

Fibrosis quística en los noventa. Un futuro esperanzador para una población con una proporción creciente de adultos

Fibrosi Kistikoa larogelta hamarreko hamarkadan. Gero eta heldo gehiago dituen biztanlegoarentzat etorkizun itzaropentsua

C. Vázquez Cordero

Unidad de Fibrosis Quística. Sección de Neumología Pediátrica, Hospital de Cruces. Barakaldo (Vizcaya)

La fibrosis quística (FQ) es la enfermedad genética de carácter letal, más frecuente en las poblaciones de ascendencia europea. Su incidencia oscila por lo general entre 1/2.000 y 1/4.000 recién nacidos. En poblaciones de otros orígenes étnicos, la incidencia es mucho menor⁽¹⁾.

Su herencia es autosómica recesiva. Los heterocigotos son portadores de un alelo FQ normal y uno mutante, y permanecen asintomáticos a lo largo toda de su vida. En una pareja de «alto riesgo», en la que ambos son portadores, la probabilidad de tener un hijo afecto en cada embarazo es de 1/4.

ESPECTRO CLÍNICO

Se trata de un trastorno complejo⁽¹⁻³⁾. El gen FQ determina la síntesis de una proteína llamada «CFTR», que es un canal de cloro que regula el transporte de este ión, a través del polo apical de las células epiteliales, que revisten lo ductos de los órganos en los que se expresa la enfermedad. De alguna manera las diversas mutaciones genéticas FQ, que afectan al CFTR, determinan anomalías en la composición del líquido en la superficie epitelial, y probablemente secreciones anormalmente viscosas, con estancamiento y obstrucción en los ductos. La afectación gastrointestinal, produce íleo meconial, en aproximadamente un 10% de los recién nacidos con FQ, y a veces, obstrucción intestinal distal por impactación fecal o invaginación, en niños mayores o adultos. La pancreática, produce insuficiencia pancreática exocrina en alrededor del 85% de los casos, una mayor incidencia de diabetes insulino dependiente (5-20% en adultos), y ocasionalmente pancreatitis recurrente. La hepatobiliar, consiste en una cirrosis biliar focal asintomática muy frecuente, que puede llevar a la cirrosis biliar multifocal en un 2-5% de los casos. Son posibles colelitiasis, colecistitis, y obs-

trucción del colédoco distal. El hallazgo de una vesícula pequeña no funcionante, es frecuente.

La afectación respiratoria produce enfermedad obstructiva de las vías aéreas, con bronquiectasias, e infección bronquial crónica por microorganismos característicos: *Staphylococcus aureus* (S.a.), *Pseudomonas*, especialmente *Pseudomonas aeruginosa* (P.a.), y *Aspergillus fumigatus* la cual con el tiempo, lleva a la insuficiencia respiratoria. Aunque el S.a. suele ser el organismo inicial predominante en el esputo, la prevalencia de la infección por P.a. va en aumento, haciéndose casi universal durante la tercera década de la vida. La P.a. en la FQ frecuentemente adopta, tras un período inicial después de su adquisición, un fenotipo mucosoide, caracterizado por la producción del exopolisacárido alginato, por el crecimiento de las colonias en forma de biofilm, por ser no tipable, con pérdida de los antígenos O del lipopolisacárido de la pared, y por ser sensibles al suero. El fenotipo mucosoide se asocia a un curso desfavorable. A lo largo de la última década, se ha observado una incidencia creciente, aunque muy variable según los centros, de infección bronquial por *Burkholderia cepacia* caracterizada por mostrar resistencia a la gran mayoría de los antibióticos, por su mayor transmisibilidad entre pacientes, y por asociarse ocasionalmente a un curso fulminante desfavorable, a veces en pacientes en buen estado previamente a su adquisición. Una característica peculiar de la infección bronquial en la FQ, es el estar confinada a la mucosa bronquial, siendo muy rara la extensión extrapulmonar, e incluso las bronconeumonías agudas y derrames pleurales lo que se asocia a la sensibilidad al suero que exhiben las cepas aisladas en los pacientes. La afectación de las vías respiratorias altas se manifiesta en forma de pólipos nasales, y sinusitis radiológica, generalmente asintomática.

La afectación del tracto reproductor, produce esterilidad, prácticamente universal en los varones con FQ, asociada a azospermia obstructiva, con ausencia o hipoplasia de los conductos deferentes, vesículas seminales y epididimo. Por el contrario, las mujeres con FQ pueden ser fértiles. La afectación de las glándulas sudoríparas, produce un sudor anormalmente salado⁽⁴⁾. Complicaciones infrecuentes incluyen: fibrosis miocárdica como forma de presentación aguda, amiloidosis, osteoartropatía hipertrófica, artritis recurrentes y vasculitis cutánea y ocasionalmente renal, asociadas a fenómenos autoinmunes por inmunocomplejos, y un riesgo aumentado de cáncer del tracto gastrointestinal.

La afectación pulmonar⁽⁵⁾, es la responsable hoy de la mayor parte de la morbilidad, y del 99% de la mortalidad. Con el tiempo, la totalidad de los pacientes la desarrollan, con un ritmo de progresión muy variable. Es típica la afectación inicial de los lóbulos superiores, sobre todo el derecho. Son frecuentes las atelectasias, neumotórax, hemoptisis, aspergillosis broncopulmonar alérgica, y finalmente, la hipertensión pulmonar y cor pulmonale que no se llegan a desarrollar plenamente en muchos de los pacientes que fallecen quizás por falta de tiempo suficiente.

