



Universidad
Zaragoza

Facultad de Medicina

Trabajo Fin de Grado

**PAPEL DE *WOLBACHIA* EN LA TRANSMISIÓN Y
PATOGENIA DE ENFERMEDADES TROPICALES.
REVISIÓN NARRATIVA**

Role of *Wolbachia* in the transmission and pathogenesis of
tropical diseases. Narrative review

Autor

Daniel Bergua Claver

Directora

María Pilar Goñi Cepero

Departamento de Microbiología, Pediatría, Radiología y Salud Pública

Área de Parasitología

Curso académico 2023-2024

ÍNDICE

1. Resumen y palabras clave	1
2. Introducción	2
3. Objetivos	5
Objetivo principal	5
Objetivos específicos	5
4. Metodología	6
5. Resultados y discusión	7
5.1 Una pandemia global. Transmisión vertical y horizontal de <i>Wolbachia</i>	7
5.2. Fenotipos reproductivos inducidos por <i>Wolbachia</i>	11
5.3 Bloqueo viral inducido por <i>Wolbachia</i>	15
5.4 <i>Wolbachia</i> y nematodos filariales	17
5.5 Estrategias de control de enfermedades basadas en <i>Wolbachia</i>	19
6. Conclusiones	26
7. Bibliografía	27

1. Resumen y palabras clave

El impacto sanitario y económico de las enfermedades tropicales a nivel global, y específicamente en las zonas endémicas, continúa siendo un problema a resolver por la comunidad científica, habiéndose convertido la bacteria *Wolbachia* en una diana potencial para su control. *Wolbachia* es una bacteria endosimbionte de artrópodos y nematodos ampliamente distribuida a nivel global. Se estima que aproximadamente el 50% de las especies de insectos existentes son portadores de *Wolbachia*. Esta bacteria cuenta con una serie de peculiaridades que la hacen atractiva para su uso en el control de enfermedades tropicales, como la modificación de la reproducción de artrópodos vectores de patologías tropicales, la protección que confiere a diferentes especies de mosquitos frente a arbovirus y *Plasmodium*, y su influencia en la complicada inmunopatología de las filariasis humanas. En este estudio se realiza una revisión narrativa de la biología de *Wolbachia*, las relaciones endosimbióticas que mantiene con artrópodos y nematodos, así como una descripción de las estrategias de control de enfermedades tropicales basadas en características de *Wolbachia*.

Palabras clave: *Wolbachia*, endosimbiosis, nematodos, artrópodos, incompatibilidad citoplasmática, bloqueo viral.

Summary and keywords

The global medical and economic impact of tropical diseases, and most importantly, their impact in areas where they are endemic, continues to be an unresolved issue within the scientific community. However, the bacterium *Wolbachia* seems to be becoming a potential target for controlling these illnesses. *Wolbachia* is a bacterium, endosymbiont for arthropods and nematodes, widely disseminated globally. It is estimated that approximately 50% of insect species are carriers of *Wolbachia*. This bacterium possesses a series of peculiarities that make it appealing for the control of tropical diseases, such as its alteration of the reproductive patterns of the *Wolbachia*-carrying arthropods, the protection they grant to mosquitoes against arboviruses and *Plasmodium*, and its influence within the complicated immunopathology of the human filariasis. This study reviews the biology of the *Wolbachia* bacterium, its endosymbiotic relationship with arthropods and nematodes, and describes the control strategies for tropical diseases based on the characteristics of *Wolbachia*.

Keywords: *Wolbachia*, endosymbiosis, nematodes, arthropods, cytoplasmatic incompatibility, virus blocking.

2. Introducción

La simbiosis (del griego *συμβίωσις symbiōsis* 'vida en común') se puede definir como " la existencia de una asociación estable entre dos o más organismos de diferentes especies para dar lugar a un estilo de vida integrado a nivel genético, metabólico o conductual"(1). Las relaciones simbióticas entre diferentes organismos ya sean unicelulares o pluricelulares, hacen posible, en parte, la gran diversidad de comportamientos y estilos de vida que se encuentran en la biosfera. Además, la investigación y el entendimiento de los mecanismos de dichas simbiosis, así como sus bases genéticas, han permitido abrir nuevas fronteras en numerosos campos de estudio biológicos, agrícolas, médicos y epidemiológicos en la actualidad (2). En este contexto, las bacterias del género *Wolbachia* merecen especial atención.

El género *Wolbachia* es un grupo de bacterias que, desde un punto de vista taxonómico, se clasifica en el filo *α-proteobacterias*, dentro del orden *Rickettsiales* y la familia *Anaplasmataceae*, (3,4). Son organismos endosimbiontes Gram-negativos intracelulares encontrados exclusivamente en invertebrados, y pudiéndose replicar solamente en el interior de una célula eucariota (4). Considerados como los endosimbiontes más ubicuos y extendidos del reino animal, se estima que su presencia abarca aproximadamente el 50% de todas las especies de insectos (3,5). Entre los hospedadores de *Wolbachia* destacan artrópodos y nematodos (*Onchocercinae* y *Dirofilarinae*), en los cuales es capaz inducir cambios importantes tanto en el fenotipo del individuo al que infecta como en su progenie (6).

Wolbachia fue identificada en las gónadas del mosquito *Culex pipiens* en 1924 gracias a los estudios de Samuel Burt Wolbach y Marshall Hertig, pero no fue hasta 1936 que se describió y estableció el género *Wolbachia* propiamente dicho (6). Desde ese entonces, esta bacteria ha sido objeto de especial interés por parte de la comunidad científica debido a las curiosas relaciones simbióticas y parasitarias que establecen con sus hospedadores. Estas relaciones con *Wolbachia* se han convertido en potenciales (y actuales) campos de estudio para el control de poblaciones de vectores, transmisión de enfermedades tropicales, así como la posibilidad de combatir filariosis humanas atacando a su *Wolbachia* endosimbionte, entre otros (7).

El género *Wolbachia* presenta una impactante diversidad genética. La presencia de diferentes cepas de *Wolbachia* en sus hospedadores, así como las diferentes

interacciones con sus anfitriones ha llevado a establecer un consenso general de clasificación de *Wolbachia* mediante grupos monofiléticos llamados supergrupos o clados (5). Esta clasificación, basada en la tipificación realizada con secuencias de los genes *ADNr 16S*, *ftsZ* y *wsp* (*Wolbachia* surface protein) de *Wolbachia*, consta a día de hoy de 18 supergrupos (supergrupos A a R), donde la mayor parte de estos pertenecen a cepas exclusivas de artrópodos (p.e. el supergrupo A, al que pertenece *Wolbachia wMel*, encontrada en la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster*), mientras que unos pocos pertenecen a cepas presentes en nematodos filariales (p.e. el supergrupo D, donde se encuentra a *Wolbachia wBm*, endosimbionte de la filaria *Brugia malayi*) (3,7). Cabe destacar el grupo monofilético F, pues es el único hasta la fecha que reúne cepas de *Wolbachia* presentes tanto en filarias como en artrópodos (7,8). En la figura 1.A se refleja una representación del árbol filogenético de *Wolbachia* hasta el momento, donde el tamaño de los triángulos hace referencia a la diversidad dentro de cada supergrupo de *Wolbachia* (7).

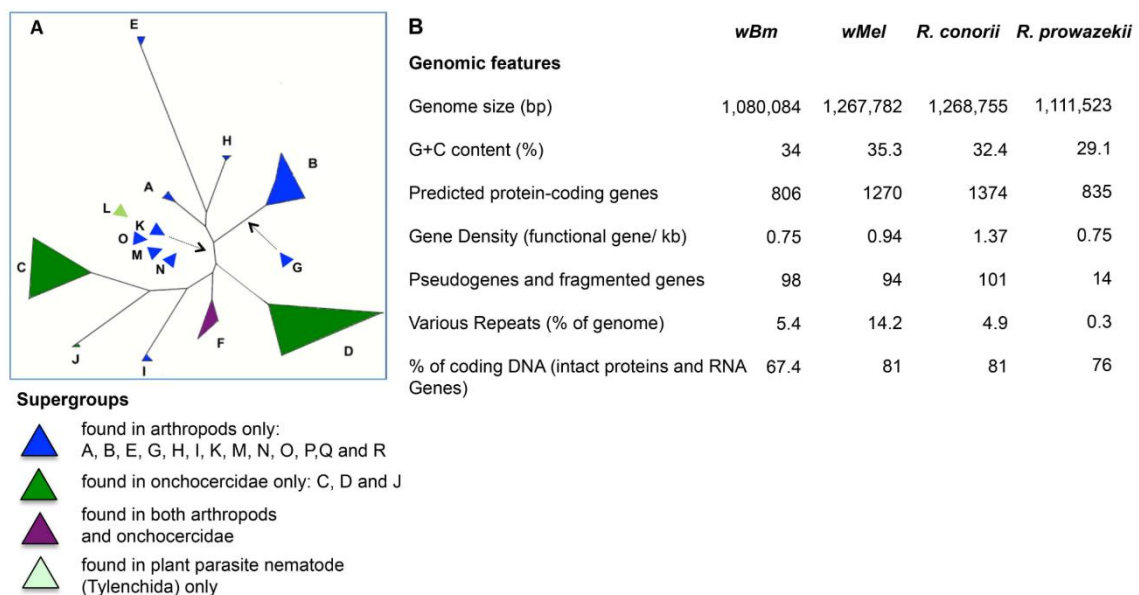


Figura 1: Descripción de la diversidad genética de *Wolbachia*. (A) Árbol filogenético de los principales grupos de *Wolbachia*. (B) Comparación de las características genómicas de endosimbiontes de *Wolbachia wMel* y *wBm* con otras especies *Rickettsiales*. Extraído de la referencia (7).

