

¿Cómo los parásitos y mosquitos se las ingenian para resistir al control?

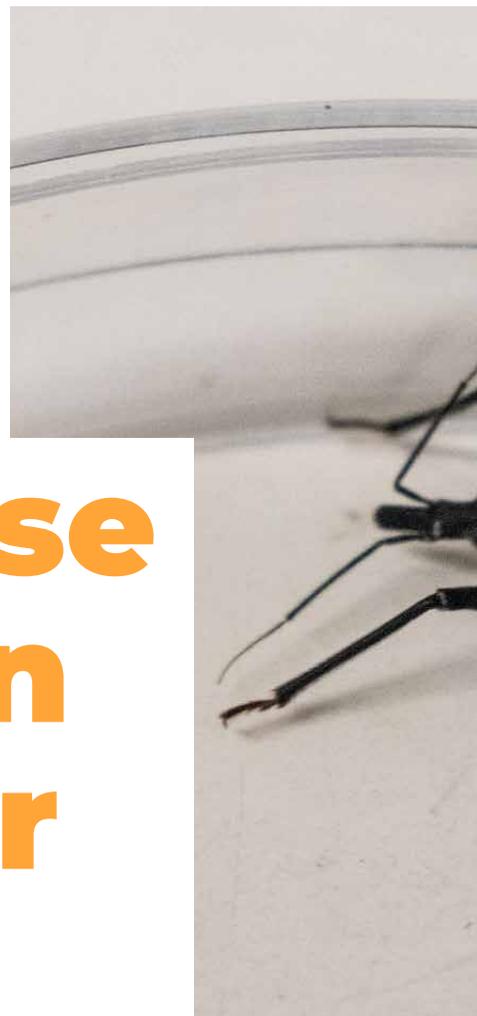
La aventura científica del Grupo BCEI

Omar Triana Chávez

Licenciado en Biología y Química, doctor en Ciencias Básicas Biomédicas, profesor del Instituto de Biología, FCEN, Universidad de Antioquia.

Ana María Mejía Jaramillo

Bióloga, doctora en Biología, investigadora del Grupo Biología y Control de Enfermedades Infecciosas —BCEI—, Universidad de Antioquia.





Insecto adulto de *Triatoma dimidiata* responsable de la transmisión del parásito *Trypanosoma cruzi* causante de la enfermedad de Chagas. Este insecto se encuentra distribuido en muchas regiones de Colombia.

Muchas de las enfermedades que afectan a la población colombiana, como el dengue, la enfermedad de Chagas o la leishmaniasis, son causadas por microorganismos que llegan a los seres humanos a través de ciertos animales, principalmente insectos. Estos son conocidos como vectores, y su estudio, que es la razón de ser del Grupo Biología y Control de Enfermedades Infecciosas —BCEI—, es fundamental para desarrollar estrategias efectivas que protejan a las poblaciones vulnerables sin deteriorar los ecosistemas.

Todos conocemos esa sensación. Estando en una zona cálida del país, o en una zona rural con frondosa vegetación, sentimos que un insecto se posa sobre nuestra piel y, segundos después, vemos la picadura. Nos alarma, y pensamos que podríamos enfermarnos. La ciencia nos ha permitido saber que la enfermedad no la causa el insecto, sino un microorganismo que se transporta en él. El insecto es el *vector*, un transmisor, puente entre el microorganismo que nos enferma, llamado *patógeno*, y el animal (que puede ser un humano) que sufre la enfermedad, denominado *hospedero*.

El insecto vector, el patógeno y el hospedero forman una triada que interactúa, y estas relaciones han sido el interés de estudio de muchos grupos de investigación de nuestro país y del mundo. Colombia es uno de los países más afectados por las enfermedades transmitidas por vectores, conocidas como ETV; por sus condiciones socioeconómicas, climáticas, culturales y de pobreza, reúne las condiciones propicias para el crecimiento de esta clase de insectos.



Foto | De izquierda a derecha: 1. Montaje de insectos triatominos transmisores del parásito *Trypanosoma cruzi*. 2. Montaje de insectos adultos macho y hembra del vector *Aedes aegypti* transmisor del virus dengue. 3. Larvas del insecto *Aedes aegypti*. 4. Realización de procesos moleculares para el estudio de la resistencia.

