

# CURSO “ON LINE” DE CRIBADO NEONATAL

1ª edición



SOCIEDAD ESPAÑOLA DE BIOQUÍMICA CLÍNICA  
Y PATOLOGÍA MOLECULAR

## MÓDULO III

### TEMA 6: FIBROSIS QUISTICA

**Tegra Barreiro Martínez**

**Licenciada en Químicas.**

**Instituto de Genética Médica y  
Molecular (INGEMM)**

**Hospital Universitario La Paz  
Madrid.**

**e-mail: [t\\_barreiro@yahoo.es](mailto:t_barreiro@yahoo.es)**

**José Luis Marín Soria**

**Licenciado en Medicina y Cirugía.**

**Laboratorio Cribado Neonatal.  
Servicio de Bioquímica y Genética  
Molecular.**

**Hospital Clinic. Barcelona.**

**e-mail: [jlmarin@clinic.ub.es](mailto:jlmarin@clinic.ub.es)**

**CURSO “ON LINE” DE CRIBADO NEONATAL  
TEMA 6: FIBROSIS QUISTICA****1. INTRODUCCIÓN.**

La fibrosis quística (FQ), descrita en 1938 como “fibrosis quística del páncreas” y posteriormente denominada “mucoviscidosis”, es una de las enfermedades de herencia autosómica recesiva más frecuentes en la raza caucásica, con una incidencia estimada entre 1/2.000 y 1/6.000 nacidos vivos. En España disponemos de datos obtenidos por algunas CCAA que tienen desde hace años esta enfermedad en su programa de cribado neonatal y la incidencia detectada oscila entre 1/4.500 en Castilla y León<sup>(1)</sup> hasta 1/6.500<sup>(2)</sup> en Cataluña. La FQ también se encuentra en la mayoría del resto de las razas pero con una frecuencia inferior que en la raza caucásica.

La enfermedad se caracteriza por una acumulación excesiva de moco espeso y viscoso en el epitelio del sistema respiratorio y del tracto digestivo. Casi todos los pacientes desarrollan una enfermedad crónica y progresiva del aparato respiratorio. En estos pacientes, la enfermedad pulmonar es la causa más frecuente de morbilidad y de muerte. En el 85% de los casos existe disfunción pancreática (exocrina o endocrina); también son frecuentes las alteraciones hepatobiliares y genitourinarias<sup>(3)</sup>.

Durante los 30 últimos años ha habido un aumento marcado en la esperanza de vida de las personas con FQ. En los años 90, en el Reino Unido, se pronosticó que la esperanza de vida mediana para una cohorte de lactantes con FQ sería de alrededor de los 40 años<sup>(4)</sup>. Gran parte de este aumento se atribuyó a las mejoras en el tratamiento y se argumentó que las intervenciones terapéuticas administradas antes de la aparición de los signos o los síntomas podían presentar un beneficio mayor a largo plazo. Como resultado surgió la hipótesis de que el diagnóstico presintomático, mediante el cribado neonatal y la aplicación de tratamiento precoz podía prevenir o reducir el daño pulmonar irreversible y optimizar el estado nutricional y de ese modo mejorar el resultado y la calidad de vida en las personas con FQ. La supervivencia media de los pacientes nacidos en estos últimos años sólo es posible estimarla mediante modelos matemáticos y estos predicen que llegarán a la sexta década de la vida<sup>(5)</sup>.

Las primeras pruebas para la detección precoz de la FQ, basadas en la identificación del aumento del contenido de albúmina en el meconio, fueron escasamente sensibles y muy poco específicas. Introducir la FQ en los programas de cribado comenzó a ser factible con el desarrollo en 1979 de un radioinmunoensayo para cuantificar la tripsina inmunorreactiva (TIR) en muestras de sangre seca de los recién nacidos (RN)<sup>(6)</sup>.

La FQ constituye un problema de salud importante y en opinión de la mayoría de los autores, cumple desde hace años los criterios generalmente aceptados para ser incluida en los programas de cribado neonatal<sup>(7)</sup>: es una enfermedad bien definida clínica y bioquímicamente con morbilidad y mortalidad importantes. Tiene un tratamiento eficaz, aunque no curativo, que mejora claramente su evolución y existe un marcador bioquímico de bajo coste y sensibilidad y especificidad aceptables. Por ello, aunque el camino recorrido ha sido lento, en la actualidad 10 CCAA españolas tienen incluida esta enfermedad en sus programas y los resultados son altamente satisfactorios.

**2. FISIOPATOLOGÍA**

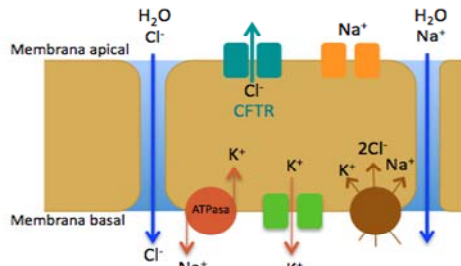
En 1948, el Dr. Paul di Sant Agnese, pediatra neoyorkino, descubrió la excesiva concentración de sal en el sudor de varios niños afectados de FQ. Por medio de este hallazgo demostró que el defecto no estaba en la composición del moco y contribuyó a que Gibson y Cooke diseñaran un test para medir, de forma estandarizada, la concentración de iones en el sudor (Test del sudor).

La alteración del transporte de electrolitos, particularmente de iones cloruro (Cl<sup>-</sup>), es la principal anomalía en la FQ. En los años 80, Knowles<sup>(8)</sup> demostró que la anomalía en la composición del sudor se debe a un defecto en la secreción del cloro, activado por AMPc, a nivel del conducto excretor de

**CURSO "ON LINE" DE CRIBADO NEONATAL  
TEMA 6: FIBROSIS QUISTICA**

la glándula sudorípara. Tras este hallazgo los genetistas moleculares localizaron el gen *CFTR*<sup>(9)</sup>, causante de la enfermedad, en el cromosoma 7.