Es llamativa la extrema variabilidad en la forma de presentación clínica, y ritmo de progresión de la enfermedad respiratoria. Incluso dentro de una misma familia, no son raras las discordancias en la severidad de la enfermedad pulmonar entre los hermanos. Estas diferencias, son difíciles de atribuir meramente a factores «ambientales», y se cree que existen otros genes que pueden modular la severidad de la enfermedad. La forma de presentación, habitualmente consiste en la combinación de distintos grados de esteatorrea, retraso ponderoestatural y síntomas respiratorios de vías bajas en forma de tos productiva de

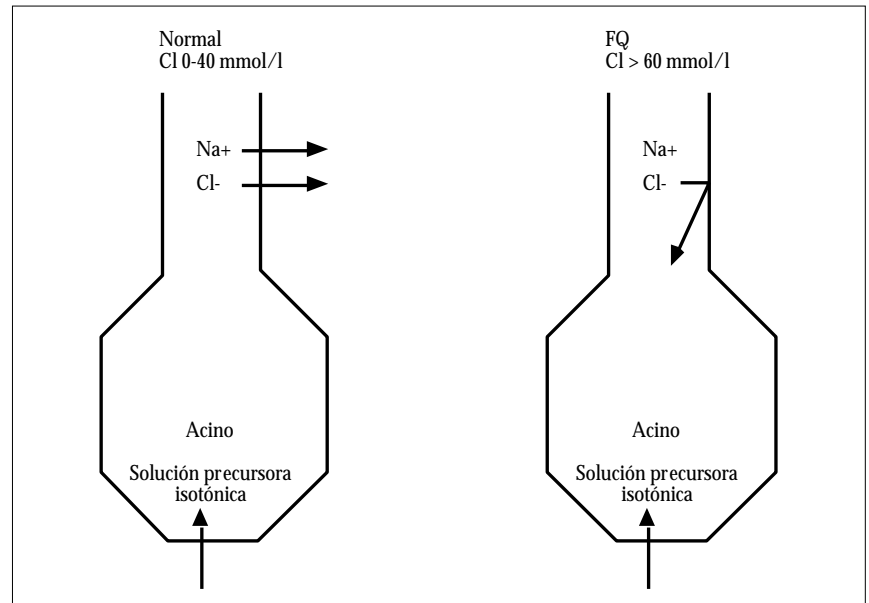


Figura 1. Normalmente el precursor isotónico del sudor secretado en los acinos de las glándulas sudoríparas experimenta un proceso por el cual el cloro se absorbe activamente en los ductos siguiéndole el sodio de forma pasiva. El ducto es impermeable al agua. Como consecuencia el sudor resultante tiene una concentración baja de cloro y sodio. En la FQ la impermeabilidad al cloro del epitelio ductal produce la alta concentración de electrolitos en el sudor característica. (Redibujado de Wilmott RW, Fiedler MA, *Pediatr Clin North Amer* 1994;41:431-451).

expectoración purulenta, y limitación crónica del flujo aéreo. Existen muchas otras: desde las formas digestivas o respiratorias «puras», al prolapso rectal recurrente, colestasis neonatal, atresia intestinal-vólvulo, obstrucción intestinal distal o invaginación en el niño mayor, hepatopatía, o síntomas ligados a las pérdidas excesivas de sal por el sudor como el golpe de calor, o la alcalosis hipoclorémica. No es raro que se diagnostiquen niños, en los que sus síntomas no habían llamado la atención, a causa de ser un hermano diagnosticado de FQ.

PRONÓSTICO

Si bien la enfermedad continúa siendo letal, grandes avances en la supervivencia y calidad de vida han ocurrido a lo largo de los últimos 40 años. Mientras en los años 50 el 80% fallecían antes de los 5 años, y raramente los pacientes sobrepasaban la adolescencia, en la actualidad la supervivencia

mediana de los pacientes controlados en unidades especializadas, es de aproximadamente 30 años. Cada vez más la FQ es una enfermedad de adultos que representan una proporción creciente del total de afectados⁽⁶⁾. En nuestra Unidad hemos controlado a más de un centenar de pacientes a lo largo de los últimos 14 años. El número de pacientes vivos en seguimiento regular, actualmente es de 87. Más del 30% tienen 15 o más años, 10 tienen más de 20 años, y 2 más de 30 años (Fig. 1).

DIAGNÓSTICO

Se basa en la comprobación de una concentración repetidamente elevada de cloro y sodio en el sudor, clásicamente por encima de 60 mmol/l, (al menos dos tests), junto con la presencia de alguna de las siguientes manifestaciones: ileo meconial, enfermedad pulmonar crónica sugestiva, insuficiencia pancreática, o historia de la enfer-

medad en hermanos. Hoy debe ser confirmado, mediante el hallazgo de 2 mutaciones FQ, apoyándolo el hallazgo de al menos una, y no excluyéndolo el no hallazgo en el estudio inicial de «ninguna mutación». Esta última situación se da en la actualidad en tan sólo 2 de nuestros pacientes, pero en muchos con mutaciones menos frecuentes el proceso de identificación ha sido lento.

La prueba del sudor exige un utillaje adecuado, personal experto y técnica meticolosa. Adecuadamente realizada, casi no existe solapamiento de valores entre la población FQ y no FQ. Sin embargo, está sujeta a potenciales errores, productores de falsos positivos y negativos, que hacen que el diagnóstico, deba ser siempre confirmado en un centro de referencia. Algunos adultos normales, tienen valores elevados⁽⁷⁾, y algunos pacientes con FQ tienen valores entre 50 y 60 mEq/l e incluso más bajos. En estos últimos se debe ser muy prudente en la realización del diagnóstico, antes de su confirmación genética. Es típico, que la concentración de cloro en el sudor en los pacientes con FQ exceda a la de sodio, al contrario de lo que ocurre en la población no FQ. Recientemente, se ha sugerido, que concentraciones de sodio por encima de 30-35 mmo/l, si la de cloro es superior, en pacientes con sospecha clínica, ya deben propiciar el estudio genético. La determinación de la diferencia de potencial nasal transepitelial y sus modificaciones tras la administración de diversos agonistas puede ser útil en el establecimiento del diagnóstico en casos atípicos⁽⁸⁾.

Es frecuente que el diagnóstico se realice, utilizando métodos para la recogida del sudor, y medición de la concentración de electrolitos, sujetos a error, y tan sólo válidos a efectos de screening⁽⁹⁾. Ello puede llevar a infra y sobrediagnóstico. Recientemente realizamos una investigación que reveló que sorprendentemente tan sólo en 2 de 41 hospitales españoles investigados se realiza-

ba el test del sudor siguiendo toda la metodología recomendada⁽¹⁰⁾.

