

Tesis Doctoral

FIBROSIS QUÍSTICA DEL ADULTO. CORRELACIÓ  
GENOTIPO-FENOTIPO PULMONAR

Fernando Alfredo Mata Ávalos

Directores de la tesis: Dr. Javier de Gracia i Roldán  
Dr. Ferran Morell i Brotad



Universitat Autònoma de Barcelona

Departament de Medicina. Facultat de Medicina

2006

---

A Martha, Adri y la pequeña Montse, por ser el motivo y la inspiración de toda mi vida. A mis padres, por su amor y su continuo ejemplo de superación. A mis hermanos Enrique y Gerardo, y al resto de mi familia, Sra. Martha Elizondo, Guadalupe, Blanca, Luís, Jesús, Claudia y Ana Karen por sus atenciones y sus cuidados.

---

## **Agradecimientos.**

Esta tesis es la suma del trabajo y el esfuerzo de un grupo de personas, a ambos lados del Atlántico, a quienes quiero agradecer su participación de forma individual:

Al Dr. Javier de Gracia, director de esta tesis, por su ejemplo de trabajo arduo en el campo de la Fibrosis Quística, por su visión y por compartir conmigo ideas y proyectos desinteresadamente, por su hospitalidad, su paciencia y su apoyo constante, pero sobre todo, por su amistad.

Al Dr. Ferran Morell, co-director de tesis, por todas las facilidades que me brindó durante mi estancia en el Servicio de Neumología del Hospital Vall d'Hebron, por su vocación de apoyo a la investigación y su profesionalismo.

A los miembros del equipo, Dra. Montserrat Vendrell, Antonio Álvarez, David de la Rosa y Merche Catalán por su amistad, su compañerismo y su ayuda constante para el desarrollo de este trabajo. A Yolanda, María Dolors, Pepi y a todos los que de una u otra manera me hicieron sentir como en casa durante mi estancia en Barcelona.

A la Dra. Luisa Guarner, Jefe clínico de digestivo; a la Dra. Teresa Casals del Centre de Genètica Mèdica i Molecular. IRO-IDIBELL Barcelona; y a los miembros de la Unidad de FQ pediátrica del hospital: Nicolás Cobos, Silvia Gardner y Santos Liñán por su participación y entusiasmo en la realización de este trabajo.

Al Dr. Roberto Mercado Longoria, jefe del servicio de Neumología del Hospital Universitario “José Eleuterio González”, Monterrey, N.L. México, por su interés y apoyo absoluto para concluir con éxito esta tesis doctoral.

Al Dr. Jesús Áncer Rodríguez y el Dr. Donato Saldívar Rodríguez por su visión y convicción en la importancia de formar doctores, investigadores y nuevas líneas de investigación en beneficio de la Universidad Autónoma de Nuevo León y sobre todo, de nuestra comunidad.

A la Sra. Silvia Marroquín, presidenta y fundadora de la Asociación Regiomontana de Fibrosis Quística, por su amor y vocación en el cuidado de los pacientes con Fibrosis Quística del Noreste de México.

A la Fundación Sira Carrasco por su noble labor a favor de los pacientes con Fibrosis Quística y por su apoyo en la elaboración de esta Tesis.

## **ABREVIATURAS**

ABCD	Ausencia Bilateral de Conductos Deferentes
ABPA	Aspergilosis Broncopulmonar Alérgica
AMPc	Adenosin Monofosfato Cíclico
ATP	Adenosin Trifosfato
CVF	Capacidad Vital Forzada
ENaC	Canales de Sodio Regulados por Amiloride
FQ.	Fibrosis Quística
IP	Insuficiencia Pancreática
MSD	Dominio Trans-membrana
NBD	Dominio de Unión a Nucleótido
ORCC	Canales de Cloro Rectificados Externos
PCI	Pancreatitis Crónica Idiopática
R	Centro Regulador
RTFQ	Regulador de la Conductancia Transmembrana de la Fibrosis Quística
SP	Suficiencia Pancreática
VEMS	Volumen Espiratorio Forzado en el Primer Segundo

## ÍNDICE

<b>1.- JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>9</b>
<b>2.- MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>12</b>
2.1.- DEFINICIÓN .....	12
2.2.- ANTECEDENTES HISTÓRICOS.....	13
2.3.- EPIDEMIOLOGÍA.....	16
2.4.- GENOTIPO .....	18
2.4.1.- Estructura del Regulador transmembrana de la Fibrosis Quística.....	18
2.4.2.- Función del RTFQ.....	19
2.4.3.- El RTFQ como regulador de otros canales.....	21
2.4.4.- Mutaciones del RTFQ .....	23
2.4.5.- Mutación F508del.....	27
2.5.- MANIFESTACIONES CLINICAS NO RESPIRATORIAS.....	29
2.5.1.- Afectación de las glándulas sudoríparas.....	29
2.5.2.- Enfermedad digestiva .....	30
2.5.3.- Ausencia bilateral de conductos deferentes (ABCD).....	36
2.5.4.- Afectación osteoarticular.....	37
2.6.- MANIFESTACIONES CLÍNICAS RESPIRATORIAS .....	38
2.6.1.- Patología respiratoria.....	38
2.6.2.- Fisiología de la vía aérea y del aclaramiento mucociliar y su relación con la disfunción del RTFQ.....	39
2.6.3.- Teorías que explican las anomalías en el líquido de superficie de la vía aérea en pacientes con FQ.....	41

2.6.4.- Formación de placas de moco y su relación con el desarrollo de infección crónica.....	42
2.6.5.- Microbiología de la enfermedad pulmonar en la FQ.....	44
<b>2.7.- DIAGNÓSTICO DE FIBROSIS QUIÍSTICA .....</b>	<b>45</b>
2.7.1.- Criterios de diagnóstico de FQ.....	45
2.7.2.- Cuadro clínico .....	46
2.7.3.- Historia familiar.....	47
2.7.4.- Tamizaje neonatal.....	47
2.7.5.- Prueba del sudor .....	48
2.7.6.- Estudio genético .....	49
2.7.7.- Prueba del potencial nasal diferencial .....	51
<b>2.8.- RELACIÓN ENTRE GENOTIPO Y FENOTIPO .....</b>	<b>54</b>
2.8.1.- Relación entre genotipo y la insuficiencia Pancreática .....	54
2.8.2.- Relación entre genotipo y los niveles de ión cloruro en sudor.....	56
2.8.3.- Relación entre genotipo y la ABCD.....	56
2.8.4.- Relación entre genotipo y la gravedad de la enfermedad pulmonar.....	57
2.8.5.- Genes y polimorfismos modificadores en fibrosis quística.....	59
<b>3.- OBJETIVOS .....</b>	<b>60</b>
<b>4.- RESUMEN DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>62</b>
4.1.- FIBROSIS QUIÍSTICA DEL ADULTO. ESTUDIO DE 111 CASOS. ....	62
4.2.- CORRELACIÓN ENTRE EL GENOTIPO Y LA GRAVEDAD DE LA ENFERMEDAD PULMONAR EN PACIENTES ADULTOS CON FIBROSIS QUIÍSTICA.....	77
<b>5.- CONCLUSIONES .....</b>	<b>94</b>

6.- **BIBLIOGRAFIA** .....96

7.- **ARTÍCULOS** ..... 116

7.1.- De Gracia J, Álvarez A, Mata F, Guarner L, Vendrell M, Gadtner S, Cobos N. Fibrosis quística en el adulto. Estudio de 111 casos. **Medicina Clínica (Barc)** 2002; 119:605-609.

(Factor de impacto: 1,018 según ISI del 2005)

7.2.- De Gracia J, Mata F, Álvarez A, Casals T, Gatner S, Vendrell M, De La Rosa D, Guarner L, Hermsilla E. Genotype-phenotype correlation for pulmonary function in cystic fibrosis. **Thorax** 2005; 60:558-563.

(Factor de impacto: 4,188 según ISI del 2005)

## 1.- JUSTIFICACIÓN

La Fibrosis Quística (FQ) es una enfermedad hereditaria, de transmisión autosómica recesiva, ocasionada por la mutación de un gen localizado en el brazo largo del cromosoma siete. Este gen codifica una proteína de 1480 aminoácidos que actúa como un canal de cloro dependiente de ATP y AMPc llamado Regulador de la Conductancia Transmembrana de la Fibrosis Quística (RTFQ)<sup>1</sup>.

La FQ es la enfermedad hereditaria más frecuente en la raza caucásica; sin embargo, es causante de enfermedad en todos los grupos étnicos. Se han observado incidencias que van de 1:2.500-3.000 nacidos vivos en la raza blanca hasta 1:30.000 nacidos vivos en asiáticos. En España, de acuerdo al programa de tamizaje neonatal en Cataluña, se ha calculado una incidencia de 1:5.352 nacidos vivos<sup>2</sup>.

Esta proteína se sintetiza en el retículo endoplásmico, a continuación pasa al aparato de Golgi donde es glicosilada y sufre un plegamiento sobre si misma para posteriormente pasar a través del citoplasma, acompañada por proteínas chaperonas, y localizarse finalmente en la membrana apical de los epitelios secretores de las glándulas exocrinas.

Hasta la fecha se han descubierto más de 1.400 mutaciones y 200 variables y polimorfismos diferentes causantes de la enfermedad, y su prevalencia varía ampliamente de acuerdo al grupo étnico y el área geográfica que se estudie.

Esta enfermedad se caracteriza por un amplio abanico de expresiones clínicas. Los pacientes suelen desarrollar, desde los primeros meses de vida, manifestaciones digestivas, hepatobiliares, enfermedad respiratoria progresiva, colonización crónica de la vía aérea, elevación de los niveles de ión cloruro en sudor, disminución de la fertilidad en las mujeres e infertilidad en los varones<sup>3</sup>. Además, existe un grupo de pacientes, que se corresponderían con un 4% del total de pacientes con FQ según el Registro Americano de FQ publicado en 1998<sup>4</sup> que pueden cursar asintomáticos, con manifestaciones clínicas leves o atípicas de la enfermedad durante los primeros años de la vida y que son diagnosticados, si lo son, en la edad adulta.

La gran diversidad tanto en el genotipo como en el fenotipo ha sido ampliamente investigada con el fin de tratar de correlacionar el genotipo con la variabilidad de las manifestaciones clínicas de la enfermedad. En este sentido, se ha demostrado una correlación estrecha entre el genotipo y la insuficiencia pancreática (IP) y con la ausencia bilateral de conductos deferentes (ABCD). Sin embargo, la correlación entre el genotipo y la gravedad de la enfermedad pulmonar no ha podido ser plenamente demostrada y se ha postulado que otros genes<sup>5</sup>, diferentes del gen de la FQ, y factores ambientales podrían ser los factores más determinantes en el desarrollo, progresión y gravedad de la enfermedad pulmonar<sup>6</sup>.

Aunque la Unidad de FQ de Adultos no fue reconocida oficialmente en nuestro centro hasta 1997, nuestro grupo viene trabajando en esta enfermedad desde muchos años antes. De hecho, en 1984<sup>7</sup> publicamos nuestro primer caso de FQ diagnosticado en la edad adulta, y ya intuíamos que formas leves de la enfermedad con escasa expresión

clínica durante la infancia podría ser más frecuente de lo que hasta entonces se reconocía y que deberían ser diagnosticados en la edad adulta.

La presente Tesis, pretende dar respuesta a las preguntas que nuestro grupo se planteó cuando se asumió la unidad de FQ de adultos y que eran toda una incógnita. Desconocíamos si realmente las formas leves de FQ eran tan raras como se decía o por lo contrario eran más frecuentes pero no se diagnosticaban porque los médicos de adultos no tenían a la FQ dentro de los posibles diagnósticos diferenciales. Otra cuestión era conocer cuales eran las manifestaciones clínicas que nos debería hacer sospechar que estábamos ante un paciente con una forma leve de FQ. Por último, nos llamó poderosamente la atención el hecho de la escasa correlación encontrada entre el genotipo y la gravedad de la enfermedad pulmonar, teniendo en cuenta que la enfermedad pulmonar es la que marca el pronóstico de los pacientes. En este sentido, revisando la literatura observamos que la gran mayoría de los estudios habían sido realizados en población infantil por lo que éstos iban a ser portadores de las mutaciones más graves y que por tanto, existía un vacío significativo al no incluir en el análisis aquellas mutaciones que podrían ser más frecuentes en la edad adulta y diferentes a las de los pacientes diagnosticados en la infancia.

## **2.- MARCO TEÓRICO**

### **2.1.- DEFINICIÓN**

La fibrosis quística (FQ), también conocida como mucoviscidosis o fibrosis quística del páncreas, es la enfermedad hereditaria de transmisión mendeliana autosómica recesiva más grave y más frecuente en la raza blanca. Esta enfermedad está ocasionada por la mutación de un gen localizado en el brazo largo del cromosoma siete, el cual codifica para una proteína de 1480 aminoácidos llamada Regulador de la Conductancia Transmembrana de la Fibrosis Quística (RTFQ)<sup>6</sup>, una proteína que normalmente regula y participa en el transporte de electrolitos a través de la membrana celular y probablemente también a través de las membranas intracelulares<sup>8</sup>.

El RTFQ funciona como un canal de cloro regulado por AMP cíclico y está localizado en la membrana apical de las células de los epitelios secretores y de absorción de las glándulas exocrinas del aparato digestivo, aparato respiratorio, glándulas sudoríparas y aparato genital. La disfunción de esta proteína da lugar a un desequilibrio en la concentración de iones a través de la membrana celular. El grado de disfunción del RTFQ se traduce en una amplia gama de manifestaciones clínicas como los cuadros clásicos de la enfermedad en los primeros meses de vida, las expresiones atípicas que con frecuencia no se manifiestan hasta que el paciente alcanza la edad adulta o la enfermedad mono sintomática.

## 2.2.- ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Los primeros informes de niños con cuadro clínico sugestivo de fibrosis quística datan de mediados del siglo diecisiete, muchos de ellos son, inclusive, anteriores a la canción infantil alemana fechada en el siglo dieciocho que dice: “El niño a quien al besarle la frente sabe a sal, pronto morirá”.

A principios del siglo veinte se describieron muchos de los síndromes clínicos que caracterizan a la fibrosis quística. En 1905, Landsteiner describió el cuadro de íleo meconial<sup>9</sup>. Garrod en 1912, describió niños con esteatorrea que fallecían por bronconeumonía<sup>10</sup>. El pediatra suizo Fanconi describió en 1936 a niños con “síndrome celiaco” que además tenían anormalidades pancreáticas<sup>11</sup>.

El término fibrosis quística del páncreas fue acuñado en 1938 por Dorothy Andersen del Babies' Hospital New York<sup>12</sup> que describió por primera vez la fibrosis quística como una entidad claramente definida. En su estudio refirió un grupo de 49 neonatos con obstrucción intestinal y complicaciones respiratorias, y atribuyó muchas de las anormalidades histológicas a la deficiencia de vitamina A. En estudios posteriores sustentó la teoría de que la deficiencia de vitamina A jugaba un papel importante en el desarrollo de la enfermedad, apoyó el uso de suplementos de vitamina A en la dieta de los pacientes y postuló que la bronquitis persistente, que complicaba la enfermedad, era el resultado de la mala absorción de vitamina A y posiblemente de otras sustancias lipo-solubles como consecuencia de la deficiente secreción de enzimas

pancreáticas<sup>13,14,15</sup>. Además, concluyó que la terapia nutricional debería empezar de forma temprana, que la efectividad del tratamiento nutricional dependía del tipo y grado de infección respiratoria, y que cuando ésta se iniciaba con posterioridad al inicio de la bronquitis supurativa, la terapia nutricional podría prolongar la vida pero no cambiaba el pronóstico de la enfermedad<sup>16</sup>.

En 1949, Lowe y colaboradores señalaron que la FQ podría ser causada por un defecto en un gen en base al patrón autosómico recesivo de la enfermedad<sup>17</sup>. Al inicio de la década de los 50's, se postuló que una elevada concentración de electrolitos en sudor podría ser un signo característico del diagnóstico de la enfermedad. Este signo, descrito por Paul A. di Sant'Agnese durante una onda de calor en Nueva Cork, validó la descripción que se hacía en libros antiguos del "síndrome del bebe salado"<sup>18</sup>. El diagnóstico de la FQ permaneció como un diagnóstico clínico hasta 1959 en que Gibson y Cooke desarrollaron la prueba del sudor en base a la observación de que el choque de calor ocurría con mayor frecuencia en niños con insuficiencia pancreática<sup>19</sup>.

En 1964 Leroy Mathews de la Case Western Reserve University en Cleveland, realizó una revisión del conocimiento que se tenía de la enfermedad en esa época y enfatizó el papel que tenía la terapia integral en la mejoría de la supervivencia de los pacientes con FQ<sup>20</sup>. Ellos iniciaron un programa de tratamiento integral que incluía el tratamiento agresivo de las infecciones pulmonares, el uso de suplementos de enzimas pancreáticas, intervenciones nutricionales, hidratación y suplementos orales de sal para prevenir la deshidratación y el choque de calor. Este régimen fue la base de la terapia integral que realizan las unidades de FQ en nuestros días.

A principio de la década de los ochenta, Hopfer presentó un trabajo donde sugería que el defecto fisiológico principal era debido a un transporte anormal de electrolitos a nivel epitelial<sup>21</sup>. En 1981, el Dr. Michael Knowles de la Universidad de Carolina del Norte demostró de manera objetiva esta disfunción epitelial al encontrar una diferencia de potencial nasal anormal<sup>22</sup>. Quinton en 1983 publicó que el transporte anormal de cloro era la causa de la elevación anormal de electrolitos en el sudor de los pacientes con fibrosis quística<sup>23</sup>.

La “era moderna” del estudio y tratamiento de la FQ se inició en 1989 cuando el gen que codifica para el RTFQ fue clonado por Collins, Riordano, Tsui y colaboradores, en un trabajo conjunto de la Universidad de Michigan y la Universidad de Toronto<sup>24</sup>. Este descubrimiento dio inicio al conocimiento de la fisiopatología molecular de la enfermedad. Desde entonces se han identificado centenares de mutaciones del RTFQ; se conoce que esta enfermedad puede manifestarse con un amplio espectro de manifestaciones clínicas y se iniciaron una serie de trabajos clínicos con el fin de encontrar una relación entre el genotipo y el fenotipo.

## 2.3.- EPIDEMIOLOGÍA

La prevalencia e incidencia de la fibrosis quística varia ampliamente dependiendo del grupo étnico y el área geográfica que se estudie. Se estima que esta enfermedad afecta a 30,000 pacientes en los Estados Unidos, a 60,000 pacientes a nivel mundial y que 10 millones de personas son portadores de mutaciones del RTFQ<sup>25</sup>.

Algunos modelos estadísticos concluyen que la incidencia de la enfermedad es de 1 en 3.419 nacidos vivos en blancos y de 1 en 12.163 en no blancos<sup>26</sup>. En los Estados Unidos, se ha publicado que la incidencia de la enfermedad en caucásicos es de 1:3.200, en afro-americanos de 1:15.000 y en asiáticos de 1:31.000<sup>27</sup>. En España, después de haber estudiado a 12.000 nacidos vivos en el programa de cribado neonatal de fibrosis quística de Cataluña, se sabe que la incidencia de la enfermedad en nuestro medio es de 1 en 5.352 nacidos vivos<sup>2</sup>.

Anteriormente se consideraba a la fibrosis quística como una enfermedad de la edad pediátrica y que su evolución llevaría al enfermo a la muerte a corta edad; sin embargo, en la actualidad cada día se incrementa más el número de pacientes adultos afectados de la enfermedad. Mientras que en la década de los sesentas los pacientes tenían una esperanza de vida de 7 años, actualmente la esperanza de vida en algunos países es de más de 30 años<sup>28,29</sup>. Se calcula que los pacientes nacidos en la década de los años 90 y diagnosticados en la infancia tengan una expectativa de vida de 40 años<sup>30</sup>.

Kulich *et al.*<sup>31</sup> evaluó el incremento en la supervivencia de pacientes con FQ en los Estados Unidos de 1985 a 1999. Al dividir a los pacientes por grupos de edad, observó un descenso del 61% en la mortalidad entre los pacientes de 2 a 5 años, 70% para el grupo de 6 a 10 años y 45% para pacientes en edades de 11 a 15 años. A pesar de que ambos sexos se han beneficiado de esa tendencia, el sexo femenino tiene una supervivencia significativamente menor, con una esperanza de vida de 3 a 5 años menos en comparación con los varones<sup>32</sup>.

El mejor manejo nutricional así como el empleo de tratamientos agresivos en unidades especializadas son factores determinantes en el incremento de la supervivencia de los enfermos<sup>33</sup>. Debido a esto, la proporción de pacientes adultos con fibrosis quística va en aumento, y se estima que actualmente más de un tercio de los pacientes son adultos<sup>26</sup>. Además, a este grupo deben añadirse los pacientes diagnosticados de FQ en la edad adulta.

## **2.4.- GENOTIPO**

### **2.4.1.- Estructura del Regulador Transmembrana de la Fibrosis Quística**

La fibrosis quística es causada por la mutación de un gen de 230 kb constituido por 180.000 pares de bases distribuidos en 27 exones, localizado en el brazo largo del cromosoma siete (7q31.2), que codifica para una proteína de 1480 aminoácidos llamada Regulador de la Conductancia Transmembrana de la Fibrosis Quística (RTFQ)<sup>34</sup>.

El Regulador Transmembrana de la Fibrosis Quística (RTFQ) es una proteína de estructura simétrica compuesta de dos unidades estructurales homólogas, que cada una de ellas contienen dos dominios que se extienden a través de la membrana celular (MSD1, MSD2) y dos dominios de hidrólisis de ATP, también llamados dominios de unión con nucleótidos (NBD1, NBD2), unidos por un dominio regulador central (R) rico en sitios de fosforilación<sup>6,43</sup>. Esta estructura es característica de una gran familia de moléculas transportadoras de solutos a través de las membranas celulares llamada “ABC transporters” (ATP-Binding Cassette Transporters) que se localizan en las membranas celulares de células eucariotas y procariotas; sin embargo, el dominio R es único del RTFQ.

Los dominios transmembrana (MSD1 y MSD2) están constituidos de seis regiones dispuestas en línea y están separados por un citoplasma que contiene el primer dominio

de unión a nucleótido (NBD1) y el dominio regulador (R). El segundo dominio de unión a nucleótido (NBD2) está presente en la porción carboxilo terminal de la proteína<sup>35</sup>.

Una vez codificado el RTFQ es integrado en la membrana del retículo endoplásmico, es N-glicosilado por la adición de dos grupos glicosilados incrementando su peso de 130 a 150 kDa<sup>34,36</sup>. Con la ayuda de moléculas chaperones, como la calnexina y la Hsp70, la proteína es plegada, haciéndose resistente a las proteasas, y transportada al complejo de Golgi. Este proceso es aparentemente muy ineficiente ya que sólo el 25% de la proteína plegada adquiere una forma resistente a las proteasas y de esta manera poder ser transportada al complejo de Golgi<sup>37</sup>. En este lugar, los grupos glicosilados son modificados dando como resultado una proteína madura de 170 kDa que será transportada a la membrana apical de las células que expresen el RTFQ<sup>34,36</sup>.

Al llegar a la membrana celular, la proteína entra en un ciclo de endocitosis a través de vesículas y es reciclada nuevamente a la membrana celular<sup>37</sup>. La proteína madura tiene una vida media de 16 horas siendo finalmente degradada en el citoplasma celular por los lisosomas<sup>37</sup>.

#### **2.4.2.- Función del RTFQ**

Diferentes estudios han demostrado que el transporte de cloro a través de la membrana celular es regulado por la fosforilación de la Protein Kinasa A (PKA) dependiente de AMPc<sup>34</sup>.

La activación del canal requiere de una preparación que es dada por la fosforilación del dominio R y posteriormente, necesita de una interacción con los dominios NBF y con otras partes de la proteína. La activación del NBF1 es necesaria para la apertura del canal y determina al tiempo de cierre mientras que la función del NBF2 regula el tiempo de apertura y no es necesaria para iniciar la apertura del canal<sup>38</sup>.

El RTFQ se denominó inicialmente como un canal de cloro; sin embargo, la presencia de puntos de fosforilación y la capacidad de hidrólisis del ATP indican que la proteína requiere energía para realizar su función, lo que sugiere que actúa principalmente como un transportador de cloro<sup>39</sup>. Existe controversia sobre si el RTFQ actúa como un canal de cloro individual o como unidades de conducción compuestas por la unión de dos o más proteínas RTFQ<sup>40</sup>.

Recientemente ha llamado la atención la presencia de una cadena de cuatro aminoácidos localizada en la porción COOH terminal llamada dominio de unión PDZ. Los dominios PDZ están presentes en proteínas de señal intracelular y en otras proteínas asociadas a la membrana plasmática. Estudios experimentales han demostrado que estos dominios PDZ pueden funcionar como sitios de unión entre dos proteínas RTFQ; así, los canales RTFQ podrían formar de manera transitoria dímeros con alta actividad conductora de cloro<sup>41</sup>. Sin embargo, estos hallazgos están aún por confirmar.

La función del RTFQ parece ir más allá de su papel como transportador de cloro. En humanos con FQ así como en ratones con deleciones inducidas del gen del RTFQ, la

ausencia del RTFQ influye en la expresión de otros productos del gen como la de proteínas importantes en la respuesta inflamatoria, en los procesos de maduración, en el transporte de otros iones y de señales intracelulares<sup>34</sup>.

Otras funciones que se han descrito del RTFQ incluyen la regulación negativa del canal transepitelial de sodio<sup>42</sup>, la regulación de los canales de calcio y potasio activados por cloro, la participación en mecanismos de exocitosis y la formación de complejos moleculares en la membrana plasmática.

### **2.4.3.- El RTFQ como regulador de otros canales**

El RTFQ se expresa en la membrana apical de los epitelios secretores y de absorción y actúa principalmente en la secreción activa de electrolitos regulado por AMPc y  $\text{Ca}^{2+}$ <sup>43</sup>. Además de su función como canal de cloro, se ha descrito la participación del RTFQ en otros procesos como la regulación de otros canales de iones, el tráfico transmembrana de proteínas, la regulación del pH intracelular, los mecanismos de apoptosis y la fijación de bacterias a la superficie epitelial.

1. Regulación de otros canales de iones.
  - a) El canal de cloro ORCC (*outwardly rectifying chloride channel*)
  - b) El canal de sodio regulado por amiloride (ENaC). La deshidratación de las secreciones bronquiales característica de los pacientes con

fibrosis quística es ocasionada no sólo por la disfunción en el transporte de cloro si no también, por un aumento en la absorción de sodio y agua en el epitelio bronquial<sup>44,45</sup>. La absorción de sodio se lleva a cabo principalmente por los canales de sodio regulados por amiloride (ENaC) y se cree que existe una íntima asociación entre éste y los procesos de transporte mediados por el RTFQ<sup>46</sup>. Estudios previos han postulado que el RTFQ produce una regulación negativa en la función del ENaC. En condiciones normales, la actividad del RTFQ mediada por AMPc origina una disminución en la probabilidad de apertura del canal de sodio y con ello, una disminución en la absorción de ión sodio a través del epitelio. De esta forma, la ausencia o disfunción del RTFQ causa un incremento en la actividad de absorción del ENaC mediado por AMPc, debido a un incremento en la probabilidad de apertura del canal<sup>47</sup>. Estudios realizados en pacientes con fibrosis quística portadores de la mutación F508del o la G551D han demostrado una ausencia de este mecanismo de regulación negativa<sup>48</sup>.

## 2. Regulación del tráfico transmembrana de proteínas.

El tráfico transmembrana de pequeñas moléculas las cuales podrían activar directa o indirectamente otras proteínas.

## 3. Regulación del pH intracelular

El RTFQ puede jugar un papel importante en el establecimiento de un pH bajo en los compartimentos biosintéticos de la red del complejo de Golgi y en los endosomas.

4. Regulación de los mecanismos de apoptosis y de fijación de bacterias a la superficie epitelial.

Diferentes estudios han postulado el papel del RTFQ como receptor en el epitelio respiratorio para *P. aeruginosa* y en el epitelio intestinal para *Salmonella typhi*

#### **2.4.4.- Mutaciones del RTFQ**

El gen responsable de la FQ fue aislado por clonación posicional y caracterizado en 1989<sup>49,50,51</sup>. Hasta la fecha, se han identificado más de 1400 mutaciones y 200 variantes y polimorfismos diferentes<sup>52</sup> y existe una gran variabilidad respecto a la frecuencia de presentación de las mutaciones más comunes en relación con el origen étnico y geográfico de la población estudiada. Estudios realizados en población general en los Estados Unidos indican que usando un panel de diagnóstico de 70 mutaciones diferentes se consigue una sensibilidad de diagnóstico aproximada del 90%. En España, se han identificado 75 mutaciones diferentes, que representarían el 90% de los cromosomas estudiados, pero sólo diez de éstas, se presentarían con una frecuencia superior al 1%<sup>53</sup>.

Las mutaciones del RTFQ pueden afectar la función de la proteína por diferentes mecanismos y en diferente grado de acuerdo con el tipo de mutación y el dominio en el que la mutación produce la disfunción. Lap Tsui<sup>54</sup> propuso clasificar las mutaciones del RTFQ de acuerdo al tipo de disfunción molecular. Posteriormente, Welsh and Smith<sup>55</sup> dividieron a las mutaciones del RTFQ en cuatro clases en base a la disfunción molecular en el transporte del ión cloruro. Sin embargo, el creciente número de mutaciones diagnosticadas junto con el descubrimiento de fenotipos asociados con algunas mutaciones en particular y el conocimiento del papel regulador del RTFQ en otros canales, han extendido a seis el número de clases de mutaciones<sup>34,56</sup>.