En la FQ, las secreciones en diversos órganos, son anormalmente espesas y deshidratadas lo que provoca la obstrucción de los conductos del páncreas, glándulas salivares, epidídimo, intestino, bronquios y bronquiolos. La formación de estas secreciones es el resultado final de un flujo alterado de iones cloruro e iones sodio y del agua que les acompaña. A través de la membrana basal de la



**Figura 1.** Transporte de electrolitos en el epitelio de las vías respiratorias.

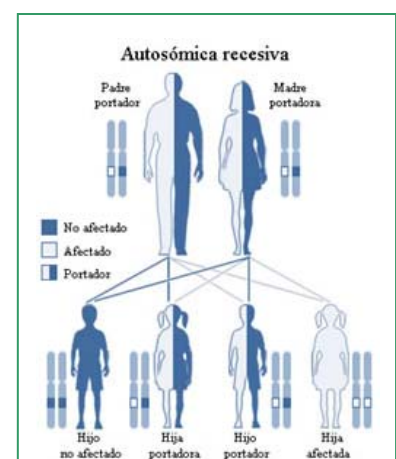
célula epitelial de las vías respiratorias de un individuo sano, se produce la entrada de iones sodio y agua de forma pasiva y de iones cloruro en contra de gradiente electroquímico, gracias a que es cotransportado a través de la bomba sodio-potasio. En la membrana apical de la célula epitelial, los iones cloruro salen a favor de gradiente cuando se abren los canales de cloro. Simultáneamente, sale agua, que contribuye a mantener la fluidez de la secreción. En la misma membrana apical existen también canales para el sodio, que permiten su entrada a favor de gradiente electroquímico y que se cierran cuando se produce la secreción de cloro.

En la FQ el canal *CFTR*, o está ausente o no responde a los estímulos hormonales fisiológicos, de modo que el flujo de cloro queda bloqueado y con ello también se reduce el flujo de agua al exterior. Paralelamente, aumenta la reabsorción de sodio (y agua) a través de la membrana apical. El resultado final es que la secreción se deshidrata. Actualmente se acepta que son las secreciones espesas las causantes de la insuficiencia pancreática, de la infertilidad del 90% de los varones enfermos y de las obstrucciones de los bronquios y las infecciones respiratorias crónicas<sup>(10-11)</sup>. La enfermedad pulmonar de la FQ afecta fundamentalmente a las vías aéreas, lo que origina una inadecuación entre la ventilación y la perfusión pulmonar y atrapamiento aéreo, mientras que los alveolos y el intersticio pulmonar no se afectan hasta etapas muy tardías<sup>(12)</sup>. La microbiología de las vías aéreas de la FQ muestra que estos pacientes son susceptibles de desarrollar infección crónica por una serie de patógenos característicos, siendo el más importante de ellos la *P. aeruginosa*.

### 3. GENÉTICA

#### 3.1 Patrón de herencia de la FQ

La FQ está causada por mutaciones en el gen regulador de la conductancia transmembrana (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*<sup>(9-13)</sup>, *CFTR*). Es una enfermedad monogénica con herencia autosómica recesiva (Figura 1). Se manifiesta cuando se han heredado dos copias mutadas del gen *CFTR* (de ambos progenitores). Los individuos que tienen una copia normal y otra mutada, son portadores sanos de la enfermedad y no manifiestan ninguno de los síntomas comunes de la misma. En el caso de que ambos progenitores sean portadores sanos, existe un 75% de probabilidades de que los hijos sean sanos (un 50% portadores) y un 25% de que sean afectados de FQ.



**Figura2.** Modo de herencia entre dos portadores de un gen autosómico recesivo y monogénico

## CURSO "ON LINE" DE CRIBADO NEONATAL

### TEMA 6: FIBROSIS QUISTICA

#### 3.2 El gen *CFTR*

El gen *CFTR* se localiza en la posición q31.2 del brazo largo del cromosoma 7, ocupando una extensión considerable, de aproximadamente 190 kb. El gen está constituido por 27 exones<sup>(14)</sup> y se transcribe en un ARNm de aproximadamente 6,5 kb. Se expresa en células epiteliales de tejidos exocrinos, como pulmones, páncreas, glándulas sudoríparas, intestino, epidídimo y conductos deferentes. Codifica la síntesis de la proteína conocida como CFTR (regulador de la conductancia transmembrana de la FQ), proteína transmembrana glicosilada con una longitud de 1.480 aminoácidos, cuya función principal es la de actuar como canal de cloro estimulado por AMPc<sup>(15)</sup>, además de influir en la actividad de otros canales y en la regulación de otras proteínas.

#### 3.3 La proteína CFTR

La proteína CFTR tiene dos dominios transmembrana, cada uno de ellos formado por seis regiones hidrófobas que están ancladas en la bicapa lipídica de la membrana celular. Tienen 2 sitios de unión a ATP y un dominio regulador (dominio R), que contiene múltiples lugares para la fosforilación por una proteína quinasa A. Los sitios de unión al ATP presentan una gran homología con dominios similares de una superfamilia de proteínas llamadas proteínas ABC<sup>(16)</sup>, proteínas transportadoras dependientes de ATP que se encuentran en organismos uni y pluricelulares, encargadas de exportar macromoléculas al exterior mediante la energía obtenida a partir de la bomba ATP.

#### 3.4 Mutaciones en el gen *CFTR*

Hasta la fecha, se han descrito más de 1900 mutaciones del gen *CFTR* que afectan de distinta forma a la estructura y la funcionalidad de la proteína, reduciendo o incluso impidiendo el transporte de electrolitos a través de la membrana de las células epiteliales de los tejidos en los que se expresa este gen. Estas mutaciones están recogidas en la base datos de mutaciones de FQ (*CFTR mutation database* <http://www.genet.sickkids.on.ca/statisticspage.html>). Las mutaciones se distribuyen por todo el gen *CFTR* y la mayoría de las causantes de la enfermedad son mutaciones puntuales en las que sólo se ve afectado un nucleótido. De las mutaciones encontradas se estima que un 40,2% son *missense* (mutaciones donde el cambio de base produce un codón que codifica otro aminoácido); un 15,9% son mutaciones *frameshift* (desplazamiento en el marco de lectura); un 11,7% son mutaciones de *splicing* (mutaciones que afectan al procesamiento del ARN); un 8,3% son mutaciones *nonsense* (mutaciones que dan lugar a un codón de terminación); y un 2,0% son deleciones / inserciones sin cambio de pauta de lectura. Además, un 14,3% de las variantes descritas son polimorfismos, mientras que se desconoce las consecuencias funcionales del 3,0% de las mismas. Sólo una pequeña fracción de estas mutaciones, el 2,5%, son deleciones o inserciones grandes que abarcan uno o más exones. Por último, se han descrito mutaciones (un 0,8%) en el promotor del gen.