La prueba del sudor se divide en tres partes: 1. Estimulación de la sudoración (iontoforesis con pilocarpina). 2. Recogida del sudor. 3. Determinación de la concentración de electrolitos en la muestra. La principal fuente de errores está en la recogida del sudor. Tan sólo dos métodos son aceptables: 1. El método original de Gibson y Cooke⁽⁴⁾ en el que el sudor se recoge en una gasa, o papel de filtro, prepesado, y posteriormente pesado de nuevo tras la recogida, y si la muestra es superior a 100 mg, o mínimamente a 50 mg, es diluida en agua destilada, determinándose a continuación bioquímicamente el cloro y sodio. Este método tiene la ventaja de la economía de su material y de su fiabilidad, pero exige gran atención al detalle, y la doble pesada, y necesidad de dilución, lo hacen engorroso. 2. El sistema Wescor Macroduct⁽¹¹⁾ en el que el sudor es recogido en un tubo de plástico espiral, evitándose los problemas de evaporación, siendo su principal ventaja la simplicidad, y el inconveniente el alto precio del material. Si con el método Macroduct, no se ha conseguido una cantidad suficiente de sudor, para el análisis bioquímico se puede estimar «in situ» la concentración de electrolitos, mediante la célula de conductividad eléctrica incorporada al aparato. Hay que tener en cuenta sin embargo, que la conductividad se correlaciona con la concentración de sodio + potasio, por lo que su valor tiene un sesgo positivo variable, (entre 15 y 20 mmol) respecto a los reales de cloro y sodio determinados bioquímicamente. Por otro lado, el método de la cubeta plástica para la recogida del sudor, y determinación «in situ» de la conductividad, debe ser rechazado para su uso distinto al screening. Existe un problema de condensación y evaporación inherente al método y fuente de falsos negativos y positivos respectivamente, especialmente con

determinaciones «in situ», en pequeñas muestras.

TRATAMIENTO

Para el tratamiento de la afectación digestiva se utilizan enzimas pancreáticas, polivitamínicos, y se insiste en la necesidad de una dieta alta en energía, con suplementos calóricos, y en algún caso, recurriéndose a la intervención nutricional, en forma de alimentación enteral, gastrostomía, o parenteral. El estado nutricional de los pacientes, por lo general, se puede mantener en buenas condiciones, hasta el sobrevenimiento de la afectación respiratoria severa. Es prometedor, el tratamiento precoz, con ácido ursodeoxicólico y taurina, de la afectación hepática. Es importante la detección y tratamiento precoz de la diabetes mellitus, que a menudo se manifiesta de forma insidiosa. Para el tratamiento de la enfermedad respiratoria, se utiliza básicamente la fisioterapia respiratoria diaria, encaminada a la eliminación de las secreciones infectadas, el ejercicio físico regular, y la antibioterapia agresiva, a menudo prácticamente continua durante largos períodos, por vías oral, parenteral y/o aerosol, orientada por los hallazgos en los cultivos periódicos de las secreciones respiratorias⁽¹²⁻¹⁴⁾.

EVOLUCIÓN EN EL MANEJO CLÍNICO Y LA COMPRENSIÓN DEL DEFECTO BÁSICO

La tabla I muestra algunos de los hitos clínicos⁽¹⁵⁾ a nuestro entender más importantes en la historia de la enfermedad, desde que Fanconi y Dorothy Anderson, la describieron en los años 30, basándose en los hallazgos en las autopsias, para separarla de la enfermedad celíaca.

Durante décadas, se progresó en el reco-

TABLA I HITOS EN LA HISTORIA DE LA FIBROSIS QUÍSTICA

Nombre	Año	Descubrimiento
Fanconi	1936	Primera descripción clínica
Dorothy Anderson	1938	Descripción detallada, relación con ileo meconial
Di Sant' Agnese	1946	<i>Staph. aureus</i> principal organismo en esputo
Farber	1950	Propone el término de mucoviscidosis
Di Sant' Agnese	1953	Aumento de cloro y sodio en el sudor
CF Foundation (USA)	1956	
Shwachman y Kulcycki	1958	Score clínico
Gibson, Cooke	1959	Test del sudor estandarizado fiable
CF Research Trust (U.K.)	1964	
Crossley	1979	Tripsina inmunorreactiva en el recién nacido
Quinton	1983	El defecto básico está en la secreción de cloro
Brock	1983	Diagnóstico bioquímico prenatal en 2º trimestre
Yacoub	1984	Transplante de corazón y pulmón
Tsui	1985	El gen FQ está en el cromosoma 7
Williamson, Scambler	1986-1988	Descubrimiento de múltiples sondas de DNA útiles para el diagnóstico prenatal
Wainwright, Estivill		
Farrall	1986	Nacimiento del primer niño tras la exclusión prenatal de la FQ por genética molecular
Tsui, Riordan, Collins	1989	Clonación del gen FQ. Principal mutación hallada
Tsui	1989	Consortio Internacional para el análisis genético de la FQ.
Drumm	1990	El defecto en la secreción de cloro corregido por transferencia genética en un cultivo celular
Kartner	1991	El CFTR es un canal de cloro
Snouwaert, Porteous	1992	Creación de ratones transgénicos FQ
Wilmott, Crystal	1993	Ensayos fase I de terapia genética en humanos
Guggino, Al-Awqati, Boucher	1995	Regulación de otros canales iónicos por el CFTR.

nacimiento del espectro de la enfermedad, y en el manejo clínico: mejor uso de antibióticos, refinamientos en las técnicas de fisioterapia, reconocimiento de la importancia de la no restricción grasa llevando una dieta alta en energía⁽¹⁶⁾, introducción de las nuevas enzimas pancreáticas más eficaces, a base de microesferas con cubierta entérica acidorresistente, y sobre todo, el establecimiento del tratamiento regionalizado multidisciplinario, en «Centros de Fibrosis Quística», siguiendo las recomendaciones de la Cystic Fibrosis Foundation de los EE.UU. o de la British Paediatric Association⁽¹⁷⁾. Sin embargo, la falta de conocimiento de la naturaleza del defecto básico,

lastró durante largo tiempo la investigación, que a menudo tomó direcciones equivocadas.

