

**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE QUITO**

Carrera:

INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

Trabajo de Titulación previo a la obtención del título de:

INGENIEROS EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

TEMA:

**IDENTIFICACIÓN DE MUTACIONES EN EL GEN *AIP* RELACIONADO CON
LA ACROMEGALIA EN PACIENTES DEL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
EUGENIO ESPEJO, QUITO-ECUADOR.**

AUTORES:

JOSSUÉ ALEJANDRO RAMÍREZ LOAIZA

CARLOS JULIO ROCHA MENDIETA

DIRECTORA:

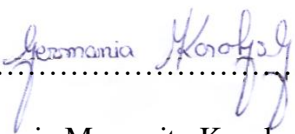
GERMANIA MARGARITA KAROLYS GUTIÉRREZ

Quito, agosto de 2019

Declaratoria de coautoría de la docente tutora

Yo, Germania Margarita Karolys Gutiérrez, declaro que bajo mi dirección y asesoría fue desarrollado el trabajo de titulación: “Identificación de mutaciones en el gen *AIP* relacionado con la acromegalia en pacientes del Hospital de Especialidades Eugenio Espejo, Quito-Ecuador”, realizado por Jossué Alejandro Ramírez Loaiza y Carlos Julio Rocha Mendieta, obteniendo un producto que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana para ser considerados como trabajo final de titulación.

Quito, agosto de 2019

(f).....

Germania Margarita Karolys Gutiérrez

CI. 1708492499

Dedicatoria

Jossué Ramírez Loaiza

A mi madre, Martha Ramírez, por el sacrificio realizado durante toda mi crianza, a mis hermanas por acompañarme y permanecer juntos en momentos de alegría y dificultades, y a mi familia en especial a la Ing. Alicia Ramírez, Ing. Esperanza Ramírez y Gloria Loayza, por la ayuda incondicional y los consejos que me han permitido llegar a este logro tan importante.

Carlos Julio Rocha

A mis padres, Julio Rocha y Celenita Mendieta por el esfuerzo realizado a lo largo de mi carrera universitaria, a todas las personas que forman parte de mi vida por sus consejos y ayuda incondicional, mis hermanas, mi abuela Blanca Velasco, mis tíos: Arq. Briguitte Rocha, Lic. Bernardette Rocha, Agr. José Rocha, Dra. Blanca Rocha y en especial a la Lcda. Sofía Longo, a todas gracias su apoyo.

Dedico este trabajo de investigación a todas las personas que formaron parte de él, por todo el interés puesto para que se pueda llevar a cabo.

Agradecimiento

Agradecemos a la Universidad Politécnica Salesiana, por permitirnos cumplir una meta más dentro de nuestras vidas, gracias al conocimiento impartido en sus aulas.

Gracias a Dios por la vida, y por permitirnos cumplir una meta más dentro de nuestra formación profesional y personal.

Agradecemos a nuestros padres por todo el apoyo incondicional brindado, por su esfuerzo, consejos y valores, que nos han ayudado a convertirnos en las personas que somos y poder seguir adelante sobre cualquier adversidad. De igual manera a nuestras familias por su ayuda y motivación incondicional.

Un especial agradecimiento a la Dra. Gabriela Jaramillo por su guía, esfuerzo y confianza brindada para la realización de esta tesis, a las Ing. Gabriela Gálvez y María Gabriela Gómez por la ayuda y amistad a lo largo de la investigación, y la MSc. Germania Karolys por los consejos, guía, seguimiento y paciencia durante el proceso.

A todos los amigos de los cuales nos llevamos los mejores y más gratos recuerdos de la vida universitaria, a Sofía Longo, Andrea Valdivieso, Leo Albán, Ximena Galarza, Michelle Campaña, Michelle Toapanta y Tamara Andrango.

Índice

Introducción	1
Capítulo 1	3
Marco conceptual	3
1.1 Enfermedades raras	3
1.2 Acromegalia	4
1.2.1 Antecedentes	5
1.2.2 Epidemiología	6
1.2.3 Manifestaciones clínicas.....	7
1.2.4 Diagnóstico.....	8
1.2.5 Tratamiento	9
1.3 Adenomas hipofisarios	10
1.3.1 Clasificación de Adenomas Hipofisarios	11
1.3.2 Tipo de secreción.....	11
1.3.3 Tamaño del adenoma.....	12
1.3.4 Patología molecular	13
1.4 Adenoma Pituitario Familiar Aislado (FIPA)	15
1.5 Gen <i>AIP</i>	15
1.5.1 Función del gen <i>AIP</i>	16

Capítulo 2.....	18
Materiales y Métodos.....	18
2.1 Toma de muestra de sangre periférica.....	18
2.2 Extracción de ADN genómico.....	19
2.3 Cuantificación de ADN.....	20
2.4 Amplificación mediante PCR punto final.....	20
2.5 Análisis de amplicones por electroforesis.....	22
2.6 Purificación de amplicones.....	23
2.7 Reacción de Secuenciación.....	23
2.8 Purificación de productos de secuenciación.....	24
2.9 Electroforesis capilar.....	25
2.10 Análisis de resultados.....	25
2.11 Análisis estadístico.....	26
Capítulo 3.....	27
Resultados y Discusión.....	27
3.1 Características de la población en estudio.....	27
3.1.1 Relación del sexo en la enfermedad.....	27
3.1.2 Edad debut de los pacientes.....	28
3.1.3 Tipos de tumores presentes en la población.....	29

3.1.4 Ubicación geográfica de los pacientes	30
3.2 Análisis Molecular	31
3.2.1 Extracción del ADN	31
3.2.2 Amplificación del gen <i>AIP</i>	31
3.3 Análisis de secuencias	32
3.3.1 Exón 1.....	32
3.3.2 Exón 4.....	33
3.3.3 Exón 5.....	34
3.3.4 Exón 6.....	35
3.4 Análisis estadístico	39
Conclusiones	40
Recomendaciones.....	41
Referencias	43
Anexos	54

Índice de tablas

Tabla 1. Principales signos y síntomas de la Acromegalia.	8
Tabla 2. Codificación muestras sanguíneas.	19
Tabla 3. Primers específicos utilizados en la investigación.	21
Tabla 4. Protocolos de PCR utilizados para cada exón que conforma el gen AIP.	22
Tabla 5. Protocolo para la reacción de secuencia para cada cadena de ADN.	24
Tabla 6. Ubicación de variantes.	36
Tabla 7. Comparación de estudios a nivel mundial en el gen AIP con la presente investigación.	38

Índice de figuras

Figura 1. Persona afectada con acromegalia.	5
Figura 2. Alteraciones genéticas en los adenomas hipofisarios.	14
Figura 3. Ubicación del Gen AIP.	16
Figura 4. Distribución de la enfermedad respecto al sexo de los pacientes.	27
Figura 5. Distribución de la edad de desarrollo de la enfermedad.	28
Figura 6. Frecuencia de presencia de adenomas.	29
Figura 7. Distribución geográfica de los pacientes.	30
Figura 8. Comprobación de amplificación de regiones codificantes del gen <i>AIP</i>	32
Figura 9. Ubicación de las variantes descritas en el estudio.	37

Índice de anexos

Anexo 1. Formato de consentimiento informado.....	54
Anexo 2. Formato de registro de pacientes	56
Anexo 3. Variantes encontradas en el gen AIP de pacientes con acromegalia.....	57
Anexo 4. Flujograma del proceso experimental	58
Anexo 5. Proyecto de Vinculación Caracterización psicosocial, clínica y molecular en pacientes con acromegalia del Hospital de Especialidades Eugenio Espejo.....	59

Resumen

La acromegalia es considerada una enfermedad rara, presentándose como un padecimiento neuroendocrino de baja ocurrencia, provocado por la segregación descontrolada de hormona del crecimiento (*growth hormone*, GH) y el aumento del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (*insulin-like growth factor 1*, IGF-1). La aparición de los signos y síntomas, así como el retraso del diagnóstico hasta en unos 10 a 15 años, ha aumentado significativamente la morbimortalidad de los pacientes.

Se ha determinado que la acromegalia es causada por la aparición de adenomas hipofisarios de características benignas, los tumores causados por mutaciones están relacionados con los genes *AIP*, *MEN 1*, *MEN 4*, Complejo de Carney y *GNAS*.

La presente investigación tuvo como objetivo identificar mutaciones en el gen *AIP* relacionado con el desarrollo de la acromegalia en pacientes del Hospital de Especialidades Eugenio Espejo.

Se realizó el secuenciamiento de los 6 exones del gen *AIP*, utilizando la metodología Sanger, y el análisis posterior para la identificación de variantes génicas y su posible relación con el desarrollo de Acromegalia.

Se obtuvieron 9 variantes génicas dentro de los 32 pacientes que formaron parte del estudio, presentándose la mayoría de estas en la región terminal del gen, asociadas con la codificación de la región carboxi terminal, parte esencial para la actividad biológica de la proteína. El estudio del modelo lineal de variables Dummy, determinó la correlación entre la variable V243V y los microadenomas ($P < 0.05$).

Palabras clave: Acromegalia, GH, gen *AIP*, variantes genéticas, secuenciamiento.

Abstract

Acromegaly is considered a rare disease, presenting as a neuroendocrine condition of low occurrence, caused by the uncontrolled segregation of growth hormone (GH) and the increase of insulin-like growth factor 1 (insulin-like growth factor 1, IGF-1). The appearance of signs and symptoms, as well as the delay in diagnosis up to 10 to 15 years, has significantly increased the morbidity and mortality of patients.

It has been determined that acromegaly is caused by the appearance of pituitary adenomas with benign characteristics, the tumors caused by mutations are related to the genes *AIP*, *MEN 1*, *MEN 4*, Carney Complex and *GNAS*.

The objective of the present investigation was to identify mutations in the *AIP* gene related to the development of acromegaly in patients of the Hospital de Especialidades Eugenio Espejo.

The six exons of the *AIP* gene were sequenced, using the Sanger methodology, and the subsequent analysis for the identification of gene variants and their possible relationship with the development of Acromegaly.

Were obtained nine gene variants within the 32 patients that were part of the study, presenting most of these in the terminal region of the gene, associated with the coding of the carboxy terminal region of the protein, an essential part for the biological activity of the protein. The study of the linear model of Dummy variables, determined the correlation between variable V243V and microadenomas ($P < 0.05$).

Key words: Acromegaly, GH, Gen *AIP*, genetic variants, sequencing.

Introducción

La acromegalia es un padecimiento neuroendocrino de baja ocurrencia provocado por la segregación descontrolada de hormona del crecimiento (*growth hormone*, GH) y el aumento del factor de crecimiento similar a la insulina 1 (*insulin-like growth factor 1*, IGF-1), generalmente causado por el desarrollo de un adenoma hipofisario generado en la región del somatotropo (Caballero, 2015). El aparecimiento de los signos y síntomas así como el diagnóstico de la enfermedad puede tardar entre 10 a 15 años presentando complicaciones cardíacas, renales, hepáticas, oculares y metabólicas, aumentando significativamente la morbimortalidad de los pacientes (Cecenarro, Fantón, Estario, Papalini, & Estario, 2015).

Este padecimiento tiene una baja incidencia a nivel mundial, estimándose un aproximado de 5 casos por millón de habitantes por año y una prevalencia de 60 casos por millón de habitantes, a nivel mundial se han levantado diferentes registros sobre la enfermedad, con un desarrollo temprano entre las edades de 18 a 20 años (Enríquez-Estrada et al., 2016; Pita, 2015).

Se ha determinado que la acromegalia se origina por la aparición de adenomas hipofisarios de características benignas dividiéndose estos en dos grupos: primero, los adenomas esporádicos con mutaciones en líneas germinales con predisposición genética, pero sin historia familiar, y segundo, los tumores esporádicos sin mutación en líneas germinales siendo estos los más comunes.

Aquellos tumores causados por mutaciones están relacionados con los genes *AIP*, *MEN 1*, *MEN 4*, Complejo de Carney y *GNAS*. Existen diferentes tratamientos para combatir la enfermedad, entre los cuales se encuentran los análogos de la somatotatina, estos regulan

la segregación de la GH; en casos más severos se requiere la intervención quirúrgica por medio de una cirugía endoscópica transesfenoidal (Betanzos et al., 2009; Fajardomontañana et al., 2009).

El gen *AIP* (aryl hydrocarbon receptor-interacting protein), ubicado en el cromosoma 11 brazo q locus 13.2 (autosoma), se encuentra relacionado con el desarrollo de adenomas pituitarios benignos cuando existen variaciones genéticas en su secuencia de bases nitrogenadas. Cerca del 15 al 40 % de los casos FIPA (adenomas hipofisarios familiares aislados) están relacionados con variaciones en el gen *AIP*, afectando principalmente al somatotropo y pueden estar presentes en línea germinal, como en células somáticas en los adenomas esporádicos. El gen *AIP* consta de seis exones que codifican una proteína de 330 aminoácidos (Genetics Home Reference, 2013; Igreja et al., 2010)

En el caso de las mutaciones en línea germinal, la herencia se describe como autosómica dominante, esto quiere decir que, si uno de los progenitores presenta el gen dominante mutado, la enfermedad se expresará en la descendencia con un 50 % de probabilidades, y el hecho de tener únicamente una copia del gen mutado hace que el fenotipo de la enfermedad se presente en ese individuo. Gracias a esto se ha descrito que aproximadamente el 20 % de los casos familiares se desarrollan por variantes genéticas en el gen *AIP* (Castaño, Martínez De La Piscina, Portillo, & Rica, 2017).

Actualmente las técnicas de diagnóstico para la enfermedad se basan únicamente en protocolos bioquímicos, imageneología y exámenes físicos al paciente; por lo cual la actual investigación tiene como objetivo identificar mutaciones en el gen *AIP* relacionadas con el desarrollo de adenomas hipofisarios, utilizando la secuenciación Sanger.

Capítulo 1

Marco conceptual

1.1 Enfermedades raras

Se consideran enfermedades raras o catastróficas aquellas de baja prevalencia y que se presentan en menos del 1 % de la población. A nivel mundial existen diferentes criterios para considerar a una enfermedad como rara o catastrófica, en la Unión Europea éstas se consideran cuando existe un caso en 2000 personas, mientras que en Estados Unidos cuando se presenta una en 1200 habitantes (WHO, 2013). Y la organización Mundial de la Salud considera que un 7 % de la población presenta una enfermedad rara y se han determinado entre cinco y siete mil enfermedades raras que en su mayoría son de origen genético representando un 80 % aproximadamente, pero estas también pueden ser de origen infeccioso, degenerativo u oncogénico, se presentan desde el nacimiento en un 75 % y la mayoría de estos pacientes mueren antes de los 5 años o pueden ser desarrolladas a lo largo de la edad madura dificultando la calidad de vida (Federación Española de Enfermedades Raras, 2016).

Entre los parámetros para considerar a una enfermedad como rara o catastrófica se determina la gravedad de la enfermedad, estas pueden ser agudas o crónicas, y pueden no tener un tratamiento curativo. De igual manera se ha considerado a estas enfermedades como huérfanas ya que por su baja incidencia existe carencia de investigación para desarrollar medicamentos o terapias curativas, determinándose que para 4000 de estas enfermedades no existe un tratamiento, y de ser el caso que existiera el tratamiento, el retraso en el diagnóstico clínico aumenta la agresividad de las enfermedades y la discapacidad de las personas que las poseen (Carbajal & Navarrete, 2015).

Las enfermedades catastróficas son un problema social debido a la incapacidad que causan, está también la discriminación y la exclusión de los diferentes grupos sociales, afectando de manera directa a las personas con estas enfermedades. En Ecuador el gobierno ha establecido leyes que apoyan a las personas con diferentes discapacidades a ser incluidos por la sociedad en ámbitos laborales y sociales, considerando, además, la atención de calidad con respecto a la salud o educación, como lo menciona la constitución en el artículo 48 y el artículo 50 (Asamblea Nacional del Ecuador, 2008).

1.2 Acromegalia

La acromegalia es una enfermedad causada por la secreción excesiva de la hormona de crecimiento (GH) en el torrente sanguíneo, asociada generalmente a un adenoma pituitario, la cual origina cambios significativos en la morfología y fisiología de los pacientes, presentando estos una hipertrofia en el cuerpo con cambios en el rostro con el crecimiento de mandíbula, orejas, mentón, así como también presentan crecimiento excesivo de extremidades, manos, pies, tejidos blandos y órganos internos como el corazón, hígado entre otros (Arroyo, Mestrón, & Webb, 2005). Véase en la figura 1. En las personas adultas está reconocida como una enfermedad con significativa morbimortalidad, reduciendo la esperanza de vida de los pacientes comparándolos con una población general.



Figura 1. Persona afectada con acromegalia.
Presencia de crecimiento desmesurado de zonas acrales y malformación del rostro.
Fuente: (Mayo Clinic, 2018)

1.2.1 Antecedentes

El término Acromegalia fue propuesto por el neurólogo Francés Pierre Marie en 1886, que proviene del griego “*akros*” extremidades y “*meGas*” grande; al tratar la enfermedad en dos pacientes adultos en el Hospital Salpêtrière de París. Años más tarde, en 1909 Cushing reportó que los efectos clínicos disminuían después de realizar una hipofisectomía (Manavela, 2009).

En Europa a partir de los 90’s se empezaron a generar registros nacionales para levantar información acerca de la enfermedad, su diagnóstico y tratamiento; así como el número de pacientes por país, logrando determinar que los países con mayor presencia de casos con Acromegalia son: Alemania, 19; Italia, 25; Bélgica, 38; España, 35, Dinamarca, 85 casos por millón de habitantes, mientras tanto a nivel latinoamericano se cuenta con los

registros de EPIACRO en México con 2057 casos hasta el 2016 y FAETH en Ecuador con 18.7 casos por millón de habitantes (Enríquez-Estrada et al., 2016).

A partir del 2014 en Ecuador se empezaron a recolectar los primeros datos de pacientes con acromegalia atendidos en las principales casas de salud del país; en 2016 en Guayaquil se empieza a registrar los primeros estudios diagnósticos endocrinológicos que ayudaron para la identificación y tratamiento de la enfermedad, aplicando diferentes técnicas y pruebas bioquímicas (tamizaje de IGF-1; tolerancia de glucosa), de imagen de hipófisis y de anatomía patológica, permitiendo dar así tratamiento a los pacientes con la patología entre los cuales se diagnosticaron 48 casos entre los años 2000 y 2014, de los cuales 17 fueron hombres y 31 mujeres con rangos de edad entre 40 a 60 años (Gavilanez López *et al.*, 2016; Lucas & Catalá, 2005; Manavela, Juri, Danilowicz, & Bruno, 2010).

