

Artículo publicado en la revista de la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Nación, I + D, Investigación y Desarrollo No. 3, 1995.

LA VACUNA CONTRA LA HEPATITIS B

Dr. César Lorenzano

Las infecciones, un desafío microbiano a la especie humana

Las enfermedades infecciosas han constituido, desde siempre, uno de los mayores desafíos que enfrentó la especie humana para su supervivencia. Dominadas o enfrentadas con éxito las especies animales mayores, el equilibrio biológico parecía haber sido resuelto casi desde los primeros tiempos en favor de esos animales racionales que se asociaban para enfrentar armados a los animales que los desafiaban. Sin embargo, no se conocía la existencia de unas especies -microscópicas- aunque los atacaban de improviso, diezmándolos.

La única defensa consistía en evitar las condiciones que contribuían a hacer posibles esas enfermedades. Se aprendieron dolorosamente, en una lenta tarea de acumulación de experiencias realizadas por sucesivas generaciones que combinaban la intuición con las comprobaciones empíricas. De esta manera las grandes culturas elaboraron, casi sin tener elementos cognoscitivos para hacerlo, pautas de conducta alimenticia, higiénicas, de vivienda, sexuales, de crianza, etcétera, que disminuían las posibilidades de contagio, una sabiduría ancestral que se prolonga en el sanitarismo moderno.

Al mismo tiempo, la más pura selección biológica hacía que la supervivencia de los que habían desarrollado defensas frente a las enfermedades que ahora llamamos infecciosas, disminuyera la ocurrencia estadística de casos ... a un enorme costo en sufrimiento y en vidas.

Así se controlaron las grandes pestes del pasado, como la tuberculosis, que baja su incidencia gracias a las defensas elaboradas por el contacto continuo de la humanidad con el bacilo de Koch, y a la mejora en la alimentación y en las condiciones generales de vida.

Las estrategias para enfrentar a las infecciones -y las enfermedades en general- tuvieron, casi desde el comienzo del pensamiento médico, dos vertientes que en ocasiones se enfrentan, en ocasiones colaboran frente al enemigo común: la tradición curadora activa que se sintetiza en la figura de Esculapio, y la preventiva cuya figura mítica fue Higiénica.

La primera las ataca con métodos que varían desde la apertura quirúrgica de abscesos de los primeros tiempos, a los antibióticos contemporáneos. La segunda, lo hace insistiendo en las buenas condiciones de vida para las grandes poblaciones, y en el aumento de las defensas orgánicas frente a la agresión.

Incidentalmente, creo conveniente señalar que nunca como en el caso de las infecciones epidémicas se pone de manifiesto con más claridad que la salud es un problema de la especie -social por consiguiente-, y no estrictamente individual. Un problema de salud pública. Porque la existencia de portadores sanos, y la necesaria convivencia e intercambios de distinta índole de los seres humanos hace que su control sea un problema de todos, que necesita del esfuerzo de todos, y que debe cubrir y proteger a todos. La salud individual es impensable sin que la alimentación, el agua potable, la vivienda, el abrigo sean los adecuados para las grandes mayorías. En este sentido, la imagen, seguramente falsa o mítica de un Michael Jackson, viviendo en una burbuja

aséptica, libre de microbios, y sin tener contacto personal con nadie, significa la pérdida de la condición humana.

Pasada la euforia del triunfo frente a las infecciones que brindaron los antibióticos, y puesto de relieve con los nuevos desafíos de los microorganismos a la especie humana -ahora principalmente de los virus- la actitud sanitarista frente a la enfermedad, pone su énfasis en promover -socialmente, pero también biológicamente- los mecanismos generales y también específicos de defensa del organismo.

En este contexto, sabemos que la hepatitis B sólo podrá ser superada si existe un aumento específico de las defensas en el seno de las grandes poblaciones, allí donde el virus encuentra refugio y difusión constante.

Narraremos la historia de la búsqueda de una resistencia provocada ante esta enfermedad; sus etapas finales son tan recientes, que se desarrollan ante nuestros ojos. Intenta, acorde con la enorme tradición sanitarista, una vacunación masiva que mejore las defensas de toda la especie, eliminando o controlando el reservorio humano del virus.

Sólo si esto ocurre dejaremos de temer a la hepatitis B, como antes dejamos de temer a la poliomielitis, o la viruela.

En esto radica la importancia de la innovación tecnológica que relataremos: en el pasaje una defensa para sectores escogidos, a una defensa masiva.

La inmunidad provocada

Desde la más remota antigüedad se conoce que quienes han pasado una enfermedad infecciosa importante -peste, viruela, etcetera- y sobreviven, no la vuelven a contraer aunque se expongan al contacto con enfermos que las padecen.

