

# entrevista

Entrevista a Luis Enjuanes, director del Laboratorio de Coronavirus del Centro Nacional de Biotecnología

## “Posiblemente el virus inhibe el desarrollo de una respuesta inmune fuerte”

Luis Enjuanes, químico por la Universidad de Valencia, se ha convertido en una presencia familiar en estos días inciertos: es el mayor experto en coronavirus de España, discípulo de los más grandes de la bioquímica —Margarita Salas y Eladio Viñuela, a quien considera su mentor— y padre de vacunas muy certeras para los virus SARS y MERS. Desde que comenzó la crisis sanitaria causada por el nuevo coronavirus SARS-CoV-2, el equipo dirigido por Enjuanes y su colega Isabel Sola en el Centro Nacional de Biotecnología del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CNB-CSIC) trabaja en el diseño por técnicas de ingeniería genética de una vacuna española de alta eficacia frente a este virus.

En el año 2000 el equipo de Luis Enjuanes fue el primero en el mundo en sintetizar clones infectivos de virus a los que, como si fueran mecnos, quitar genes, uno a uno, mediante ingeniería genética para fabricar versiones que no produzcan enfermedad. Es decir: posibles vacunas. Lo consiguieron antes que los americanos, alemanes e ingleses y esto, que se dice rápido, adquiere más significado considerando la frágil situación de la ciencia en España. La misma estrategia utilizan estos días para obtener una vacuna frente al nuevo y escurridizo SARS-CoV-2, causante de la covid-19, mientras el mundo, en vilo tras las mascarillas, contiene la respiración.

**Pregunta. Lleva 35 años estudiando a los coronavirus, ¿cuál es la personalidad, digamos, de SARS-CoV-2?**

**Respuesta.** Hay unas poquitas cosas que lo diferencian de otros virus y aumentan su peligrosidad. Para empezar, puede permanecer oculto en un número muy elevado de los pacientes, antes el 14% y ahora incluso el 50%, de manera que se disemina libremente: las personas infectadas no sienten fiebre, no tienen problemas de respiración, ni dolor de cabeza... Eso ha hecho que en este momento todavía no se sepa cuál es el mamífero que ha mediado entre los murciélagos y el hombre para llevar a éste la infección. Otra característica que me parece esencial es que ha incorporado un fragmento en las espículas que lleva un punto de corte susceptible a la enzima furina, una proteasa que está por todas partes en el organismo.

**P. ¿No estaba presente este fragmento en el anterior coronavirus, el SARS?**

**R.** La diferencia con el coronavirus anterior, SARS 1, es que éste prácticamente entraba solo en el tracto respiratorio y el tracto entérico, mientras que SARS-CoV-2 es capaz de infectar prácticamente todos

los tejidos del cuerpo humano. La relevancia de este punto de corte por furina es tremenda, porque la furina está en casi todas las células del cuerpo humano, de forma que SARS-CoV-2 puede infectar no solo los pulmones o el tracto entérico, sino también el sistema nervioso, el corazón, los riñones, el hígado, los capilares y las células epiteliales de las venas y las arterias... Esto hace que el número de patologías que induzca sea tremendamente amplio y que los cuadros clínicos de los pacientes se agraven de una forma muy dramática.

Este virus, además de infectar los pulmones y tracto entérico, produce problemas de corazón, arritmias, infecciones de miocardio muy fuertes que luego llevan también a otro tipo de patologías asociadas a la coagulación de la sangre. Claro, esto puede llevar a problemas de obstrucción de la circulación y, por tanto, problemas de todo tipo en cerebro y en todo el cuerpo. Uno de los síntomas que causa, por ejemplo, es el dedo rojo: se hincha el dedo gordo del pie y se pone muy rojo por la acumulación de sangre y a veces de coágulos. También se puede infectar el sistema nervioso lo que puede acelerar la muerte de las personas, e incluso producir la descoordinación de la respiración. Es una combinación de problemas.

**P. Preocupa la inmunidad que genera y su duración en algunos casos.**

**R.** Es otra de las características de este virus que me parece terrible. Desde luego induce una respuesta inmune, tanto por anticuerpos como por células blancas del sistema inmune —linfocitos, macrófagos, etc.— pero parece que es de corta duración y relativamente débil. Muchas personas que han enfermado de forma muy sintomática y que han inducido anticuerpos neutralizantes para el virus, cuando son revisadas semanas después se ve que los anticuerpos han desapare-

**Texto:** Eugenia Angulo, periodista científica



cido, lo que quiere decir que la inmunización fue muy débil y de corta duración. Esto es terrible porque, al menos, cuando nos vacunamos contra otros virus como el de la polio, el sarampión o la viruela, esta inmunidad dura de por vida, 20 o 40 años, mientras que aquí da la impresión de que al menos la respuesta humoral, de anticuerpos, apenas dura unas pocas semanas o meses. Muy poco. Parece ser, no obstante, que sí nos queda una respuesta inmune celular, mediada por linfocitos T, que dura más tiempo y que probablemente es la que hace que muchas personas cuando se infectan sean asintomáticas.