1.2.2 Epidemiología

En la década de los 90's, con la idea de recabar información de la enfermedad y su epidemiología, se generaron las primeras bases de datos en los países europeos Alemania, España y Bélgica (Gavilanez López *et al.*, 2016).

Gracias a la generación de estos registros se pudo determinar los porcentajes de prevalencia de la enfermedad determinándose alrededor de 40 a 95 casos por millón de habitantes, y según los datos estadísticos levantados actualmente en España se determinan anualmente 2.5 casos por millón de habitantes (Gavilanez López *et al.*, 2016).

La acromegalia puede llegar a desarrollarse en ambos sexos y se ha determinado que esta puede presentarse en distintas poblaciones con mayor incidencia en mujeres, tomando en cuenta los primeros cambios morfológicos entre 19 a 20 años de edad, mientras que los

cambios más significativos se pueden llegar a observar a partir de los 40 años en adelante donde se realiza el diagnóstico y determinación de la patología. El diagnóstico tardío de los pacientes, enfermedades mal controladas y desequilibrios hormonales puede llevar a la muerte, tomando en cuenta que la mayoría de casos confirmados de acromegalia presentan un índice elevado de mortalidad entre 2 a 4 veces más que la población en general, dependiendo de los niveles de hormona del crecimiento que se encuentre presente en el torrente sanguíneo (Despaigne, Despaigne, & Cascaret, 2015).

1.2.3 Manifestaciones clínicas

La acromegalia es una enfermedad en la cual las manifestaciones clínicas pueden tardar alrededor de diez años en presentarse en los pacientes para poder tener un diagnóstico claro. Uno de los primeros signos de padecimiento de acromegalia es el crecimiento de la cara que genera prognatismo (adelantamiento del hueso maxilar inferior) por crecimiento de la mandíbula inferior, conjuntamente con diastema (separación de los dientes). Seguido de estos las siguientes anomalías en presentarse son: crecimiento de la lengua así como de la laringe, generando dificultades respiratorias y crecimiento óseo generalizado (frente, las manos y pies) (Melgar, Espinosa, Cuenca, Valle, & Mercado, 2015).

Al observar estas manifestaciones clínicas los pacientes acuden a un asesoramiento médico en el cual se les diagnostica la enfermedad, en donde, el 75 % de los pacientes presentan un adenoma hipofisario, este adenoma diagnosticado si presenta un crecimiento elevado, llega a ejercer presión sobre las zonas aledañas de la hipófisis, esto puede llegar a invadir los senos cavernosos y aplicar presión sobre los nervios del cráneo, que conlleva a la generación de cefaleas, así como la pérdida de la visión dependiendo el tamaño del

tumor (Melgar et al., 2015). En la tabla 1 se puede observar la mayoría de las manifestaciones clínicas descritas que causa el desarrollo de la acromegalia.

Tabla 1.

Principales signos y síntomas de la Acromegalia.

Signos y síntomas	Frecuencia (%)
Engrosamiento de las partes acras (manos y pies)	55-100
Visceromegalia (crecimiento del corazón, tiroides y otros órganos internos)	80-90
Hiperhidrosis (Exceso de sudoración)	50-90
Artralgias (dolores articulares)	35-80
Bocio (crecimiento de la glándula tiroides)	35-70
Irregularidades menstruales	30-85
Diastema (separación de los dientes)	30-65
Dolor de cabeza	10-60
Síndrome del túnel carpiano (hormigueos y dolor de manos)	25-50
Hipertensión arterial	18-50
Reducción del campo visual	5-61
Intolerancia a la glucosa (diabetes mellitus)	10-70
Disminución de la libido	12-46
Astenia o fatigabilidad	10-38
Galactorrea (salida de leche por el pezón)	5-36
Apnea del sueño	5-30
Enfermedad coronaria	11-13
Alteraciones del humor / irritabilidad	4-12

Fuente: (AEA Acromegalia, 2018)

1.2.4 Diagnóstico

Al presentarse la enfermedad existe una incidencia baja de signos y síntomas hasta en una década, se debe tener un diagnóstico minucioso para detectarla, y al observar cualquier cambio de las manifestaciones clínicas mencionadas anteriormente, es necesaria la evaluación endocrinológica con especialistas del tema, los cuales evaluarán un panel relacionado al estudio hormonal (Vallecillos Tortosa, 2018).

Los especialistas endocrinólogos tienen que ser muy precisos en la evaluación para determinar que un paciente padece de acromegalia, ya que, al tener manifestaciones insidiosas, se puede llegar a asumir por los síntomas, que son otras patologías aisladas como: la diabetes mellitus o la hipertensión, que podrían revelar un mal diagnóstico con un incorrecto tratamiento (Torres *et al.*, 2017).

Por lo que la Asociación Americana de Endocrinólogos Clínicos ha propuesto evaluar parámetros que ya se conocen, que son habituales en las personas con acromegalia, tal como la sudoración excesiva, el crecimiento de la mandíbula, dolores en las articulaciones, el síndrome de túnel carpiano, disminución de la visión y campos visuales, una aparición repentina de diabetes o de hipertensión arterial, son algunos de los síntomas a tomar en cuenta, para posteriormente realizar la evaluación bioquímica de las hormonas implicadas y determinar si existe una autorregulación o si existe una hipersecreción autónoma (Katznelson & Atkinson, 2011).

Al tener bien claro estos parámetros, se procede a realizar una evaluación de la localización imageneológica de la patología o el adenoma que causa el desequilibrio hormonal, una vez obtenidos los resultados de las evaluaciones, se puede determinar si los pacientes padecen de acromegalia (Rúa, Sierra, & Maya, 2011).

1.2.5 Tratamiento

Una vez diagnosticada la enfermedad, se procede a tomar una decisión terapéutica para el tratamiento de los pacientes, en el que se debe evaluar puntos importantes como la edad del paciente, morbilidades que estén presentes producto de la patología, y de igual manera

las características del tumor, como su tamaño y donde este se encuentra localizado (Cordido, García Arnés, Marazuela Aspiroz, & Torres Vela, 2013).

Se debe tomar en cuenta que cualquier tipo de tratamiento a ser aplicado tiene que cumplir con objetivos como: el reducir la masa tumoral, controlar síntomas producidos por la enfermedad, tiene que haber un control hormonal de la GH basal con cantidades menores al 1 ng/mL, la GH post glucosa con cantidades menores a 4 ng/mL, se tiene que controlar la aparición de diabetes o la hipertensión, y al ir cumpliendo estos objetivos se logrará disminuir la tasa de mortalidad de los pacientes (Melgar *et al.*, 2015).

Hay que considerar que el tratamiento más aplicado es la cirugía transesfenoidal (CTE) microscópica, ya que la tasa de curación de los microadenomas se encuentra entre un 80 y 90 % y para los macroadenomas se considera una tasa de curación entre el 50 %. Una vez realizada la operación en los pacientes se puede llegar a obtener mejores resultados mediante técnicas como la radioterapia y el uso de medicamentos específicos (Mercado, 2012).

El uso de la técnica con radioterapia se aplica a los pacientes posoperatorios que presentan macroadenomas invasivos, y los medicamentos más utilizados para tratar a pacientes con acromegalia son los análogos de la somatostatina, ayudando a contralar los niveles de segregación de la GH (Cordido *et al.*, 2013).

1.3 Adenomas hipofisarios

Los adenomas hipofisarios (AH) en su gran mayoría son considerados de carácter benigno, este tipo de tumores causan morbilidad en los pacientes con la patología, generalmente por un exceso hormonal en el torrente sanguíneo o por el crecimiento

anormal del tumor el cual comprime las zonas aledañas al mismo, de igual manera pero en menor porcentaje existen adenomas que pueden tener un comportamiento agresivo (Buitrago Orjuela, Pardo Santamaría, Lozano, Benítez, & Carvajal, 2018).

La hipersecreción hormonal y un crecimiento de masa es uno de los mayores síntomas que presentan los pacientes con adenomas hipofisarios, estos síntomas son controlados por medio de fármacos agonistas de la dopamina utilizados en el caso de que los tumores sean secretores de prolactina (prolactinomas), o con drogas análogas de la somatostatina para los adenomas hipofisarios productores de GH. Alrededor del 25 % de este tipo de tumores son difíciles de controlar, para los cuales es necesaria la utilización de técnicas como la cirugía o la radioterapia (Castaño *et al.*, 2017). Se ha determinado que en la población adulta la patología llega alrededor del 14 al 22 %, mientras que en niños se considera una patología rara con un 3 % de expresión (Iglesias Fuentes, García Rodas, Tómalá Vera, & Vaca Antepara, 2019).

1.3.1 Clasificación de Adenomas Hipofisarios

Los adenomas hipofisarios se los clasifica en función de diversos parámetros como son: su tipo de secreción hormonal, su tamaño y el tipo de patología molecular del cual procede, causando cada uno un tipo diferente de caso clínico y de fenotipo en los pacientes afectados (Buitrago Orjuela *et al.*, 2018).

1.3.2 Tipo de secreción

Dependiendo el tipo de secreción hormonal que presenta el adenoma, se lo puede clasificar según su significancia clínica, presentando adenomas hipofisarios funcionantes y no funcionantes.

Los adenomas funcionantes representan el 65 % de los casos presentando manifestaciones clínicas de relevancia médica para el diagnóstico de diferentes enfermedades entre las cuales se encuentran los prolactinomas como el más frecuente con un 50 % de casos, secretando prolactina en exceso produciendo el acrogigantismo; el de células somatotropas es el 20 %, secretando grandes cantidades de hormona del crecimiento promoviendo el desarrollo de la acromegalia; y el de células corticotropas el 10 % el cual promueve el desarrollo del síndrome de Cushing; se ha determinado que existen tumores mixtos generados por prolactinomas y somatotropinomas, presentando un doble secreción hormonal, predominan en la adolescencia (Castaño *et al.*, 2017).

Los adenomas no funcionantes representan el 35 % de casos, estos tumores no presentan una importancia clínica, al no presentar una secreción hormonal significativa, entre las cuales destacan los siguientes: Gonadotropinomas, siendo los más frecuentes en la población mundial con alrededor del 85 %; adenomas de células nulas, presentando una inmunohistoquímica nula para secreción hormonal; adenomas silentes, con una inmunohistoquímica positiva para diferentes hormonas, pero con mayor índice en corticotropina (ACTH); Adenomas hipofisarios no funcionantes agresivos o atípicos, aquellos que presentan un índice de multiplicación elevado; y carcinoma hipofisario, con presencia de metástasis craneoespinales o multisistémico (García-Manzanares, Montesinos, Fournier, & Hernández, 2016).

1.3.3 Tamaño del adenoma

A los adenomas hipofisarios se los clasifica por su tamaño: en microadenomas cuando su tamaño es menor a 1 cm, estos tumores pueden ser secretores de diferentes hormonas asociándolos con diversos síndromes como Cushing, Nelson y enfermedad de Addison

(Ortega, Aguiar, Marrero, & Casas, 2015), mientras los macroadenomas presentan un tamaño mayor de un 1 cm, son de características benignas y en casos aislados se presentan como malignos con una metástasis, se presentan en infantes con una edad promedio de 12 años, estos macroadenomas pueden convertirse en adenomas gigantes presentando un tamaño aproximado a los 4 cm (Iglesias Fuentes *et al.*, 2019).

1.3.4 Patología molecular

Los adenomas hipofisarios también se clasifican por su patología molecular en esporádicos y familiares. Siendo los esporádicos los más frecuentes con un 95 % de casos presentando mutaciones en sus líneas somáticas, mientras que los familiares representan el 5 % restante con alguna mutación en su línea germinal (Castaño *et al.*, 2017).

Las alteraciones genéticas a nivel de líneas somáticas son desconocidas, pero se han encontrado mutaciones en los genes *GNAS* (proteína alfa estimuladora de unión a la guanina) el cual se presenta aproximadamente en el 40 % de los adenomas esporádicos y en el gen *X-LAG* (síndrome de acrogigantismo ligado a X) (Vallecillos Tortosa, 2018).

Los adenomas hipofisarios con predisposición genética y mutaciones en línea germinal, se encuentran ligados a la producción de GH o PRL asociados a diferentes líneas celulares.

Las mutaciones en el gen de la menina (*MEN-1* [neoplasia endocrina múltiple tipo 1]) y el gen *CDKN1B* relacionado al *MEN-4*, generan una patología que puede desarrollar hiperparatiroidismo, tumores neuroendocrinos o adrenales (Ceballos-Macías *et al.*, 2015).

Cuando el gen *PRKARIA*, asociado en el complejo de Carney, presenta mutaciones en su línea germinal en la subunidad 1- α , regula la expresión de la protein-cinasa A, se genera la presencia de acromegalia asociada con hiperplasia adrenal micronodular pigmentada

bilateral y se observa mixomas cardíacos y lesiones cutáneas, relacionado con mutaciones en el complejo de Carney (Ceballos-Macías *et al.*, 2015).

Mutaciones en la familia de genes SDH se asocia con paragangliomas, los cuales se encuentran presentes en la base del cráneo y en la nuca son inactivos, este tipo de tumores que se denominan neuroendocrinos de células cromafinas se encuentran relacionados con mutaciones en la familia de genes 3PA (Orrego, 2018).

En el síndrome DICER1 se describen los blastomas hipofisarios y blastomas pleuropulmonares los que se expresan y desencadenan al existir una mutación germinal en el gen *DICER1* (Vallecillos Tortosa, 2018), Mutación en el gen *DICER1* afecta a la regulación de microARN asociándose con el desarrollo de blastomas (Rica & Castaño, 2016).

Cuando se expresan adenomas hipofisarios en dos o más miembros de una familia se los denomina FIPA, estos casos presentan mutaciones en línea germinal de los genes *AIP* y *GPR101*, presentando casos en pacientes pediátricos o a inicios de la niñez y adolescencia (Caimari & Korbonits, 2016). En la figura 2 se indica la clasificación de las patologías moleculares de los adenomas hipofisarios.

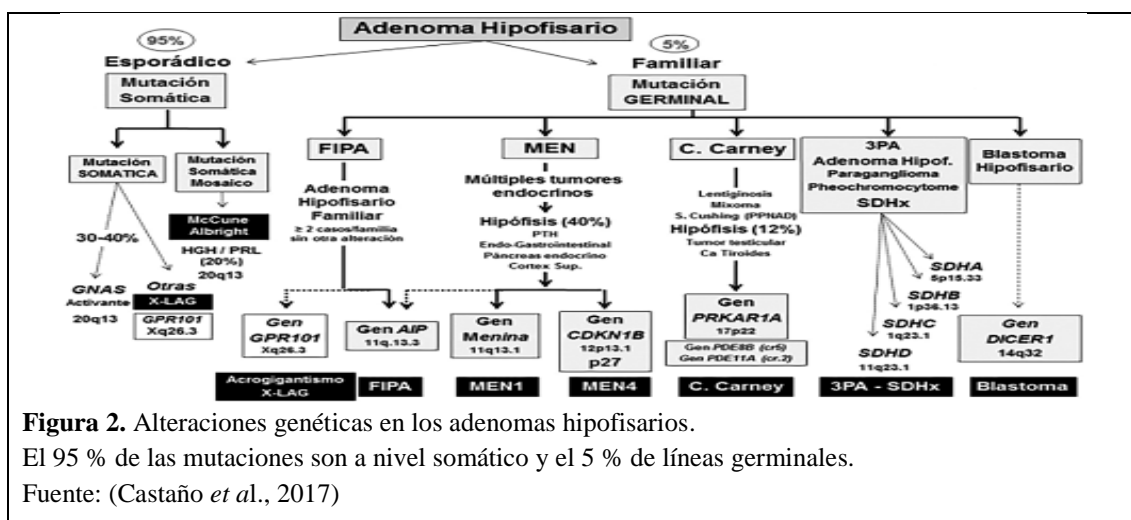


Figura 2. Alteraciones genéticas en los adenomas hipofisarios.

El 95 % de las mutaciones son a nivel somático y el 5 % de líneas germinales.

Fuente: (Castaño *et al.*, 2017)

1.4 Adenoma Pituitario Familiar Aislado (FIPA)

Se ha determinado que si se encuentran dos o más casos en la misma familia se habla de adenomas hipofisarios familiares aislados (familial isolated pituitary adenomas [FIPA]). Los FIPA's representan entre el 1 al 2 % de los adenomas hipofisarios y dentro de esto las mutaciones del gen *AIP* puede representar alrededor del 15 % de los casos (Fajardomontañana et al., 2009; Lecoq, Kamenický, Guiochon-Mantel, & Chanson, 2015).

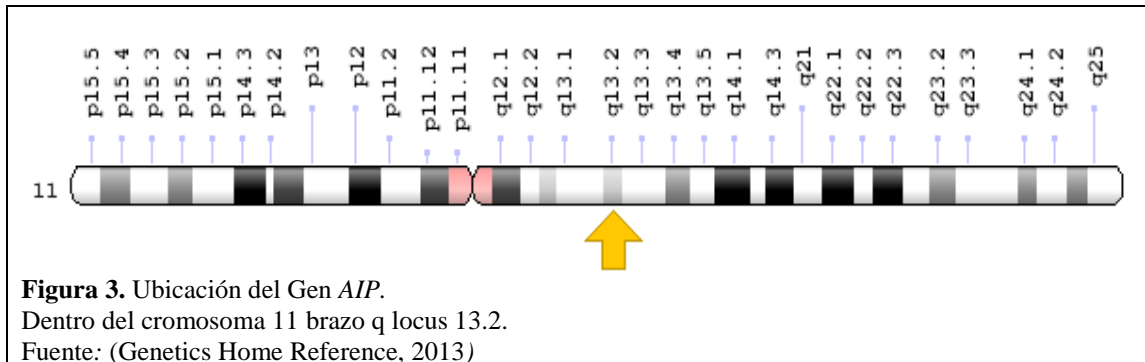
Los FIPAS dentro de una misma familia pueden presentar adenomas hipofisarios homogéneos cuando los miembros de la familia afectados tienen el mismo tipo de tumor, o adenomas hipofisarios heterogéneos cuando se presenta diferente tipo de tumor, y presentan una penetrancia variable y en la mayoría de los casos es incompleta, presentándose en la segunda o tercera generación. Los pacientes que presentan un adenoma hipofisario con una característica clínica de FIPA son diagnosticados al menos unos 4 años antes que pacientes con adenomas esporádicos. Las FIPAS heterogéneas con presencia de prolactinomas se han determinado que presentan características más agresivas con un mayor tamaño, invasivos y se extienden hacia el quiasma óptico (Beckers, Aaltonen, Daly, & Karhu, 2013).