Clase I. Defecto en la síntesis del RTFQ<sup>37,57</sup>. En esta clase se incluyen mutaciones sin sentido, mutaciones de cambio de encuadre y splice site mutations. Estas mutaciones producen la transcripción incompleta del RNAm ocasionada por una señal prematura de terminación de la transcripción (codones de detención prematura) o por alteración en la estructura del RNAm. Esto trae como consecuencia la ausencia de síntesis o la síntesis de una proteína anormal, la cual tiende a ser inestable y a degradarse relativamente rápido en el citoplasma o que se desprende fácilmente de la membrana celular. Cerca del 5 al 10% de las mutaciones del RTFQ son debidas a este defecto de transcripción y se denominan con una X como la G542X. La mutación G542X es la mutación más frecuentemente encontrada en España después de la F508del. El efecto neto de las mutaciones de esta clase es el de ausencia de la proteína RTFQ en la membrana apical de las células.

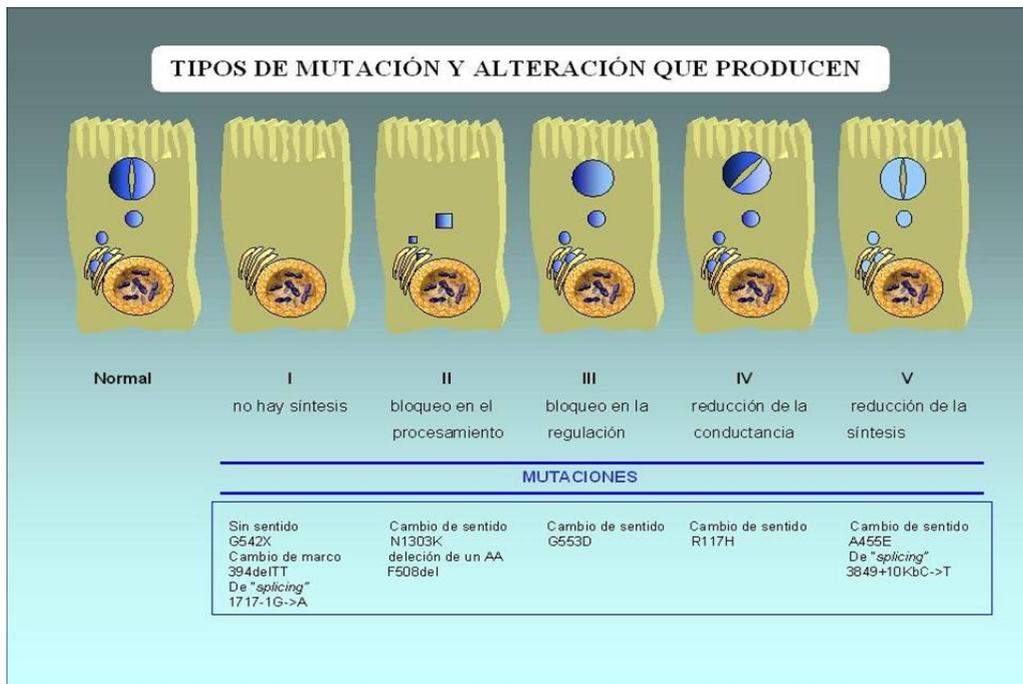
Clase II. Defecto en el procesamiento<sup>37,57</sup>. La proteína RTFQ no es procesada adecuadamente, produciéndose así una proteína anormal de maduración inapropiada. La transcripción da lugar a una proteína que no alcanza a plegarse de manera correcta en el retículo endoplásmico, con lo que pierde resistencia a la acción de las proteasas, y es destruida rápidamente por acción de las proteasas 26S presentes en el citoplasma antes de su glicosilación hasta una forma madura en el aparato de Golgi<sup>58</sup>. Como consecuencia, esta proteína no está, o sólo excepcionalmente, presente en la membrana celular. A esta clase pertenece la mutación F508del que es la mutación con una prevalencia mayor en todos los grupos étnicos. Otras mutaciones clínicamente importantes como la N1303K, I507del, R1066C o la G85E pertenecen a esta clase.

Las mutaciones de la clase II están distribuidas a lo largo de todo el gen del RTFQ. El defecto en la maduración de la proteína está relacionado, con mayor frecuencia, con mutaciones que afectan la síntesis del dominio NBD1. Esto sugiere que el patrón de plegamiento del NBD1 o de las secuencias contiguas es muy sensible a los cambios debidos a las mutaciones. El efecto neto en este grupo es el de ausencia de la proteína RTFQ en la membrana apical de las células.

Clase III. Defecto en la regulación<sup>37,57</sup>. Estas mutaciones afectan el proceso de regulación impidiendo la unión del ATP y la hidrólisis de los dominios NBD1 y NBD2 requeridos para la activación del canal. Las alteraciones en el dominio NBD1 (como la producida por la mutación G551D) pueden afectar también la regulación de otros canales como el ORCC o el canal de potasio ROMK<sup>2+</sup>. La mutación sin sentido G551D

es un ejemplo de mutaciones de la clase III. El efecto neto de la RTFQ es una cantidad normal no funcional en la membrana apical de las células.

Clase IV. Defecto en la conductancia<sup>37,57</sup>. La mayoría de las mutaciones diagnosticadas hasta la fecha se localizan en la región del dominio MSD1, el cual está implicado en la formación del poro del canal. La molécula está presente en la membrana, y la fosforilación y la regulación dependiente de ATP es normal; sin embargo, la conductancia a través del canal esta alterada, pero la proteína mantiene cierta función residual. Entre las mutaciones más frecuentes de la clase IV se encuentran la R117H y la R334W. El efecto neto es la presencia de una cantidad normal del RTFQ en la membrana apical con alguna función residual.



Clase V. Defecto parcial en la producción o en el procesamiento<sup>37,57</sup>. Estas proteínas originan una disminución de la cantidad de proteína RTFQ activa presente en la membrana apical; pueden asociarse a mutaciones del promotor o a un tráfico ineficaz.

Por esta razón, solamente se afectan los órganos altamente sensibles a la disfunción del RTFQ. Estas mutaciones no se asocian únicamente a pacientes con cuadros clásicos de fibrosis quística sino también a pacientes con enfermedades mono sintomáticas como la ausencia bilateral de conductos deferentes (ABCD) y azoospermia obstructiva<sup>59,60</sup>, bronquiectasias diseminadas<sup>61,62</sup>, aspergilosis broncopulmonar alérgica<sup>63</sup>, hipertripsinemia<sup>64</sup>, pancreatitis aguda de repetición y pancreatitis crónica<sup>65</sup>. Algunas mutaciones encontradas en nuestro medio con una frecuencia relativa alta como la 2789+5G→A o la 3849+10kbC→T, pertenecen a esta clase. El efecto neto es una cantidad funcional reducida del RFTQ en la membrana apical.

Clase VI. Defecto en la regulación de otros canales<sup>37,57</sup>. En esta clase se agrupan mutaciones que afectan las propiedades reguladoras del RTFQ sobre otros canales de iones como el ORCC o el ENAC.

#### **2.4.5.- Mutación F508del**

La mutación F508del es causada por la delección de tres pares de bases las cuales codifican para un residuo de fenilalanina en la posición 508 de la proteína. Esta mutación afecta la síntesis del primer dominio de unión a nucleótido (NBD1), lo que resulta en un defecto en el pliegue, y con ello una destrucción prematura de la proteína. La F508del fue clasificada como mutación de clase II en base a estudios que demostraron que el RTFQ mutado era sintetizado pero no maduraba de manera adecuada.

Esta es la mutación encontrada con mayor frecuencia en todos los grupos étnicos; sin embargo, su prevalencia varía ampliamente. La mutación F508del está presente en el 70% de los cromosomas de pacientes con FQ en los Estados Unidos y cerca del 50% de los pacientes son homocigotos para esta mutación. Se ha publicado una prevalencia de hasta el 90% de los alelos estudiados en Dinamarca, de menos del 50% en poblaciones hispanas de Estados Unidos<sup>66,67</sup> y de diferentes países de Latinoamérica<sup>68,69,70</sup>, en el 26% de las encontradas en Argelia<sup>71</sup> y de sólo el 20% en los judíos Ashkenazi.

Esta mutación provoca una disfunción molecular grave de la proteína RTFQ. Los pacientes homocigotos para esta mutación y los heterocigotos con mutaciones de las clases I y II desarrollan en su mayoría cuadros clínicos clásicos de la enfermedad, con insuficiencia pancreática, enfermedad pulmonar crónica, infertilidad en los varones y prueba del sudor positiva; sin embargo, puede existir mucha variabilidad en las manifestaciones clínicas de pacientes con el mismo genotipo e inclusive se han descrito pacientes con cuadros clínicos leves y función pulmonar variable<sup>72</sup>.

## **2.5.- MANIFESTACIONES CLÍNICAS NO RESPIRATORIAS**

### **2.5.1.- Afectación de las glándulas sudoríparas**

El RTFQ está presente en la membrana apical y basolateral de las células que revisten los conductos de las glándulas sudoríparas. La función del RTFQ es la reabsorción de ión cloruro secretado por las glándulas sudoríparas. Cuando el RTFQ está ausente o funciona de manera inadecuada, el proceso de reabsorción de cloro y sodio es ineficiente dando como resultado un nivel de ión cloruro en sudor anormalmente elevado.

Las glándulas sudoríparas de sujetos normales producen de manera inicial una secreción hipertónica, la cuál es modificada en sus concentraciones de cloro y sodio a su paso a través del conducto de la glándula antes de emerger a la superficie de la piel. Los iones de sodio son ávidamente absorbidos a través de los canales apicales de sodio seguido de una absorción de ión cloruro a través del RTFQ y de la absorción de cloruro de sodio y agua de manera pasiva. En pacientes con FQ, la ausencia de función del RTFQ limita la reabsorción de ión cloruro. Esto ocasiona una diferencia de potencial eléctrico el cuál limita la reabsorción de sodio dando como resultado una secreción con contenido de sal elevado.

La determinación de altas concentraciones de ión cloruro en sudor o el aumento en la conductancia eléctrica de la secreción son piezas claves en el diagnóstico de la FQ. Sin embargo, se han descrito grupos de pacientes que pueden cursar con niveles de ión cloruro en sudor normales o indeterminados<sup>73</sup>.

## **2.5.2.- Enfermedad digestiva**

### ***Páncreas***

La insuficiencia pancreática (IP) es una de las características clínicas que se presentan con mayor frecuencia en pacientes con FQ. Más del 50% de los pacientes presentan signos clínicos de IP durante los primeros días de vida y hasta el 90% los manifiestan dentro del primer año. Asimismo, es la causa principal de desnutrición y retardo en el crecimiento de los pacientes.

La secreción pancreática es una solución con un volumen elevado de bicarbonato ( $\text{HCO}_3$ ) como respuesta a la estimulación por secretina y colecistoquinina<sup>74-77</sup>. Su función principal es neutralizar el pH ácido producido por las secreciones gástricas y permitir un funcionamiento óptimo de las enzimas pancreáticas. La FQ se caracteriza por una disminución en el volumen y en la concentración de  $\text{HCO}_3$  de la secreción pancreática, lo cual da como resultado un retardo en el flujo de la secreción y de las pro-enzimas digestivas a través de los conductos intra pancreáticos. Esto, ocasiona una activación prematura de las enzimas originando daño en el tejido pancreático por

destrucción de las células acinares. El daño crónico da lugar a la fibrosis del páncreas y a la insuficiencia pancreática exocrina<sup>74</sup>.

La IP se manifiesta por una disminución o ausencia en la producción de enzimas pancreáticas exocrinas como la amilasa, proteasas, lipasa, colipasa y fosfolipasas<sup>75</sup>. De forma característica, la IP origina malabsorción de grasas que se evidencia clínicamente por dolor abdominal, esteatorrea, flatulencias, diarrea y disminución en la absorción de vitaminas liposolubles<sup>76</sup>. Se estima que la función enzimática del páncreas debe disminuir a menos del 3% de lo normal para que se desarrollen datos clínicos de IP<sup>74-77</sup>.

Los pacientes con FQ que cursan con suficiencia pancreática (SP) no tienen una función pancreática normal. Este grupo producen una secreción pancreática con baja concentración de bicarbonato pero con una cantidad suficiente de enzimas que evitan el desarrollo de esteatorrea<sup>77</sup>.

Diferentes estudios han señalado que los pacientes que cursan con IP se diagnostican a una edad más temprana y cursan con cuadros clínicos más graves de la enfermedad que los pacientes que desarrollan SP<sup>78</sup>. Además, la IP es la manifestación clínica que se correlaciona con mayor fuerza con el genotipo<sup>126</sup>. Datos obtenidos del Registro de la Fundación de Fibrosis Quística revelan que los pacientes que cursan con SP tienen en promedio una esperanza de vida veinte años mayor que los pacientes que desarrollan IP<sup>77</sup>.

Diversos estudios han señalado que los pacientes con FQ pueden cursar con cuadros de pancreatitis aguda, pancreatitis agudas de repetición y pancreatitis crónica, y que esto puede ser un signo clínico que oriente al diagnóstico de FQ en pacientes adultos o en pacientes con cuadros clínicos leves o atípicos de la enfermedad<sup>78,79,80</sup>.

A finales de los años noventa, dos publicaciones señalaron una asociación muy estrecha entre mutaciones del RTFQ y el desarrollo de pancreatitis crónica<sup>81,82</sup>. En conjunto, estos trabajos identificaron mutaciones asociadas a FQ en el 20% de 87 sujetos estudiados con pancreatitis crónica idiopática (PCI); lo cual, sugiere que los sujetos portadores de mutaciones del RTFQ tienen un riesgo cinco veces mayor de desarrollar PCI. Se ha calculado que los sujetos con FQ que poseen un genotipo que incluya al menos una mutación asociada a un fenotipo leve o variable, tienen un riesgo cuarenta veces mayor de desarrollar PCI y que la asociación de éstas con otras mutaciones como la N34S, que interviene en la síntesis del inhibidor de la tripsina secretoria pancreática, pueden incrementar el riesgo hasta en más de 500 veces<sup>83</sup>.

### ***Esófago***

El reflujo gástro-esofágico es un trastorno frecuente, algunas publicaciones han informado de síntomas clínicos de reflujo en más del 20% de los pacientes y puede ser causa de un aumento en los síntomas respiratorios de algunos enfermos. También, algunas maniobras terapéuticas como la fisioterapia respiratoria y el drenaje postural podrían empeorar la sintomatología<sup>84</sup>.

### ***Íleo meconial***

El íleo meconial es una obstrucción intestinal intra luminal del íleo terminal. Entre el 10-20% de los pacientes que se diagnostican de fibrosis quística en la edad pediátrica cursan con íleo meconial<sup>85</sup> o con síndrome de obstrucción por tapón meconial<sup>86</sup> dentro de las primeras 48 horas de vida. La probabilidad de desarrollarlo aumenta cuando existe el antecedente de un hermano con FQ que haya presentado un cuadro de íleo meconial.

### ***Síndrome de obstrucción intestinal distal***

Hasta el 10% de los pacientes pueden desarrollar durante su vida el síndrome de obstrucción intestinal distal que se caracteriza por presentar cuadros recurrentes de obstrucción intestinal de grado variable a nivel de íleo cecal. Esta entidad se presenta casi invariablemente en pacientes con insuficiencia pancreática; característicamente los pacientes presentan cuadros intermitentes de dolor abdominal localizado en el cuadrante inferior derecho, distensión abdominal, anorexia, pérdida de peso y flatulencia. Puede existir una masa palpable en el cuadrante inferior derecho. Cuando la obstrucción es total aparecen vómitos y distensión abdominal.

## ***Hígado y vías biliares***

En la descripción inicial de la enfermedad por D. Anderson en 1938, ya se hacía mención a la afectación hepática y biliar en pacientes con fibrosis quística. Con el aumento en la esperanza de vida, las manifestaciones hepáticas de la enfermedad emergen como un problema médico cada vez más importante y constituyen en la actualidad la tercera causa de muerte<sup>87,88</sup>. Se desconoce la razón por la que no todos los pacientes desarrollan síntomas clínicos de la enfermedad durante su vida. Hasta el 5% de los pacientes con FQ pueden desarrollar litiasis biliar sintomática, más del 30% presentan elevación asintomática de transaminasas (AST o ALT) o fosfatasa alcalina y entre el 2% al 5% de los enfermos morirán por complicaciones hepáticas. Menos del 5% de los pacientes desarrollan una hepatopatía sintomática; sin embargo, en estudios de autopsias se ha encontrado cirrosis hepática en más del 50% de los casos<sup>89</sup>.

El RTFQ se expresa en la membrana apical de las células epiteliales de los conductos biliares intra y extra hepáticos así como en la vesícula biliar<sup>90</sup>. No se han identificado mutaciones del RTFQ que se asocien con mayor frecuencia al desarrollo de enfermedad hepática; sin embargo, se han identificado algunos factores de riesgo para padecer enfermedad hepática como son la presencia de insuficiencia pancreática, el sexo masculino, el antecedente de íleo meconial y los haplotipos HLA B7-DR 15-DQ6<sup>91</sup>.

La disfunción del RTFQ provoca un aumento en la consistencia de la secreción biliar secundaria al transporte deficiente de cloro y a la absorción anormal de sodio.

Además, otros factores propuestos como el incremento de los ácidos biliares conjugados, la disminución en la secreción de mucina y de otros factores protectores dan lugar a anormalidades en la composición, consistencia, alcalinidad e incremento en la viscosidad de la secreción biliar; todo lo cual favorece el desarrollo gradual de fibrosis portal, cirrosis biliar focal y finalmente cirrosis.

Algunos estudios han demostrado que la prevalencia de la afectación hepática se incrementa con la edad. En estudios de autopsias se encontró evidencia de cirrosis focal biliar en el 10% de los niños menores de 10 años, en el 27% de los niños mayores de 1 año y en el 72% de los pacientes adultos diagnosticados en la infancia<sup>92,93</sup>.

La esteatosis hepática es otra anormalidad que puede presentarse en estos pacientes. Se ha postulado que su aparición puede ser secundaria a un estado de malnutrición, a la deficiencia de ácidos grasos esenciales o a la elevación sérica del factor de necrosis tumoral, y a la ingestión de etanol en pacientes adultos.

En el diagnóstico diferencial deben descartarse las alteraciones hepáticas debidas a infecciones virales, trastornos metabólicos (deficiencia de alfa 1 antitripsina, hemocromatosis o enfermedad de Wilson), enfermedades autoinmunes (hepatitis autoinmune, cirrosis biliar primaria), toxicidad inducida por drogas o anormalidades anatómicas de las vías biliares.

### **2.5.3.- Ausencia bilateral de conductos deferentes (ABCD)**

El 98% de los varones con FQ cursan con azoospermia secundaria a agenesia de conductos deferentes e hipoplasia de vesículas seminales, conductos eyaculadores y epidídimo<sup>94,95</sup>. La potencia sexual y la espermatogénesis se conservan normales. En el 1- 2% de los hombres que se estudian por infertilidad y hasta el 50% de los que se estudian por azoospermia poseen mutaciones del RTFQ en ambos cromosomas<sup>95</sup>. Por el contrario, las mujeres con FQ son fértiles o manifiestan una discreta disminución en la fertilidad ocasionada por una disminución de la cantidad de agua en moco cervical.

Con frecuencia, se encuentran asociadas variantes del tracto de politimidil en el intrón 8 (IVS8) a mutaciones del RTFQ como causa de ABCD. Los alelos del tracto-T del IVS8 (9T, 7T y 5T) producen cantidades variables de RNAm aberrante, que llevan a una función defectuosa del canal de cloro. La cantidad de transcripción incompleta está en relación inversa con la cantidad de timidinas de la cadena. Así, la variante 5T se asocia a una proporción más alta de variantes aberrantes del RTFQ<sup>96</sup>. Por tal motivo, se debe de realizar un estudio genético de fibrosis quística, incluyendo el estudio del tracto-T del IVS8, a todo varón diagnosticado de ABCD y en caso de resultado positivo debe de ser referido junto con su pareja a un centro especializado para recibir consejo genético<sup>97</sup>.

## **2.5.4.- Afectación osteoarticular**

### ***Osteoporosis***

Los pacientes con fibrosis quística tienen un riesgo aumentado de desarrollar osteoporosis favorecido por el síndrome de malabsorción de grasas, vitaminas liposolubles y calcio, así como a la disminución en la actividad física y al uso crónico de esteroides. Los pacientes adultos y los transplantados que reciben agentes inmunosupresores como la ciclosporina son los que muestran un riesgo mayor a desarrollar osteoporosis.

### ***Artropatía***

Prácticamente la totalidad de los pacientes cursan con hipocratismo digital. Los pacientes con enfermedad pulmonar grave pueden cursar con una osteoartropatía pulmonar hipertrófica que afecta las grandes articulaciones de fémur, tibia y peroné. Algunos pacientes pueden desarrollar una artropatía similar a la artritis reumatoide<sup>98</sup>.

### ***Vasculitis***

Es una complicación muy poco frecuente y cuando se presenta suele afectar a extremidades inferiores.

## 2.6.- MANIFESTACIONES CLÍNICAS RESPIRATORIAS

### 2.6.1.- Patología respiratoria

Los pacientes con FQ nacen con los pulmones aparentemente normales; sin embargo, el deterioro progresivo de la función pulmonar es la causa de muerte por insuficiencia respiratoria en el 95% de los casos<sup>99,100</sup>, por lo que la evolución de la enfermedad respiratoria representa el principal factor pronóstico de la enfermedad. La mayoría de los pacientes desarrollan pansinusitis aguda de repetición o crónica y ésta puede ser un reservorio de infección. Los pólipos nasales ocurren en más del 25% de los enfermos.

Entre los factores que se han asociado con un deterioro acelerado de la función pulmonar y el mal pronóstico se han identificado los siguientes<sup>101</sup>:

a) Factores bien establecidos.

- Pobre acondicionamiento físico.
- Colonización/infección bronquial por *Pseudomona aeruginosa* o *Burkholderia cepacia*.
- Tabaquismo pasivo.
- Insuficiencia pancreática.
- Desnutrición.
- Imposibilidad de acceso a centros especializados.
- Sexo femenino.

b) Factores que podrían influir en el deterioro respiratorio.

- Genotipo.
- Tratamientos agresivos disminuyen el deterioro respiratorio.
- Intervenciones tempranas mejoran el pronóstico.
- Uso de TOBI y DNAsa mejoran el pronóstico.
- Antiinflamatorios mejoran la función pulmonar.
- Estrato socioeconómico.

**2.6.2.- Fisiología de la vía aérea y del aclaramiento mucociliar y su relación con la disfunción del RTFQ.**

El líquido de superficie de la vía aérea es una capa de aproximadamente 30 micras que se localiza por encima del epitelio respiratorio y está compuesto de dos capas: una capa de líquido periciliar la cuál tiene un grosor de aproximadamente de 7 micras (la altura de los cilios epiteliales) y por encima de ésta, una segunda capa de moco compuesta por mucina de alto peso molecular. La capa de líquido periciliar forma una capa de baja viscosidad alrededor de los cilios que permite el movimiento ciliar y lubrica el flujo de las moléculas de mucina secretadas por las células en el epitelio respiratorio. El volumen y la composición química de estos elementos se mantiene, en condiciones normales, constante en todo momento<sup>102</sup>.

En sujetos sanos la capa de moco atrapa las partículas inhaladas a través de dos mecanismos: 1) el movimiento de la capa de moco genera una turbulencia la cuál hace

que las partículas se mezclen con el moco quedando atrapadas; 2) las moléculas de mucina generan uniones de baja afinidad con la mayoría de las partículas a las que se unen. El aclaramiento de moco arrastra consigo bacterias desde las vías aéreas distales, proceso que dura alrededor de 6 horas. Durante este tiempo, la acción antimicrobiana de otros elementos como la lactoferrina y la lisozima evitan el crecimiento bacteriano<sup>103</sup>.

La eficiencia en el transporte de moco depende de la presencia de una capa de líquido periciliar de tamaño y viscosidad adecuada<sup>102-103</sup>. Esto depende de un ajuste continuo en el volumen del líquido de superficie de la vía aérea, el cual se mantiene por un transporte isotónico de agua. La capa de moco funciona como un reservorio de líquido almacenando y liberando agua según sea necesario para mantener constante el volumen de líquido periciliar. De este modo, cuando existe una depleción relativa en el líquido de superficie de la vía aérea, la capa de moco puede donar agua para mantener una capa periciliar de líquido de tamaño y volumen adecuada. En presencia de un aumento en la cantidad de líquido de superficie de la vía aérea, la capa de moco absorbe agua manteniendo el tamaño normal de la capa de líquido periciliar<sup>102-103</sup>.

El volumen del líquido periciliar es mantenido probablemente por un balance en la absorción de sodio y la secreción de cloro<sup>102-104</sup>. El transporte de sodio es mediado por la presencia de canales epiteliales de sodio (ENaC) y bombas de sodio/potasio mediadas por ATP (Na/K ATPasa) en la membrana apical del epitelio respiratorio. Los canales de cloro (RTFQ y canales de cloro activados por calcio) y el co-transportador de Na-K-2Cl, tienen la capacidad de secretar cloro cuando el canal ENaC se encuentra

bloqueado, generando así las fuerzas electroquímicas de secreción de cloro. El ENaC se activa en respuesta a un aumento en la cantidad de líquido de superficie de la vía aérea y el resultado es una absorción activa de sodio seguida de una absorción pasiva de cloro a través de una vía paracelular, ya que no existe una fuerza de conducción electroquímica que favorezca la salida de cloro de la célula. Esto, trae como consecuencia una absorción pasiva de agua a través de la membrana celular. Por el contrario, la disminución en el volumen de líquido de superficie de la vía aérea inhibe la actividad del ENaC lo cual hace al potencial de membrana más negativo y genera una fuerza de conducción electroquímica que favorece la secreción de cloro y posteriormente de agua hacia la luz de la vía aérea<sup>104</sup>.

### **2.6.3.- Teorías que explican las anormalidades en el líquido de superficie de la vía aérea en pacientes con FQ.**

Existen tres hipótesis que tratan de explicar las anormalidades en el líquido de superficie de la vía aérea en pacientes con fibrosis quística<sup>105</sup>. La teoría del “nivel de sal elevado” postula que en condiciones normales existe una absorción de sal mayor en comparación con la absorción de agua en el líquido de superficie de la vía aérea, que lo vuelve hipotónico. En la FQ, la absorción de sal se encuentra disminuida de manera importante lo que ocasiona un aumento en las concentraciones de sal en el líquido de superficie de la vía aérea que inactiva los péptidos endógenos antimicrobianos sal-sensibles<sup>102</sup>.

La hipótesis de “volumen bajo” sugiere que la disfunción del RTFQ produce una regulación positiva de la función del ENAC que ocasiona un aumento en la absorción de sodio y agua, así como una falla en la secreción de cloro mediada por AMPc a nivel de la membrana apical del epitelio respiratorio. Esta anomalía trae como consecuencia una depleción de líquido periciliar, con lo que se pierde la propiedad del transporte de moco por los cilios y favorece la formación de placas engrosadas de moco que forman tapones en la superficie de la vía aérea<sup>102</sup>.

La hipótesis de “pH bajo” se basa en el defecto del RTFQ para transportar bicarbonato. Este defecto provoca una acidificación del líquido de superficie de la vía aérea que inhibe el mecanismo de aclaración mucociliar<sup>106</sup>.

#### **2.6.4.- Formación de placas de moco y su relación con el desarrollo de infección crónica.**

La disminución del líquido periciliar y la disminución del pH del epitelio respiratorio favorecen que la capa de moco entre en contacto con el glicocalix de la membrana celular y se facilite que la capa de moco se “pegue” al glicocalix de la membrana apical<sup>102,103</sup>.

El aclaramiento mucociliar ineficiente sumado a la continua producción de moco por las células secretoras del epitelio respiratorio trae como consecuencia un engrosamiento en la capa de moco. Esto, aunado a un aumento en la tasa de consumo

de oxígeno celular en el epitelio respiratorio provoca un gradiente en la presión parcial de oxígeno en el interior de la capa de moco. Este gradiente hipóxico favorece el crecimiento y la colonización bacteriana y de manera especial por cepas nativas de *P. aeruginosa*<sup>102,103</sup>.

La *P. aeruginosa* de cepa no mucoide se adapta rápidamente al ambiente hipóxico en el interior de la capa de moco iniciando la producción de alginato, el cual forma un micro ambiente que favorece el desarrollo de micro colonias<sup>110</sup>. Este micro ambiente o “biocapa” confiere a las bacterias un aumento en la resistencia a antibióticos y a los mecanismos locales de defensa del huésped<sup>107,108</sup>. Se ha observado que las bacterias que se desarrollan en el micro ambiente de la “biocapa” pueden resistir concentraciones de antibióticos hasta 1000 veces mayores que las bacterias que se encuentran de forma libre<sup>109</sup>.

El incremento en el número de micro colonias sumado a la infiltración de neutrófilos y la liberación de sus enzimas, aumenta progresivamente el gradiente hipóxico en el interior de la capa de moco. Esto aunado a la resistencia que la “biocapa” le confiere a las bacterias y la ineficiencia en la aclaración de las secreciones bronquiales disminuye la efectividad de las defensas del individuo, ocasionando el desarrollo de una colonización bronquial crónica<sup>110</sup>.

El tratamiento con antibióticos no elimina de forma completa la infección bacteriana en el interior de la “biocapa”, lo que permite la recuperación, persistencia y diseminación de la población bacteriana<sup>111</sup>.

## 2.6.5.- Microbiología de la enfermedad pulmonar en la FQ

Una de las principales características de la FQ es la colonización crónica de la vía aérea. Las primeras infecciones pueden ser transitorias y erradicarse espontáneamente o como consecuencia del tratamiento médico; sin embargo, al llegar a la adolescencia casi todos los pacientes presentan colonización bronquial crónica<sup>111</sup>.

Se ha descrito infección y colonización crónica por un grupo muy particular de microorganismos entre ellos *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cepacia*, *H. influenzae*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans*, micobacterias atípicas y *Aspergillus ssp*<sup>111</sup>. Todos ellos, con excepción de *S. aureus*, son considerados microorganismos oportunistas.

