

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

EL FLUJO GENÉTICO ENTRE POBLACIONES DE *Aedes aegypti* PROVENIENTES
DE AMÉRICA CENTRAL, MÉXICO Y EL CARIBE
Y LA RELACIÓN ENTRE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE ÉSTAS Y SU
SUSCEPTIBILIDAD AL VIRUS DE DENGUE

Sandra Eugenia Rosales Aldana

Guatemala
2006

EL FLUJO GENÉTICO ENTRE POBLACIONES DE *Aedes aegypti* PROVENIENTES
DE AMÉRICA CENTRAL, MÉXICO Y EL CARIBE
Y LA RELACIÓN ENTRE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE ÉSTAS Y SU
SUSCEPTIBILIDAD AL VIRUS DE DENGUE

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades

EL FLUJO GENÉTICO ENTRE POBLACIONES DE *Aedes aegypti* PROVENIENTES
DE AMÉRICA CENTRAL, MÉXICO Y EL CARIBE
Y LA RELACIÓN ENTRE LA VARIABILIDAD GENÉTICA DE ÉSTAS Y SU
SUSCEPTIBILIDAD AL VIRUS DE DENGUE

Trabajo de investigación presentado para optar al grado académico de
Licenciada en Bioquímica y Microbiología

Guatemala
2006

Vo. Bo.

(f) _____

Tribunal:

(f) _____

(f) _____

(f) _____

Fecha de aprobación: viernes, 23 de junio de 2006.

PREFACIO

Para colocarse en un buen puesto de trabajo, es mejor si se tiene experiencia previa. Pero para tener experiencia, hace falta haber trabajado antes. Con esta motivación, he llegado en ocasiones a trabajar incluso *ad honorem*. Así fue como llegué en búsqueda de experiencia al laboratorio de Biología Molecular de Vectores dirigido por la Lda. Ana María de Mérida (Centro de Estudios en Salud-CDC-CAP, UVG). Tuve entonces, no sólo la oportunidad de aprender y trabajar en un proyecto, sino también de elaborar este trabajo de graduación para optar al grado académico de Licenciatura en Bioquímica y Microbiología. El proyecto fue ejecutado gracias al financiamiento de UNICEF/UNDP/World Bank/WHO Special Program for Research on Tropical Diseases (TDR). En este estudio participaron varias personas: Lda. Ana María de Mérida, Dra. María Eugenia Morales-Betoulle, Lda. Eduviges Molina de Archilla, Lda. María René López, Dr. Álvaro Molina Cruz, y la autora de este trabajo. Otra participación significativa fue la del Dr. William C. Black IV, quien asistió como consultor desde Colorado State University.

Agradezco al equipo de trabajo que realizó una excelente labor en un ambiente lleno de positivismo, aún ante los problemas técnicos que tuvimos. También estoy agradecida con mis amigos, Brenda Rosmundo, Olivia Beteta y Luis Roque, por el apoyo que recibí de ellos durante los años de estudio. Este trabajo se lo dedico a Dios, quien lo hizo todo posible y a mis padres, Rudy Isaías Rosales y María Eugenia de Rosales, quienes impulsaron, incluso con sacrificios, mi formación profesional.

CONTENIDO

	Página
PREFACIO.....	ii
LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE CUADROS.....	vii
LISTA DE GRÁFICAS.....	ix
RESUMEN.....	x
Capítulos	
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	4
A. Generalidades sobre el dengue.....	4
1. Enfermedad de dengue.....	4
2. Diagnóstico.....	5
3. Tratamiento.....	6
4. El virus dengue.....	6
5. Vectores.....	6
6. Distribución geográfica e incidencia a nivel mundial de dengue.....	7
7. Distribución geográfica e incidencia en Guatemala.....	9
8. Condición de vivienda y manejo de higiene en Guatemala.....	11
9. Prevención y estrategias de control.....	12
B. Vector <i>Aedes aegypti</i>	13

