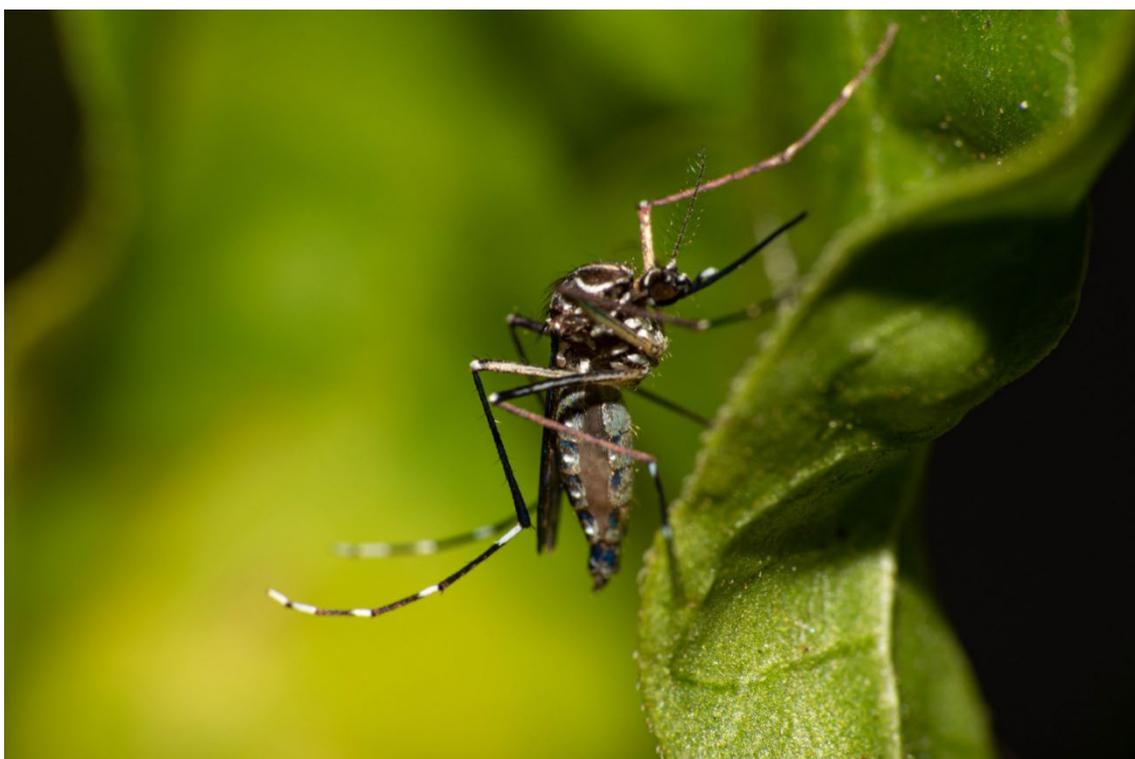


Combatir las enfermedades transmitidas por mosquitos mediante tecnologías de control genético



Combatir las enfermedades transmitidas por mosquitos mediante tecnologías de control genético

- Por Guan-Hong Wang, Stephanie Gamez, Robyn R. Raban, John M. Marshall, Luke Alphey, Ming Li, Jason L. Rasgon y Omar S. Akbari

Nature Communications volumen 12, Número de artículo: 4388 (2021)

Resumen

Las enfermedades transmitidas por mosquitos, como el dengue y la malaria, plantean importantes cargas para la salud mundial. Desafortunadamente, los métodos de control actuales basados en los insecticidas y el mantenimiento del medio ambiente no han logrado eliminar la carga de la enfermedad. Se buscan soluciones escalables, desplegables y basadas en la genética para reducir el riesgo de transmisión de estas enfermedades. Se han desarrollado bacterias *Wolbachia* que bloquean patógenos, o estrategias de control de mosquitos

basadas en la ingeniería del genoma, incluidos los impulsores genéticos, para abordar estos problemas, ambos requieren la liberación de mosquitos modificados en el medio ambiente. Aquí, revisamos los últimos desarrollos, similitudes notables y distinciones críticas entre estas tecnologías prometedoras y discutimos sus futuras aplicaciones para el control de enfermedades transmitidas por mosquitos.