A este fenómeno se lo conoció como *inmunidad*, en recuerdo de quienes estaban exentos en el Imperio Romano de sus obligaciones militares o de pagar impuestos -inmunitas-.

Por supuesto, existieron también intentos de provocar artificialmente esta condición mediante distintas maniobras. Podemos mencionar la tolerancia al veneno buscada mediante la administración de pequeñas dosis progresivas, hasta lograr que las dosis mayores no causaran daño. O los intentos de prevenir la acción deletérea de las picaduras de víboras o insectos. En la leyenda se sitúa la historia del rey Mitrídates, quien consumía diariamente pequeñas cantidades de tóxicos para protegerse de los intentos de envenenamiento, y falla cuando decide suicidarse utilizando un veneno.

También se sabía que si se tocaba la piel lastimada de alguien con secreciones de viruela, se contraía la enfermedad en una variante generalmente débil, que le dejaba inmunidad prolongada. Esta práctica para prevenir el contagio era común en China, desde donde se traslada a Europa, y da lugar al Experimento Real -un diseño experimental controlado por Sr. Hans Sloane, quien llegó a ser Presidente de la Royal Society de Londres, sucediendo a Isaac Newton- tomando como cobayos humanos a presos y huérfanos. Aunque sólo en un caso se puso en contacto a los inoculados con pus de viruela, la efectividad en producir una enfermedad atenuada, hizo que miembros de las clases altas adoptaran el procedimiento para ellos y sus hijos.

La etapa actual comienza cuando Edward Jenner, un médico inglés, observa que los campesinos que ordeñaban vacas que padecían una variedad de viruela propia de estos animales -que por este motivo se llamaba viruela *vacuna*-, hacían pústulas en sus manos, semejantes a las que tenía el animal. Curiosamente, cuando los campesinos se contagiaban la viruela de las vacas, no enfermaban con la viruela humana. Jenner inocula en 1796 al niño James Phipp, y posteriormente a 23 personas más,

constatándose su efectividad en únicamente dos de ellos, a los que se inoculó directamente material de las pústulas de enfermos de viruela, y se mostraron resistentes a la enfermedad.

Con el tiempo, su método erradicaría la viruela del planeta. No fue poco el logro. Cuando Jenner inicia sus estudios, esta enfermedad se encontraba en el máximo de su curva ascendente como epidemia, causando la muerte del 15 o 20 por ciento de quienes enfermaba.

Fue a partir de los descubrimientos de Pasteur y de Koch, que comienza la etapa más moderna, más científica, en la búsqueda de inmunidad provocada frente a las enfermedades.

Se pasa de *descubrimientos causales* cuya efectividad se pone a prueba siguiendo un método experimental todavía imperfecto, puesto que recurría a un escaso número de casos -por lo tanto sin validez estadística-, y como hemos visto, no tenía grandes cuidados éticos, a buscarlos activamente siguiendo las indicaciones de la teoría microbiana de las enfermedades infecciosas, con sus mecanismos específicos de inmunización.

Esto se advierte cuando se utilizan las mismas tácticas que habían dado resultado en la etapa anterior, pero recurriendo al conocimiento recién adquirido de los microbios. En efecto. Si lo que se buscaba eran dosis pequeñas, o contagio de enfermedades atenuadas, ahora lo que se busca son microbios debilitados, en el supuesto que al ponerse en contacto con los seres humanos, provocarían una enfermedad asimismo débil, que provocaría inmunidad ante formas severas.

Siguiendo estas técnicas, Pasteur obtiene primeramente una vacuna efectiva para el cólera del pollo, luego para el ántrax -una severa infección de los tejidos blandos-, y finalmente obtiene un éxito resonante contra la rabia, cuando previene la aparición de la enfermedad vacunando en 1885 a un paciente que había sido mordido por un perro rabioso.

Las vacunas contra los virus y la hepatitis B

Básicamente, un virus puede ser descripto como pequeñas cantidades de ácido desoxinucleico -ADN-, el material con el que están formados los genes, o de ácido ribonucleico -ARN-, recubierto por capas de proteínas.

Cuando un virus invade a una célula se despoja de estas capas, y -dado que no puede reproducirse por sus solos medios, se mezcla con el ADN del material genético de las células, para multiplicarse utilizándolo.

Al hacerlo, no sólo se reproduce, sino que altera los genes de las células huésped, pudiendo causar mutaciones inesperadas, que llevan incluso al cáncer.

Las primeras vacunas contra las enfermedades provocadas por virus también recurrían al mecanismo de provocar la inmunización mediante la inoculación de variedades atenuadas o inactivadas artificialmente. De esta índole fueron la vacuna inyectable descubierta por Salk contra la poliomielitis, o la vacuna oral descubierta por Sabin.