Hacia la comprensión del defecto básico en la FQ, confluyeron a partir de la década de los ochenta los trabajos de investigadores de dos campos diferentes, los electrofisiólogos investigadores del transporte iónico, y los genetistas moleculares. En 1981 Knowles⁽¹⁸⁾ mostró que el epitelio respiratorio de los pacientes con FQ mostraba una diferencia de potencial más elevada (era más electronegativo) que el de los controles, y Quinton⁽¹⁹⁾ señaló la impermeabilidad al cloro en los conductos de las glándulas sudoríparas, lo que llevaba, a un defecto en

la reabsorción activa de cloro que ocurre normalmente a ese nivel, que es seguida pasivamente por la de sodio, y que como consecuencia, hace que el sudor isotónico producido en el acino, se transforme en una solución hipotónica, lo que no ocurre en la FQ (Fig. 2). Estudios posteriores se realizaron en cultivos de células epiteliales FQ. Se documentó el mismo defecto, localizado en el polo apical, en la secreción de cloro, estimulada normalmente por la vía β -adrenérgica - AMP cíclico - Fosfoquinasas A y C. Este defecto estaba presente en el epitelio respiratorio, páncreas, intestino, y glándulas salivares y sudoríparas en la FQ, y a nivel del epitelio respiratorio, era acompañado por una reabsorción aumentada de sodio, que podía ser inhibida mediante la perfusión de amiloride (un inhibidor de los canales del sodio)⁽¹⁹⁾. Como consecuencia de la reabsorción aumentada de sodio que es el fenómeno dominante en condiciones basales normales, la superficie epitelial era más electronegativa, y, como hipótesis, la disminución en la luz de la vía aérea de cloro y sodio reduciría el gradiente osmótico, que normalmente hace que el agua les acompañe pasivamente, por lo que el líquido de revestimiento epitelial estaría «deshidratado» e hiperviscoso. El defecto en la secreción de cloro era «distal» a la cadena beta-adrenérgica-adenil ciclasa-AMP cíclico activación de fosfoquinasas A y C.

La búsqueda del gen de la fibrosis quística, se basó en el uso de las enzimas de restricción, que clivan la molécula de DNA, cuando reconocen una secuencia de nucleótidos propia de cada enzima («diana de restricción»). Diferencias en la secuencia del DNA en la misma zona, entre cada par de cromosomas, pueden ocasionar la desaparición de una diana de restricción, o la aparición de otra «polimórfica» nueva. Ello significa que la enzima de restricción, ya no va a cortar en los mismos lugares en los dos cromosomas, originándose fragmentos de

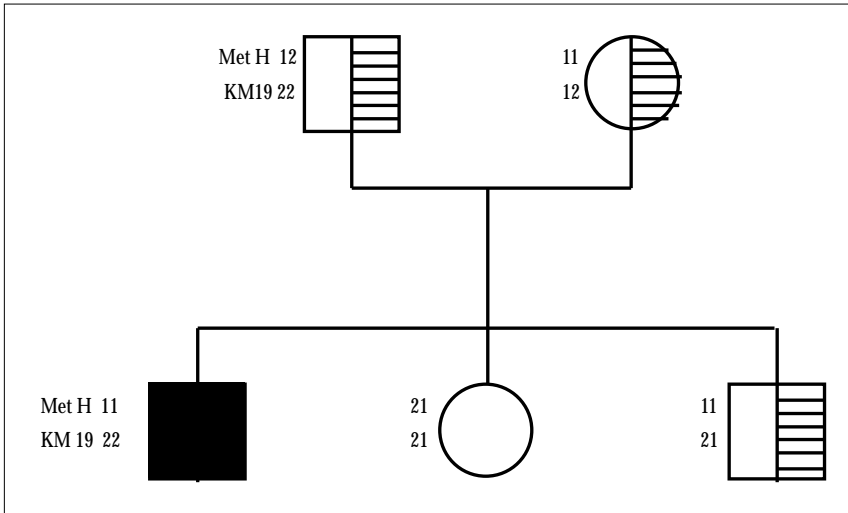


Figura 2 Estudio de una familia figurada utilizando los RFLP. Como se observa el matrimonio tiene un primer niño afecto, y un niño y una niña clínicamente no afectados. Utilizando enzimas de restricción y la sonda Met H se observa un polimorfismo en el padre (el fragmento más pequeño se representa convencionalmente con el símbolo 2) mientras que en la madre ambos fragmentos son del mismo tamaño (no es informativa). Como el niño afecto es homocigoto para el fragmento "1" se concluye que en el padre, el alelo 1 está en el mismo cromosoma que el gen FQ, y como el hermano pequeño ha recibido el alelo 1 debe ser portador en tanto que la hermana ha recibido el cromosoma paterno sano. Mediante la sonda KM19 se puede identificar el cromosoma materno enfermo, al comprobarse un polimorfismo por el que se concluye que el gen FQ está en el mismo cromosoma que el alelo 2 para esta sonda, y se identifican los hermanos como sano y portador respectivamente..