Introducción

Aproximadamente la mitad de la población mundial está en riesgo de contraer enfermedades transmitidas por mosquitos, con la mayor carga para las poblaciones socioeconómicamente desfavorecidas. La urbanización, la globalización, el cambio climático y los cambios en el uso de la tierra han contribuido a la reaparición y expansión de las enfermedades transmitidas por mosquitos. Por ejemplo, la incidencia del dengue se ha multiplicado por más de 30 en los últimos 50 años y los brotes de chikungunya, fiebre amarilla y malaria han aumentado en tamaño y frecuencia desde 2014. La epidemia del virus del Zika (ZIKV) 2015-2016 en América Latina y el Caribe también dio lugar a cientos de miles de infecciones, lo que resultó en trastornos socioeconómicos a gran escala. Se espera que las interrupciones de la cadena de suministro debidas a la pandemia de la enfermedad por coronavirus de 2019 aumenten el número de muertes relacionadas con la malaria en el África subsahariana también en 2020-2021.

Existe una necesidad crítica de enfoques seguros y sostenibles para reducir la carga de los patógenos transmitidos por mosquitos. Las estrategias comunes de control de mosquitos con insecticidas químicos y gestión ambiental solo son moderadamente efectivas, en parte debido a la resistencia derivada de cambios fisiológicos (por ejemplo, resistencia a los insecticidas) y de comportamiento (por ejemplo, los mosquitos cambian sus tiempos de alimentación de sangre en respuesta a los mosquiteros). Las intervenciones químicas también tienen efectos no deseados en los insectos no objetivo, incluidos los polinizadores.

Recientemente se ha producido una expansión en el desarrollo de tecnologías de control genético, que involucran mosquitos modificados diseñados con el objetivo de lograr la supresión de la población (fig. 1A), o modificación de la población (Fig. 1B). Las estrategias de supresión incluyen la técnica de insectos estériles (SIT), la técnica de insectos incompatibles (IIT) y varias tecnologías basadas en transgenes, incluidos los impulsos genéticos. En las estrategias de modificación de la población, los mosquitos resistentes a los patógenos («refractarios») están diseñados para ser liberados en poblaciones silvestres, donde pueden propagar sus modificaciones hereditarias para prevenir la transmisión de patógenos. Los ejemplos incluyen el uso del hereditario bloqueador de patógenos *Wolbachia* (recuadro 1) y varias tecnologías transgénicas. En esta revisión, comparamos y contrastamos las intervenciones de control de mosquitos dirigidas a la supresión o modificación de la población, destacando los desarrollos recientes en el uso de mosquitos infectados por *Wolbachia* y las estrategias transgénicas.

