

C. Vázquez Cordero

An Esp Pediatr 1999;50:431-438.

Diagnóstico de la fibrosis quística

La fibrosis quística (FQ), es la enfermedad hereditaria autosómica recesiva letal, más frecuente en las poblaciones de ascendencia europea, con una prevalencia entre 1/2.000 y 1/4.000 recién nacidos vivos. Las manifestaciones más frecuentes de la enfermedad son insuficiencia pancreática exocrina en alrededor del 85-90% de los casos, enfermedad pulmonar obstructiva crónica severa característica, que se desarrolla con el tiempo en prácticamente todos los casos, azoospermia obstructiva por anomalías anatómicas en el tracto urogenital en casi todos los varones, y altas concentraciones de cloro y sodio en el sudor, que están casi siempre presentes⁽¹⁾. Desde hace 40 años⁽²⁾, se dispone de un método de realización de test del sudor, que posee un alto grado de fiabilidad en la discriminación de las poblaciones normal y FQ: el test cuantitativo de iontoforesis con pilocarpina o "Q.P.I.T.". Los criterios clásicos de diagnóstico de la enfermedad son: la constatación de una concentración de cloro en el sudor, mediante Q.P.I.T., superior a 60 mmol/L, junto con uno o más de los siguientes rasgos: insuficiencia pancreática exocrina, enfermedad pulmonar sugestiva, o historia de FQ en hermanos o primos hermanos⁽¹⁾.

En 1989 el gen FQ fue identificado y clonado⁽³⁻⁵⁾. Está localizado en el brazo largo del cromosoma 7. Consta de 250 kb, distribuidos en 27 exones, y codifica una glicoproteína transmembrana de 1.480 aminoácidos, que funciona como un canal de cloro regulado por el cAMP, y fue denominada "regulador de la conductancia transmembrana FQ" o CFTR. La clonación del gen FQ, inauguró una nueva era, en la que es posible la confirmación del diagnóstico, en la gran mayoría de los pacientes, mediante el hallazgo de mutaciones en ambas copias de su gen CFTR. Por otra parte, la descripción de anomalías características del transporte iónico a nivel del epitelio respiratorio⁽⁶⁾, facilitó el desarrollo de métodos, potencialmente de utilidad clínica en el diagnóstico, mediante el estudio *in vivo* de las características bioeléctricas del epitelio nasal⁽⁷⁾.

Podría parecer, a la luz de lo anterior, que el diagnóstico no debería ofrecer gran dificultad. Sin embargo, los clínicos responsables de los afectados, saben que el diagnóstico de la FQ, nunca ha sido sencillo en todos los casos, por más que sea evidente en la mayoría. En un 8% de los casos en Norteamérica el diagnóstico se realiza más allá de los 10 años de edad⁽⁸⁾. De 140

pacientes con FQ tratados en nuestro Hospital en los últimos 25 años, 12 (8,5%), fueron diagnosticados con más de 10 años, incluyendo 3 cuya presentación clínica fue infertilidad (observaciones no publicadas). Que siga siendo un tema de actualidad, lo prueba la reciente publicación de las conclusiones de una Conferencia de Consenso sobre este tema, patrocinada por la Cystic Fibrosis Foundation de los EE.UU.⁽⁸⁾. Alguno de los factores que la pudieron haber hecho oportuna son: la persistente ocurrencia de errores diagnósticos, por una metodología inadecuada del test del sudor, y por la existencia ocasional, incluso con metodología adecuada, de "falsos negativos" y "falsos positivos"⁽⁹⁻¹¹⁾, así como las limitaciones del estudio genético, puesto que pese al hallazgo de cientos de mutaciones diferentes en el gen CFTR - cuyo análisis permite catalogar la gran mayoría de los genes enfermos -, incluso la secuenciación completa de la región codificante del gen, no permite la identificación de la mutación responsable en una fracción de los cromosomas FQ (cerca del 10% en nuestra población). También la incertidumbre sobre las consecuencias funcionales de muchas de tales mutaciones, y su variable correlación con el fenotipo, la progresiva elucidación de la base genética y funcional de los pacientes cuyas manifestaciones ocupan el extremo leve-atípico del fenotipo FQ, y el dilema para los clínicos sobre la actitud ante tales pacientes, así como el reconocimiento del papel del gen CFTR en otras patologías distintas a la FQ clásica, como las bronquiectasias diseminadas⁽¹²⁾, la ausencia bilateral de conductos deferentes⁽¹³⁾, la aspergillosis broncopulmonar alérgica⁽¹⁴⁾, y la pancreatitis crónica^(15,16), contribuyen a que el diagnóstico de la FQ siga siendo un tema apasionante, y a veces polémico. No se puede exagerar la importancia de la realización de un diagnóstico precoz y preciso, en términos de instauración del tratamiento oportuno, consejo genético familiar, y evitación de la angustia y pruebas innecesarias en casos de diagnóstico equivocado de FQ.

Se ha llegado al Consenso⁽⁸⁾ de que el diagnóstico de la FQ se debe basar en la presencia de uno o más de lo siguiente (Tabla I): uno o más rasgos fenotípicos consistentes con FQ, o historia de la enfermedad en hermanos o primos hermanos, o un test de "screening" neonatal positivo (elevación de los niveles séricos de tripsina inmunorreactiva), **junto con** pruebas de laboratorio que indiquen "disfunción del CFTR", documentada por cualquiera de lo siguiente: concentración de cloro en el sudor elevada, identificación de mutaciones causantes de la enfermedad en ambas co-

Unidad de Fibrosis Quística, Departamento de Pediatría. Hospital de Cruces, Barakaldo, Vizcaya.