Sin embargo, esto no puede hacerse en el caso de la hepatitis B, en parte porque -como es sabido- quienes han padecido la enfermedad, quedan muy sensibilizados a contraer cáncer de hígado, existiendo la fuerte presunción de que se debe a que el virus, alojado en el interior de las células hepáticas, provoca esa reproducción descontrolada y monstruosa que es el cáncer. Por consiguiente, el riesgo de conferir inmunidad al precio de causar cáncer hepático, es demasiado grande como para afrontarlo. Los métodos clásicos, continuación de las técnicas empleadas desde la época de Pasteur y aún antes

en las infecciones por bacterias, y trasladadas a los virus, no pueden ser empleados con el virus de la hepatitis B.

El virus de la hepatitis B, descubierto en 1964, es muy pequeño -42 nm-; su centro está formado por ADN, y las proteínas que recubren son de tres tipos, llamadas abreviadamente L, M y S.

DIBUJO DEL VIRUS

Como en toda infección, el sistema inmunológico del organismo que padeció la hepatitis B produce los correspondientes anticuerpos para combatirlo, y es relativamente inmune -resistente- ante las próximas invasiones del virus. Y dada su conformación de proteínas exteriores y centro de ADN, si se forman antígenos contra cualquiera de estos componentes, éstos actúan contra todo el virus en el momento de la invasión, dificultándola.

Esto hace que en el momento de planear una vacuna, a los fines inmunológicos es indiferente si lo que se inyecta es el virus entero, o parte de sus capas de proteínas exteriores.

Precisamente esta estrategia es la que se sigue para conseguir resistencia frente al virus de la hepatitis B.

Sigamos a continuación los sucesivos pasos dados en este camino, que culminan en la vacuna argentino-alemana de la que hoy nos ocupamos. Van en pos de una mayor sencillez de procedimiento, de un incremento en la producción de los elementos que inducirán la inmunidad una vez inyectados -antígenos-, y de un costo menor.

La vacuna que se extrae del suero humano

Los primeros pasos para lograr una vacuna contra la hepatitis B comienzan con la observación de que en el suero sanguíneo de los individuos, circulan altas cantidades de partículas del virus de la hepatitis B, mayormente la proteína S, y cantidades menores de las otras, L y M. Hagamos notar que al no tener su centro de ADN, estas partículas no son infectantes, y que, como habíamos comentado, introducidas en un organismo, provocan la producción de anticuerpos contra el virus, haciéndolo resistente ante la enfermedad.

La primera vacuna contra la hepatitis B, desarrollada alrededor de 1980, se hizo calentando a 60 grados plasma humano proveniente de portadores crónicos del virus, con lo que se conseguía aislar esas partículas para inyectarlas posteriormente. Aunque efectiva, su costo elevado y la aparición por los mismos años de los primeros casos de SIDA, que rápidamente toma carácter epidémico, obliga a tomar demasiadas precauciones para excluir este virus del plasma, disminuyendo notoriamente su provisión. No podía ser usada para vacunaciones masivas, como le exige el concepto mismo de vacunación desde el punto de vista de la salud de las grandes poblaciones.

Había llegado el momento para que se intentaran producir esas proteínas por medio de ingeniería genética.

Cómo se producen vacunas por ingeniería genética

Recordemos que el principio básico de la ingeniería genética es que si se aísla un gen dado y se lo pone en una célula de otra especie, sea animal o vegetal, producirá el mismo efecto que en el organismo originario. Si en el primero producía insulina, también lo hará en el organismo huésped.

Se aísla el gen del virus de la hepatitis B que lo lleva a producir su capa de proteínas - fundamentalmente la proteína S-, y se lo introdujo en un organismo unicelular muy estudiado desde el punto de vista de su constitución química y genética, fácil de cultivar y muy extendido en la naturaleza, la levadura de cerveza.

Con esto se consiguió una producción de proteínas S similar a la que circula en el suero humano, sin ninguno de los inconvenientes que se derivan de utilizarlo como fuente de la misma.

La vacuna que se obtuvo es sumamente efectiva, y se encuentra disponible comercialmente. Sin embargo, la feliz elección de la levadura de cerveza como organismo al que hacer producir proteína S, fácil de cultivar y manejar, no rinde, una vez aislada y purificada, cantidades importantes de esta proteína, por lo que el costo, una vez más, si bien desciende con respecto al de la vacuna del suero, es lo suficientemente elevado como para dificultar la vacunación masiva.

Este es el punto en el que interviene el emprendimiento conjunto argentino-alemán para la producción industrial de vacuna para la hepatitis B.

La vacuna argentino-alemana contra la hepatitis B

La modificación esencial que se le introduce al procedimiento consiste en elegir un organismo diferente a la levadura de cerveza para hacer con él una especie *transgénica* que porte el gen de la capa de proteínas del virus en cuestión.¹

Aunque el cambio puede ser considerado menor, se revelará crucial en el momento de evaluar las cantidades disponibles de vacuna, puesto que si aumentan, al tiempo en que se emplean recursos semejantes, existe una disminución notable de los costos de producción, haciendo que pueda ser utilizada masivamente.