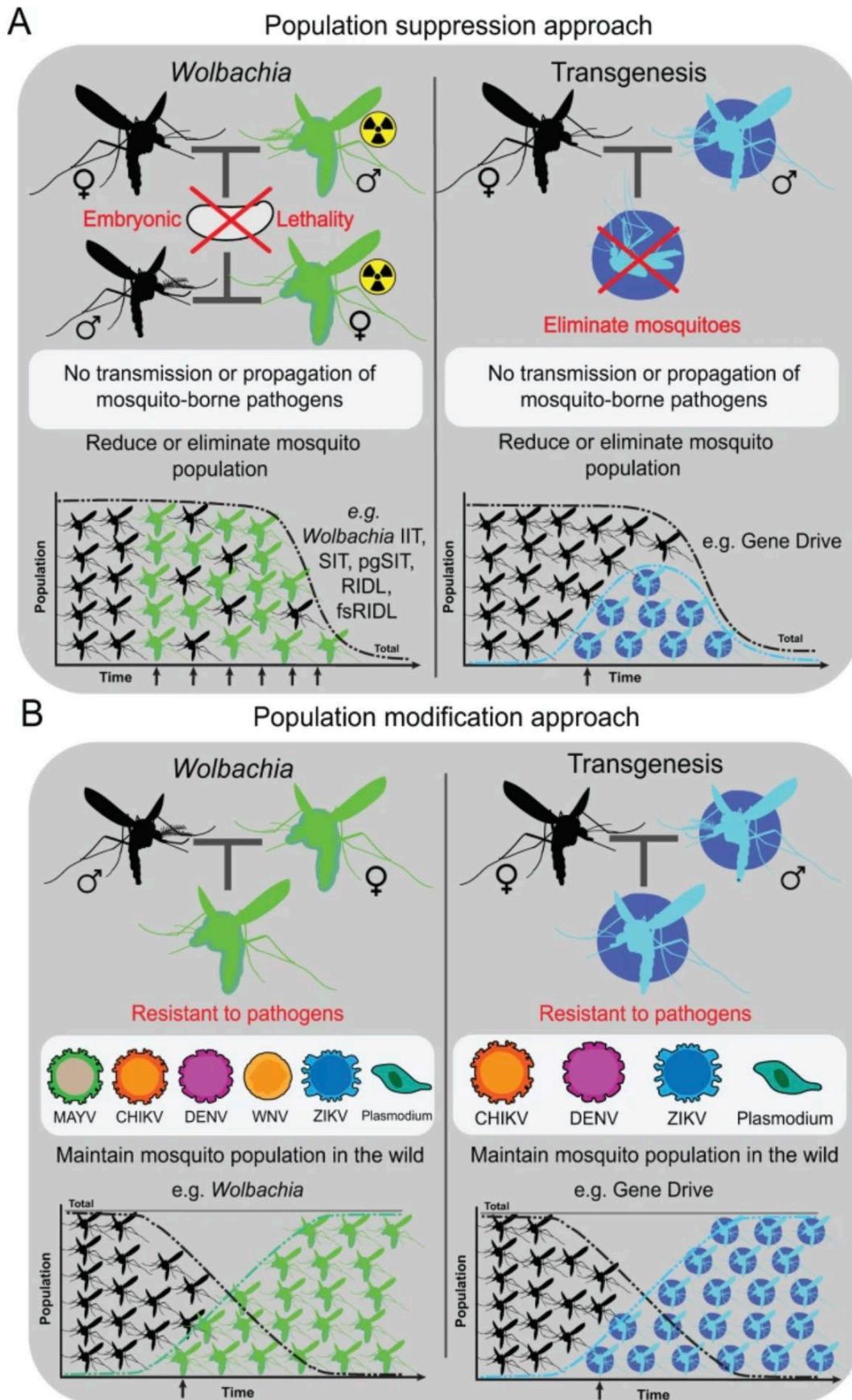
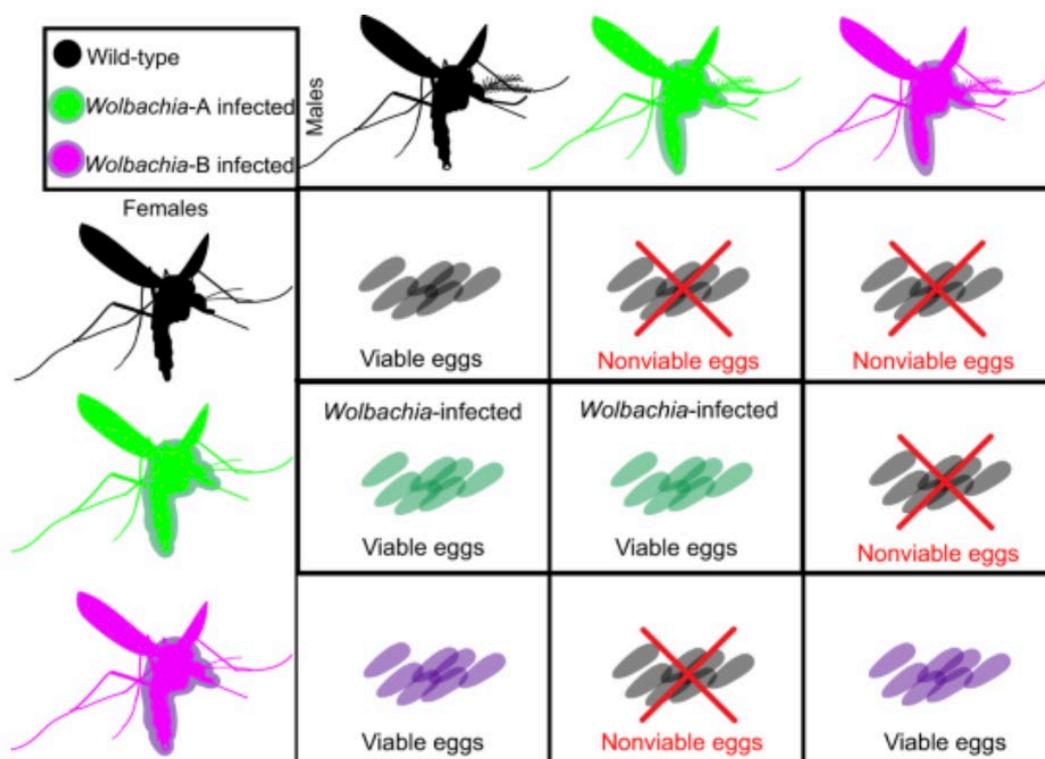