La comparación entre el genoma de cepas de *Wolbachia* presentes en filarias y en artrópodos proporciona un buen ejemplo de la variabilidad genética de este grupo de bacterias. El genoma de las cepas de *Wolbachia* presentes en artrópodos es de mayor tamaño, donde en torno a un 14% de su genoma son fragmentos repetidos móviles de

DNA (6). Estos elementos móviles de DNA son principalmente transposones y profagos, y confieren gran plasticidad genómica que podría ser ventajosa para la transmisión horizontal (infección de nuevas especies), así como para la manipulación reproductiva de sus hospedadores (6,7). Tomando como ejemplo la secuencia del genoma de *Wolbachia wMel*, se aprecia evidencia de una evolución reductiva del genoma, como es común en bacterias intracelulares obligadas, pero sorprende la comentada abundancia de fragmentos repetidos móviles de DNA. Esto hace que la arquitectura del genoma de *Wolbachia* se parezca más a la de una bacteria de vida libre que a la de otras bacterias intracelulares (9).

El genoma de las *Wolbachia* asociadas con nematodos filariales es más pequeño en comparación, y carece de muchas de las secuencias de DNA repetitivo encontradas en el de las *Wolbachia* de artrópodos, presentando también ausencia de profagos (6). Se piensa que este fenómeno se debe a una mayor pérdida genética evolutiva relacionada con el estricto mutualismo obligado entre filarias y su *Wolbachia* endosimbionte (7).

Si bien en otras especies de bacterias endosimbiontes del género *Rickettsiales* no se ha encontrado relación entre la ausencia o tenencia de elementos genéticos móviles (secuencias repetidas, transposones y profagos) y el tipo de relación simbiótica con sus hospedadores, parece que *Wolbachia* rompe esta tendencia. Es ciertamente interesante apreciar como *Wolbachia* y los nematodos filariales presentan una relación de mutualismo obligado, observando como el genoma de las bacterias del género *Wolbachia* de este grupo es mucho más estable, con menos plasticidad que los encontrados en las *Wolbachia* de artrópodos, en la que la relación simbiótica es más cercana a un parasitismo reproductivo (10). Parece ser que el menor tamaño del genoma y el menor número de secuencias repetidas y móviles del genoma puedan ser reflejo de una evolución hacia el mutualismo en contraparte del parasitismo: así, *wMel*, por ejemplo, pudo haber retenido mayor cantidad de genes a lo largo de su evolución relacionados con una mayor capacidad de infección y transmisión, así como manipulación reproductiva en su hospedador, y por el contrario, *wBm* los habría perdido en favor de una relación mutualista y mucho más estable con su hospedador filarial (6).

Esta gran diversidad dentro del género *Wolbachia* hace que hoy en día siga existiendo el debate sobre si *Wolbachia* presenta una sola especie con numerosas cepas, o si bien estas cepas son diferentes especies de *Wolbachia*. Uno de los argumentos propuestos es el hecho de que el nivel de divergencia de las secuencias *16S rDNA* entre

los supergrupos A y B de *Wolbachia* es del 2%, mayor a lo establecido en la separación de especies en otras bacterias como las del género *Rickettsia* (6,11). Es por ello que muchos miembros de la comunidad científica prefieren caracterizar alguna de estas cepas de *Wolbachia* como especies diferentes, entre las que destacan *W. postica* (especie propuesta por Leu et al. en 1989) , *W. inokumae* y *W. brouquii* (especies propuestas por Matsumoto et al. en 2008) (3).

La comentada ambigüedad en la clasificación y la nomenclatura de *Wolbachia* aún está por discernir, por lo que se ha optado en este escrito en seguir el consenso internacional de nomenclatura y clasificación de *Wolbachia*, que es el propuesto por supergrupos, manteniendo a todos ellos dentro de una sola especie.

En esta revisión se pretende aunar y resumir la información disponible en la literatura científica sobre el género *Wolbachia*, así como de las aplicaciones de sus peculiares características y de las relaciones que tiene con sus hospedadores para actuar sobre el control vectorial y patogenia de enfermedades tropicales.

3. Objetivos

Objetivo principal

Recopilar y aunar la literatura acerca de las relaciones endosimbiontes del género *Wolbachia*, con sus hospedadores; y describir las implicaciones y las aplicaciones de dichas relaciones en el control y tratamiento de enfermedades tropicales.

Objetivos específicos

Conocer las razones de la gran ubiquidad del género *Wolbachia* entre los hospedadores invertebrados.

Conocer y entender los fenotipos generados por *Wolbachia* en sus hospedadores, y cómo estos cambios pueden influir en el control vectorial y de enfermedades tropicales.

Conocer el tipo de relación que presenta *Wolbachia* con diferentes artrópodos con función vectorial para enfermedades tropicales.

Conocer el tipo de relación que presenta *Wolbachia* con las filarias, y las implicaciones del tratamiento antibiótico de su *Wolbachia* endosimbionte.

4. Metodología

Para la elaboración de este escrito se realizó una revisión de la literatura sobre el tema elegido hasta abril de 2024. Para ello se decidió no restringir la búsqueda por idioma ni por fecha de publicación.

La búsqueda de información se hizo en dos partes. La primera de ellas se centró en información sobre las características del género *Wolbachia* y su genética, para así establecer una visión general sobre el tema propuesto. Para ello se utilizaron los siguientes términos de búsqueda:

- “*Wolbachia*”
- “Biology”
- “Endosymbiosis”

La segunda parte consistió en una búsqueda más específica sobre las relaciones de *Wolbachia* con organismos específicos como artrópodos y filarias, así como las implicaciones de esas interacciones en el control y patogenia de enfermedades tropicales. Los términos de búsqueda utilizados se muestran a continuación:

- “*Wolbachia*”
- “*Malaria*”
- “*Arbovirus*”
- “*Filariae*”

Como principal fuente de información se utilizó la base de datos bibliográfica de *MEDLINE*. Para el primer bloque se realizó la búsqueda de “*Wolbachia* AND Biology” y “*Wolbachia* AND Endosymbiosis”. Para el segundo bloque se siguió la misma metodología de búsqueda, utilizando los términos de “*Wolbachia* AND *Malaria*”, “*Wolbachia* AND *Arbovirus*” y “*Wolbachia* AND *Filariae*”.

Ante el gran número de resultados obtenidos con la búsqueda de términos, se prosiguió con la lectura comprensiva de título y resumen de los artículos, aplicando una serie de criterios de exclusión e inclusión que se detallan a continuación:

Criterios de inclusión:

- Estudios con información sobre biología, clasificación filogenética y relaciones simbióticas generales de *Wolbachia*.
- Estudios que muestren la relación de *Wolbachia* con sus simbioses y las bases de aplicabilidad al control vectorial.

Criterios de exclusión:

- Estudios realizados exclusivamente con especies simbioses de *Wolbachia* sin trascendencia para el control de enfermedades tropicales.
- Estudios exclusivos sobre vectores y enfermedades veterinarias sin trascendencia para humanos.

Una vez aplicados los criterios y seleccionados los artículos, se procedió a la lectura de estos. Posteriormente, se realizó una nueva búsqueda basada en la bibliografía de los artículos anteriormente seleccionados, así como artículos procedentes de otras fuentes, incluyendo artículos que no se encontraban en la búsqueda inicial.

5. Resultados y discusión

En el primer bloque de la búsqueda se obtuvieron 1492 resultados para “*Wolbachia* AND Biology” y 1251 para “*Wolbachia* AND Endosymbiosis”. En el segundo bloque de búsqueda se obtuvieron 145 resultados para “*Wolbachia* AND Malaria”, 251 resultados para “*Wolbachia* AND Arbovirus” y 133 resultados para “*Wolbachia* AND Filariae”. Tras la aplicación de los criterios de inclusión y exclusión, lectura de los títulos y resúmenes, y la posterior lectura de los artículos seleccionados, se redujo el número de artículos a 6 para “Biology”, 18 para “Endosymbiosis”, 3 para “Malaria”, 4 para “Filariae” y 6 para “arbovirus”.

5.1 Una pandemia global. Transmisión vertical y horizontal de *Wolbachia*

Para poder comprender el papel de *Wolbachia* en el control vectorial y patogénico de enfermedades tropicales, es necesario conocer cómo ha sido capaz de transmitirse entre especies y dentro de una misma especie hospedadora, así como los cambios que es capaz de generar en su hospedador.

Aquellos géneros bacterianos que comparten características con *Wolbachia* (véase *Rickettsia* y *Ehrlichia*) presentan ciclos vitales y reproductivos que incluyen vectores artrópodos y mamíferos hospedadores, pero *Wolbachia* sólo es capaz de infectar a organismos invertebrados. A pesar de ello, el género *Wolbachia* es considerado como el grupo de endosimbiontes más ubicuo y abundante del reino animal, infectando en torno a 10^6 especies de insectos, entre los que destacan órdenes como *Coleoptera*, *Diptera*, *Hemiptera*, *Hymenoptera*, *Lepidoptera* y *Orthoptera*, entre otros (10,11). Este impresionante dato plantea la siguiente pregunta: ¿cómo ha sido capaz *Wolbachia* de llegar a tal nivel de dispersión?

La primera explicación que se encuentra para la gran pandemia de *Wolbachia* es en parte por la capacidad de transmisión horizontal entre especies, ya sea por contactos directos, dentro de un mismo hábitat; o indirectos, a través de fuentes de alimento contaminadas con la bacteria (7). Sin embargo, la clave del éxito pandémico de *Wolbachia* es la capacidad de modificar los mecanismos celulares y reproductivos de las especies a las que infecta con el fin de mejorar su transmisión a la progenie, la denominada transmisión vertical (7,10).