1.5 Gen *AIP*

El gen *AIP* determinado de esta manera por generar la proteína que interactúa con el receptor de hidrocarburo arilo (*AIP*), se encuentra conformado por 6 exones, codificando para una proteína de 37 kDa de 330 aminoácidos, con una distribución a lo largo de varios tejidos en el organismo, presentando un tiempo de vida útil intracelular de 32.7 horas en humanos y 30.4 horas en ratones (Hernández-Ramírez *et al.*, 2016). Se ha comprobado que está involucrado con el crecimiento y división celular; y otra de las funciones que

desempeña es actuar como un gen supresor de tumores, codificando una proteína de control en la vía de proliferación celular (Genetics Home Reference, 2013).

El gen AIP se encuentra ubicado en el cromosoma 11 brazo q en la posición 13.2 (National Center of Biotechnology Information, 2018). Figura 3.



1.5.1 Función del gen *AIP*

El gen *AIP* se ha descrito como un gen supresor de tumores, generando una interacción entre proteínas que ayuda a regular funciones como el crecimiento y división de las células, controlando así la proliferación celular (Rica & Castaño, 2016).

Al existir mutaciones en la cadena codificante del gen *AIP* se inactiva la baja penetrancia del gen, presentando alrededor de 17 al 20 % de familias con FIPA, en casos esporádicos existe un reporte del 4 al 10 % de casos, y en el 50 % de los casos con mutación en el gen *AIP* se relaciona con un historial familiar positivo. Pacientes con mutaciones en este gen presentan un inicio temprano con secreciones agresivas de hormona del crecimiento, prolactina y adenomas mixtos de GH-PRL.

La proteína *AIP* presenta una característica con siete alfa hélices antiparalelas, las cuales presentan múltiples uniones entre los complejos de las fosfodiesterasas y la proteína

kinasa A, al presentarse alguna pérdida de estas interacciones se manifiesta el desarrollo de la tumorigénesis hipofisaria (Ibáñez-Costa & Korbonits, 2017).

Cuando existe un estímulo del receptor del factor estimulante de la hormona del crecimiento, este interactúa con los receptores de la proteína G, esta, conforma una subunidad proteica con la $G\alpha$ uniéndose a la adenil ciclasa, para catalizar la conversión de ATP a AMPc; la sobreproducción de AMPc produce la disociación de la subunidad de reguladores y catalizadores de la proteína quinasa A (PKA), liberando la subunidad catalítica el cual es un factor de transcripción para la expresión de la hormona del crecimiento (Bizzi, Bolger, Korbonits, & Ribeiro-Oliveira Jr., 2019).

Esta vía celular se regula por medio el complejo de las fosfodiesterasas 4A4, transformando al AMPc a su forma inactiva 5'AMP; la proteína *AIP* interactúa directamente con el complejo de fosfodiesterasas por medio de la unión de las co-chaperonas ubicadas en el carboxi terminal de la proteína *AIP*. Adicional a esto *AIP* regula la disociación de la subunidad catalítica y subunidad regulatoria de la proteína quinasa A. Sin embargo, mutaciones en el gen *AIP* intervienen directamente en la expresión de las fosfodiesterasas incrementando la proliferación celular y la expresión de la Hormona del crecimiento (Bizzi *et al.*, 2019).

Capítulo 2

Materiales y Métodos

La investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Biología Molecular del subproceso de Anatomía Patológica del Hospital de Especialidades Eugenio Espejo de Quito, con pacientes del servicio de endocrinología diagnosticados con acromegalia, quienes accedieron al estudio por medio de una autorización escrita para el uso de su muestra (anexo 1), como control se utilizó muestras del personal del servicio los cuales no presentan la enfermedad.

El estudio se evaluó sobre una población de 32 pacientes diagnosticados con la enfermedad, previa su autorización para realizar la toma de muestra de sangre.

2.1 Toma de muestra de sangre periférica.

La muestra de sangre se obtuvo de cada paciente con previa autorización, por medio de venopunción, se armó el sistema al vacío que consiste en un soporte, una aguja para vacutainer y un tubo vacutainer, se ubica la vena donde se va a realizar la punción, se coloca el torniquete 10 cm sobre la vena localizada anteriormente, se desinfecta la zona con algodón embebido en alcohol al 70 % y se procede con la punción venosa obteniendo aproximadamente 4 mL de sangre periférica, en tubos EDTA-K3 con la finalidad de evitar la coagulación de la muestra, una vez obtenida la muestra, fue etiquetada con los respectivos códigos de genética clínica, nombre del paciente, fecha y el tipo de prueba a realizarse, véase Tabla 2. Las muestras se conservan a 4 °C.

Tabla 2.

Codificación muestras sanguíneas.

Muestra	Codificación Genética Clínica	Codificación Investigación
1	GC17-023	AIP-001
2	GC17-038	AIP-002
3	GC17-039	AIP-003

Elaborado por: Los autores, 2019

2.2 Extracción de ADN genómico.

La técnica de extracción y purificación de ADN se realizó con el kit “High Pure Template Preparation Kit” de ROCHE, precalentando 50 µL de solución de elución (Elution Buffer) por cada muestra a 70 °C, las muestras fueron homogenizadas con un leve agitación para posteriormente tomar 200 µL de sangre total y colocarla en un tubo eppendorf libre de nucleasas de 1.5 mL, en un tubo adicional se preparó una mezcla que contenía 200 µL de solución de unión (Binding Buffer) y 40 µL de proteinasa K por cada muestra.

Una vez realizada la mezcla se añadió 240 µL de esta a cada muestra de sangre, se homogenizó y se incubó por 10 minutos a 70 °C, en este lapso de tiempo se armó y etiquetó las columnas de extracción con su respectivo tubo colector, trascurrida la incubación a cada muestra se agregó 100 µL de isopropanol y se homogenizó la solución, seguido a esto se transfirió aproximadamente 700 µL de la mezcla a las columnas respectivas, centrifugando a 8000 g durante 1 minuto, lo recolectado en la columna de extracción se colocó en un nuevo colector para proceder a los lavados.

Armada la columna se añadió 500 µL de solución de removedor de inhibidores (Inhibitor Removal Buffer) llevando a centrifugación por 1 minuto a 8000 g, posteriormente se removió y reemplazó el tubo colector para adicionar 500 µL de solución de lavado (Wash

Buffer) centrifugando por 1 minuto a 8000 g, descartando y reemplazando nuevamente el tubo colector, para añadir nuevamente 500 μ L de solución de lavado (Wash Buffer) y centrifugar por 1 minuto a 8000 g y después realizar una centrifugación a máxima velocidad por 10 segundos para asegurar que todo interferente sea eliminado.

Por último se descartó el tubo colector y las columnas fueron colocadas en tubos eppendorf de 1.5 mL previamente etiquetados, donde se añadieron 50 μ L de solución de elución previamente precalentado a 70 °C por cada muestra, las mismas que se centrifugaron por 1 minuto a 8000 g, se descartó la columna de extracción y se almaceno a -20 °C para su posterior análisis (Roche Diagnostic, 2008).

2.3 Cuantificación de ADN

La cuantificación se la realizó por medio de un espectrofotómetro Genova Nano Uv/Vis de Recor, primero se colocó 2 μ L de solución tampón de ADN genómico (Elusion Buffer ADN) con la finalidad de utilizarlo como blanco para la cuantificación, una vez encerrado el equipo se procedió a poner 2 μ L de la muestra en el lector del equipo, ya terminada la lectura, se toman los datos y se vuelve a colocar los 2 μ L de la solución tampón, se repitió el mismo procedimiento para cada muestra (Recor Dental y Quimedic, 2014).

2.4 Amplificación mediante PCR punto final

Para la amplificación de las secuencias se estableció un protocolo estandarizado por los autores, utilizando cebadores específicos para los exones que conforman el gen *AIP* descrito por (Vierimaa et al., 2006) véase Tabla 3. Los cebadores fueron diluidos en agua grado biología molecular, para obtener una concentración final de 2 μ M, adicional a esto se analizó en la base de datos NCBI (National Center of Biotechnology Information) con la secuencia (NG_008969.1 RefSeqGene) para encontrar similitud.

Tabla 3.

Primers específicos utilizados en la investigación.

Exones a amplificar	Secuencia		Temperatura de alineamiento (°C)	Tamaño del amplicón (pb)
1	Fw	CCGAGACATTCCTAGGCTCC	61	397
	Rv	CTCTCGCCTAAGGCCTCC		
2	Fw	GGA CTGGACTTCTCCTTGGG	61	347
	Rv	GTCTAGCAGAGGGTGGAGGG		
3	Fw	GATGGTGGTGGGGAAGG	61	359
	Rv	ACCCCTGGGTGGACAGG		
4-5	Fw	ATGTGGGTCAGGTCTGCTG	61	586
	Rv	AAAGGCTAGGTCTTGACCC		
6	Fw	AGGAGACATGAGGGCAGGC	62	469
	Rv	AACAGCCACCCAAGTACCAG		

Elaborado por: Los autores, 2019

La estandarización del protocolo para los diferentes exones se detalla en la Tabla 5, utilizando 3 μ L de muestra por cada exón, la amplificación se la realizó en un termociclador Boeco TC-TE con la siguiente programación: 40 ciclos dividido en cinco fases:

Desnaturalización inicial: 95 °C, 10 minutos; Desnaturalización: 95 °C, 10 segundos; Alineamiento: 61 °C, 45 segundos; Extensión: 72 °C, 45 segundos; Extensión final: 72 °C, 10 minutos. Esto se realizó para los exones del 1 al 4-5, mientras tanto para el exón 6 la temperatura de alineamiento fue de 62 °C por 45 segundos (Boeco Germany, 2012).

Tabla 4.

Protocolos de PCR utilizados para cada exón que conforma el gen *AIP*.

Reactivos	Exón 1	Exón 2	Exón 3	Exón 4-5	Exón 6
Agua grado biología molecular (µL)	6.7	6.7	6.7	6.7	6.8
Buffer (µL)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
MgCl₂ (µL)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.2
dNTPs (µL)	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Primer 2 µM (Fw) (µL)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Primer 2 µM (Rv) (µL)	1.5	1.5	1.5	1.5	1.5
Taq polimerasa (µL)	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2

Elaborado por: Los autores, 2019

2.5 Análisis de amplicones por electroforesis

Para observar las bandas esperadas, se realizó un gel de agarosa al 1 %. En un erlenmeyer de 500 mL se colocaron 0.5 g de agarosa y 50 mL de TBE 1X, los cuales fueron llevados al microondas por 3 minutos a una potencia de 50 W con la finalidad de que se fundiera la agarosa en el TBE, una vez obtenida la mezcla, se colocó 2 µL de SYBR Safe DNA gel stain de invitrogen, se homogenizó y colocó en la cubeta con sus respectivas peinetas hasta que se solidifique el gel (Invitrogen, 2012).

Una vez solidificado el gel, se ubicó la cubeta en la cámara de electroforesis, donde se colocó aproximadamente 400 mL de TBE 1X. En un pedazo de parafilm se colocó 2 µL de tampón de carga 6x DNA Loading de ThermoFisher Scientific por cada muestra, más 2 µL adicional para el marcador de peso molecular GeneRuler 50 bp DNA Ladder de ThermoFisher Scientific, se tomó 3 µL de muestra y se homogenizó con el tampón de carga correspondiente para la muestra, una vez homogenizada la mezcla se pipetea, y cuidadosamente se colocó todo el contenido en el pocillo correspondiente del gel;

de la misma manera se lo realizó con 2 μ L del marcador de peso molecular (ThermoFisher Scientific, 2012).

Cargadas todas las muestras se programó la fuente de poder con 120 voltios, corriente de 80 amperios y 40 minutos, se cubrió de la luz a todo el equipo con la ayuda de un papel toalla. Una vez que transcurrió el tiempo se retiró la cubeta de la cámara, y se la colocó en el transiluminador Gel documentation Felix 1040, 18 Mpixel camera de Biostep, que por medio de fotografías y luz UV fue posible visualizar las diferentes bandas que se logró amplificar en la PCR en el programa ArgusX1 7.14 de Biostep. En los casos que existió amplificación se conservó los tubos con los amplicones a -20 °C, aquellos que no amplificaron se descartaron para realizar el proceso de PCR nuevamente (Biostep, 2012).

2.6 Purificación de amplicones

Para la purificación de los diferentes exones se utilizó el kit comercial ExoSAP-IT For PCR Product Clean-Up de Applied Biosystems, se colocó 2 μ L de ExoSAP-IT y 5 μ L de muestra, esto se realizó por cada exón, a cada tubo se le dio un spin para homogenizar la solución. Se obtuvo 5 tubos PCR por cada paciente (Applied Biosystems, 2012d).

Cada tubo de PCR fue llevado al termociclador el cual fue programado de la siguiente manera: Activación de la enzima: 37 °C, 15 minutos; Desactivación de la enzima: 80 °C, 15 minutos, por un solo ciclo; logrando con esto obtener los productos libres de residuos de cebadores y dNTPs.

2.7 Reacción de Secuenciación

La reacción se llevó a cabo con el kit BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing de Applied Biosystems, realizando de la siguiente manera la Master Mix: agua grado biología molecular: 4.15 μ L; solución tampón: 1.75 μ L; BigDye: 0.3 μ L; primer forward: 1.6 μ L; primer reverse: 1.6 μ L; finalmente se coloca 2 μ L del producto purificado previamente.

Se analizó ambas cadenas del ADN de los diferentes exones para realizar la secuencia en ambos sentidos, utilizando los cebadores directos e inversos, colocando los cebadores en tubos diferentes. Véase en la Tabla 5 (Applied Biosystems, 2012b).

Tabla 5.

Protocolo para la reacción de secuencia para cada cadena de ADN.

Reactivos	Primer Forward	Primer Reverse
Agua grado biología molecular (µL)	4.15	4.15
Solución tampón (µL)	1.75	1.75
BigDye (µL)	0.3	0.3
Primer (2 µM) (µL)	1.6	1.6
PCR purificada (µL)	(2)	(2)

Elaborado por: Los autores, 2019

Después de homogenizar los diferentes tubos PCR por medio de un spin, se procedió a colocar los mismos en el termociclador con el siguiente protocolo: primera desnaturalización: 96 °C, 2 minutos; desnaturalización: 96 °C 10 segundos; Alineamiento: 50 °C, 5 segundos; Extensión: 60 °C, 3 minutos; esto se realiza por 30 ciclos.

2.8 Purificación de productos de secuenciación

Esta purificación se la realizó con el kit BigDye Xterminator Purification de Applied Biosystems, el cual contiene la solución SAM y la solución BigDye Xterminator. En un tubo eppendorf de 1.5 mL se realizó una Master Mix entre las dos soluciones del Kit, colocando 45 µL de solución SAM y 10 µL de solución BigDye Xterminator por cada muestra, se homogenizó por medio de vórtex la solución y en una placa de 96 pocillos se colocaron 55 µL de la Master Mix en cada pocillo, seguido a esto se colocó el volumen total de la muestra obtenida después de la PCR de secuencia (Applied Biosystems, 2012c). Una vez que se terminó de colocar todas las muestras en la placa, se ubicó la alfombrilla de sellado, y la placa fue llevada a agitación durante 30 minutos a 6000 rpm, transcurrido

este tiempo se realizó una centrifugación a 1000 g por 2 minutos, una vez terminada la centrifugación, el plato fue llevado al equipo de electroforesis capilar Genetic Analyzer 3500 de Applied Biosystems.

2.9 Electroforesis capilar

La técnica se realizó por medio del equipo Genetic Analyzer 3500 de Applied Biosystems; se creó primero la orden de trabajo en el software Data Collection v3.1 proporcionado por el proveedor, el tipo de ensayo seleccionado fue NEW Rapid_Seq_Assay-POP7, se eligieron: como se ubicaría el nombre del ensayo en la carpeta y, como se encontraría el grupo de resultados dentro de la misma (Applied Biosystems, 2012a).

Antes de ubicar la placa en el equipo, se debe colocar en el conjunto retenedor y base 96-Well Standard de Applied Biosystems para que se acople a este, una vez realizado este procedimiento, se colocó la placa en el equipo y se procedió a confirmar los parámetros preestablecidos, por último se dio inicio a la corrida (Applied Biosystems, 2012e).

2.10 Análisis de resultados

El análisis de las secuencias se realizó por medio del software SeqScape3, permitiendo identificar de manera rápida y oportuna las diferentes variables genéticas que existían en las secuencias estudiadas, con la ayuda de este software se encontró la ubicación, el tipo de variante y su cigosis, comparando con la secuencia molde NG_008969.1 RefSeqGene sin variantes genéticas, obtenida del GenBank del National Center of Biotechnology Information (National Center of Biotechnology Information, 2018).

La interpretación de cada electroferograma, se lo realiza gracias a que cada una de las bases nitrogenadas presenta una irradiación de un color determinado, el equipo recibe y traduce la señal, la cual es interpretada por el software presentando diferentes picos

en intensidad y color, de esta manera se logra realizar la lectura e identificación de las variantes.

Las regiones en las secuencias donde se presentaron algún tipo de variante, fueron marcadas por el software del equipo logrando de esta manera determinar la ubicación exacta de dicho cambio, y modificación producida a nivel de nucleótidos y posteriormente, determinar si existió un cambio de un aminoácido por otro, según el código genético.

2.11 Análisis estadístico

Se evaluaron diferentes variables entre las cuales destacan: el género, la ubicación geográfica, la edad debut, el tipo de tumor presente y la correlación de las diferentes variantes génicas con el desarrollo de la enfermedad por medio del modelo lineal de variables Dummy. Los parámetros evaluados fueron procesados en el programa estadístico InfoStat/L 2018.