Lo que está en juego en esta modificación es la erradicación de la hepatitis B.

Los científicos de Rhein Biotech, la empresa alemana de este emprendimiento conjunto, se han caracterizado por ser pioneros en desarrollar sistemas de levaduras para producir industrialmente proteínas de distinta índole.

Como resultado de sus investigaciones, han comprobado que una levadura distinta a la clásica de la cerveza, la *Hansenula polymorpha*, reúne características únicas, que la hacen una especie sumamente apta para producir proteínas de otros organismos por medios transgénicos. Se constató que produce entre tres y diez veces más que la *levadura de cerveza* o el *cultivo de células* y las *bacterias* que se emplean para los mismos fines. Esto, unido a las facilidades de cultivo, la constancia en su carga genética, producción en condiciones no demasiado exigentes, y otras características igualmente favorables, hicieron pensar que se encontraban en presencia de un organismo inmejorable para producir industrialmente y a bajo costo proteínas transgénicas de uso farmacéutico, por lo que patentaron su uso, y la emplearon a continuación para obtener hirudina, una sustancia proteica proveniente de la sanguijuela, que se mostró más activa para controlar la coagulación de la sangre que la heparina, el compuesto utilizado en el tratamiento de distintos procesos de trombosis sanguínea.

La estrategia para lograr una vacuna contra la hepatitis B de bajo costo se deriva de esta particularidad biológica de la *Hansenula*, a la que se le introduce, mediante ingeniería genética -al igual que se hacía con la levadura de cerveza-, un gen específico proveniente del virus que la lleva a producir elevadas cantidades -casi el 25% de todas las proteínas que resultan del proceso, 3 gramos por litro- de la proteína S de la capa

¹Se llama transgénico a un organismo al que se le introduce un gen perteneciente a otra especie.

exterior del mismo, lista para ser usada como antígeno que confiera inmunidad contra la enfermedad.

Esta etapa de la investigación, y el posterior desarrollo industrial, lo realiza una empresa binacional, Rhein Americana, resultante de la alianza entre una firma alemana, Rhein Biotech y dos laboratorios de productos farmacéuticos argentinos. Uno de ellos, Genargen, concreta junto con Rhein Biotech los aspectos científicos de la producción de proteínas de uso medicinal mediante la *Hansenula*. El otro, Pablo Cassará, es el responsable de la elaboración industrial de los productos farmacéuticos.

Todo el emprendimiento científico-industrial es el resultado de la colaboración entre científicos alemanes y argentinos, quienes desarrollaron conjuntamente la parte de ingeniería genética de la vacuna. En cuanto a las indispensables experiencias de tolerancia biológica en animales vivos -ratones de laboratorio-, éstas se realizaron íntegramente en el país, constatándose la buena tolerancia, y la efectividad de la vacuna en promover la producción de anticuerpos específicos contra el virus de la Hepatitis B.

La elevada productividad de la *Hansenula* -como era previsto- baja dramáticamente el costo de la vacuna, por lo que puede pasar del empleo casi selectivo de las vacunas anteriores, a una utilización masiva. Si se incorporara a las vacunas infantiles obligatorias, se reduciría hasta eliminarse el reservorio natural del virus en el seno de la especie humana, y la enfermedad se erradicaría, como sucedió con la viruela o la poliomielitis.

Pasada la etapa de laboratorio, la implementación industrial del proceso farmacéutico, que se realizará en Argentina, contribuirá decisivamente para esta conquista sanitaria. Una modificación posible de la vacuna, a fin de hacerla más efectiva, consiste en emplear como antígeno otras proteínas de la capa externa del virus, además de la S.

Es necesario mencionar que el virus de la hepatitis B se parece inquietantemente al virus del SIDA, tanto por la simpleza de su forma química, como por las vías de contagio, que son para ambos la sangre o algunas secreciones como las sexuales. Pero mientras el virus de la hepatitis B permanece estable desde hace largo tiempo, por lo que pudo lograrse una vacuna efectiva, el cambio continuo que experimenta el virus del SIDA lo impide. Sin embargo, pareciera que en los últimos tiempos existen formas del virus del SIDA que tienden a estabilizarse. Esto era de esperar, ya que de continuar el proceso de selección natural actuando sobre el virus, desde el punto de vista de su supervivencia, es necesario que pueda convivir con el organismo huésped, infectándolo con formas crónicas, puesto que su muerte implica su propia muerte. Si esto ocurre, podrá obtenerse una vacuna efectiva. En ese entonces, toda la experiencia recogida con la hepatitis B podrá ser utilizada contra este nuevo enemigo de la humanidad.