Tabla I Criterios diagnósticos de la fibrosis quística

<ul style="list-style-type: none">- Uno o más rasgos fenotípicos característicos<ul style="list-style-type: none">- O historia de FQ en un hermano o primo hermano- O “screening” neonatal positivo (tripsina inmunorreactiva)- Y evidencia de disfunción del CFTR mediante uno o más de lo siguiente<ul style="list-style-type: none">- Concentración de cloro en sudor elevada (Q.P.I.T.) en 2 o más ocasiones- Identificación de 2 mutaciones causantes de enfermedad- PD nasal anormal
--

pias del gen CFTR, o alteraciones características en el transporte iónico a través del epitelio nasal. Los rasgos fenotípicos consistentes con FQ incluyen: 1 enfermedad sinopulmonar crónica sugestiva, 2 alteraciones características gastrointestinales y nutricionales, 3 síndromes debidos a las pérdidas excesivas de sal por el sudor y 4 ausencia bilateral de conductos deferentes en los varones (CBAVD).

Algunos de los rasgos característicos de la enfermedad respiratoria incluyen: alteraciones radiológicas parenquimatosas persistentes en forma de hiperinsuflación, bronquiectasias y atelectasias, típicamente más acusadas en lóbulos superiores, sobre todo el derecho, limitación crónica del flujo aéreo, tos crónica productiva de expectoración purulenta, pólipos nasales, pansinusitis radiológica, mucocelo y acropaquias. La infección bronquial persistente con *Pseudomonas aeruginosa* mucocelo es casi patognomónica. Cultivos de esputo persistentemente positivos a *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia*, o *Aspergillus fumigatus*, son sugestivos, aunque también pueden ocurrir en pacientes con otras patologías. La aspergillosis broncopulmonar alérgica es frecuente en niños con FQ, y rara en niños con asma, y a cualquier edad debe propiciar una investigación completa para excluir FQ.

Las manifestaciones gastrointestinales incluyen: alteraciones intestinales (íleo meconial y síndrome de obstrucción intestinal distal), pancreáticas (insuficiencia pancreática exocrina y pancreatitis crónica típicamente en pacientes con suficiencia pancreática), hepáticas (cirrosis biliar focal o multilobular), y nutricionales (retraso ponderoestatural, anemia-hipoproteinemia-edemas, o evidencia clínica o bioquímica de deficiencia de vitaminas liposolubles). Los síndromes de pérdida salina por el sudor, incluyen la alcalosis hipoclorémica crónica, que es la presentación más frecuente en nuestro medio⁽¹⁷⁾, y la deshidratación hiponatrémica aguda con shock.

Las conclusiones del Consenso, son novedosas, respecto a los criterios de diagnóstico previos, por partida doble. Por un lado, considera que la presencia aislada de CBAVD, o de síndromes de pérdida salina por el sudor, son rasgos fenotípicos consistentes con FQ, y reconoce la alta fiabilidad del test de screening neonatal mediante la determinación de la tripsina inmunorreactiva sérica, como indicadora del diagnóstico de FQ en un

recién nacido, incluso sin otras manifestaciones clínicas. Por otra parte, ratifica el papel de la determinación del genotipo para la confirmación del diagnóstico, incluso en casos con tests del sudor equívocos o normales, e incorpora como prueba de “disfunción del CFTR”, la constatación de anomalías en la electrofisiología del epitelio nasal, lo que abre la posibilidad de que en casos seleccionados se plantee el diagnóstico incluso en presencia de test del sudor y genotipo no concluyentes⁽¹⁸⁾.

El test del sudor

El diagnóstico, habitualmente sigue siendo confirmado mediante el test del sudor, pues los resultados del estudio del genotipo, no son concluyentes en todos los casos, e incluso cuando finalmente lo son, en ocasiones sólo son disponibles, tras un período de tiempo prolongado de estudio de las muestras. Por tanto, la calidad en la realización del test del sudor, sigue siendo esencial. El único test del sudor aceptable para la confirmación del diagnóstico es el Q.P.I.T., entendiéndose por tal^(8,10) el realizado por personal experto, con estimulación de la sudoración mediante iontoforesis con pilocarpina, recogida de la muestra mediante uno de los dos únicos procedimientos aceptables: papel de filtro o gasa prepesados, según la descripción originaria de Gibson y Cooke, o bien el método “Macroduct”, que utiliza un disco cóncavo y tubo espiral de plástico⁽¹⁹⁾. En ambos casos se debe analizar en el laboratorio la muestra, determinándose la concentración de cloro mediante clorómetro, y si es posible también la de sodio, no siendo aceptable el analizar únicamente *in situ* la conductividad eléctrica del sudor, en el caso del método Macroduct. La muestra mínima de sudor a analizar debe ser de 75 mg con el método de Gibson y Cooke y de 15 µl con el Macroduct. Esta cantidad debe obtenerse en media hora de recogida, pues su prolongación, para aumentar el tamaño de la muestra, se asocia al riesgo de falsos negativos, por proceder de glándulas estimuladas subóptimamente. Con el método Macroduct, un estudio ha sugerido, que determinaciones de la concentración de cloro, en muestras incluso de 5 µl, pueden ser válidas⁽²⁰⁾.

La constatación en dos muestras, de concentraciones de cloro en el sudor, superiores a 60 mmol/L, es consistente con FQ. Es infrecuente en niños sin FQ, encontrar concentraciones de cloro entre 40 y 60 mmol/L, que se deben considerar “borderline” y sospechosas, exigiendo cuando se repiten, una investigación exhaustiva para excluir o confirmar la enfermedad. En lactantes, 40 mmol/L, representa 3 desviaciones estándar por encima de la media, habiéndose sugerido que en este grupo de edad, este valor debe sustituir al de 60 mmol/L como límite para efectuar el diagnóstico⁽²¹⁾. En nuestra experiencia (observaciones no publicadas), en menos del 1% de las determinaciones en niños control se encuentran concentraciones de cloro en el sudor entre 40 y 60 mmol/L. Las concentraciones de cloro en el sudor en la población no FQ, aumentan ligeramente con la edad. Sin embargo, el límite de 60 mmol/L, es, por lo general, también adecuado en adultos⁽²²⁾. Un estudio realizado en 187 adultos con enfermedad pulmonar, halló 7 (4%) con concen-

traciones de cloro en el sudor de > 60 mmol/L, y en 2 de ellos (1%) era de > 70 mmol/L⁽²³⁾. Sin embargo, al ser este estudio realizado en la era anterior a la clonación del gen FQ, no aportarse datos sobre la fertilidad de los pacientes, y la posible presencia de CBAVD, e interesantemente el hecho de que 2 de los pacientes con concentraciones elevadas de cloro en sudor tuvieran historia de pancreatitis, hacen que no se pueda descartar que algunos de estos pacientes en realidad tuvieran formas leves-atípicas de FQ.