-Transmisión vertical

Como ya se ha comentado, el género *Wolbachia* es un grupo de bacterias intracelulares de transmisión vertical o herencia materna, lo que refiere que estas bacterias se transmiten de manera predominante a través de la línea germinal femenina (12). Si bien es cierto que *Wolbachia* es capaz de concentrarse en la línea germinal de ambos sexos de sus hospedadores, estas bacterias están excluidas del esperma maduro y por tanto la tasa de transmisión de *Wolbachia* a través de la línea germinal masculina solo llega a alcanzar el 2% (12,13). Por otra parte, *Wolbachia* sí que se encuentra presente durante toda la edad adulta en la línea germinal femenina, acumulándose en el llamado SSCN (Nicho de células madre somáticas, en inglés Somatic Stem Cell Niche) (14). Este nicho de células se encuentra en la región del polo distal de los ovarios en artrópodos, denominada germario, y se conoce que cada germario contiene de 2 a 3 células madre de la línea germinal (GSC). En cada división de las GSC, *Wolbachia* migra desde el SSNC al oocito utilizando el denominado sistema de transporte transovárico de vitelogenina del huésped, transmitiéndose así a la progenie por la línea germinal femenina (12,15).

Cabe destacar que existen ligeras diferencias en la transmisión vertical de *Wolbachia* en artrópodos y nematodos. En ambos grupos, *Wolbachia* se transmite de manera eficaz por transmisión vertical. La principal diferencia reside en que, mientras que los fenotipos de *Wolbachia* en artrópodos, si bien benefician al mantenimiento de una progenie femenina infectada, no es obligatoria la transmisión de *Wolbachia* a las siguientes generaciones para la supervivencia del hospedador. En nematodos se ha demostrado la presencia de *Wolbachia* en todos los embriones, fases larvarias y adultos filariales, lo que hace pensar en la necesidad de infección de *Wolbachia* para la supervivencia de los nematodos (14).

Esta transmisión vertical por herencia materna de alta fidelidad de *Wolbachia* ha impulsado el desarrollo de fenotipos reproductivos inducidos por la propia bacteria para favorecer selectivamente a las hembras infectadas, potenciando la transmisión de *Wolbachia* a las siguientes generaciones. Es precisamente esta característica la que convierte a estas bacterias en manipuladores reproductivos de artrópodos, y que sean capaces de generar cuatro fenotipos reproductivos principales: incompatibilidad citoplasmática (IC), partenogénesis inducida, feminización y el denominado androcidio o “male killing”.

-Transmisión horizontal

La transmisión horizontal, también llamada *host shift*, ocurre cuando un simbiote infecta a una nueva especie y genera una relación estable con su hospedador, no solo a nivel individual, sino a nivel poblacional (15). Incluso se ha propuesto que la presencia del género *Wolbachia* en artrópodos y nematodos surgió a partir de transmisión horizontal entre estos dos filos hace unos 100 millones de años (14).

Existen numerosas evidencias sobre la presencia de transmisión horizontal en el género *Wolbachia*. Ya desde las primeras investigaciones sobre los supergrupos A y B de *Wolbachia* (en especial *wMel*, endosimbionte de *D. melanogaster*) se apreció que rara vez el origen filogenético del hospedador era congruente con el de su bacteria endosimbionte, lo que hace pensar que, al tener diferente origen, el comienzo de la relación endosimbiótica entre *Wolbachia* y artrópodos tuvo lugar por transmisión horizontal de la bacteria desde otra especie (15). A su vez, existen cepas de *Wolbachia*, encontradas en los órdenes *Coleoptera*, *Diptera*, *Hymenoptera*, y *Lepidoptera*, que son muy similares genéticamente. Las secuencias del gen *ftsZ* en estas cepas son prácticamente idénticas, y

la divergencia genética en secuencias de *16S rDNA* es del orden de 1-2%. La similitud genética entre estas cepas presentes en insectos de órdenes diferentes hace pensar que *Wolbachia* se pudo transmitir entre estas especies, evidenciando la capacidad de transmisión horizontal de esta bacteria (11,15,16).

Destacan dentro del género *Wolbachia* aquellas que infectan a nematodos, pues existe una concordancia general entre la genética de la bacteria y la de su hospedador, lo que hace pensar que en que la transmisión horizontal en este grupo de *Wolbachia* es menor (10). Como se ha comentado, existe la hipótesis de que la presencia de *Wolbachia* en artrópodos u nematodos surgió mediante transmisión horizontal entre ellos hace millones de años, habiendo evolucionado posteriormente de manera individual. Comparando los genomas de las cepas de *Wolbachia* en *Drosophila* y *Brugia malayi*, se puede observar que el endosimbionte en *B. malayi* ha sufrido una reducción genética, en la cual se incluyen genes que podrían estar involucrados en el parasitismo (14). Estos hallazgos concuerdan con la relación de mutualismo obligado entre *Wolbachia* y nematodos, frente al parasitismo reproductivo entre *Wolbachia* y artrópodos (10).

La transmisión de *Wolbachia* entre especies es un proceso complejo que se puede resumir en cuatro pasos principales: En el primero, se da la transmisión de la bacteria a una hembra de la nueva especie hospedadora; en el segundo, se produce la proliferación bacteriana dentro del nuevo hospedador; en el tercero, tiene lugar la transmisión vertical de la bacteria a la progenie; y finalmente, en el cuarto, la bacteria se distribuye en la población de la especie (15). Por supuesto, teniendo en cuenta estos pasos, es evidente que el establecimiento de la transmisión horizontal, es decir, que *Wolbachia* endosimbionte prospere en la población de un hospedador y no solo en el individuo infectado, depende en gran parte del éxito de la transmisión vertical de *Wolbachia* y de los fenotipos reproductivos que genera en el hospedador, cuya finalidad es favorecer selectivamente a las hembras infectadas para que la transmisión materna de *Wolbachia* suceda de manera exitosa.

Además, se ha conseguido replicar de manera artificial la transmisión horizontal utilizando el método de transfección, consistente en la transferencia mecánica de un simbionte a un nuevo huésped, comprobando así la habilidad de *Wolbachia* de transmitirse entre especies diferentes (15,17). Toda esta evidencia no solo da pistas de por qué *Wolbachia* es encontrada como endosimbionte en numerosas especies, sino que, gracias a la transfección sería posible transferir los fenotipos inducidos por *Wolbachia* a

insectos no infectados de manera natural, lo que permitiría abordar la manipulación de poblaciones de insectos que a priori no era posible.

5.2. Fenotipos reproductivos inducidos por *Wolbachia*

Ya se ha comentado que la principal clave del éxito de la pandemia de *Wolbachia* (especialmente en artrópodos) es su transmisión vertical materna unida a la manipulación reproductiva de sus huéspedes, que favorece la prosperidad de las hembras infectadas de *Wolbachia*. Por supuesto, no todas las cepas de *Wolbachia* generan los mismos fenotipos. Así, aparecen los cuatro fenotipos reproductivos de *Wolbachia*.

Partenogénesis inducida. En organismos haplodiploides como muchas especies de avispas y ácaros, ocurre de manera natural el fenómeno de la partenogénesis. En este, los huevos diploides que son fertilizados se desarrollan de manera normal para dar lugar a hembras, mientras que los huevos haploides que no han sido fertilizados dan lugar a machos (7). *Wolbachia* es capaz de inducir una partenogénesis ligeramente diferente. En este caso, las hembras infectadas por *Wolbachia*, en lugar de producir machos a partir de huevos no fertilizados, producen hembras. Esto hace que se favorezca la generación de hembras infectadas como única progenie de manera casi exclusiva. La partenogénesis inducida por *Wolbachia* se ha observado en los órdenes *Hymenoptera*, *Thysanoptera* y *Acari*, entre otros (10).

Feminización. Este fenotipo es producido por cepas de *Wolbachia* que infectan a organismos de las ordenes *Isópoda*, *Lepidoptera* y *Hemiptera*. Tras la infección, *Wolbachia* es capaz de proliferar dentro de las glándulas androgénicas del hospedador macho, conduciendo a su hipertrofia y a la consecuente pérdida de la función (10). La inhibición de la producción androgénica genera que los machos se desarrollen con un fenotipo de pseudohembra fértil, desarrollando ovarios funcionales. Este fenotipo reproductivo, de nuevo, tiene como función el promover la prosperidad y el desarrollo de hembras infectadas por *Wolbachia*, pero debido a que la transmisión vertical materna de *Wolbachia* no es exitoso en el 100% de los casos, todavía existen machos derivados de huevos sin infectar que se desarrollarán con normalidad, perpetuando la reproducción sexual en la especie hospedadora (7). La presencia de un fenotipo feminizante pone de manifiesto un conflicto genético en el propio sistema de determinación del sexo de un individuo, pudiendo generar una rápida evolución de estos sistemas (11). Un caso interesante y ampliamente estudiado de feminización es el hallado en poblaciones de

piojo de la madera, de nombre científico *Armadillidium vulgare*. En esta especie, la determinación sexual se rige por la heterocigosis femenina, es decir, las hembras tienen ZW como cromosomas sexuales, mientras que los machos son ZZ. Se ha descubierto que, debido al fenotipo de feminización, muchas poblaciones de piojos de esta especie han perdido el cromosoma W, y consecuentemente carecían de hembras genéticamente determinadas. Esto convierte a la infección por *Wolbachia* en el único factor determinante para el género fenotípico en el piojo de la madera: machos cuando no hay infección, y pseudohembras fértiles cuando sí la hay (7,11).