Las medidas de control para las ETV en Colombia se enfocan principalmente en el manejo de las poblaciones de insectos vectores mediante el uso de insecticidas. Además, el tratamiento farmacéutico para algunas de estas enfermedades es muy limitado y se siguen utilizando medicamentos que se desarrollaron hace más de 50 años y que presentan efectos colaterales y muchas limitaciones.

A pesar de que existen programas de control y tratamiento para estas enfermedades, tanto insectos como parásitos tienen la capacidad de resistir y se las ingenian para sobrevivir y modificar tanto su comportamiento como sus características biológicas, para así no dejarse eliminar. Esta capacidad para sobrevivir o tolerar las concentraciones de un medicamento, para el caso de un parásito, o de un insecticida, para el caso de los mosquitos, la conocemos como *resistencia*.

Cómo se las ingenian los parásitos y los insectos para hacerse resistentes y no dejarse eliminar, es el tema de estudio del Grupo Biología y Control de Enfermedades Infecciosas —BCEI— de la Universidad de Antioquia.

Tres décadas estudiando los vectores, patógenos y hospederos

La enfermedad de Chagas y el dengue son dos ETV que afectan a un gran número de personas en nuestro país. En esta historia les contaremos cómo en el grupo de investigación estudiamos en ambas enfermedades los mecanismos que utilizan el parásito *Trypanosoma cruzi*, que causa la enfermedad de Chagas, y el mosquito *Aedes aegypti*, para resistir al control y su eliminación.

La aventura del BCEI comenzó en 1989 por iniciativa del biólogo Jaime Moreno Mejía, quien pretendía investigar las formas como se transmitía la enfermedad de Chagas en las regiones de Antioquia, especialmente en los munic-



pios de San Carlos y Amalfi. Allí, con su equipo, pudo identificar el insecto vector de esta enfermedad y oficializar los primeros proyectos ante Colciencias.

Desde entonces, el grupo de investigación ha recorrido diversidad de territorios colombianos, y en la actualidad tenemos una colección biológica de mosquitos, insectos y parásitos, para estudiar la biología, su capacidad vectorial y el comportamiento ante situaciones adversas como es la exposición a una droga. Algo que nos apasiona es saber cómo los mosquitos y los parásitos ganan resistencia a los tratamientos para seguir siendo exitosos biológicamente, para no desaparecer.

Para ello nos hemos alimentado con todos estos años de experiencia y de momentos clave. Uno de ellos fue cuando el director del grupo, Omar Triana

Chávez, viajó a Brasil a hacer su posdoctorado en el mayor centro de investigación en la enfermedad de Chagas, el Instituto Oswaldo Cruz, denominado así precisamente en homenaje al primer gran investigador en el tema.

Esta experiencia dio origen a una nueva era en el grupo, con el diseño de proyectos en el campo de las llamadas «ómicas»: transcriptómica, genómica y proteómica, con lo cual ingresamos en el mundo de la genómica funcional. A partir del 2009 hubo un incremento sustancial en nuestras capacidades: nuevos estudiantes, más publicaciones y más trabajo con la comunidad, por lo que se creció la familia BCEI y se fortaleció la colaboración con otros grupos de investigación de la UdeA, del país y de Suramérica.

Este enriquecimiento se complementó diez años después con otra oportunidad personal, cuando la bióloga Ana María Mejía viajó a realizar un posdoctorado en la Universidad de Laval en Quebec, Canadá, experiencia con la que, al volver, implementó una nueva línea de investigación en el uso del sistema de edición genómica para el estudio de la funcionalidad génica en parásitos y mosquitos de importancia médica y económica. Esta nueva perspectiva nos abrió la oportunidad para nuevos proyectos de investigación en el grupo, y podemos decir que somos de los pocos grupos que tenemos desarrollado este sistema en el país.

Caso *Trypanosoma cruzi*

Comprender el fenómeno de la resistencia a medicamentos en *Trypanosoma cruzi*, parásito causante de la enfermedad de Chagas, ha sido una prioridad de nuestro grupo de investigación.