Capítulo 3

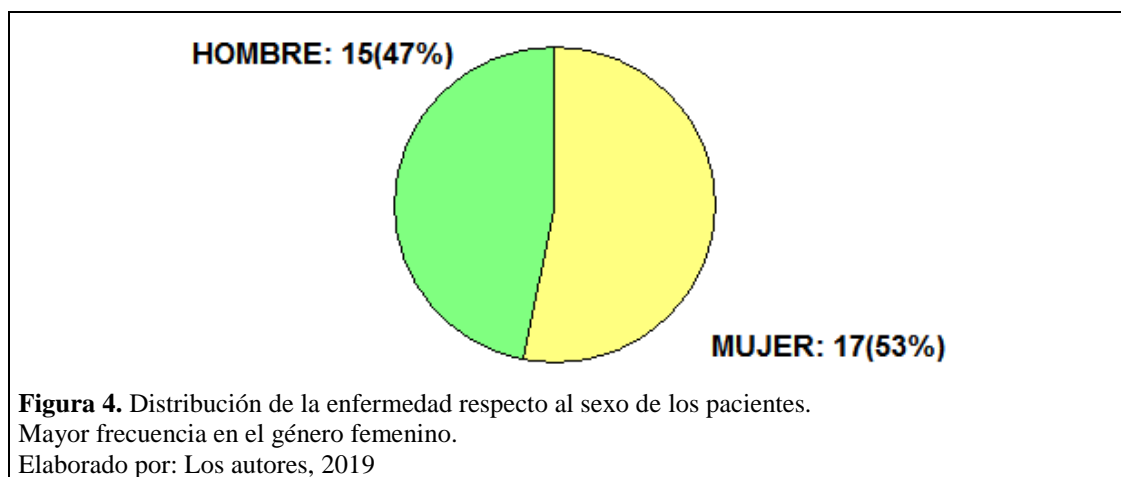
Resultados y Discusión

3.1 Características de la población en estudio

La población en estudio, estuvo comprendida por pacientes diagnosticados con acromegalia por el servicio de endocrinología del Hospital de Especialidades Eugenio Espejo de Quito, los pacientes fueron hombres y mujeres de diferentes edades y localidades, adicional a esto se obtuvieron los datos del tipo de tumor que presenta cada paciente, y la edad en la que empezó a presentar síntomas de la enfermedad.

3.1.1 Relación del sexo en la enfermedad

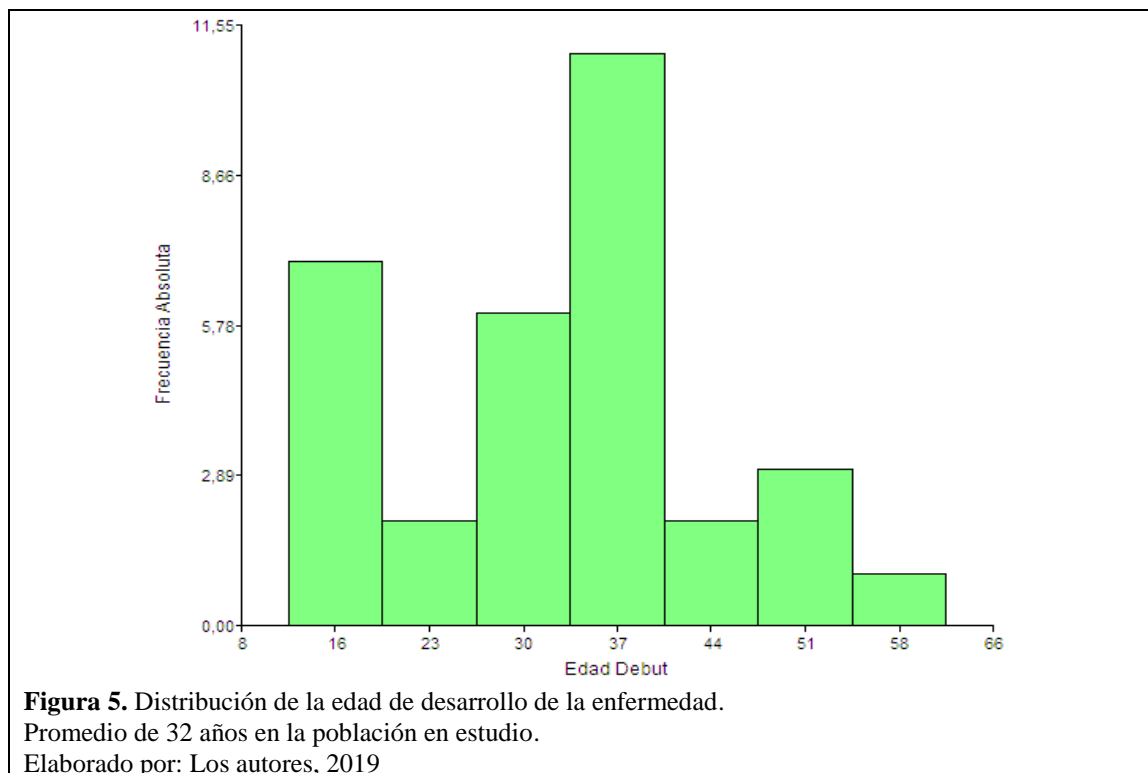
De los 32 pacientes en estudio, 15 fueron hombres, representando el 47 % de la población; mientras que los 17 pacientes restantes fueron mujeres, representando el 53 % de la población. De esta manera, se evidenció un mayor número de casos en mujeres como lo describe (Cecenarro et al., 2015); mientras tanto (Rojas, 2003) menciona en su estudio, que no existe una correlación entre el género y el desarrollo de la enfermedad. En la figura 4 se indica la distribución que presenta la acromegalia en relación al sexo del paciente.



3.1.2 Edad debut de los pacientes

La edad en la que empezaron a presentar signos y síntomas cada paciente, oscila entre los 12 a 62 años para la población en estudio, presentando una media estadística de 32.6 ± 11.8 años, a diferencia de los estudios realizados por (Sesnilo, 2013) en España, donde la edad debut calculada para población en estudio es de 44.2 ± 17 años; de la misma manera un estudio previo sobre la prevalencia de la enfermedad dentro del Ecuador dirigido por (Gavilanez López *et al.*, 2016), nos indica una edad promedio de debut de 47.3 ± 16.7 años en pacientes de la ciudad de Guayaquil.

Por esta razón, se pudo corroborar que la enfermedad puede presentarse en diversos estadios de la vida del paciente. En la figura 5 se indica la distribución de la edad debut.



3.1.3 Tipos de tumores presentes en la población

Dentro de la población en estudio, se logró determinar que 23 de los 32 pacientes presentaban un macroadenoma secretor de GH, representando un 72 % de la población y, únicamente 7 de los 32 casos presentan un microadenoma que representa el 22 % de la población, indicando que está directamente relacionado con el desarrollo clínico de la enfermedad.

Estos datos corroboran estudios previos de (Luque *et al.*, 2016; Tortosa & Webb, 2016) sobre adenomas secretores de hormona de crecimiento, donde se manifiesta que la prevalencia de macroadenomas está relacionado con el desarrollo de la acromegalia por diferentes factores bioquímicos o moleculares.

Dos de los pacientes en estudio fueron intervenidos quirúrgicamente en otras casas de salud, por esta razón no se pudo obtener la información sobre el tipo de adenoma que presentaron. En la figura 6 se indica la frecuencia de los tipos de tumor presentes en la población estudiada, y el porcentaje de incidencia dentro del estudio.

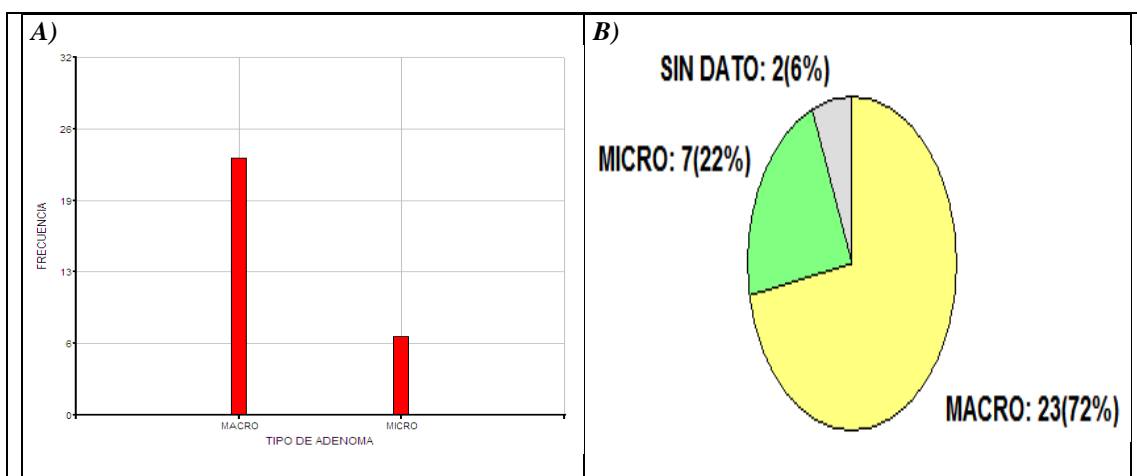


Figura 6. Frecuencia de presencia de adenomas.

A) Frecuencia del tipo de tumor presente en la población en estudio. B) Porcentaje de incidencia de los tipos de tumor dentro del estudio.

Elaborado por: Los autores, 2019

3.1.4 Ubicación geográfica de los pacientes

Los pacientes que fueron parte del estudio son originarios de varias provincias del país; 50 % corresponden a la provincia de Pichincha; 9 % a Cotopaxi; 9 % a Tungurahua; 6 % a Carchi, Manabí, y Loja respectivamente; y 3 % a las provincias de Chimborazo, El Oro, Sucumbíos e Imbabura. Se tuvo como centro médico de referencia al Hospital de Especialidades Eugenio Espejo de Quito.

En la figura 7 se indica el porcentaje y la distribución geográfica por provincias de los pacientes que conformaron el estudio.

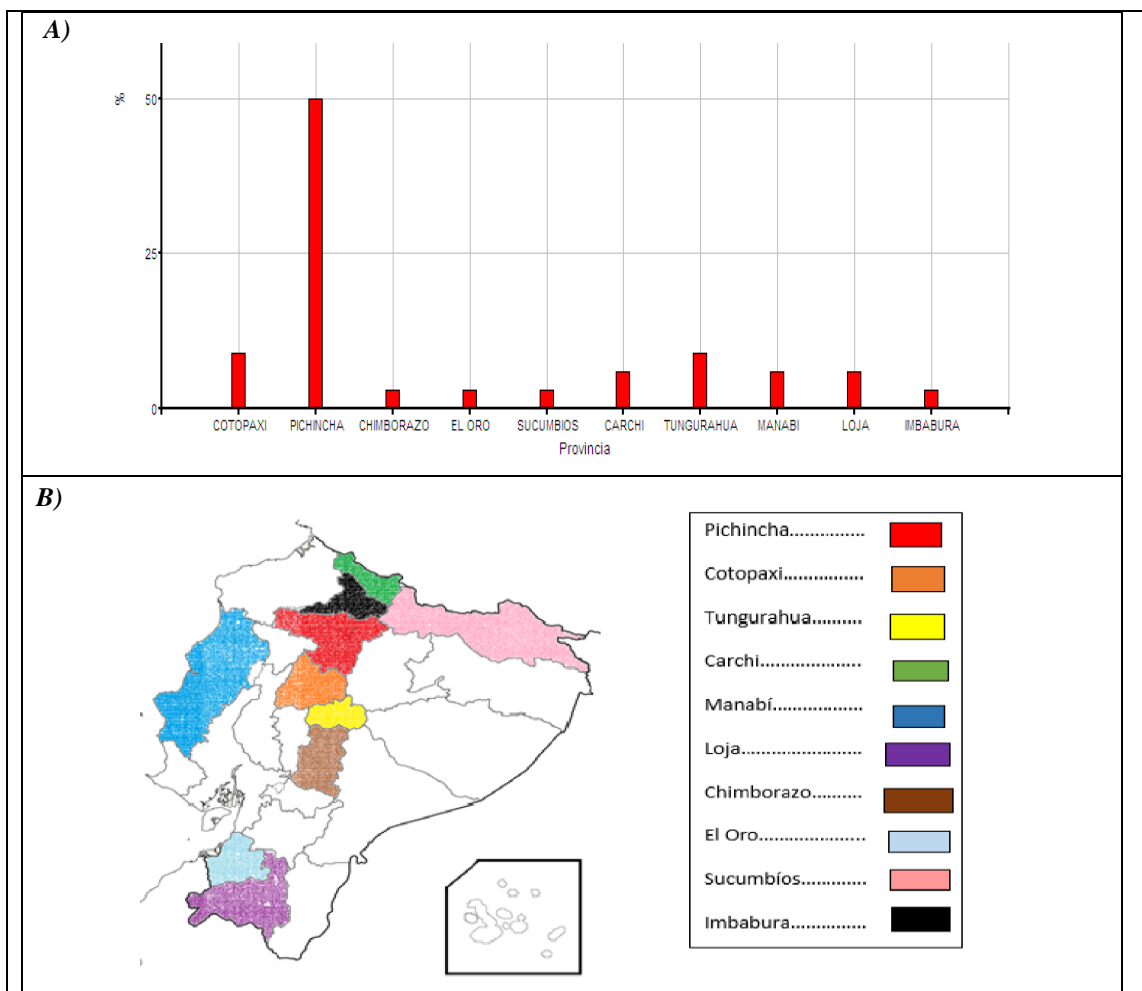


Figura 7. Distribución geográfica de los pacientes.

A) Relación porcentual de la distribución por provincias de la enfermedad. B) Mapa de la distribución geográfica de la enfermedad.

Elaborado por: Los autores, 2019

A nivel de país no existe un registro de la localización de los pacientes afectados con acromegalia, sin embargo, Gavilanez López *et al.*, (2018) menciona en su trabajo que existe una prevalencia de 18.7 casos por millón de habitantes en el Ecuador, corroborando la información presentada por Chanson & Salenave, (2008) quienes en su trabajo describen a la acromegalia como una enfermedad rara y su tardío diagnóstico por parte de los especialistas en salud.

3.2 Análisis Molecular

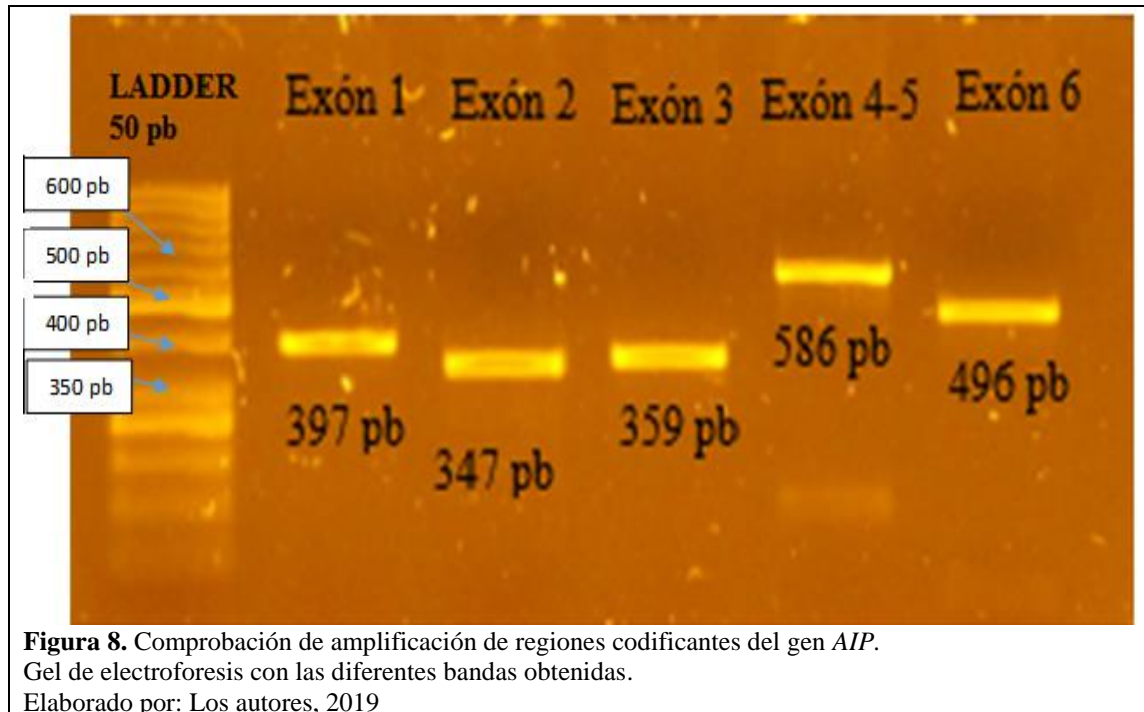
3.2.1 Extracción del ADN

Se obtuvo 50 μL de ADN diluido en el tampón de elución de cada una de las muestras de sangre periférica. Se utilizó la cuantificación de ácidos nucleicos, por medio del espectrofotómetro, la concentración promedio obtenida fue de 62.243 $\text{ng}/\mu\text{L}$ y una pureza de 1.8. Los valores de pureza son similares a los mencionados por Bernal, Castaño-Cerezo, & Lozano, (2012) donde indican que la relación de absorbancias de A260/A280 debe presentarse entre el rango de 1.8 y 2.0 para considerarse un ADN libre de contaminantes y totalmente puro, parámetro de importancia para la realización de la secuenciación (Roche Diagnostic, 2008).

3.2.2 Amplificación del gen *AIP*

Las muestras de ADN obtenidas de los 32 pacientes, fueron amplificadas con el uso de la técnica de PCR de punto final. La correcta estandarización de las condiciones de PCR son el pilar fundamental para la realización de cualquier prueba diagnóstica en función de un análisis molecular (Jurado-orejuela, Paredes-Amaya, & Libreros-Zúñiga, 2016). Se amplificaron los 6 exones de los 32 pacientes y 19 controles, presentando bandas únicas,

de buena calidad y concentración para cada región. Los amplicones de cada exón están conformados por: 397 pb, 347 pb, 359 pb, 586 pb y 469 pb respectivamente (figura 8).



3.3 Análisis de secuencias

Por medio del programa SeqScape3 se pudo analizar la secuencia codificante completa del gen *AIP*, logrando identificar variantes en los diferentes exones, obteniendo un total de 8 polimorfismos y 1 mutación en la población que presenta la enfermedad, mientras que en los controles se reportan 2 variantes.

3.3.1 Exón 1

En los pacientes con acromegalia se encontró un cambio de una guanina por una citosina en la posición 70 de la cadena codificante, produciendo un cambio del aminoácido ácido glutámico (carácter ácido) por la glutamina (carácter neutro); al ser esta una mutación un cambio de sentido, produce una proteína incapaz de cumplir las funciones normales para

la cual es codificada (Galan Chilet, 2015). Este cambio se encontró en dos pacientes sin ningún tipo de relación el uno con el otro, representando el 6.3 % de la población. Hernández-Ramírez *et al.*, (2015) describen una mutación en la misma posición pero con el cambio c.70 G>T, con una población de 238 individuos analizados de los cuales 9 pacientes presentaron la mutación, esta mutación está asociada con una proteína truncada, lo que provoca la aparición de un codón terminador formando proteínas incompletas, la cual se considera patogénica.