Androcidio (“Male Killing”). Este fenotipo ha sido observado en cuatro órdenes de artrópodos diferentes: *Coleoptera*, *Diptera*, *Lepidoptera* y *Pseudoescorpiones*. Como su nombre indica, el androcidio conduce a la muerte embrionaria de los machos infectados, que no son capaces de transmitir *Wolbachia* a la progenie. Este fenotipo también genera una ventaja para las hembras de la especie, pues se pueden alimentar de los huevos de machos que no se desarrollan, solucionando problemas de escasez y competición por el alimento. Todavía hoy no se conoce exactamente cuáles son las bases citológicas y fisiológicas del fenómeno de androcidio, si bien se especula que puede tener relación con la toxina Spaid, generada por *Spiroplasma poulsonii*, otro endosimbionte de artrópodos que es capaz de generar “male killing” en especies de *Drosophila* (7,10). A pesar de encontrar ejemplos de androcidio inducido por otros endosimbiontes, no se puede deducir que el mecanismo de acción sea el mismo en todos ellos, puesto que depende de muchos otros factores como son el propio hospedador, la temperatura, y la densidad del endosimbionte presente en el hospedador (3).

Incompatibilidad citoplasmática (IC). Sin lugar a duda la incompatibilidad citoplasmática es el fenotipo reproductivo inducido por *Wolbachia* más conocido y extendido en la naturaleza, encontrado en numerosas órdenes de insectos tales como *Diptera*, *Coleoptera*, *Hemiptera*, *Hymenoptera*, *Isopoda*, *Lepidoptera*, *Orthoptera* y *Acari*, siendo muy rara en isópodos, grupo en el que solo se ha reportado en *Porcellio dilatatus* y en *Cylisticus convexus* (3,7). La IC es una forma de esterilidad masculina condicional que sucede cuando machos infectados por *Wolbachia* se aparean con hembras no infectadas. La incompatibilidad ocurre específicamente durante la fertilización entre el esperma producido por un macho infectado y un óvulo de una hembra no infectada o infectada con una cepa diferente de *Wolbachia*, lo que conduce a la muerte del cigoto en especies diploides, o la formación de machos haploides en especies haplodiploides

(3,7,12). La principal característica de este fenómeno es que las hembras que se encuentran infectadas con la misma cepa de *Wolbachia* que el macho (cepas compatibles), son capaces de suprimir el proceso de incompatibilidad y por tanto asegurar la supervivencia del embrión (12).

La IC cuenta con dos tipos, unidireccional y bidireccional. En la unidireccional, cuando el esperma de un macho infectado por *Wolbachia* fertiliza un óvulo de una hembra no infectada se produce la incompatibilidad y la muerte del embrión, mientras que en el emparejamiento recíproco (macho sin infectar con hembra infectada) es compatible y permite supervivencia de la descendencia. La bidireccional ocurre cuando machos y hembras de la misma especie son hospedadores de distintas cepas de *Wolbachia* que son incompatibles, solamente generando descendencia en los cruces donde coincidan las mismas cepas de *Wolbachia*.(3,11). Hay que comentar que las hembras infectadas siempre son fértiles cuando se aparean con machos no infectados, ya que en este caso no existe incompatibilidad. Así, como se puede apreciar en la figura 2, son las hembras infectadas las que gozan de la ventaja reproductiva al poderse aparear tanto con machos infectados como con no infectados. Como *Wolbachia* es una bacteria de transmisión materna, gracias a la IC se distribuye rápidamente por las poblaciones de insectos (12).

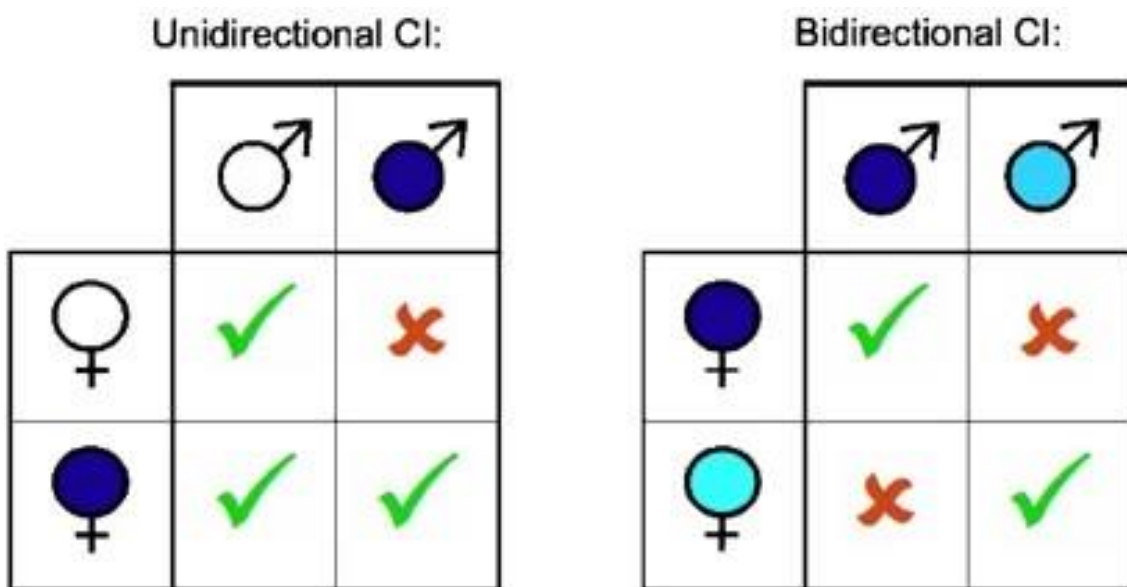


Figura 2: Imagen ilustrativa de los cruces posibles de incompatibilidad citoplasmática uni y bidireccional. Los símbolos coloreados de blanco indican que el individuo no está infectado por *Wolbachia*, mientras que los que están coloreados de azul indican infección con dos cepas distintas de la bacteria. *Extraído de la referencia (18)*

El modelo más aceptado para la explicación de la IC es el de Modificación/Rescate (Mod/Resc), y consta de dos partes: la “modificación del esperma” durante la espermatogénesis en machos infectados por *Wolbachia*, y el “rescate bacteriano” de dicha modificación en el óvulo fertilizado (3,10). La modificación ocurre en los espermatozoides del macho infectado y genera defectos y alteraciones cromosómicas en los mismos mediante proteínas asociadas a la cromatina, produciendo espermatozoides defectuosos. Si el óvulo fecundado por el espermatozoide defectuoso está infectado por la misma cepa de *Wolbachia* (cepa compatible), se da la eliminación (el rescate) de las modificaciones del esperma y se producen embriones viables. Por el contrario, si el óvulo no está infectado o no cuenta con la misma cepa de *Wolbachia*, este rescate no sucede y se produce la muerte embrionaria. Así, una de las características clave de la IC es que el fenotipo de modificación espermática se puede suprimir si los machos infectados se aparean con hembras portadoras de la misma cepa de *Wolbachia* (3,10,12).

Se ha conseguido identificar a los genes efectores de *Wolbachia* de la modificación y el rescate en IC. Se tratan de pares de genes que únicamente se encuentran en cepas de *Wolbachia* inductoras de IC y que están contenidos en secuencias del fago WO de *Wolbachia*. Los genes de los factores de incompatibilidad citoplasmática más estudiados en este aspecto son *cifA* y *cifB* de *wMel*, en *D. melanogaster*; y *cidA* y *cidB* de *wPip*, en *C. pipiens*. En ambos casos, el factor B es el poseedor del efecto tóxico y el encargado de generar las modificaciones cromosómicas en el esperma de los machos infectados, mientras que el factor A actúa como antídoto durante la fase de rescate bacteriano. Se explica así que la IC y su rescate están determinados por una interacción toxina-antídoto, que tienen que ser compatibles para que el rescate se pueda llevar a cabo (7). Además, el hecho de que estos genes de IC estén contenidos en regiones del fago WO de *Wolbachia* ha permitido replicar el fenotipo de IC cuando se expresan transgénicamente en individuos no infectados (7,19).

Si bien los genes efectores han sido identificados, la gran diversidad genética de *Wolbachia* genera la presencia de un complejo repertorio de efectores y de cruces compatibles e incompatibles. En estudios de poblaciones de *Culex pipiens*, que están infectados de manera natural por *Wolbachia*, se puede apreciar este fenómeno. Recientemente se ha establecido una nueva clasificación de las cepas de *Wolbachia* que infectan a *C. pipiens*, dividiéndose en cinco grupos (*wPip* de I a V). Los cruces del mosquito con el mismo grupo de *wPip* eran compatibles, pero para aquellos que

presentaban diferente grupo de *wPip*, a pesar de poseer *Wolbachia* de la misma cepa, el cruce acababa siendo incompatible. Esto saca a relucir la complejidad subyacente de los mecanismos de incompatibilidad citoplasmática (7).

5.3 Bloqueo viral inducido por *Wolbachia*

Hasta hace no mucho, *Wolbachia* era considerada solamente como un manipulador de la reproducción de sus hospedadores. No fue hasta 2008 que se descubrió que esta bacteria protegía a *Drosophila melanogaster* contra virus ARN, e incluso bloquea la replicación de virus como el dengue en mosquitos que lo transmiten (20). Partiendo de estos hallazgos se empezó a investigar en la capacidad de *Wolbachia* de inferir en la susceptibilidad de sus hospedadores frente a agentes patógenos, propiedad ciertamente interesante en aras del control de enfermedades transmitidas por artrópodos.