Del 1 al 2% de los pacientes con FQ, pueden tener concentraciones de cloro en sudor repetidamente borderline o normales^(10,24). Nosotros, lo hemos observado hasta ahora, tan sólo en una ocasión⁽²⁵⁾. Se ha observado la alta prevalencia de tales determinaciones, en pacientes con FQ portadores de la mutación $3849 + 10 \text{ kb C} > \text{T}^{(26)}$, que a nivel mundial representa el 0,2% de las mutaciones FQ⁽⁸⁾. Falsos negativos en el test del sudor, se pueden dar también en pacientes con edema⁽⁸⁾. Se ha señalado la posibilidad de falsos positivos - generalmente basados en muy escaso número de observaciones -, en una serie de entidades, cuyas manifestaciones son muy diferentes a las de la FQ, no suponiendo habitualmente ningún problema diagnóstico. Tan sólo en una enfermedad rara, que cursa con tests del sudor positivos, el pseudohipoaldosteronismo congénito, se observan infecciones respiratorias recurrentes de vías bajas, pudiendo imitar a este respecto a la FQ^(27,28). Esta entidad cursa con severa hipercaliemia e hiponatremia, como consecuencia de la falta de respuesta a la aldosterona a nivel renal, colónico, salivar, y de las glándulas sudoríparas, y es interesante el hallazgo de patología respiratoria en estos pacientes, a la luz de recientes hallazgos que apoyan que la concentración de cloro y sodio en el líquido periepitelial respiratorio en la FQ está elevada, en contra de nociones anteriores⁽²⁹⁾. Nosotros no hemos tenido hasta el momento ningún falso positivo con el Q.P.I.T.

La gran mayoría de las causas de falsos negativos y positivos en el test del sudor, son metodológicas⁽¹¹⁾. La utilización de otros métodos para la recogida del sudor, sólo aceptables como "screening"^(9,10), o el análisis únicamente de la conductividad eléctrica del sudor, y/o de la concentración de sodio, son posibles fuentes de error. Es notable, que una encuesta a comienzos de 1996, reveló que en sólo 2 de 41 Hospitales Españoles se realizaba habitualmente el Q.P.I.T. para la confirmación del diagnóstico⁽³⁰⁾, por lo que aunque la situación probablemente ha mejorado desde entonces, en todo paciente referido a un Centro, con diagnóstico previo de FQ, sin confirmación genotípica, se debe obtener información sobre el método con que se realizó el test del sudor, y realizar en su caso un Q.P.I.T. La conductividad eléctrica del sudor, tiene un sesgo positivo variable con la concentración de cloro, y se correlaciona mejor con la suma de las concentraciones de sodio y potasio⁽¹⁸⁾. Por tanto, sólo debe utilizarse como screening. Se recomienda determinar obligatoriamente la concentración de cloro, si la conductividad supera los 50 mmol/L⁽¹⁰⁾. La concentración de sodio en el sudor, diferencia peor que la de cloro a pacientes de controles, pues aumenta en estos últimos de manera mucho más acusada que la de

cloro con la edad, de tal manera que en adultos control, concentraciones de sodio de 60 a 80 mmol/L no son infrecuentes⁽³¹⁾. En casos dudosos, puede ser útil el análisis de la relación cloro/sodio, que en la mayoría de los pacientes con FQ, y sólo raramente en controles, es superior a 1, de modo que su hallazgo en casos con concentraciones borderline de cloro, apoya el diagnóstico de FQ, aunque su ausencia no la descarta^(10,32).

Genotipo y su correlación con el fenotipo

Hasta la fecha, han sido detectadas más de 700 mutaciones en el gen CFTR⁽³³⁾. La primera en ser identificada, fue $\Delta F508$, en el exón 10, y causa la pérdida de una fenilalanina en el primer pliegue ligador de nucleótidos del CFTR (NBF), lo que resulta en un defecto en el procesado de la proteína, que es retenida en el retículo endoplásmico o el Golgi, sin que alcance en su forma madura, glicosilada su localización normal en la membrana celular. Es con mucho la más prevalente en todas las poblaciones (media mundial 68%), salvo en los judíos Ashkenazi, y representa el 60% de las mutaciones de los pacientes vistos en el Hospital de Cruces. La mayoría de las otras mutaciones son raras. Existen acusadas diferencias en su distribución entre los distintos grupos étnicos⁽³⁴⁾. Según el Consenso, el hallazgo de dos mutaciones "causantes de enfermedad", permite realizar el diagnóstico, incluso en presencia de un test del sudor normal. Los criterios para que una mutación sea considerada causante de enfermedad, y no un polimorfismo, son enumerados⁽⁸⁾, e información sobre tales mutaciones, la suministra a través de Internet el Consorcio para el Análisis Genético de la FQ (<http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/>). Debe existir evidencia suficiente, de que tal mutación determina la ausencia del CFTR maduro, en la membrana apical de la célula epitelial, o un compromiso grave de su función conductora, junto con su ausencia en una amplia muestra de cromosomas sanos de portadores de FQ^(35,36). Existen varios kits comerciales que permiten detectar la presencia de varias series de mutaciones, que a su vez representan diferentes fracciones de los cromosomas FQ en las distintas poblaciones. A lo largo de los años, se ha acumulado abundante información sobre la correlación genotipo-fenotipo, y la repercusión funcional a nivel mRNA, proteína, y de transporte iónico de algunas de las mutaciones más frecuentes^(35,36). El intento de identificación de ambas mutaciones es aconsejable, incluso en pacientes con diagnóstico claro mediante la clínica, y test del sudor para: ratificar el diagnóstico, disponer de esta información para el análisis genético de los miembros de las familias que estén interesados, y el diagnóstico prenatal, la predicción de algunos rasgos fenotípicos, sobre todo el estatus pancreático, y la clasificación de los pacientes con vistas a estudios de investigación⁽⁸⁾.

