

## ACTUALIZACION: DIAGNÓSTICO DE FIBROSIS QUÍSTICA

La Fibrosis Quística (FQ) es una enfermedad genética de herencia autosómica recesiva, multisistémica, potencialmente letal, caracterizada por disfunción de las glándulas de secreción exocrina.

La incidencia estimada en Argentina es de 1/7000 (Provincia Buenos Aires 1:7039)<sup>1</sup> recién nacidos y la prevalencia de portadores sanos de la mutación es, aproximadamente, de 1:40.

Si bien la primera descripción de la FQ como entidad fue realizada por Andersen en 1938<sup>2</sup>, recién en la década de 1980 se descubrió que el defecto fundamental se debe a la falla en la secreción celular de cloro<sup>3</sup>, en 1989 se logró el aislamiento y caracterización del gen responsable<sup>4</sup> y, a partir de ese momento, se comenzó a comprender la estructura y función de la proteína codificada por este gen, denominada Reguladora de Conductancia de Transmembrana de Fibrosis Quística (CFTR, por su sigla en inglés): un canal activado por AMP cíclico que conduce el cloro a través de las membranas de las células epiteliales y que regula otros canales, constituyendo el defecto fundamental para producir secreciones anormales. Estos conocimientos fueron la base para el conocimiento de la fisiopatología de las manifestaciones clínicas y el desarrollo de estrategias de diagnóstico y tratamiento.

Los pacientes con FQ deben tener dos mutaciones causantes de la enfermedad en *trans* (en distintos cromosomas) en el gen CFTR que está localizado en el cromosoma 7. De este gen, desde su clonación en 1989 se han descrito más de 2.000 mutaciones en la Cystic Fibrosis Mutation Database (CFMD)<sup>5</sup>. Esta base de datos ha servido de referencia para la clasificación de las mutaciones en base al mecanismo:

**Clase 1** Proteína CFTR no funcional (síntesis truncada): G542X, R1162X, R553X, W1282X

**Clase 2** Proteína CFTR poco funcional: D $\Delta$ F508, N1303K

**Clase 3** Defecto en la regulación del transporte de cloruros G551D, G551S, G1349D

**Clase 4** Defecto de la conductancia del canal de cloruros con alguna funcionalidad del CFTR: R117H, R347P, R334W

**Clase 5** Cantidad disminuida de proteína CFTR funcional: A455E, 3849+10kbC $\rightarrow$ T, 3120+1G $\rightarrow$ A

**Clase 6** Disminución de la estabilidad de la proteína CFTR: 120del23, N287Y

Las clases 1, 2 y 3 están asociadas a escasa o nula función del CFTR y por consiguiente a los fenotipos más severos, incluyendo insuficiencia

pancreática exocrina. Las clases 4 y 5 incluyen variantes con función del CFTR residual que preservan la capacidad exocrina del páncreas especialmente en etapas precoces de la vida. Algunas mutaciones como la del F508 (clase 2) cumple criterios de más de una clase funcional, siendo también de clase 3 y 6. Además, el grado de severidad de las manifestaciones clínicas puede variar ampliamente entre personas con diferentes mutaciones severas, aun entre hermanos, expresando la presencia de otros factores, tales como condiciones ambientales y genes modificadores<sup>6</sup>.

Si bien se han descrito tantas mutaciones del gen CFTR, en más de 26.000 pacientes de EEUU se halló que más del 90% de ellos es portador de una de las 10 más frecuentes<sup>7</sup>.

Recientemente ha sido creada la base CFTR2 para evaluar las características y la severidad de la enfermedad con las diversas mutaciones<sup>8</sup>. En ella se clasifica a las mutaciones en:

- 1) **causantes de FQ**: cuando hay dos de ellas en *trans* tendrán FQ (igualmente requiere confirmación de cloro en sudor mayor a 30 mmol/L)
- 2) **de consecuencias clínicas variables (CCV)**: cuando se combina con una causante de FQ u otra de CCV puede resultar en FQ
- 3) **de consecuencias desconocidas**: no han sido evaluadas por el CFTR2
- 4) **no causante de FQ**: con una o más es improbable tener FQ

La ausencia de detección de 2 mutaciones causantes no excluye el diagnóstico de FQ dado el alto número de mutaciones existentes y la reducida cantidad que tienen los paneles comerciales habitualmente utilizados.