Los primeros estudios de la protección antiviral inducida por *Wolbachia* rápidamente llegaron a la conclusión de que esta bacteria era capaz de reducir la infección, diseminación y transmisión en mosquitos de virus como los que causan el dengue, chikungunya, fiebre amarilla, Zika y la fiebre del Nilo Occidental, y en moscas generaba la protección frente a virus como el *Flock House* y el virus *Drosophila C*, siendo todos ellos ARN virus. En estudios como los propuestos por Teixeira et al. (2008) y Palmer et al. (2018), se intentó comprobar si esta protección antiviral se aplicaba también a virus ADN, pero no se encontraron evidencias, por lo que la protección de *Wolbachia* frente a virus en insectos parece ser un fenómeno aislado para virus ARN (20–22).

No todas las cepas de *Wolbachia* generan en mismo nivel de protección antiviral, y esta también depende de la densidad del endosimbionte encontrada en el hospedador. La transfección de cepas de *Wolbachia* con la capacidad de protección antiviral en diferentes especies de insectos es una posible estrategia para el control de estas enfermedades virales. Por ejemplo, la cepa *wMelPop*, que es encontrada en la naturaleza como endosimbionte de *D. melanogaster*, se puede transferir a *Aedes aegypti* y generar protección contra diferentes virus ARN. Si bien es cierto que el fenómeno de protección viral ha sido ampliamente estudiado en condiciones de laboratorio, por la transferencia de cepas de *Wolbachia* con esta capacidad a insectos sin el endosimbionte, también lo es que todavía hace falta ampliar las investigaciones para poder comprender la interacción de *Wolbachia* con los virus en poblaciones silvestres (20,23).

El mecanismo exacto de este fenómeno no es bien conocido, pero existen dos hipótesis principales para la explicación de la protección antiviral inducida por *Wolbachia*: la activación de la inmunidad natural del hospedador y la competencia de *Wolbachia* con el virus por los recursos celulares (20).

La primera de ellas sugiere que *Wolbachia* es capaz de activar y potenciar la inmunidad innata del hospedador antes de que se produzca la infección por un virus (20). En mosquitos como *Aedes aegypti* la infección por arbovirus genera la producción de especies reactivas de oxígeno, que activan la respuesta inmune para combatir al virus invasor. Para asegurar la infección, los arbovirus regulan positivamente la expresión de agentes antioxidantes en el mosquito y así neutralizar las especies reactivas de oxígeno y evadir la respuesta inmunitaria (24). Hay evidencia de que la presencia de *Wolbachia* en los tejidos del hospedador, al igual que los arbovirus, genera estrés oxidativo que activa vías inmunitarias, pero las vías activadas difieren según el hospedador. Por ejemplo, en *Aedes aegypti*, el estrés oxidativo generado por *Wolbachia* regula positivamente genes de la vía Toll, responsables de la inmunidad contra el virus del dengue. Por el contrario, en *Anopheles fluviatilis* no hay indicios de la activación de la vía Toll, y son otras vías inmunitarias las que son activadas (20,25,26). La activación inmunitaria no solo protege a los artrópodos de las infecciones virales, sino que también confiere inmunidad frente a nematodos y parásitos como *Plasmodium* (27). Así, por ejemplo, en *Anopheles gambiae*, su *Wolbachia* endosimbionte provoca una regulación al alza de genes inmunitarios relacionados con la protección frente a malaria, reduciendo la infección por *Plasmodium* (24).

La segunda hipótesis está basada en la limitación que puede generar *Wolbachia* en el acceso del virus a los recursos celulares del hospedador cuando existe una coinfección. Los virus ARN frente a los que *Wolbachia* confiere protección precisan de recursos ofrecidos por las células del hospedador, como la integridad de las membranas intracelulares y el mecanismo de traducción proteica del huésped para poder replicar sus proteínas virales. Cualquier interacción de *Wolbachia* con estos componentes celulares supondría una alteración de la replicación viral (20). Uno de los recursos celulares de los que más dependen los virus ARN son los derivados del colesterol, por ser componente fundamental de las membranas celulares. *Wolbachia* se localiza intracelularmente en vesículas relacionadas con el aparato de Golgi, lugar de síntesis de las membranas celulares. Se ha documentado una reducción del 15 al 25% del colesterol total en *Ae.*

aegypti infectados por *wMel*, y al proporcionar sustancias estabilizadoras de colesterol en *Ae. aegypti* portadores del virus del dengue y a su vez infectados por *Wolbachia*, se consigue una restauración de la replicación del virus. Esto demuestra la dependencia de *Wolbachia* y los virus ARN de los lípidos celulares del hospedador, y cómo *Wolbachia*, utilizando parte de dicho colesterol, es capaz de frenar la replicación viral (24).

5.4 *Wolbachia* y nematodos filariales

Como se ha comentado a lo largo de este escrito, existen evidencias de que la relación entre *Wolbachia* y filarias es de mutualismo obligado, a diferencia de lo observado en artrópodos, donde *Wolbachia* es considerada un parásito modificador de la reproducción de sus hospedadores. Así, en la mayoría de nematodos responsables de filariosis humanas, a excepción de *Loa loa*, *Wolbachia* es necesaria para su reproducción, desarrollo y supervivencia (27,28).

Wolbachia parece influir en el desarrollo de los nematodos en sus diferentes fases evolutivas. Nematodos como *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* y *Onchocerca volvulus* albergan *Wolbachia* en todas las etapas de su ciclo vital, variando la densidad de infección según la fase del ciclo. Tomando como ejemplo a *B. malayi*, el punto más bajo de densidad del endosimbionte se observa en microfilarias y estadios larvarios tempranos transmitidos por insectos (L2 y L3). Una vez que el insecto vector transmite las larvas a un mamífero, las poblaciones de *Wolbachia* proliferan para poblar los tejidos somáticos de los gusanos adultos. En las hembras adultas, el número de *Wolbachia* continúa creciendo e infecta el tejido ovárico para transmitirse a los embriones. Parece que la función de *Wolbachia* en el desarrollo filarial consistiría en el aporte de nutrientes y metabolitos esenciales, debido a que los periodos con mayor crecimiento de la población de *Wolbachia* coinciden con el desarrollo larvario y embrionario de las filarias hospedadoras. Este papel también se demuestra por la detención del crecimiento larvario y de la embriogénesis que se produce poco después de la erradicación de *Wolbachia* con tratamiento antibiótico (28).

El rol de *Wolbachia* en la supervivencia de los nematodos filariales no solamente abarca el desarrollo larvario y la embriogénesis, sino que también cuenta con un papel crucial en diferentes vías metabólicas. La comparación de los genomas de *B. malayi* y su *Wolbachia* endosimbionte reveló que los nematodos son dependientes de sus

endosimbiontes en numerosas vías metabólicas, como la síntesis del grupo hemo, riboflavina, nucleótidos y proteínas transportadoras de electrones. Todos estos metabolitos son proporcionados por *Wolbachia* a su hospedador ya que este no puede sintetizarlos *de novo* (28,29). Esta comparación genómica también identificó metabolitos proporcionados a *Wolbachia* por su nematodo hospedador, ya que *Wolbachia* parece incapaz de realizar la síntesis *de novo* de vitaminas y cofactores como la coenzima A, la nicotinamida adenina dinucleótido, la biotina, la ubiquinona, el ácido fólico, el ácido lipóico y el fosfato de piridoxal (28). Todo ello concuerda con el mutualismo existente entre *Wolbachia* y nematodos.

La inmunopatología en las filariosis humanas es extremadamente compleja y muchas de las manifestaciones clínicas dependen del tipo de respuesta inmunitaria contra ellas. El papel de *Wolbachia* en la respuesta inmunitaria frente a las infecciones filariales podría tener que ver con la interacción entre el sistema inmune y patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs, por sus siglas en inglés) de *Wolbachia*, como la proteína de superficie de *Wolbachia* (*wsp* por sus siglas en inglés), y las chaperonas *groEL* y *HSP60*. Estas moléculas provocan principalmente el reconocimiento y la señalización de receptores Toll-like (TLR) 2 y 6 (27). Cuando se produce la muerte de las filarias dentro del hospedador humano, *Wolbachia* es liberada y sus PAMPs son reconocidos por los TLR de las células presentadoras de antígenos, generando la producción de citoquinas proinflamatorias como TNF- α , especies reactivas a oxígeno y reclutamiento de macrófagos, que generan parte de la clínica de las filariosis. Por ejemplo, en la oncocercosis, la activación de TLR-2 produce un aumento de macrófagos que contribuyen a la inflamación y la destrucción corneal, generando uno de los síntomas capitales de la conocida “ceguera de los ríos” (27,29).

Además de la contribución de *Wolbachia* en la inmunopatología de las filarias, también juega un papel defensivo que permite a las filarias adultas sobrevivir en hospedadores inmunocompetentes durante años, estableciendo infecciones crónicas. Estudios *in vitro* de células sanguíneas de pacientes con *O. volvulus* sugirieron que la estimulación crónica de *Wolbachia* podía aumentar la IL-10 y regular negativamente la respuesta inflamatoria, ayudando a perpetuar la infección crónica de la filaria (27). Además, la presencia de *Wolbachia* produce un reclutamiento de neutrófilos que inhibe la eliminación de parásitos adultos mediada por degranulación eosinofílica, confirmando

que *Wolbachia* contribuye a la supervivencia de su nematodo hospedador mediante la evasión del sistema inmunitario del mamífero infectado (7,29).