El genotipo CFTR tiene una fuerte correlación con la presencia (PI) o ausencia (PS) de insuficiencia pancreática. Las mutaciones asociadas a PI (ejemplo $\Delta F508$ o G542X), son denominadas "severas", y las asociadas a PS "leves" (ejemplo R117H o P205S), respecto a este rasgo fenotípico. La hipótesis original de que el rasgo PI, era recesivo, necesitándose dos mutaciones severas para que se manifestara⁽⁶⁾, y que las mutaciones se po-

dían clasificar por su asociación consistente con PI o PS, ha sido, en general, confirmada⁽³⁷⁾, aunque existen mutaciones con variable penetrancia respecto a la afectación pancreática⁽³⁸⁻⁴⁰⁾. La insuficiencia pancreática, por regla general, está presente al nacimiento, o se desarrolla a lo largo de los primeros meses de vida. Los pacientes con PI presentan algunos rasgos de “fenotipo severo”, ausentes en los pacientes con PS⁽⁴⁰⁾, como diagnóstico generalmente antes de los 2 años (frecuentemente por encima de los 10 años en los PS), posibilidad de íleo meconial (ausente en los PS), y de enfermedad hepática (rara, aunque posible en los PS), peor estado nutricional, concentraciones de cloro en sudor relativamente más altas, y enfermedad pulmonar de severidad variable, pero por término medio más severa que en los pacientes con PS. Las mutaciones asociadas con PI determinan la ausencia o severa reducción (menos del 1%) en la actividad normal del CFTR⁽³⁶⁾. La gran mayoría de los pacientes con FQ, portan 2 mutaciones severas, y manifiestan el fenotipo severo. Cuando se identifican 2 mutaciones de este tipo, en un paciente catalogado previamente de PS, se debe reevaluar su estatus pancreático, y aunque siga siendo de suficiencia deberá ser monitorizado estrechamente, pues la con toda probabilidad con el tiempo desarrollará PI.

Por contra, la correlación del genotipo con otros rasgos, particularmente con la severidad de la enfermedad pulmonar, es mala, observándose muy distintos grados de afectación entre pacientes con genotipo idéntico⁽⁴¹⁾. Los pacientes homocigotos $\Delta F508$, presentan PI, y enfermedad pulmonar generalmente severa, pero muy variable⁽⁴²⁾. Algunas mutaciones, sin embargo, se han podido correlacionar con una enfermedad pulmonar más leve⁽³⁶⁻⁴⁰⁾. La observación de que mutaciones como R117H y el alelo 5T - una de 3 variantes posibles en la longitud de una repetición de timinas en el intrón 8, que se asocia con un splice defectuoso, con sólo un 8% de mRNA funcionando, por pérdida el 92% de las veces del exón 9 en los transcritos⁽¹³⁾ -, cuando se encontraban, en conjunción con otra mutación severa FQ en el otro cromosoma, se asociaban a un rango de fenotipos que abarcaban desde la normalidad, FQ con PS, ocasionalmente FQ con PI, o CBAVD, con o sin test del sudor positivo^(13,36), llevó a algunos autores⁽³⁶⁾, a afirmar la hipótesis, de que seguramente existirían otros pacientes con fenotipo normal, asociado a otros “genotipos FQ”, y que el diagnóstico de FQ seguía siendo clínico, y no se podía sustentar exclusivamente en el hallazgo de dos mutaciones, por ejemplo en un paciente con CBAVD como única manifestación. La postura del Consenso ha sido otra, al decidir que si bien tanto el alelo 5T como R117H, en si no pueden ser consideradas “mutaciones causantes de enfermedad”, si que se comportan como tales en un paciente con manifestaciones fenotípicas (incluyendo de manera aislada CBAVD y/o problemas asociadas a pérdidas excesivas de sal por el sudor), si además se comprueba disfunción del CFTR mediante test del sudor o anomalías bioeléctricas en el epitelio nasal⁽⁸⁾. Se insiste en la necesidad de seguimiento de estos pacientes para detectar el posible desarrollo con el tiempo de enfermedad pulmonar, aunque, en general, es inaparente en adultos jóvenes que

consultan por infertilidad asociada a CBAVD⁽⁴³⁾. Más del 60% de los casos de CBAVD son heterocigotos compuestos para dos mutaciones FQ, (incluyendo al alelo 5 T), otro 20% presentan una, y bastantes tienen tests del sudor positivos, por lo que la gran mayoría de los casos de CBAVD, guarda relación con disfunción del CFTR⁽¹³⁾. Algunos especialistas han expresado su preocupación, acerca de que el seguimiento de las conclusiones del Consenso, diagnosticando de FQ a muchos de estos pacientes, corre el riesgo de estigmatizar con la etiqueta de una enfermedad grave, a una persona con un problema de fertilidad, pero que por lo demás se encuentra sano, sobrecargándolo con un programa de seguimiento médico que puede ser dificultoso por mala acogida de éste. Recientemente se ha reconocido otra mutación (S1455X), que determina una proteína truncada en su extremo C terminal, y se asocia a test del sudor positivo como única manifestación de FQ, manteniéndose las corrientes de cloro inducidas por el cAMP características del CFTR normal, en células epiteliales respiratorias transfectadas con el cDNA del gen CFTR con esta mutación⁽⁴⁴⁾. El probando descrito era un niño, y su estatus genital no fue determinado. De acuerdo con las conclusiones del Consenso si se demostrara que tiene CBAVD, debería ser diagnosticado de FQ, en contraposición con la opinión de los autores. Otras mutaciones han sido detectadas previamente, asociadas a síndromes de pérdida salina por el sudor, aparentemente como única manifestación⁽⁴⁵⁾, o junto con CBAVD, y ocasionalmente con manifestaciones respiratorias leves, sobre todo en forma de sinusitis o pólipos nasales^(46,47). Como el número de observaciones es pequeño, el clínico deberá evitar sacar conclusiones tajantes respecto al pronóstico en estos casos, y considerar a cada paciente de manera individualizada.