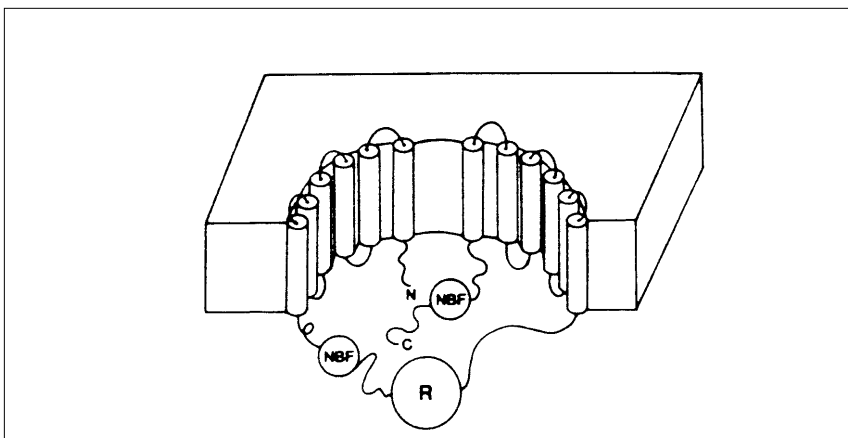


Figura 3 Estructura hipotética del CFTR. Descripción en texto. Tomada de Cuthbert AW

longitud diversa. Este fenómeno, se denomina «polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción» o RFLP. Sometiendo el DNA a la acción de varias enzimas, es posible generar múltiples RFLP. Los fragmentos son sometidos a electroforesis en gel, migrando con distinta velocidad según su tamaño. A continuación son transferidos, mediante la técnica de «Southern blot-

ting», a una membrana, y son sometidos a hibridación con «sondas» o «marcadores» de DNA, consistentes en fragmentos de DNA genómico o sintético, de secuencia conocida, marcados radiactivamente, y que se hibridizan con su secuencia complementaria en la membrana. Finalmente, mediante autorradiografía, se «visualiza» el polimorfismo. Cuanto más próximo esté

a un gen dado la «mutación» originaria del polimorfismo, y reconocible mediante su sonda o marcador específicos, más probable es que se transmita a la siguiente generación unida al gen, siendo mas improbable la recombinación en la meiosis, separándose del gen. O sea, existe un ligamiento o «linkage» entre el marcador y el gen. Mediante el estudio de múltiples familias con FQ con más de un niño afecto, se comenzaron a realizar estudios de linkage con RFLP. Por ejemplo, cuando en una familia con FQ con dos niños afectados, existía un RFLP con una sonda dada en ambos padres, y un niño con FQ era homocigoto para el fragmento pequeño, se investigaba si su hermano con FQ también lo era, y los hermanos sanos por el contrario o eran heterocigotos para esa sonda, u homocigotos para el fragmento grande. Si este fenómeno con este marcador se repetía en gran número de familias con FQ, se podía concluir que existía un linkage entre la sonda del gen FQ.

En 1985 se halló por primera vez un marcador situado en el brazo largo del cromosoma 7, en la banda q31. Nuevos marcadores, con un linkage cada vez más estrecho con el gen FQ fueron hallados a lo largo de los años siguientes⁽²⁰⁾.

A partir de 1987, utilizando una o varias de estas sondas, se comenzaron a realizar diagnósticos prenatales, mediante biopsia corial en el primer trimestre, con una fiabilidad superior al 99% (Fig. 3). La prosecución de los estudios, permitió la clonación de la región que albergaba el gen FQ, mediante técnicas llamadas de «walking and jumping»⁽²²⁾. Se halló mRNA correspondiente al gen propuesto en los epitelios de los órganos afectados por la enfermedad, y no en otros órganos. El gen era complejo, de 230 kilobases y comprendía 27 exones. Su cDNA predecía una proteína de 1480 aminoácidos cuya secuencia y estructura probable, elucidada a partir de estudios de ordenador, recordaba fuertemente a la del

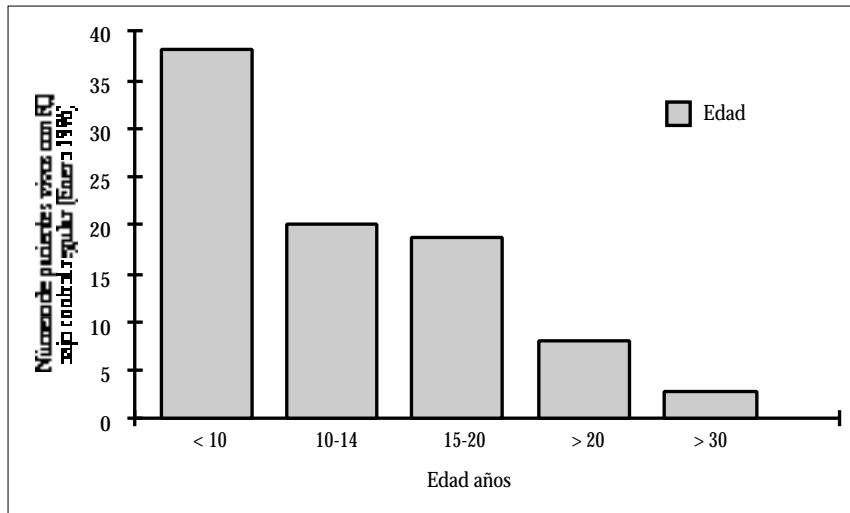


Figura 4 Número de pacientes vivos con FQ bajo control regular (Enero 1996).

grupo de ATPasas de membrana, y a la P-glicoproteína asociada a la aparición de resistencia múltiple a la quimioterapia anticancerosa. La proteína producto, fue denominada «regulador de la conductancia transmembrana FQ», o «CFTR». Su estructura y función probable encajaba bien con las propiedades para la proteína producto, predichas a partir de los estudios electrofisiológicos antes mencionados. Consta de dos mitades homólogas, cada una de ellas compuestas de un dominio hidrofóbico de seis subunidades, que se extendían de parte a parte de la membrana celular, y de un dominio hidrofílico intracitoplásmico, consistente en un pliegue ligador de nucleótidos o «NBF». Las dos mitades simétricas estaban unidas por medio de un «dominio regulador», ausente en otras ATPasas de membrana, el cual tenía 16 lugares potenciales para fosforilación por las fosfoquinasas A y C (Fig. 4)⁽²³⁾. Usando anticuerpos monoclonales e inmunofluorescencia, el CFTR fue localizado en la membrana apical de células epiteliales de los ductos de los órganos diana. La expresión del CFTR a nivel de las vías aéreas, era muy pequeña a nivel de las células de la superficie epitelial, y muy alta a nivel de las glándulas submucosas, apuntando que anomalías en su fun-

cionamiento, podían ser importantes en la patogénesis de la enfermedad respiratoria.