Fig. 1: Wolbachia y enfoques basados en transgenes para la supresión de la población de mosquitos y la modificación de la población.

A Wolbachia y enfoques basados en transgenes para la supresión de la población. Los machos infectados por Wolbachia pueden suprimir las poblaciones de mosquitos a través de los efectos de IC en el embrión temprano. Para evitar que las hembras fértiles infectadas por Wolbachia escapen de la etapa de clasificación por sexo, se incluye una etapa de irradiación para hacerlas estériles. Utilizando enfoques basados en transgenes, los mosquitos pueden diseñarse para inducir letalidad en la etapa inmadura o adulta del ciclo de vida. En los enfoques de supresión, la reducción del número de mosquitos se traducirá en una reducción de la transmisión de patógenos. B Wolbachia y enfoques basados en transgenes para la modificación de la población. Varios estudios han demostrado las capacidades de bloqueo de patógenos de Wolbachia. Esta característica se puede utilizar para modificar las poblaciones de mosquitos para la resistencia a los patógenos. Como las hembras infectadas por Wolbachia también tienen ventajas de manipulación reproductiva (debido a la IC), el bloqueo de patógenos puede propagarse por todas las poblaciones de mosquitos salvajes. En los enfoques basados en transgenes, se pueden diseñar estrategias para inhibir la replicación de un patógeno específico a través del mecanismo deseado (ARN, sobreexpresión de vías inmunitarias innatas, etc.). Cuando se vinculan a un impulso genético, estas estrategias podrían propagarse a través de las poblaciones de mosquitos. Tanto Wolbachia como los enfoques basados en transgenes buscan mantener la población de mosquitos. Las flechas representan las liberaciones de mosquitos. Las múltiples flechas en el enfoque IIT de Wolbachia indican que se necesitan múltiples liberaciones para lograr la supresión. Para simplificar, los enfoques SIT, pgSIT, RIDL y fsRDIL se mencionan como ejemplos en el panel A debido a su requisito de múltiples versiones. Estos enfoques no utilizan Wolbachia, a pesar de estar bajo esta categoría en la figura. Virus MAYV mayaro, virus CHIKV chikungunya, virus DEL DENV delngue, virus WNV del Nilo Occidental, virus ZIKV Zika.



Recuadro 1 Wolbachia indujo la incompatibilidad citoplasmática (IC). Las hembras

infectadas por *Wolbachia* transmiten *Wolbachia* a sus crías a través del citoplasma de huevo. Si se acopla a los machos no infectados de *Wolbachia*, la incompatibilidad entre el espermatozoides y el óvulo (IC unidireccional) da lugar a una descendencia no viable. En presencia de dos cepas de *Wolbachia*, los emparejamientos entre hembras infectadas por *Wolbachia* y machos o machos no infectados infectados con una cepa diferente de *Wolbachia* (IC bidireccional) conducen a la muerte de la descendencia. Las crías viables se generan a partir de hembras infectadas por *Wolbachia* cuando se aparean con machos no infectados o machos infectados con la misma cepa de *Wolbachia*, pero los machos infectados por *Wolbachia* solo producen descendencia viable cuando se aparean con hembras infectadas con la misma cepa de *Wolbachia*.