Hoy, se entiende que la fibrosis quística clásica severa ocupa el extremo de un espectro clínico, cuyo otro extremo es la normalidad, ocupando el espacio restante los “fenotipos leves”, cuya presentación está influida por el genotipo del gen CFTR, pero también por otros genes moduladores distintos al CFTR, además de factores ambientales y relacionados con el tratamiento⁽⁴¹⁾.

Estudios de cuantificación del mRNA normal del CFTR, realizados en pacientes con CBAVD, asociados a la presencia del alelo 5T en forma homocigota, o bien heterocigota, junto con otra mutación FQ en el otro cromosoma⁽⁴⁸⁾, permitieron detectar que el nivel mínimo de mRNA normal necesario para que no se manifieste el fenotipo CBAVD es de 8-12% de lo normal. Estos estudios, y la observación de la asociación de otras mutaciones específicas con fenotipos leves, habiéndose demostrado la presencia de secreción residual de cloro inducida por el cAMP en algunas de ellas⁽⁴⁹⁾, ha hecho sugerir la hipótesis (Fig. 1), de que existe una diferente sensibilidad de los órganos diana de la enfermedad al déficit en la actividad normal del CFTR. Así, el órgano menos sensible sería el páncreas y el intestino, apareciendo PI e íleo meconial en casos con menos del 1% de la actividad normal del CFTR. Las vías biliares mostrarían una sensibilidad similar o ligeramente menor. Por debajo de 4.5 - 5% de actividad, se podría manifestar la enfermedad pulmonar y/o

Organo afectado	Actividad del CFTR
No afectado	50% (portador)
Conducto deferente	8% - 10% 9T + R117H/ΔF508 5T/5T 7T + R117H/ΔF508 5T/ΔF508
Glándula sudorípara	4 - 5% A455E/ΔF508
Vías aéreas altas Vías aéreas bajas	FQ PS 5T + R117H/ΔF508
Hígado Pancreas/intestino	< 1% ΔF508/ΔF508

Figura 1. Afectación de los distintos tejidos en la FQ en función del porcentaje de la actividad normal del CFTR. A la izquierda se muestran, de arriba a abajo, los órganos afectados ordenados por su sensibilidad decreciente a la pérdida de actividad del CFTR. En el Centro se muestran los fenotipos correspondientes a la afectación de los distintos órganos. A la derecha se muestran los niveles aproximados de actividad del CFTR con los que se manifiesta la afectación de los distintos órganos. Como ejemplo de mutaciones se ponen: R117H (15% de actividad normal), A455E (8% de la actividad normal), y ΔF508 (práctica ausencia de actividad), y se muestra la modulación del fenotipo asociado a R117H según su asociación con los alelos 9T, 7T o 5T (90%, 60% y 10% de la actividad normal respectivamente). Si se asocia con el alelo 9T se produciría un 90 - 95% del número normal de transcritos con 15% de actividad. Si en el otro cromosoma existe una mutación severa, el % de actividad normal del CFTR aproximado, sería del 7,5%. El fenotipo predicho, sería CBAVD, pero también podría ser normal. Si el alelo asociado es 7T, y existe una mutación severa en el otro cromosoma, el % de actividad del CFTR sería 4,5% y correspondería a CBAVD en la mayoría, y algunos podrían manifestar FQ con PS. Si el alelo asociado fuera 5T, la actividad resultante sería 0,75%, y el fenotipo resultante en la mayoría de los casos sería FQ con PS. (Modificado de Davis PB et al, ref. 36).

la anomalía en la concentración de electrólitos del sudor, y por debajo de 8 - 12% la CBAVD^(11,36). Un paciente con PI, manifiesta normalmente las restantes manifestaciones fenotípicas, pero al estar la sensibilidad del conducto de la glándula sudorípara, epitelio respiratorio, y conducto deferente relativamente próximas entre sí, son posibles fenotipos con todo tipo de combinaciones de afectación de estos órganos^(25,36,50). El tipo de poli T presente en el intrón 8 asociado a otra mutación, en el mismo gen puede modular el fenotipo. Por ejemplo, en presencia de una mutación FQ "severa" en el otro gen CFTR, la mutación R117H

(una mutación leve que reduce aproximadamente al 15% la actividad del CFTR), si se asocia a la variante de poli T más frecuente - 9T - en la que el splice del intrón 8 y el exón 9 se realiza correctamente en el 90% de los casos, puede determinar un fenotipo normal o CBAVD. Si se acompaña del alelo 7T (60 - 70% - de splice normal), generalmente se manifiesta como CBAVD, y si se acompaña del alelo 5T, se manifiesta generalmente como FQ con enfermedad pulmonar y PS⁽³⁶⁾. Con el tiempo, es probable sean detectados en las regiones intrónicas nuevos polimorfismos o mutaciones con repercusiones fenotípicas.

Otro mecanismo que puede contribuir a explicar la variabilidad clínica, es, posibles diferencias en la penetrancia órgano-específica de algunas mutaciones. Por ejemplo, se ha comunicado una proporción aumentada de transcritos faltos del exón 9 en el conducto deferente, en comparación con el epitelio respiratorio, en hombres portadores del alelo 5T con CBAVD⁽⁵¹⁾. La mutación G551D, produce una reducción severa en la actividad del CFTR, y determina PI. Sin embargo, se asocia con una mucha menor incidencia de afectación intestinal, con íleo meconial, en comparación con ΔF508⁽⁵²⁾.