1. Descripción general.....	13
2. Hábitat y costumbres alimenticios.....	14
3. Ciclo de replicación viral en el vector.....	14
4. Barreras en el intestino del mosquito.....	15
5. Competencia vectorial.....	15
6. Síntesis de tripsinas temprana y tardía.....	16
7. Relación de tripsinas con susceptibilidad al virus dengue.....	17
C. Estudios de diversidad genética de <i>Aedes aegypti</i>	18
1. Isoenzimas.....	18
2. ADN polimórfico.....	19
III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	22
A. Hipótesis.....	22
B. Objetivo general.....	22
C. Objetivos específicos.....	22
IV. MATERIALES Y MÉTODO.....	24
A. Colecta de muestras.....	24
B. Extracción de ADN.....	25
C. Amplificación de ADN.....	25
D. Electroforesis con gel de agarosa.....	26
E. Electroforesis con gel desnaturalizante.....	27
1. Preparación del gel y del sistema.....	27

2. Preparación de corrida.....	28
3. Corrida del gel.....	29
4. Tinción con nitrato de plata.....	29
5. Lectura del gel.....	29
6. Descarte del gel.....	30
7. Purificación de ADN.....	30
8. Análisis de datos.....	31
F. Pruebas de susceptibilidad al virus dengue.....	32
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	33
A. Estandarización de la metodología.....	33
B. Frecuencias alélicas de los individuos estudiados.....	34
C. Análisis estadístico.....	38
VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	48
A. Conclusiones.....	48
B. Recomendaciones.....	49
VII. LITERATURA CITADA.....	50
VIII. GLOSARIO.....	54

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Distribución geográfica de dengue a nivel mundial.....	9
2. Número de casos de dengue y FHD reportados en Guatemala, 1990-2000.....	10
3. <i>Aedes aegypti</i> hembra.....	14
4. Las tres barreras que un arbovirus debe atravesar para ser transmitido por mosquito.....	16
5. Electroforesis en gel desnaturizante para Chiapas, México, muestras 43 al 51	33
6. Flujo genético entre las poblaciones de <i>A. aegypti</i>	46

LISTA DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Serotipos de Dengue circulando en Guatemala, 1990-2000.....	11
2. Número de individuos y sitios de colección de <i>Aedes aegypti</i>	24
3. Número de muestras para cada alelo y la frecuencia de alelos.....	35
4. Distribución de los grupos analizados por AMOVA para las poblaciones de <i>Aedes</i> de México a Nicaragua.....	38
5. Análisis de varianza molecular entre alelos inserción y delección del gen de tripsina temprana en las poblaciones de <i>A. aegypti</i> de México a Nicaragua.....	39
6. Distribución de los grupos analizados por AMOVA para poblaciones del oeste de América Central y Panamá.....	40
7. Análisis de varianza molecular entre alelos inserción y delección del gen de tripsina temprana en las poblaciones de <i>A. aegypti</i> del oeste del América Central y Panamá.....	40
8. Distribución de los grupos analizados por AMOVA para poblaciones de América Central y el Caribe.....	41
9. Análisis de varianza molecular entre alelos inserción y delección del gen de tripsina temprana en las poblaciones de <i>A. aegypti</i> de América Central y el Caribe.....	42
10. Índices de fijación de Wright para los tres análisis de varianza molecular.....	43

11. Susceptibilidad a una infección por el virus dengue-2 de las poblaciones de *A. aegypti* provenientes de Guatemala y El Salvador.....47

LISTA DE GRÁFICAS

Gráfica	Página
1. Frecuencias de los alelos inserción y delección de tripsina temprana en las poblaciones de <i>A. aegypti</i> agrupadas por país.....	36
2. Frecuencias de los alelos inserción y delección de tripsina temprana en las poblaciones de <i>A. aegypti</i> agrupadas por sitio.....	37

RESUMEN

Este trabajo de tesis, pretende contribuir al conocimiento de la genética de poblaciones de *A. aegypti* y se inscribe en el marco de las investigaciones realizadas en el laboratorio de Biología Molecular de Vectores dirigido por la Lda. Ana María de Mérida (Centro de Estudios en Salud-CDC-CAP, UVG). Se amplificó a partir de cada individuo, un fragmento de ~300 pb correspondiente al gen nuclear de la tripsina temprana. Se determinó el polimorfismo de los fragmentos obtenidos por medio de geles de poliacrilamida adaptados para la secuenciación de ácidos nucleicos. Se examinaron los patrones de flujo genético en *A. aegypti* analizando la variación (“inserción” / “delección”) del fragmento. Se determinó la variación genética de las poblaciones provenientes de los sitios de captura. De manera complementaria, se definió la relación entre variación genética y variación fenotípica de la descendencia F2 de *A. aegypti* provenientes de Guatemala y El Salvador.