La variante encontrada no ha sido reportada en bases de datos, en la base de datos (ClinVar, 2017) se reporta una mutación en la posición c.72 G>C la cual produce un cambio del aminoácido ácido glutámico por el ácido aspártico con una significancia clínica incierta, ya que no se conoce la afectación clínica que produce esta mutación. Dentro del análisis del grupo control no se evidencio la presencia de ninguna variante en este exón.

3.3.2 Exón 4

Un paciente presentó el cambio de nucleótido en la posición 516 de la cadena de ADN, la variación de una citosina por una timina, siendo una mutación sinónima ya que se codifica el mismo aminoácido (ácido aspártico) que la secuencia molde. Esta variante corresponde al 3.2 % de la población en estudio; Buchbinder *et al.*, (2008) reporta esta variante como patogénica, presentando una significancia clínica en el desarrollo de adenomas productores de GH, su estudio estuvo comprendido por una cohorte de 110 pacientes caucásicos de Alemania, evidenciando la presencia del polimorfismo D172D en tres pacientes con acromegalia; sin embargo (Karaca, Taheri, Tanriverdi, Unluhizarci, & Kelestimur, 2015) reporta que dicho polimorfismo es de características benignas. En el grupo control no se encontró ningún cambio en la cadena de ADN en este exón.

3.3.3 Exón 5

Los pacientes con acromegalia, presentaron tres variantes génicas en el exón 5:

- El cambio de una citosina por una adenina en la posición 628, se encontró en sus dos formas de cigosis, dicho cambio produce el aminoácido lisina (carácter básico) en lugar del aminoácido glutamina (carácter neutro); este cambio genera una mutación de cambio de sentido la cual puede ocasionar la codificación de una proteína con una actividad mayor promoviendo el desarrollo de adenomas (Roig Fernández, 2017).

La variante c.682 C>A se presentó en el 100 % de los pacientes, 31 en homocigosis y 1 en heterocigosis; de igual manera en la muestra control también presentó esta variante génica en sus dos formas de cigosis presentándose 1 caso en heterocigosis y 18 casos en homocigosis. Yarman, Ogret, & Oguz, (2015), presentaron en su trabajo la relevancia que presenta este polimorfismo en las personas con acromegalia, debido a que esta variante se encuentra en la región final del gen por lo que presenta una gran importancia en el desarrollo de adenomas, a pesar de no presentar significancias clínicas al ser una variante de carácter benigna, este autor solo describe el polimorfismo en homocigosis; a pesar que estos estudios muestran una importancia clínica, en nuestro estudio ponemos en evidencia que esta variante no puede ser tomada en cuenta para un diagnóstico de la enfermedad en la población ecuatoriana, ya que se presenta tanto en pacientes con acromegalia como en un grupo de personas sanas, por lo que se podría estar comportando como un polimorfismo poblacional.

- En la posición 729 se encuentra el cambio de una guanina por una adenina, en el 31.3 % de los pacientes, dando como resultado la codificación de un aminoácido igual al presentado por la referencia, codificando para la valina. En el grupo control no existió la presencia de esta variante en ninguno de los casos.
- El cambio de una citosina por una timina en la posición 741 se encontró en el 25 % de los pacientes, produciendo un aminoácido igual al de la referencia siendo este una tirosina. Dentro del grupo control no se evidenció la presencia de esta variante.

Para ambos casos no existen reportes sobre las variantes, por lo que este sería el primer reporte, para los pacientes ecuatorianos.

3.3.4 Exón 6

En el exón 6 se describen 3 variantes a lo largo de su cadena codificante:

- El cambio en la posición 920 de una adenina por una guanina, genera el cambio de una glutamina (carácter neutro) por una arginina (carácter básico). Este cambio se presentó en el total de la población en estudio, encontrándose tanto en pacientes como en el grupo control, por lo que no podría ser utilizada como marcador molecular para el diagnóstico de la enfermedad, ya que se podría estar comportando como un polimorfismo poblacional dentro del país. Yarman *et al.*, (2015) describen de la misma manera a este polimorfismo en una población turca de 151 pacientes con adenomas hipofisarios y 70 controles en el estudio, evidenciando la presencia del polimorfismos en la población, por lo cual le da la categoría de benigno en su significancia clínica.

- En la posición 808, se presentó el cambio de una adenina por una guanina en la cadena codificante, asociada con el cambio de ácido glutámico (carácter ácido) por la lisina (carácter básico), dicha variante se identificó en un solo paciente representando el 3.2 % de la muestra, en el grupo control no existió este cambio en ningún caso. No existen reportes sobre esta variante.
- En la posición 1053, un solo paciente presentó el cambio de una guanina por una citosina en heterocigosis, a pesar de presentarse el cambio en la cadena codificante, no existe el cambio de aminoácido (mutación sinónima) codificando una leucina. Este cambio no se evidencio en el grupo control. Esta variante no se encuentra reportada en bases de datos, siendo este su primer reporte.

En la tabla 6 se indica las variantes encontradas y su cambio aminoacidito. En la figura 11 se indica la distribución de las variables dentro del estudio.

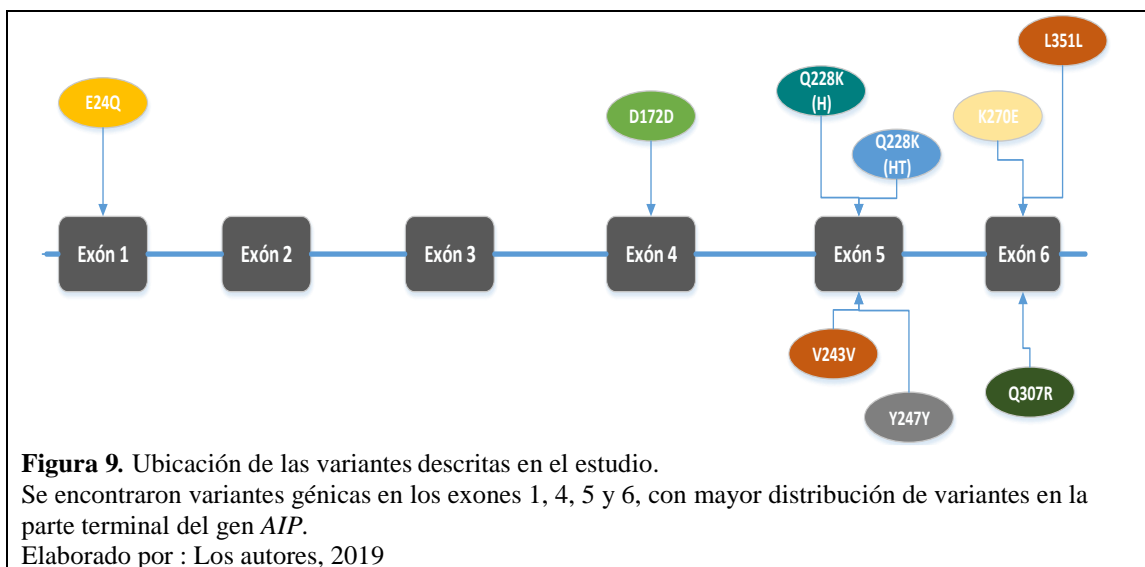
Tabla 6.

Ubicación de variantes.

	Codón mutado	Aminoácido normal	Aminoácido modificado	Nomenclatura peptídica	Referencia
Exón 1	c.70 G>C	Ácido glutámico	Glutamina	p. E24Q	Primer reporte en este estudio
Exón 4	c.516 C>T	Ácido aspártico	Ácido aspártico	p. D172D	rs2276020
Exón 5	c.682 C>A	Glutamina	Lisina	p. Q228K	rs641081
Exón 5	c.729 G>A	Valina	Valina	p. V243V	Primer reporte en este estudio
Exón 5	c.741 C>T	Tirosina	Tirosina	p. Y247Y	Primer reporte en este estudio
Exón 6	c.808 A>G	Lisina	Ácido glutámico	p. K270E	Primer reporte en este estudio
Exón 6	c.920 A>G	Glutamina	Arginina	p. Q307R	rs4930199
Exón 6	c.1053 G>C	Leucina	Leucina	p. L351L	Primer reporte en este estudio

Elaborado por: Los autores, 2019

La mayoría de variantes encontradas en la investigación se encuentra en los exones 5 y 6 (figura 9), corroborando información de diversos autores, quienes mencionan que las variantes en las regiones finales del gen *AIP*, se encuentran relacionadas con una vida significativamente más corta de la proteína, afectando principalmente a la región carboxi-terminal de la proteína, cambios conformacionales dentro de la proteína se asocian con un menor tiempo de vida intracelular de la misma, aumentando el índice en el desarrollo de los adenomas hipofisarios secretores de hormona del crecimiento (Bizzi *et al.*, 2019; Chahal, Chapple, Frohman, Grossman, & Korbonits, 2010; Lecoq *et al.*, 2015).



A nivel mundial, las variantes D172D, Q228K Y Q307R se reportan como patogénicas y con predisposición al desarrollo de adenomas hipofisarios, esto correlacionado con el presente estudio pone en evidencia la diferencia entre la población europea y la ecuatoriana presentando las mismas variantes sin implicancia clínica. En la tabla 7 se indica tres diferentes estudios en el gen *AIP* con la distribución de las variantes en las distintas poblaciones estudiadas a nivel mundial y la correlación con la población analizada en este estudio.

Tabla 7.Comparación de estudios a nivel mundial en el gen *AIP* con la presente investigación.

Variantes población ecuatoriana			Otros estudios		
Codón mutado	Nomenclatura peptídica	Número de pacientes	(Hernández-Ramírez <i>et al.</i> , 2015)	(Buchbinder <i>et al.</i> , 2008)	(00 <i>et al.</i> , 2015)
c.70 G>C	<i>p. E24Q</i>	2	c.70 G>T 9 Casos de 238 estudiados descrita como patogénica	No descrita	No descrita
c.516 C>T	<i>p. D172D</i>	1	No descrita	3 pacientes de 110 estudiados, descrita como polimorfismo silencioso	No descrita
c.682 C>A	<i>p. Q228K (H)</i>	31	No descrita	No descrita	114 Pacientes estudiados, se reporta el polimorfismo en pacientes y controles
c.682 C>A	<i>p. Q228K (HT)</i>	1	No descrita	No descrita	No descrita
c.729 G>A	<i>p. V243V</i>	10	No descrita	No descrita	No descrita
c.741 C>T	<i>p. Y247Y</i>	8	No descrita	No descrita	No descrita
c.808 A>G	<i>p. K270E</i>	1	No descrita	No descrita	No descrita
c.920 A>G	<i>p. Q307R</i>	32	No descrita	No descrita	114 pacientes estudiados, se reporta el polimorfismo en pacientes y controles
c.1053 G>C	<i>p. L351L</i>	1	No descrita	No descrita	No descrita

Elaborado por: Los autores, 2019

3.4 Análisis estadístico

En base a la correlación estadística por medio del modelo lineal de variables Dummy, se evidenció que la variante V243V, puede estar asociada con el desarrollo de microadenomas ($p = < 0.05$), esta variante se encontró en mayor proporción en los pacientes comparación a las otras variantes descritas.

Conclusiones

Se encontraron 9 variantes génicas, E24Q, D172D (H), Q228K (HT), Q228K (H), V243V (H), Y247Y (H), Q307R (H), K270E (H), L351L (HT), dentro de las cuales las variantes Q228K (HT), Q228K (H) y Q307R (H) se encontraron tanto en pacientes con la enfermedad como en el grupo control en el 100 % de los casos.

Se reportan cinco variantes nuevas para el gen *AIP* para la población con acromegalia del Ecuador E24Q, V243V (H), Y247Y, K270E, L351L. La variante V243V se correlaciona con los microadenomas en pacientes con acromegalia ($p = < 0.05$)

Las variantes D172D, Q228K, Q307R, han sido asociadas con el desarrollo de adenomas hipofisarios, síndromes de predisposición al cáncer de carácter benigno, y se encuentran ubicados dentro de los adenomas hipofisarios aislados familiares “FIPAS”. Sin embargo, en nuestro estudio las variantes Q228K (H) y Q307R (H) fueron reportadas en pacientes y controles, por lo que se pueden comportar como polimorfismos poblacionales.

En el Ecuador el rango de edad debut oscila entre los 12 a 62 años, con una media de 32 años, la aparición tardía de la enfermedad en nuestro país puede deberse a que el diagnóstico demora entre 10 a 15 años.

Recomendaciones

Mantener en constante seguimiento a los familiares de los pacientes diagnosticados con acromegalia en etapas tempranas, para brindarles un asesoramiento genético, lo que ayudará a identificar la existencia de algún polimorfismo o mutación en el gen *AIP*, que podrían llegar a ser adquiridas o hereditarias, considerando el estado genealógico del paciente.

Realizar el estudio del gen *AIP* con un número mayor de muestras con la final de determinar si las variantes Q228K y Q307R se comportan como polimorfismos poblacionales ecuatorianos.

Procurar sectorizar la atención médica de los pacientes con enfermedades raras, con el fin de poder brindar una atención global y sistematizada a todos los pacientes y de esta manera poder obtener los datos necesarios para futuras investigaciones y tratamientos.

El trabajo multidisciplinario entre los diferentes servicios promueve un avance técnico-práctico en los diversos roles ocupados por cada especialista. Es de vital importancia contar con el recurso humano correspondiente y capacitado para cada área dentro de investigación.

Realizar el estudio de los genes: *GNAS*, *GPR101*, *HGH/PRL* relacionados a mutaciones en líneas tumorales, y los genes: *X-LAG*, *MEN 1*, *MEN 4*, *PDE8*, *PDE11A*, al complejo *SDHX* y *DICER1*, relacionado a mutaciones en líneas germinales; con el fin de establecer un panel genético para el correcto diagnóstico de la enfermedad.

Referencias

- AEA Acromegalia. (2018). Principales signos y síntomas de la Acromegalia. Retrieved January 29, 2019, from Asociación Española de Afectados por Acromegalia website: <http://tengoacromegalia.es/principales-signos-sintomas-la-acromegalia/>
- Applied Biosystems. (2012a). 3500 Series Genetic Analyzers. Retrieved September 3, 2018, from ThermoFisher Scientific website: <https://www.thermofisher.com/ec/en/home/life-science/sequencing/sanger-sequencing/sanger-sequencing-technology-accessories/applied-biosystems-sanger-sequencing-3500-series-genetic-analyzers/3500-series-genetic-analyzer.html>
- Applied Biosystems. (2012b). BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit. Retrieved January 9, 2019, from ThermoFisher Scientific website: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4337455>
- Applied Biosystems. (2012c). BigDye XTerminator Purification Kit. Retrieved January 10, 2019, from Thermo Fisher Scientific website: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4376486>
- Applied Biosystems. (2012d). ExoSAP-IT™ For PCR Product Clean-Up. Retrieved January 9, 2019, from ThermoFisher Scientific website: <https://www.fishersci.ca/shop/products/affymetrix-exosap-it-for-pcr-product-clean-up-4/p-4375788>

- Applied Biosystems. (2012e). Retainer Base Set (Standard) for 3500/3500xL Genetic Analyzers. Retrieved January 14, 2019, from ThermoFisher Scientific website: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4410228>
- Arroyo, M. C., Mestrón, A., & Webb, S. M. (2005). Acromegalia: morbilidad y mortalidad de la acromegalia. *Elsevier*, 52(Supl 3), 2–6.
- Asamblea Nacional del Ecuador. (2008). Constitución del Ecuador 2008. In Asamblea Nacional (Ed.), *Asamblea Nacional* (p. 200). Retrieved from <https://www.asambleanacional.gob.ec/es?fbclid=IwAR1DD5sZqq7goXkesIDwCADY9oip6kA3OjwoTyqgEfqWQ0q9Mgkym5RJfY>
- Beckers, A., Aaltonen, L. A., Daly, A. F., & Karhu, A. (2013). Familial Isolated Pituitary Adenomas (FIPA) and the Pituitary Adenoma Predisposition due to Mutations in the Aryl Hydrocarbon Receptor Interacting Protein (AIP) Gene. *Endocrine Reviews*, 34(2), 239–277. <https://doi.org/10.1210/er.2012-1013>
- Bernal, V., Castaño-Cerezo, S., & Lozano, P. (2012). *Prácticas de Biología Molecular* (Primera; Librero, Ed.). Murcia.
- Betanzos, R. R., Gerardo, E., Pérez, D., Apolonia, S., Montaña, A., Sánchez, V., ... Mendoza, C. (2009). Acromegalia. *Medicina Interna de Mexico*, 25(6), 468–480. Retrieved from www.nietoeditores.com.mx
- Biostep. (2012). Gel documentation Felix 1040, 18 Mpixel camera. Retrieved January 11, 2019, from Biostep website: https://www.biostep.de/i18n_en_US/products/Bio_Imaging_systems_1754/Gel_documentation_systems_1755/PC_controlled_systems_with_digital_camera_1757/Gel_documentation_Felix_1040__18_Mpixel_camera_3/index.html#

- Bizzi, M. F., Bolger, G. B., Korbonits, M., & Ribeiro-Oliveira Jr., A. (2019). Phosphodiesterases and cAMP Pathway in Pituitary Diseases. *Frontiers in Endocrinology*, *10*(141), 10. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00141>
- Boeco Germany. (2012). Boeco Thermal Cycler TC-TE. Retrieved January 15, 2019, from Boeco Germany website: <https://www.boeco.com/artikelShow.php?ID=421>
- Buchbinder, S., Bierhaus, A., Zorn, M., Nawroth, P. P., Humpert, P., & Schilling, T. (2008). Aryl hydrocarbon receptor interacting protein gene (AIP) mutations are rare in patients with hormone secreting or non-secreting pituitary adenomas. *Experimental and Clinical Endocrinology and Diabetes*, *116*(10), 625–628. <https://doi.org/10.1055/s-2008-1065366>
- Buitrago Orjuela, L. Á., Pardo Santamaría, D. F., Lozano, A. J., Benítez, B. Y., & Carvajal, M. F. (2018). Resección de adenomas hipofisarios. *Ciencia y Salud Virtual*, *9*(2), 104–111. <https://doi.org/10.22519/21455333.973>
- Caballero, M. (2015). *EVIDENCIA NEUROFISIOLÓGICA DEL ESTADO NEUROCOGNITIVO EN PACIENTES CON ACROMEGALIA TRATADA FARMACOLÓGICAMENTE*. Universidad de Sevilla.
- Caimari, F., & Korbonits, M. (2016). Novel genetic causes of pituitary adenomas. *Clinical Cancer Research*, *22*(20), 5030–5042. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-16-0452>
- Carbajal, L., & Navarrete, J. (2015). Enfermedades raras. *Acta Pediatr Mex*, *36*(6), 369–373.