**P. ¿Qué implica esta débil inmunidad para el desarrollo de las vacunas?**

R. Parece una pregunta sencilla e inocente pero no lo es porque hemos de evitar que las vacunas lleven algún componente, posiblemente presente en el virus, que inhibe el desarrollo de una respuesta inmune fuerte. Así que los que diseñamos vacunas debemos estar muy vigilantes para identificar estos posibles componentes inmunosupresores y que las respuestas que den nuestras vacunas

sean muy fuertes y de larga duración, o sea, alta cantidad de anticuerpos y que persistan durante mucho tiempo.

**P. En enero científicos chinos publicaron el genoma de este nuevo virus. ¿Qué ocurrió en su laboratorio a partir de ese momento?**

R. Como ya habíamos desarrollado un sistema para sintetizar virus en el laboratorio por una combinación de síntesis química de fragmentos pequeños y de ingeniería genética, que se llama de genética reversa, inmediatamente encargamos la síntesis de los fragmentos y desarrollamos una estrategia para ensamblarlos en un genoma único. Esto lo encargamos en Canadá. Tardaron casi un mes y medio en mandarnos todos los fragmentos y a partir de ese momento, con bastante rapidez, sintetizamos un virus artificial idéntico al que estaba circulando en Wuhan.

**P. ¿Qué hicieron con este virus artificial, un lienzo en blanco para experimentar...?**

R. Constituye una de las dos herramientas fundamentales que utilizamos: un virus que podamos modificar y ana-

lizar el papel de cada uno de sus genes para identificar los que le confieren la virulencia. Así podemos eliminarlos, uno a uno, con nuestro sistema de ingeniería genética; el virus se atenúa y un virus atenuado es una vacuna en potencia. La segunda herramienta es el desarrollo de un modelo experimental animal, normalmente ratoncillos que hemos humanizado: les metemos el gen que codifica el receptor para el virus humano (ACE2). Como el receptor del ratón no reconoce el virus humano, tiene que ser el receptor que tenemos los humanos. Con ambas herramientas ya podemos proceder al diseño de una vacuna y a la comprobación de si funciona o no utilizando el modelo animal experimental.

**P. ¿Qué han utilizado de su experiencia con SARS y MERS para este nuevo coronavirus?**

R. Esa experiencia, particularmente la del MERS, fue muy valiosa. Para este virus desarrollamos una vacuna que no solo protege el 100% sino que es muy segura porque está basada en convertir el virus original en un ente atenuado que no pro-

duce enfermedad. Además le hemos quitado un gen para que no se pueda propagar con lo cual deja de ser un virus. Lo llamamos un replicón RNA: un RNA autoamplificable que se multiplica y puede incrementar la dosis, pero no se puede mover; no puede revertir a virulento como suelen hacer los virus cuando les das la posibilidad. A largo del último año hemos demostrado que con este replicón —que es una vacuna de nivel superior por la altísima seguridad que le hemos añadido— también podemos inducir una protección del 100%. Ambos hallazgos los hemos patentado hace un par de meses. Intentamos seguir la misma estrategia para SARS-CoV-2.

**P. El mundo entero contiene literalmente la respiración esperando una vacuna para la covid-19. ¿En qué punto se encuentra su investigación?**

R. En este momento hemos generado un replicón infectivo del SARS-CoV-2 utilizando nuestro sistema de ingeniería genética y eliminando uno a uno lo que se llaman genes no esenciales, —porque no hacen falta para replicar el genoma—. Ahora estamos analizando la combinación de genes que hace que cuando los eliminamos el virus se vuelve deficiente en propagación. Esto es esencial y es la tarea principal en la que estamos para poder recomendar nuestro candidato a vacuna como tal. Deseamos que el replicón que hemos generado no se pueda propagar para que sea completamente seguro. Esto depende de un gen o más de un gen que no voy a decir porque es confidencial.