#### 3.5 Clasificación funcional de las mutaciones en *CFTR*

Dependiendo del efecto a nivel de la proteína, las mutaciones del gen *CFTR* pueden dividirse en cinco clases<sup>(17)</sup>:

- **Clase I:** mutaciones que provocan la ausencia de síntesis de la proteína CFTR. Son mutaciones *nonsense*, *frameshift* o de *splicing*.
- **Clase II:** mutaciones que producen como resultado proteínas que no se pliegan adecuadamente, no consiguen madurar y son degradadas sin alcanzar la membrana

**CURSO "ON LINE" DE CRIBADO NEONATAL**  
**TEMA 6: FIBROSIS QUISTICA**

plasmática. Este es el caso de la mutación p.Phe508del (F508del), la más frecuente y conocida.

- **Clase III:** mutaciones que dan como resultado proteínas que tienen un defecto en la regulación (apertura/cierre) del canal CFTR. Es el caso de algunas mutaciones *missense*, que afectan a la unión de ATP en el dominio regulador.
- **Clase IV:** mutaciones que provocan una conducción anómala del flujo de iones cloruro a través del canal CFTR. Estas mutaciones son de tipo *missense* y se localizan en los dominios transmembrana.
- **Clase V:** mutaciones que producen como resultado cantidades residuales de proteína CFTR funcional

Las mutaciones de clase I, II y III se consideran mutaciones graves y cursan con insuficiencia pancreática, mientras que las mutaciones de clase IV y V son mutaciones más leves, que suelen asociarse en parte con la mejor función pulmonar, estado nutricional, suficiencia pancreática y colonización por *Pseudomonas* más tardía. En un paciente con dos mutaciones en el gen *CFTR* primará el fenotipo causado por la mutación más leve.

La clasificación de las mutaciones según el efecto de estas sobre la proteína trata de predecir el fenotipo e intentar relacionar la combinación de las distintas mutaciones con la supervivencia de los pacientes (Tabla 1).

**Tabla1. Correlación genotipo-fenotipo.**

Clase	Defecto	Tipos de mutaciones	Ejemplo	Efecto sobre el fenotipo
I	Defecto en la síntesis de proteína CFTR	<i>Nonsense</i> <i>Frameshift</i> <i>Splicing</i>	p. G542* p. R553* p. W1282* c.489+1G>T p.Phe316Leufs*12 p.Lys1177Serfs*15 c.1585-1G>A	Insuficiencia pancreática grave Afectación respiratoria grave Test del sudor positivo (elevado)
II	Defecto en el procesamiento de proteína CFTR	<i>Missense</i> Deleciones de aminoácidos	p. F508del p.Ile507del p.Asn1303Lys p.Ser549Asn p.Gly85Glu	Insuficiencia pancreática grave Afectación respiratoria grave Test del sudor positivo (elevado)
III	Defecto en la regulación del canal CFTR	<i>Missense</i>	p. G551D p.Arg560Thr	Insuficiencia pancreática grave Afectación respiratoria grave Test del sudor positivo (elevado)
IV	Defecto en la conducción de iones en el canal CFTR	<i>Missense</i>	p. R117H p.Arg334Trp p.Arg347Pro	Suficiencia pancreática leve Afectación respiratoria grave o moderada Test del sudor límite
V	Síntesis reducida de proteína CFTR funcional	<i>Missense</i> <i>Splicing</i> alternativo	c. 621 + 1G>T c.3718-2477C>T c.2657+5G>A p.Ala455Glu	Suficiencia pancreática leve Afectación respiratoria grave o moderada Test del sudor límite o elevado

Ciertos genotipos CFTR están relacionados con formas clínicas más benignas, pero el valor pronóstico del genotipo CFTR respecto a la supervivencia no ha sido claramente establecido aún, ya que la presentación fenotípica de todos los enfermos con FQ es muy variable. El fenotipo clínico en un individuo afecto de FQ resulta de la interacción compleja entre el genotipo CFTR, la influencia de genes modificadores y la exposición a diferentes agentes ambientales, es por ello que la clasificación mencionada ofrece solamente información para grupos de enfermos y no a nivel individual, donde sólo proporciona información de riesgo.

**CURSO "ON LINE" DE CRIBADO NEONATAL**  
**TEMA 6: FIBROSIS QUISTICA**

### 3.6 Distribución de las mutaciones en *CFTR*

La distribución de las mutaciones del gen *CFTR* difiere entre las diferentes poblaciones étnicas. La mutación más frecuente es la p. Phe508del (c.1521\_1523delCTT, según la nueva nomenclatura estandarizada siguiendo las recomendaciones de la *Human Genome Variation Society* ([www.hgvs.org](http://www.hgvs.org)). Alrededor del 75% de los alelos FQ a nivel mundial contienen esta mutación. Consiste en la pérdida de un codón que lleva a la ausencia de una fenilalanina en la posición 508 de la proteína. Esta proteína alterada no alcanza su ubicación correcta en la superficie de la membrana celular para su maduración (quedando retenida en el aparato de Golgi) y es destruida por el proteasoma. Es una mutación de clase II.

Además de F508del, en la mayoría de las poblaciones existen otras mutaciones frecuentes, cada una de ellas alcanzando frecuencias de aproximadamente 1%-2%, son p. Gly542\* (c. 1624G>T), p. Gly551Asp (c. 1652G>A), p. Arg553\* (c. 1657C>T), p. Trp1282\* (c. 3846G>A y p. Asn1303Lys (c. 3909C>G). Por último, para una determinada población, existen mutaciones étnicas específicas que alcanzan frecuencias de aproximadamente 1%-2%. En la mayoría de las poblaciones, todas esas mutaciones combinadas cubren aproximadamente el 85%-95% de todos los genes *CFTR* mutados. El grupo restante de genes *CFTR* mutados en una población particular comprende mutaciones raras, algunas de ellas sólo se encuentran en una única familia (Tabla 2).