- Castaño, L., Martínez De La Piscina, I., Portillo, N., & Rica, I. (2017). Adenomas hipofisarios: Impacto clínico de los hallazgos moleculares. *Rev Esp Endocrinol Pediatr*, 8(39), 11. <https://doi.org/10.3266/RevEspEndocrinolPediatr.pre2017.Apr.397>
- Ceballos-Macías, J., José, M. M. C., Ana, M. M. C., Mendizábal-Méndez, L., Hazel, M. M. C., & Rodríguez-Benítez, G. (2015). Correspondencia: Acromegalia-gigantismo: reporte de un caso y revisión bibliográfica Acromegaly and gigantism: a case report and literature review. *Caso Clínico Rev Sanid Milit Mex*, 69, 483–493. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/pdfs/sanmil/sm-2015/sm155m.pdf>
- Cecenarro, L. A., Fantón, E. T., Estario, P., Papalini, R. F., & Estario, M. E. (2015). Adenomas hipofisarios: análisis de la casuística de 10 años. *Revista de La Facultad de Ciencias Médicas*, 72(1), 32–38.
- Chahal, H. S., Chapple, J. P., Frohman, L. A., Grossman, A. B., & Korbonits, M. (2010). Clinical, genetic and molecular characterization of patients with familial isolated pituitary adenomas (FIPA). *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 21(7), 419–427. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2010.02.007>
- Chanson, P., & Salenave, S. (2008). Acromegaly. *Orphanet Journal of Rare Diseases*, 3(1), 17. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-3-17>
- ClinVar. (2017). NM_003977.3 (AIP): c.72G>C (p.Glu24Asp) Simple - Informe de variación - ClinVar - NCBI. Retrieved April 23, 2019, from NCBI website: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/485057/#clinical-assertions>
- Cordido, F., García Arnés, J. A., Marazuela Aspiroz, M., & Torres Vela, E. (2013). Guía práctica de diagnóstico y tratamiento de la acromegalia. *Endocrinología y Nutrición*, 60(8), 457–473. <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2013.01.012>

- Despaigne, O. L. P., Despaigne, M. S. P., & Cascaret, A. R. (2015). Acromegalia: diagnóstico y tratamiento. *Medisan*, 19(3), 403–416. Retrieved from http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30192015000300013
- Enríquez-Estrada, V. M., Castillo-Galindo, C., Javier Gómez-Pérez, F., Ángel Gómez-Sámano, M., Nava-De La Vega, A., Roldán-Sarmiento, P., & Cuevas-Ramos, D. (2016). Actualidades diagnósticas y terapéuticas en acromegalia. *Rev Mex Endocrinol Metab Nutr*, 3, 200–214. Retrieved from www.endocrinologia.org.mx
- Fajardo-montañana, C., Daly, A. F., Riesgo-suárez, P., Gómez-vela, J., Tichomirowa, M. A., Camara-gómez, R., & Beckers, A. (2009). Mutaciones de AIP en adenomas hipofisarios familiares y esporádicos: experiencia local y revisión de la literatura. *Endocrinología y Nutrición*, 56(7), 369–377. [https://doi.org/10.1016/S1575-0922\(09\)72456-8](https://doi.org/10.1016/S1575-0922(09)72456-8)
- Federación Española de Enfermedades Raras. (2016). INFORMACIÓN GENERAL SOBRE ENFERMEDADES RARAS. Retrieved July 10, 2019, from FEDER website: <https://enfermedades-raras.org/index.php/enfermedades-raras?jjj=1562788105159>
- Galan Chilet, I. (2015). *Identificación de variantes genéticas poco frecuentes y raras en Diabetes mellitus tipo 2 mediante secuenciación de exoma*. Universidad de Valencia.
- García-Manzanares, A., Montesinos, I. G., Fournier, N. G., & Hernández, J. Á. (2016). Adenomas no funcionantes de la hipófisis. *Medicine (Spain)*, 12(15), 850–856. <https://doi.org/10.1016/j.med.2016.06.021>

- Gavilanez López, E., Guerrero Franco, K., Solórzano Zambrano, N., Navarro Chávez, M., López Estrella, C., Vaca Burbano, L., & Marriott Díaz, E. (2016). Epidemiology of acromegaly in Ecuador. *Endocrinología y Nutrición (English Edition)*, 63(7), 333–338. <https://doi.org/10.1016/j.endoen.2016.08.001>
- Gavilanez López, E., Litardo, N. B., Bonilla, M. H., Chavez, M. N., Gualpa, H. A., Bajana, A. S., ... Zuniga, A. C. (2018). Acromegaly: Current Challenges and Future Directions in Latin America. *Journal of Clinical & Experimental Pathology*, 08(01), 1–5. <https://doi.org/10.4172/2161-0681.1000337>
- Genetics Home Reference. (2013, August). AIP GENE aryl hydrocarbon receptor interacting protein. Retrieved September 3, 2018, from National Library of Medicine website: <https://academic.oup.com/jcem/article-lookup/doi/10.1210/jc.2011-2291>
- Hernández-Ramírez, L. C., Gabrovska, P., Dénes, J., Stals, K., Trivellin, G., Tilley, D., ... Korbonits, M. (2015). Landscape of familial isolated and young-onset pituitary adenomas: Prospective diagnosis in AIP mutation carriers. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 100(9), E1242–E1254. <https://doi.org/10.1210/jc.2015-1869>
- Hernández-Ramírez, L. C., Martucci, F., Morgan, R. M. L., Trivellin, G., Tilley, D., Ramos-Guajardo, N., ... Korbonits, M. (2016). Rapid proteasomal degradation of mutant proteins is the primary mechanism leading to tumorigenesis in patients with missense AIP mutations. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 101(8), 3144–3154. <https://doi.org/10.1210/jc.2016-1307>
- Ibáñez-Costa, A., & Korbonits, M. (2017). AIP and the somatostatin system in pituitary tumours. *Journal of Endocrinology*, 235(3), R101–R116. <https://doi.org/10.1530/JOE-17-0254>

- Iglesias Fuentes, J. N., García Rodas, R. L., Tómalá Vera, G. M., & Vaca Antepará, B. A. (2019). Diagnóstico y tratamiento de macroadenomas hipofisarios en pediatría. *Revista Científica Mundo de La Investigación y El Conocimiento*, 3(2), 21. [https://doi.org/10.26820/recimundo/3.\(2\).abril.2019.82-102](https://doi.org/10.26820/recimundo/3.(2).abril.2019.82-102)
- Igreja, S., Chahal, H. S., King, P., Bolger, G. B., Srirangalingam, U., Guasti, L., ... Yoshimoto, K. (2010). Characterization of aryl hydrocarbon receptor interacting protein (AIP) mutations in familial isolated pituitary adenoma families. *Human Mutation*, 31(8), 950–960. <https://doi.org/10.1002/humu.21292>
- Invitrogen. (2012). SYBR Safe - DNA Gel Stain. Retrieved January 10, 2019, from ThermoFisher Scientific website: <https://www.thermofisher.com/ec/en/home/life-science/dna-rna-purification-analysis/nucleic-acid-gel-electrophoresis/dna-stains/sybr-safe.html>
- Jurado-orejuela, D., Paredes-amaya, C., & Libreros-zúñiga, G. (2016). Validación técnica de una PCR : Reacción en cadena de la polimerasa para la detección de Chlamydia trachomatis Technical validation of a polymerase chain reaction for Chlamydia trachomatis detection. *Salud Uninorte*, 32(3), 398–410.
- Karaca, Z., Taheri, S., Tanriverdi, F., Unluhizarci, K., & Kelestimur, F. (2015). Prevalence of AIP mutations in a series of Turkish acromegalic patients: are synonymous AIP mutations relevant? *Pituitary*, 18(6), 831–837. <https://doi.org/10.1007/s11102-015-0659-0>
- Katznelson, L., & Atkinson, J. L. D. (2011). American Association of Clinical Endocrinologists Medical Guidelines for Clinical Practice for the Diagnosis and Treatment of Acromegaly-2011. *AACE Acromegaly Guidelines*, 17(4), 44.

- Lecoq, A.-L., Kamenický, P., Guiochon-Mantel, A., & Chanson, P. (2015). Genetic mutations in sporadic pituitary adenomas—what to screen for? *Nature Reviews Endocrinology*, *11*(1), 43–54. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2014.181>
- Lucas, T., & Catalá, M. (2005). Guía clínica del diagnóstico y tratamiento de la acromegalia. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, *52*(1), 18–21. Retrieved from <http://www.elsevier.es/es-revista-endocrinologia-nutricion-12-pdf-S1575092205709724>
- Luque, R. M., Ibáñez-Costa, A., Sánchez-Tejada, L., Rivero-Cortés, E., Robledo, M., Madrazo-Atutxa, A., ... Castaño, J. P. (2016). El Registro Molecular de Adenomas Hipofisarios (REMAH): una apuesta de futuro de la Endocrinología española por la medicina individualizada y la investigación traslacional. *Endocrinología y Nutrición*, *63*(6), 274–284. <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2016.03.001>
- Manavela, M. (2009). ACROMEGALIA. *SEPARATA LINEA DELTA*, *17*(8), 21. Retrieved from <http://www.montpellier.com.ar/Uploads/Separatas/179.pdf>
- Manavela, M., Juri, A., Danilowicz, K., & Bruno, O. (2010). Enfoque terapeutico en 154 pacientes con acromegalia. *Medicina*, *70*(4), 328–332.
- Mayo Clinic. (2018). Acromegalia - Síntomas y causas. Retrieved February 2, 2019, from Mayo Clinic website: <https://www.mayoclinic.org/es-es/diseases-conditions/acromegaly/symptoms-causes/syc-20351222>
- Melgar, V., Espinosa, E., Cuenca, D., Valle, V., & Mercado, M. (2015). Current diagnosis and treatment of acromegaly. *Revista Medica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, *53*(1), 74–83. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25680646>

- Mercado, M. (2012). Tratamiento farmacológico de la acromegalia. *Revista de Endocrinología y Nutrición*, 20(3), 120–130. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/endocrinologia>
- National Center of Biotechnology Information. (2018). AIP aryl hydrocarbon receptor interacting protein [Homo sapiens (human)] - Gene - NCBI. Retrieved September 10, 2018, from NCBI website: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=9049>
- Orrego, A. (2018). Hipertensión arterial en entidades endocrinas. *Revista Colombiana de Endocrinología, Diabetes y Metabolismo*, 5(3), 19–27.
- Ortega, S. S., Aguiar, Y. H., Marrero, P. P., & Casas, S. M. (2015). Addison's disease and ACTH-producing pituitary microadenoma. *Revista Médica Del Hospital General De México*, 78(4), 177–179. <https://doi.org/10.1016/j.hgmx.2015.08.007>
- Pita, F. (2015). *INFLUENCIA DEL TRATAMIENTO PREQUIRÚRGICO DE LA ACROMEGALIA CON ANÁLOGOS DE SOMATOSTATINA* (Universidad de Coruña). Retrieved from https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/16381/PitaGutierrez_Francisco_TD_2015.pdf?sequence=4&isAllowed=y
- Recor Dental y Quimedic. (2014). ESPECTROFOTÓMETRO GENOVA NANO UV/VIS (LBGE3002). Retrieved January 15, 2019, from Recor Dental y Quimedic website: <https://www.recordq.com/sitioweb/www/index.php?r=producto/detalleProducto&prodId=676&subId=165>
- Rica, I., & Castaño, L. (2016). *CARACTERIZACIÓN CLÍNICA Y MOLECULAR DE LOS ADENOMAS HIPOFISARIOS EN NIÑOS Y ADOLESCENTES*.

- Roche Diagnostic. (2008). High Pure PCR Template Preparation Kit. Retrieved from Roche website: http://www.roche-diagnostics.ch/content/dam/corporate/roche-dia_ch/documents/broschueren/life_science/qPCR-NAP/Manual-NAPI/05204933001_EN_EA_High-Pure-PCR-Template-Preparation-Kit.pdf
- Roig Fernández, J. (2017). *Identificación de variantes genéticas en los genes CLCN1 y SCN4A en personas con miotonías hereditarias no distróficas*. Universidad de Costa Rica.
- Rojas, W. (2003). Actualización en acromegalia. *Repertorio de Medicina y Cirugía*, 12(1), 59–66.
- Rúa, C., Sierra, G. L., & Maya, G. C. (2011). Diagnostico de Acromegalia. *Medicina & Laboratorio*, 17(11–12), 511–531.
- Sesnilo, G. (2013). Epidemiología de la acromegalia en España. *Endocrinología y Nutrición*, 60(8), 470–474. <https://doi.org/10.1016/j.endonu.2012.09.010>
- ThermoFisher Scientific. (2012). GeneRuler 50 bp DNA Ladder. Retrieved January 10, 2019, from Thermo Fisher Scientific website: <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/SM0371>
- Torres, E. R., Alberto, J., Choqueticlla, M., Luis, J., Copa, B., Curi, L. L., & Palomeque, I. C. (2017). Apoplejía hipofisaria , presentación de dos casos clínicos y revisión del tema Pituitary apoplexy , presentation of two clinical cases and review of the subject. *Revista Cubana de Endocrinología*, 28(3), 1–13.
- Tortosa, F., & Webb, S. M. (2016). Adenomas hipofisarios atípicos: Experiencia de 10 años en un centro de referencia de Portugal. *Neurología*, 31(2), 97–105. <https://doi.org/10.1016/j.nrl.2015.06.010>

- Vallecillos Tortosa, F. J. (2018). *Adenomas de la glándula hipofisaria : Correlaciones clínico-patológicas e inmunohistoquímicas en un centro de referencia de Portugal*. Francisco José Tortosa Vallecillos Director / Tutor de tesis : Susan Webb Youdale. Universidad AUtonoma de Barcelona.
- Vierimaa, O., Georgitsi, M., Lehtonen, R., Vahteristo, P., Kokko, A., Raitila, A., ... Aaltonen, L. A. (2006). Pituitary adenoma predisposition caused by germline mutations in the AIP gene. *Science*, 312(5777), 1228–1230. <https://doi.org/10.1126/science.1126100>
- WHO. (2013). Unidos para combatir las enfermedades raras. Retrieved July 10, 2019, from WHO website: <https://www.who.int/bulletin/volumes/90/6/12-020612/es/>
- Yarman, S., Ogret, Y. D., & Oguz, F. S. (2015). Do the Aryl Hydrocarbon Receptor Interacting Protein Variants (Q228K and Q307R) Play a Role in Patients with Familial and Sporadic Hormone-Secreting Pituitary Adenomas? *Genetic Testing and Molecular Biomarkers*, 19(7), 394–398. <https://doi.org/10.1089/gtmb.2014.0333>

Anexos

Anexo 1. Formato de consentimiento informado



HOSPITAL DE ESPECIALIDADES EUGENIO ESPEJO

CONSENTIMIENTO INFORMADO

1. Información general

En el Hospital de Especialidades Eugenio Espejo en la ciudad de Quito, a los ___ días del mes de _____ del 201_, se procede a la emisión del acta de **consentimiento informado** relativa al estudio molecular de: _____.

2. Información relativa al paciente

El paciente _____, con cédula de identidad _____, vecino de _____, natural de _____, de género _____ y estado civil _____.

Información del estudio

Este documento sirve para que usted, o quien lo represente, de su consentimiento para la participación de la toma de muestra en esta intervención y posterior diagnóstico de la enfermedad. Esto significa que nos autoriza a realizarla. Usted puede retirar este consentimiento cuando lo desee. Firmarlo no le obliga a usted a realizarse la intervención. De su rechazo no se derivará ninguna consecuencia adversa respecto a la calidad del resto de la atención recibida. Antes de firmar, es importante que lea despacio la información siguiente.

- 2.1 **En que consiste:** Extracción de una muestra biológica (sangre venosa periférica) destinada a la realización de estudios genéticos.
- 2.2 **Cómo se realiza:** Se procederá a la extracción de muestra de sangre venosa periférica por venopunción, mediante solicitud emitida por el facultativo autorizado y según los Manuales de Toma de Muestras del Laboratorio Clínico.
- 2.3 **Qué efectos le producirá:** la venopunción provocará ligero dolor tras la inserción de la aguja. La aparición de un ligero hematoma, que se evitará aplicando una presión adecuada tras la punción venosa.
- 2.4 **En qué le beneficiará:** El estudio genético aportará información que ayude en el diagnóstico de la enfermedad estudiada.
- 2.5 **Qué riesgos tiene:** Cualquier actuación médica tiene riesgos. Por eso es importante que usted conozca los riesgos que pueden aparecer en este proceso o intervención. Los efectos secundarios de una extracción de sangre son poco comunes.

Elaborado por: Los autores, 2019

3. Otra información de interés

El estudio molecular de: _____, puede ayudar a la confirmación del diagnóstico clínico, con el fin de realizar una detección precoz y empezar el tratamiento de la enfermedad. De dicha información se pueden derivar repercusiones para otros miembros de su familia de padecer dicha enfermedad y el riesgo de transmitirla a su descendencia. Así mismo pueden aparecer problemas psicológicos o conductuales derivados de la información obtenida.

Entre las limitaciones de estos exámenes hay que tener en cuenta que en algunas ocasiones la técnica actual no permite la detección del 100% de la causa de la enfermedad en estudio, con lo cual el resultado no concluyente no cambiará la conducta clínica.

La muestra obtenida se guardará siempre cumpliendo con las normas establecidas de bioseguridad del laboratorio correspondiente y respetando la confidencialidad de los resultados los cuales serán divulgados solo al paciente o su representante legal.

4. Profesionales que intervienen en el proceso de información y/o consentimiento

Apellidos y Nombre	Cargo	Fecha	Firma
--------------------	-------	-------	-------

5. Consentimiento

Yo, _____, manifiesto que estoy conforme con la intervención que se me ha propuesto. He leído y comprendido la información anterior. He podido preguntar y aclarar todas mis dudas. Por eso he tomado consciente y libremente la decisión de autorizarla. También sé que puedo retirar mi consentimiento cuando lo estime oportuno.

SI NO Autorizo la conservación y utilización posterior de mis muestras biológicas para diagnóstico relacionada directamente con la enfermedad que padezco.

En ciudad de Quito, a los ___ días del mes de _____ del 20__.