5.5 Estrategias de control de enfermedades basadas en *Wolbachia*

En la actualidad, las enfermedades tropicales siguen generando un importante impacto sanitario, económico y humanitario para las personas habitantes de zonas endémicas. Entre los años 2000 y 2019, la Organización Mundial de la Salud (OMS) notificó un aumento considerable del número de casos de dengue, pasando de 500000 a 5,2 millones. En 2022 se reportaron 249 millones de casos de paludismo a nivel mundial, de los cuales el 94% estaban concentrados en la región de África (30,31). Estos datos plantean la necesidad de nuevas estrategias de control para enfermedades tropicales como las mencionadas.

-Estrategias de control de enfermedades transmitidas por artrópodos

Los mosquitos pertenecientes a los géneros *Aedes*, *Anopheles* y *Culex* son los principales vectores de agentes productores de enfermedades tropicales humanas, como *Plasmodium* sp., filarias y virus causantes de dengue, chikungunya y zika, y muchos de ellos son portadores de *Wolbachia*. Así, esta bacteria se ha puesto en el punto de mira de la comunidad científica porque posee interesantes capacidades que se pueden explotar en aras del control de enfermedades tropicales transmitidas por artrópodos.

Los arbovirus todavía son hoy en día una amenaza sanitaria creciente. Como ya se ha comentado, el número de casos de dengue ha aumentado en 10 veces entre los años 2000 y 2019, y los brotes de Chikungunya, fiebre amarilla y Zika han aumentado desde el año 2014 (32). A raíz de estos datos, se diseñaron diversas estrategias basadas en *Wolbachia* para el control de las poblaciones de vectores artrópodos, que no solamente servirían para el control de la transmisión de arbovirus, sino también para otras enfermedades transmitidas por vectores artrópodos como las filariosis y la malaria.

Existen variadas estrategias para el control de las poblaciones de artrópodos utilizando *Wolbachia*, que se pueden resumir en dos categorías: la reducción de la población de vectores, y el remplazo de la población de vectores por otra que tenga aptitudes antiparasitarias (33).

La primera estrategia desarrollada es la denominada Técnica de Insectos Incompatibles (TII). Este método se basa en el fenómeno de incompatibilidad citoplasmática inducida por *Wolbachia* en los artrópodos hospedadores, ya que el apareamiento entre machos infectados por *Wolbachia* y hembras no infectadas genera cambios en la embriogénesis y da como resultado descendencia no viable. Así, con la liberación de machos a los que se les ha introducido una cepa de *Wolbachia* inductora de IC mediante transfección es posible reducir la población de los vectores de una zona determinada, disminuyendo por tanto las posibilidades de infección en humanos (32,33). Lo ideal es transferir una cepa de *Wolbachia* cuya incompatibilidad citoplasmática sea del 100%, para asegurar la esterilidad de los machos infectados. Dado que los mosquitos macho no son hematófagos y no transmiten enfermedades por picadura, la liberación extensa o repetitiva de mosquitos macho no supone problemática aparente (33). En este contexto, se ha conseguido transferir con éxito cepas de *Wolbachia* con estas características a mosquitos de los géneros *Aedes*, *Anopheles* y *Culex*, por lo que se podría usar como estrategia para el control de poblaciones de mosquitos que transmitan, no solamente arbovirus, sino también *Plasmodium* y filarias (32).

Uno de los inconvenientes de la técnica de insectos incompatibles es que los métodos de diferenciación de sexo en las poblaciones de mosquitos no son del todo óptimos, por lo que se puede dar la liberación accidental de hembras de mosquitos infectadas con *Wolbachia*. Estas hembras pueden generar descendencia cuando se aparean con machos tanto infectados con *Wolbachia* como con machos no infectados. Esto supondría la propagación de *Wolbachia*, lo que hace que esa cepa se quede obsoleta para la TII, ya que se adquiere compatibilidad entre las hembras y los machos infectados y por tanto no habría una reducción de la población de vectores, sino un reemplazo de la misma (32,34). Para superar este problema se ha propuesto la combinación de la TII con la esterilización mediante radiación de las poblaciones de mosquitos a liberar. Así, las hembras con *Wolbachia* que son liberadas de manera accidental serían de igual manera estériles (32). Un segundo problema de la técnica de insectos incompatibles es que los machos liberados con la cepa de *Wolbachia* no sean lo suficientemente competitivos como para aparearse con las hembras salvajes. En el estudio de Segoli et al. (2014) se probó si la infección por *Wolbachia* disminuía la competitividad reproductiva de machos de *Aedes aegypti* liberados, y se llegó a la conclusión de que esta relación simbiótica no afecta a la competitividad de los machos de *Aedes*. Además, los machos criados en laboratorio

cuentan con un mayor tamaño y mejor nutrición que los salvajes, lo que sugiere una ventaja potencial para la reproducción (35).

Un segundo enfoque del uso de *Wolbachia* es el reemplazo poblacional de los vectores por otra población con factores hereditarios que reduzcan o disminuyan la transmisión de patógenos (32). En este tipo de estrategias se aprovecha la habilidad de *Wolbachia* de dispersarse rápidamente gracias a la incompatibilidad citoplasmática, lo que permite un reemplazo poblacional rápido y efectivo (36).

Como se ha comentado, existen cepas de *Wolbachia* que reducen de manera natural la transmisión de distintos patógenos, bloqueando la replicación de virus como el del dengue o disminuyendo el número de esporozoitos de *Plasmodium* presentes en el mosquito (32). Combinando el reemplazo poblacional mediante IC junto con los efectos deletéreos de *Wolbachia* sobre los patógenos del vector se pueden conseguir poblaciones de mosquitos que no transmitan enfermedades (33).

Los cambios en la replicación del virus del dengue en poblaciones de *Aedes aegypti* portadores de *Wolbachia* sin duda han sido los más estudiados por la comunidad científica (32). El equipo de investigación de Frentiu et al. (2014) liberó en 2011 mosquitos *Ae. aegypti* transfectados con la cepa *wMel* en el campo de Carnis, Australia. Esta cepa de *Wolbachia* es bien conocida por bloquear la replicación del virus del dengue. El objetivo de este experimento fue no solo comprobar la eficacia del bloqueo sino su mantenimiento en el tiempo. Tras un año de la liberación se apreció una replicación viral reducida dentro del mosquito. Además, *Aedes aegypti* infectado por *wMel* también muestra una reducción de la replicación de otros arbovirus como los virus de la fiebre amarilla, zika, chikungunya y del Nilo occidental, por lo que es una estrategia muy prometedora para reducir la transmisión de todas estas enfermedades (37).

Existen también numerosas cepas de *Wolbachia* asociadas con una disminución de la esperanza de vida de sus hospedadores. El virus del dengue, por ejemplo, precisa de dos semanas de incubación en su mosquito vector para ser transmitido. Por tanto, la disminución de la esperanza de vida de los vectores a través de *Wolbachia* es también una estrategia para considerar. Este es el caso de la cepa *wMelPop* o cepa “popcorn” en *Aedes aegypti* (36).

Con el avance y desarrollo de técnicas transgénicas se ha hecho posible la transferencia de genes responsables de la incompatibilidad citoplasmática inducida por

Wolbachia directamente en el genoma del hospedador, pudiendo sacar partido de este fenotipo reproductivo sin necesidad de la presencia de *Wolbachia*. Esto, sumado a otras estrategias como el desarrollo de insectos transgénicos con mayor resistencia a patógenos promete un gran futuro para las estrategias de control vectorial basadas en *Wolbachia* (32,33,36).

-Estrategias de control de filarias

Las filariosis humanas son un grupo de enfermedades causadas por nematodos filariales que dependiendo de la localización del parásito en los tejidos de su hospedador se clasifican en dos tipos principales: filariosis linfáticas, causadas por *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi* y *Brugia timori*; y filariosis subcutáneas, causadas por *Loa loa*, *Mansonella streptocerca* y *Onchocerca volvulus*. Sin duda, las que suponen un mayor problema a nivel mundial, en especial por las invalidantes patologías que producen, son *W. bancrofti*, *B. malayi* y *O. volvulus*. (29).

Estos nematodos son transmitidos a los humanos por mosquitos o moscas vectores que pueden ser hospedadores de *Wolbachia*. Además, los propios nematodos son hospedadores naturales de *Wolbachia*, a excepción de *Loa loa* (29). Los vectores de *W. bancrofti* y *B. malayi* son mayoritariamente mosquitos pertenecientes a los géneros *Culex*, *Aedes* y *Anopheles*, en los cuales la técnica de insectos incompatibles ha sido probada con éxito a través de la transfección de cepas de *Wolbachia* inductoras de IC.

Un ejemplo claro del uso de la técnica de insectos incompatibles en el control de las filarias es la transferencia de una cepa de *Wolbachia* inductora de IC a *Aedes polynesiensis*, que es el principal vector de filarias en el Pacífico sur. En este caso, se genera una IC bidireccional, ya que la cepa de *Wolbachia* utilizada para infectar a *Ae. polynesiensis* presenta incompatibilidad con las cepas que se presentan de manera natural en las poblaciones del mosquito.(36). Cabe destacar el posible uso de la cepa *wMelPop* para disminuir la transmisión de filarias, pues, al igual que en el caso del virus del dengue, el periodo de incubación de las filarias en el artrópodo vector es prolongado, y esta cepa reduce la esperanza de vida del vector (29).