**Tabla2. Distribución de las mutaciones de *CFTR* en las poblaciones con mayor prevalencia.**

Nombre de la mutación	Exón	Frecuencia	(%)	Población con la mayor prevalencia
p.Phe508del	11	28.948	66	
p.Gly542*	12	1.062	2,4	Española
p.Gly551Asp	12	717	1,6	Inglesa
p.Asn1303Lys	24	589	1,3	Italiana
p.Trp1282*	23	536	1,2	Judio-Askenazi
p.Arg553*	12	322	0,7	Alemana
c. 489+1G>T	4	315	0,7	Canadiense-Francesa
c. 1585-1G>A	12	284	0,6	Italiana
p.Arg117His	4	133	0,3	
p.Arg1162*	22	125	0,3	Italiana
p.Arg347Pro	8	106	0,2	
c.3718-2477C>T	Intrón 22	104	0,2	
p.Ile507del	11	93	0,2	
p.Leu88Ilefs*22	3	78	10-30%*	Norte de Finlandia
p.Gly85Glu	3	67		
p.Ala455Glu	10	62		
p.Phe316Leufs*12	8	57		
c.2657+5G>A	Intrón 16	54		Española
p.Lys1177Serfs*15	22	54		
p.Ard334Trp	8	53		
c.1766+1G>A	Intrón 13	53		
c.579+1G>T	Intrón 5	49		Canadiense-Francesa
p.Lys684Serfs*38	14	40		Italiana
p.Leu1258Phefs*7	23	38	6-17%*	Suíza, Amish
p.Ser549Asn	12	30		



**CURSO "ON LINE" DE CRIBADO NEONATAL  
 TEMA 6: FIBROSIS QUISTICA**

p.Lys684Asnfs*38	14	29		
p.Trp79Leufs*32	3		87,5%*	Judia-Georgiana
p.Met1101Lys	20		69%*	Huteritas
p.Tyr122*	4		48%*	Francesa, Isla Reunión
c.1766+5G>T	Intrón 13		30%	China, Taiwanesa
c.2988+1G>A	Intrón 18		11%	Afroamericana

*Datos obtenidos de CF-Genetic Analysis Consortium. La frecuencia está basada en el screening de 43.849 cromosomas FQ. Las mutaciones se han encontrado en pacientes de origen caucásico, excepto en los así indicado. Para algunas de las mutaciones con mayor prevalencia se indica la localización geográfica (o grupo étnico). Se muestra la frecuencia relativa aproximada (expresada en \*) para aquellas mutaciones que han sido descritas en grupos pequeños de pacientes o sólo en las poblaciones indicadas.*

## 4. CLINICA

La FQ es una enfermedad clínicamente muy variable. En los primeros años se asoció a un cuadro clínico de malnutrición, diarrea crónica, bronquiectasias, lesiones de fibrosis y quistes pancreáticos hallados en las necropsias de los pacientes fallecidos. En los años 40 y 50 se le denominó "mucoviscidosis" hallándose la afectación múltiple del tejido glandular de distintos órganos: páncreas, hígado, intestino, vías respiratorias y glándulas salivares que quedaban obstruidos por unas secreciones anormalmente viscosas responsables de la presentación clínica de la enfermedad.

La afectación pulmonar es la causa más importante de discapacidad grave y muerte prematura en las personas con FQ. Los pulmones de los pacientes son, al nacimiento, histológicamente normales, sin embargo los estudios realizados en muestras de lavados bronco-alveolares de lactantes, diagnosticados mediante programas de cribado neonatal, han demostrado que en muchos de ellos, incluso asintomáticos, hay evidencias de infección e inflamación.

### 4.1 Manifestaciones clínicas pulmonares:

El espectro clínico de la enfermedad pulmonar es muy amplio y puede abarcar desde los lactantes asintomáticos diagnosticados mediante los programas de cribado neonatal a niños mayores o adultos con síntomas respiratorios crónicos de larga evolución que fueron mal diagnosticados.

Las manifestaciones pulmonares consisten, en general, en tos y respiración sibilante crónicas asociadas a infecciones pulmonares crónicas o recidivantes. Sin embargo si el diagnóstico es precoz y se instaura el tratamiento apropiado los pacientes pueden permanecer asintomáticos durante muchos años. No obstante durante la adolescencia o durante los primeros años de la tercera década, la mayoría de los pacientes desarrollan una tos persistente, asociada, generalmente, al comienzo de la infección crónica por *P. aeruginosa*.

A este inicio de sintomatología clínica persistente se asocian las bronquiectasias y el empeoramiento de la función respiratoria con un patrón obstructivo. Este patrón podrá exacerbarse ante infecciones virales con aumento de la tos -que también puede ser nocturna y producir trastornos del sueño-, aumento de la expectoración habitual, hemoptisis -que suelen ser pequeñas y autolimitadas-, anorexia y disminución de la capacidad para el ejercicio físico.

La progresión de la enfermedad pulmonar es muy variable. En la actualidad muy pocos pacientes presentan afectación pulmonar grave durante la infancia y la gran mayoría alcanzan la edad adulta con una función pulmonar normal o casi normal. Con el paso del tiempo la afectación aguda y crónica del parénquima pulmonar produce una lesión del tejido, fibrosis extensa y cambios en la mecánica del pulmón y de las vías respiratorias<sup>(3)</sup>. Las lesiones pulmonares evolucionan hacia la insuficiencia respiratoria y hacia el *cor pulmonale*, que son las causas de muerte más frecuentes en los pacientes con FQ<sup>(10)</sup> si no reciben un trasplante pulmonar. También puede producirse afectación

**CURSO "ON LINE" DE CRIBADO NEONATAL****TEMA 6: FIBROSIS QUISTICA**

de la vías aéreas superiores en forma de sinusitis crónica o recidivante y poliposis nasal<sup>(18)</sup>. La poliposis nasal es frecuente en la FQ y su hallazgo en niños debe siempre excluir o confirmar su asociación a la misma. Su patogénesis no está clara y es más frecuente en niños mayores, adolescentes y adultos jóvenes.

La función pulmonar es medida a través del volumen máximo espirado en el primer segundo de la espiración forzada (FEV1), que aunque es un parámetro menos sensible para la detección de la enfermedad pulmonar precoz, es reproducible incluso en niños pequeños y por ello se utiliza para definir la gravedad de la función pulmonar. Se considera que un paciente tiene una capacidad pulmonar normal si su FEV1 es  $\geq 90\%$ ; afectación leve si está entre 70 y 89%; moderada entre 40 y 69% y grave cuando es inferior al 40%.

**4.2 Manifestaciones clínicas gastrointestinales:**

La enfermedad gastrointestinal grave es la característica patológica inicial en la fibrosis quística.