Una comprobación fundamental de que el gen hallado correspondía realmente al gen FQ, consistía en la identificación de una mutación específica, nunca encontrada en cromosomas sanos. Esta primera mutación fue una delección de un triplete de bases que codificaban el aminoácido fenilalanina en la posición 508 del polipéptido, (F508), situada en el primer NBF, el más próximo a la terminación N. Esta mutación se encontraba en aproximadamente el 70% de la población canadiense que fue objeto del estudio inicial de los descubridores del gen. En este estudio pionero, los autores comprobaron que los pacientes homocigotos

F508 eran siempre pancreoinsuficientes (PI), mientras que los pacientes portadores sólo de una mutación F508 y de otra no identificada, o que portaban dos mutaciones no identificadas podían ser PI o pancreosuficientes (PS). Emitieron la hipótesis de que F508 era una mutación «grave» en cuanto al estatus pancreático, y que debía haber otras mutaciones graves y leves a este respecto. Para que un paciente fuera PI, debía ser portador de dos mutaciones graves, que se comportaban así de forma «recesiva» en cuanto a la manifestación de PI.

Tras la clonación del gen, se fundó un consorcio internacional, con el objetivo de identificar todas las mutaciones asociadas a la enfermedad, y elucidar las correlaciones genotipo-fenotipo. Se halló que la F508 era la mutación más prevalente, en la casi totalidad de los países. Su prevalencia era muy variable según los países, observándose en Europa un gradiente positivo de prevalencia de este a oeste y de Sur a Norte, con un máximo de alrededor del 80% de cromosomas F508 en Dinamarca y Norte de Inglaterra y un mínimo de menos del 30% en Turquía. La prevalencia en España e Italia era de aproximadamente el 50% con una prevalencia más alta en la población vasca.

Más de 400 mutaciones FQ han sido descritas hasta la fecha. Su prevalencia varía entre las diversas poblaciones. La gran mayoría son raras, algunas habiendo sido descritas en una sola familia. Muchas afectan a uno u otro de los NBF, o a los dominios intramembrana. Pocas se han descrito en el dominio R. Por el tipo de mutación se clasifican en delecciones simples; mutaciones «missense», o de sustitución de un aminoácido por otro; mutaciones «nonsense» caracterizadas por introducir un codón que emite la señal de interrumpir la transcripción en un momento determinado de la cadena del DNA por ejemplo en la mutación G542X, en el codón correspondiente a la glicina en la posición 542 del CFTR, con lo cual, no se produce en absoluto la proteína, o se produce una proteína «truncada» que es rápidamente degradada; mutaciones «frameshift», en las cuales hay una delección o inserción de un número de pares de bases distinto a un múltiplo de tres, con lo que hay un «corrimiento», con alteración total de la composición de los codones -y por consiguiente de los aminoácidos resultantes- a partir del lugar de la mutación; finalmente las mutaciones «splice» afectan a la maduración o splicing del mRNA tras la transcripción, con fallo en el clivaje apro-

piado de los segmentos normalmente no codificante o intrones. Tanto las mutaciones frameshift como las de splice, se asocian también a una rápida degradación del mRNA o de la proteína y junto con las nonsense se asocian a fenotipos «graves».

La hipótesis inicial de que el estatus pancreático está genotípicamente determinado, ha sido confirmada, con pocas excepciones. Por contra existen escasas correlaciones del genotipo con la severidad de la enfermedad pulmonar, aunque se han publicado algunas; por ejemplo, en un estudio⁽²⁴⁾, con la edad a la colonización por P.a. y función pulmonar, como marcadores de severidad. En general, las mutaciones propuestas como posiblemente leves en cuanto a la enfermedad pulmonar, han sido más frecuentes entre las «missense» que afectan a los dominios intramembrana del CFTR, y es más probable que se asocien a PS. Las missense que afectan a los NBF, se asocian frecuentemente a fenotipos severos. No se han encontrado en general diferencias en la severidad de la enfermedad pulmonar, entre los pacientes homocigotos para F508, y los pacientes con otros genotipos asociados a PI⁽²⁵⁾. El efecto de las diversas mutaciones sobre la función del CFTR, ha

sido recientemente revisado⁽²⁶⁾. En particular para la mutación F508 y otras, se ha elucidado que el problema estriba en que el CFTR mutante, es retenido en el retículo endoplásmico (RE), sin alcanzar su localización correcta en la membrana apical.

Un hito significativo lo representó la «curación in vitro», de la FQ alcanzada cuando se demostró que la transferencia genética de la región codificante salvaje del CFTR, a células FQ en laboratorio, era suficiente para corregir el defecto en el canal de cloro⁽²⁷⁾. En toda clase de células en las que el CFTR salvaje fue expresado, se detectó la presencia de un canal de cloro activado por AMP cíclico, incluso en aquellas células que naturalmente carecen de él. La comprobación definitiva de que el CFTR era un canal de cloro y no meramente un regulador de su actividad, vino de otro estudio en el que el CFTR fue purificado y reconstituido en bilayers lipídicos generándose canales de cloro activados por el AMP cíclico.

Aunque está claro que el CFTR es un canal de cloro, otras de sus funciones podrían ser relevantes⁽²⁸⁾. Se trata de su papel, además de como canal de cloro, suministrando hipotéticamente el agua necesaria para la hidratación de las mucinas y líqui-

do periepitelial, en los siguientes aspectos: 1) inhibición de la endocitosis y activación de la exocitosis, 2) acidificación del aparato de Golgi, que es defectuosa en la FQ, y podría tener como consecuencia, un defecto en las enzimas sialiltransferasas, responsables de la sialización de las mucinas lo que podría relacionarse con la adhesividad aumentada al epitelio respiratorio del S.a. y P.a. Muy recientemente se han efectuado dos importantes descubrimientos: que el CFTR puede transportar ATP además de Cl y, el ATP interacciona con receptores en la superficie celular que regulan los canales de Na, y al menos otro canal de Cl de mayor conductancia que el CFTR llamado el ORCC⁽²⁹⁾, y que existen receptores específica para los pili de la P.a., denominados asialogangliósidos GM1, cuyo número está aumentado en la FQ⁽³⁰⁾.