Los actuales tratamientos de las filariasis se basan en pautas con microfilaricidas como el albendazol junto con ivermectina o dietilcarbamazina. A pesar de que estos tratamientos son efectivos y han conseguido reducir el número de casos de filariosis a

nivel global, la larga duración de las pautas y la aparición de nematodos resistentes a la ivermectina han puesto de manifiesto la necesidad de nuevas alternativas de control (27). Los antibióticos *anti-Wolbachia* como las tetraciclinas ya han sido probados para el tratamiento de filariosis, obteniendo resultados positivos. Los nematodos filariales precisan de *Wolbachia* para la embriogénesis y el desarrollo de las microfilarias cuando se encuentran en el humano infectado, por lo que el uso de tetraciclinas bloquea estos procesos vitales, evitando la prosperidad del nematodo. Además, las pautas prolongadas con tetraciclinas han demostrado efectos macrofilaricidas, pudiendo eliminar a gusanos adultos (27,29). Cabe destacar que *Wolbachia* es responsable de parte de los signos y síntomas de las filariosis. Así, la doxiciclina ha mostrado eficacia en la reducción de la patología y del número de microfilarias en pacientes infectados con *W. bancrofti* y *B. malayi*, y también ha sido eficaz como agente macrofilaricida e inhibidor de embriogénesis en pacientes infectados con *O. volvulus* (38).

En el estudio de Bulman et al. (2021) se observó un curioso fenómeno en poblaciones de *Brugia pahangi* infectadas por *Wolbachia* cuando se le administraban tratamientos contra su endosimbionte. Los tratamientos *anti-Wolbachia* utilizados en este experimento fueron doxiciclina, rifampicina, minociclina y tetraciclina a dosis variables. El fenómeno es conocido como “Efecto Eagle”, y consiste en que altas concentraciones de antibióticos se correlacionan con títulos más elevados de la bacteria, mientras que concentraciones bajas de los mismos antibióticos conducen a la muerte de *Wolbachia* y por tanto a la disminución de los títulos de la bacteria. Este efecto contraintuitivo ha sido descrito anteriormente en bacterias como *Staphylococcus aureus*, pero parece que este es el primer caso descrito en la relación de un nematodo del género *Brugia* con *Wolbachia*. Este fenómeno es una variable a tener en cuenta para investigaciones futuras en los tratamientos anti-filariales. (38)

Las tetraciclinas, a pesar de ser fármacos *anti-Wolbachia* eficaces, tienen un uso limitado en niños, embarazadas y madres lactantes, lo que lleva a la necesidad de encontrar nuevos fármacos contra la *Wolbachia* para cubrir estos sectores de la población. Con este objetivo se creó el Consorcio *Anti-Wolbachia* (A-WOL), que se dedica a identificar potenciales dianas terapéuticas de *Wolbachia*, así como sintetizar nuevos fármacos contra esas dianas (27,33).

-Estrategias de control de Malaria

El paludismo o malaria es hoy en día la enfermedad parasitaria más prevalente en seres humanos, siendo la cifra de infectados en 2022 de 249 millones (31). Las medidas más eficaces para el control de esta enfermedad han sido la utilización de derivados de la artemisinina para el tratamiento, y el uso de insecticidas para el control vectorial, pero con la aparición de cepas de *Plasmodium* multirresistentes y de mosquitos resistentes a insecticidas ha surgido la necesidad de nuevas herramientas para el control de esta enfermedad. El control de malaria basado en *Wolbachia* comprende una prometedora estrategia para ayudar a detener la propagación de esta enfermedad (34).

Las dos principales características de *Wolbachia* que se pueden explotar en el control del paludismo son la capacidad de inducir incompatibilidad citoplasmática y la inhibición de patógenos a través de la modulación del sistema inmune de los mosquitos. Así, se han desarrollado dos principales estrategias: 1) la utilización de la IC para exterminar poblaciones de mosquitos, reduciendo las posibilidades de transmisión, y 2) el aprovechamiento de la capacidad de *Wolbachia* para bloquear la transmisión de *Plasmodium* mientras se encuentra en desarrollo dentro del mosquito vector. (34)

La técnica de insectos incompatibles ya comentada es una de las posibles estrategias a utilizar para disminuir la transmisión de malaria. Los apareamientos no viables que aparecen por incompatibilidad citoplasmática desembocan en una reducción significativa de la población de mosquitos en el área donde se introdujeron los machos infectados (10,34).

Este modelo ha tenido éxito en ensayos de campo para el control de poblaciones de *Aedes*, pero los vectores principales de *Plasmodium sp.* son los mosquitos del género *Anopheles*. *Wolbachia* no parece formar relaciones estables con los mosquitos *Anopheles*, por lo que esta estrategia estaría limitada para el control de la malaria (34). Se conoce que los responsables de la modificación/rescate de la IC inducida por *Wolbachia* son los genes *cifA* y *cifB*, encontrados en la región profago WO de *Wolbachia*. Adams et al. (2021) plantearon la hipótesis de que los genes *cifB* y *cifA* por si solos eran capaces de inducir IC sin necesidad de que los mosquitos estuviesen infectados por *Wolbachia*. A través de la transmisión de genes *cif* de *wPip* a poblaciones de *Anopheles gambiae*, se demostró que la expresión de *cifB* era suficiente para originar la letalidad embrionaria de la IC, lo

que permite utilizar esta estrategia en el control de poblaciones de mosquitos *Anopheles* (39).

Como ya se ha comentado, la técnica de insectos incompatibles cuenta con el problema de liberación accidental de hembras infectadas por *Wolbachia*, cuya solución es la esterilización a través de radiación de las poblaciones de mosquitos a liberar (34).

La segunda estrategia es una técnica basada en el remplazo de una población de mosquitos por otra infectada con *Wolbachia* que le confiera aptitudes de bloqueo de *Plasmodium*. Esta estrategia consiste en aprovechar los efectos nocivos que presenta *Wolbachia* frente a los esporozoitos de *Plasmodium* que se encuentran en el mosquito, reduciendo su número de manera significativa. *Wolbachia* es capaz de actuar en la modulación de genes *anti-Plasmodium* en *Anopheles stephensi*, entre los que destacan TEP1, LRIM1, el gen de la vía Toll Rel1 y el efector Defensina 1, disminuyendo la carga de *Plasmodium* que porta el mosquito y por tanto reduciendo su transmisión (34,40). Esta estrategia también sirve para resolver en cierta manera la problemática de la liberación accidental de hembras infectadas por *Wolbachia* de la técnica de insectos incompatibles. Al poseer *Wolbachia* la capacidad intrínseca de modular la inmunidad del mosquito vector, aunque haya hembras liberadas de manera accidental, todavía podrían servir para el control de la malaria (34). En la Figura 3 se puede apreciar un esquema de cómo se aplicarían estas técnicas en conjunto para la malaria.

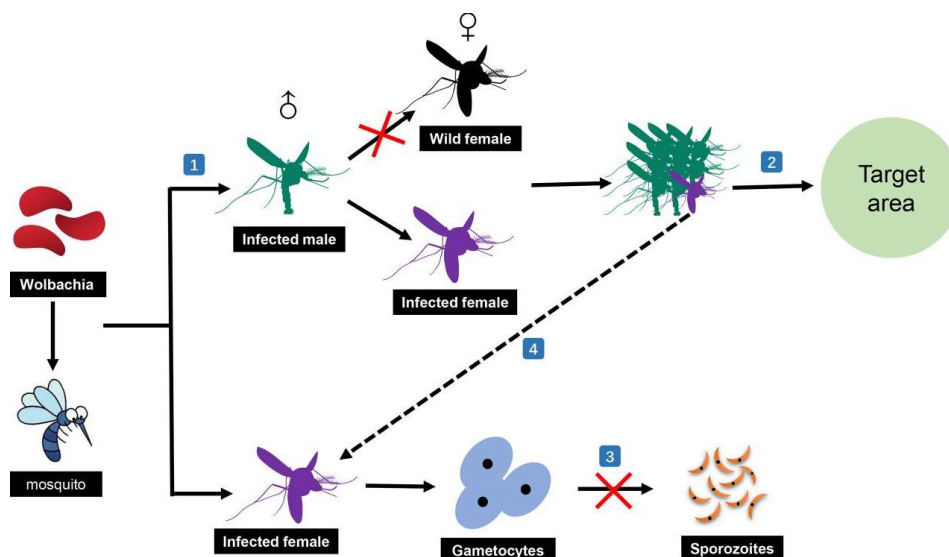


Figura 3: Esquema de las estrategias basadas en *Wolbachia* contra la malaria. 1) Esterilidad de los machos por incompatibilidad citoplasmática. 2) Liberación de los machos infectados. 3) Eliminación de esporozoitos de *Plasmodium* mediado por *Wolbachia*. 4) Las hembras aún pueden eliminar esporozoitos gracias a *Wolbachia*. Extraído de la referencia (34)

6. Conclusiones

- *Wolbachia* es un género de bacterias endosimbiontes intracelulares que infecta a numerosas especies de artrópodos y nematodos a nivel global. Esta amplia distribución se debe a la capacidad de transmisión vertical mediante herencia materna y la transmisión horizontal de la bacteria entre insectos de la misma generación.
- *Wolbachia* posee la capacidad de generar fenotipos reproductivos para favorecer su permanencia en las poblaciones de insectos. Entre los diferentes fenotipos inducidos por *Wolbachia* destacan la incompatibilidad citoplasmática, la partenogénesis, el androcidio y la feminización.
- *Wolbachia* es capaz de influir en la replicación de diferentes virus de trascendencia médica dentro de sus vectores artrópodos, como son el virus del dengue, el virus Chikungunya, el virus Zika y el virus del Nilo Occidental.
- Se ha demostrado que este grupo de bacterias influye en la inmunopatología de las filariosis humanas, y por tanto es responsable de parte de los signos y síntomas que aparecen en estas enfermedades.
- Entre las estrategias de control vectorial basadas en *Wolbachia* desarrolladas para enfermedades tropicales transmitidas por artrópodos como la malaria, los arbovirus y las filariosis, destacan la técnica de mosquitos incompatibles y el reemplazo de la población de vectores por otra con aptitudes antiparasitarias como el bloqueo viral.
- La evolución y desarrollo de herramientas transgénicas suponen un prometedor método de control vectorial, al permitir introducir genes específicos de incompatibilidad citoplasmática inducida por *Wolbachia* en diferentes vectores, así como la creación de vectores con resistencia ante patógenos, evitando la transmisión a humanos.

