboxylation of glutamic acid in recombinant human protein C and factor IX by the mammary gland. *Genet Anal Biomol Eng* 1999; 15:155-160.

- Van Cott KE, Monahan PE, Nichols TC, Velandier WH. Haemophilic factors produced by transgenic livestock: abundance that can enable alternative therapies worldwide. *Haemophilia*. 2004 Oct; 10 Suppl 4:70-6.
- Varzakas TH, Arvanitoyannis IS, Baltas H. The politics and science behind GMO acceptance. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2007; 47(4):335-61.
- Velandier WH, Johnson JL, Page RL, Russell CG, Subramanian A, Wilkins TD, Gwazdauskas FC, Pittius C, Drohan WN. High level expression of a heterologous protein in the milk of transgenic swine using the cDNA encoding human protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89:12003-12007.
- Wall RJ, Pursel VG, Shamay A, McKnight RA, Pittius CW, Hennighausen L. High-level synthesis of a heterologous milk protein in the mammary glands of transgenic swine. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991 Mar 1; 88(5):1696-700.
- Weissmann C, Fischer M, Raeber A, Büeler H, Sailer A, Shmerling D, Rüllicke T, Brandner S, Aguzzi A (1996) The use of transgenic mice in the investigation of transmissible spongiform encephalopathies. *Int J Exp Pathol* 77:283-293.
- Whitelaw CB, Sang HM. Disease-resistant genetically modified animals. *Rev Sci Tech*. 2005 Apr; 24(1):275-83.
- Yamada K, Yazawa K, Shimizu A, Iwanaga T, Hisashi Y, Nuhn M, O'Malley P, Nobori S, Vagefi PA, Patience C, Fishman J, Cooper DK, Hawley RJ, Greenstein J, Schuurman HJ, Awwad M, Sykes M, Sachs DH. Marked prolongation of porcine renal xenograft survival in baboons through the use of alpha1,3-galactosyltransferase gene-knockout donors and the cotransplantation of vascularized thymic tissue. *Nat Med*. 2005 Jan; 11(1):32-4.
- Yan X, Voutetakis A, Zheng C, Hai B, Zhang C, Baum BJ, Wang S. Sorting of transgenic secretory proteins in miniature pig parotid glands following adenoviral-mediated gene transfer. *J Gene Med*. 2007 Sep; 9(9):779-87.
- Zhu X, Cheng J, Huang L, Gao J, Zhang ZT, Pak J, Wu XR. Renal tubule-specific expression and urinary secretion of human growth hormone: a kidney-based transgenic bioreactor growth. *Transgenic Res*. 2003 Apr; 12(2):155-62.
- (Aceptado para publicación el 20 de noviembre de 2009)