Para entender la susceptibilidad del parásito a los medicamentos usados en nuestro país para el tratamiento de la enfermedad, el benznidazol y el nifurtimox, hemos realizado varias investigaciones. Al inicio, colectamos cepas de *T. cruzi* tomadas de hospederos vertebrados e invertebrados de diferentes áreas geográficas de Colombia y las expusimos a diferentes concentraciones del fármaco para identificar la concentración efectiva. Los resultados fueron sorprendentes, pues mostraron que el 25 % de las cepas eran susceptibles al benznidazol, mientras el resto se mostraron mediana o altamente resistentes al fármaco.

Con las cepas resistentes planteamos algunos proyectos para dilucidar los mecanismos que utiliza el parásito para tolerar el medicamento. En una primera aproximación, indujimos la resistencia mediante la exposición de las cepas

«Ómica» es el sufijo para referirse a las diferentes disciplinas que exploran el conjunto de información genética y molecular de un organismo, por ejemplo, todos sus genes o sus proteínas, así como sus interacciones y funciones.

a concentraciones crecientes del medicamento y comparamos en cada una de las etapas cómo se expresaban los genes en parásitos expuestos y no expuestos. A esto lo llamamos *resistencia inducida*.

Adicionalmente, comparamos la expresión diferencial de genes entre parásitos que desarrollaron resistencia natural y parásitos susceptibles al fármaco, pudimos identificar algunos genes que el *T. cruzi* expresa naturalmente para llegar a ser resistente. Luego comparamos los genes involucrados en la resistencia natural con los de la resistencia inducida. Así, hoy sabemos que este parásito que causa la enfermedad de Chagas manifiesta su resistencia mediante diferentes mecanismos. Por ejemplo, el parásito gana mutaciones en el gen que codifica una enzima clave en la activación del medicamento: la nitroreductasa-I.



Foto | Estado de desarrollo inmaduro del mosquito *Aedes aegypti* conocido como larvas, las cuales se desarrollan y transforman en otros estadios en fuentes de agua limpia acumulada en floreros, llantas y otros recipientes.

A partir de estos descubrimientos, decidimos profundizar, en varios proyectos, las diferencias entre las cepas aisladas y su resistencia a los medicamentos, utilizando las técnicas ómicas que conocimos en los diferentes posdoctorados e intercambios. En un principio usamos la transcriptómica para evaluar parte del material genético (el RNA) de parásitos susceptibles y resistentes, y comparamos los genes que se habían expresado diferencialmente. Asimismo, comparamos sus perfiles proteómicos (el registro de todas las proteínas del parásito) y nos encontramos con genes que estaban sobreexpresados en los parásitos resistentes, es decir, se elaboraban demasiadas copias de la proteína que debían generar.

De estos resultados se destacan la disminución en la expresión del gen denominado NTR-I y la sobreexpresión de los genes AKR y ADH, ambos involucrados en el procesamiento del fármaco en el organismo. También se regularon positivamente genes relevantes para la reparación del ADN y síntesis de nucleótidos, así como otros que participan en el transporte de sustancias a través de la membrana plasmática.

Con el fin de determinar el papel real de estos genes en la resistencia del parásito al medicamento, modificamos las cepas susceptibles con ingeniería genética para analizar el efecto sobre la resistencia. Así, encontramos que la sobreexpresión del gen NTR-I hizo que los parásitos sean más susceptibles. Por el contrario, la eliminación de este gen hizo que los parásitos, como se esperaba, fueran más resistentes

al medicamento, lo que también era causado por la sobreexpresión de los genes ADH y AKR.

Con este panorama de genes diferencialmente expresados, el grupo de investigación ha propuesto las posibles rutas bioquímicas que son activadas por el parásito para responder a la exposición a este medicamento.

Caso del mosquito *Aedes aegypti*

El mosquito *Aedes aegypti* es responsable de la transmisión de los virus del dengue, el zika, el chikungunya, la fiebre amarilla y otros. En nuestro laboratorio tenemos más de 15 poblaciones de mosquitos provenientes de diferentes regiones de Colombia.