La insuficiencia pancreática produce mala absorción de grasa y proteínas y conduce a la malnutrición y a un desarrollo insuficiente de los niños con retardo en la ganancia de peso y estatura. Se suele manifestar en las primeras etapas de la vida y puede ser progresiva. La esteatorrea (presencia de una cantidad excesiva de grasas en las heces) es la más importante manifestación clínica, y afecta al estado nutritivo, al desarrollo y a la absorción de micronutrientes y vitaminas liposolubles. Se manifiesta como deposiciones frecuentes de heces voluminosas, malolientes y de aspecto oleoso.

La afectación hepatobiliar es frecuente en los pacientes adultos y, en estos, es la segunda causa de mortalidad más común, después de la enfermedad pulmonar. Pueden existir colestasis crónica, inflamación, fibrosis e incluso cirrosis.

**El Íleo meconial:** aparece en el 10-20% de los RN con genotipos graves como primera manifestación de la enfermedad<sup>(19)</sup> y es una obstrucción intestinal debida a la presencia de un meconio que se adhiere a la mucosa del íleon terminal. Esta porción del colon relativamente vacío y de pequeño diámetro recibe el nombre de "microcolon". El íleo meconial es casi siempre una manifestación precoz de la fibrosis quística. También puede asociarse a un retraso de la expulsión neonatal de meconio o a un síndrome del tapón meconial<sup>(20-21)</sup>. Una gran parte de los RN con este transtrono de la motilidad intestinal cursan con niveles normales en suero de tripsina inmunoreactiva (TIR) comportándose como falsos negativos del cribado bioquímico de la FQ.

**4.3 Manifestaciones clínicas genitourinarias**

Los varones con FQ suelen ser estériles debido tanto a la ausencia congénita bilateral de los conductos deferentes como a la atrofia de los mismos<sup>(20)</sup>, produciéndose azoospermia y disminución del volumen eyaculado.

En las mujeres la deficiencia en la fertilidad está afectada por la presencia de un moco espeso en el tracto genital<sup>(20)</sup>. Algunas niñas pueden desarrollar amenorrea e infertilidad. Sin embargo, las mujeres con FQ pueden concebir y tener hijos sanos, pero los riesgos maternos y fetales dependen de la gravedad de la enfermedad pulmonar y de sus complicaciones.

**5. Diagnóstico bioquímico****5.1 Concentración sérica de tripsina inmunorreactiva (TIR)**

La medición de la TIR se realiza desde principios de los años setenta<sup>(22)</sup>. Los niveles en suero de tripsina inmunorreactiva son más altos en los recién nacidos con FQ que en aquellos que no están afectados por la enfermedad. Esto puede ser debido al bloqueo de los conductos pancreáticos exocrinos.

Los niveles de TIR se elevan en las primeras semanas de vida en los recién nacidos con FQ. Sin embargo, en la primera semana de vida, cuando se toman la mayoría de las muestras sanguíneas a los



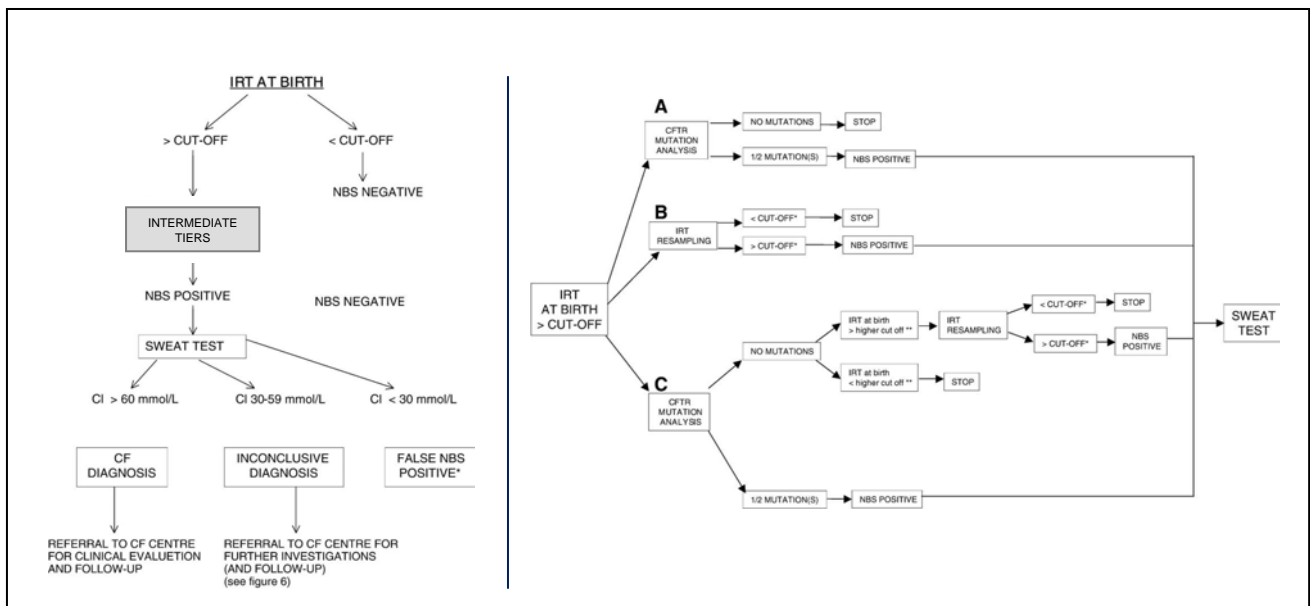
**CURSO “ON LINE” DE CRIBADO NEONATAL  
TEMA 6: FIBROSIS QUISTICA**

recién nacidos, la especificidad de una única TIR elevada es baja. Por lo tanto se desarrollaron protocolos basados en una segunda prueba de TIR con análisis posteriores del DNA y/o test del sudor para reducir los casos falsos negativos y los diagnósticos falsos positivos asociados con la elevación de la TIR<sup>(6)</sup>. En base a estos protocolos, se informaron sensibilidades de entre 85% y 90% (que convencionalmente se calculan con la exclusión de lactantes con íleo meconial).

El método analítico más utilizado para su cuantificación en sangre seca es el inmunofluoránalisis. Método que utiliza dos anticuerpos de ratón que identifican dos “locus antigénicos” distintos de la molécula de TIR.