Enfoques basados en *Wolbachia* para el control de mosquitos

Wolbachia es un parásito reproductivo intracelular de artrópodos y nematodos, que se encuentra naturalmente en muchas especies de insectos. Transmitida verticalmente de madre a descendencia, *Wolbachia* maximiza su transmisión manipulando la reproducción del huésped a través de la feminización, la partenogénesis, la matanza masculina, la incompatibilidad citoplasmática (IC) y aumentando la aptitud del huésped con o sin manipulación reproductiva¹. A través de IC, las hembras infectadas por *Wolbachia* producen descendencia viable infectada por *Wolbachia* cuando se aparean con machos no infectados o machos infectados con la misma cepa de *Wolbachia*. Sin embargo, los machos infectados por *Wolbachia* solo producen descendencia viable cuando se aparean con hembras infectadas con la misma cepa de *Wolbachia* (véase la figura en el recuadro 1). Por lo tanto, aunque los machos son esencialmente callejones sin salida para la transmisión de *Wolbachia*, pueden reducir la producción reproductiva de las hembras no infectadas, dando a las hembras infectadas por *Wolbachia* una ventaja reproductiva relativa y permitiendo la propagación a las poblaciones. Curiosamente, algunas especies vectoriales importantes, incluido *Aedes aegypti*, están naturalmente libres de *Wolbachia*. Por lo tanto, para utilizar *Wolbachia* para el control, se debe introducir hereditariamente una cepa de *Wolbachia* para establecer una colonia infectada por *Wolbachia*.

Supresión de la población basada en *Wolbachia*

Wolbachia IIT es un enfoque de supresión de la población mediante el cual los mosquitos macho infectados con *Wolbachia* se liberan en una población salvaje que carece de esa cepa de *Wolbachia*. El apareamiento entre machos infectados por *Wolbachia* y hembras silvestres da lugar a descendencia no viable. Múltiples liberaciones solo para hombres a lo largo del tiempo pueden suprimir/eliminar las poblaciones de mosquitos y potencialmente interrumpir la transmisión de enfermedades (fig. 1A). Las cepas ideales para *Wolbachia* IIT deben tener una alta penetrancia de esterilidad en los apareamientos entre los machos infectados por *Wolbachia* y las hembras salvajes (idealmente 100%) y deben garantizar una competitividad de apareamiento similar entre los machos infectados por *Wolbachia* y los salvajes. Varias cepas de *Wolbachia* que satisfacen estas condiciones se han transfectado con éxito en mosquitos *Aedes*, *Anopheles* y *Culex*.

A pesar de los avances, varios inconvenientes del IIT limitan su sostenibilidad a largo plazo. El IIT requiere liberaciones múltiples y frecuentes de un gran número de mosquitos machos

perfectamente clasificados por sexo. El esfuerzo y los recursos necesarios para implementar el IIT en una escala necesaria para interrumpir la transmisión de enfermedades pueden no ser sostenibles en muchas áreas. Las liberaciones accidentales e involuntarias de hembras infectadas por *Wolbachia* en la población pueden comprometer el IIT, ya que las hembras infectadas por *Wolbachia* son fértiles tanto con machos infectados como no infectados (recuadro 1) y, por lo tanto, su descendencia hereda la infección. Con el tiempo a medida que *Wolbachia* se propaga, *Wolbachia* se vuelve más abundante, incluso fijo, lo que hace que la cepa de *Wolbachia* sea obsoleta para el IIT debido a la compatibilidad entre las hembras infectadas y los machos liberados. De hecho, los recientes ensayos de *Wolbachia* IIT en Singapur para suprimir las poblaciones de *Ae. aegypti* se vieron comprometidos por el rápido establecimiento de la cepa de *Wolbachia* en el campo como resultado de liberaciones accidentales incluso de una fracción extremadamente pequeña de las hembras (estimaron que solo se liberaron tres hembras)². En particular, este estudio empleó las tecnologías de clasificación sexual más avanzadas disponibles en la actualidad³, pero aún no estuvo a la altura de las eficiencias de clasificación sexual necesarias para evitar el establecimiento de *Walbachia* en la población². Estos resultados sugieren que es poco probable que las tecnologías del IIT de *Wolbachia* por sí solas sean fructíferas para la supresión sostenida a largo plazo de la población, particularmente en poblaciones más pequeñas donde la liberación no intencional de menos mosquitos infectados por *Wolbachia* puede conducir a un establecimiento más rápido de IIT en la población. Sin embargo, si las cepas IIT se establecen en las poblaciones, sus propiedades de bloqueo de patógenos aún pueden reducir la transmisión de la enfermedad y, por lo tanto, seguir siendo beneficiosas para los programas de control de enfermedades (consulte «modificación de la población basada en *Walbachia*»).