El número de individuos que se amplificaron para los cuales fue posible determinar el genotipo fue de 1,294. El alelo “inserción” fue más frecuente en todos los países excepto en Panamá, donde el alelo “delección” fue igualmente abundante que el alelo “inserción”. La mayoría de las poblaciones, con la excepción de las dos de Panamá, fueron encontradas en equilibrio de Hardy-Weinberg. En el caso de las poblaciones que sí estuvieron en equilibrio de Hardy-Weinberg el valor de P fue de 0.14176.

El siguiente análisis realizado, AMOVA, por sus siglas en inglés, se llevó a cabo con el programa Arlequín 2.0. El análisis se repitió varias veces con diferentes

agrupamientos en regiones. El porcentaje de variación entre los países México, Guatemala, El Salvador y Nicaragua es relativamente bajo (2.65%), se puede pensar que no existe una barrera genética entre las poblaciones de *A. aegypti* del oeste de América Central. En cambio, los resultados del análisis al agrupar las poblaciones de *A. aegypti* del oeste de América Central y compararlas con las poblaciones de Panamá, aumenta sensiblemente el porcentaje de variación (36.62%). Estos resultados nos llevan a pensar que posiblemente hay poco flujo genético entre las poblaciones de *A. aegypti* del oeste de América Central y Panamá, por lo tanto pueda que exista una barrera genética entre estas dos regiones. Finalmente al comparar en su conjunto las poblaciones de América Central (Panamá incluido) y el Caribe se puede notar que existe una mayor variación (8.92%) en este caso que entre los países del oeste de América Central, de México a Nicaragua. Este análisis nos lleva a pensar que posiblemente hay poco flujo genético entre las poblaciones de *A. aegypti* de América Central (México a Panamá) comparadas con las del Caribe.

Al tomar en cuenta el índice de fijación por grupos (F_{CT}), para las poblaciones de México hasta Nicaragua se obtuvo un índice de fijación de 0.02645. Este valor sugiere que hay poca diferencia genética entre los grupos establecidos. Para los grupos del oeste de América Central y Panamá se obtuvo un índice de fijación de 0.36621. Este valor indica que hay diferencia genética enorme entre esas dos regiones. Al agrupar todos los países de México a Panamá como “América Central” y compararlos con el Caribe se obtuvo un índice de fijación de 0.08917, indicando que existe una diferencia genética moderada. Este dato confirma el análisis de frecuencias de alelos y sugiere que podría

existir una barrera genética entre América Central y el Caribe. Con base a estos resultados se puede pensar que el mar Caribe podría ser una barrera genética para el flujo de genes entre ambas regiones.

Para determinar si la diferencia genética entre las poblaciones se correlaciona con la distancia geográfica, se realizó el análisis de Mantel. En nuestro caso, ninguna correlación fue encontrada entre las distancias genéticas y las distancias geográficas ($R^2=0.02$, probabilidad de Mantel = 0.05) entre las poblaciones de México a Nicaragua. Esto sugiere que el flujo genético no cambia (ni disminuye, ni aumenta) conforme se aumenta la distancia geográfica entre las poblaciones. Al mostrar que no hay aislamiento por distancia en el oeste de América Central, se hace más notorio que la diferencia con Panamá no es debida a la distancia sino a alguna posible barrera. Lo más probable es que la barrera sea una barrera geográfica, como por ejemplo, la Cordillera de Talamanca y/o la Serranía de Tabasará en Costa Rica. Para confirmar los resultados se sugiere, realizar los mismos análisis con poblaciones de *A. aegypti* provenientes de Costa Rica, que desafortunadamente no pudieron ser incluidos en este trabajo.

La susceptibilidad de las poblaciones de *A. aegypti* al virus de dengue 2, fue analizada con poblaciones de *A. aegypti* de Guatemala y El Salvador en complemento al presente estudio, por el Dr. Álvaro Molina quien realizó esta parte del trabajo en su laboratorio. La susceptibilidad al virus de dengue 2 varió considerablemente (39-93%) entre las poblaciones probadas. Esto sugiere que aunque los marcadores genéticos nucleares y los de origen mitocondrial no detecten una variación genética significativa

entre las poblaciones del área del oeste de América Central, pueda que haya una variación en los genes que determinen la susceptibilidad del vector al virus de dengue.