En la actualidad el algoritmo de diagnóstico más aplicado es el TIR-DNA<sup>(23-24)</sup> que consiste en buscar las mutaciones genéticas en el ADN del recién nacido tras el hallazgo de la concentración de TIR elevada. Este método es rápido y no crea ansiedad en las familias, pero su coste es elevado y se detectan muchos “portadores” de una mutación genética. En algunas CCAA se realiza el algoritmo en “dos pasos”: TIR-TIR-DNA. Tras la primera TIR elevada se solicita una segunda muestra que debe extraerse entre los 20 y 30 días de vida, si la TIR de esta segunda muestra es elevada se realiza el estudio de mutaciones genéticas. Esta metodología también tiene algunos inconvenientes, el más importante es la ansiedad provocada a las familias tras la solicitud de una segunda muestra y que tendrán que esperar varios días para conocer el resultado. Este protocolo exige un gran tacto en la información a las familias. En ambos casos debe concluirse con la realización del test del sudor.

Protocolos de actuación en el diagnóstico de la FQ propuestos en la *European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening*<sup>(17)</sup>.



**5.2 Examen del Cloro en sudor (test del sudor):**

Este test fue desarrollado en 1959 por Gibson y Cooke<sup>(25)</sup>, y sigue siendo una prueba fundamental en el diagnóstico de la FQ, siempre que se realice de forma adecuada<sup>(26)</sup>, mediante iontoforesis cuantitativa con pilocarpina. Para realizarlo, se estimula localmente la sudoración por medios farmacológicos, se mide la cantidad de sudor y se determina la concentración de Cl<sup>-</sup> en el mismo. No es aceptable utilizar “in situ” la conductividad eléctrica del sudor. La muestra necesaria ha de obtenerse en el plazo máximo de 30 minutos. Un mayor tiempo de recogida se asocia a riesgo de falsos negativos debido a una estimulación subóptima de las glándulas sudoríparas.

Los criterios clásicos para el diagnóstico de la enfermedad, basados en este test, son: una concentración superior a 60 mmol/L, junto a uno o más de los siguientes hallazgos (insuficiencia

## CURSO "ON LINE" DE CRIBADO NEONATAL

### TEMA 6: FIBROSIS QUISTICA

pancreática exocrina, enfermedad pulmonar sugestiva o historia de FQ en hermanos o primos hermanos)<sup>(27)</sup>. Es infrecuente encontrar concentraciones de Cl<sup>-</sup> entre 30 y 59 mmol/L en niños sin FQ por lo que estos valores deben considerarse "sospechosos" y exigen repetir el test y confirmar o descartar la enfermedad por otros métodos. Por debajo de 30 mmol/L de Cl<sup>-</sup> el test se considera normal.

Los resultados falsos negativos son raros, pero posibles en los pacientes con edema e hiponatremia o cuando las cantidades de sudor recogidas son insuficientes. Los resultados falsos positivos suelen estar relacionados con errores técnicos o con el uso de un equipo inadecuado. Aunque los resultados de la prueba son válidos después de las primeras 24 h de vida, es posible que antes de las 3 ó 4 semanas de edad resulte difícil recoger una muestra de sudor adecuada (>75 mg con un papel de filtro ó >15 µL con un microtubo).

#### 5.3 Otras pruebas

En el año 2008 la Cystic Fibrosis Foundation<sup>(24)</sup> llegó a un consenso que desaconseja utilizar como herramientas diagnósticas las pruebas de función pulmonar, las mediciones de la diferencia de potencial nasal o los lavados broncoalveolares.

### 6. Diagnóstico genético.

Debido a la existencia de mutaciones frecuentes y específicas de etnia del gen CFTR la mayoría de los laboratorios utilizan pruebas dirigidas a la detección de mutaciones específicas que permiten detectarlas de forma simultánea. Las pruebas de este tipo disponibles en el mercado detectan el 85%-95% de las mutaciones que producen enfermedad y que se observan en genes CFTR de enfermos con FQ en la mayoría de las poblaciones.

La detección completa de mutaciones en las regiones analizadas sólo se conseguirá mediante la secuenciación completa del gen, tarea lenta y costosa. Para la identificación pues de las mutaciones no detectadas mediante las pruebas dirigidas a la detección de mutaciones específicas se recurre a métodos de exploración de mutaciones<sup>(28)</sup>, como son las pruebas de polimorfismo de conformación de cadena sencilla (Single Stranded Conformation Polymorphism, SSCP), electroforesis en gel con gradiente de desnaturalización (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis, DGGE), cromatografía líquida de desnaturalización de alto rendimiento (Denaturing High Performance Liquid Chromatography, DHPLC) y High Reloution Melting (HRM). Mediante las técnicas de exploración mutacional se busca secuenciar únicamente las regiones relevantes del gen que muestran un comportamiento anormal en una de estas pruebas y poder así confirmar y caracterizar la identidad de la mutación real.

Para el clínico en ocasiones puede resultar complicada la interpretación de los resultados de genética molecular y la integración de estos en el proceso diagnóstico. Las limitaciones tecnológicas para realizar el genotipado, la elección de las mutaciones a estudiar y el contexto clínico pueden influir en la manera en que esta información genética es interpretada. En 2008, el *Journal of Cystic Fibrosis*, publicó el consenso alcanzado en el uso e interpretación del análisis mutacional de la fibrosis quística en la práctica clínica<sup>(29)</sup>. Aunque entre otras conclusiones proponen una clasificación de algunas de las mutaciones de FQ según sus consecuencias clínicas, requiere un cuidado especial el uso e interpretación de estos resultados genéticos. El genotipo no es el árbitro final en el diagnóstico clínico de FQ o de las enfermedades relacionadas. El diagnóstico se basa ante todo en la presentación clínica, y se apoya en la evaluación de la función de CFTR (test del sudor) y el análisis genético. Ninguna de estas características es suficiente por si misma para hacer un diagnóstico de FQ. Las asociaciones genotipo/fenotipo son útiles en la realización de estudios epidemiológicos, pero el genotipo CFTR no puede predecir con exactitud el resultado de forma individual, por lo que su uso en la predicción pronóstica de un enfermo de FQ no está recomendado. La comunicación entre el

**CURSO "ON LINE" DE CRIBADO NEONATAL**  
**TEMA 6: FIBROSIS QUISTICA**

clínico y el laboratorio de genética es de vital importancia y el informe debe emitirse de forma comprensible tanto para el clínico como para el paciente.

**7. Tratamiento.**

En la actualidad y gracias a los esfuerzos realizados por la comunidad científica, agrupados en equipos multidisciplinares en torno a las Unidades de Referencia Clínica, por las asociaciones de padres de pacientes y de pacientes adultos, los sistemas sanitarios y la industria farmacéutica se han conseguido progresos notables al incrementar mucho la supervivencia y calidad de vida de los afectados.