7. Bibliografía

1. ASALE R, RAE. «Diccionario de la lengua española» - Edición del Tricentenario. [citado 14 de febrero de 2024]. simbiosis | Diccionario de la lengua española. Disponible en: <https://dle.rae.es/simbiosis>
2. Perreau J, Moran NA. Genetic Innovations in Animal-Microbe Symbioses. *Nat Rev Genet.* enero de 2022;23(1):23-39.
3. Tortuero EG, Pérez FDM. Consecuencias evolutivas y biológicas causadas por bacterias del género *Wolbachia* en artrópodos. *SEA.* 2010;(46):189-202.
4. Fallon AM. Growth and Maintenance of *Wolbachia* in Insect Cell Lines. *Insects.* 6 de agosto de 2021;12(8):706.
5. Lefoulon E, Clark T, Borveto F, Perriat-Sanguinet M, Moulia C, Slatko BE, et al. Pseudoscorpion *Wolbachia* symbionts: diversity and evidence for a new supergroup S. *BMC Microbiol.* 30 de junio de 2020;20:188.
6. Hoerauf A, Rao RU, Hörauf A, editores. *Wolbachia: a bug's life in another bug.* 1. Aufl. Basel Freiburg: Karger; 2007. 150 p. (Issues in infectious diseases).
7. Landmann F. The *Wolbachia* Endosymbionts. *Microbiol Spectr.* marzo de 2019;7(2).
8. Baldo L, Dunning Hotopp JC, Jolley KA, Bordenstein SR, Biber SA, Choudhury RR, et al. Multilocus Sequence Typing System for the Endosymbiont *Wolbachia pipientis*. *Appl Environ Microbiol.* noviembre de 2006;72(11):7098-110.
9. Bordenstein SR, Wernegreen JJ. Bacteriophage Flux in Endosymbionts (*Wolbachia*): Infection Frequency, Lateral Transfer, and Recombination Rates. *Mol Biol Evol.* 1 de octubre de 2004;21(10):1981-91.
10. Werren JH, Baldo L, Clark ME. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nat Rev Microbiol.* octubre de 2008;6(10):741-51.
11. Werren JH. BIOLOGY OF *WOLBACHIA*. *Annu Rev Entomol.* enero de 1997;42(1):587-609.
12. Serbus LR, Casper-Lindley C, Landmann F, Sullivan W. The genetics and cell biology of *Wolbachia*-host interactions. *Annu Rev Genet.* 2008;42:683-707.
13. Clark ME, Veneti Z, Bourtzis K, Karr TL. La distribución y proliferación de la bacteria intracelular *Wolbachia* durante la espermatogénesis en *Drosophila*. *Mech Dev.* 1 de febrero de 2002;111(1):3-15.
14. Pfarr KM, Hoerauf A. A niche for *Wolbachia*. *Trends Parasitol.* enero de 2007;23(1):5-7.
15. Sanaei E, Charlat S, Engelstädter J. *Wolbachia* host shifts: routes, mechanisms, constraints and evolutionary consequences. *Biol Rev Camb Philos Soc.* abril de 2021;96(2):433-53.

16. Vavre F, Fleury F, Lepetit D, Fouillet P, Boulétreau M. Phylogenetic evidence of horizontal transmission of *Wolbachia* in host–parasitoid associations. *Mol Biol Evol.* 1 de enero de 2000;16:1711-23.
17. Hughes GL, Rasgon JL. Transinfection: a method to investigate *Wolbachia*-host interactions and control arthropod-borne disease. *Insect Mol Biol.* abril de 2014;23(2):141-51.
18. Engelstädter J, Telschow A. Cytoplasmic incompatibility and host population structure. *Heredity.* septiembre de 2009;103(3):196-207.
19. LePage DP, Metcalf JA, Bordenstein SR, On J, Perlmutter JI, Shropshire JD, et al. Prophage WO Genes Recapitulate and Enhance *Wolbachia*-induced Cytoplasmic Incompatibility. *Nature.* 9 de marzo de 2017;543(7644):243-7.
20. Pimentel AC, Cesar CS, Martins M, Cogni R. The Antiviral Effects of the Symbiont Bacteria *Wolbachia* in Insects. *Front Immunol.* 2020;11:626329.
21. Palmer WH, Medd NC, Beard PM, Obbard DJ. Isolation of a natural DNA virus of *Drosophila melanogaster*, and characterisation of host resistance and immune responses. *PLoS Pathog.* junio de 2018;14(6):e1007050.
22. Teixeira L, Ferreira Á, Ashburner M. The Bacterial Symbiont *Wolbachia* Induces Resistance to RNA Viral Infections in *Drosophila melanogaster*. *PLoS Biol.* diciembre de 2008;6(12):e1000002.
23. Zug R, Hammerstein P. Bad guys turned nice? A critical assessment of *Wolbachia* mutualisms in arthropod hosts. *Biol Rev Camb Philos Soc.* febrero de 2015;90(1):89-111.
24. Reyes JIL, Suzuki Y, Carvajal T, Muñoz MNM, Watanabe K. Intracellular Interactions Between Arboviruses and *Wolbachia* in *Aedes aegypti*. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021;11:690087.
25. Pan X, Zhou G, Wu J, Bian G, Lu P, Raikhel AS, et al. *Wolbachia* induces reactive oxygen species (ROS)-dependent activation of the Toll pathway to control dengue virus in the mosquito *Aedes aegypti*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 3 de enero de 2012;109(1):E23-31.
26. Caragata EP, Pais FS, Baton LA, Silva JBL, Sorgine MHF, Moreira LA. The transcriptome of the mosquito *Aedes fluviatilis* (Diptera: Culicidae), and transcriptional changes associated with its native *Wolbachia* infection. *BMC Genomics.* 3 de enero de 2017;18(1):6.
27. Manoj RRS, Latrofa MS, Epis S, Otranto D. *Wolbachia*: endosymbiont of onchocercid nematodes and their vectors. *Parasit Vectors.* 7 de mayo de 2021;14(1):245.
28. Taylor MJ, Voronin D, Johnston KL, Ford L. *Wolbachia* filarial interactions. *Cell Microbiol.* abril de 2013;15(4):520-6.

29. Genchi C, Kramer LH, Sasser D, Bandi C. *Wolbachia* and its implications for the immunopathology of filariasis. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. marzo de 2012;12(1):53-6.
30. Dengue – Situación mundial [Internet]. [citado 15 de mayo de 2024]. Disponible en: <https://www.who.int/es/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON498>
31. Paludismo [Internet]. [citado 15 de mayo de 2024]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/malaria>
32. Wang GH, Gamez S, Raban RR, Marshall JM, Alphey L, Li M, et al. Combating mosquito-borne diseases using genetic control technologies. *Nat Commun*. 19 de julio de 2021;12(1):4388.
33. Slatko BE, Luck AN, Dobson SL, Foster JM. *Wolbachia* endosymbionts and human disease control. *Mol Biochem Parasitol*. 1 de julio de 2014;195(2):88-95.
34. Yu S, Wang J, Luo X, Zheng H, Wang L, Yang X, et al. Transmission-Blocking Strategies Against Malaria Parasites During Their Mosquito Stages. *Front Cell Infect Microbiol*. 2022;12:820650.
35. Segoli M, Hoffmann AA, Lloyd J, Omodei GJ, Ritchie SA. The Effect of Virus-Blocking *Wolbachia* on Male Competitiveness of the Dengue Vector Mosquito, *Aedes aegypti*. Benedict MQ, editor. *PLoS Negl Trop Dis*. 11 de diciembre de 2014;8(12):e3294.
36. Brelsfoard CL, Dobson SL. *Wolbachia*-based strategies to control insect pests and disease vectors. 2009;17.
37. Frentiu FD, Zakir T, Walker T, Popovici J, Pyke AT, Van Den Hurk A, et al. Limited Dengue Virus Replication in Field-Collected *Aedes aegypti* Mosquitoes Infected with *Wolbachia*. Turell MJ, editor. *PLoS Negl Trop Dis*. 20 de febrero de 2014;8(2):e2688.
38. Bulman CA, Chappell L, Gunderson E, Vogel I, Beerntsen B, Slatko BE, et al. The Eagle effect in the *Wolbachia*-worm symbiosis. *Parasit Vectors*. 24 de febrero de 2021;14(1):118.
39. Adams KL, Abernathy DG, Willett BC, Selland EK, Itoe MA, Catteruccia F. *Wolbachia* cifB induces cytoplasmic incompatibility in the malaria mosquito vector. *Nat Microbiol*. diciembre de 2021;6(12):1575-82.
40. Kambris Z, Blagborough AM, Pinto SB, Blagrove MSC, Godfray HCJ, Sinden RE, et al. *Wolbachia* stimulates immune gene expression and inhibits plasmodium development in *Anopheles gambiae*. *PLoS Pathog*. 7 de octubre de 2010;6(10):e1001143.