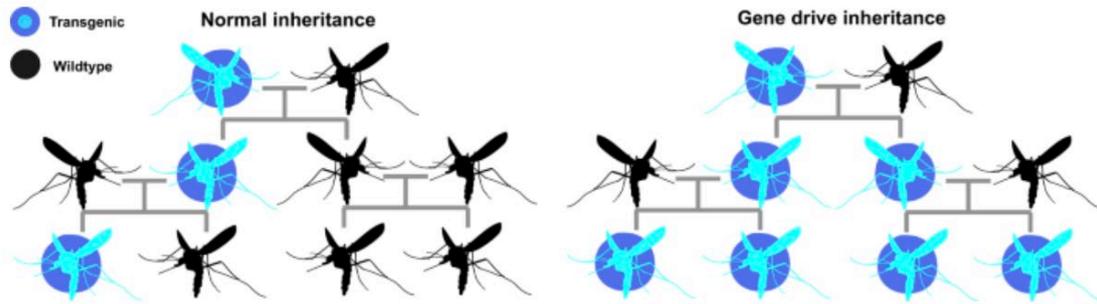
Para superar el establecimiento de la cepa *Wolbachia* IIT, el ensayo de Singapur también utilizó un enfoque combinado de IIT y esterilización de radiación de dosis bajas para lograr una supresión sostenida de la población². Este enfoque combinado IIT-SIT también se implementó anteriormente en un pequeño ensayo de campo con *Aedes albopictus* (fig. 1A)⁴ y garantiza que las hembras infectadas por *Wolbachia* liberadas de forma no intencional sean estériles, evitando la transmisión materna de *Wolbachia* a sus crías y manteniendo la fidelidad de la cepa. Si bien este proceso de esterilización basado en la radiación puede comprometer la aptitud física, se ha utilizado durante muchos años en programas SIT, en los que la radiación se utiliza para generar descendencia estéril a través de la generación de daños cromosómicos o mutaciones letales. No obstante, sigue habiendo preguntas críticas sobre si este enfoque es ideal debido a los impactos de la radiación en la aptitud física y, posiblemente, en la competencia vectorial⁵. La competencia de vectores posterior a la irradiación no se abordó en ninguno de los estudios, pero el tratamiento con radiación podría aumentar la competencia vectorial de las mujeres liberadas al impactar en la densidad o transmisión de *Wolbachia*, o al inducir mutaciones en la propia *Wolbachia*, que posiblemente podrían afectar sus capacidades de bloqueo de patógenos u otras funciones inmunitarias naturales en el vector⁵. Cuando las poblaciones de mosquitos ya están infectadas con otra cepa de *Wolbachia*, como es el caso de *Ae. albopictus*, por ejemplo, es probable que no sea necesario acoplar IIT y SIT. Esto se debe a la IC bidireccional, por la que ambas direcciones de una cruz son incompatibles (recuadro 1), lo que puede suprimir con éxito las poblaciones al tiempo que conserva una alta aptitud masculina y una baja competencia vectorial⁵. La sostenibilidad a largo plazo de este enfoque combinado de IIT y SIT se ve aún más complicada por la falta de datos sobre la recuperación de la población después de la intervención. Ciertamente, la combinación de los dos enfoques también aumentará los costes asociados con la implementación de estas tecnologías. En particular, la menor aptitud de los machos irradiados infectados por *Wolbachia* liberados² puede aumentar la cantidad y frecuencia de las liberaciones necesarias para lograr una supresión significativa de la población. Estas consideraciones, junto con datos más a largo plazo y a mayor escala, son

fundamentales para evaluar la sostenibilidad y escalabilidad de estos enfoques combinados para un control eficaz de la enfermedad.