Aunque se ha avanzado en el conocimiento de las correlaciones de mutaciones específicas, con distintos niveles de actividad del CFTR, y con el fenotipo, las variaciones en el genotipo FQ, son insuficientes para explicar la variabilidad en las manifestaciones fenotípicas. Se ha postulado la existencia de genes distintos al CFTR, que modulan el fenotipo incluso en un mismo órgano y cuando se controlan las condiciones ambientales en laboratorio, se ha observado en ratones transgénicos FQ con el mismo genotipo CFTR, distintos grados de severidad de la enfermedad intestinal, que se ha demostrado eran genéticamente modulados por locus distintos al gen CFTR. Las investigaciones localizaron un gen modulador en el cromosoma 7 del ratón, sinténico con el cromosoma 19 humano en la banda q13⁽⁵³⁾, y este gen modificador se asocia con mayor supervivencia de los ratones FQ, y distinta prevalencia de íleo meconial en humanos⁽⁴¹⁾. Recientemente, se ha identificado, que el desarrollo de enfermedad pulmonar en algunas cepas de ratones transgénicos FQ, con falta de CFTR funcional, está genéticamente determinada por la ausencia de un canal de cloro calcio dependiente distinto al CFTR, activado por el UTP⁽⁵⁴⁾, y continúan los estudios para investigar el papel modulador de este u otros genes en la enfermedad humana. Incluso recientemente se ha comunicado⁽⁵⁵⁾ un paciente con test del sudor positivo y enfermedad pulmonar compatible con FQ, que tenía los mismos alelos del gen CFTR que su hermana sana, sin encontrarse ninguna mutación FQ en el estudio de toda la región codificante del gen CFTR y regiones intrónicas limítrofes, especulándose que en esta y otras raras ocasiones (< 1% de los casos), el fenotipo FQ podría resultar de la disfunción de genes distintos al CFTR, lo que de ser cierto, significaría que también la FQ, a semejanza de la mayoría de las enfermedades genéticas, muestra heterogeneidad genética

Estudio de la diferencia de potencial (PD) transepitelial nasal

El epitelio respiratorio, es capaz de regular la composición del líquido periepitelial, mediante el transporte de iones, como el sodio y el cloro^(56,57). Este transporte genera un PD transepitelial, que puede ser medido *in vivo*, habiéndose documentado un patrón de anomalías en los pacientes con FQ, que pueden ser útiles en el diagnóstico^(6,7,18,58,59), y en la evaluación de la eficacia de tratamientos encaminados a la corrección del defecto básico⁽⁶⁰⁾. El protocolo de valoración del PD nasal^(60,61), debe comenzar por la medición del PD basal que está elevado (es más electronegativo), reflejando una reabsorción aumentada de sodio, en los pacientes con FQ, comparado con controles, con escaso solapamiento en los valores observados entre ambas poblaciones (media -46 mV vs -19 mV). La perfusión del epitelio nasal con amiloride en los pacientes, produce un descenso mucho mayor del PD, haciéndose indistinguibles los valores con los de la población control. La perfusión con una solución falta de cloro, en presencia de amiloride, y de una solución falta de cloro, junto con un agonista del cAMP como el isoproterenol y con amiloride, en los pacientes no producen una corriente medible de cloro, con aumento del PD, a diferencia de lo que ocurre en controles.

Aunque la medición del PD nasal es segura, y no exige un utillaje excesivamente caro, existen limitaciones que hacen difícil su generalización en la práctica clínica habitual. Su realización exige tiempo, y la presencia de dos personas expertas. Variaciones en la situación del electrodo explorador en las fosas nasales modifican grandemente las mediciones. La existencia de pólipos nasales, inflamación, o trauma también altera las propiedades bioeléctricas del epitelio nasal^(60,61). Por ello, los resultados de la medición del PD nasal se deben analizar con precaución, y solamente utilizando valores de referencia obtenidos en cada laboratorio, que hayan mostrado en un gran número de observaciones, que discriminan adecuadamente entre pacientes y controles. No existe consenso sobre la correlación entre la severidad de la enfermedad pulmonar y el grado de anomalía del PD nasal⁽⁶²⁾.

El Consenso concluye que aunque el diagnóstico de FQ será evidente en la gran mayoría de los casos, siguiendo los criterios diagnósticos propuestos, los clínicos se seguirán encontrando ocasionalmente con dilemas diagnósticos en pacientes con clínica sugestiva, pero con evidencia no concluyente de disfunción del CFTR, o bien con test del sudor positivo sin haberse identificado dos mutaciones FQ y con clínica equívoca. La medición del PD nasal puede ayudar en algunos casos, pero el juicio clínico y el seguimiento de estos pacientes son esenciales. Son necesarias más investigaciones, para delimitar mejor el fenotipo FQ, para la identificación de nuevas mutaciones en el gen CFTR, especialmente en las regiones intrónicas, y para esclarecer el papel de otros genes en la modulación del fenotipo, así como para definir mejor los límites de normalidad del test del sudor fundamentalmente en adultos, y el papel del PD nasal.

El clínico no debe considerar por más tiempo a la FQ, como un trastorno genético que da lugar siempre a un fenotipo severo, reconocible en los primeros años de la vida, sino como una

enfermedad compleja, que puede producir un amplio rango de manifestaciones clínicas que pueden aparecer a cualquier edad, y debe mantener una mente abierta, ante la posible presencia de formas atípicas, que en los años venideros seguirán siendo esclarecidas progresivamente, con la utilización de estudios del genotipo y del PD nasal de estos pacientes.