El análisis de los datos obtenidos en los registros de pacientes muestra un patrón dependiente de la edad en la prevalencia de la infección de la vía aérea. En edades tempranas se observa una mayor frecuencia de infección por *S. aureus* y *H. influenzae*. Sin embargo, con el tiempo se va dando paso a la colonización crónica por *P. aeruginosa*, inicialmente de cepas no mucosas que eventualmente se convertirán en cepas mucoides productoras de alginato<sup>112</sup>.

La colonización bronquial crónica por *P. aeruginosa* se asocia con un deterioro más rápido de la función pulmonar<sup>113,114</sup>. La colonización por cepas mucoides de *P. aeruginosa* se ha asociado con una disminución cuatro veces mayor de la supervivencia acumulada en algunos estudios<sup>115</sup>.

## **2.7.- DIAGNÓSTICO DE FIBROSIS QUÍSTICA**

### **2.7.1.- Criterios de diagnóstico de FQ**

El diagnóstico de Fibrosis Quística se establece en base a la presencia de una característica fenotípica compatible con FQ junto con una prueba de laboratorio que evidencie disfunción de la proteína RTFQ<sup>4,116</sup>.

Características fenotípicas:

1. Cuadro clínico compatible con la enfermedad.
2. Historia familiar (hermanos o primos).
3. Tamizaje neonatal positivo (tripsina inmunoreactiva).
4. Ausencia bilateral de conductos deferentes (ABCD).

Pruebas de laboratorio que demuestran una disfunción de la proteína RTFQ:

1. Prueba de sudor positiva (por lo menos en dos ocasiones).
2. Estudio genético positivo (encontrar dos mutaciones del RTFQ).
3. Prueba del potencial nasal diferencial positivo.

### 2.7.2.- Cuadro clínico

El cuadro clínico varía ampliamente y debe basarse en la presencia de uno o más signos o síntomas clínicos:

- Enfermedad sinopulmonar crónica manifestada por a) Infección o colonización crónica de la vía aérea por microorganismos característicos como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae* o *Burkholderia cepacia*; b) Tos crónica productiva; c) Infiltrados persistentes en la radiografía de tórax; d) Obstrucción de la vía aérea manifestada por sibilancias y datos de atrapamiento aéreo; e) Sinusitis crónica o pólipos nasales; f) Hipocratismo digital.
- Anormalidades digestivas y nutricionales incluidas: a) Intestinales (íleo meconial, obstrucción intestinal distal, prolapso rectal); b) Pancreática (insuficiencia pancreática, pancreatitis aguda recurrente, pancreatitis crónica de etiología desconocida); c) Hepática (hepatitis crónica manifestada por evidencia clínica o histológica de cirrosis biliar focal o multilobular); d) Nutricional (Retraso en el crecimiento, malnutrición calórica proteica, hipoproteinemia y manifestaciones de deficiencia de vitaminas lipo-solubles)
- Síndrome de pérdida de sal manifestado por deshidratación con pérdida de electrolitos y alcalosis metabólica.

### **2.7.3.- Historia familiar**

Debe de considerarse el diagnóstico de FQ en familiares de primer grado de pacientes afectos de la enfermedad aún en ausencia de síntomas clínicos. Los hermanos de pacientes con FQ tienen un 25% de probabilidades de tener la enfermedad. Los hermanastros también tienen un riesgo aumentado de presentar la enfermedad en comparación con la población general, con una probabilidad calculada de 1 en 112 individuos<sup>4</sup>.

### **2.7.4.- Tamizaje neonatal**

Muchos centros a nivel mundial han incluido como prueba diagnóstica el programa de tamizaje neonatal. Aunque algunos pacientes cursan asintomáticos en el momento de realizar la prueba, virtualmente todos los pacientes desarrollarán síntomas clínicos en los años siguientes.

El estudio se realiza en varias etapas<sup>117</sup>. Primero se realiza una determinación de tripsina inmunoreactiva (TIR) en las manchas de sangre de la tarjeta entre los 3-5 días del nacimiento. A los niños con resultado positivo se les realizara una segunda determinación de TIR entre los 20 y 40 días de vida. Si el resultado continúa siendo positivo se les debe realizar dos determinaciones cuantitativas de ión cloruro en sudor y un estudio genético convencional de las mutaciones más frecuentes del RTFQ.

Los resultados del programa de tamizaje neonatal de Wisconsin, Estados Unidos, muestran que los pacientes que fueron diagnosticados por tamizaje neonatal tuvieron mayor ganancia de peso y talla que aquellos que no fueron diagnosticados con el programa<sup>118,119</sup>. Sin embargo, hasta la fecha no hay datos concluyentes que el diagnóstico temprano modifique la evolución y la supervivencia de los pacientes<sup>120</sup>.

### **2.7.5.- Prueba del sudor**

La prueba del sudor se realiza de acuerdo al método descrito por Gibson y Cooke en 1959<sup>19</sup>, la cual continúa siendo el estándar de referencia para el diagnóstico de FQ, y por la técnica de Wescor Macroduct<sup>121</sup>. La técnica se debe de realizar por personal experto de acuerdo con las normativas internacionales descritas en el National Comité for Clinical Laboratory Standards<sup>122</sup>.

La muestra de sudor se obtiene por el método de iontoforesis con pilocarpina con un análisis cuantitativo de ión cloruro en sudor. El sitio que se utiliza es la piel de la cara anterior de la superficie flexora del antebrazo o del muslo. Se emplea la pilocarpina como método para estimular las glándulas sudoríparas y así producir sudor. La piel es lavada previamente para remover restos de sal que existan en este sitio. Posteriormente, se aplica pilocarpina sobre el área lavada y se conectan dos electrodos que envían una corriente eléctrica de 2-5 mV. durante 5-10 minutos. Este estímulo conducirá la pilocarpina dentro de las células de las glándulas sudoríparas y de esta manera se

activará la glándula. Posteriormente, se coloca un papel filtro o gasa previamente pesada (o un tubo espiral para el método de Macroduct) durante 30 minutos. En el laboratorio el papel es pesado, la cantidad mínima de sudor que es necesaria para realizar el análisis por el método de Gibson y Cooke son 75 mg. y 15 micro litros de sudor para el de Macroduct. Finalmente, se realiza en el laboratorio un análisis cuantitativo de ión cloruro por medio de un clorímetro.

Los valores que confirman el diagnóstico de FQ son una concentración de Ion cloruro en sudor mayor a 60 mmol/ obtenida, por lo menos, en dos pruebas realizadas en días diferentes. Concentraciones de ión cloruro en sudor entre 45 y 59 se consideran indeterminadas y niveles por encima de 160 mmol/L. no son fisiológicas por lo que un resultado en ese rango obliga a repetir la prueba.

### **2.7.6.- Estudio genético**

En pacientes con un cuadro clínico sugestivo de la enfermedad y dos pruebas de sudor positivas o indeterminadas debe de solicitarse un estudio genético. Los paneles de estudios genéticos convencionales detectan hasta 36 mutaciones diferentes, las más frecuentes de acuerdo al Cystic Fibrosis Consortium; sin embargo, en pacientes con cuadros clínicos atípicos y en pacientes con FQ de diagnóstico en la edad adulta, frecuentemente son necesarios estudios genéticos ampliados para conseguir un diagnóstico molecular de la enfermedad.

La sensibilidad de los estudios genéticos para diagnóstico de FQ es variable dependiendo de factores como el número de mutaciones estudiadas, el grupo étnico y el cuadro clínico del paciente<sup>123</sup>. La sensibilidad, definida como la proporción de pacientes con FQ en quienes se pueden identificar dos mutaciones del RTFQ, puede calcularse de acuerdo al número de mutaciones del panel empleado y al porcentaje de cromosomas afectados que es posible identificar con dicho panel. Se ha descrito en la literatura que utilizando un panel de 25 mutaciones en individuos caucásicos en los Estados Unidos, es posible identificar el 90% de los cromosomas afectados<sup>124</sup>. De tal forma que la sensibilidad de esta prueba para diagnóstico en este grupo étnico sería del 81% (90% X 90%).

La especificidad se define como la proporción de estudios genéticos negativos para FQ en sujetos que no tienen FQ. La expresión variable de algunas mutaciones, que trae como consecuencia una amplia variabilidad de fenotipos, y la prevalencia de mutaciones poco frecuentes en algunos grupos étnicos son factores que disminuyen la especificidad de la prueba<sup>123</sup>.

En este contexto, el valor predictivo positivo puede definirse como la proporción de parejas con estudio genético positivo que tienen un 25% de riesgo de tener un hijo con la enfermedad<sup>123</sup>. El valor predictivo positivo de la prueba es alto ya que la mayoría de los genotipos producirían manifestaciones clínicas de FQ.

El valor predictivo negativo en este escenario puede definirse como la proporción de parejas con estudio negativo que no tienen un 25% de riesgo de tener un hijo con

FQ<sup>123</sup>. El valor predictivo negativo de la prueba es muy alto ya que la FQ es una enfermedad poco frecuente. Esto se puede calcular en base a la prevalencia del estado de portador y la prevalencia de la enfermedad para cada grupo étnico. De esta forma, el valor predictivo negativo para los caucásicos es del 99.96%, considerando una prevalencia del estado de portador de 1/25 y una prevalencia de la enfermedad de 1 por cada 2,500 nacidos vivos<sup>125</sup>.

La presencia de dos mutaciones del RTFQ es diagnóstico de FQ, ya que la penetrancia es de prácticamente el 100%. Sin embargo, el estudio de portadores, en teoría asintomáticos, puede identificar dos mutaciones en sujetos con síntomas clínicos leves, atípicos o de presentación tardía de la enfermedad<sup>123</sup>.

### **2.7.7.- Prueba del potencial nasal diferencial**

El transporte de iones a través de la membrana apical de las células del epitelio respiratorio produce un potencial eléctrico que puede ser medido por la técnica del potencial nasal diferencial. Diferentes estudios han demostrado la utilidad de esta prueba para el diagnóstico de FQ en pacientes con cuadro clínico compatible con la enfermedad, prueba del sudor indeterminada y estudio genético no diagnóstico.

La prueba consiste en la medición de la diferencia de potencial eléctrico a nivel de la mucosa nasal, por debajo del cornete inferior, utilizando un catéter de pequeño

calibre que se conecta a un electrodo de Ag/AgCl (catéter de medición). Un segundo electrodo es conectado a un catéter que se coloca en el tejido subcutáneo de la cara externa del brazo (electrodo de referencia). A través de ambos catéteres se instila solución salina normal o solución de Ringer lactado. El método de perfusión consiste en aplicar diferentes sustancias a través del catéter de medición (amiloride, isoproterenol o salbutamol) con el fin de producir cambios en el potencial eléctrico, los cuales incrementan la sensibilidad diagnóstica de la prueba.

### ***Diagnóstico de FQ***

El diagnóstico de FQ por este método se obtiene si se observan las siguientes mediciones:

1. El potencial nasal basal es más negativo, entre -35mVolts a -60mVolts.
2. Al infundir la solución de amiloride en buffer con cloro se observa una caída más importante del potencial (el potencial se vuelve menos negativo) en comparación con la caída observada en el potencial nasal de los sujetos normales.
3. Al infundir la amiloride en solución libre de cloro no se observa ninguna modificación significativa del potencial nasal.
4. Al infundir la amiloride en infusión libre de cloro y salbutamol (o isoproterenol), el potencial nasal regresa a su valor basal en los sujetos normales. En los pacientes con FQ, el porcentaje de cambio en el potencial nasal en respuesta al salbutamol es menor al 50% del valor basal del potencial nasal.

En algunos pacientes con cuadros atípicos de FQ no se observa un potencial nasal basal característico (el valor del potencial es intermedio); sin embargo, presentan cambios característicos del potencial nasal al aplicarles las soluciones.

## **2.8.- RELACION ENTRE GENOTIPO Y FENOTIPO**

En una enfermedad genética, el fenotipo está directamente relacionado con el tipo de mutación, el mecanismo de disfunción molecular y la posición en el gen de la proteína mutada.<sup>126</sup> La FQ, al ser una enfermedad recesiva requiere de mutaciones en ambos alelos, por lo que el tipo y grado de disfunción molecular de la segunda mutación son determinantes para establecer el fenotipo.

Otros factores como la presencia de moduladores intragénicos (una segunda mutación, variantes o polimorfismos en el gen del RTFQ), mutaciones en sitios diferentes del genoma, la presencia de genes que actúen como moduladores de la enfermedad, la fisiopatología órgano-específica y los factores medio ambientales son también determinantes en la gravedad de las manifestaciones clínicas y pueden influir de manera variable en diferentes órganos.

### **2.8.1.- Relación entre el genotipo y la insuficiencia pancreática**

La relación entre genotipo con la insuficiencia pancreática (IP) se estableció en diferentes estudios desde el inicio de la década de los noventa. Kerem et al<sup>127</sup>, estudiaron la relación genotipo-fenotipo en un grupo de 293 pacientes con FQ. El 52% de este grupo eran homocigotos para la mutación F508del, 40% eran heterocigotos para esta mutación y 8% eran portadores de genotipos desconocidos. Los pacientes homocigotos para la F508del fueron diagnosticados a edades más tempranas y la

prevalencia de IP en este grupo fue del 99%. Entre los pacientes heterocigotos y con genotipo desconocido, la prevalencia de IP fue del 72 y 36 por ciento respectivamente. Además, los pacientes que no desarrollaron IP presentaron niveles de ión cloruro en sudor más bajos, mejores índices antropométricos y enfermedad pulmonar menos grave.

En el estudio del Cystic Fibrosis Genotype-Phenotype Consortium<sup>128</sup> se compararon las características clínicas de 399 pacientes con FQ de 32 centros participantes del consorcio en 14 países. Los pacientes eran heterocigotos para la mutación F508del en combinación con G542X, R553X, W1282X, N1303K, 621+1G→T, 1717-1G→A y R117H. Los grupos se compararon entre si y con pacientes homocigotos para F508del de la misma edad y sexo. El 87% de los pacientes heterocigotos para la mutación R117H presentaban suficiencia pancreática (SP), a diferencia del resto de los genotipos quienes presentaron IP en más del 98% de los casos.

En base a estos hallazgos, Kerem y su grupo propusieron denominar a las mutaciones como “graves” o “leves” en base a su asociación con el desarrollo de IP. Se estipuló que un alelo “leve” (asociado con SP) podría dominar sobre un alelo “grave” (asociado con IP), de tal manera que era necesaria la asociación de dos alelos “graves” para el desarrollo de IP. No se ha demostrado una asociación entre genotipo con otras manifestaciones clínicas gastrointestinales como el íleo meconial, la hepatopatía crónica o *diabetes mellitus*. Sin embargo, todos estos fenotipos se asocian a IP y cuadros clásicos de la enfermedad<sup>129,130,131</sup>.

### **2.8.2.- Relación entre genotipo y los niveles de Ión cloruro en sudor**

Diferentes estudios han analizado la relación entre clases de mutaciones y genotipos específicos con los niveles de ión cloruro en sudor<sup>132,133</sup>. En ellos se demuestra que los pacientes portadores de mutaciones de las clases IV y V se asocian con menores niveles de ión cloruro en sudor. Además, algunos alelos como el 3849+10kbC→T<sup>134</sup>, pueden asociarse con cuadros leves o atípicos de la enfermedad y niveles normales de ión cloruro en sudor.

### **2.8.3.- Relación entre genotipo y la ABCD**

El 98% de los pacientes varones con FQ son infértiles debido a azoospermia obstructiva secundaria a ABCD. Diferentes estudios han demostrado que el 10-20% de los pacientes con ABCD presentan dos mutaciones del RTFQ y cerca de la mitad poseen al menos una mutación del RTFQ. Entre el 30-40% de los pacientes con ABCD presentan el alelo 5T en al menos uno de los cromosomas<sup>135,136</sup>. La mayor frecuencia de portadores del alelo 5T en estos pacientes en comparación con la población general sugiere una asociación entre este alelo y ABCD. Algunos pacientes presentan ABCD como única manifestación de FQ, por lo que se ha propuesto que el sistema reproductor masculino tiene una alta afinidad órgano-específico para las mutaciones del RTFQ.

#### **2.8.4.- Relación entre genotipo y la gravedad de la enfermedad pulmonar**

Aunque los pacientes con FQ nacen con pulmones aparentemente normales, el deterioro progresivo en la función pulmonar es la causa de muerte en el 95% de los casos, por lo que la enfermedad pulmonar representa el principal factor pronóstico de la enfermedad<sup>137</sup>. La relación entre el genotipo con la ABCD y la IP ha sido establecida en diferentes publicaciones. Sin embargo, en muchos estudios no ha sido posible establecer una asociación clara entre genotipo y la gravedad de la enfermedad pulmonar<sup>138</sup>. Se ha propuesto que los factores medio ambientales<sup>139</sup>, mutaciones en otros genes diferentes al RTFQ<sup>140</sup> o ambos constituyen los factores más importantes en el desarrollo, progresión y gravedad de la enfermedad pulmonar en la FQ.

En algunos trabajos se han podido encontrar una relación entre mutaciones concretas y el fenotipo pulmonar. Gan et al<sup>141</sup>, compararon las características clínicas de 33 pacientes heterocigotos para la segunda mutación más frecuente en la población holandesa, la A455E, con pacientes homocigotos para la F508del pareados por edad y sexo. El estudio reveló que los pacientes portadores con al menos una mutación A455E se diagnosticaron a edades más tardías, tenían una prevalencia menor de IP (21% frente al 94% de los controles) y los parámetros espirométricos eran significativamente mejores que la de los pacientes homocigotos para la F508del.

Loubieres et al<sup>142</sup> demostró la existencia de una relación entre el genotipo, en base al estatus de función pancreática, con la gravedad de la enfermedad pulmonar.

Compararon las características clínicas y la gravedad de la enfermedad pulmonar de 37 pacientes portadores de dos mutaciones asociadas a IP con 14 pacientes portadores de al menos una mutación asociada a suficiencia pancreática. Los pacientes portadores de al menos una mutación asociada a SP se diagnosticaron a edades más tardías, presentaron una enfermedad menos grave y tenían parámetros espirométricos mejores que los pacientes portadores de dos mutaciones asociadas a IP.

La relación entre genotipo con la tolerancia al ejercicio fue investigada por Selvadurai et al<sup>143</sup> en un estudio en el que se compararon las características clínicas, la gravedad de la enfermedad pulmonar y la tolerancia al ejercicio en un grupo de 97 pacientes heterocigotos para la mutación F508del agrupados en base a la clase a la que pertenecía la segunda mutación. Se observó que los pacientes portadores de una mutación de clase III, IV o V presentaron una capacidad al ejercicio y un umbral anaeróbico mayores que los pacientes con dos mutaciones de las clases I y II; sin embargo, no encontraron una diferencia significativa entre la gravedad de la función pulmonar medida por espirometría y el genotipo.

Recientemente, McKone et al<sup>144</sup> estudiaron la relación entre genotipo y mortalidad en un estudio retrospectivo usando el registro nacional de la Cystic Fibrosis Foundation. Ellos encontraron que los pacientes heterocigotos para la mutación F508del en asociación con R117H, 3849+10kbC→T y 2789+5G→T y los pacientes homocigotos para mutaciones clase IV y V tenían una mortalidad global y una mortalidad cruda ajustada por edad y sexo, menores que las de los pacientes homocigotos para la mutación F508del.

### **2.8.5.- Genes y polimorfismos modificadores en fibrosis quística**

Diferentes estudios han identificado polimorfismos que pueden modificar el curso de la enfermedad pulmonar, los cuales se localizan principalmente en genes involucrados en diferentes aspectos de la defensa del huésped o de los procesos de inflamación<sup>145</sup>.

Algunos de ellos se han asociado con un aumento en la gravedad de la enfermedad pulmonar. Tal es el caso de los polimorfismos que se asocian a aumentos en los niveles de Factor de Necrosis Tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), o los que se relacionan con disminución en los niveles de glutatión S-transferasa M1<sup>140</sup> o de lecitina unida a manosa<sup>146</sup>. Polimorfismos en el codón 10 del gen que codifica para el Factor Transformador de Crecimiento  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) se han asociado con un incremento en el deterioro de la función pulmonar<sup>147</sup>. Pacientes portadores del alelo HLA DR7 se han relacionado con un incremento en el riesgo de colonización por *P aeruginosa*<sup>148</sup>. Otros estudios han demostrado que polimorfismos asociados a deficiencia de alfa-1 antitripsina y deficiencia de alfa-1 antitripsina actuarían como modificadores hacia una enfermedad pulmonar menos grave<sup>149</sup>. Sin embargo, estos hallazgos son inconsistentes con los publicados por otros grupos<sup>150</sup>.

### **3.- OBJETIVOS**

1. Describir las características clínicas de los pacientes diagnosticados de FQ en la edad adulta.
2. Establecer las características genéticas de los pacientes diagnosticados de FQ en la edad adulta.
3. Comparar las características clínicas y genéticas de los pacientes diagnosticados de FQ en la edad adulta con los diagnosticados de la enfermedad en la edad pediátrica.
4. Establecer criterios clínicos de sospecha de la enfermedad en la población adulta.
5. Evaluar la correlación entre el par de mutaciones del RTFQ y la evolución de la enfermedad pulmonar.
6. Analizar la probabilidad de supervivencia en pacientes con diagnóstico de FQ en la edad adulta y compararla con los sujetos con diagnóstico en la edad pediátrica.

7. Calcular el riesgo de desarrollar una enfermedad pulmonar terminal en pacientes que poseen mutaciones de la clase I o II en ambos cromosomas.
  
8. Evaluar la influencia de presentar insuficiencia pancreática en la gravedad de la enfermedad pulmonar.

## **4.- RESUMEN DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1.- FIBROSIS QUÍSTICA DEL ADULTO. ESTUDIO DE 111 CASOS.**

De los 245 pacientes afectados de FQ controlados en la Unidad de FQ de nuestro centro, se incluyeron a 111 pacientes (45,3%) que en el momento del estudio tenían más de 16 años de edad. De ellos, 60 pacientes fueron mujeres, la edad media (DE) del grupo fue de 28(11) años, con un rango de 16-69 años. De éstos, 50 pacientes (28 mujeres; edad media (DE) 36(14) años; rango: 16-67 años) fueron diagnosticados en la edad adulta (Grupo B); y 61 pacientes (32 mujeres; edad media (DE) 23(5) años, rango 16-33) fueron diagnosticados en la edad pediátrica (Grupo A) (Tabla 1). Los pacientes diagnosticados en la edad adulta representaron el 20% de todos los pacientes con FQ controlados en la unidad y el 45% del total de pacientes adultos.

El diagnóstico de fibrosis quística se realizó por una prueba del sudor positiva (concentraciones de ión cloruro en sudor igual o superior a 60 mEq/L en dos ocasiones diferentes<sup>122</sup>) en 106 de los 111 pacientes. En los 5 pacientes restantes (1 del Grupo A y 4 del Grupo B), con prueba del sudor negativa, el diagnóstico se estableció al detectárseles dos mutaciones del gen del RTFQ.

Al analizar las características demográficas y antropométricas se observó que los pacientes diagnosticados en la edad adulta (Grupo B) presentaron, con respecto al Grupo A, diferencias estadísticamente significativas en relación con: edad media superior en el momento del estudio; mayor edad en el momento del diagnóstico; mejores parámetros antropométricos y niveles de ión cloruro en sudor más bajos (Tabla 1). La proporción de pacientes con desnutrición, definida como un índice de masa corporal menor a 17 Kg./m<sup>2</sup>, fue significativamente mayor entre los pacientes con diagnóstico en la edad pediátrica (Grupo A). No hubo diferencia significativa en la proporción de hombres y mujeres entre los grupos.

Las características clínicas de la enfermedad digestiva se muestran en la tabla 2. Los pacientes diagnosticados en la edad pediátrica (Grupo A) presentaron, significativamente, una mayor incidencia de manifestaciones digestivas al momento del diagnóstico con respecto al Grupo B. El 85% de los pacientes del grupo A desarrollaron insuficiencia pancreática, mientras que solo el 14% del grupo B la presentaron (p=0,001). Del mismo modo, la proporción de pacientes con diabetes mellitus y con enfermedad hepática crónica fue significativamente mayor entre los pacientes del grupo A. Por el contrario, cuatro pacientes con diagnóstico en la edad adulta desarrollaron al menos un cuadro de pancreatitis aguda, característica que no se observó entre los pacientes del grupo A.

Al analizar los datos con respecto de la enfermedad pulmonar se observó una incidencia mayor de manifestaciones respiratorias en el momento del diagnóstico entre los pacientes que se diagnosticaron en la edad adulta. Además, los pacientes de este

mismo grupo presentaron una incidencia menor de colonización bronquial crónica por *Pseudomonas aeruginosa* en comparación con el grupo A. No hubo diferencia significativa en el número de pacientes con colonización bronquial crónica por *S. aureus*. El estudio de función pulmonar medida por espirometría reveló que la capacidad vital forzada y el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (CVF, VEMS) fueron significativamente mejores en el grupo B, y muchos de ellos tenían una función pulmonar normal. Así mismo, los pacientes de este grupo tuvieron un número menor de ingresos hospitalarios y de ingresos por paciente; así como un número menor de indicaciones de trasplante pulmonar y de muertes relacionadas con enfermedad pulmonar terminal.

Las manifestaciones respiratorias fueron más frecuentes en los pacientes diagnosticados de FQ en la edad adulta. Las bronquiectasias de etiología desconocida con colonización bronquial crónica por *Pseudomonas aeruginosa* ó *S. aureus*, la aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA) y la pancreatitis recurrentes fueron las patologías asociadas más frecuentes. El cuadro clínico de los pacientes diagnosticados en la edad adulta incluyeron la presencia de: bronquiectasias de etiología no filiada en 31 casos, colonización bronquial crónica por *Pseudomonas aeruginosa* en 18 casos, neumonías de repetición en 5 casos, ABPA en 4 casos, pancreatitis recurrente en 4 casos, ausencia bilateral de conductos deferentes en 4 casos e historia familiar en otros dos casos (Tabla 4).

De los 222 cromosomas estudiados en los 111 pacientes, se detectaron 172 mutaciones del RTFQ las cuales se agrupaban en 31 mutaciones diferentes (Tabla 5).

Las mutaciones detectadas con mayor frecuencia fueron la F508del y la G542X que se presentaron en el 40,5% y 5,8% de los cromosomas respectivamente. La comparación entre ambos grupos de estudio puso de manifiesto que la prevalencia de las mutaciones F508del y G542X fue significativamente menor en el grupo de pacientes con diagnóstico en la edad adulta. Además, ningún paciente del Grupo B fue homocigoto para la mutación F508del frente a 20 (33%) de los pacientes del Grupo A ( $p < 0,001$ ). En el Grupo A se detectaron 21 mutaciones diferentes y en el Grupo B 17; siete de las mutaciones se hallaron en ambos grupos, 15 sólo en el Grupo A, y 10 sólo en el Grupo B. Una u otra de las 10 mutaciones detectadas sólo en pacientes del grupo B se observaron en 23 de los 171 cromosomas identificados en este grupo y en todos los casos se acompañaron de función pancreática normal.

### ***Discusión***

La fibrosis quística es una enfermedad multiorgánica que se presenta con un amplio espectro de manifestaciones clínicas. El cuadro clásico de fibrosis quística se caracteriza por el desarrollo de inflamación e infección bacteriana crónica de la vía aérea y senos paranasales, síndrome de mal absorción de grasas secundario a insuficiencia pancreática (IP), infertilidad en hombres debido a ausencia bilateral de conductos deferentes (ABCD) y niveles elevados de ión cloruro en sudor<sup>151</sup>. Cerca del 90% de los pacientes con cuadro clásico de fibrosis quística cursaron con IP.

Más del 85% de los pacientes con FQ cursan con cuadros clásicos de la enfermedad. La mayoría, inician su sintomatología a edad temprana, muchas veces desde el nacimiento y más del 70% de los pacientes son diagnosticados antes de cumplir un año de edad<sup>152</sup>.

Se denomina FQ del adulto a un subgrupo de pacientes que cursan asintomáticos o con cuadros clínicos leves o atípicos de la enfermedad durante los primeros años de vida, y es en la adolescencia o la edad adulta cuando la enfermedad se manifiesta clínicamente. Anteriormente se consideraba a los pacientes que se diagnosticaban en la edad adulta como pacientes en quienes se había omitido el diagnóstico de la enfermedad en la infancia, sin embargo la evidencia actual confirma que los pacientes que se diagnostican en la edad adulta forman un grupo con características clínicas y genéticas bien definidas.

En 1946, Hellerstein<sup>153</sup> publicó el primer caso de fibrosis quística diagnosticado en un adulto. En 1982 se calculó que sólo el 2,8% de los pacientes con FQ se diagnosticaron después de los 18 años de edad. En base a los datos obtenidos del registro nacional de fibrosis quística de los Estados Unidos (EEUU) de 1994, la incidencia del diagnóstico de FQ en pacientes mayores de 18 años fue del 5,8%<sup>154</sup>. Según los datos del registro nacional de 1997, la prevalencia de pacientes con diagnóstico de fibrosis quística en la edad adulta fue del 4%, con una incidencia de diagnóstico en mayores de 18 años del 7%. La edad promedio de diagnóstico en los pacientes en la edad pediátrica fue de 5,5 años y en su mayoría presentaron manifestaciones digestivas, malnutrición o retraso en el crecimiento como síntomas iniciales. Por el contrario, el promedio de edad de diagnóstico en los pacientes que se

diagnosticaron de la enfermedad en la edad adulta fue de 27 años y en su mayoría presentaron un cuadro clínico menos grave.