Con el advenimiento de las nuevas tecnologías de biología molecular como la **secuenciación** (que evalúa las regiones codificantes del gen y las no codificantes donde se conoce existen mutaciones, pero no el gen entero) se ha incrementado el número de alteraciones en la secuencia de ADN detectadas, aunque de las más de 2.000 variantes informadas a la base de datos, solo el 10-15% son causantes de FQ y en muchas se desconoce su significado en relación a la disfunción que pudieran producir. Asimismo, pueden detectarse mediante esta técnica alelos complejos (dos o más mutaciones en el mismo cromosoma, en *cis*) que requiere la evaluación genética de los padres para conocer como se han segregado.

En presencia de estas anomalías, todas las secreciones de las glándulas con función exocrinas están involucradas, por lo que las manifestaciones clínicas principales son respiratorias, con inflamación e infección, malabsorción intestinal, azoospermia y sudor anormal.

La mayoría de los pacientes actualmente en seguimiento en todos los centros de asistencia han sido diagnosticados por síntomas, pero con la generalización de los programas provinciales de pesquisa neonatal, el número de pacientes diagnosticados por este método es significativamente creciente, por lo que en los últimos años disminuyó la edad de diagnóstico, siendo menor de 1 mes en el 11% y entre 1 y 11 meses de vida en el 54% de los pacientes, con una mediana de edad al diagnóstico de 4 meses<sup>1</sup>.

Cuanto más tardío el diagnóstico, más se posterga el inicio del tratamiento adecuado, asociado a un incremento en la morbilidad y mortalidad. En los últimos años se ha observado, a nivel mundial, un importante aumento de la expectativa de sobrevida, como resultado del diagnóstico precoz, el conocimiento de los mecanismos fisiopatológicos, el tratamiento adecuado, la formación de equipos multi e interdisciplinarios integrados por: pediatras o clínicos neumonólogos, kinesiólogos, nutricionistas, gastroenterólogos, enfermeras, bioquímicos, trabajadores sociales, especialistas en salud mental y genetistas, y la asistencia en centros especializados.

Es así que la expectativa media de vida que hasta hace pocas décadas apenas superaba los 15 a 20 años, actualmente, sin los moduladores del CFTR, que recientemente han sido incorporados, supera los 50 años<sup>9</sup> y cada día se acerca más a la de la población general.

El **diagnóstico** de la enfermedad se realiza a partir de una pesquisa neonatal positiva, por antecedente de un hermano afectado o por manifestaciones clínicas y se confirma detectando la disfunción del canal CFTR mediante la prueba de sudor positiva o el hallazgo de dos mutaciones del gen CFTR causantes de FQ<sup>10</sup>.

La aproximación al diagnóstico mediante la pesquisa neonatal (PN) es de elección, habida cuenta que ya en 1958 Shwachman<sup>11</sup> demostró que el diagnóstico y tratamiento precoz está estrechamente relacionado con el pronóstico del afectado. Numerosos estudios posteriores han corroborado y enfatizado su vital importancia. Es obligatoria en nuestro país como lo indica la ley nacional 26.279 (año 2007), con la determinación sérica de Tripsina Inmuno Reactiva (TIR) la que está elevada en los afectados debido a la obstrucción parcial de los conductos pancreáticos determinando un anormal drenaje en intestino. En caso de superar el límite normal, se repite la determinación (método TIR/TIR), y si esta segunda determinación es anormal, se debe solicitar la prueba de sudor para confirmar el diagnóstico.

Esta secuencia de estudio, con una sensibilidad de 87% y especificidad de 99%, se utiliza también en algunos estados de Australia y EEUU<sup>12</sup>, en nuestro país y en muchos otros. Se debe recordar que una PN positiva no significa que el paciente tenga FQ, ya que no es una prueba diagnóstica y que debe ser realizada antes del mes de vida.

En la provincia de Buenos Aires, confirmado el diagnóstico, se busca la presencia de una de 37 mutaciones con PCR con amplificación en multiplex de varios exones del gen CFTR con posterior hibridización con sondas específicas que permiten diferenciar el alelo normal del mutado. Si no se hallan mutaciones, se trata de realizar la secuenciación del gen para determinar si el paciente puede ser tratado con alguno de los moduladores disponibles.