Modificación de la población basada en *Wolbachia*

Los enfoques de modificación de la población para el control de enfermedades tienen como objetivo modificar las poblaciones de vectores para albergar factores hereditarios que reducen o bloquean la transmisión de patógenos. Sorprendentemente, se ha demostrado que *Wolbachia* reduce naturalmente la transmisión de múltiples arbovirus (es decir, el dengue, el Nilo Occidental, el chikungunya, el Zika y el Mayaro) e incluso el parásito de la malaria, *Plasmodium*^{6,7,8}. Los estudios han sugerido que *Wolbachia* puede bloquear los patógenos al competir por los ácidos grasos, regular los microARN del huésped o regular al alza las vías de respuesta inmunitaria innatas⁹, o puede interactuar directamente con el ARN viral para limitar la infección, diseminación y transmisión de patógenos¹⁰. El mecanismo preciso para la actividad de transmisión de antipatógenos de *Wolbachia* sigue sin estar claro, pero se plantea la hipótesis de que se debe a la activación de la inmunidad del huésped asociada a *Wolbachia* o a la competencia entre el virus y *Wolbachia* por los recursos celulares¹¹. Ambos mecanismos podrían interferir con la replicación del virus, pero estas interacciones son complicadas, variando según el huésped, la cepa de *Wolbachia* y el patógeno.

Los ensayos de campo de la modificación de la población basada en *Wolbachia* en Australia demostraron que las tasas de infección por *Wolbachia* alcanzaron hasta el 90 % a las 11 semanas posteriores a la liberación inicial de mosquitos hembra infectados por *Wolbachia*¹² y redujeron con éxito la transmisión del dengue en las ciudades de Cairns y Townsville¹³. Las altas tasas de infección por *Wolbachia* se mantuvieron durante 6 meses después de la liberación en Yogyakarta, Indonesia, endémica del virus del dengue (DENV), donde se liberaron adultos o huevos infectados por *Wolbachia* durante 20 o 24 semanas, respectivamente¹⁴, lo que es más importante, dieron lugar a una reducción significativa de la incidencia de dengue en el. Las altas tasas de infección de *Wolbachia* (>80%) también se mantuvieron durante más de 2 años después de la liberación en Kuala Lumpur, Malasia, Malasia,^{17,18} y recientemente en Brasil, donde también se observaron reducciones significativas en la incidencia de dengue, Zika y chikungunya en las áreas de intervención de *Wolbachia*¹⁹. En general, las estrategias de modificación de la población basadas en *Wolbachia* parecen requerir menos liberaciones que las estrategias de IIT y permiten la liberación de ambos sexos de mosquitos infectados por *Wolbachia*, lo que permite la persistencia a largo plazo en el medio ambiente (fig. 1B). Si bien estos esfuerzos son emocionantes, ¿cuán estables son evolutivamente las características de bloqueo de patógenos de *Wolbachia*? ¿Qué sucede cuando el virus, el mosquito o el propio *Wolbachia* evolucionan con el tiempo? ¿Se descompondrán las capacidades de bloqueo de patógenos? Si es así, ¿cómo se resolverá esto? Estas son solo una minoría de preguntas abiertas que merecen una exploración futura.



Recuadro 2 El gen impulsa la herencia sesgada de modificaciones genéticas. Por herencia mendeliana normal, se espera que se herede un alelo transgénico con una frecuencia del 50 %. Los impulsos genéticos, por otro lado, convierten los alelos heterocigotos para el transgén en homocigotos, aumentando así la frecuencia de los alelos del transgén a >50%, y a veces >90% en la descendencia albergando los diseños de accionamiento genético más eficientes. Los impulsos genéticos no solo sirven como una forma de introducir transgenes más rápidamente en una población, sino que debido a los costos de aptitud de los transgenes y a la selección positiva para el alelo de tipo salvaje, es probable que también sean necesarios para mantener la mayoría de los transgenes en una población. Sin impulsos genéticos, la mayoría de los transgenes simplemente no alcanzarían una frecuencia poblacional lo suficientemente alta como para tener un impacto significativo en la transmisión de la enfermedad.