Firma del paciente

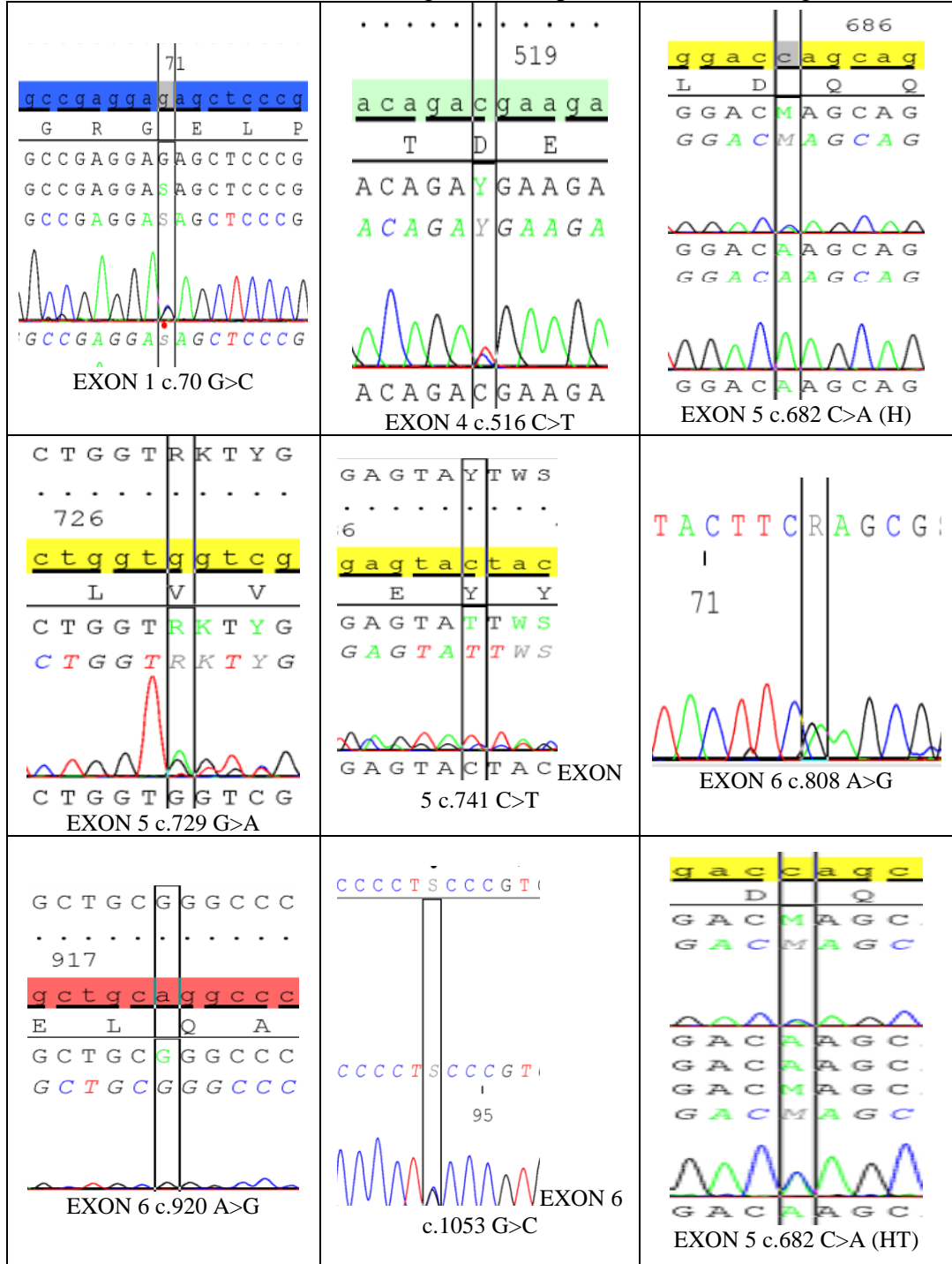
Firma del representante legal

Anexo 2. Formato de registro de pacientes

CÓDIGO-AIP	EDAD	PROVINCIA	CUANTIFICACIÓN (ng/uL)	PUREZA	RESULTADO SECUENCIACIÓN						SEXO	EDAD DEBUT	TIPO DE TUMOR
					Exón 1	Exón 2	Exón 3	Exón 4	Exón 5	Exón 6			
AIP-001	32	COTOPAXI	104.520	1,860	WT	WT	WT	WT	Q228K (H) + V243V	Q307R (H)	MUJER	30	macro
AIP-002	19	PICHINCHA	43.313	1,836	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H) + K270E	HOMBRE	16	macro
AIP-003	14	PICHINCHA	26.026	2,000	WT	WT	WT	WT	Q228K (HT) + V243V + Y247Y	Q307R (H)	HOMBRE	12	micro
AIP-004	20	CHIMBORAZO	47.378	1,753	WT	WT	WT	WT	Q228K (H) + V243V	Q307R (H)	HOMBRE	18	macro
AIP-005	43	COTOPAXI	143.740	1,828	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	MUJER	43	macro
AIP-006	58	COTOPAXI	15.463	2,015	WT	WT	WT	WT	Q228K (H) + V243V + Y247Y	Q307R (H)	HOMBRE	54	macro
AIP-007	54	EL ORO	64.785	1,956	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	MUJER	44	macro
AIP-008	42	SUCUMBIOS	32.933	1,880	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	MUJER	37	micro
AIP-009	38	CARCHI	3605	1,922	E24Q	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	HOMBRE	32	macro
AIP-010	69	PICHINCHA	5.815	1,998	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	MUJER	50	macro
AIP-011	35	PICHINCHA	73.354	1,723	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	HOMBRE	27	macro
AIP-012	61	PICHINCHA	3.189	1,811	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	HOMBRE	35	macro
AIP-013	42	PICHINCHA	20.942	1,831	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	HOMBRE	19	macro
AIP-014	35	PICHINCHA	46.753	1,841	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	MUJER	30	macro
AIP-015	36	PICHINCHA	69.434	1,884	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	MUJER	35	macro
AIP-016	64	PICHINCHA	64.953	1,823	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	HOMBRE	62	macro
AIP-017	45	PICHINCHA	40.220	1,805	WT	WT	WT	D172D	Q228K (H)	Q307R (H)	MUJER	35	macro
AIP-018	38	TUNGURAGUA	49.213	2,264	WT	WT	WT	WT	Q228K (H) + V243V + Y247Y	Q307R (H)	MUJER	28	micro
AIP-019	39	MANABI	70.788	1,751	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	MUJER	36	macro
AIP-020	39	CARCHI	94.853	1,881	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	HOMBRE	36	macro
AIP-021	31	PICHINCHA	40.559	1,992	WT	WT	WT	WT	Q228K (H) + V243V + Y247Y	Q307R (H) + L351L (HT)	HOMBRE	18	macro
AIP-022	45	LOJA	29.611	1,94	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	MUJER	38	macro
AIP-023	29	PICHINCHA	32.36	1,925	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	MUJER	24	micro
AIP-024	54	PICHINCHA	50.459	1,758	WT	WT	WT	WT	Q228K (H) + V243V + Y247Y	Q307R (H)	MUJER	34	micro
AIP-025	41	PICHINCHA	53.496	2,165	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	MUJER	36	-
AIP-026	26	PICHINCHA	152.31	1,883	WT	WT	WT	WT	Q228K (H) + V243V + Y247Y	Q307R (H)	MUJER	16	macro
AIP-027	29	TUNGURAGUA	81.624	1,747	E24Q	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	HOMBRE	18	macro
AIP-028	53	LOJA	17.389	1,87	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	MUJER	48	macro
AIP-029	56	TUNGURAGUA	42.241	2,117	WT	WT	WT	WT	Q228K (H) + V243V + Y247Y	Q307R (H)	HOMBRE	40	micro
AIP-030	29	PICHINCHA	60.911	1,883	WT	WT	WT	WT	Q228K (H) + V243V + Y247Y	Q307R (H)	HOMBRE	23	macro
AIP-031	43	IMBABURA	77.283	2,087	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	HOMBRE	31	-
AIP-032	45	MANABI	121.13	1,975	WT	WT	WT	WT	Q228K (H)	Q307R (H)	MUJER	39	micro

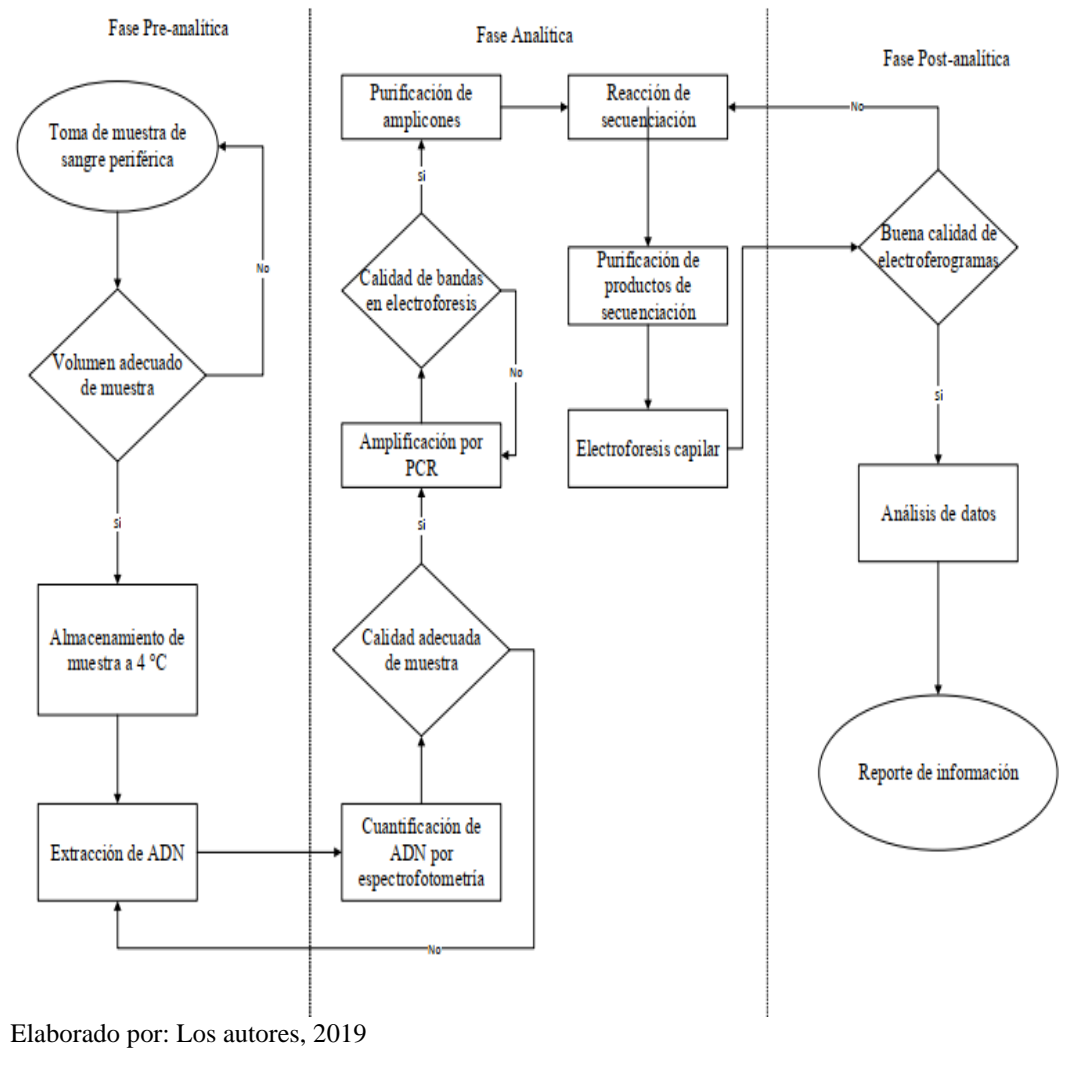
Elaborado por: Los autores, 2019

Anexo 3. Variantes encontradas en el gen AIP de pacientes con acromegalia



Elaborado por: Los autores, 2019

Anexo 4. Flujograma del proceso experimental



Anexo 5. Proyecto de Vinculación Caracterización psicosocial, clínica y molecular en pacientes con acromegalia del Hospital de Especialidades Eugenio Espejo



INFORME DE PROYECTOS

3 de mayo de 2018

PEDIDO

NOMBRE DEL PROYECTO:

PROGRAMA VINCULACIÓN

OBJETIVO DE DESARROLLO

INSTITUCIÓN EXTERNA INVOLUCRADA **DURACIÓN DEL PROYECTO**

TALENTO HUMANO EJECUTOR **Carrera UPS**

ESTUDIANTES PARTICIPANTES

Objetivo específico	Indicador	Meta	Medios de verificación
Identificar los conflictos psicosociales que presentan las personas que padecen la enfermedad de acromegalia	No. de afectados identificados	Contar con el 90% de la información actualizada de los pacientes con acromegalia que acuden al HEE y la identificación de la variable de conflicto psicosocial con mayor reincidencia	Fichas médicas
	No. de afectados que presentan conflictos psicosociales		
	No. de conflictos psicosociales encontrados y que muestran resiliencia en los afectados		
	No. afectados que requieren acompañamiento psicosocial		
Implementar programas de acompañamiento psicosociales para mejorar la calidad de vida de los pacientes que padecen la enfermedad de acromegalia.	No. de grupos conformados por los afectados	Al término del proyecto se cuenta con un programa de acompañamiento aprobado por el HEE y el 83% de los afectados presentan mejoras en su calidad de vida	Matrices de seguimiento de actividades.
	No. de sesiones realizadas		
	No. de evaluaciones realizadas		
	No. de afectados que presentan mejoría en su calidad de vida		
Caracterizar molecularmente el gen AIP implicado en el desarrollo de la Acromegalia, que ayudará a la determinación de los factores hereditarios y a su prevención.	No. de muestras tomadas de los afectados	Caracterizar al menos el 80% de muestras de los afectados de acromegalia que tiene el HEE.	Informe de resultados.
	No. de secuencias analizadas de los afectados		
	No. de mutaciones encontradas que en el gen AIP.		
	No. de mutaciones que están asociadas a la acromegalia		

Tipo (Externo/Interno)	Financiamiento	Monto total	Observaciones
Interno	UPS	6853,72	El siguiente valor se divide de la siguiente manera: 1. USD 2833,92 corresponde al costo hora de los docentes de las Carreras de Psicología y Biotecnología, no es un valor desembolsable para el proyecto 2. USD 4019,80, es un valor desembolsable para el proyecto que se asumirá desde el Vicerrectorado para la compra de los reactivos y movilización.
Externo	Hospital Eugenio Espejo	28350	

Resolución Consejo de Carrera de Psicología No. 0501-011-2018-04-24
Resolución Consejo de Carrera de Biotecnología No. 0490-014-2018-04-16

Mgs. Nancy Bastidas
REVISIÓN
DIRECTORA DE VINCULACIÓN CON
LA SOCIEDAD UPS SEDE QUITO

Ph.D José Juncosa
APROBACIÓN
VICERRECTOR
SEDE QUITO



Oficio N° 011

Quito, D.M. 24 de abril de 2018

Master

Bastidas Arroyo Nancy

Directora Técnica de Vinculación con la Sociedad Sede Quito

Presente

De mi Consideración

EL CONSEJO DE CARRERA PSICOLOGIA SEDE QUITO reunido el 24 de abril del 2018, resolvió:

RESOLUCION No. 0501-011-2018-04-24

El Consejo de Carrera de Psicología, resuelve: AVALAR el Proyecto: CARACTERIZACIÓN PSICOSOCIAL, CLÍNICA Y MOLECULAR EN PACIENTES CON ACROMEGALIA DEL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES EUGENIO ESPEJO, presentado por el docente Romero Cruz Juan Carlos, responsable del proyecto que se va a realizar en conjunto con la Carrera de Biotecnología de los Recursos Naturales.

Atentamente,



Gino Eduardo Grondona Opazo
PRESIDENTE CONSEJO DE CARRERA



27-ABR-2018 15:27:08
PAGINA: 1 DE 1

SECRETARÍA DE CAMPUS EL GIRÓN

Av. 12 de Octubre N24-22 y Wilson • Bloque A, PB • Teléfonos: 3962 800 / 3962 900 Ext.: 2126
Teléfono directo: 3962 819 • Correo electrónico: eacosta@ups.edu.ec

Oficio N° 014

Quito D.M., 16 de abril de 2018

Señora Doctora
Nancy Bastidas
Directora Técnica de Vinculación con la Sociedad

Presente

De mi Consideración

EI CONSEJO DE CARRERA BIOTECNOLOGIA DE LOS RECURSOS NATURALES SEDE QUITO reunido el 16 de abril del 2018, resolvió:

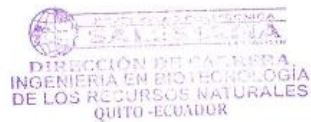
RESOLUCION No. 0490-014-2018-04-16

El Consejo de Carrera de Biotecnología de los Recursos Naturales, resuelve: AVALAR el Proyecto "CARACTERIZACIÓN PSICOSOCIAL, CLÍNICA Y MOLECULAR EN PACIENTES CON ACROMEGALIA DEL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES EUGENIO ESPEJO", presentado por la docente Germania Karolys del Área de Vinculación de la Carrera, proyecto que se va a realizar en conjunto con la Carrera de Psicología.

Atentamente,



Diana Lucia Calero Consuegra
PRESIDENTE CONSEJO DE CARRERA



17-ABR-2018 16:16:01
PAGINA: 1 DE 1

SECRETARÍA DE CAMPUS EL GIRÓN

Av. 12 de Octubre N24-22 y Wilson • Bloque A, PB • Teléfonos: 3962 800 / 3962 900 Ext.: 2126
Teléfono directo: 3962 819 • Correo electrónico: eacosta@ups.edu.ec



DIRECCIÓN DE VINCULACIÓN CON LA SOCIEDAD

Carreras: Ingeniería en Biotecnología de los Recursos Naturales y Psicología

PROYECTO: CARACTERIZACIÓN PSICOSOCIAL, CLÍNICA Y MOLECULAR EN PACIENTES CON ACROMEGALIA DEL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES EUGENIO ESPEJO

Entidad Solicitante : Hospital Eugenio Espejo

Entidad proponente : Universidad Politécnica Salesiana, Carrera de Psicología, Carrera de Biotecnología de los Recursos Naturales

Quito, – marzo, 2018



CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

Página 1 de 9

Campus el Girón, Bloque B, Av. Isabel La Católica N23-52 y Madrid • Teléfono directo: 3962 878
Teléfonos: 396 2800 / 396 2900 Ext: 2217 • Correo electrónico: dcalero@ups.edu.ec



1. INFORMACIÓN GENERAL

1.1. Título del proyecto

Caracterización psicosocial, clínica y molecular en pacientes con acromegalia del Hospital de Especialidades Eugenio Espejo

1.2. Área del Conocimiento:

Ciencias Sociales y del Comportamiento Humano, Ciencias de la Vida.