**P. ¿Y después?**

R. Haremos la cadena de experimentos habituales. Primero, los ensayos en el modelo animal experimental del ratón humanizado, previsiblemente en los próximos dos o tres meses, que ya tenemos preparado para utilizar en cuanto terminemos el replicón —ya lo tenemos, pero lo estamos perfeccionando—. Luego, evaluarlo en un mamífero superior, como los macacos y, si todo va bien, el año que viene los ensayos clínicos fase 1, 2 y 3 que se hacen en humanos.

**P. ¿Qué apoyos tienen?**

R. El CSIC ha creado un consorcio para el desarrollo de nuestra vacuna en el que interviene nuestro equipo, el propio CSIC, y tres multinacionales, alguna española y otras extranjeras. Todas ellas van a colaborar con nosotros para el desarrollo de cada una de las fases. Primero tenemos que demostrar que la

## La carrera de las vacunas

Pocos meses después de la aparición del virus, ya hay más de 173 candidatos a vacunas y 31 han entrado en ensayos clínicos en humanos. Buscan la inducción de anticuerpos para la proteína S de las espículas —esas protuberancias del exterior del virus que le permiten la entrada en las células—, aunque ensambladas sobre vehículos —vectores, en jerga técnica— distintos.

La más prometedora por ahora es la de la Universidad de Oxford y la farmacéutica AstraZeneca, basada en un adenovirus de chimpancé. “Este vector se conocía desde hace mucho tiempo, por eso han podido construir la vacuna muy rápidamente”, explica Luis Enjuanes. Ya se han hecho ensayos en modelos animales y, ahora, en humanos y parece que los resultados son muy buenos. “Esto no es sorprendente, porque los adenovirus se replican dando una progenie muy elevada. Un problema es que son virus ADN y se replican en el núcleo de las células, y nunca se puede excluir una recombinación del vector de la vacuna con los cromosomas de la persona vacunada. De momento parecen las más apropiadas”.

Otra vacuna que también utiliza un adenovirus es la desarrollada por la biofarmacéutica china CanSino Biologics y el Instituto de Biotecnología de Pekín, que ya han obtenido la patente por parte de las autoridades chinas. Pero, según Enjuanes, “no han estado muy acertados porque han escogido un adenovirus humano con lo cual muchos ya tienen anticuerpos por infecciones previas por ese virus. Para quienes no tienen inmunidad previa también puede ser muy buena”. De la misma naturaleza es la del equipo de Mariano Esteban, también en el CNB-CSIC, que utiliza una variante del de la viruela, el Vaccinia virus, de la familia de los poxvirus, altamente atenuado, que también producen mucho antígeno.

Muy mediática, la vacuna de los Institutos Nacionales de Salud estadounidenses y la compañía Moderna está basada en un ARN mensajero. Se trata de una molécula muy sencilla que no es autoamplificable, no se puede replicar, de forma que en principio no tendrá efectos secundarios relevantes, pero tampoco mucha potencia así que seguramente necesitaría de varias dosis.

Finalmente, la vacuna del equipo de Luis Enjuanes e Isabel Sola, “más novedosa”, se diferencia de las anteriores en que deriva del propio virus y contiene varias de sus proteínas, lo cual puede inducir una respuesta más completa. También en que tratan de dirigirla al tracto respiratorio, que es donde se induce la inmunidad de una forma potente, por lo que su administración sería más compleja que un pinchazo intramuscular.



vacuna es inocua y funciona en ratoncitos. Luego entramos en una fase de escalado de la producción para hacer las evaluaciones en monos macacos, y después un escalado superior de la producción de la vacuna en condiciones GMP (*Good manufacturing practice*, en inglés), que es un requerimiento para la producción de cualquier medicamento que se tenga que administrar tanto animales como personas. Ahí la participación de las compañías aumenta.

**P. En marzo se detectó la mutación D614G —la posición 614 cambió de aspartato (D) a glicina (G)—, una sutileza que se ha convertido en la cepa dominante en el mundo. ¿Qué consecuencias tiene para el éxito de las vacunas que se están diseñando?**

R. Al parecer esta mutación hace que el virus se disemine mejor porque se ve que la proteína de las espículas reconoce mejor al receptor celular (ACE2). Es una mutación que facilita la entrada del

virus en las células y su diseminación y por eso se ha impuesto en casi todo el mundo. Una vacuna basada en el SARS-CoV-2 que la lleve va a tener una ventaja selectiva para propagarse. En una palabra: aumentaría la eficiencia, la facilidad, para dar una buena respuesta inmune.