Un dato que puede resultar controvertido en nuestra serie es el porcentaje de pacientes diagnosticados de FQ en la edad adulta (50/245, 20%), con relación al número total de pacientes controlados en nuestra Unidad de FQ, que es sensiblemente superior al 4% de las formas atípicas de FQ con diagnóstico en la edad adulta que se recogen en el Registro de la Fundación Americana de Fibrosis Quística de 1997. Aunque es muy difícil de asimilar comparaciones entre ambas series, por las diferencias tan evidentes (más de 20.000 pacientes en el registro Americano, por 245 pacientes de nuestra Unidad), creemos que nuestra incidencia se acerca algo más a la realidad que la derivada del Registro Americano, una vez realizados algunos ajustes con relación a las poblaciones de referencia. El 20% de nuestra serie se convertiría en un 16% (57/344) si a la población de pacientes con FQ de nuestra Unidad (adultos + pediátrica) se sumaran los pacientes controlados en las otras dos Unidades de FQ reconocidas en nuestra Autonomía, que son unidades pediátricas. Por el contrario, el 4% de diagnósticos en la edad adulta recogido en el registro Americano, se convierte en el 7% cuando se analizan sólo los datos de los dos últimos años del registro, tal y como realiza E. Widerman et al. en una publicación reciente<sup>155</sup>. Si tenemos en cuenta que razas diferentes a la caucásica tienen una incidencia menor de FQ<sup>21</sup> y que por tanto, el fenómeno de la inmigración no podría explicar el incremento del 4 al 7% observado en los dos últimos años del registro Americano; éste, sólo puede deberse a una conciencia mayor por parte de los médicos de adultos de que estas formas de presentación de la FQ no son tan excepcionales como se recogía en el panel de consenso americano sobre FQ publicado

1998, en el que sólo se atribuía un 2% a las formas atípicas de FQ que se diagnostican en la edad adulta. De hecho, nuestros resultados han sido corroborados en una publicación reciente que estima que a partir de la década de los años 90, el diagnóstico de FQ en población adulta de la ciudad de Montreal representó el 18% de todos los diagnósticos de FQ<sup>156</sup>. Cuando en 1984 nuestro grupo publicó los primeros casos de FQ en pacientes adultos<sup>7,157</sup> ya se apuntaba que formas leves de FQ con escasa traducción clínica durante la infancia podían ser más frecuentes de lo que hasta la fecha se reconocía; y la prueba del sudor fue incorporada, por nuestro grupo, como método de diagnóstico en la investigación etiológica de enfermedades como las bronquiectasias o las neumonías de repetición no explicadas por otras causas.

El estudio muestra las características clínicas y genéticas de pacientes afectados de FQ cuyo diagnóstico se realizó en la edad adulta y los compara con pacientes adultos diagnosticados de la enfermedad durante la infancia. Los resultados ponen de manifiesto que los pacientes diagnosticados en la edad adulta presentan características diferentes con relación al par de mutaciones del Gen de la FQ y a las manifestaciones clínicas, que en general, se acompañan de suficiencia pancreática y una alteración pulmonar menos grave que la de los pacientes diagnosticados de FQ en la infancia.

En nuestra serie, la mayoría de los pacientes diagnosticados en la infancia presentaron insuficiencia pancreática, manifestaciones clínicas gastrointestinales y respiratorias en el momento del diagnóstico y una peor evolución de la función pulmonar. Por el contrario, en los pacientes diagnosticados en la edad adulta, la mayoría tenían suficiencia pancreática y predominó la patología respiratoria en el momento del

diagnóstico; siendo la presencia de bronquiectasias, la colonización bronquial por *P. aeruginosa* ó *S. aureus*, y neumonías de repetición las formas clínicas de presentación más frecuentes. Sin embargo, llama la atención otras dos formas de presentación como son la ABPA y la pancreatitis recurrente en cuatro casos respectivamente, y aunque ambas enfermedades se han descrito como complicaciones en pacientes con FQ, con una incidencia de entre el 2-15% para la ABPA y del 1% para la pancreatitis, excepcionalmente son el motivo del diagnóstico de la enfermedad en la infancia<sup>158,159</sup>.

Las manifestaciones respiratorias son los síntomas más frecuentes en el momento del diagnóstico en los pacientes con fibrosis quística del adulto<sup>160</sup>. Estos pacientes frecuentemente son catalogados como pacientes con Asma o Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) en base a un cuadro de tos productiva crónica y un patrón obstructivo con respuesta aguda a broncodilatadores en la espirometría. Se ha observado que estos pacientes tienen una menor frecuencia de colonización bronquial crónica por *P. aeruginosa* y una mayor frecuencia de infección por micobacterias no tuberculosas que los pacientes con diagnóstico en la edad pediátrica<sup>161</sup>.

Estos datos contrastan con algunas publicaciones previas, en las que los pacientes diagnosticados tardíamente presentaban estadios más avanzados de la enfermedad, con mayor repercusión de la función respiratoria o no mostraban diferencias en relación con los pacientes diagnosticados en los primeros años de vida<sup>162</sup>. Esta aparente contradicción puede explicarse por el hecho de que en la década de los años 70-80, cuando todavía no se había descubierto el gen de la FQ, la mayoría de los pacientes diagnosticados presentaban manifestaciones clínicas, respiratorias y digestivas

evidentes desde los primeros años de la vida. En estos pacientes, un retraso en el diagnóstico impedía que pudieran beneficiarse de su inclusión en las Unidades pediátricas de Fibrosis Quística en donde la aplicación de protocolos multidisciplinarios de tratamiento y control de la enfermedad ha demostrado ser uno de los factores determinantes en la mejora de la supervivencia y calidad de vida actual de los pacientes<sup>163</sup>. Sin embargo, el descubrimiento en 1989 del gen responsable de la FQ ha permitido ampliar de manera considerable el conocimiento sobre la patogenia y las alteraciones fisiopatológicas que se tenían de esta enfermedad. Así, hoy sabemos que la alteración de este gen no es debida a una única mutación, sino que por el contrario se han identificado más de 1.400 mutaciones y 200 variantes y polimorfismos diferentes<sup>52</sup>; y que existe una gran variabilidad respecto de la frecuencia de presentación de las mutaciones más comunes en relación con el origen étnico y geográfico de la población estudiada.

Clásicamente se reconoce que sólo entre el 12-18% de los pacientes con FQ se asocian a suficiencia pancreática. Sin embargo, nuestro estudio pone de manifiesto que ello debe ser referido exclusivamente a los enfermos diagnosticados durante la infancia ya que entre los pacientes diagnosticados en la edad adulta, el 86% se acompañaron de suficiencia pancreática por tan sólo un 15% entre los diagnosticados durante la infancia; lo cual, además, se correspondió con la presencia de diferencias en el tipo y frecuencia de las mutaciones detectadas entre ambas poblaciones y en las características clínicas observadas.

Todo ello, permite explicar, al menos en parte, la gran variabilidad en la expresión clínica debido a las diferencias genotípicas y la afectación multiorgánica de éstas. Así, mutaciones que se acompañan de suficiencia pancreática suelen tener pocas manifestaciones digestivas, los niveles de ión cloruro son más bajos en la prueba del sudor, las manifestaciones respiratorias pueden pasar desapercibidas durante los primeros años de la vida y en consecuencia, el diagnóstico, cuando se realiza, suele hacerse a edades más avanzadas.

Así pues, la FQ debe ser también considerada una enfermedad de diagnóstico en la edad adulta. La prueba del sudor debe dejar de ser de uso exclusivo de la edad pediátrica e incorporarse a las técnicas de diagnóstico rutinarias de pacientes adultos que presenten patologías tales como: bronquiectasias con o sin colonización bronquial crónica por *P. aeruginosa* o *S. aureus*, neumonías de repetición, ABPA o pancreatitis aguda recurrente en ausencia de otras causas que pudieran explicarlas. Sin embargo, como ocurrió en 5 de nuestros pacientes (4 de diagnóstico en la edad adulta y uno de diagnóstico edad pediátrica) la prueba del sudor puede no ser positiva<sup>164</sup>, por lo que otras técnicas de diagnóstico, como el estudio del potencial nasal diferencial<sup>165,166</sup>, deben de considerarse y de manera especial en aquellos casos con valores de concentración de ión cloruro en sudor indeterminados (40 – 60 mEq/L).

**Tabla 1. Características demográficas**

	<b>Grupo A</b>	<b>Grupo B</b>	<b>P</b>
	N=61	n=50	
Sexo (V/M)	29/32	22/28	Ns
Edad de diagnóstico –años, media (DE)	5(4)	32(14)	0,001
Edad actual –años, media (DE)	23(5)	36(13)	0,001
Concentración cloro en sudor –mEq/L, media (DE)	101(25)	87(16)	0,001
IMC –Kg./m <sup>2</sup> , media (DE)	19(3)	23(3)	0,001
Malnutrición (17 kg./m <sup>2</sup> ) –n(%)	12(20)	2(4)	0,03

\* Grupo A= diagnóstico en la infancia; Grupo B= diagnóstico en la edad adulta; V = varón; M = mujer; DE = desviación estándar; IMC = índice de masa corporal.

**Tabla 2. Enfermedad digestiva**

	<b>Grupo A</b> N=61	<b>Grupo B</b> N=50	<b>p</b>
Manifestaciones digestivas iniciales –n (%)	41 (68)	7 (14)	0,001
Insuficiencia pancreática –n (%)	52 (85)	7 (14)	0,001
Pancreatitis –n (%)	0	4 (8)	0,02
Diabetes mellitus –n (%)	15 (25)	2 (4)	0,004
Enfermedad hepática† –n (%)	13 (21)	2(4)	0,01

\* Grupo A= diagnóstico en la infancia; Grupo B= diagnóstico en la edad adulta; DE= desviación estándar; † presencia de transaminasas elevadas o de cirrosis hepática.

**Tabla 3. Enfermedad respiratoria y parámetros de función pulmonar.**

	<b>Grupo A</b> n=61	<b>Grupo B</b> n=50	<b>P</b>
Manifestaciones respiratorias iniciales –n (%)	38 (63)	40 (80)	0,04
ABPA –n (%)	13 (21)	11 (22)	Ns
ABAP inicial –n (%)	0	4 (8)	0,02
Colonización bronquial por <i>P. aeruginosa</i> –n (%)	43 (70)	25 (50)	0,02
Colonización bronquial por <i>S. aureus</i> –n (%)	32 (52)	17 (34)	Ns
CVF (% valores teóricos DE)	65 (27)	83 (19)	0,0001
VEMS (% valores teóricos DE)	55 (27)	79 (24)	0,0001
Pacientes con ingresos hospitalarios –n (%)	34 (56)	16 (32)	0,01
No. de ingresos hospitalarios –media (DE)	1,2 (1)	0,5(0,7)	0,002
Transplante pulmonar –n (%)	10 (17)	2 (4)	0,04
Muertes por fibrosis quística –n (%)	12 (20)	0	0,001

\* Grupo A= diagnóstico en la infancia; Grupo B= diagnóstico en la edad adulta; DE= desviación estándar; CVF = capacidad vital forzada; VEMS = volumen espiratorio forzado en el primer segundo; Ns = no significativo.

**Tabla 4. Criterios clínicos de sospecha de fibrosis quística en la edad adulta**

Criterios clínicos de sospecha de la enfermedad	No. de casos
Bronquiectasias de etiología desconocida con colonización bronquial crónica por <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
Bronquiectasias de etiología desconocida con colonización bronquial crónica por <i>Staphylococcus aureus</i>	13
Neumonías de repetición	5
Aspergilosis broncopulmonar alérgica	4
Pancreatitis recidivante	4
Azoospermia	4
Familiar afectado de fibrosis quística	2

**Tabla 5. Características genotípicas.**

Mutaciones	Número de mutaciones N = 222 (%)	Mutaciones Grupo A N = 122 (%)*	Mutaciones Grupo B N = 100 (%)*
F508del†	90 (40,5)	65 (53,2)	25 (25)‡
G542X	13 (5,8)	7 (5,7)	6 (6)
2789+5G→A	11 (4,9)	2 (1,6)	9 (9) §
L206W	6 (2,7)	2 (1,6)	4 (4)
R334W	5 (2,2)	0	5 (5) §
Mutaciones con frecuencia < 1,5%	47(21,1)	26 (21,3)	21 (21)
Desconocidas	50 (22,5)	20 (16,3)	30 (30)

\*Porcentaje en relación con el número total de cromosomas estudiados. †Homocigotos para F508del en el Grupo A = 20 (32,7%) frente al 0 en el grupo B (prueba  $\chi^2$ ,  $p < 0,001$ ); ‡  $p < 0,0001$  (prueba de  $\chi^2$ ); §  $p < 0,03$  (prueba de  $\chi^2$  aplicando fórmula exacta de Fisher); ||  $p < 0,03$  (prueba del  $\chi^2$ ).

## **4.2.- CORRELACIÓN ENTRE EL GENOTIPO Y LA GRAVEDAD DE LA ENFERMEDAD PULMONAR EN PACIENTES ADULTOS CON FIBROSIS QUÍSTICA.**

Un total de 120 pacientes adultos con diagnóstico de FQ fueron seguidos en nuestra unidad durante el tiempo del estudio. Setenta y cuatro pacientes (40 hombres), con una edad media (DE) de 26.7 (8,3) años, en quienes fue posible diagnosticar dos mutaciones del RTFQ fueron incluidos en el estudio. De estos, cuarenta y cuatro pacientes (59,5%) fueron transferidos a la unidad de adultos desde la unidad pediátrica de FQ y los otros 30 (40,5%), fueron diagnosticados en la unidad de adultos. La media (DE) del tiempo de seguimiento en la unidad de adultos fue de 4.5 (3,1) años (rango 1-15).

La prueba de sudor fue positiva (definido por concentraciones de ión cloruro en sudor mayores a 60 mEq/L. en dos ocasiones) en todos menos en tres pacientes, quienes presentaban los genotipos siguientes: I507del/D1270N+1274W, F508del/D836Y y F508del/R347H respectivamente.

Las características genéticas de acuerdo con la clase de mutaciones del RTFQ en cada cromosoma y el tipo de disfunción molecular se muestran en la tabla 6. Se diagnosticaron once mutaciones diferentes de clase I; cuatro mutaciones diferentes de la clase II, siendo la mutación F508del la mutación mas prevalente en el total de cromosomas; dos mutaciones de la clase III; seis de la clase IV y cuatro mutaciones de la clase V. Doce mutaciones diferentes pertenecían a las clases III, IV y V.

Los grupos en base a la clase funcional de las mutaciones de RTFQ en ambos cromosomas son presentados en la tabla 7. En los 74 pacientes estudiados se encontraron 34 genotipos diferentes. El genotipo observado con mayor frecuencia fue el F508del/F508del en 21 pacientes, seguido por el F508del/G542X y F508del/2789+5G→A en cinco pacientes cada uno. Veintitrés genotipos se observaron con una frecuencia de solamente un paciente en cada uno de ellos. Cincuenta y siete pacientes presentaron la mutación F508del en al menos uno de sus cromosomas. Treinta y siete pacientes presentaron en su genotipo mutaciones de la clase I o II en ambos cromosomas, la otra mitad presentó una mutación de la clase III, IV o V en al menos uno de los cromosomas.

No se observaron diferencias significativas en la media de los valores actuales de CVF y VEMS, expresados como porcentajes del valor predeterminado, entre pacientes con genotipo I-II/III, I-II/IV y I-II/V; sin embargo, estos valores fueron significativamente mayores que en pacientes con genotipo I-II/I-II (figura 1).

La evolución de la enfermedad pulmonar fue significativamente diferente entre los pacientes con el genotipo I-II/I-II y aquellos que tenían mutaciones clase III, IV o V en al menos un cromosoma. Los pacientes con mutaciones clase I o II en ambos cromosomas tuvieron menores valores basales de CVF y VEMS y una disminución mayor en la función pulmonar durante el tiempo de seguimiento en comparación con los pacientes con al menos una mutación clase III, IV o V. Esta disminución persistió

cuando la progresión de la enfermedad pulmonar fue ajustada para la edad y el tiempo de seguimiento (p 0,04, figura 2).

El estudio de supervivencia mostró que la probabilidad de presentar una enfermedad pulmonar terminal, definida como muerte o la necesidad de recibir un trasplante pulmonar, fue significativamente mayor entre los pacientes con mutaciones clase I-II en ambos cromosomas (cálculo de tiempo al evento p <0,001, Fig. 3).

El estudio de correlación entre el genotipo y el fenotipo pulmonar mostró una correlación significativa entre el par de mutaciones y la gravedad de la enfermedad pulmonar. Los pacientes con genotipo I-II/I-II tuvieron un riesgo mayor de desarrollar una enfermedad pulmonar moderada o grave, definida como el desarrollo de valores espirométricos menores del 60% del predicho, y este riesgo fue independiente a la presencia de insuficiencia pancreática (OR 7,1 IC 95% 1,3-40) en el análisis univariado. (Tabla 8).

Las características antropométricas y demográficas, así como el estatus de función pancreática y pulmonar se muestran en la tabla 4. Los pacientes con mutaciones clase I o II en ambos cromosomas tuvieron una incidencia significativamente mayor de insuficiencia pancreática, colonización bronquial crónica por *P. Aeruginosa* y *S. aureus*, y enfermedad pulmonar terminal. (p 0,001). Los pacientes con al menos una mutación clase III, IV o V mostraron parámetros antropométricos mejores.

## *Discusión*

En nuestro estudio se demuestra la relación entre la clase funcional del RTFQ en ambos cromosomas y la gravedad de la función pulmonar en pacientes adultos con FQ. Los pacientes que tenían mutaciones de las clases I o II en ambos cromosomas presentaron significativamente unos valores menores en los parámetros espirométricos, una pérdida mayor de la función pulmonar durante el seguimiento, un riesgo mayor de desarrollar una enfermedad pulmonar moderada-grave, y una probabilidad menor de supervivencia debido al desarrollo de una enfermedad pulmonar terminal que los pacientes con al menos una mutación del RTFQ de clases funcionales III, IV o V.

Sin embargo, se ha sugerido que factores ambientales constituyen el factor más importante en la modificación del desarrollo, progresión y gravedad de la enfermedad pulmonar en la FQ<sup>39</sup>. La posibilidad de acceder a centros especializados, estrategias de tratamiento así como el estrato socioeconómico han demostrado afectar el curso de la enfermedad durante los últimos años<sup>103,167</sup>. En nuestro estudio, el impacto de esos factores se redujo razonablemente dado que todos los pacientes fueron tratados y seguidos clínicamente en la misma unidad de FQ desde que se estableció su diagnóstico. El sistema nacional salud de España garantiza que todas las personas reciban servicios de salud independientemente de su estrato socioeconómico. Todas las unidades de FQ están integradas en el sistema nacional de salud y los pacientes reciben el tratamiento sin costo alguno y sin ninguna restricción.

Debido a que los pacientes con FQ nacen con pulmones aparentemente normales y

el deterioro de la enfermedad pulmonar es progresivo, estudiamos la relación entre el genotipo y el fenotipo pulmonar desde el nacimiento hasta la admisión a la unidad de adultos y posteriormente, durante su seguimiento en la unidad. Paradójicamente, los valores espirométricos basales tomados a su ingreso en la unidad de adultos fueron significativamente menores en pacientes con mutaciones de las clases I o II en ambos cromosomas, la mayoría de los cuales recibieron tratamientos especializados desde su diagnóstico en la edad pediátrica, que los valores observados en pacientes con al menos una mutación de clase III, IV o V, la mayoría de los cuales recibieron tratamiento especializado sólo después de su diagnóstico en la edad adulta.

Estos hallazgos sugieren que el genotipo es un factor pronóstico más importante que los factores ambientales para el fenotipo pulmonar en pacientes con FQ. Sin embargo, factores ambientales junto con posibles modificadores genéticos<sup>140,147</sup> pueden influir y explicar, al menos en parte, la variabilidad del fenotipo pulmonar observados en algunos casos en pacientes con el mismo genotipo.

La función pulmonar puede mantenerse normal o casi normal durante los primeros años de vida, por lo que es necesario un período de seguimiento largo para poder observar diferencias significativas en pacientes con diferentes genotipos. La mayoría de los estudios diseñados para demostrar la correlación entre el genotipo y fenotipo han empleado poblaciones de pacientes diagnosticados de FQ en la infancia o la adolescencia. En estos estudios, la mutación F508del y algunas otras más producen un efecto similar respecto al fenotipo pulmonar, por lo que hasta ahora no ha habido podido ser demostrado una diferencia clara entre las mutaciones del RTFQ y la gravedad de la

enfermedad pulmonar<sup>138</sup>.

La alta prevalencia de mutaciones de clase I o II en pacientes diagnosticados a edades tempranas y el relativo corto periodo de seguimiento puede ser crucial en el hecho de no haber podido demostrar una relación entre el genotipo y la gravedad de la enfermedad pulmonar en esos trabajos.

A diferencia de otros trabajos, en nuestro estudio todos los pacientes fueron adultos con un promedio de edad alto y todos fueron evaluados en el mismo centro. Cuarenta por ciento de estos pacientes fueron diagnosticados en la edad adulta y la mayoría de ellos tenían al menos una mutación del RTFQ de las clases III, IV o V (Tabla 4), lo que permitió demostrar una relación entre el genotipo con la función pulmonar. El fenotipo pulmonar leve observado en pacientes con genotipo I-II/III-V es consistente con estudios previos donde algunas mutaciones poco frecuentes como la R117H<sup>138</sup>, A455E<sup>141</sup>, 3849+10kbC→T<sup>168</sup>, 2789+5G→T<sup>169</sup>, and P67L<sup>170</sup> (todas ellas mutaciones de clase IV o V) claramente se asocian a una mejor evolución pulmonar.

Los datos observados en este estudio apoyan la hipótesis de que las diferencias en el fenotipo pulmonar en la FQ pueden estar relacionadas con el efecto del genotipo en la producción y función del RTFQ. Sin embargo, es importante reconocer que mutaciones específicas pueden tener características de más de una clase funcional, y que diferencias entre mutaciones de la misma clase funcional pueden ser posibles.

La relación más clara entre el tipo de disfunción molecular de las mutaciones del RTFQ y el fenotipo, ha sido previamente relacionado con la afectación pancreática.

Así, la mayor parte de las mutaciones que hacen que no se produzca la proteína RTFQ (mutaciones de la Clase I, como la G542X), que no llegue a la membrana epitelial de las células (mutaciones de la Clase II, como la F508del) o que den lugar a un descenso en la estabilidad de la proteína (mutaciones de la Clase VI) se acompañan de insuficiencia pancreática y de manifestaciones clínicas graves. Por el contrario, las mutaciones que producen RTFQ pero está alterada su regulación (mutaciones de la Clase III), su conducción (mutaciones de la Clase IV) o se sintetiza en cantidad escasa (mutación de la Clase V) pueden acompañarse de insuficiencia o suficiencia pancreática asociándose, en este último caso, a una evolución clínica mucho más leve<sup>171</sup>.

Estudios previos han demostrado una relación entre el genotipo y la asociación entre IP y la gravedad de la enfermedad pulmonar<sup>142</sup>, por lo que la presencia de IP fue considerada el factor pronóstico más importante en relación con la función pulmonar. Sin embargo, en este estudio, el análisis de regresión logística univariado demostró una correlación significativa entre el genotipo y la gravedad del daño pulmonar, y esta diferencia persistió al ajustar el análisis estadístico a la presencia de IP. Esto sugiere que la función pulmonar es una expresión fenotípica que predice, de forma independiente, el pronóstico de la enfermedad.

El tratamiento efectivo de la enfermedad pancreática, pulmonar y digestiva ha mejorado de manera evidente la supervivencia de los pacientes con FQ en los últimos treinta años. Actualmente, la mayoría de las muertes ocurren en la edad adulta y la progresión del daño pulmonar es su principal causa. En este estudio, todas las muertes fueron secundarias a la enfermedad pulmonar y todos excepto un paciente tenían

mutaciones de las clases I o II en ambos cromosomas. La probabilidad de supervivencia, cuando el tiempo-al-evento fue calculado desde la fecha de nacimiento hasta el desarrollo de una enfermedad pulmonar terminal, fue menor que en aquellos pacientes en quienes su genotipo incluía al menos una mutación de las clases III, IV o V.

Estos resultados son consistentes con los observados por McKone et al.<sup>144</sup> en un estudio retrospectivo utilizando el registro nacional de la fundación americana de FQ. Ellos encontraron que los pacientes homocigotos para la mutación F508del tenían, de manera significativa, una mortalidad cruda y ajustada para la edad y sexo mayor, en comparación con los pacientes homocigotos para mutaciones de las clases IV o V y los heterocigotos para F508del con R117H, 3849+10kbC→T y 2789+5G→T.

Nuestro estudio tiene algunos sesgos. No fueron incluidos pacientes que se diagnosticaron en la edad pediátrica y que murieron antes de alcanzar la edad adulta. Además, no fue posible realizar estudio genético a aquellos pacientes que murieron antes de 1992, y sólo fue posible estudiar ocho mutaciones en aquellos que murieron entre 1992 y 1996. Sin embargo, en el estudio de McKone et al.<sup>144</sup>, se observó que la mayoría de los pacientes que murieron a edad temprana fueron portadores de mutaciones de las clases I o II en ambos cromosomas. Estos hallazgos nos hacen suponer que los pacientes que murieron y no fueron incluidos en nuestro estudio podrían ser portadores de esos genotipos. Por otra parte, es posible que pacientes adultos con FQ aún no han sido diagnosticados. Ellos probablemente sean portadores de mutaciones asociadas a fenotipos leves y que no han dado manifestaciones clínicas

durante la edad adulta<sup>7</sup>.

El número limitado de mutaciones de clase III en nuestro estudio hace difícil el poder hacer conclusiones sobre su correlación con el genotipo pulmonar. Sólo las mutaciones D1270N y G551D fueron analizadas, y éstas fueron asociadas con una evolución de la función pulmonar más favorable. Sin embargo, estudios previos señalan que entre las mutaciones de la clase III existe una amplia variabilidad en los fenotipos y que esto depende principalmente del sitio de la proteína RTFQ para la cual codifican<sup>172,173</sup>.

En resumen, los médicos de adultos debemos considerar que la FQ no siempre se va a revelar como manifestaciones digestivas y respiratorias graves desde los primeros años de la vida y que formas fenotípicas más leves, especialmente de tipo respiratorio, pueden aparecer en la edad adulta. Así, ante pacientes adultos que presenten bronquiectasias, colonización bronquial crónica por *P aeruginosa* o por *S aureus*, ABPA, neumonías de repetición o pancreatitis recidivantes no explicadas por otras causas, se les debe de descartar la FQ.

Los resultados de este estudio apuntan a que el genotipo, basado en la clase funcional en ambos cromosomas, parece ser el factor más importante para el fenotipo pulmonar y para la supervivencia en relación con el daño pulmonar. Pacientes con genotipos que incluyen mutaciones clase I o II en ambos cromosomas presentan un deterioro de la función pulmonar más rápido y menor probabilidad de supervivencia en relación con la enfermedad pulmonar que pacientes con otros genotipos, especialmente

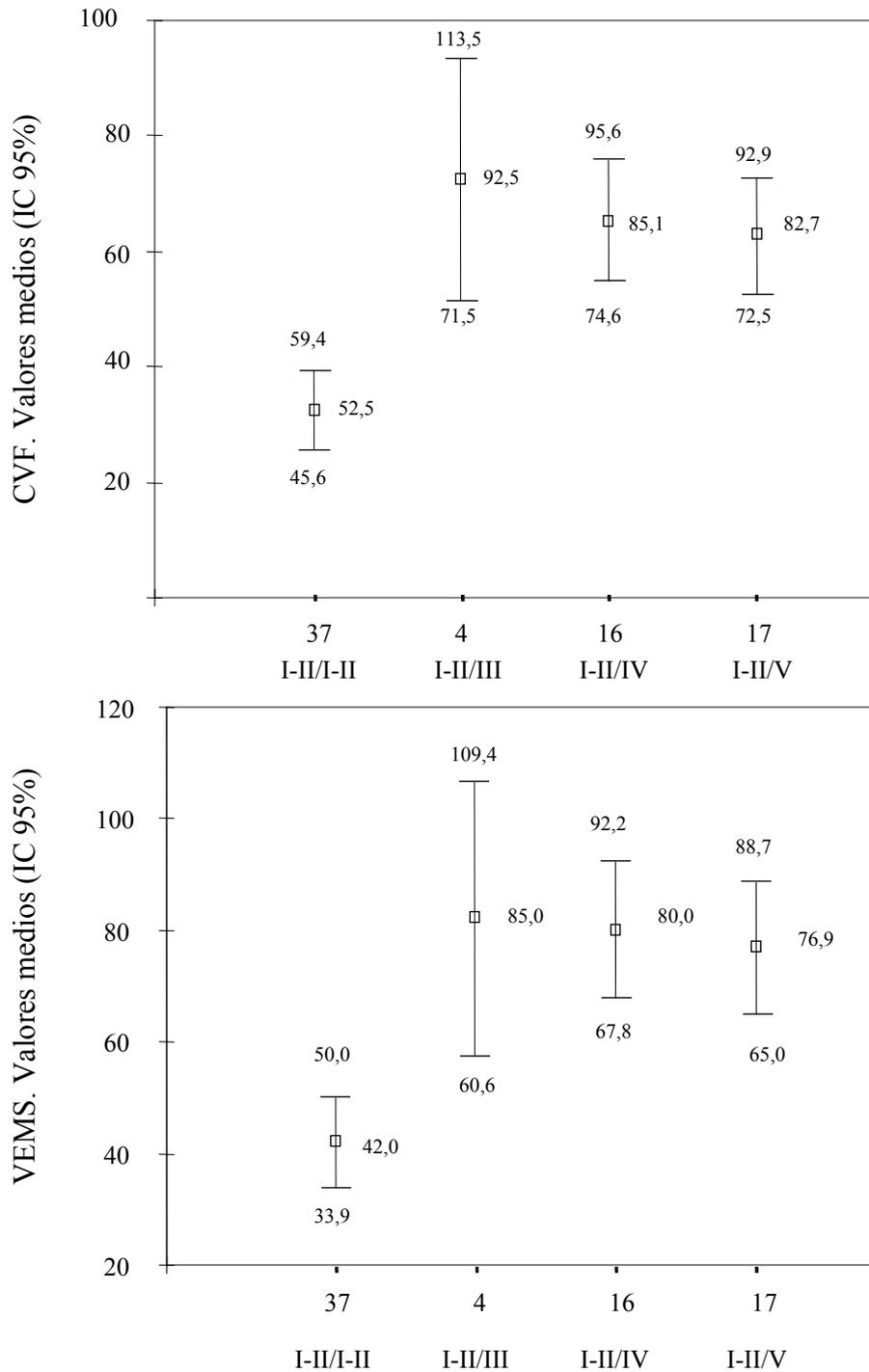
en aquellos pacientes que poseen al menos una mutación de las clases III, IV o V.