Sin embargo, la mayoría de los países desarrollados que cuentan con programa de FQ con PN realizan la determinación de TIR y si es positiva, identifican la variante del CFTR, con múltiples variables de estrategia: en algunos estados se investiga delF508 (Wisconsin, EEUU, con una prevalencia de delF508 de 88,5%<sup>13</sup>), método que cuenta con una sensibilidad de 94% y especificidad de 99%, panel de 12 mutaciones (algunos estados de Australia) y paneles de 16 a 39 mutaciones (Francia, algunos estados de EEUU) con una sensibilidad de 97,5% y especificidad de 99,6%.<sup>14</sup> Estas estrategias, conocida como TIR/ADN, tienen mayor sensibilidad, predicen el estado funcional pancreático y permiten planificar estrategias terapéuticas<sup>15</sup>. Aunque en estas estrategias de pesquisa se encuentren mutaciones causantes, no debe confirmarse el diagnóstico en base a ellas y siempre se debe medir el cloruro en el sudor y realizar el genotipo en el paciente.

Algunos programas en Alemania<sup>16</sup>, luego de determinar TIR elevada, utilizan un biomarcador, la proteína asociada a la pancreatitis, método TIR/PAP, combinación que demostró ser la de más alto costo, y alto número de falsos positivos.

En algunos programas para aumentar la sensibilidad, implementan una red de seguridad, como es la realización de la prueba de sudor en los lactantes con niveles muy altos de TIR.

Más allá de la estrategia utilizada, tanto en países desarrollados como EEUU y en nuestro país el porcentaje de pacientes diagnosticados a partir de la PN se ha incrementado notablemente, que de acuerdo con los registros se encuentra en 64% y 61%.

De acuerdo con el Registro Obligatorio De Personas con Fibrosis Quística de la provincia de Buenos Aires, en 297 pacientes se halló delF508 en al menos un alelo en el 73%<sup>1</sup>.

La PN también puede identificar portadores heterocigotas y lactantes con diagnóstico inconcluso (lactantes asintomáticos con PN positiva pero con datos de cloruros en sudor o la ausencia de una o las dos mutaciones del CFTR para sustentar el diagnóstico de FQ); en este último caso los niños deben ser seguidos en el centro de FQ-repitiendo la prueba de sudor y con evaluación clínica y de laboratorio ( evaluación de función pancreática con medición de elastasa pancreática, cultivo de secreciones respiratorias, estudios de imágenes, función pulmonar, etc.). Este grupo pareciera tener poco riesgo de desarrollar FQ en el tiempo.

También debe comentarse que la pesquisa preconcepción de mutaciones del CFTR se ofrece a individuos sin antecedentes familiares de FQ en algunos estados de EEUU, Israel e Italia.

Para el diagnóstico de FQ por manifestaciones clínicas es necesario un alto nivel de sospecha del médico pediatra, clínico y neumólogo, en presencia de:

- enfermedad pulmonar persistente/crónica
- compromiso de senos paranasales crónica, más aún en presencia de pólipos nasales
- malabsorción intestinal con heces anormales, con alto contenido graso,
- íleo meconial, síndrome de obstrucción intestinal distal
- progreso nutricional deficitario o desnutrición,
- prolapso rectal
- pancreatitis recurrente
- cirrosis hepática con hipertensión portal
- síndrome de pérdida de sal
- azoospermia

A pesar del alto conocimiento de la relevancia funcional de las mutaciones del CFTR, la **prueba de sudor** sigue siendo el método diagnóstico más sensible y específico para el diagnóstico de FQ. El método cuantitativo de Gibson y Cooke <sup>17</sup> es aceptado en el mundo como definitivamente diagnóstico, cuando la determinación de cloruros es superior a 60 mmol/L. En la actualidad, hay consenso internacional de considerar valores intermedios cuando el resultado es entre 30 a 60 mmol/L. Con valores por debajo de 30 mmol/L la FQ es improbable (excepto algunas mutaciones que se asocian a valores bajos de cloro como la 3849+10 KbC>T). Sin embargo, en algunos sistemas de salud, incluyendo países con bajos recursos y algunas