No existe, de momento, una terapia específica y curativa para la FQ. El tratamiento de esta enfermedad está basado en tres pilares fundamentales que son:

- 1.- Conseguir una nutrición adecuada.
- 2.- Utilizar medicamentos que luchen contra la infección e inflamación respiratoria.
- 3.- Realizar con regularidad la terapia física consistente en fisioterapia respiratoria, ejercicios de fortalecimiento de la musculatura del tórax para prevenir deformidades, así como la práctica de algún deporte<sup>(30)</sup>.

**7.1 Tratamiento de la afectación del aparato respiratorio**

Tras la identificación del gen en 1989 se multiplicaron las esperanzas de nuevos tratamientos dirigidos a la corrección del defecto básico y especialmente a la posibilidad de administrar una posible terapia génica. Lo cierto es que todavía la fisioterapia respiratoria y el tratamiento antimicrobiano continúan siendo las dos piedras angulares del tratamiento, pero han sido los avances y mejoras en el empleo de los antibióticos los que han tenido un peso mayor en el aumento de la supervivencia de los pacientes en las últimas décadas.

Es importante mantener una buena hidratación con el fin de conseguir que las secreciones sean lo más fluidas posible y más fáciles de expulsar. Se debe de evitar, de forma estricta, el consumo de tabaco tanto activo como pasivo. Un aspecto fundamental en el tratamiento consiste en la prevención de la obstrucción de la vía respiratoria y la profilaxis mediante vacunación y el control de las infecciones pulmonares.

Ante el primer signo de afectación pulmonar, se recomienda iniciar la fisioterapia respiratoria. En los casos de obstrucción reversible de la vía aérea respiratoria, pueden administrarse broncodilatadores y corticoides en aerosol. La oxigenoterapia está indicada en los pacientes con insuficiencia pulmonar grave e hipoxemia. La ventilación con presión positiva no invasiva con mascarilla facial o nasal también puede resultar beneficiosa en los casos avanzados de insuficiencia respiratoria.

Dado que las infecciones pulmonares pueden conducir a una pérdida irreversible de la función pulmonar este aspecto será vital en el tratamiento. Los antibióticos inhalados mejoran la función pulmonar y disminuyen el tiempo de estancia hospitalaria, en el caso de infecciones por *Pseudomonas*<sup>(22)</sup>.

Los corticoides orales están indicados en los lactantes con bronquiolitis prolongada y en los pacientes con broncoespasmo rebelde, aspergilosis broncopulmonar alérgica y complicaciones inflamatorias (p. ej., artritis, vasculitis).

**7.2 Tratamiento de la afectación del aparato digestivo:**

El tratamiento más generalizado es la administración de enzimas pancreáticas (para mejorar la absorción de los alimentos), suplementos alimentarios y complejos vitamínicos de aquellas vitaminas que puedan ser deficitarias.

Se recomienda una buena hidratación permanente por vía oral para evitar la sequedad de las secreciones, especialmente en los períodos de diarrea e infecciones intestinales. Se debe de añadir un suplemento de sal durante los períodos febriles, cuando aumenta la sudoración. Si se sospecha

**CURSO "ON LINE" DE CRIBADO NEONATAL**  
**TEMA 6: FIBROSIS QUISTICA**

deshidratación se indicará hidratación intravenosa precozmente. Se deben aportar al niño vitaminas de manera suplementaria (vitaminas A, D, E y K). El tratamiento dietético consistirá en un aporte suficiente de calorías y proteínas que permita mantener un crecimiento normal<sup>(15)</sup>.

En el caso de que se presente obstrucción intestinal por íleo meconial no complicado la obstrucción puede vencerse, en algunas ocasiones, con enemas. Si no se logra la desobstrucción, puede ser necesaria una intervención quirúrgica.

**7.3. Terapias futuras en investigación:****7.3.1 Terapia génica:**

La terapia génica consiste en la inserción de gen "funcionalmente normal" en una célula huésped por medio de un vector apropiado. La transferencia del gen CFTR normal a células epiteliales cultivadas utilizando adenovirus como vectores se consiguió a principios de los noventa, pero cuando se ensayó en humanos la respuesta inmunológica del huésped ante la expresión de proteínas virales produjeron efectos adversos inadmisibles<sup>(12)</sup>. En la actualidad se investiga con nuevos vectores con resultados prometedores.

**7.3.2 Terapia con chaperonas reparadoras o estabilizadoras de proteínas:**

Las chaperonas son proteínas presentes en todas las células cuya función es la de ayudar al plegamiento de otras proteínas recién formadas en la síntesis de proteínas. Estas chaperonas no forman parte de la estructura primaria de la proteína funcional, sino que sólo se unen a ella para ayudar en su plegamiento, ensamblaje y transporte celular a otra parte de la célula donde la proteína realiza su función. También se investiga con moléculas que ayudarían a la proteína CFTR a mejorar su función como canal de cloro<sup>(31)</sup>.

**8. CASO PRÁCTICO:**

Recién nacida a las 40 semanas de gestación y con 3150g. de peso. Normal a la exploración física practicada por el neonatólogo. A las 48 horas de vida se le toma muestra para el Programa de Cribado Neonatal, habiendo realizado más de dos tomas satisfactorias de alimento (leche materna).

Tras realizar los análisis relacionados con las diferentes patologías del Programa, se obtiene una concentración de tripsina inmunoreactiva (TIR) de 123 ng/mL, siendo nuestro valor de decisión positiva (cutoff) 70 ng/mL. Tal como indica el protocolo, se repite la determinación por duplicado, confirmándose dicha cifra. La concentración media obtenida es de 125 ng/mL.

Siguiendo nuestro protocolo de actuación, remitimos una parte alícuota de la muestra de sangre seca en papel absorbente estandarizado de la niña al laboratorio de genética, para que procedan al estudio molecular en busca de mutaciones genéticas relacionadas con la enfermedad. El resultado de este primer test genético es el hallazgo de una sola mutación F580del / - (en heterocigosis).

Ante éste resultado enviamos a la familia a la Unidad Clínica de FQ del Servicio de Neumología pediátrica al tiempo que les entregamos los resultados tanto del marcador bioquímico como del genético. Una vez la familia llega a la consulta de pediatría se le toma muestra a la pequeña para realizar el test del sudor. El resultado obtenido es de 94 mmol Cl/L. Se repite el test tres días más tarde obteniendo una cifra equivalente.