1.3. Tiempo de Duración

1.3.1. Fecha de inicio: abril 2018

1.3.2. Fecha de finalización: octubre 2019

1.3.3. Duración total: 18 meses entre abril 2018 y octubre 2019

1.4. Instituciones participantes

Contactos Institucionales:

Hospital Eugenio Espejo: promotora

Nombre: Dra. Gabriela Jaramillo

Teléfono: 0987234136

Correo: gaby_jaramillo@yahoo.com

Universidad Politécnica Salesiana:

Carrera de Biotecnología	Carrera de Psicología
Germania Karolys Teléfono: 3962 800/900 ext. 2298 Correo: gkarolys@ups.edu.ec	Juan Carlos Romero Teléfono: 3962 800/900 Correo: jromeroc@ups.edu.ec

1.5. Financiamiento (resumen del presupuesto)

Tipo (Externo/Interno)	Financiamiento	Monto total	Observaciones
Interno	UPS	6853.72	El siguiente valor se divide de la siguiente manera: 1. USD 2833.92 corresponde al costo hora de los docentes de las Carreras de Psicología y Biotecnología, no es un valor desembolsable para el proyecto 2. USD 4019.80, es un valor desembolsable para el proyecto que se asumirá desde el Vicerrectorado para la compra de los reactivos y movilización.
Externo	Hospital Eugenio Espejo	28350	El financiamiento será en recursos humanos (diagnóstico médico) materiales y reactivos durante el diagnóstico de la enfermedad.

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

Página 2 de 9

Campus el Girón, Bloque B, Av. Isabel La Católica N23-52 y Madrid • Teléfono directo: 3962 878
Teléfonos: 396 2800 / 396 2900 Ext: 2217 • Correo electrónico: dcalero@ups.edu.ec

El proyecto se lo realizará a pacientes con acromegalia del Hospital Eugenio Espejo de Quito, que acuden de varias provincias del país.

2. DIAGNÓSTICO

2.1. Línea base

Las enfermedades catastróficas son un problema social debido a la incapacidad que causan, está también la discriminación y la exclusión de los diferentes grupos sociales, afectando de manera directa a las personas con estas enfermedades. Por parte del gobierno se han establecidos leyes que apoyan a las personas con discapacidad a ser incluidas por la sociedad en ámbitos laborales y sociales, considerando además, la atención de calidad con respecto a la salud o educación, como lo menciona la constitución en el artículo 48 y el artículo 50. (Asamblea Nacional, 2008)

La Acromegalia es una enfermedad crónica multisistémica causada por la segregación excesiva de hormona del crecimiento, usualmente causado por el desarrollo de un tumor benigno en la glándula pituitaria, en raras ocasiones la patología se puede presentar de manera paranoplastica por la presencia de tumores en los órganos ubicados a nivel del tórax. Los principales signos y síntomas de la enfermedad son el crecimiento desproporcionado del esqueleto, tejidos blandos y órganos internos, causando principalmente el crecimiento excesivo, produciendo malformaciones faciales y acrales, además de esto produce un crecimiento desmesurado de órganos como el corazón, hígado, piel y la glándula tiroides, síntomas que aparecen de manera lenta y progresiva durante varios años llegando a presentarse en décadas, lo que retrasa de manera significativa el diagnóstico de 10 a 15 años. (Arellano, Domínguez, & Aguilar, 2007; Rúa, Sierra, & Maya, 2011)

Según la Fundación de Apoyo a Enfermos con Trastornos Hipofisarios (F.A.E.T.H) en el país hasta el 2009 existía cerca de 100 personas con la enfermedad, llegando hacer un grupo de alto impacto; actualmente cerca de 250 personas padecen de la enfermedad. Dicha asociación está conformada por personas que presentan la discapacidad de diferentes partes del país teniendo su sede principal en la ciudad de Guayaquil con el apoyo directo del Hospital Universitario de Guayaquil y el Hospital de Especialidades Eugenio Espejo en la ciudad de Quito en donde cada año se realiza una reunión para tratar los diferentes temas que aquejan a esta población. (El Comercio, 2017; F.A.E.T.H, 2017)

Con la finalidad de abordar esta problemática se plantea el presente proyecto el cual se basa en describir cual es la relación existente entre la Acromegalia y el nivel de aceptación social, con lo que se plantea caracterizar el comportamiento psicosocial, características clínicas y alteraciones moleculares en pacientes con acromegalia del Hospital de Especialidades Eugenio Espejo, con la finalidad de comprender como el desarrollo de la enfermedad durante las diferentes etapas ha influido en la calidad de vida de cada paciente.

Esto se lo realizará con la intervención de Universidad Politécnica Salesiana y el Hospital de Especialidades Eugenio Espejo con apoyo de la Carrera de Psicología se levantarán datos psicosociales, se realizarán encuestas de calidad de vida a los pacientes con acromegalia y, por parte de la Carrera de Biotecnología se realizará el estudio molecular del gen implicado en el desarrollo de la Acromegalia con la finalidad de determinar los factores hereditarios y su prevención. El Hospital de Especialidades Eugenio Espejo aportará con equipos y personal capacitado para el seguimiento y realización del proyecto. La determinación de los factores que promueven la enfermedad es un punto clave para entender el desarrollo de la misma y de esta manera poder abordar el aspecto psicosocial, clínico y molecular de la enfermedad.

La generación del proyecto, el estudio de esta enfermedad y la vinculación con la sociedad, ayudará a la comunidad que presenta acromegalia a conocer con anticipación si un familiar puede presentar esta

enfermedad, y que esta puede ser heredable, la finalidad del proyecto es ofrecer un diagnóstico temprano a los familiares de los pacientes para brindar un tratamiento adecuado y disminuir la discapacidad dentro de este grupo de personas.

2.2. Situación problematizante (problema, oportunidad, y/o necesidad)

Dentro de Ecuador existen grupos de priorización dentro de los cuales entran aquellas personas que presentan algún nivel de discapacidad, sea está provocada por algún tipo de accidente o enfermedad. Dentro de esta perspectiva entran aquellas personas que sufren de acromegalia, dicha enfermedad causa un crecimiento desmesurado de la zona acral y el rostro, dificultando que la persona afectada pueda realizar las diferentes actividades de su vida diaria, como realizar trabajos manuales, atender necesidades básicas personales y adicional pueden presentar problemas de aprendizaje si es el caso de que la enfermedad haya empezado a desarrollarse a temprana edad impidiendo el correcto desarrollo cognitivo del paciente. (Arellano et al., 2007)

La enfermedad presenta un caso clínico particular al no solo afectar a las extremidades del cuerpo, este padecimiento está ligado a problemas a nivel sistémico afectando diferentes órgano, produciendo problemas a nivel cardio-respiratorio, endocrinológico, visuales, gastrointestinales y metabólicos, por ello se ve la necesidad de contar con un diagnóstico oportuno con la finalidad de contrarrestar los diferentes signos y síntomas presentados por la enfermedad. (Rúa et al., 2011)

En el Ecuador la F.A.E.T.H reúne a las personas con la enfermedad, encontrándose más de 250 casos registrados, la fundación se ha encargado de gestionar que por parte del CONADIS se les otorgue un nivel de discapacidad a cada persona, adicional a esto se ha logrado conseguir que las personas con esta enfermedad puedan ser beneficiarias de un bono por parte del gobierno.

Normalmente el diagnóstico dura alrededor de 10 a 15 años hasta que se puedan evidenciar los signos y síntomas de la enfermedad, por ello la importancia de un prueba diagnóstica temprana, en donde a través de técnicas de biología molecular se pueda describir el gen mutado que causa la enfermedad, dicho diagnóstico no demoraría más de 24 horas al ser una técnica altamente sensible y rápida de analizar. (Crónica, 2016)

La problemática sobre esta enfermedad es que no existe una identificación temprana, los síntomas se presentan cuando la persona es adulta y el padecimiento es bastante avanzado, el bajo autoestima que pueden llegar a padecer estas personas es un factor que necesita el apoyo de un psicoanalista para poder sobresalir y volver a incluir a la persona a la sociedad.

La implementación del proyecto daría la oportunidad al paciente de conocer a tiempo la identificación molecular de la enfermedad, con lo cual se le daría terapia farmacológica y un adecuado seguimiento psicológico.

2.3. Matriz de involucrados

Beneficiarios	Descripción	Número
Indirectos	Familiares de los pacientes diagnosticados con acromegalia.	60 familias
	Personal del servicio de endocrinología y genética del Hospital de Especialidades Eugenio Espejo.	12 médicos
Directos	Pacientes diagnosticados con acromegalia	60

3.1. General

Caracterizar el comportamiento psicosocial, características clínicas y alteraciones moleculares en pacientes con acromegalia del Hospital de Especialidades Eugenio Espejo.

3.2. Específicos

- Identificar los conflictos psicosociales que presentan las personas que padecen la enfermedad de acromegalia
- Implementar programas de acompañamiento psicosociales para mejorar la calidad de vida de los pacientes que padecen la enfermedad de acromegalia.
- Caracterizar molecularmente el gen AIP implicado en el desarrollo de la Acromegalia, que ayudará a la determinación de los factores hereditarios y a su prevención.

4. TIPO DE INTERVENCIÓN

4.1. Descripción de las actividades y/o Líneas de acción

4.2. Productos esperados

1. Informe de sistematización de los resultados obtenidos a partir de la aplicación de un instrumento para el relevamiento de información.
2. Diseño de un programa de intervención para el mejoramiento de la calidad de vida de los usuarios del servicio.
3. Informe de los resultados obtenidos a partir del análisis de muestras de ADN de cada paciente.

4.3. Línea de intervención

Línea de fortalecimiento organizacional

4.3. Proceso de vinculación

Investigación (5)

4.4. Programa de vinculación

Investigación Social (5.1)

4.5. Resolución de Carrera

4.6. COMPOSICIÓN DEL EQUIPO UNIVERSITARIO

Se refiere al personal de la UPS que va a participar en la ejecución del proyecto

NOMBRE	CI	CARRERA	RESPONSABILIDADES EN EL PROYECTO
Germania Margarita Karolys G.	1708492499	Ingeniería en Biotecnología	Responsable UPS caracterización molecular.
Juan Carlos Romero Cruz	1750337642	Psicología	Responsable UPS caracterización psicosocial.
Ramírez Loaiza Jossué Alejandro	1750492793	Ingeniería en Biotecnología	Desarrollo de técnicas Moleculares
Rocha Mendieta Carlos Julio	1750337642	Ingeniería en Biotecnología	Desarrollo de técnicas Moleculares
Gema Lizbeth Arévalo Coveña	1722343827	Psicología	Relevamiento de información y programa de acompañamiento.

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

Página 5 de 9

Campus el Girón, Bloque B, Av. Isabel La Católica N23-52 y Madrid • Teléfono directo: 3962 878
Teléfonos: 396 2800 / 396 2900 Ext: 2217 • Correo electrónico: dcalero@ups.edu.ec



5.3. Matriz de indicadores y metas

Esta matriz debe indicar hasta dónde vamos a llegar con los objetivos específicos, por ejemplo:

Objetivo específico	Indicador	Meta	Medios de verificación
Identificar los conflictos psicosociales que presentan las personas que padecen la enfermedad de acromegalia	No. de afectados identificados No. de afectados que presentan conflictos psicosociales No. de conflictos psicosociales encontrados y que muestran repitencia en los afectados No. afectados que requieren acompañamiento psicosocial	Contar con el 90% de la información actualizada de los pacientes con acromegalia que acuden al HEE y la identificación de la variable de conflicto psicosocial con mayor reincidencia	Fichas médicas
Implementar programas de acompañamiento psicosociales para mejorar la calidad de vida de los pacientes que padecen la enfermedad de acromegalia.	No. de grupos conformados por los afectados No. de sesiones realizadas No. de evaluaciones realizadas No. de afectados que presentan mejoría en su calidad de vida	Al término del proyecto se cuenta con un programa de acompañamiento aprobado por el HEE y el 83% de los afectados presentan mejorías en su calidad de vida	Matrices de seguimiento de actividades.
Caracterizar molecularmente el gen AIP implicado en el desarrollo de la Acromegalia, que ayudará a la determinación de los factores hereditarios y a su prevención.	No. de muestras tomadas de los afectados No. de secuencias analizadas de los afectados No. de mutaciones encontradas que en el gen AIP. No. de mutaciones que están asociadas a la acromegalia	Caracterizar al menos el 80% de muestras de los afectados de acromegalia que tiene el HEE.	Informe de resultados.

5.4. Criterios de Seguimiento y Evaluación

5.4.1. Informes de Seguimiento

El proyecto estará dividido en tres fases:

1. Relevamiento de información a cargo de la Carrera de Psicología y del Departamento de Psicología del Hospital Eugenio Espejo, quienes entregarán un informe al finalizar la sistematización de la información. Se entregará un informe al término de cada semestre.

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

Página 6 de 9

Campus el Girón, Bloque B, Av. Isabel La Católica N23-52 y Madrid • Teléfono directo: 3962 878
Teléfonos: 396 2800 / 396 2900 Ext: 2217 • Correo electrónico: dcalero@ups.edu.ec

2. Programa de acompañamiento a cargo de la Carrera de Psicología, entregará el informe de resultados obtenidos de la implementación del programa de acompañamiento.
3. Genética y técnicas moleculares, se entregará un informe de resultados al finalizar el análisis de muestras.
Primer informe de avance: 31 de julio de 2018
Segundo informe de avance: 28 de febrero de 2019
Tercer informe de avance: 31 de julio de 2019
Informe final: 31 de octubre 2019

5.4.2. Informes de Evaluación

1. Rúbrica de evaluación de los usuarios hacia los programas ofertados.

5.5. Cronograma

Incluir aquí un cronograma para la ejecución de las actividades se sugiere el siguiente formato con el que se conectan las actividades con cada objetivo:

Objetivo Especifico	Actividad	TIEMPO											
		M E S 1	M E S 2	M E S 3	M E S 4	M E S 5	M E S 6	M E S 7	M E S 8	M E S 9	M E S 10	M E S 11	M E S 12
O. ESPECÍFICO	DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD												
Identificar los conflictos psicosociales que presentan las personas que padecen la enfermedad de acromegalia	Diseñar un instrumento para el relevamiento de la información	X											
	Aplicación del instrumento		X	X									
	Tabulación de los resultados				X								
	Entrega de resultados a los usuarios				X								
Implementar programas de acompañamiento psicosociales para mejorar la calidad de vida de los pacientes que padecen la enfermedad de acromegalia.	Taller diagnóstico con los usuarios del servicio.				X								
	Diseñar un programa de intervención				X								
	Aplicar el programa de intervención					X	X	X	X				
	Evaluación del programa de intervención									X	X		
	Entrega de informe												X
Caracterizar molecularmente el gen AIP implicado en el desarrollo de la Acromegalia, que ayudara a la determinación de los factores hereditarios y a su prevención.	Toma de muestra de sangre periférica de pacientes del servicio de endocrinología	X	X	X	X								
	Obtención de ADN genómico a partir de muestras de sangre	X	X	X	X								
	Amplificación de regiones específicas del gen AIP	X	X	X									
	Secuenciación del gen AIP			X	X	X							
	Determinación de polimorfismos en el gen AIP					X	X	X					
	Elaboración informe de resultados									X	X		

El proyecto se realiza de manera conjunta con el Hospital Eugenio Espejo, quien dará apoyo en la parte clínica, logística y diagnóstico molecular. Asegurando la participación de los pacientes diagnosticados con acromegalia que asisten a este centro de salud, quienes de manera voluntaria han decidido ser parte del proyecto, conociendo los beneficios que obtendrán para el mejoramiento de su calidad de vida. Teniendo como antecedente que los pacientes firmarán un conocimiento informado, en el que acepta participar de los procesos diagnósticos y los programas de acompañamiento que se implementarán.

El Hospital Eugenio Espejo aportará con personal médico, equipos, materiales y reactivos para desarrollar las técnicas moleculares de secuenciamiento y diagnóstico clínico, que equivale a aporte significativo de 28556.25 dólares que presenta la institución como contraparte.


La Universidad Politécnica Salesiana aportará con un monto de 6853.72 permitiendo así que el proyecto mantenga un buen nivel de sostenibilidad y se puedan cumplir así los objetivos planteados.

6. RECURSOS ECONÓMICOS (PRESUPUESTO)

PROYECTO DE CARACTERIZACIÓN PSICOSOCIAL, CLÍNICA Y MOLECULAR EN PACIENTES CON ACROMEGALIA DEL HOSPITAL DE ESPECIALIDADES EUGENIO ESPEJO						
DESCRIPCIÓN	UNIDAD HORAS	COSTO HORA	VALOR TOTAL	FINANCIAMIENTO UPS	FINANCIAMIENTO HEE	
TALENTO HUMANO				2833,92	4950	
Coordinador Germania Karolys Gutiérrez (*)	96	13,15	1262,4	1262,4		
Docente Juan Carlos Romero Cruz (*)	96	16,37	1571,52	1571,52		
Médico Internista: Juan Diego Moscoso Vintimilla(**)	66	15	990		990	
Responsable del lab. biología molecular: Gabriela Jaramillo	66	15	990		990	
Médico: Gabriela Gálvez	66	15	990		990	
Médico Endocrinólogo: Jorge Luis Salazar	66	15	990		990	
Médico Genetista Carlos Reyes	66	15	990		990	
MATERIALES E INSUMOS DIRECTOS				3019,8	23400	
Batería de test psicológicos	66	0,3	19,8	19,8		
Pruebas diagnósticas moleculares	66	300	19800	3000	16800	
Ensayos clínicos	66	100	6600		6600	
GASTOS ADMINISTRATIVOS				1000		
Movilización	10 salidas	100 por salida	1000	1000		
SUBTOTAL GASTOS USD				6853,72	28350	
TOTAL GASTOS USD				35203,72		

* El costo hora está contemplado dentro de las 40 horas del distributivo del docente

**El costo será asumido por el HEE


Msc. Germania Kardlys
DOCENTE RESPONSABLE DEL PROYECTO
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA


Msc. Juan Carlos Romero
DOCENTE RESPONSABLE DEL PROYECTO
CARRERA DE PSICOLOGÍA



CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

Página 9 de 9

Campus el Girón, Bloque B, Av. Isabel La Católica N23-52 y Madrid • Teléfono directo: 3962 878
Teléfonos: 396 2800 / 396 2900 Ext: 2217 • Correo electrónico: dcalero@ups.edu.ec