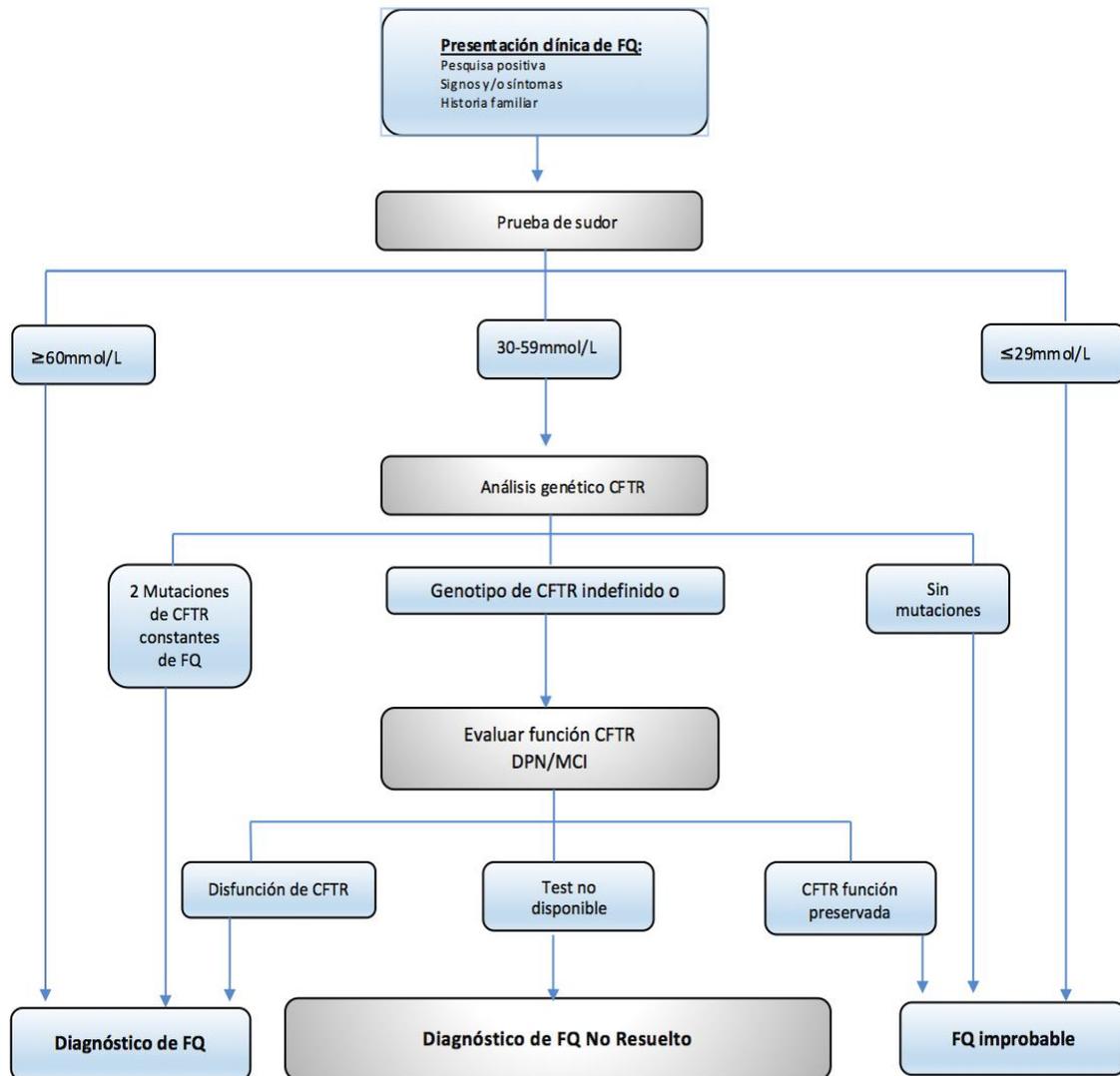
provincias argentinas, la disponibilidad de una prueba de sudor de alta calidad es baja.<sup>18</sup>

Ante un niño con PN positiva y valores de cloro en sudor intermedios (en al menos dos oportunidades) y en los que el estudio molecular habitual ha detectado menos de 2 mutaciones causantes de FQ (1 ó ninguna), se debe realizar un estudio ampliado de mutaciones u otros métodos de evaluación de la función del CFTR como la Diferencia de Potencial Nasal (DPN) o la Medida de la Corriente Intestinal (MCI).

En pocos centros se dispone de la DPN o MCI para demostrar la anormal función de CFTR para los que se requiere amplia experiencia y hay consenso en que ambos métodos deben reservarse para los pacientes con diagnóstico dudoso<sup>19</sup>. En caso de no poder confirmar el diagnóstico el niño debe ser asistido en un centro de FQ.