El control de estos mosquitos se hace tradicionalmente con insecticidas. Sin embargo, es bien conocido que los mosquitos desarrollan resistencia a estos insecticidas.

Durante los últimos años, el Grupo BCEI ha estudiado la resistencia de estos mosquitos a unos agentes insecticidas

llamados piretroides. Los mosquitos tienen diferentes estrategias para escapar al control realizado con agentes químicos. En primer lugar, se generan mutaciones en ciertos genes que son blanco de los insecticidas, de manera que estos insecticidas ya no son capaces de unirse a las proteínas codificantes por estos genes y pierden efectividad. El caso más estudiado son las mutaciones en el gen del canal de sodio, que impide que los piretroides se unan, lo que genera resistencia del mosquito.

Asimismo, los mosquitos tienen la capacidad de alterar la actividad enzimática de proteínas metabólicas. Entre estas conocemos las enzimas esterasas y glutatión s-trasferasas, que aumentan su expresión a medida que los mosquitos se tratan con los insecticidas. Otra alternativa es alterar el grosor de la capa más exterior que recubre al insecto, la cutícula, pues los mosquitos activan nuevos genes y sintetizan proteínas cuticulares que hacen que la protección del insecto sea mayor al contacto con el insecticida.

Con estudios genéticos, se puede identificar cuáles son los mecanismos que desarrollan los parásitos y los insectos para resistir los efectos de los medicamentos o los insecticidas

Y no podemos dejar de lado el papel de la microbiota intestinal de los mosquitos en la respuesta a los insecticidas, pues es bien sabido que algunos grupos de bacterias presentes en el intestino de los mosquitos son capaces de metabolizar los insecticidas, haciendo que su acción se vea afectada.

En varios proyectos hemos comparado grupos de mosquitos que expresan resistencia a los insecticidas con otros grupos que sí son susceptibles. Observamos que en el intestino de los mosquitos resistentes prevalecían algunos grupos de bacterias importantes en el metabolismo de sustancias externas. Pero cuando a los mosquitos resistentes se les elimina la flora bacteriana mediante antibióticos, se vuelven de nuevo susceptibles a los insecticidas.



Foto | Análisis molecular de las diferentes mutaciones presentes en los genes del parásito *Trypanosoma cruzi* y del insecto *Aedes aegypti* como mecanismo para resistir a la acción de los medicamentos y los insecticidas, respectivamente.



Los mosquitos tienen bacterias en sus intestinos que les ayudan a metabolizar los insecticidas, haciendo que pierdan efectividad.

Foto | Experimentación con mosquitos adultos de *Aedes aegypti* para determinar su grado de resistencia a insecticidas y los mecanismos que usa para volverse resistente.

El desarrollo y estandarización de técnicas de edición genética, como la CRISPR-cas9, nos ha permitido determinar de manera más clara la participación de algunos genes en la expresión de resistencia a medicamentos. Es así como, con el uso de esta tecnología,

se eliminó el gen NTR-I de los parásitos susceptibles, con lo cual estos ganaron resistencia a los medicamentos usados para el tratamiento.

En un futuro, el grupo realizará la secuenciación masiva de genomas y transcriptomas de diferentes cepas del *T. cruzii* resistentes al medicamento y los comparará con parásitos susceptibles, para identificar otros genes involucrados en la expresión de resistencia. En cuanto a los mosquitos, esperamos identificar nuevas mutaciones y modificaciones

epigenéticas que permiten la resistencia.

Sin lugar a duda, hay muchas cosas aún por investigar, y existen otros mecanismos adicionales que todavía no conocemos. Por ejemplo, en muchos organismos la expresión de genes en respuesta a cambios ambientales hace que ganen resistencia a diferentes medicamentos. También queremos entender los cambios comportamentales de los mosquitos ante el insecticida, pues estos, ante la presencia del químico, alteran su comportamiento y se alejan de la sustancia.

Este conocimiento es fruto de la labor de tres décadas en el BCEI, y basados en este recorrido confiamos en que podremos apoyar estrategias efectivas de control de patógenos y vectores, esencial para mejorar la calidad de vida en las regiones de Antioquia y de toda Colombia. ✕