Bibliografía

- 1 Wood RE, Boat TF, Doershuk CF. Cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1976; **113**:833-878.
- 2 Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine iontophoresis. *Pediatrics* 1958; **23**:545-549.
- 3 Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean M, Rozmahel R, Cole JL, Kennedy D, Hidaka N, Zsiga M, Buchwald M, Riordan JR, Tsui LC, Collins FS. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989; **245**:1059-1065.
- 4 Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, Zielenski J, Lok S, Plavsky N, Chou J, Drumm ML, Iannuzzi MC, Collins FS, Tsui LC. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989; **245**:1066-1072.
- 5 Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, Buchwald M, Tsui LC. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 1989; **245**:1073-1080.
- 6 Knowles MR, Garzy J, Boucher R. Relative ion permeability of normal and cystic fibrosis nasal epithelium. *J Clin Invest* 1983; **71**:1410-1418.
- 7 Alton EFWF, Currie D, Logan-Sinclair R, Warner JO, Hodson ME, Geddes DM. Nasal potential difference: a clinical diagnostic test for cystic fibrosis. *Eur Respir J* 1990; **3**:922-926.
- 8 Rosemstein BJ, Cutting GR, for the Cystic Fibrosis Consensus Panel. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. *J Pediatr* 1998; **132**:589-595.
- 9 Denning CR, Huang NH, Cuasay LR, Shwachman H, Tocci P, Warwick WJ, Gibson LE. Cooperative study comparing three methods of performing sweat tests to diagnose cystic fibrosis. *Pediatrics* 1980; **66**:752-757.
- 10 National Committee for Clinical Laboratory Standards. Sweat testing: sample collection and quantitative analysis; approved guideline. NCCLS document C34-A (ISBN 1-56238-260-8). 1994.
- 11 Stern RC. The diagnosis of cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1997; **336**:487-491.
- 12 Pignatti PF, Bombieri C, Marigo C, Benetazzo M, Luisetti M. Increased incidence of cystic fibrosis gene mutations in adults with disseminated bronchiectasis. *Hum Mol Genet* 1995; **4**:635-639.
- 13 Chillón M, Casals T, Mercier B, Bassas L, Lissens W, Silber S, Romey MC, Ruiz-Romero J, Verlingue C, Claustres M, Nunes V, Ferec C, Estivill X. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital bilateral absence of the vas deferens. *N Engl J Med* 1995; **332**:1475-1480.
- 14 Weiner Miller P, Hamosh A, Macek Jr M, Greenberger PA, MacLean J, Walden SM, Slavin RG, Cutting GR. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Am Hum Genet* 1996; **59**:45-51.
- 15 Sharer N, Schwartz M, Malone G, Howarth A., Painter J, Super M, Braganza J. Mutations of the cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998; **339**:645-652.

- 16 Cohn JA, Friedman KJ, Noone P, Knowles MR, Silverman LM, Jowell PS. Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998; **339**:653-658.
- 17 Sojo A, Rodriguez Soriano J, Vitoria JC, Vazquez C, Arizeta G, Villate A. Chloride deficiency syndrome as a presentation or complication of cystic fibrosis. *Eur J Paediatr* 1994; **153**:825-828
- 18 Wilson DC, Ellis L, Zielenski J, Corey M, Ip WF, Tsui LC, Tullis E, Knowles MR, Durie PR. Uncertainty in the diagnosis of cystic fibrosis: Possible role of in vivo nasal potential difference measurements. *J Pediatr* 1998; **132**:596-599.
- 19 Hammond KB, Turcios NL, Gibson LE. Clinical evaluation of the macroduct sweat test collection system and conductivity analyzer in the diagnosis of cystic fibrosis. *J Pediatr* 1994; **124**:255-260.
- 20 Nathanson I, Tucker M, Jones L. Measurement of chloride concentration in microvolume samples of sweat. *Pediatr Pulmonol* 1994; **17**:340-342.
- 21 Farrell PM, Kosciak PM. Sweat chloride concentrations in infants homozygous or heterozygous for F508 cystic fibrosis. *Pediatrics* 1996; **97**:524-528.
- 22 Di Sant' Agnese PA, Davis PB. Cystic fibrosis in adults. 75 cases and a review of 232 cases in the literature. *Am J Med* 1979; **66**:121-132.
- 23 Davis PB, Del Río S, Muntz JA, Dieckman L. Sweat chloride concentrations in adults with pulmonary diseases. *Am Rev Respir Dis* 1983; **128**:34-37.
- 24 LeGrys V. Sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis: Practical considerations. *J Pediatr* 1996; **129**:892-897.
- 25 Elorz J, Casals T, Sojo A, Estivill X. Dos casos de fenotipo leve-atípico asociado a la mutación L206W. IV Congreso Nacional de Fibrosis Quística. Bilbao. Noviembre 1997. Libro de resúmenes p 126.
- 26 Highsmith WE, Burch LH, Zhou Z, Olsen JC, Boat TE, Spock A, Gorvoy JD, Quittell L, Friedman KJ, Silverman LM, Boucher RC, Knowles MR. A novel mutation in the cystic fibrosis gene in patients with pulmonary disease but normal sweat chloride concentrations. *N Engl J Med* 1994; **331**:974-980.
- 27 Hanukoglu A, Bistrizter T, Rakover Y, Mandelberg A. Pseudohypoaldosteronism with increased sweat and saliva electrolyte values and frequent lower respiratory tract infections mimicking cystic fibrosis. *J Pediatr* 1994; **125**:752-755.
- 28 Marthinsen L, Kornfält R, Aili M, Andersson D, Westgren U, Schaedel C. Recurrent Pseudomonas bronchopneumonia and other symptoms as in cystic fibrosis in a child with type I pseudohypoaldosteronism. *Acta Paediatr* 1998; **87**:472-474.
- 29 Smith JL, Travis SM, Greenberg P, Welsh MJ. Cystic fibrosis airway epithelia fail to kill bacteria because of abnormal airway surface fluid. *Cell* 1996; **85**:229-236.
- 30 Vazquez Cordero C, Perez de Saracho Taramona M, Gastiasoro Cuesta L, Elorz J, Lambarri J. Reevaluación 1996 del test del sudor y encuesta sobre su utilización en Hospitales Españoles. *An Esp Pediatr* 1996; (**Supl 77**):61-62.
- 31 Kirk JM, Westwood A. Interpretation of sweat sodium results - The effect of patient age. *Ann Clin Biochem* 1989; **26**:38-42.
- 32 Augarten A, Hacham S, Kerem E, Kerem B, Szeinberg A, Laufer J, Doolman R, Altshuler R, Blau H, Bentur L, Gazit E, Katznelson D, Yahav Y. The significance of sweat Cl/Na ratio in patients with borderline sweat test. *Pediatr Pulmonol* 1995; **20**:369-371.
- 33 Welsh MJ, Tsui LC, Boat TF, Beaudet AL. Cystic fibrosis. En: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D editors. The metabolic and molecular bases of inherited disease. 7th ed. New York: McGraw-Hill; 1995. p 3799-876.
- 34 The Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Population variations of common cystic fibrosis mutations. *Human Mutations* 1994; **4**:167-177.
- 35 Welsh MJ, Smith AE. Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell* 1993; **73**:1251-1254.
- 36 Davis PB, Drummm M, Konstan MW. Cystic Fibrosis. *Am Rev Respir Crit Care Med* 1996; **154**:1229-1256.
- 37 Kristidis P, Bozon D, Corey M, Markiewicz D, Rommens J, Tsui LC, Durie P. Genetic determinants of exocrine pancreatic function in cystic fibrosis. *Am J Hum Genet* 1992; **50**:1178-184.
- 38 Estivill X, Ortigosa L, Peres-Frías J, Dapena J, Ferrer J, Peña J, Peña L, Llevadot R, Giménez J, Nunes V, Cobos N, Vázquez C, Casals T. Clinical characteristics of 16 cystic fibrosis patients with the missense mutation R334W, a pancreatic insufficiency mutation with variable age of onset and interfamilial clinical differences. *Hum Genet* 1995; **95**:331-336
- 39 Vázquez C, Antiñolo G, Casals T, Dapena J, Elorz J, Seculi J, Sirvent J, Cabanas J, Soler C, Estivill X. Thirteen cystic fibrosis patients, 12 compound heterozygous and one homozygous for the missense mutation G85E: a pancreatic sufficiency/insufficiency mutation with variable clinical presentation. *J Med Genet* 1996; **331**:1-3.
- 40 Kerem E, Kerem B. Genotype-phenotype correlations in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1996; **22**:387-395.
- 41 Estivill X. Complexity in a monogenic disease. *Nature Genet* 1996; **12**:348-350.
- 42 Borgo G, Gasparini P, Bobizzato A, Cabrini G, Mastella G, Pignatti PF. Cystic fibrosis: the $\Delta F508$ mutation does not lead to an exceptionally severe phenotype. A cohort study. *Eur J Pediatr* 1993; **152**:1006-1011.
- 43 Colin AA, Sawyer SM, Mickle JE, Oates RD, Milunsky A, Amos JA. Pulmonary function and clinical observations in men with congenital bilateral absence of the vas deferens. *Chest* 1996; **110**:440-445.
- 44 Mickle JE, Macek Jr M, Fulmer-Simentek SB, Egan MM, Schwiebert E, Guggino W, Moss R, Cutting GR. A mutation in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene associated with elevated sweat chloride concentrations in the absence of cystic fibrosis. *Hum Mol Genet* 1998; **7**:729-735.
- 45 Leoni GB, Pitzalis S, Podda R, Zanda M, Silveti M, Caocci L, Cao A, Rosatelli C. A specific cystic fibrosis mutation (T338I), associated with the phenotype of isolated hypotonic dehydration. *J Pediatr* 1995; **127**:281-283.
- 46 Rozen R, Ferreira-Rajabi L, Robb L, Colman N. L206W mutation of the cystic fibrosis gene, relatively frequent in French Canadians, is associated with atypical presentations of cystic fibrosis. *Am J Med Genet* 1995; **57**:437-439.
- 47 Desgeorges M, Rodier M, Piot M, Demaille J, Claustres M. Four adult patients with the missense mutation L206W and a mild cystic fibrosis phenotype. *Hum Genet* 1995; **96**:717-720.
- 48 Chu CS, Trapnell BC, Curristin S, Cutting GR, Crystal RG. Genetic basis of variable exon 9 skipping in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Nature Genet* 1993; **3**:151-156.
- 49 Veeze HJ, Halley DJ, Bijman J, de Jongste JC, de Jonge HR, Sinaasappel M. Determinants of mild clinical symptoms in cystic fibrosis patients. Residual chloride secretion measured in rectal biopsies in relation to the genotype. *J Clin Invest* 1994; **93**:461-466.
- 50 Stern RC, Doershuk CF, Drumm ML. 3849 + 10kb C > T mutation and disease severity in cystic fibrosis. *Lancet* 1995; **346**:274-277.
- 51 Teng H, Jorissen M, Van Poppel H, Legius E, Cassiman JJ, Cuppens H. Increased proportion of exon 9 alternatively spliced CFTR transcripts in vas deferens compared with nasal epithelial cells. *Hum Mol Genet* 1998; **7**:1033-1038.