ESTADO ACTUAL DEL TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD RESPIRATORIA Y PERSPECTIVAS FUTURAS

Un avance muy importante fue la creación de ratones transgénicos con «FQ». La corrección del defecto en el transporte de

TABLA II ESTRATEGIAS TERAPÉUTICAS PARA LA ENFERMEDAD PULMONAR EN LA FQ.

Anomalia	Solución	Método
Gen FQ anormal	Suministrar el gen normal	Terapia genética
CFTR anormal	Suministrar el CFTR normal	¿Terapia proteínica?
	Activar el CFTR mutante	¿Otras?
Transporte iónico anormal	Inhibir la absorción de Na ⁺	Amiloride
	Activar la secreción de Cl ⁻	ATP/UTP
Moco anormal	Reducir la viscosidad	DNAasa
Aclaramiento mucociliar anómalo	Favorecerlo	Fisioterapia/ejercicio
Infección bronquial con <i>P. aeruginosa</i>	Prevención. Reducir la carga bacteriana	Evitar infección cruzada
Respuesta inflamatoria	Disminuirla	Vacuna. Tratamiento precoz. Antibioterapia
Insuficiencia respiratoria	Reemplazar el tejido	Esteroides, ibuprofén
		Transplante pulmonar
		dañado irreversible

Modificado de Collins FS

cloro, en el ratón transgénico mediante la nebulización de un complejo liposomal-cDNA del CFTR, y en el epitelio nasal humano, utilizando adenovirus como vectores, han sido comunicados⁽³¹⁾. Varios ensayos de terapia génica, en voluntarios con FQ, se iniciaron, utilizando adenovirus o liposomas como vectores, y el epitelio nasal o bronquial como células diana⁽³²⁾. Sin embargo, continúa habiendo importantes obstáculos en la seguridad y eficacia de la terapia génica en la FQ, que recalcan la necesidad de más investigación básica para diseñar vectores más eficientes que los actuales, y han alejado la esperanza de resultados clínicos inmediatos⁽³³⁾.

La tabla II, muestra un esquema de las formas de tratamiento de la enfermedad pulmonar de la FQ, ya rutinariamente empleadas o potenciales. En el terreno clínico, avances en la comprensión de la patogénesis de la enfermedad pulmonar, han subrayado el papel central de la infección bronquial crónica por P.a. en el declive pulmonar de los pacientes. Medidas como el aislamiento de los pacientes infectados de los no infectados, o el tratamiento precoz de la colonización, pueden retrasar el comienzo de la infección bronquial crónica. El desarrollo de una vacuna específica podría disminuir la tasa de adquisición de la infección⁽³⁴⁾. Cuando la infección bronquial crónica se desarrolla, el germen no puede ser erradicado. La respuesta inmunológica creciente frente a antígenos de P.a. se muestra incapaz de erradicar la infección, y como consecuencia de la estimulación inmune continúa, con formación de inmunocomplejos, se desarrolla una inflamación de predominio neutrofílico, con un desbalance proteasas neutrofílicas/antiproteasas, que daña el tejido pulmonar, perpetúa el círculo vicioso de la inflamación, e interfiere con la efectividad de la respuesta inmunológica del huésped⁽³⁵⁾. El valor del tratamiento prolongado antiinflamato-

rio con esteroides⁽³⁶⁾ u otros fármacos como el ibuprofén⁽³⁷⁾ ha sido demostrado en pacientes seleccionados. El valor potencial del tratamiento con antielastinas como la alfa 1-antitripsina, o el inhibidor de la leucoproteasa serínica, ha sido señalado. El contenido de DNA del esputo es muy alto, lo que aumenta su viscosidad. El tratamiento en aerosol con DNAasa humana recombinante, ha sido recientemente aprobado para su uso en la FQ, y se ha comunicado se asocia con discreta mejoría en la función pulmonar, y disnea así como menor necesidad de antibióticos intravenosos. Ensayos clínicos con amiloride en aerosol, han sido llevados a cabo, con resultados iniciales alentadores, aunque más recientemente ensayos controlados, no encontraron beneficios. Otra vía que está siendo ensayada en la actualidad, con resultados iniciales prometedores, es la administración conjunta de amiloride, y nucleótidos como el UTP, que son capaces de activar la secreción de cloro, a través del epitelio respiratorio, abriendo otro canal, dependiente del calcio, el cual no está afectado en la FQ. El panorama de los nuevos tratamientos para la enfermedad respiratoria, ha sido recientemente revisado⁽³⁸⁾.

Finalmente, el trasplante cardiopulmonar, o doble-pulmonar, representa la única salida para los pacientes en su etapa final de insuficiencia respiratoria irreversible. Se ha comunicado una supervivencia de 50% a 65% a los dos años, con lento declive posterior, y buena calidad de vida en la mayoría de los supervivientes. La falta de donantes, alta mortalidad inmediata, y alta incidencia de rechazo crónico pulmonar en forma de bronquiolitis obliterante, obscurcen todavía la perspectiva para los candidatos a trasplante.

Los avances experimentados en el conocimiento básico de la FQ, han sido asombrosos en los últimos años, pero es todavía pronto para saber si la introducción de algu-

nas de las vías terapéuticas novedosas comentadas, alterarán de forma fundamental el curso de esta devastadora enfermedad, respecto a los resultados obtenidos con el tratamiento convencional. Sin embargo, nunca el futuro para los afectados ha sido tan alentador.