**Tabla 6. Mutaciones del RTFQ de acuerdo a la clase funcional.**

<b>Clase Funcional</b>	<b>Disfunción Molecular</b>	<b>Mutación</b>
I	Defecto en la síntesis de la proteína	G542X, 711+1G→T, 1609delCA, R1162X, 1717-8G→A, W1282X, 1782delA, Q890X, 1898+3A→G, CFTRdele19, 936delTA
II	Defecto en el procesamiento	F508del, N1303K, I507del, R1066C
III	Defecto en la regulación	D1270N+R74W, G551D
IV	Defecto en la conductancia	L206W, R334W, R117H, R347H, D836Y, P205S
V	Defecto parcial en la producción o el procesamiento	2789+5G→A, 1811+1.6kbA→G, 3849+10kbC→T, 3272+26G→A

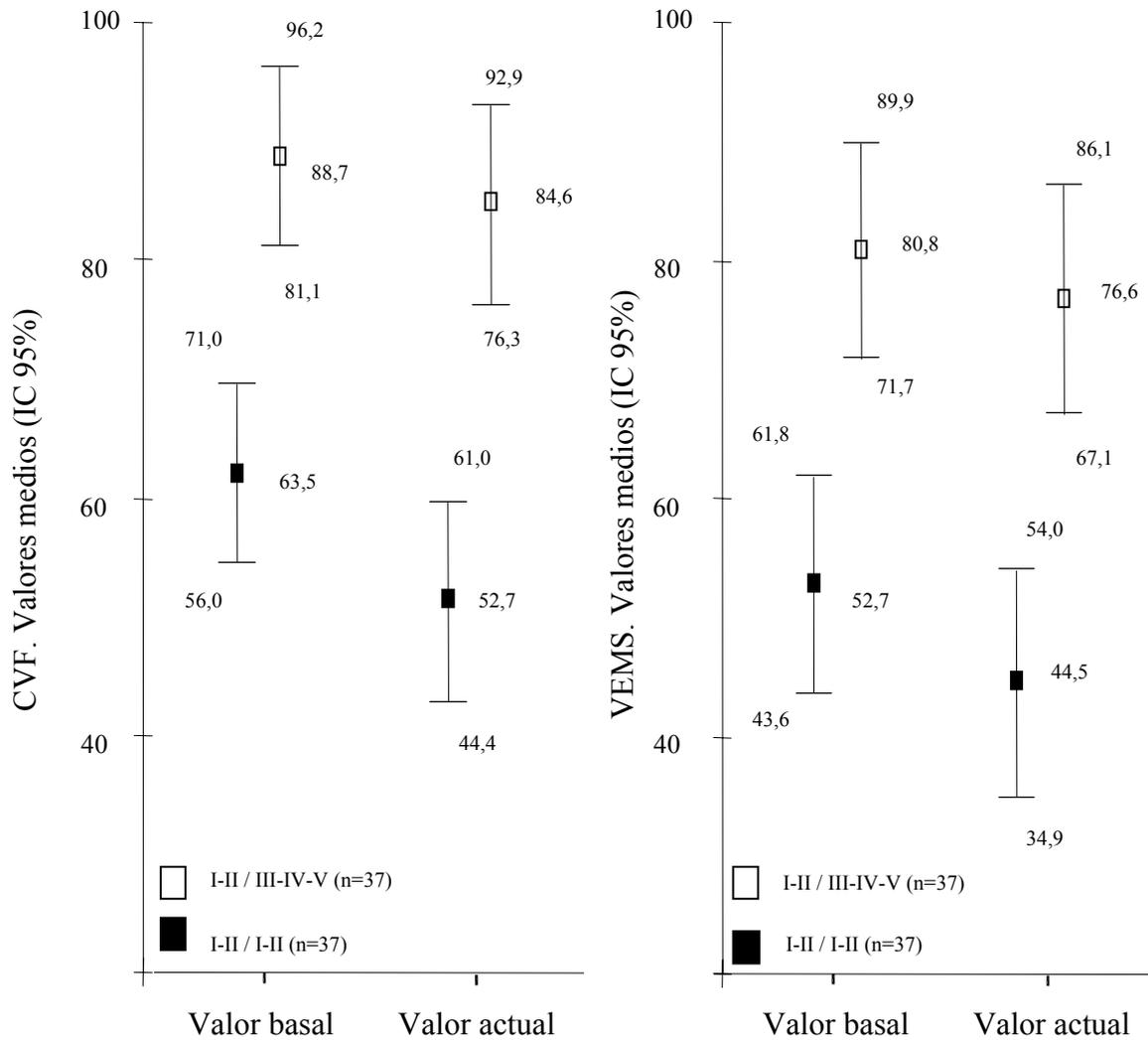
**Tabla 7. Grupos basados en el genotipo.**

Clase funcional	Genotipo	No de pacientes
I/I	G542X/W1282X	1
	R1162X/1898+3A→G	1
	R1162X/CFTRdele19	1
I/II	F508del/G542X	5
	F508del/711+1G→T	2
	F508del/1717-8G→A	1
	F508del/936delTA	1
	F508del/R1162X	1
	N1303K/1609delCA	1
I/III	G542X/D1270N+R74W	1
	711+1G→T/G551D	1
I/IV	G542X/P205S	1
	Q890X/R334W	1
	1609delCA/R347H	1
I/V	G542X/2789+5G→A	2
	G542X/1811+1.6kbA→G	1
	1782delA/2789+5G→A	1
	1609delCA/1811+1.6kbA→G	1
II/II	F508del/F508del	21
	F508del/N1303K	1
	F508del/R1066C	1
II/III	F508del/D1270N+R74W	1
	I507del/D1270N+R74W	1
II/IV	F508del/L206W	4
	F508del/R334W	3
	F508del/R117H	3
	F508del/R347H	2
	F508del/D836Y	1
II/V	F508del/2789+5G→A	5
	F508del/3849+10kbc→T	2
	F508del/1811+1.6kbA→G	2
	F508del/3272-26G→A	1
	N1303K /1811+1.6kbA→G	1
	N1303K/2789+5G→A	1

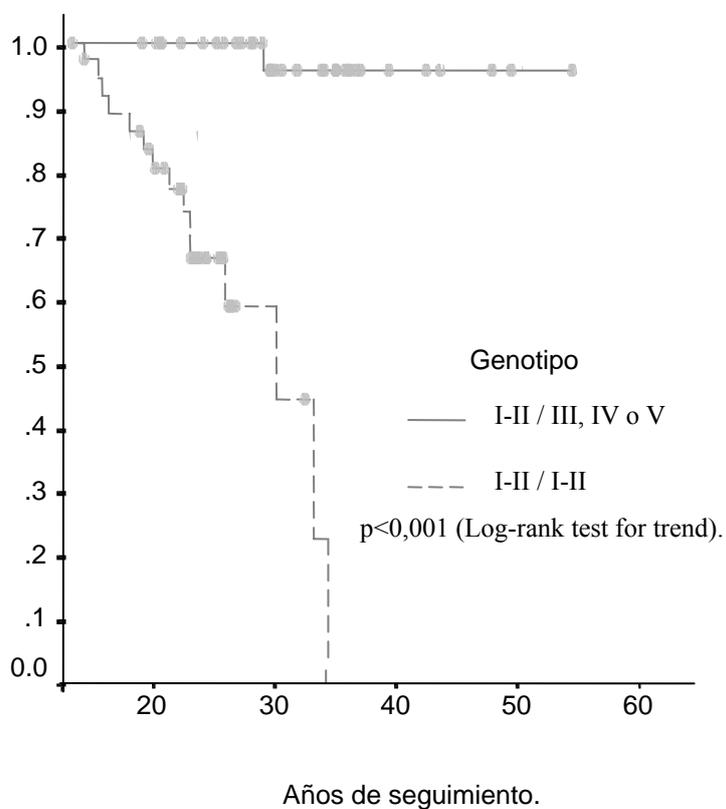


Grupos de acuerdo a la clase de mutaciones en ambos cromosomas

**Figura 1. Análisis comparativo de los valores espirométricos actuales calculados con ANOVA.** Los valores medios (95% IC) de la CVF y el VEMS1 expresados como porcentaje del valor predeterminado fueron mayores en los pacientes con al menos una mutación de la clase III, IV o V del RTFQ en su última visita a la unidad de adultos. Definición de abreviaciones: CVF=capacidad vital forzada; VEMS=volumen espiratorio forzado en el primer segundo.



**Figura 2. Evolución de la enfermedad pulmonar durante el seguimiento en la unidad de Fibrosis Quística de adultos calculado con ANOVA.** La progresión del daño pulmonar, ajustado para edad y tiempo de seguimiento, fue significativamente mayor en el grupo de pacientes con mutaciones de la clase I o II del RTFQ en ambos cromosomas ( $p < 0,04$ ). Los valores son expresados en medias (95% CI) del porcentaje con respecto del valor esperado. Definición de abreviaciones: CVPF=capacidad vital forzada; VEMS=Volumen espiratorio forzado en el primer segundo.



Evento	I-II/I-II	I-II/III-V
Transplante pulmonar	9	1
Defunciones	6	0

**Figure 3. Curva Kaplan Meier de supervivencia de acuerdo con el genotipo.** Se calculo el tiempo-al-evento desde la fecha de nacimiento a la fecha de diagnostico de enfermedad pulmonar terminal. Cálculo de tiempo al evento:  $p < 0,001$ .

**Tabla 8. Riesgo de sufrir una enfermedad pulmonar moderada-grave en pacientes con mutaciones clase I o II en ambos cromosomas.**

	<b>No. de pacientes</b> (n =74)	<b>Genotipo I-II/I-II</b> n (%)	<b>OR*</b> (IC 95%)	<b>OR<sup>†</sup></b> (IC 95%)
<b>CVF</b>				
≥ 60%	49	16 (33%)	1	1
< 60%	25	21 (84%)	10,83 (3,18-36,84)	7,12 (1,25-40,46)
<b>VEMS</b>				
≥ 60%	37	8 (22%)	1	1
< 60%	37	29 (78%)	13,14 (4,34-39,75)	8,74 (1,89-40,83)

\*Calculado por modelo de regresión logística univariado. (IC 95%). <sup>†</sup>Ajustado con insuficiencia pancreática. Definición de abreviaciones: CVF = capacidad vital forzada; VEMS = volumen espiratorio forzado en el primer segundo.

**Tabla 9. Características demográficas y clínicas de los grupos de acuerdo con el genotipo.**

	<b>Genotipo I-II/I-II (n=37)</b>	<b>Genotipo I-II/III, IV o V (n=37)</b>	<b>p</b>
Sexo, hombres n (%)	18 (48,6)	22 (59,5)	0,484
Edad, años*	22,5 (±4,9)	30,9 (±8,8)	<0,001
Edad de diagnóstico, años*	4,2 (±5,3)	21,9 (±13,4)	<0,001
Diagnóstico en la edad adulta, n (%)	1 (2,7)	28 (75,7)	<0,001
Años de seguimiento*	3,7 (±3,7)	5,3 (±1,9)	0,024
IMC, Kg./m <sup>2</sup> *	18,4 (±2,9)	23 (±3)	<0,001
Concentración de Ión cloruro en sudor, mEq/L.*	108 (±23)	89 (±22)	0,001
Síntomas digestivos al diagnóstico, n (%)	28 (73,7)	9 (24,3)	0,010
Insuficiencia pancreática, n (%)	36 (97,3)	9 (24,3)	<0,001
Síntomas pulmonares al diagnóstico, n (%)	25 (68,4)	28 (75,7)	0,439
Colonización por <i>P aeruginosa</i> , n (%)	32 (86,5)	16 (43,2)	< 0,001
Colonización por <i>S. aureus</i> , n (%)	22 (59,5)	12 (32,4)	0,019
Enfermedad pulmonar terminal, n (%)	15 (40,5)	1 (2,7)	0,001
-Transplante pulmonary, n (%)	9 (24,3)	1 (2,7)	0,010
-Defunciones, n (%)	11 (29,7)	1 (2,4)	0,012

\*Valores presentados en medias (±DE). †Valores obtenidos en la primera visita a la unidad de adultos.

Definición de abreviaciones: IMC=Índice de masa corporal.

## 5.- CONCLUSIONES

1. El diagnóstico de FQ en la edad adulta representa el 16-20% de los diagnósticos de esta enfermedad, por lo que también debe considerarse una enfermedad de diagnóstico en la edad adulta.
2. Los pacientes con diagnóstico de FQ en la edad adulta presentaron mayor edad al momento del estudio, menores niveles de concentración de Ión cloruro en sudor y mejores parámetros antropométricos que los pacientes con diagnóstico en la edad pediátrica.
3. Los pacientes con diagnóstico de FQ en la edad adulta presentaron una menor incidencia de manifestaciones digestivas, insuficiencia pancreática, diabetes mellitus y de enfermedad hepática crónica al momento del diagnóstico.
4. Los pacientes con diagnóstico en la edad adulta presentaron una mejor función pulmonar medida por espirometría y menor incidencia de muerte por enfermedad pulmonar terminal y trasplante pulmonar.
5. Se debe de sospechar el diagnóstico de fibrosis quística del adulto en pacientes con bronquiectasias de etiología desconocida, sobre todo cuando presentan colonización bronquial crónica por *P. aeruginosa* y *S. aureus*.

6. Los cuadros de neumonías de repetición, aspergilosis broncopulmonar alérgica, pancreatitis recidivante y azoospermia son criterios clínicos de sospecha de FQ en pacientes adultos.
7. Existe una diferencia en la prevalencia de las mutaciones del RTFQ entre pacientes con diagnóstico de FQ en la edad adulta con respecto a los que se diagnostican en la infancia.
8. La prevalencia de la mutación F508del es menor entre los pacientes con diagnóstico de FQ en la edad adulta.
9. Los pacientes con diagnóstico de FQ en la edad adulta tienen una mayor prevalencia de mutaciones de la clase III, IV y V.
10. La gravedad de la enfermedad pulmonar así como la progresión del daño pulmonar es más importante en sujetos con mutaciones de la clase I o II en ambos cromosomas.
11. La probabilidad de desarrollar una enfermedad pulmonar terminal es mayor en pacientes con mutaciones clase I o II en ambos cromosomas.
12. El riesgo de desarrollar una enfermedad pulmonar grave es mayor en pacientes con mutaciones clase I o II en ambos cromosomas, y este riesgo es independiente de la presencia o no de insuficiencia pancreática.

## 6.- BIBLIOGRAFIA

---

<sup>1</sup>McCarthy V, Harris A. The CFTR gene and regulation of its expression. *Pediatr Pulmonol.* 2005; 40:1-8.

<sup>2</sup>Gartner S, Cobos N, Maya A, Casals T, Seculi JL, Asensio O, Bosque M, Estivill X, Puliol M, Prats R. Neonatal screening for cystic fibrosis in Catalunya, Spain. *Pediatr Pulmonol.* 2003; S25: 221.

<sup>3</sup>Smyth R. Diagnosis and management of cystic fibrosis. *Arch Dis Child Educ Pract.* 2005; 90:ep1-ep6.

<sup>4</sup>Rosenstein BJ, Cutting GR, For the Cystic Fibrosis Consensus Panel. The diagnosis of Cystic Fibrosis: A consensus statement. *J of Pediatr.* 1998; 132:589-595.

<sup>5</sup>Davies J, Griesenbach U, Alton E. Modifier Genes in Cystic Fibrosis. *Pediatr Pneumonol.* 2005; 39:838-391.

<sup>6</sup>Ratjen F, Döring G. Cystic fibrosis. *Lancet.* 2003; 361: 681-689.

<sup>7</sup>De Gracia J, Urrutia A, Guarga A, Joanmiquel L, Monsó E, Vidal R. Fibrosis quística en el adulto. *Med Clin (Barc).* 1984; 83:392-3

<sup>8</sup>Barasch J, Al-Awqati Q. Defective acidification of the biosynthetic pathway in cystic fibrosis. *J Cell Sci Suppl.* 1993; 17:229-233.

<sup>9</sup>Landsteiner K. Darmverschluss durch eingedicktes Meconium. Pankreatitis. *Zentrabl Allg Pathol.* 1905; 16:903-907.

<sup>10</sup>Garrod AE, Hurley WH. Congenital familial steatorrhoea. *Q J Med.* 1912; 6:242-258.

---

<sup>11</sup>Fanconi G, Uehlinger E, Knauer C. Das coeliakiesyndrom bei angeborener zystischer pankreasfibromatose und bronchiektasien. Wien Med Wschr. 1936; 86:753-756.

<sup>12</sup>Andersen DH. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease. Am J Dis Child. 1938; 56:344-399.

<sup>13</sup>Andersen DH. Cystic fibrosis of the pancreas, vitamin A deficiency and bronchiectasis. J Pediatr. 1939; 15:763-771.

<sup>14</sup>Andersen DH. Celiac syndrome: Dietary therapy for congenital pancreatic deficiency. Am J Dis Child. 1945; 70:100-113.

<sup>15</sup>Andersen DH. Celiac syndrome II: Fecal excretion in congenital pancreatic deficiency at various ages with various diets, with discussion of optimal diet. Am J Dis Child. 1945; 69:221.

<sup>16</sup>Andersen DH. Therapy and prognosis of fibrocystic disease of the pancreas. Pediatrics. 1949; 3:406-417.

<sup>17</sup>Lowe CU, May CD, Reed SC. Fibrosis of the pancreas in infant and children: a statistical study of clinical and hereditary features. Am J Dis Child. 1949; 78:349-374.

<sup>18</sup>Di Sant'Agnes PA et al. Abnormal electrolytic composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas: clinical significance and relationship of the disease. Pediatrics. 1953; 12:549.

<sup>19</sup>Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas using pilocarpine by iontophoresis. Pediatrics. 1959; 23:545-549.

---

<sup>20</sup>Matthews LW, Doershuk CF, Wise M Eddy G, Nudelman H, Spector S. A therapeutic regimen for patients with cystic fibrosis. *J Pediatr.* 1964; 65:558-575.

<sup>21</sup>Hopfer U, Will PC, Deaarnon DG. Cystic fibrosis: A secondary endocrine or target tissue sensitivity problem in epithelial electrolyte transport. In Sturgess JM (ed): *Perspectives in cystic fibrosis: proceedings of the Eighth International Congress on CF Toronto.* Canadian CF Foundation. 1980.

<sup>22</sup>Knowles MR, Gatzky JT, Boucher RC. Increase bioelectric potential difference across respiratory epithelial in cystic fibrosis. *N Eng J Med.* 1981; 305:1489-1495.

<sup>23</sup>Quinton PM. Chloride impermeability in cystic fibrosis. *Nature.* 1983; 301:421-422.

<sup>24</sup>Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, Zielenski J, Lok S, Plavsic N, Chou JL. Identification of the Cystic Fibrosis gene: Cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989; 245:1066-1073.

<sup>25</sup>Rajan S, Saiman L. Pulmonary infections in patients with cystic fibrosis. *Semin Respir Infect.* 2002; 17:47-56.

<sup>26</sup>Kosorok MR, Wei WH, Ferrel RM. The incidence of cystic fibrosis. *Stat Med.* 1996; 15:449-462.

<sup>27</sup>Hamosh A, FitzSimmons SC, Macek M Jr, Knowles MR, Rosenstein BJ, Cutting GR. Comparison of the clinical manifestation of cystic fibrosis in African Americans and Caucasians. *J Pediatr.* 1998; 132:255-9.

<sup>28</sup>Dodge JV, Morison S, Lewis PA, et al: Incidence, population and survival of cystic fibrosis in the UK. *Arch Dis Child.* 1997; 77:493-496.

---

<sup>29</sup>Cystic Fibrosis Foundation National Patient Registry Annual Data Report 2003. Bethesda, Md. Cystic Fibrosis Foundation, 2004.

<sup>30</sup>Elborn JS, Shale DJ, Britton JR. Cystic Fibrosis: current survival and population estimates on the year 2000. *Thorax* 1991; 46: 881-885.

<sup>31</sup>Kulich M, Rosenfeld M, Goss CH, Wilmott R. Improve survival among young patients with cystic fibrosis. *J Pediatr*. 2003; 142:631-636.

<sup>32</sup>O'Connor GT, Quinton HB, Kahn R, et al. Case-mix adjustment for evaluation of mortality in CF. *Pediatr Pulmonol*. 2002; 33:99-105.

<sup>33</sup>GossCH, Rosenfeld M. Update on Cystic Fibrosis epidemiology. *Curr Opin Pulm Med*. 2004; 10:510-514.

<sup>34</sup>Rowe S, Miller S, Sorscher E. Mechanism of disease. Cystic Fibrosis. *N Engl J Med*. 2005; 352:1992-2001.

<sup>35</sup>Jentsch T, Stein V, Weinreich F, Zdebik A. Molecular structure and physiological function of chloride channels. *Physiol Rev*. 2002; 82: 503-568

<sup>36</sup>Nilius B, Droogmans G. Amazing chloride channels: an overview. *Acta Physiol Scand*. 2003; 177:119-147.

<sup>37</sup>Vankeerberghen A, Cuppens H, Casiman J. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an intriguing protein with pleiotropic functions. *J Cystic Fibrosis*. 2002; 1:13-29.

---

<sup>38</sup>Welsh MJ, Ramsey BW, Accurso FJ, Cutting GR. Cystic fibrosis. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, eds. The metabolic and molecular base of inherited disease. 8<sup>th</sup> ed. New York: McGraw-Hill, 2001:5121-5188.

<sup>39</sup>Tsui LC, Durie P. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Hosp Pract*. 1997; 32: 115-134.

<sup>40</sup>Sheppard DN, Welsh MJ. Structure and function of CFTR chloride channel. *Physiol Rev*. 1999; 79:145-166.

<sup>41</sup>Wang S, Yue H, Derin RB, Guggino WB, Li M. Accessory protein facilitated CFTR-CFTR interaction, a molecular mechanism to potentiate the chloride channel activity. *Cell*. 2000; 103:169-179.

<sup>42</sup>Knowles M, Gatzky J, Boucher R. Relative ion permeability of normal and cystic fibrosis nasal epithelium. *J Clin Invest*. 1983; 71:1410-1417.

<sup>43</sup>Kunzelman K. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator and its function in epithelial transport. *Rev Physiol Biochem Pharmacol*. 1999; 137:1-70.

<sup>44</sup>Quinton PM. Cystic fibrosis: a disease in electrolyte transport. *FASEB J*. 1990; 4:2709-17.

<sup>45</sup>Puchelle E, Bajolet O, Abely M. Airway mucus in cystic fibrosis. *Pediatr Respir Rev*. 2002; 3:115-119.

<sup>46</sup>Donaldson S, Poligone E, Stutts M. CFTR regulation of ENaC. *Methods Mol Med*. 2002; 70:343-64.

---

<sup>47</sup>Stutts M, Rossier B, Boucher R. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator inverts protein kinase A-mediated regulation of epithelial sodium channel single channel kinetics. *J Biol Chem.* 1997; 272:14037-40.

<sup>48</sup>Mall M, Hipper A, Greger R, Kunzelman K. Wild type but not deltaF508 CFTR inhibits Na<sup>+</sup> conductance when coexpressed in *Xenopus* oocytes. *FEBS Lett.* 1996; 381:47-52.

<sup>49</sup>Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem BS, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science.* 1989; 245:1059-1065.

<sup>50</sup>Zilenski J, Rozmahel R, Bozon D, et al. Genomic DNA sequence of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Genomics.* 1991; 10:241-248.

<sup>51</sup>Collins FS. Cystic fibrosis: molecular biology and therapeutic implications. *Science.* 1992; 256:774-779.

<sup>52</sup>Cystic Fibrosis Mutation Database. The Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium [www.genet.sickkids.on.ca/cftr/](http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/).

<sup>53</sup>Casals T, Ramos MD, Gimenez J, et al. High heterogeneity for Cystic Fibrosis in Spanish families: 75 mutations account for 90% of chromosomes. *Hum Genet.* 1997; 101:365-370.

<sup>54</sup>Tsui LC. The spectrum of cystic fibrosis mutations. *Trends Genet.* 1992; 8:392-398.

<sup>55</sup>Welsh MJ, Smith AE. Molecular mechanism of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell.* 1993; 73:1251-1254.

---

<sup>56</sup>Zilenski J, Tsui LC. Cystic fibrosis: Genotypic and phenotypic variations. *Annu Rev Genet.* 1995; 29:777-807.

<sup>57</sup>Rowntree R, Haris A. The phenotypic consequences of CFTR mutations. *Annals of Human Genetics.* 2003; 67:471-485.

<sup>58</sup>Jilling T, Kirk KL. The biogenesis, traffic, and function of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Int Rev Cytol.* 1997; 172:193-241.

<sup>59</sup>Cuppens H, Lin W, Jaspers M, Costes B, Teng H, Vankeerberghen A, Jorissen M, Droogmans G, Reynaert I, Goossens M, Nilius B, Cassiman J. Polyvariant mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator genes. The polymorphic (Tg)m locus explains the partial penetrance of the T5 polymorphism as a disease mutation. *J Clin Invest.* 1998; 101:487-496.

<sup>60</sup>Jarvi K, Zielenski J, Wilschanski M, et al. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator and obstructive azoospermia. *Lancet.* 1995; 345:1578.

<sup>61</sup>Pignatti P, 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.

<sup>62</sup>Girodon E, Cazeneuve C, Lebergry F, Chinet T, Costes B, Ghanem N, Martin J, Lemay S, Scheid P, Housset B, Bignon J, Goossens M. CFTR gene mutations in adults with disseminated bronchiectasis. *Eur J Hum Genet.* 1997; 5:149-155.

<sup>63</sup>Miller P, Hamosh A, Macek M, Greenberger P, MacLean J, Walden S, Slavin R, Cutting G. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Am J Hum Genet.* 1996; 59:45-51.

---

<sup>64</sup>Castellani C, Bonizzato A, Mastella G. CFTR mutations and IVS8-5T variant in newborns with hypertrypsinaemia and normal sweat test. *J Med Genet.* 1997; 34:297-301.

<sup>65</sup>Bishop M, Freedman S, Zielenski J, Ahmed N, Dupuis A, Martin S, Ellis L, Shea J, Hopper I, Corey M, Kortan P, Haber G, Ross C, Tzountzouris J, Steele L, Ray P, Tsui L, Durie P. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene and ion channel function in patients with idiopathic pancreatitis. *Hum Genet.* 2005 Dec; 118(3-4):372-81.

<sup>66</sup>Consensus Development Panel. Genetic testing for cystic fibrosis. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement on genetic testing for cystic fibrosis. NIH Consensus Statement. *Arch Intern Med* 1999; 159:1529-39

<sup>67</sup>Heim RA, Sugarman EA, Allitto BA. Improved detection of Cystic Fibrosis mutation in the heterogeneous U.S. population using an expanded, pan-ethnic mutation panel. *Genet Med.* 2001; 3:168-176.

<sup>68</sup>Macri CN, de Gentile AS, Manterola A, Tomezzoli S, Reis FC, Largo Garcia, et al. Epidemiology of cystic fibrosis in Latin America: preliminary communication. *Pediatric Pulmonology.* 1991; 10:249-253.

<sup>69</sup>Paz y Mino C, Perez JC, Burgos R, Davalos MV, Leone PE. The Delta F508 mutation in Ecuador, South America. *Hum Mutat* 1999; 14: 348-350.

<sup>70</sup>Restrepo CM, Pineda L, Rojas Martínez A, Gutierrez CA, Morales A, Gomez C, et al. CFTR mutation in three Latin America countries. *Am J Med Genet.* 2000; 9:277-279.

<sup>71</sup>Estivill X, Bancells C, Ramos C. Geographic distribution and regional origin of 272 cystic fibrosis mutations in European populations. The Biomed. CF Mutation Analysis Consortium. *Hum Mutat.* 1997; 10:135-54

<sup>72</sup>Wright J, Merlo C, Reynolds J, Zeitlin P, Garcia J, Guggino W, Boyle M. Respiratory epithelial gene expression in cystic fibrosis patients with mild and severe lung disease. *Am J Respir Cell Moll Biol.* 2006 Apr 13;[Epub ahead of print]

<sup>73</sup>Giovanni Battista L, Burch LH, Zhou Z, Olsen JC, Boat TE, Spock A, et al. A novel mutation in the cystic fibrosis gene in patients with pulmonary disease but normal sweat chloride concentration. *N Eng J Med.* 1994; 31:974-980.

<sup>74</sup>Kopelman H, Durie P, Gaskin K, et al. Pancreatic fluid secretion and protein hyperconcentration in cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 1985; 312:329-334.

<sup>75</sup>Guy-Crote O, Carrere J, Figarella C. Exocrine pancreatic function in cystic fibrosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1996; 8:755-759.

<sup>76</sup>Baker S, Borowitz D, Baker R. Pancreatic exocrine function in patients with cystic fibrosis. *Curr Gastroenterol Rep.* 2005; 7:227-233.

<sup>77</sup>Borowitz D. Update on the evaluation of pancreatic exocrine status in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med.* 2005; 11:524-527.

<sup>78</sup>DiMagno M, DiMagno E. Chronic pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol.* 2005; 21:544-54.

<sup>79</sup>Shwachman H, Lebenthal E, Khaw KT. Recurrent acute pancreatitis in patients with cystic fibrosis with normal pancreatic enzymes. *Pediatrics.* 1975; 55:86-94.

<sup>80</sup>Modolell I, Alvarez A, Guarner L, De Gracia J, Malagelada J. Gastrointestinal, Liver and Pancreatic Involvement in Adult Patients with Cystic Fibrosis. *Pancreas*. 2001; 22:395-99.