- Genet* 1997; **6**:85-90.
- 52 Davidson DL, Porteous DJ. The genetics of cystic fibrosis lung disease. *Thorax* 1998; **53**:389-397.
- 53 Rozmahel R, Wilschanski M, Matin A, Plyte S, Oliver M, Auerbach W, Moore A, Forstner J, Durie P, Nadeau J et al. Modulation of disease severity in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator deficient mice by a secondary genetic factor. *Nature Genet* 1996; **12**:280-287.
- 54 Kent G, Iles R, Bear CF, Huan LJ, Griesenbach U, McKerlie C, Frudoro H, Ackerley C, Gosselin D, Radzioch D, O'Brodovich H, Tsui LC, Buchwald M. Lung disease in mice with cystic fibrosis. *J Clin Invest* 1997; **100**:3060-3069.
- 55 Mekus F, Ballmann M, Bronsveld I, Dörk T, Bijman J, Tümmler B. Cystic-fibrosis-like disease unrelated to the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Hum Genet* 1998; **102**:582-586.
- 56 Boucher RC. Human airway ion transport. *Part One Am J Respir Crit Care Med* 1994; **150**:271-281.
- 57 Boucher RC. Human airway ion transport. *Part Two. Am J Respir Crit Care Med* 1994; **150**:581-593.
- 58 Sauder RA, Chesrown SE, Loughlin GM. Clinical application of transepithelial potential difference measurements in cystic fibrosis. *J Pediatr* 1987; **111**:353-358.
- 59 Delmarco A, Pradal U, Cabrini G, Bonizzato A, Mastella G. Nasal potential differences in cystic fibrosis patients presenting borderline sweat tests. *Eur Respir J* 1997; **10**:1145-1149.
- 60 Knowles MR, Paradiso AM, Boucher RC. In vivo nasal potential difference techniques and protocols for assessing efficacy of gene transfer in cystic fibrosis. *Hum Gene Ther* 1995; **6**:445-455.
- 61 Middleton PG, Geddes DM, Alton EFW. Protocols for in vivo measurement of the ion transport defects in cystic fibrosis epithelium. *Eur Respir J* 1994; **7**:2050-2056.
- 62 Walker LC, Venglarik CJ, Aubin G, Weatherly MR, McCarthy NA,