En 2-5 % de los pacientes existe un fenotipo leve caracterizado por enfermedad pulmonar crónica, suficiencia pancreática y concentraciones de cloruros en sudor normales o intermedios, y en ocasiones no se hallan las dos mutaciones de CFTR. La azoospermia es constante.

Asimismo, hay entidades clínicas mono sintomáticas (ausencia bilateral congénita de vasos deferentes o pancreatitis o bronquiectasias) asociadas a disfunción del CFTR que no cumple con criterios diagnósticos de FQ, denominadas **enfermedades relacionadas al CFTR**. En ellos se ha encontrado una incidencia de mutaciones del CFTR más elevada que en la población general. Estos pacientes deben ser seguidos también en el centro de FQ.

ALGORITMO CONSENSO CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION<sup>10</sup>

## Bibliografía

---

- <sup>1</sup> Registro Provincial Obligatorio de Personas con Fibrosis Quística, Provincia Buenos Aires, 2019. Disponible en <http://fibrosisquistica.org.ar>
- <sup>2</sup> Andersen DH, Cystic Fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: Clinical and pathological study. *Am J Dis Child*. 1938;56: 344-99
- <sup>3</sup> Quinton P. Chloride impermeability in Cystic fibrosis. *Nature* 1983; 301: 421-22
- <sup>4</sup> Riordan JR et al. Identification of the Cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989; 245:1066-73
- <sup>5</sup> Cystic Fibrosis Mutation Database 2017.  
<http://www.genet.sickkids.on.ca/home.htm>
- <sup>6</sup> Cutting G. Modifier genes in Mendelian disorders: the example of Cystic fibrosis. *Ann NY Acad Sci*. 2010; 1214:57-69
- <sup>7</sup> Patient Registry, 2018, Annual Report Cystic Fibrosis Foundation, [cff.org](http://cff.org)
- <sup>8</sup> US CFF John Hopkins University. Hospital for children. CFTR2 Clinical and functional translation of CFTR. <http://www.CFTR2.org>.
- <sup>9</sup> Corriveau S et al. Cystic Fibrosis survival: the changing epidemiology. *Curr Opin Pulm Med*.2018; 24: 574-78
- <sup>10</sup> Farrell P, White T, Ren C. Diagnosis of Cystic Fibrosis: Consensus Guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation. *J Pediatr* 2017; 181S:S4-15
  
- <sup>11</sup> Shwachman H, et al. Long-term study of one hundred five patients with Cystic fibrosis. *Am J Dis Child* 1958; 96:6-15
- <sup>12</sup> Gonska T and Ratjen F. Newborn Screening for Cystic Fibrosis. *Expert Rev Respir Med* 2015; 9:619-31
- <sup>13</sup> Farrell, P.M.; Kosorok, M.R.; Rock et al. Early Diagnosis of Cystic Fibrosis through Neonatal Screening Prevents Severe Malnutrition and Improves Long-Term Growth. *Pediatrics* 2001, 107, 1–13.
  
- <sup>14</sup> Sontag MK, Hammond K, Zielenski J et al. Two-tiered immunoreactive trypsinogen-based newborn screening for Cystic fibrosis in Colorado: screening efficacy and diagnosis outcomes. *J Pediatr*. 2005;147: S83-8
- <sup>15</sup> Farrell P, Rock M, Baker M. The impact of the CFTR gene discovery on Cystic fibrosis diagnosis, counseling, and preventive therapy. *Genes* 2020;11;4: E401
- <sup>16</sup> Sommerburg O, Hammermann J, Lindner M, et al. Five years of experience with biochemical cystic fibrosis newborn screening based on IRT/PAP in Germany. *Pediatr Pulmonol* 2015;50: 655-64
  
- <sup>17</sup> Gibson L, Cooke R. A test for concentration of electrolytes in sweat in Cystic Fibrosis of the pancreas. *Pediatrics* 1953;23: 545-49
- <sup>18</sup> Bell S, Mall M, Gutierrez H et al. The future of Cystic Fibrosis Care: a global perspective. *Lancet Respir Med*. 2020; 8: 65-125
- <sup>19</sup> De Boeck K et al. The diagnosis of Cystic Fibrosis. *Presse Med*. 2017;46: e97-108

Dr. Fernando Rentería  
 Jefe de Servicio de Neumonología  
 Hospital de Niños de La Plata

Dr. Edgardo Segal  
 Médico Consultor  
 Hospital de Niños de La Plata