<sup>81</sup>Cohn J, Friedman K, Noone P, et al. Relation between mutation of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. *N Engl J Med*. 1998; 339:653-658.

<sup>82</sup>Sharer N, Schwarz M, Malone G, et al. Mutation of cystic fibrosis gene in patients with chronic pancreatitis. *N Engl J Med*. 1998; 339:645-652.

<sup>83</sup>Cohn J. Reduced CFTR function and the pathobiology of idiopathic pancreatitis. *J Clin Gastroenterol*. 2005; 39:S70-S77.

<sup>84</sup>Button BM, Heine RG, Catto-Smith AG, Phelan PD, Olinsky A. Postural drainage and gastro-oesophageal reflux in infants with cystic fibrosis. *Arc Dis Child*. 1997; 76:148-150.

<sup>85</sup>FitzSimmons SC. The changing epidemiology of cystic fibrosis. *J Pediatr Surg*. 1993; 122:1-9.

<sup>86</sup>Olsen MM, Luck SR, Lloyd-Still J, Raffensperger JG. The spectrum of meconium disease in infancy. *J Pediatr Surg*. 1982; 17:479-481.

<sup>87</sup>Narkewicz MR. Markers of cystic fibrosis-associated liver disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2001; 32:421-422.

<sup>88</sup>Cystic Fibrosis Foundation. Patient Registry 2000 Annual Report. Bethesda, MD. Cystic Fibrosis Foundation 2001.

<sup>89</sup>Westaby D. Liver and biliary disease in cystic fibrosis; in Hodson ME, Geddes DM (eds): cystic fibrosis, ed 2. London, Arnold. 2000. chapt 13.

<sup>90</sup>Cohn JA, Strong TV, Picciotto MR, et al. Localization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in human bile duct epithelial cells. *Gastroenterology*. 1993; 105:1857-1864.

<sup>91</sup>Layden T, Kulik L. Hepatic manifestations of pulmonary disease. *Clinics in Liver Disease*. 2002; 6:969-979.

<sup>92</sup>Oppenheimer EH, Esterly JR, Hepatic changes in young infants with cystic fibrosis: possible relation to focal biliary cirrhosis. *J Pediatr*. 1975; 86:683-689.

<sup>93</sup>Vawter GF, Scwachman H. Cystic fibrosis in adults: an autopsy study. *Pathol Ann*. 1979; 14:357-382.

<sup>94</sup>Dodge JA. Male fertility in cystic fibrosis. *Lancet*. 1995; 346:587-588.

<sup>95</sup>Brugh V, Maduro M, Lamb D. Genetic disorders and infertility. *Urologic Clinics of North America*. 2003; 30:143-152.

<sup>96</sup>Oates R, Amos J,. The genetic basis of congenital bilateral absence of the vas deferens and cystic fibrosis. *J Androl*. 1994; 15:1-8.

<sup>97</sup>Jarzabek K, Zbucka M, Pepinski W, Szamatowicz J, Domitrz J, Janica J, et al. Cystic fibrosis as a cause of infertility. *Reprod Biol*. 2004; 4:119-29.

<sup>98</sup>Hodson M. Vasculitis and arthropathy in cystic fibrosis. *J R Soc Med*. 1999; 85:38-40.

---

<sup>99</sup>Kerem E, Reisman J, Corey M, Canny GJ, Levison H: Prediction of mortality in patients with Cystic Fibrosis. *N Engl J Med.* 1992; 326:1187-1191.

<sup>100</sup>Knowles MR, Friedman KJ, Silverman LM. Genetics, diagnosis and clinical phenotype. In: Yankaskas JR, Knowles MR, (eds.). *Cystic Fibrosis in the Adults.* Philadelphia: Lippcott-Raven.1999; p:27-44.

<sup>101</sup>Orenstein DM, Winnie GB, Altman H. Cystic fibrosis: a 2002 update. *J Pediatr.* 2002; 140:156-164.

<sup>102</sup>Boucher R. New concepts of the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *Eur Resp J.* 2004; 23:146-158.

<sup>103</sup>Gibson R, Burns J, Ramsey B. Pathophysiology and management of pulmonary infection in cystic fibrosis. *Am J Crit Care Med.* 2003; 168:918-951.

<sup>104</sup>Boucher RC. Human airway ion transport (Part 1). *Am J Respir Crit Care Med.* 1994; 150:271-281.

<sup>105</sup>Soferman R. Immunopathophysiologic mechanisms of cystic fibrosis lung disease. *IMAJ.* 2006; 8:44-48.

<sup>106</sup>Coakley R, Grubb B, Paradiso A, et al. Abnormal surface liquid pH regulation by cultured cystic fibrosis bronchial epithelium. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003; 100:16083-16088.

<sup>107</sup>Prince AS. Biofilms, antimicrobial resistance and airway infection. *N Eng J Med.* 2002; 347:1110-11.

---

<sup>108</sup>Jesaitis AJ, Franklin MJ, Berglund D, Sasaki M, Lord CI, Bleazard JB, et al. Compromised host defense on *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: Characterization of neutrophil and biofilm interaction. *J Immunol.* 2003; 171:4329-4339.

<sup>109</sup>Hoiby N. Understanding bacterial biofilms in patients with cystic fibrosis: current and innovative approaches to potential therapies. *J Cyst Fibros.* 2002; 1:249-254.

<sup>110</sup>Worlitzsch D, Tarran R, Ulrico M, Schwab U, Cekicki A, Meyer KC, Birrer P, Bellon G, Jurgen B, Weiss T. Effects of reduced mucus oxygen concentration in airway *Pseudomonas* infection of cystic fibrosis patients. *J Clin Invest.* 2002; 109:317-325.

<sup>111</sup>Starner T, McCray P. Pathogenesis of early lung disease in cystic fibrosis: a window of opportunity to eradicate bacteria. *Ann Intern Med.* 2005; 143:816-822.

<sup>112</sup>Davis P. Cystic fibrosis since 1938. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006; 173:475-482.

<sup>113</sup>Emerson J, Rosenfeld M, McNamara S, Ramsey B, Gibson R. *Pseudomonas aeruginosa* and other predictors of mortality and morbidity in young children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2003; 34:91-100.

<sup>114</sup>Schaedel C, de Monestrol I, Hjelte I, Johannesson M, Kornfalt R, Lindblad A, et al. Predictors of deterioration of lung function in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2002; 33:483-491.

<sup>115</sup>Demko C, Virad P, Davis P. Gender differences in cystic fibrosis: *Pseudomonas aeruginosa* infection. *J Clin Epidemiol.* 1995; 48:1041-1049.

<sup>116</sup>Maiz L, Baranda F, Coll R, Vendrell M, Escribano A, Gadtner S, et al. Normativa del

---

diagnóstico y el tratamiento de la afección respiratoria en la fibrosis quística. Arch Bronconeumol 2001; 37:316-324.

<sup>117</sup>Tizzano E, Gartner S. Genética y fisiopatología de la fibrosis quística. En Tratado de neumología infantil. N Cobos, EG Pérez-Yarza (Eds). 2003; 36(cap):657-672.

<sup>118</sup>Farrel PM, Kosorok MR, Lexova A, et al. Nutritional benefits of neonatal screening for cystic fibrosis. N Eng J Med. 1997; 337:963-969.

<sup>119</sup>Farrel PM, Kosorok MR, Rock MJ, et al. Early diagnosis of cystic fibrosis through neonatal screening prevents severe malnutrition and improves long-term growth. Pediatrics. 2001; 107:1-13.

<sup>120</sup>Merelle ME, Lees CM, Nagelkerke AF, et al. Newborn screening for cystic fibrosis (Cochrane Review). Cochrane Database Syst Rev. 2001; 3:CD001402.

<sup>121</sup>Heeley ME, Woolf DA, Heeley AF. Indirect measurements of sweat electrolyte concentration in the laboratory diagnosis of cystic fibrosis. Arch Dis Child 2000; 82:420-424.

<sup>122</sup>National Committee for Clinical Laboratory Standards: Sweat testing: Sample collection and quantitative analysis-approved guidelines (Document C34-A), 1994.

<sup>123</sup>Richards C, Bradley L, Amos J, Allitto B, Grody W, Maddalena A, McGinnis M, Prior T, Popovich B, Watson M. Standards and guidelines for CFTR mutation testing. Genet Med. 2002; 4(5):379-391.

<sup>124</sup>Palomaki G, Haddow J, Bradley L, FitzSimmons S. Updated assessment of cystic fibrosis mutation frequencies in non-hispanic Caucasians. Genet Med. 2002; 4(2):90-94.

<sup>125</sup>Grody W, Cutting G, Klinger K, Richards C, Watson M, Desnick R. Laboratory standards and guidelines for population-based cystic fibrosis carrier screening. *Genet Med.* 2001; 3:149-154.

<sup>126</sup>Zielenski J. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration.* 2000; 67:117-133.

<sup>127</sup>Kerem E, Corey M, Kerem BS, Rommens J, Markiewicz D, Levison H, Tsui LC, Durie P. The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis. Analysis of the most common mutation (delta F508). *N Engl J Med.* 1990; 323:1517-1522.

<sup>128</sup>The Cystic Fibrosis Genotype-Phenotype Consortium. Correlation between Genotype and Phenotype in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 1993; 329:1308-1313.

<sup>129</sup>Rosenecker J, Eichler I, Kuhn L, Harms HK, von der Hardt H. Genetic determination of diabetes mellitus in patients with cystic fibrosis. Multicenter Cystic Fibrosis Study Group. *J Pediatr.* 1995; 127:441-443.

<sup>130</sup>De Braekeleer M, Allard C, Leblanc JP, Aubin G, Simard F. Is meconium ileus genetically determined or associated with more severe evolution of cystic fibrosis? *J Med Genet.* 1998; 35:262-263.

<sup>131</sup>Wilschanski M, Rivlin J, Cohen S, Augarten A, Blau H, Aviram M, Bentur L, Springer C, Vila Y, Branski D, Kerem B, Kerem E. Clinical and genetic risk factors for cystic fibrosis-related liver disease. *Pediatrics.* 1999; 103:52-57.

<sup>132</sup>Wilschanski M, Zielenski J, Markiewicz D, Tsui LC, Corey M, Levison H, Durie PR. Correlation of sweat chloride concentration with classes of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations. *J Pediatr.* 1995; 127:705-710.

<sup>133</sup>De Braekeler M, Allard C, Leblanc JP, Aubin G, Simard F. Correlation of sweat chloride concentration with genotypes in cystic fibrosis patients in Saguenay Lac-Saint-Jean, Quebec, Canada. *Clin Biochem.* 1998; 31:33-36.

<sup>134</sup>Augarten A, Kerem B-S, Yahav Y, et al. Mild cystic fibrosis and normal or borderline sweat test in patients with the 3849+10kb C→T mutation. *Lancet* 1993; 342:25-26.

<sup>135</sup>Chillon M, Casals T, Mercier B, Bassas L, Lissens W, Silber S, et al. Mutation in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N Eng J Med.* 1995;332: 1475-1480.

<sup>136</sup>Cuppens H, Cassiman J. CFTR mutations and polymorphisms in male infertility. *Int J Androl.* 2004; 27:251-6.

<sup>137</sup>Hoiby N, Frederiksen B, Pressler T. Eradication of early *Pseudomonas aeruginosa* infection. *J Cyst Fibros.* 2005; 4 Suppl 2:49-54.

<sup>138</sup>Kerem E, Kerem B. Genotype-Phenotype correlations in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 1996; 22:387-395.

<sup>139</sup>Soferman R. Immunopathophysiologic mechanisms of cystic fibrosis lung disease. *Isr Med Assoc J.* 2006; 8:44-8.

<sup>140</sup>Hull J, Thomson HA. Contribution of genetic factors other than CFTR to disease severity in cystic fibrosis. *Thorax.* 1998; 53:1018-1021.

<sup>141</sup>Gan KH, Veeze HJ, Van der Ouweland MW, Halley DJ, Scheffer H, Van der Hout A, et al. A cystic fibrosis mutation associated with mild lung disease. *N Engl J Med.* 1995; 333:95-99.

<sup>142</sup>Loubieres Y, Grenet D, Simon-Bouy B, Medioni J, Landais P, Ferec C, Stern M. Association between genetically determined pancreatic status and lung disease in adult cystic fibrosis patients. *Chest*. 2002; 121: 73-80.

<sup>143</sup>Selvadurai H, McKay K, Blimkie C, Cooper P, Mellis C, Aspern P. The relationship between genotype and exercise tolerance in children with cystic fibrosis. *Am J Respir and Crit Care Med*. 2002; 165:762-765.

<sup>144</sup>McKone EF, Emerson SS, Edwards KL, Aitken ML. Effect of genotype on phenotype and mortality in cystic fibrosis: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2003; 361: 1671-1676.

<sup>145</sup>Mahadeva R, Lomas D. Secondary genetic factors in cystic fibrosis lung disease. *Thorax*. 2000; 55:446.

<sup>146</sup>Garred P, Presler T, Madsen H. Association of mannose-binding lectin gene heterogeneity with severity of lung disease and survival in cystic fibrosis. *J Clin Invest*. 1999; 104:431-437.

<sup>147</sup>Arkwright P, Laurie S, Super M. TGF-beta(1) genotype and accelerated decline in lung function of patients with cystic fibrosis. *Thorax*. 2000 Jun; 55:459-462.

<sup>148</sup>Aron Y, Polla B, Bienvenu T, Dall'ava J, Dusser D, Hubert D. HLA class II polymorphism in cystic fibrosis. A possible modifier of pulmonary phenotype. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999; 159:1464-1468.

<sup>149</sup>Mahadeva R, Sharples L, Ross-Russel R, Webb A, Bilton D, Lomas D. Association of alpha(1)-antichymotrypsin deficiency with milder lung disease in patients with cystic fibrosis. *Thorax*. 2001; 56:53-58.

<sup>150</sup>Frangolias D, Ruan J, Wilcox P, Davidson A, Wong L, Berthiaume Y, Hennessey R, Freitag A, Pedder L, Corey M, Sweezey N, Zielenski J, Tullis E, Sandford A. Alpha-1 antitrypsin deficiency alleles in cystic fibrosis lung disease. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2003; 29:390-396.

<sup>151</sup>Gadsby D, Vergani P, Csanady L. The ABC protein turned chloride channel whose failure causes cystic fibrosis. *Nature.* 2006.23; 440:477-83.

<sup>152</sup>Cystic Fibrosis Foundation. Report of the 1995 patient registry. Bethesda, Maryland. Cystic Fibrosis Foundation, 1996.

<sup>153</sup>Hellerstein H. Cystic fibrosis of the pancreas in an adult. *Postgrad Med J.* 1946; 42:616-617.

<sup>154</sup>Cystic Fibrosis Foundation. Patient registry 1994 annual data report. Bethesda, MD: Cystic Fibrosis Foundation, 1995.

<sup>155</sup>Widerman E, Millner L, Sexauer W, Fiel S. Health status and sociodemographic characteristics of adults receiving a cystic fibrosis diagnosis after age 18 years. *Chest.* 2000; 118:427433.

<sup>156</sup>Gilljam M, Ellis L, Corey M, Zielenski J. Clinical Manifestations of Cystic fibrosis among patients with diagnosis in adulthood. *Chest* 2004; 126:1215-1224.

<sup>157</sup>Román A, De Gracia J, Vidal R, Ferrer J, Algueró C. Positivización del test del sudor tras el inicio de afectación pancreática en paciente adulto con fibrosis quística. *Arch Bronconeumol* 1988; 24:45-6.

<sup>158</sup>Rosenstein B. Making and confirming the diagnosis. En: Orestein D, Stern RC, directores. Treatment of the hospitalized cystic fibrosis patient. Lung Biology in Health and Disease. Nueva York: Marcel Dekker, Inc; 1998; 109:1-42.

<sup>159</sup>Atlas A, Orenstein S, Orenstein D. Pancreatitis in young children with cystic fibrosis. J Pediatr. 1992; 120:756-59.

<sup>160</sup>Mc Closkey M, Redmond A, Hill A, Elborn J. Clinical features associated with a delayed diagnosis of cystic fibrosis. Respiration. 2000; 67:402-407.

<sup>161</sup>Olivier K. The natural history of nontuberculous mycobacteria in patients with cystic fibrosis. Paediatr Resp Rev. 2004; 5:S213-S216.

<sup>162</sup>Di Sant'Agnes PA, Davis PB. Cystic fibrosis in adult. 75 cases and review of 232 cases in literature. Am J Med. 1979; 66:121-32

<sup>163</sup>Cystic Fibrosis Foundation Center Committee. Evaluation and monitoring in cystic fibrosis centers. AJDC. 1990; 144:1311-1312.

<sup>164</sup>Highsmith WE, Burch LH, Zhou Z, Olsen JC, Boat TE, Spock A, et al. A novel mutation in the Cystic Fibrosis gen in patients with pulmonary disease but normal sweat chloride concentrations. N Engl J Med. 1994; 331:974-80.

<sup>165</sup>Thomas Hofmann, Oliver Bohmër, Gerd Hüls, Hans Terbrak, Peter Bittner, Volker Klingmüller, Ewald Heerd, and Hermann Lindemann. Conventional and modified nasal potencial-difference measurement in cystic fibrosis. Am. J Respir Crit Care Med 1997; 155; 1908-1913.

<sup>166</sup>Alton EW, Hay JG, Munro C, Geddes DM. Measurement of nasal potential difference in adult Cystic Fibrosis, Young's syndrome and bronchiectasis. *Thorax* 1987; 42:815-17.

<sup>167</sup>Schechter MS, Shelton BJ, et al. The association of socioeconomic status with outcomes in cystic fibrosis patients in the United States. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001; 163:1331-7.

<sup>168</sup>Stern RC, Doershuk CF, Drumm ML. 3849+10 kb C-->T mutation and disease severity in cystic fibrosis. *Lancet*. 1995; 346:274-6.

<sup>169</sup>Highsmith WE Jr, Burch LH, Zhou Z, et al. Identification of a splice site mutation (2789 +5 G>A) associated with small amounts of normal CFTR mRNA and mild cystic fibrosis. *Hum Mutat*. 1997; 9:332-8.

<sup>170</sup>Gilfillan A, Warner JP, Kirk JM, et al. P67L: a cystic fibrosis allele with mild effects found at high frequency in the Scottish population. *J Med Genet*. 1998; 35:122-125.

<sup>171</sup>Stutts MJ, Boucher RC. Cystic fibrosis gene and functions of CFTR. In *Cystic Fibrosis in Adults*. Edited by Yankaska JR, Knowles MR. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers. 1999; pp:3-25.

<sup>172</sup>Kerem E, Nissim-Rafinia M, Argaman Z, et al. A missense cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mutation with variable phenotype. *Pediatrics*. 1997; 100(3):E5

<sup>173</sup>Fanen P, Clain J, Labarthe R, et al. Structure-function analysis of a double-mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein occurring in disorders related to cystic fibrosis. *FEBS* 1999; 452:371-374.

## Fibrosis quística del adulto: estudio de 111 pacientes



Javier de Gracia<sup>a</sup>, Antonio Álvarez<sup>a</sup>, Fernando Mata<sup>a</sup>, Luisa Guarnier<sup>b</sup>, Montserrat Vendrell<sup>c</sup>, Silvia Gadtner<sup>d</sup> y Nicolás Cobos<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Servei de Pneumologia. Unitat de Fibrosi Quística. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.

<sup>b</sup>Servei de Digestiu. Unitat de Fibrosi Quística. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona.

<sup>c</sup>Servei de Pneumologia. Hospital Josep Trueta. Girona. España.

<sup>d</sup>Servei de Pediatria. Unitat de Fibrosi Quística. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona. España.

**FUNDAMENTO:** Establecer las características clínicas y genéticas de los pacientes diagnosticados de fibrosis quística (FQ) en la edad adulta.

**PACIENTES Y MÉTODO:** Estudio retrospectivo, observacional, descriptivo y comparativo de pacientes adultos afectados de FQ según edad del diagnóstico. Se incluyó en el estudio a todos los pacientes adultos (mayores de 16 años) controlados en una unidad de fibrosis quística hasta noviembre de 2001. Los pacientes con diagnóstico de FQ en la infancia (edad < 16 años) se incluyeron en el grupo A, y los diagnosticados en la edad adulta (edad ≥ 16 años) en el grupo B. Se valoraron parámetros antropométricos, enfermedades digestivas y respiratorias, estudio radiológico de tórax y abdomen, bacteriológico de esputo, de función respiratoria y estudio genético. La comparación entre grupos se realizó mediante la prueba de la  $\chi^2$  para valores cualitativos y de la t de Student para los cuantitativos. Una  $p < 0,05$  de dos colas fue considerada significativa.

**RESULTADOS:** Se incluyó en el estudio a los 111 pacientes adultos (60 mujeres; edad media: 28 años; intervalo: 16-69 años) de los 245 (45,3%) pacientes controlados en la unidad de FQ. El grupo A lo formaron 61 pacientes (32 mujeres; edad media: 23 años) y el grupo B, 50 pacientes (28 mujeres; edad media: 32 años). En la comparación entre ambos grupos se encontró que los pacientes del grupo B presentaban una edad media superior, mayor peso, menor incidencia de manifestaciones digestivas iniciales, de insuficiencia pancreática, de malnutrición, de enfermedad hepática, de colonización bronquial crónica por *Pseudomonas aeruginosa*, de ingresos hospitalarios, de trasplantes pulmonares y de fallecimientos por FQ. Por el contrario, presentaron mayor incidencia de pancreatitis y de aspergilosis broncopulmonar alérgica al diagnóstico y una función pulmonar más conservada. La prueba del sudor fue negativa en 4 pacientes del grupo B, frente a uno del grupo A. El estudio genético detectó 31 mutaciones genéticas diferentes, de las que 10 sólo se observaron en el grupo B.

**CONCLUSIONES:** La FQ es una enfermedad también de diagnóstico en la edad adulta. Los pacientes diagnosticados en la edad adulta tienen una menor incidencia de afectación digestiva, mejor funcionalismo pulmonar y diferentes mutaciones genéticas; la prueba del sudor puede ser negativa o indeterminada y el pronóstico, más favorable.

*Palabras clave:* Fibrosis quística. Bronquiectasias. Aspergilosis broncopulmonar alérgica. Pancreatitis. *Pseudomonas aeruginosa*. *Staphylococcus aureus*. Prueba del sudor.

### Cystic fibrosis in adults: study of 111 patients

**BACKGROUND:** Our goal was to establish the clinical and genetic characteristics of patients diagnosed with adult-onset cystic fibrosis (CF).

**PATIENTS AND METHOD:** This was a retrospective observational descriptive comparative study of CF patients according to their age at the time of diagnosis. All adult patients (> 16 years old) attended in our CF Unit until November 2001 were included in the study. Those patients diagnosed of CF at their childhood (< 16 years old) were categorized as Group A patients, and those diagnosed in adulthood (≥ 16 years old) were categorized as group B patients. Anthropometric parameters, respiratory and digestive clinical abnormalities, chest and abdominal radiological exams, sputum bacteriology, respiratory function and genetic tests were evaluated. Statistical analysis between groups was performed by comparing chi square test for qualitative values and the Student t test for quantitative values.

**RESULTS:** One hundred and eleven patients (60 women, mean age 28, range 16-69 years) out of a total sample of 245 (45.3%) patients attended at the CF unit were enrolled in the study. Group A included 61 patients (32 women; mean age 23) and group B included 50 patients (28 women; mean age 32). The comparative study between both groups showed that patients in group B were older, had a higher weight and less incidence of initial digestive abnormalities, pancreatic insufficiency, malnutrition, hepatic disease, chronic bronchial colonization by *Pseudomonas aeruginosa*, admissions, lung transplantation and deaths due to CF. On the contrary, these patients had a higher incidence of pancreatitis, allergic bronchopulmonary aspergillosis at diagnosis and better respiratory function test parameters. The sweat test was negative in 4 patients of group B and 1 of group A. The genetic study showed 31 different CF mutations, from which only 10 were observed in group B.

**CONCLUSIONS:** CF can also be diagnosed in adult age. Patients diagnosed in adulthood have less digestive abnormalities, better lung function and different genetic mutations. The sweat test can be negative or undetermined. These patients also display a better prognosis.

*Key words:* Cystic fibrosis. Bronchiectasis. Allergic bronchopulmonary aspergillosis. Pancreatitis. *Pseudomonas aeruginosa*. *Staphylococcus aureus*. Sweat test.

Correspondencia: Dr. Javier de Gracia.  
Roger de Flor, 235, bajos 2.ª.  
08025 Barcelona. España.  
Correo electrónico: jgracia@hg.vhebron.es

Recibido el 14-5-2002; aceptado para su publicación el 3-9-2002.

La fibrosis quística (FQ) es la enfermedad hereditaria autosómica recesiva grave más frecuente en la raza blanca, con una incidencia estimada de uno de cada 5.352 niños nacidos a término en España<sup>1</sup>. En 1989 se identificó el gen responsable de la FQ<sup>2</sup>, que se localiza en el brazo largo del cromosoma 7, que codifica una proteína de 1.480 aminoácidos llamada reguladora de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (RTFQ). Esta proteína se comporta como un verdadero canal del cloro regulado por AMPc; su alteración afecta a las células de origen epitelial y puede producir enfermedad en los senos paranasales, pulmones, tracto gastrointestinal, páncreas, sistema hepatobiliar, glándulas sudoríparas y aparato genital masculino<sup>3-6</sup>. Aunque al nacer todos los pacientes con FQ tienen los pulmones normales, la afectación progresiva sobre las vías respiratorias es la causa de muerte, por insuficiencia respiratoria, en el 95% de los casos<sup>7</sup>.

Durante muchos años se ha considerado a la FQ una enfermedad exclusiva de la edad pediátrica, ya que su diagnóstico se hacía durante los primeros años de vida y los pacientes fallecían antes de llegar a la edad adulta. En la actualidad, la supervivencia de los pacientes diagnosticados en la infancia ha mejorado considerablemente<sup>8</sup>. Se calcula que los pacientes nacidos en la década de los años 90 y diagnosticados en la infancia tendrán una expectativa de vida de 40 años<sup>9</sup>. Por otra parte, el mejor conocimiento de las bases genéticas de la enfermedad ha permitido saber que existen formas fenotípicas con poca o nula traducción clínica durante la infancia, que van a manifestarse en la edad adulta, momento en el que debe realizarse el diagnóstico. Conocer las características clínicas de estas formas de presentación es importante para establecer los criterios clínicos de sospecha que deben conducir a aplicar los métodos de diagnóstico de FQ en pacientes adultos.

El objetivo del estudio es establecer las características clínicas y genéticas de pacientes diagnosticados de FQ en la edad adulta y los criterios clínicos de sospecha de enfermedad en una población adulta

de referencia de pacientes afectados de esta enfermedad en España.

**Pacientes y método**

Se realizó un estudio retrospectivo observacional, descriptivo y comparativo de todos los pacientes adultos tratados en la Unidad de Fibrosis Quística de nuestro hospital desde 1984 hasta noviembre de 2001. Se analizaron las características clínicas, demográficas, antropométricas, bacteriológicas y genéticas de cada individuo. Los pacientes fueron divididos para su estudio en dos grupos: grupo A, formado por pacientes diagnosticados de FQ en la edad pediátrica (< 16 años), y grupo B, constituido por pacientes diagnosticados en la edad adulta (≥ 16 años). A todos los pacientes se les realizaron en el momento del diagnóstico, en cada control médico (cada 2-3 meses) y siempre que fue necesario, una evaluación clínica (con referencia especial a los signos y síntomas respiratorios y digestivos), bacteriología de esputo y pruebas de función respiratoria (espirometría forzada). Se llevó a cabo estudio analítico de sangre (orina y heces, si necesario) en el momento del diagnóstico, cada 6 meses y siempre que fue necesario durante el período de seguimiento. Se efectuaron una gammagrafía pulmonar de perfusión (sustituida por la TC de tórax y abdomen a partir de 1990) y una ecografía abdominal en el momento del diagnóstico, con periodicidad alterna bianual y siempre que fue necesario.

*Diagnóstico de fibrosis quística*

El diagnóstico de FQ se estableció ante la presencia de al menos un criterio clínico (enfermedad pulmonar o digestiva compatible, historia familiar de FQ en hermanos o primos, ausencia bilateral de conductos deferentes [ABCD] o un cribado neonatal positivo) y una prueba de laboratorio que evidenciara disfunción de la proteína RTFQ (concentración de ion cloruro en el sudor igual o superior a 60 mEq/l al menos dos ocasiones, o detección de dos mutaciones del gen de la FQ)<sup>10,11</sup>.

*Prueba del sudor.* La muestra de sudor se realizó mediante el sistema Macroduct<sup>12</sup>. Se consideró diagnóstica una concentración de ion cloruro en sudor igual o superior a 60 mEq/l en dos ocasiones diferentes.

*Estudio genético.* A todos los pacientes se les realizó un estudio genético que incluía 32 mutaciones en cada muestra mediante Genotyper<sup>®</sup> Cystic Fibrosis Diagnosis System, PE Applied Biosystem, CA, EE.UU.). En los casos en que el estudio fue negativo se llevó a cabo, siempre que fue posible, un estudio genético ampliado en el Departamento de Genética Molecular del IRO (Institut de Recerca Oncològica), del Hospital Duran y Reynals (Barcelona), que incluye el análisis de las regiones codificantes y anexas del gen *RTFQ*, mediante técnicas de DGGE (*denaturing gradient gel electrophoresis*) y SSCA (*single strand conformation analysis*), Genephor Amersham Pharmacia Biotech, Buckinghamshire (England), con un nivel de detección del 98% en la población española y los marcadores intragénicos IVS8-6(T), IVS8CA e IVS57bTA.

*Criterios diagnósticos de enfermedades asociadas*

La insuficiencia pancreática se evaluó por el estado nutricional, número y características de las evacuaciones, valores de grasa o elastasa fecal, e imagen del páncreas por TC o RM<sup>13</sup>. El estado nutricional fue determinado según el sexo, la edad (adecuado crecimiento/desarrollo) y el índice de masa corporal: peso (kg)/altura<sup>2</sup> (m).