Ante la positividad del test de sudor se comunica al Laboratorio de genética que proceda a la secuenciación del gen con el objetivo de hallar una segunda mutación. El resultado da un patrón de heterocigoto compuesto para las mutaciones F508del y L206W.



**CURSO "ON LINE" DE CRIBADO NEONATAL  
TEMA 6: FIBROSIS QUISTICA**

## 9. BIBLIOGRAFIA

1. Tellería Orriols JJ, Alonso Ramos MJ y otros. Cribado neonatal de la fibrosis quística. *An Esp Pediatr* 2002;57:60-5.
2. Gartner S, Cobos N, Casals T, Marin JL, et al. Despistaje neonatal para la fibrosis quística. ¿Se han cumplido las expectativas?. IX Congreso Nacional de fibrosis quística. Tenerife 15-17 noviembre 2007.
3. Boucher RC. Fibrosis quística. En: Harrison-Braunwald. Principios de Medicina Interna. 15ª ed. Madrid: McGraw-Hill Companies, Inc.; 1999. p. 1743-47)
4. Elborn JS, Shale DJ, Britton JR. Cystic fibrosis: Current survival and population estimates to the year 2000. *Thorax* 1991;46(12):881-5.
5. Dogie JA, Lewis PA, et al. Cystic fibrosis mortality and survival in the UK 1947-2003. *Eur Respir J* 2007;29:522-6.
6. Pollitt RG. Screening for cystic fibrosis. *Seminars in Neonatology* 1998;3:9-15.
7. Sims EJ, Mugford M, Clark A, et al. Economic implication of newborn screening for cystic fibrosis: a cost of illness retrospective cohort. *Lancet* 2007;369:1187-95.
8. Knowles MR, Stutts MJ, et al. Abnormal ion permeabilities through cystic fibrosis respiratory epithelium. *Science* 1983;221:1067-70.
9. Rommens JM, Iannuzzi MC, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989;245:1059-65.
10. Boat TF, Welsh MJ, Beaudet AL. Cystic Fibrosis In: Scriver, CL, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, New York: McGraw-Hill; 1995. p. 2649-80.
11. Pérez-Aguilar F, Berenguer J. Fibrosis quística y aparato digestivo: consideraciones fisiopatológicas, clínicas y terapéuticas. *Med Clin (Barc)* 1998; 111(13):508-15-
12. Vazquez Cordero C. Fibrosis quística: diagnóstico. Manifestaciones pulmonares y su tratamiento en *Diagnostico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias*. Pablo Sanjurjo y Antonio Baldellou. 3ª edición.
13. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et. al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science*. 1989; 245(4922):1066-73.
14. Zielenski J, Rozmahel R, Bozon D, Kerem B, Grzelczak Z, Riordan JR, et. al. Genomic DNA sequence of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene. *Genomics*.1997; 10(1):214-28.
15. Cheng SH, Rich DP, Marshall J, Greory RJ, Welsh MJ, Smith AE. Phosphorylation of the R domain by cAMP-dependent protein kinase regulates the CFTR chloride channel. *Cell* 1991; 66:1027-36.
16. Dean M. *The Human ATP-Binding Cassette (ABC) Transporter Superfamily*. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2002. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK31/>.
17. Welsh MJ, Smith AE. Molecular mechanism of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell* 1993;73:1251-1254.
18. Cabrera Roca G, Fernández-Burriel Tercero M, Cabrera Navarro P. Fibrosis quística en la edad adulta: nuevas formas clínicas. *Med Clin(Barc)* 2003;120(15):584-8.
19. Mushtaq I, Wright VM, et al. Meconium ileus secondary to cystic fibrosis. The East London experience. *Pediatr Surg Int* 1998; 13:365-9.
20. Murray J, Cuckle H, Taylor G, Littlewood J, Hewison J. Screening for cystic fibrosis. *Health Technol Assess* 1999;3(8):i-iv, 1-104.
21. Boat TF. Fibrosis quística. En: Nelson-Behrman, *Tratado de Pediatría*. 17ª ed. Madrid: Elsevier España SA; 2004. p. 1437-50.
22. Galbe J. Cribado neonatal de metabolopatías congénitas. Grupo de trabajo de la Asociación Española de Pediatría [monografía en Internet]; 2003 [actualizado Ago 2003; citado 15 May 2004]. Disponible en: [http://www.aepap.org/previnfad/pdfs/previnfad\\_hipotiroidismo\\_rec.pdf](http://www.aepap.org/previnfad/pdfs/previnfad_hipotiroidismo_rec.pdf)
23. Castellani C, et al. European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening. *J Cyst Fibros*. 2009 May;8(3):153-73. Epub 2009 Feb 26.
24. Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, et al. Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis of newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report. *J Pediatr* 2008;153:s4-.
25. Gibson, L.E., & Cooke, R.E. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics*, 1959, 23, 545-549.



## CURSO "ON LINE" DE CRIBADO NEONATAL

### TEMA 6: FIBROSIS QUISTICA

26. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Sweet testing: sample collection and quantitative analysis: approved guideline. NCCLS document C34-A. 1994.
27. Wood RE, Boat TF, Doershuk CF. Cystic fibrosis. Am Rev Respir Dis 1976; 113:833-78.
28. Férec C, Le Maréchal C, Audrézet MP, Farinha CM, Amaral MD, Gallati S, Sanz J, Steiner B, Mouchel N, Harris A, Schwarz MJ. Analysis of genomic CFTR DNA. J Cyst Fibros. 2004 Aug;3 Suppl 2:7-10.
29. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. Castellani C, Cuppens H, Macek M Jr, Cassiman JJ, Kerem E, Durie P, Tullis E, Assael BM, Bombieri C, Brown A, Casals T, Claustres M, Cutting GR, Dequeker E, Dodge J, Doull I, Farrell P, Férec C, Girodon E, Johannesson M, Kerem B, Knowles M, Munck A, Pignatti PF, Radojkovic D, Rizzotti P, Schwarz M, Stuhmann M, Tzetis M, Zielenski J, Elborn JS. J Cyst Fibros. 2008 May;7(3):179-96.
30. Federación Española contra la Fibrosis Quística. Libro Blanco de atención a la Fibrosis Quística. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo; 2002.
31. Kerem E. Pharmacological induction of CFTR function in patients with cystic fibrosis: mutation specific therapy. Pediatr Pulmonol 2005;40:183-96