**P. Según las estimaciones de Ian Lipkin, del Instituto Rockefeller, existen unos 320.000 nuevos virus que infectan a mamíferos por descubrir. ¿Qué puede hacerse ante estos números?**

R. La estimación se apoya en evidencias experimentales que no todo el mundo admite, pero que sean 300.000 o 30.000 son muchos virus y para todos ellos hay que preparar vacunas. Esto implica que hemos de esperar que el tema de las pandemias sea un fenómeno que ocurra periódicamente, como lo hemos visto con los coronavirus humanos —tuvimos uno en 2002, otro en 2012 y otro en 2019— y esto va a seguir así.



Imagen del laboratorio de coronavirus del Centro Nacional de Biotecnología.

No estamos mencionando las epidemias de coronavirus animales: cada dos o tres años aparecen nuevos virus que perjudican muchísimo a la economía porque afectan a animales domésticos importantísimos en la alimentación como el cerdo, los pollos, los terneros... Eso es lo que hemos de aprender.

**P. Y no solo coronavirus: el Zika dio un buen susto en 2015, surgen brotes de Ébola cada cierto tiempo, aparecen nuevas cepas de gripe...**

**R.** Aunque las apreciaciones del laboratorio de Lipkin sean un poco elevadas, con los virus conocidos que ya tenemos, las reemergencias de virus, de la gripe o de los coronavirus, y los nuevos virus como el Zika o Chikungunya, nos van a tener ocupados. Lo que sugieren es que los países deben prepararse para estas pandemias, particularmente diría las producidas por virus —también por bacterias, que ambos se pueden diseminar muy bien— porque son una constante en la vida y van a continuar apareciendo siempre.

**P. ¿Qué hacemos entonces?**

**R.** Idealmente, al menos con los virus más frecuentes y los más peligrosos,

tener preparado un vehículo adaptado para cada una de las especies, de manera que cuando aparezca un virus de la mis-

« Es altamente probable que el SARS-CoV-2 se convierta en estacional porque va a ser muy difícil eliminarlo »

ma familia, solo tengamos que cambiar el componente externo de las espículas, en el caso de los coronavirus, que es el mayor inductor de protección. Lo he sugerido en Bruselas en reuniones científicas sobre preparar vacunas. Me parece que es casi una obligación. Puedes tener un esqueleto para una vacuna de la gripe y, como cada año nos viene una nueva variante, no tienes que cambiar todo el coche, cambias los faros que es lo que

induce la protección, y puedes dar una rápida respuesta con la fabricación de una vacuna. En cierta manera esto se está haciendo, por ejemplo, con el adenovirus del chimpancé: cada vez que viene un nuevo virus le acoplan la proteína del nuevo virus que induce protección. Me parece más apropiado, y un sistema mucho más perfeccionado, utilizar el propio virus para generar las nuevas variantes antigénicas que puedan aparecer en epidemias futuras y tener estos vehículos ya preparados: uno para el virus de la gripe, otro para coronavirus... Tener preparados todos estos vehículos *ad hoc* que sin duda inducirán una inmunidad más potente y contra un mayor número de proteínas del virus.

**P. ¿Y qué dijeron sus colegas?**

**R.** Que era una idea interesante. De hecho, en cierta manera, esto se aplica para el virus de la gripe. Como sabemos que todos los años tenemos la gripe estacional, ya están acostumbrados a que todos los años hay que hacer millones de vacunas nuevas, el sistema ya se ha implementado. Esta misma forma de proceder es la que creo que habría que aplicar, particularmente a los coronavirus, que están siguiendo un poco la forma de comportamiento del virus de la gripe con recurrencia estacional todos los inviernos.

**P. ¿Ese el destino de SARS-CoV-2?**

**R.** Es altamente probable, porque está ya tan distribuido por todo el mundo que no va a ser fácil que se elimine. Quedarán, como estamos viendo, reservorios en muchos puntos, particularmente cuando cada día es más asintomático, se distribuye con más facilidad, inadvertidamente. Va a ser muy difícil que se elimine. Cuando aparecen los virus suelen ser muy virulentos y se diseminan regular, pero según se van adaptando al huésped aumentan la eficacia para su diseminación, incorporando mutaciones como la de 614, pero al mismo tiempo se suelen atenuar. Hay que recordar que se conocen siete coronavirus humanos, cuatro de ellos descubiertos a partir de los años 50 y 60, que están atenuados ya, pero que en su primer momento eran más virulentos. Tengo la impresión de que SARS-CoV-2 está más atenuado porque da más infecciones asintomáticas. Esperemos que llegue un momento en que se distribuya muy bien y que pase a engrosar el grupo de los otros cuatro coronavirus que producen lo que se denomina el resfriado común. 