El diagnóstico de aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA) se basó en la combinación de criterios clínicos (asma, infiltrados pulmonares cambiantes, *Aspergillus fumigatus* en esputo y la respuesta al tratamiento con esteroides orales) e inmunológicos (prueba cutánea positiva para *A. fumigatus*, IgE sérica total mayor de 1.000 kU/l, IgE específica y precipitinas séricas positivas)<sup>14</sup>.

*Estudio de la función respiratoria*

Los parámetros de función respiratoria estudiados fueron: capacidad vital forzada (CVF), volumen espiratorio forzado en el primer segundo (VEMS) y rela-

TABLA 1

**Características clínicas, bacteriológicas y de función pulmonar**

	Grupo A (n = 61)	Grupo B (n = 50)	p
Sexo (V/M)	29/32	22/28	NS
Edad de diagnóstico (media [DE]), años	5 (4)	32 (14)	0,0001
Edad actual (media [DE]), años	23 (5)	36 (13)	0,0001
Concentración ion cloruro en sudor (media [DE]), mEq/l	101 (25)	87(16)	0,001
Peso (media [DE]), kg	50 (10)	65 (12)	0,0001
Altura (media [DE]), cm	162 (9)	165 (17)	NS
IMC (media [DE]), kg/m <sup>2</sup>	19 (3)	23 (3)	0,0001
Malnutrición (< 17 kg/m <sup>2</sup> ) (n [%])	12 (20)	2 (4)	0,03
Manifestaciones digestivas iniciales (n [%])	41(68)	7 (14)	0,0001
Insuficiencia pancreática (n [%])	52 (85)	7 (14)	0,0001
Pancreatitis (n [%])	0	4 (8)	0,02
Diabetes mellitus (n [%])	15 (25)	2 (4)	0,004
Enfermedad hepática (n [%])*	13 (21)	2 (4)	0,01
Colelitiasis (n [%])	7 (12)	6 (12)	NS
Manifestaciones respiratorias iniciales (n [%])	38 (63)	40 (80)	0,04
ABPA (n [%])	13 (21)	11 (22)	NS
ABPA inicial (n [%])	0	4 (8)	0,02
Colonización bronquial por <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n [%])	43 (70)	25 (50)	0,02
Colonización bronquial por <i>Staphylococcus aureus</i> (n [%])	32 (52)	17 (34)	NS
CVF (% valores teóricos [DE])	65 (27)	83 (19)	0,0001
VEMS (% valores teóricos [DE])	55 (27)	79 (24)	0,0001
Pacientes con ingresos hospitalarios (n [%])	34 (56)	16 (32)	0,01
N.º de ingresos hospitalarios (media [DE])	1,2 (1)	0,5 (0,7)	0,002
Trasplante pulmonar (n [%])	10 (17)	2 (4)	0,04
Muertes por fibrosis quística (n [%])	12 (20)	0	0,001

\*Grupo A: diagnóstico en la infancia; grupo B: diagnóstico en la edad adulta; V: varón; M: mujer; DE: desviación estándar; IMC: índice de masa corporal; ABPA: aspergilosis broncopulmonar alérgica; CVF: capacidad vital forzada; VEMS: volumen espiratorio forzado en el primer segundo. \*Presencia de transaminasas elevadas o de cirrosis hepática.

TABLA 2

**Criterios clínicos de sospecha de fibrosis quística en pacientes adultos**

Criterios clínicos de sospecha	N.º de casos
Bronquiectasias de etiología desconocida con colonización bronquial crónica por <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	18
Bronquiectasias de etiología desconocida con colonización bronquial crónica diferente de <i>P. aeruginosa</i> ( <i>Staphylococcus aureus</i> u otras)	13
Neumonías de repetición	5
Aspergilosis broncopulmonar alérgica	4
Pancreatitis recidivante	4
Azoospermia	4
Familiar afectado de fibrosis quística	2

ción VEMS/CVF x 100. Los valores de referencia para la espirometría forzada se tomaron de Roca et al<sup>15</sup>.

*Estudio estadístico*

El estudio de variables cualitativas se realizó mediante la prueba de la  $\chi^2$  o la prueba exacta de Fisher cuando fue necesario. El estudio de variables cuantitativas se realizó mediante la prueba de la t de Student para datos no apareados. Una p < 0,05 de dos colas fue considerada significativa.

**Resultados**

De los 245 pacientes afectados de FQ controlados en la Unidad de Fibrosis Quística de nuestro centro, se incluyó a 111 pacientes (45,3%) que en el momento del estudio tenían más de 16 años de edad (60 mujeres; edad media [DE]: 28 (11) años; extremos: 16-69 años). De éstos, 50 (28 mujeres; edad media: 36 (14) años; extremos: 16-67 años) pacientes fueron diagnosticados en la edad adulta (grupo B), y 61 (32 mujeres; edad media: 23 (5) años; extremos: 16-33) en la edad pediátrica (grupo A) (tabla 1). Los pacientes diagnosticados en la edad adulta representaron el 20% de todos los pacientes con FQ y el 45% del total de pacientes adultos.

El diagnóstico de FQ se realizó por una prueba del sudor positiva (concentraciones de ion cloruro en sudor de 60 mEq/l o superiores en dos ocasiones diferentes<sup>16</sup>) en 106 de los 111 pacientes. En los 5 pacientes restantes (uno del grupo A y 4 del grupo B), con prueba del sudor negativa, el diagnóstico se estableció al detectarse los dos mutaciones del gen del RTFQ.

Las características clínicas, bacteriológicas y de función pulmonar se exponen en la tabla 2. Los pacientes diagnosticados en la edad adulta (grupo B) presentaron, con respecto al grupo A, diferencias estadísticamente significativas en relación con: edad media superior en el momento del estudio; manifestaciones respiratorias predominantes; parámetros antropométricos mejores; menor incidencia de manifestaciones digestivas, malnutrición, insuficiencia pancreática y de enfermedad hepática, y mayor incidencia de pancreatitis. Además, en los pacientes del grupo B se observó una incidencia menor de colonización bronquial crónica por *Pseudomonas aeruginosa*, paráme-

tros de función pulmonar más conservados (CVF, VEMS) y un número menor de ingresos hospitalarios, de indicaciones de trasplante pulmonar y de fallecimientos relacionados con la FQ.

Las características clínicas de los pacientes diagnosticados en la edad adulta en el momento del diagnóstico se recogen en la tabla 2. Las bronquiectasias de etiología desconocida con colonización bronquial crónica por *P. aeruginosa* o *Staphylococcus aureus*, la ABPA y la pancreatitis recurrentes fueron las enfermedades asociadas más frecuentes.

De los 222 cromosomas estudiados en los 111 pacientes se detectaron 172 mutaciones del RTFQ, las cuales se agrupaban en 31 mutaciones diferentes (tabla 3). Las mutaciones detectadas con mayor frecuencia fueron la F508del y la G542X, que se presentaron en el 40,5 y el 5,8% de los cromosomas, respectivamente. La comparación entre ambos grupos de estudio puso de manifiesto que ningún paciente del grupo B fue homocigoto para la mutación F508del frente a 20 (33%) de los pacientes del grupo A ( $p < 0,001$ ). En el grupo A se detectaron 21 mutaciones diferentes y en el grupo B, 17; siete de las mutaciones se hallaron en ambos grupos, 15 sólo en el grupo A, y 10 únicamente en el grupo B. Una u otra de las 10 mutaciones detectadas sólo en pacientes del grupo B se observaron en 23 de los 171 cromosomas identificados en este grupo y en todos los casos se acompañaron de función pancreática normal. En la tabla 3 se recogen otros resultados observados en el estudio genético.

Las características clínicas de los pacientes diagnosticados en la edad adulta en el momento de su diagnóstico incluyeron la presencia de bronquiectasias de etiología no filiada en 31 casos, colonización bronquial crónica por *P. aeruginosa* en 18 casos, neumonías de repetición en 5 casos, ABPA en 4 casos, pancreatitis recurrente en otros 4, ausencia bilateral de conductos deferentes también en 4 casos e historia familiar en otros dos casos.

## Discusión

El estudio muestra las características clínicas y genéticas de pacientes afectados de FQ cuyo diagnóstico se realizó en la edad adulta y los compara con pacientes adultos diagnosticados de la enfermedad durante la infancia. Los resultados ponen de manifiesto que los pacientes diagnosticados en la edad adulta presentan características diferentes con relación al par de mutaciones del gen de la FQ y a las manifestaciones clínicas, que en general se acompañan de suficiencia pancreática y una alteración pulmonar menos grave que la de los pacientes diagnosticados de la enfermedad en la infancia.

TABLA 3

### Mutaciones del gen *RTFQ* detectadas en los 222 cromosomas de los 111 pacientes adultos con fibrosis quística estudiados

Mutaciones	N.º de mutaciones (n = 222)	Mutaciones en el grupo A (n = 122)*	Mutaciones en el grupo B (n = 100)*
F508del**	90 (40,5)	65 (53,2)	25 (25) <sup>a</sup>
G542X	13 (5,8)	7 (5,7)	6 (6)
2789 + 5G→A	11 (4,9)	2 (1,6)	9 (9) <sup>b</sup>
L206W	6 (2,7)	2 (1,6)	4 (4)
R334W	5 (2,2)	0	5 (5) <sup>c</sup>
Mutaciones con frecuencia < 1,5%	47 (21,1)	26 (21,3)	21 (21)
Desconocidas	50 (22,5)	20 (16,3)	30 (30) <sup>d</sup>

Los datos se expresan como número con el porcentaje entre paréntesis.

\*Porcentaje en relación con el número total de cromosomas estudiados; \*\*homocigotos para F508del en el grupo A: 20 (32,7%) frente a 0 en el grupo B (prueba de la  $\chi^2$ ,  $p < 0,001$ ). <sup>a</sup> $p < 0,0001$  (prueba de la  $\chi^2$ ); <sup>b</sup> $p < 0,03$  (prueba de la  $\chi^2$  aplicando la fórmula exacta de Fisher); <sup>c</sup> $p < 0,03$  (prueba de la  $\chi^2$ ).

Estos datos contrastan con algunas publicaciones previas, en las que los pacientes diagnosticados en la edad adulta presentaban estadios más avanzados de la enfermedad, con mayor repercusión de la función respiratoria, o no presentaban diferencias en relación con los pacientes diagnosticados en los primeros años de vida<sup>17</sup>. Esta aparente contradicción puede explicarse por el hecho de que entre de los años 1970-1980, cuando todavía no se había descubierto el gen de la FQ, la mayoría de los pacientes diagnosticados presentaban manifestaciones clínicas, respiratorias y digestivas evidentes desde los primeros años de vida. En estos pacientes, un retraso en el diagnóstico impedía que pudieran beneficiarse de su inclusión en las unidades pediátricas de FQ, donde la aplicación de protocolos multidisciplinarios de tratamiento y control de la enfermedad ha demostrado ser uno de los factores determinantes en la mejora de la supervivencia y calidad de vida actual de los pacientes<sup>18</sup>. Sin embargo, el descubrimiento en 1989 del gen responsable de la FQ ha permitido ampliar de manera considerable el conocimiento sobre la patogenia y las alteraciones fisiopatológicas que se tenían de esta enfermedad. Así, hoy sabemos que la alteración de este gen no se debe a una única mutación, sino que, por el contrario, se han identificado más de 900 mutaciones y 100 variantes y polimorfismos diferentes<sup>19</sup>, y que existe una gran variabilidad respecto de la frecuencia de presentación de las mutaciones más comunes en relación con el origen étnico y geográfico de la población estudiada, como es el caso de la mutación F508del, que representa el 87% de las mutaciones detectadas en Dinamarca, el 26% de las encontradas en Argelia<sup>20</sup> y el 40-50% en poblaciones hispanas de EE.UU.<sup>21,22</sup> y de diferentes países de Latinoamérica<sup>23-25</sup>. En España se han identificado 75 mutaciones diferentes, que representarían el 90% de los cromosomas estudiados, pero sólo 10 de éstas se presentarían con una frecuencia superior al 1%.<sup>26</sup>

Por otra parte, entre las mutaciones detectadas del gen *RTFQ*, existen hasta 6 me-

canismos moleculares distintos en la producción anormal de la proteína RTFQ que dan lugar a una gran variabilidad en las alteraciones fisiopatológicas de los órganos afectados. Esta heterogeneidad repercute de manera directa en el grado de afectación o integridad de los órganos relacionados con la proteína RTFQ y, en consecuencia, también en la expresión fenotípica de la enfermedad<sup>27,28</sup>. La relación más clara entre los mecanismos moleculares de las mutaciones que producen RTFQ anormal y su fenotipo ha podido ser establecida con la afectación pancreática. Así, la mayor parte de las mutaciones que hacen que no se produzca la proteína RTFQ (mutaciones de clase I, como la G542X), que no llegue a la membrana epitelial de las células (mutaciones de la clase II, como la F508del) o que den lugar a un descenso en la estabilidad de la proteína (mutaciones de la clase VI) se acompañan de insuficiencia pancreática y de manifestaciones clínicas graves. Por el contrario, las mutaciones que producen RTFQ pero en las que está alterada su regulación (mutaciones de clase III), su conducción (mutaciones de clase IV) o se sintetiza en cantidad escasa (mutación de clase V) pueden acompañarse de insuficiencia o suficiencia pancreática asociándose, en este último caso, a una evolución clínica mucho más leve<sup>29</sup>. Clásicamente se reconoce que sólo el 12-18% de los casos de FQ se asocian a suficiencia pancreática. Sin embargo, nuestro estudio pone de manifiesto que esto debe de referirse exclusivamente a los enfermos diagnosticados durante la infancia, ya que entre los pacientes diagnosticados en la edad adulta el 86% se acompañó de suficiencia pancreática, frente a tan sólo un 15% entre los diagnosticados durante la infancia (tabla 1), lo cual, además, se correspondió con la presencia de diferencias en el tipo y la frecuencia de las mutaciones detectadas entre ambas poblaciones y en las características clínicas observadas.

Todo ello permite explicar, al menos en parte, la gran variabilidad en la expresión clínica debido a las diferencias genotípi-

cas y la afectación multiorgánica de éstas. Así, las mutaciones que se acompañan de suficiencia pancreática suelen tener escasas manifestaciones digestivas, los valores de ion cloruro son más bajos en la prueba del sudor, las manifestaciones respiratorias pueden pasar inadvertidas durante los primeros años de la vida y, en consecuencia, el diagnóstico, cuando se realiza, suele hacerse a edades más avanzadas.

En nuestra serie, la mayoría de los pacientes diagnosticados en la infancia presentaron insuficiencia pancreática, manifestaciones clínicas gastrointestinales y respiratorias en el momento del diagnóstico y una evolución peor de la función pulmonar. Por el contrario, en los pacientes diagnosticados en la edad adulta, la mayoría tenía suficiencia pancreática y predominó la enfermedad respiratoria en el momento del diagnóstico, siendo la presencia de bronquiectasias, la colonización bronquial por *P. aeruginosa* o *S. aureus* y las neumonías de repetición las formas clínicas de presentación más frecuentes. Sin embargo, llaman la atención otras dos formas de presentación, como son la ABPA y la pancreatitis recurrente en 4 casos, respectivamente, y aunque ambas enfermedades se han descrito como complicaciones en pacientes con FQ, con una incidencia de entre el 2 y el 15% para la ABPA y del 1% para la pancreatitis, excepcionalmente son el motivo del diagnóstico de la enfermedad en la infancia<sup>30,31</sup>.

Así pues, la FQ debe ser también considerada una enfermedad de diagnóstico en la edad adulta. La prueba del sudor debe dejar de ser de uso exclusivo de la edad pediátrica e incorporarse a las técnicas de diagnóstico habituales de pacientes adultos que presenten enfermedades, tales como bronquiectasias con o sin colonización bronquial crónica por *P. aeruginosa* o *S. aureus*, neumonías de repetición, ABPA o pancreatitis aguda recurrente, en ausencia de otras causas que pudieran explicarlas. Sin embargo, como ocurrió en 5 de nuestros pacientes (4 de diagnóstico en la edad adulta y uno de diagnóstico en la edad pediátrica), la prueba del sudor puede no ser positiva<sup>32</sup>, por lo que otras técnicas de diagnóstico, como el estudio del potencial nasal diferencial<sup>33,34</sup>, deben considerarse de manera especial en aquellos casos con valores indeterminados de concentración de cloro en sudor (40-60 mEq/l).

Un dato que puede resultar controvertido en nuestra serie es el porcentaje de pacientes diagnosticados de FQ en la edad adulta (50/245; 20%) con relación al número total de pacientes controlados en nuestra unidad, que es sensiblemente superior al 4% de las formas atípicas de FQ con diagnóstico en la edad adulta que

se recogen en el Registro de la Fundación Americana de Fibrosis Quística de 1997<sup>35</sup>. Aunque es muy difícil establecer comparaciones entre ambas series, por las diferencias tan evidentes (más de 20.000 pacientes en el registro americano frente a 245 pacientes de nuestra unidad), creemos que la incidencia que hemos encontrado se acerca algo más a la realidad que la derivada del registro americano, una vez realizados algunos ajustes con relación a las poblaciones de referencia. El 20% de nuestra serie se convertiría en un 16% (57/344) si a la población de pacientes con FQ de nuestra unidad (adultos y edad pediátrica) se sumaran los pacientes controlados en las otras dos unidades de FQ reconocidas en nuestra autonomía, que son unidades pediátricas. Por el contrario, el 4% de los diagnósticos realizados en la edad adulta recogido en el registro americano se convierte en el 7% cuando se analizan sólo los datos de los dos últimos años del registro, tal como hacen Widerman et al<sup>36</sup> en una publicación reciente. Si tenemos en cuenta que razas diferentes de la caucásica tienen una incidencia menor de FQ<sup>21</sup> y que, por tanto, el fenómeno de la inmigración no podría explicar el incremento del 4 al 7% observado en los dos últimos años en el registro americano, éste sólo puede deberse a una conciencia mayor por parte de los médicos de adultos de que estas formas de presentación de la FQ no son tan excepcionales como se recogía en el panel de consenso americano sobre FQ publicado en 1998, en el que sólo se atribuía un 2% a las formas atípicas de esta enfermedad que se diagnostican en la edad adulta. No nos deberá, por tanto, sorprender que en los próximos años este porcentaje del 7% se vea incrementado a medida que la FQ sea investigada entre la población adulta. Este mismo argumento es el que puede explicar el mayor porcentaje de diagnósticos en la edad adulta observado en nuestra serie. Cuando en 1984 nuestro grupo publicó los primeros casos de FQ en pacientes adultos<sup>37,38</sup>, ya se apuntaba que formas leves de esta enfermedad con escasa traducción clínica durante la infancia podían ser más frecuentes de lo que hasta la fecha se reconocía y nuestro grupo incorporó la prueba del sudor como método de diagnóstico en la investigación etiológica de enfermedades como las bronquiectasias o las neumonías de repetición no explicadas por otras causas.

En conclusión, los médicos de adultos debemos considerar que la FQ no siempre se revela como manifestaciones digestivas y respiratorias graves desde los primeros años de vida y que formas fenotípicas más leves, especialmente de tipo respiratorio, pueden aparecer en la edad adulta. Así, ante pacientes adultos que

presenten bronquiectasias, colonización bronquial crónica por *P. aeruginosa* o por *S. aureus*, ABPA, neumonías de repetición o pancreatitis recidivantes no explicadas por otras causas, se debe descartar la presencia de FQ.

## Agradecimiento

Los autores agradecen a la Sras. María Dolores Millas, Dora Casado y Josefa López, personal de enfermería de la Unidad de Fibrosis Quística, su colaboración en la realización de este manuscrito.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Asensio O, Cobos N, Seculi JL, Casals T, Maya A, Marco MT, y el grupo de estudio de cribaje neonatal en Cataluña. Programa de cribaje neonatal para la Fibrosis Quística en Cataluña. Actas de VI Congreso Nacional de Fibrosis Quística, Granada, 2001.
- 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; 245:1066-73.
- Maiz L, Giron R, Martínez MT, Prados C, Escobar H, Garzón G, et al. Hemoptisis amenazante en la fibrosis quística: descripción clínica y actitud terapéutica en 36 episodios. *Med Clin (Barc)* 2002;118:299-301.
- Noone P, Knowles M. «CFTR-opathies»: disease phenotypes associated with cystic fibrosis transmembrane regulator gene mutations. *Respir Res* 2001;2:328-32.
- Pérez-Aguilar F, Berenguer Lapuerta J. Enfermedad hepatobiliar en la fibrosis quística. *Med Clin (Barc)* 1998;111:302-6.
- Pérez-Aguilar F, Berenguer Lapuerta J. Fibrosis quística y aparato digestivo: consideraciones fisiopatológicas, clínicas y terapéuticas. *Med Clin (Barc)* 1998;111:508-15.
- Knowles MR, Friedman KJ, Silverman LM. Genetics, diagnosis and clinical phenotype. En: Yankaskas JR, Knowles MR, editors. *Cystic fibrosis in the adults*. Philadelphia: Lippcott-Raven, 1999; p. 27-44.
- Shwachmen H, Kowalski M, Khaw KT. Cystic fibrosis: a new outlook. 70 patients above 25 years of age. *Medicine* 1977;56:129-49.
- Elborn JS, Shale DJ, Britton JR. Cystic fibrosis: current survival and population estimates on the year 2000. *Thorax* 1991;46:881-5.
- Rosenstein BJ, Cutting GR, for the Cystic Fibrosis Consensus Panel. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. *J Pediatr* 1998; 132:589-95.
- Maiz L, Baranda F, Coll R, Vendrell M, Escibano A, Gadtner S, et al. Normativa del diagnóstico y el tratamiento de la afección respiratoria en la fibrosis quística. *Arch Bronconeumol* 2001;37: 316-24.
- Hammond KB, Turcios NL, Gibson LE. Clinical evaluation of the Macroduct sweat collection system and conductivity analyzer in the diagnosis of cystic fibrosis. *J Pediatr* 1994;124:255-60.
- Modolell I, Álvarez A, Guarnier L, De Gracia J, Malagelada J. Gastrointestinal, liver and pancreatic involvement in adult patients with cystic fibrosis. *Pancreas* 2001;22:395-9.
- Rosenberg M, Patterson R, Mintzer R, Cooper BJ, Roberts M, Harris KE. Clinical and immunologic criteria for the diagnosis of allergic bronchopulmonary aspergillosis. *Ann Int Med* 1977; 86:405-14.
- Roca J, Sanchis JA, Agustí-Vidal A, Segarra F, Navajas D, Rodríguez-Roisin R, et al. Spirometric reference values from a Mediterranean population. *Bull Eur Physiopathol Respir* 1986; 22:217-24.

16. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Sweat testing: Sample collection and quantitative analysis-approved guidelines (Document C34-A). Wayne (PA): The Committee, 1994.
17. Di Sant'Agnese PA, Davis PB. Cystic fibrosis in adult. 75 cases and review of 232 cases in literature. *Am J Med* 1979;66:121-32.
18. Cystic Fibrosis Foundation Center Committee. Evaluation and monitoring in cystic fibrosis centers. *AJDC* 1990;144:1311-2.
19. Cystic Fibrosis Mutation Database. The Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Disponible en: [www.genet.sickkids.on.ca/cftr/](http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/)
20. Estivill X, Bancells C, Ramos C. Geographic distribution and regional origin of 272 cystic fibrosis mutations in European populations. The Biomed. CF Mutation Analysis Consortium. *Hum Mutat* 1997;10:135-54.
21. Consensus Development Panel. Genetic testing for cystic fibrosis. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement on genetic testing for cystic fibrosis. *NIH Consensus Statement. Arch Intern Med* 1999;159: 1529-39.
22. Heim RA, Sugarman EA, Allitto BA. Improved detection of cystic fibrosis mutation in the heterogeneous U.S. population using an expanded, pan-ethnic mutation panel. *Genet Med* 2001;3: 168-76.
23. Macri CN, De Gentile AS, Manterola A, Tomezzoli S, Reis FC, Largo García, et al. Epidemiology of cystic fibrosis in Latin America: preliminary communication. *Pediatr Pulmon* 1991;10: 249-53.
24. Paz y Mino C, Pérez JC, Burgos R, Dávalos MV, Leone PE. The Delta F508 mutation in Ecuador, South America. *Hum Mutat* 1999;14:348-50.
25. Restrepo CM, Pineda L, Rojas Martínez A, Gutiérrez CA, Morales A, Gómez C, et al. CFTR mutation in three Latin America countries. *Am J Med Genet* 2000;9:277-9.
26. Casals T, Ramos MD, Giménez J, Larriba S, Nunes V, Estivill X. High heterogeneity for cystic fibrosis in Spanish families: 75 mutations account for 90% of chromosomes. *Hum Genet* 1997; 101:365-70.
27. Kerem E, Corey M, Kerem BS, Rommens J, Markiewicz D, Levison H, et al. The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis: analysis of the most common mutation ( $\Delta F508$ ). *N Engl J Med* 1990;323:1517-22.
28. Mickle J, Cutting G. Genotype-phenotype relationships in cystic fibrosis. *Med Clin North Am* 2000;84:597-607.
29. Stutts MJ, Boucher RC. Cystic fibrosis gene and functions of CFTR. En: Yankaska JR, Knowles MR, editors. *Cystic fibrosis in adults*. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, 1999; p. 3-25.
30. Rosenstein BJ. Making and confirming the diagnosis. En: Oreste D, Stern RC, directors. *Treatment of the hospitalized cystic fibrosis patient. Lung biology in health an disease*. Nueva York: Marcel Dekker, Inc., 1998;109:1-42.
31. Atlas AB, Orenstein SR, Orenstein DM. Pancreatitis in young children with cystic fibrosis. *J Pediatr* 1992;120:756-9.
32. Highsmith WE, Burch LH, Zhou Z, Olsen JC, Boat TE, Spock A, et al. A novel mutation in the cystic fibrosis gene in patients with pulmonary disease but normal sweat chloride concentrations. *N Engl J Med* 1994;331:974-80.
33. Knowles MR, Gatzky JT, Boucher RC. Increase bioelectric potential difference across respiratory epithelia in Cystic Fibrosis. *N Engl J Med* 1981; 305:1489-95.
34. Alton EW, Hay JG, Munro C, Geddes DM. Measurement of nasal potential difference in adult cystic fibrosis, young's syndrome and bronchiectasis. *Thorax* 1987;42:815-7.
35. Cystic Fibrosis Foundation. Patients registry 1997 annual data report. Bethesda, MD: Cystic Fibrosis Foundation, 1998.
36. Widerman E, Millner L, Sexauer W, Field S. Health status and sociodemographic characteristics of adults receiving a cystic fibrosis diagnosis after age 18 years. *Chest* 2000;118:427-33.
37. De Gracia J, Urrutia A, Guarga A, Joanmiquel L, Monsó E, Vidal R. Fibrosis quística en el adulto. *Med Clin (Barc)* 1984;83:392-3.
38. Román A, De Gracia J, Vidal R, Ferrer J, Algueró C. Positivización del test del sudor tras el inicio de afectación pancreática en paciente adulto con fibrosis quística. *Arch Bronconeumol* 1988; 24:45-6.

## CYSTIC FIBROSIS

## Genotype-phenotype correlation for pulmonary function in cystic fibrosis

J de Gracia, F Mata, A Álvarez, T Casals, S Gatner, M Vendrell, D de la Rosa, L Guarner, E Hermosilla

*Thorax* 2005;60:558–563. doi: 10.1136/thx.2004.031153

**Background:** Since the *CFTR* gene was cloned, more than 1000 mutations have been identified. To date, a clear relationship has not been established between genotype and the progression of lung damage. A study was undertaken of the relationship between genotype, progression of lung disease, and survival in adult patients with cystic fibrosis (CF).

**Methods:** A prospective cohort of adult patients with CF and two *CFTR* mutations followed up in an adult cystic fibrosis unit was analysed. Patients were classified according to functional effects of classes of *CFTR* mutations and were grouped based on the *CFTR* molecular position on the epithelial cell surface (I-II/I-II, I-II/III-V). Spirometric values, progression of lung disease, probability of survival, and clinical characteristics were analysed between groups.

**Results:** Seventy four patients were included in the study. Patients with genotype I-II/I-II had significantly lower current spirometric values ( $p < 0.001$ ), greater loss of pulmonary function ( $p < 0.04$ ), a higher proportion of end-stage lung disease ( $p < 0.001$ ), a higher risk of suffering from moderate to severe lung disease (odds ratio 7.12 (95% CI 1.3 to 40.5)) and a lower probability of survival than patients with genotype I-II/III, I-II/IV and I-II/V ( $p < 0.001$ ).

**Conclusions:** The presence of class I or II mutations on both chromosomes is associated with worse respiratory disease and a lower probability of survival.

See end of article for authors' affiliations

Correspondence to:  
Dr J de Gracia, Roger de Flor 235 bajos 2, 08025 Barcelona, Spain;  
[jgracia@separ.es](mailto:jgracia@separ.es)

Received 8 July 2004  
Accepted 8 February 2005

Cystic fibrosis (CF) is the most common recessively inherited disease in white people, occurring in approximately 1:5500 live births in our area.<sup>1</sup> Patients with CF have clinical phenotypes that mainly include chronic lung infection, gastrointestinal tract alterations, and infertility in men.<sup>2</sup> They have apparently normal lungs at birth, but progressive deterioration in pulmonary function is the cause of death in 95% of cases and represents the principal prognostic factor in these patients.<sup>3</sup>

Cystic fibrosis is caused by mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (*CFTR*) gene which encodes a protein expressed in the apical membrane of exocrine epithelial cells.<sup>4</sup> *CFTR* functions principally as a cAMP induced chloride channel and appears capable of regulating other ion channels.<sup>5</sup> Mutations in the *CFTR* gene cause inspissated secretions leading to disease in the affected organs.<sup>6</sup> Since the *CFTR* gene was cloned in 1989,<sup>7</sup> over 1000 mutations in this gene have been identified.<sup>8</sup> With reference to chloride transport dysfunction, the *CFTR* mutations can be grouped into five classes: (I) *CFTR* not synthesised, (II) defective processing, (III) defective regulation, (IV) defective conductance, (V) partially defective production or processing.<sup>9</sup> This classification makes it possible to predict the likely effect of a known mutation on the *CFTR* function, although the effect of a given mutation on cell function may not be known in full. While a major fraction of the *CFTR* protein does not reach the epithelial cell surface in the presence of mutation classes I and II, it is present on the cellular surface in mutation classes III, IV or V, and a certain residual function can be found.<sup>10</sup> This variation in the genotype provides a rationale for effects of the *CFTR* mutations on phenotype.