BIBLIOGRAFÍA

1. Wood RE, Boat TF, Doershuk CF. Cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1976; **113**: 833-878.
2. Lloyd-Still JD. Ed. *Textbook of cystic fibrosis*. Boston 1983, John Wright PSG Inc.
3. Quinton PM. Cystic fibrosis: a disease in electrolyte transport. *FASEB J* 1990; **4**: 2709-2717.
4. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics* 1959; **23**: 545-549.
5. Warner JO. Respiratory problems and their treatment. *Br Med Bull* 1992; **48**: 931-948.
6. Smith DL, Stableforth DE. Management of adults with cystic fibrosis. *Br J Hosp Med* 1992; **48**: 713-723.
7. Hodson ME, Beldon I, Power R, Duncan FR, Bamber M, Batten JC. Sweat test to diagnose cystic fibrosis in adults. *Br Med J* 1983; **286**: 1381-1383.
8. Highsmith WE, Burch LH, Zhaoqing Zhou RN, Olsen JC, Boat TE, Spock A, Gervoy JD, Quittell L, Friedman KJ, Silverman LM, Boucher RC, Knowles MR. A novel mutation in the cystic fibrosis gene in patients with pulmonary disease but normal sweat chloride concentrations. *N Engl J Med* 1994; **331**: 974-980.
9. Denning CR, Huang NN, Cuasay LR et al. Cooperative study comparing three methods of performing sweat test to diagnose cystic fibrosis. *Pediatrics* 1980; **66**: 752-757.
10. Vázquez C, Pérez de Saracho M, Elorz J, Baranda F, Vitoria JC, Sojo A. *Reevaluación del test del sudor para el diagnóstico de la FQ y encuestas sobre su metodología actual en Hospitales de España*. III Congreso Nacional de Fibrosis Quística. Valencia 30 Noviembre - 2 Diciembre 1995, Libro de resúmenes p 59.
11. Hammond KB, Turcios NL, Gibson LE. Clinical evaluation of the macroduct sweat collection system and conductivity analyzer for the diagnosis of cystic fibrosis. *J Pediatr* 1994; **124**: 255-260.

12. Littlewood JM. An overview of the management of cystic fibrosis. *J Royal Soc Med* 1986; **12**: 55-63.
13. Szaff M, Høiby N, Flensburg EW. Frequent antibiotic therapy improves survival of cystic fibrosis patients with chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Acta Paediatr Scand* 1983; **72**: 651-657.
14. Hodson ME, Penketh ARL, Batten JC. Aerosol Carbenicillin and Gentamycin treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with cystic fibrosis. *Lancet* 1981; **ii**: 1137-1139.
15. Super M. Milestones in cystic fibrosis. *Br Med Bull* 1992; **48**: 717-737.
16. Corey M, Mc Laughlin FJ, Williams M, Levison H. A comparison of survival, growth and pulmonary function in patients with cystic fibrosis in Boston and Toronto. *J Clin Epidemiol* 1988; **6**: 583-591.
17. Jackson ADM. Working party on cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1986; **61**: 724.
18. Knowles M, Gatzky J, Boucher R. Increased bioelectric potential difference across respiratory epithelia in cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1981; **305**: 1489-1495.
19. Quinton PM. Chloride impermeability in cystic fibrosis. *Nature* 1983; **301**: 421-422.
20. Cuthbert AW. Abnormalities of airway epithelial function and the implications of the discovery of the cystic fibrosis gene. *Thorax* 1991; **46**: 124-130.
21. Estivill X. Diagnóstico prenatal de fibrosis quística. *An Esp Pediatr* 1988; **29**: 1-5.
22. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B-S et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989; **245**: 1059-1065.
23. Collins FS. Cystic fibrosis: Molecular biology and therapeutic implications. *Science* 1992; **256**: 774-779.
24. Kubesch P, Dörk T, Wulbrand U et al. Genetic determinants of airways colonisation with *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Lancet* 1993; **341**: 189-193.
25. The cystic fibrosis genotype-phenotype consortium. Correlation between genotype and phenotype in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1993; **329**: 1308-1313.
26. Welsh MJ, Smith AE. Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis. *Cell* 1993; **73**: 1251-1254.
27. Rich D, Anderson MP, Gregory RJ et al. Expression of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator corrects defective chloride channel regulation in cystic fibrosis airway epithelial cells. *Nature* 1990; **347**: 358-363.
28. Richardson PS, Alton EFWF. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator protein. What is its role in cystic fibrosis?. *Eur J Respir Dis* 1993; **6**: 160-162.
29. Regulation of ion channels by ABC transporters that secrete ATP. *Science* 1995; **269**: 805-806.
30. Price A, DiMango E, Bryan R, Zar H, Saiman L. Early events in the pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* infection in CF. *Pediatr Pulmonol* 1995; (Suppl 12): 73-74.
31. Zabner J, Couture LA, Gregory RJ, Graham SM, Smith AE, Welsh MJ. Adenovirus-mediated gene transfer transiently corrects the chloride transport defect in nasal epithelia of patients with cystic fibrosis. *Cell* 1993; **75**: 207-216.
32. Crystal RG, Mc Elvaney NG, Rosenfeld MA et al. Administration of an adenovirus containing the human CFTRcDNA to the respiratory tract of individuals with cystic fibrosis. *Nature Genet* 1994; **8**: 42-51.
33. Knowles MR, Hohnaker KW, Zhaoqing Zhou RN, Olsen JC, Noah TL, Hu P-Ch, Leigh MW, Engelhardt JF, Edwards LJ, Jones KR, Grossman M, Wilson JM, Johnson LG, Boucher RC. A controlled study of adenoviral-vector-mediated gene transfer in the nasal epithelium of patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1995; **333**: 823-831.
34. Lang AB, Schaad UB, Rudeberg A, Wedgwood J, Que JU, Fürer E, Cryz SC. Effect of high-affinity anti-*Pseudomonas aeruginosa* lipopolysaccharide antibodies induced by immunization on the rate of *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr* 1995; **127**: 711-717.
35. Høiby N. *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis and its management. *Thorax* 1990; **45**: 880-884.
36. Eigen H, Rosenstein BJ, FitzSimmons S, Schidlow DV and the Cystic Fibrosis Foundation Prednisone Trial Group. A multicenter study of alternate-day prednisone therapy in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr* 1995; **126**: 515-523.
37. Konstan MW, Byard PJ, Hoppel ChL, Davis PB. Effect of high-dose ibuprofen in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1995; **332**: 848-854.
38. Stableforth DE. New respiratory therapies in cystic fibrosis. *J Royal Soc Med* 1994; **87**(Suppl 21): 11-16.