The relationship between genotype and congenital bilateral absence of the vas deferens<sup>11</sup> and the relationship between genotype and pancreatic insufficiency<sup>12</sup> have been established in several publications. Although there are a few rare

mutations such as A455E and R117H which are clearly linked to a better pulmonary outcome,<sup>12–13</sup> the effect on the lungs of F508del and most other mutations cannot be separated and attempts to link mutations in *CFTR* to severity of lung disease have been unsuccessful.<sup>14</sup> Furthermore, genes other than *CFTR* and environmental factors such as access to specialised centres and treatment strategies may be more important factors in modifying the development, progression, and severity of pulmonary disease. Possible reasons for the lack of correlation between genotype and pulmonary disease include: (1) the majority of studies have been carried out in children and young patients; (2) the relatively short evolution of the disease in these patients; (3) the more effective treatment against rapid progression of lung damage in the first years of life; and (4) a lack of studies which include mutations found most frequently when a diagnosis of CF is established in adulthood.

The hypothesis of this study was that the evolution of pulmonary disease and the probability of survival may be related to whether or not the *CFTR* protein reaches the epithelial cell surface and a certain residual function could be present. A prospective study of a cohort of adult patients treated and followed up at the same CF unit was performed.

## METHODS

Adult patients (>16 years) diagnosed as having CF<sup>15</sup> with known genotype included in CF Mutation Database (Genetic Analysis Consortium)<sup>8</sup> and followed up in the Adult CF Unit of our centre between January 1992 and December 2002 were recruited.

## Study design

A prospective cohort study was performed to investigate the relationship between genotype and progression of lung disease. The primary end points were decrease in pulmonary

**Table 1** *CFTR* mutation according to functional classification

Class	Molecular dysfunction	Mutation
I	Defective protein production	G542X, 711+1G→T, 1609delCA, R1162X, 1717-8G→A, W1282X, 1782delA, Q890X, 1898+3A→G, CFTRdele19, 936delTA
II	Defective protein processing	F508del, N1303K, I507del, R1066C
III	Defective protein regulation	D1270N, G551D
IV	Defective protein conductance	L206W, R334W, R117H, R347H, D836Y, P205S
V	Partially defective production or processing	2789+5G→A, 1811+1.6kba→G, 3849+10kbc→T, 3272+26G→A

function and mortality from pulmonary disease. The trial was approved by the hospital ethics committee.

A clinical evaluation, sputum cultures, and pulmonary function test were carried out at each medical check-up every 3 months and whenever necessary during follow up. Blood and urine tests were analysed every 6 months. Thoracic and abdominal CT scans were performed at the time of diagnosis and biennially. Chronic bronchial colonisation was considered when three or more sputum cultures were persistently positive over a period of 6 months. Pancreatic insufficiency was assessed by fecal fat and/or fecal elastase levels in all patients. Additional information was obtained by CT scans of the pancreas and nutritional status was determined according to sex, age, and body mass index (weight (kg)/height<sup>2</sup> (m<sup>2</sup>)).<sup>16</sup> The demographic and clinical characteristics of the patients analysed were those available on their last visit to the unit.

### Pulmonary function tests

Forced vital capacity (FVC % predicted) and forced expiratory volume in 1 second (FEV<sub>1</sub> % predicted) were considered only if patients were clinically stable (absence of pulmonary exacerbation over the previous 4 weeks). Predicted values for forced spirometry were taken from Roca *et al*.<sup>17</sup> 60% of the predictive value was taken as a cut-off value to differentiate between a moderate abnormality and a moderate to severe abnormality.<sup>18</sup> The pulmonary function test results obtained on the first visit to the adult unit were considered as the baseline values and those obtained on their last visit to the unit as the current values. A decrease in pulmonary function was calculated and adjusted for age and time of follow up.

### Genetic study

Molecular analysis of the *CFTR* gene included the detection of the 31 most common mutations (Genotype Cystic Fibrosis Diagnosis System; PE Applied Biosystems, CA, USA). A wider genetic study was carried out if necessary in the molecular genetics department of the Oncology Research Institute, Duran y Reynals Hospital, Barcelona as previously described.<sup>19</sup> The whole coding region and intronic boundaries of the *CFTR* gene were analysed using multiplex denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and single strand conformation polymorphism analysis (SSCP/Heteroduplex; Genephor, Amersham Pharmacia Biotech, Buckinghamshire, UK). The combination of these techniques gives a mutation detection level of 97% in the Spanish CF population (T Casals, unpublished data).<sup>20</sup> The fragments with an abnormal migration pattern were characterised by sequencing using the BigDye Terminator Cycle Sequencing kit (PE Applied Biosystems) on an ABI 377 sequencer.

### Relation between genotype and phenotype

Patients were classified depending on the *CFTR* mutation class on each chromosome.<sup>9</sup> They were subsequently categorised into two groups according to whether the *CFTR* protein reached the epithelial cell surface (presence of at least

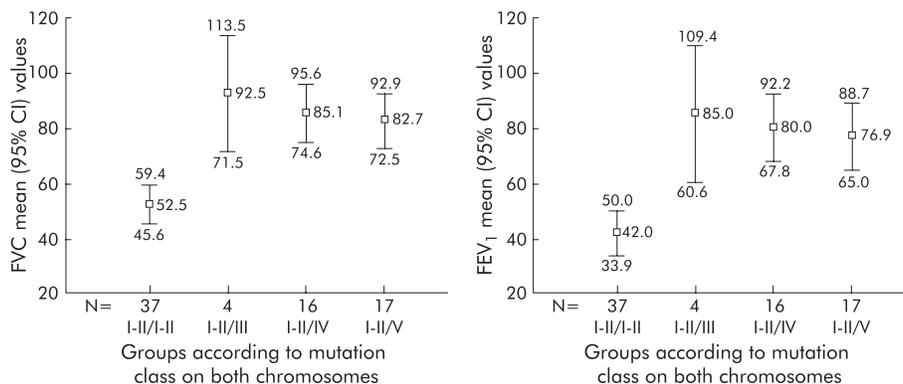
one mutation class type III, IV or V) or not (presence of type I or II mutation class on both chromosomes).

### Statistical analysis

Descriptive statistics were calculated for continuous variables and frequency statistics for categorical variables. Exploratory data analysis (EDA): histogram, box plot, density plot and normal probability-probability plots (pp-plot) were used for visual normality examination of the continuous variables. Differences between means in categorical variables were performed with the ANOVA method. To study the decline in pulmonary function between groups the ANOVA method (repeated measures) was used with baseline and current spirometric values as dependent variables, genotype groups as the independent variable, and age and evolution time as

**Table 2** Groups based on genotype in CF adult patients

Functional classes	Genotype	No of subjects
I-I	G542X/W1282X	1
	R1162X/1898+3A→G	1
	R1162X/CFTRdele19	1
I-II	F508del/G542X	5
	F508del/711+1G→T	2
	F508del/1717-8G→A	1
	F508del/936delTA	1
	F508del/R1162X	1
	N1303K/1609delCA	1
I-III	G542X/D1270N+R74W	1
	711+1G-T/G551D	1
I-IV	G542X/P205S	1
	Q890X/R334W	1
	1609delCA/R347H	1
I-V	G542X/2789+5G→T	2
	G542X/1811+1.6kba→G	1
	1782delA/2789+5G→A	1
	1609delCA/1811+1.6kba→G	1
II-II	F508del/F508del	21
	F508del/N1303K	1
	F508del/R1066C	1
II-III	F508del/D1270N+R74W	1
	I507del/D1270N+R74W	1
II-IV	F508del/L206W	4
	F508del/R334W	3
	F508del/R117H	3
	F08del/R347H	2
	F508del/D836Y	1
II-V	F508del/2789+5G→A	5
	F508del/3849+10kbc→T	2
	F508del/1811+1.6kba→G	2
	F508del/3272+26G→A	1
	N1303K/1811+1.6kba→G	1
	N1303K/2789+5G→A	1



**Figure 1** Comparative analysis of current spirometric values estimated using ANOVA. The mean (95% CI) predicted values for forced vital capacity (FVC) and forced expiratory volume in 1 second (FEV<sub>1</sub>) were higher in patients with at least one *CFTR* class III, IV or V mutation on their last visit to our unit.

adjusted variables. ANOVA method (two way) and Scheffe test as post hoc test were carried out to evaluate the association between classes of mutation on both chromosomes (I-II/I-II, I-II/III, I-II/IV, I-II/V and I-II/III-V) and pulmonary function tests. Fisher's exact test was used to study differences between proportions. Survival was analysed by Kaplan-Meier survival plots and log rank tests; the time to an event was calculated from the date of birth to the date of end stage lung disease (date of lung transplantation or date of death secondary to lung disease). Univariate and multivariate logistic regression models were used to examine the relationship between pulmonary function and both genotype and pancreatic insufficiency. The significance level was  $p < 0.05$  (two tailed). All tests were performed using SPSS software Version 11.0 (SPSS, Chicago, IL, USA).

## RESULTS

A total of 120 adult patients diagnosed as having CF were followed up in our CF unit during the study period. Seventy four (40 men) of mean (SD) age 26.7 (8.3) years in whom two *CFTR* mutations could be detected were included in the study. Forty four patients (59.5%) were transferred from the paediatric CF unit and the other 30 (40.5%) were diagnosed in our adult CF unit. The mean (SD) time of follow up in the adult unit was 4.5 (3.1) years (range 1-15). Sweat tests were positive (sweat chloride concentration  $\geq 60$  mEq/l) in all but three patients (pair of *CFTR* mutations: I507del/D1270N+I274W, F508del/D836Y, and F508del/R347H, respectively). The genetic characteristics according to *CFTR* mutation classes on each chromosome are shown in table 1.

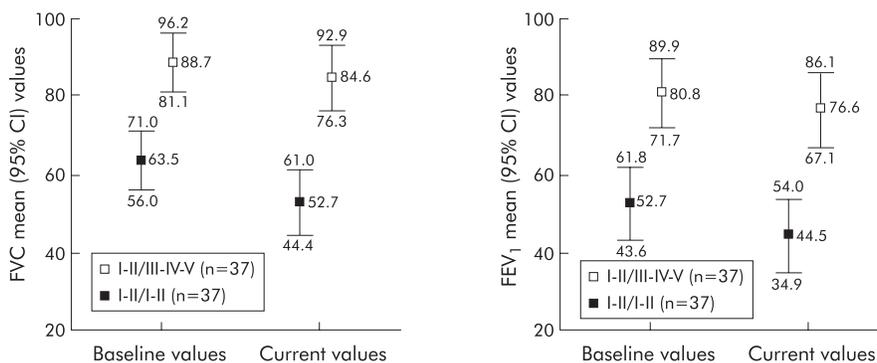
The groups based on the *CFTR* mutation functional classes on both chromosomes are shown in table 2.

There were no significant differences in the mean (95% CI) current FVC and FEV<sub>1</sub> predicted values between patients with genotypes I-II/III, I-II/IV and I-II/V, but these values were significantly higher than those observed in patients with genotype I-II/I-II (fig 1).

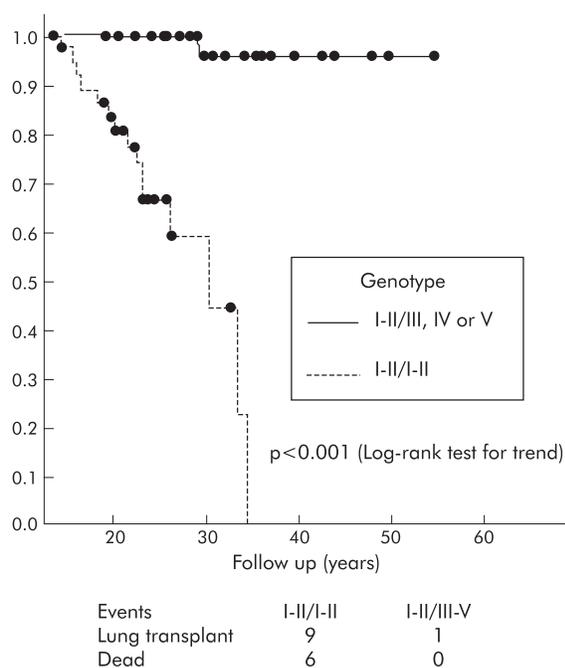
The evolution of lung disease was significantly different between patients with genotype I-II/I-II and those who had class III, IV or V *CFTR* mutations on at least one chromosome. Patients with mutation class I or II on both chromosomes had lower mean baseline FVC and FEV<sub>1</sub> predicted values and a more significant decrease in pulmonary function during follow up than patients with at least one class III, IV or V mutation. These differences persisted when progression of lung disease was adjusted for age at diagnosis and time of follow up ( $p < 0.04$ , fig 2).

A survival study was carried out and the probability of suffering from end-stage lung disease was significantly higher among patients with class I or II mutations on both chromosomes (log rank test for trend  $p < 0.001$ , fig 3). The correlation study revealed a significant relationship between the pair of mutations and severity of pulmonary disease. Patients with genotype I-II/I-II had a higher risk of developing moderate to severe pulmonary disease adjusted for pancreatic insufficiency (odds ratio (OR) 7.1 (95% CI 1.3 to 40.5) in univariate and multivariate analysis, table 3).

The demographic and anthropometric characteristics as well as the pancreatic and respiratory function status of the groups are shown in table 4. Patients with class I or II



**Figure 2** Evolution of pulmonary disease during follow up in the adult cystic fibrosis unit adjusted for age and time of evolution estimated using ANOVA. The progression of lung damage was significantly higher in patients with *CFTR* class I or II mutations on both chromosomes ( $p < 0.04$ ). Data are shown as mean (95% CI) predicted values. FVC, forced vital capacity; FEV<sub>1</sub>, forced expiratory volume in 1 second.



**Figure 3** Kaplan-Meier survival curves by genotype. Time to an event was calculated from date of birth to date of end stage lung disease;  $p < 0.001$  (log rank test for trend).

mutations on both chromosomes had a significantly higher prevalence of pancreatic insufficiency, chronic bronchial colonisation with *Pseudomonas aeruginosa* or *Staphylococcus aureus* and end-stage lung disease ( $p < 0.001$ ). Patients with at least one class III, IV or V mutation were older at the time of diagnosis and had higher anthropometric rates.

## DISCUSSION

This study shows a relationship between the *CFTR* mutation functional class on both chromosomes and pulmonary function in adult patients with CF. The patients who had *CFTR* mutation classes I or II on both chromosomes showed significantly lower baseline and current spirometric values, greater loss of pulmonary function during follow up, higher risk of developing moderate to severe pulmonary disease, and a lower rate of survival due to end-stage lung disease than patients with at least one *CFTR* functional class III, IV or V mutation.

It has previously been suggested that environmental factors constitute the most important factors in modifying the development, progression, and severity of pulmonary disease in CF.<sup>21</sup> Access to specialised centres, treatment strategies, and socioeconomic status have been shown to affect the long term outcome over the last few years.<sup>22-23</sup> In

this study the impact of these factors was reasonably reduced as all patients had been treated and followed up in the same CF unit since their diagnosis was established. The National Health Service (NHS) in our country guarantees access for the whole population regardless of their socioeconomic status, all the CF units are integrated in the NHS, and treatment is provided free of charge to all patients without any restriction. Given that CF patients are born with apparently normal lungs and that lung damage progresses over time, we were able to study a relationship between genotype and pulmonary phenotype from birth to their admission to the adult unit and afterwards during follow up. Paradoxically, the baseline spirometric values on admission to the adult unit were significantly lower in patients with class I or II mutations—most of whom had received specialised treatment from the time of diagnosis in childhood—than in those with at least one class III, IV or V mutation, most of whom had received specialised treatment only after their diagnosis in adulthood. These findings suggest that genotype is more important than environment as a prognostic factor of pulmonary phenotype in CF patients. Nevertheless, the environmental features together with possible genetic modifiers<sup>24-25</sup> could account, at least in part, for the variability of pulmonary phenotype observed in some cases in patients with the same genotype.

Pulmonary function can be maintained unimpaired or slightly impaired during the first years of life, and long periods of follow up are required to observe differences in patients with different genotypes. Most studies designed to demonstrate the genotype-phenotype correlation used populations of patients diagnosed with CF in childhood or youth. In these reports F508del and most other mutations cannot be separated with respect to their effect on the lungs, and attempts to link mutations in *CFTR* to severity of lung disease have not been successful.<sup>14</sup> The high prevalence of class I and II mutations in patients diagnosed at an early age and the relatively short period of follow up could be critical in preventing the establishment of a relationship between genotype and pulmonary disease in those trials. Unlike other reports, all the patients in this study were adults with a higher average age and were evaluated at the same centre. 40% of these patients were diagnosed as adults and most of them had at least one class III, IV or V *CFTR* mutation (table 4); genotype-phenotype correlation for pulmonary function was observed. The mild pulmonary phenotype seen in patients with genotype I-II/III-V is consistent with previous reports where a few rare mutations such as A455E, R117H, 3849+10kbc→T, 2789+5G→T, and P67L (all class IV or V mutations) are clearly linked to a better pulmonary outcome.<sup>13-14, 26-28</sup>

The findings observed in this study support the hypothesis that differences in CF pulmonary phenotype could be related to the effect of the genotype on *CFTR* protein production and function. Nevertheless, it is important to recognise that specific mutations may have characteristics of more than one

**Table 3** Risk of suffering from moderate to severe lung disease in patients with class I or II mutations on both chromosomes

	No of subjects (n=74)	Genotype I-II/I-II n (%)	Odds ratio* (95% CI)	Odds ratio† (95% CI)
FVC				
≥60%	49	16 (33%)	1	1
<60%	25	21 (84%)	10.83 (3.18 to 36.84)	7.12 (1.25 to 40.46)
FEV <sub>1</sub>				
≥60%	37	8 (22%)	1	1
<60%	37	29 (78%)	13.14 (4.34 to 39.75)	8.74 (1.89 to 40.83)

FVC, forced vital capacity; FEV<sub>1</sub>, forced expiratory volume in 1 second.

\*Calculated by univariate logistic regression models (95% CI).

†Adjusted for pancreatic insufficiency.

**Table 4** Demographic and clinical characteristics of groups according to genotype\*

	Genotype I-II/I-II (n = 37)	Genotype I-II/III, IV or V (n = 37)	p value
Sex (no (% male))	18 (48.6%)	22 (59.5%)	0.484
Mean (SD) age (years)	22.5 (4.9)	30.9 (8.8)	<0.001
Mean (SD) age at diagnosis (years)	4.2 (5.3)	21.9 (13.4)	<0.001
Adult age at diagnosis, n (%)	1 (2.7%)	28 (75.7%)	<0.001
Mean (SD) follow up (years)	3.7 (3.7)	5.3 (1.9)	0.024
Mean (SD) BMI (kg/m <sup>2</sup> )	18.4 (2.9)	23 (3)	<0.001
Mean (SD) sweat chloride concentration (mEq/l)	108 (23)	89 (22)	0.001
Digestive symptoms at diagnosis, n (%)	28 (73.7%)	9 (24.3%)	0.010
Pancreatic insufficiency, n (%)	36 (97.3%)	9 (24.3%)	<0.001
Pulmonary symptoms at diagnosis, n (%)	25 (68.4%)	28 (75.7%)	0.439
<i>P aeruginosa</i> colonisation, n (%)	32 (86.5%)	16 (43.2%)	<0.001
<i>S aureus</i> colonisation, n (%)	22 (59.5%)	12 (32.4%)	0.019
End-stage lung disease, n (%)	15 (40.5%)	1 (2.7%)	0.001
Lung transplantation, n (%)	9 (24.3%)	1 (2.7%)	0.010
Dead patients, n (%)	11 (29.7%)	1 (2.4%)	0.012

BMI, body mass index.

\*Data obtained at the first visit to adult unit.

class, and differences between mutations of the same functional class may be possible.

Previous reports have shown a relationship between genotype and the association between pancreatic insufficiency and severity of lung disease.<sup>29</sup> Hence, the presence of pancreatic insufficiency was considered the most important prognostic factor of pulmonary function. However, in this report, univariate logistic regression analysis showed a significant correlation between genotype and severity of pulmonary damage which persisted when the statistical analysis was adjusted for the presence of pancreatic insufficiency. This suggests that pulmonary function is a phenotypic expression which independently predicts the prognosis of the disease.

The effective treatment of pancreatic, pulmonary, and digestive disorders has dramatically improved the survival rates of patients with CF over the last 30 years. Currently, most deaths occur in adulthood and progressive pulmonary impairment is the main cause. In this study all deaths were due to pulmonary disease and all but one patient had a class I or II mutation on both chromosomes. In these patients the probability of survival—when the time to an event was calculated from the date of birth to the development of end-stage lung disease—was lower than in those patients whose genotype included at least one class III, IV or V mutation. These results are consistent with those observed by McKone *et al*<sup>30</sup> in a retrospective study using the Cystic Fibrosis Foundation National Registry. They found that patients who were homozygous for F508del have significantly higher overall mortality and higher crude mortality adjusted for sex and age than those who were homozygous for mutation class IV and V or heterozygous for F508del with R117H, 3849+10kbC→T and 2789+5G→T.

Our study has a certain bias. Patients diagnosed in childhood who died before reaching adulthood were not included. Moreover, it was not possible to perform a genetic study on patients who died before 1992, and it was only possible to study eight mutations in those who died between 1992 and 1996. Nonetheless, in the study by McKone *et al*<sup>30</sup> it is observed that most patients who died at an early age were carriers of class I or II mutations on both chromosomes. These findings lead us to suppose that patients who died and were not included in our study could be carriers of this genotype. On the other hand, it is possible that there are still adult patients who have not been diagnosed. They are probably carriers of mild phenotypes that have gone unnoticed during childhood.<sup>31 32</sup>

The limited number of class III mutations in our study makes it difficult to reach conclusions about its correlation with pulmonary phenotype. Only the mutations D1270N and G551D were analysed and they were associated with a more favourable outcome of pulmonary function. Nevertheless, previous studies have pointed out that, among functional class III mutations, there may exist a wide variability in their phenotypes that depends principally on the CFTR protein site for which they code.<sup>33 34</sup>

In summary, the results of this study suggest that the genotype, based on functional class mutation on the two chromosomes, seems to be one of the most decisive factors for pulmonary phenotype and for survival in relation to pulmonary damage. Patients with genotypes that include class I or II mutations on both chromosomes have more rapid deterioration in lung function and lower survival rates related with lung disease than the other genotypes, especially in those with at least one class IV or V mutation.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The authors acknowledge the help of Francis McCabe in the translation of the manuscript.

## Authors' affiliations

**J de Gracia, F Mata, A Álvarez, D de la Rosa**, Department of Pneumology, Hospital General Vall d'Hebron, Barcelona, Spain

**F Mata**, Department of Medicine, Universidad Autonoma de Barcelona, Spain

**T Casals**, Medical and Molecular Genetics Center, Institut Recerca Oncològica (IRO), Hospital Duran I Reynals, Barcelona, Spain

**M Vendrell**, Department of Pneumology, Hospital Josep Trueta, Girona, Spain

**L Guarner**, Department of Gastroenterology, Hospital General Vall d'Hebron, Barcelona, Spain

**S Gartner**, Department of Pediatrics, Hospital General Vall d'Hebron, Barcelona, Spain

**E Hermosilla**, Department of Biostatistics, Hospital General Vall d'Hebron, Barcelona, Spain

This study was supported by a grant from the "Fondo de Investigaciones Sanitarias" (FIS) (Exp No PI020161) and Red Respira 2003 (Exp ISCiii-RTIC-03/11)

The first two authors contributed equally to the design of the study and writing of the manuscript.

## REFERENCES

- 1 **Garner S**, Cobos N, Maya A, *et al*. Neonatal screening for cystic fibrosis in Catalunya, Spain. *Pediatr Pulmonol* 2003;**36**(Suppl 25):P221.
- 2 **Ratjen F**, Döring G. Cystic fibrosis. *Lancet* 2003;**361**:681–9.

- 3 **Kerem E**, Reisman J, Corey M, *et al*. Prediction of mortality in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1992;**326**:1187-91.
- 4 **Rowntree R**, Harris A. The phenotypic consequences of *CFTR* mutations. *Ann Hum Genet* 2003;**67**:471-85.
- 5 **Jentsch TJ**, Stein V, Weinreich F, *et al*. Molecular structure and physiological function of chloride channels. *Physiol Rev* 2002;**82**:503-68.
- 6 **Boucher RC**. An overview of the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *Adv Drug Deliv Rev* 2002;**54**:1359-71.
- 7 **Riordan JR**, Rommens JM, Kerem B, *et al*. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989;**245**:1066-73.
- 8 **Cystic Fibrosis Mutation Database**. The Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. [www.genet.sickkids.on.ca/cfr/](http://www.genet.sickkids.on.ca/cfr/).
- 9 **Welsh MJ**, Smith AE. Molecular mechanism of *CFTR* chloride channels dysfunction in cystic fibrosis. *Cell* 1993;**73**:1251-4.
- 10 **Vankeerberghen A**, Cuppens H, Casiman JJ. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an intriguing protein with pleiotropic functions. *J Cystic Fibrosis* 2002;**1**:13-29.
- 11 **Chillon M**, Casals T, Mercier B, *et al*. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N Engl J Med* 1995;**332**:1475-80.
- 12 **The Cystic Fibrosis Genotype-Phenotype Consortium**. Correlation between genotype and phenotype in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1993;**329**:1308-13.
- 13 **Gan KH**, Veeze HJ, van den Ouweland AM, *et al*. A cystic fibrosis mutation associated with mild lung disease. *N Engl J Med* 1995;**333**:95-9.
- 14 **Kerem E**, Kerem B. Genotype-phenotype correlations in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 1996;**22**:387-95.
- 15 **Rosenstein BJ**, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. *J Pediatr* 1998;**132**:589-95.
- 16 **Modolell I**, Alvarez A, Guarner L, *et al*. Gastrointestinal, liver and pancreatic involvement in adult patients with cystic fibrosis. *Pancreas* 2000;**22**:395-9.
- 17 **Roca J**, Burgos F, Sunyer J, *et al*. Reference values for forced spirometry. Group of the European Community Respiratory Health Survey. *Eur Respir J* 1998;**11**:1354-62.
- 18 **American Thoracic Society**. Lung function testing: selection of reference values and interpretative strategies. *Am Rev Respir Dis* 1991;**144**:1202-18.
- 19 **Casals T**, De Gracia J, Gallejo M, *et al*. Bronchiectasis in adult patients: an expression of heterozygosity for *CFTR* gene mutations? *Clin Genet* 2004;**65**:490-5.
- 20 **Casals T**, Ramos MD, Gimenez J, *et al*. High heterogeneity for cystic fibrosis in Spanish families: 75 mutations account for 90% of chromosomes. *Hum Genet* 1997;**101**:365-70.
- 21 **Tsui LC**, Durie P. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Hosp Pract* 1997;**32**:115-34.
- 22 **Gibson RL**, Burns JL, Ramsey BW. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;**168**:918-51.
- 23 **Schechter MS**, Shelton BJ, *et al*. The association of socioeconomic status with outcomes in cystic fibrosis patients in the United States. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;**163**:1331-7.
- 24 **Hull J**, Thomson HA. Contribution of genetic factors other than *CFTR* to disease severity in cystic fibrosis. *Thorax* 1998;**53**:1018-21.
- 25 **Arkwright PD**, Laurie S, Super M, *et al*. TGF- $\beta$  genotype and accelerated decline in lung function of patients with cystic fibrosis. *Thorax* 2000;**55**:459-62.
- 26 **Stern RC**, Doershuk CF, Drumm ML. 3849+10 kb C->T mutation and disease severity in cystic fibrosis. *Lancet* 1995;**346**:274-6.
- 27 **Highsmith WE Jr**, Burch LH, Zhou Z, *et al*. Identification of a splice site mutation (2789 +5G>A) associated with small amounts of normal *CFTR* mRNA and mild cystic fibrosis. *Hum Mutat* 1997;**9**:332-8.
- 28 **Giffilan A**, Warner JP, Kirk JM, *et al*. P67L: a cystic fibrosis allele with mild effects found at high frequency in the Scottish population. *J Med Genet* 1998;**35**:122-5.
- 29 **Loubieres Y**, Grenet D, Simon-Bouy B, *et al*. Association between genetically determined pancreatic status and lung disease in adult cystic fibrosis patients. *Chest* 2002;**121**:73-80.
- 30 **McKone EF**, Emerson SS, Edwards KL, *et al*. Effect of genotype on phenotype and mortality in cystic fibrosis: a retrospective cohort study. *Lancet* 2003;**361**:1671-6.
- 31 **De Gracia J**, Urrutia A, Guarga A, *et al*. Cystic fibrosis in adults (in Spanish). *Med Clin (Barc)* 1984;**83**:392-3.
- 32 **De Gracia J**, Alvarez A, Mata F, *et al*. Cystic fibrosis in adults: study of 111 patients (in Spanish). *Med Clin (Barc)* 2002;**119**:605-9.
- 33 **Kerem E**, Nissim-Rafinia M, Argaman Z, *et al*. A missense cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mutation with variable phenotype. *Pediatrics* 1997;**100**:E5.
- 34 **Fanen P**, Clain J, Labarthe R, *et al*. Structure-function analysis of a double-mutant cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein occurring in disorders related to cystic fibrosis. *FEBS Lett* 1999;**452**:371-4.