

# Fibrosis quística: ¿Se presenta de la misma manera en Uruguay que en el Viejo Mundo?

Dres. Beatriz Crispino<sup>1</sup>, Adriana Mimbacas<sup>2</sup>,  
Horacio Cardoso<sup>3</sup>, Estela Cabezas<sup>4</sup>

## Resumen

La fibrosis quística (FQ), es una enfermedad genética, caracterizada por presentar grados variables de compromiso pulmonar e insuficiencia pancreática. Desde el punto de vista etiopatogénico es una alteración de los canales de cloro a nivel de la membrana celular. Se han descrito más de trescientas mutaciones a nivel del gen regulador de la conductancia transmembrana (CFTR) de la FQ, localizado en el cromosoma 7, cuyas frecuencias varían en las diversas poblaciones analizadas. La información existente en Uruguay con respecto al mestizaje y los datos primarios aportados en este trabajo sobre las mutaciones observadas, permiten considerar que las mismas, así como sus frecuencias, serían diferentes a las descritas para el viejo mundo. Nuestro laboratorio utiliza técnicas de biología molecular, en este caso, la reacción de la polimerasa en cadena (PCR) para establecer dos parámetros poblacionales que consideramos de interés determinar: a) cuál es la real frecuencia de FQ en el país y b) cuáles son las mutaciones que están en juego en la determinación de la FQ en el Uruguay.

**Palabras clave:** Fibrosis quística-epidemiología  
Uruguay.

## Introducción

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad genética de herencia autosómica recesiva con grados variables de enfermedad pulmonar obstructiva e insuficiencia de las enzimas pancreáticas. La elevada concentración de electrolitos en el sudor ha resultado ser una clave importante para entender el defecto básico de esta enfermedad compleja: se detectó una regulación anormal en la conductancia del ión cloro en las células epiteliales secretoras de estos enfermos. El gen responsable de la FQ ha sido localizado en

el brazo largo del cromosoma 7 (7q31.3) y subsecuentemente aislado por técnicas moleculares de ADN recombinante<sup>(1)</sup>. El producto de este gen, llamado *regulador de la conductancia transmembrana (CFTR) en la F*, es un canal de cloro regulado por un AMP cíclico<sup>(2-5)</sup>.

La presentación clínica y la severidad de la enfermedad, así como la frecuencia de aparición de los diferentes síntomas, varía considerablemente de acuerdo a las distintas mutaciones en el locus de la FQ. Por otra parte, no se ha podido establecer aún una estricta correlación entre genotipo y fenotipo.

La composición básica de un gen está determinada por un fragmento de ADN constituido fundamentalmente por: a) *secuencias promotoras*, que unidas a ciertas enzimas, permiten la transcripción de dicho gen; b) *exones*, secuencias de nucleótidos que codifican los aminoácidos necesarios para la formación de proteínas; c) *intrones*, secuencias de nucleótidos que se transcriben aunque son eliminados durante su procesamiento y por lo tanto, no codifican la producción de ninguna proteína.

El gen de la FQ contiene veinticuatro exones y dos-

1. Asistente de Investigación de la Div. Citogenética, IIBCE

2. Asistente de Investigación de la Div. Citogenética, IIBCE

3. Jefe de la Div. Citogenética, IIBCE

4. Médico Pediatra. Director del Comité Científico Asesor de la Asociación de Fibroquísticos del Uruguay (AFQU).

Estudio realizado por el Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE)

Correspondencia: Dra. Beatriz Crispino. División Citogenética, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable (IIBCE). Av. Italia 3318; CP 11600 Montevideo.

Presentado 7/1/94

Aceptado 25/2/94.

cientos cincuenta mil pares de bases (Figura 1). Su secuencia primaria codifica para una proteína con dos dominios unidos al ATP (NBF1 y NBF2). Dicha proteína tiene también un segmento altamente polarizado, llamado dominio R el cual tendría un papel regulatorio <sup>(2)</sup>.

### Frecuencia

La incidencia de la FQ varía considerablemente entre las distintas poblaciones, aun entre el grupo europeo caucásico donde se encuentra la mayor frecuencia de la enfermedad. Esta oscila entre 1 en 1.700 nacidos vivos en el norte de Irlanda y 1 en 7.700 en Suecia, calculándose la frecuencia de portadores de 1 en 20 a 1 en 44 respectivamente <sup>(2)</sup>.

La FQ es extremadamente rara en orientales y negros africanos teniendo probablemente una incidencia de menos de 1 en 100.000 <sup>(2)</sup>, en tanto que en negros norteamericanos es de 5.9 en 100.000 <sup>(6)</sup>.

En el caso de esta enfermedad el modo de herencia es autosómico recesivo y por lo tanto se necesitan ambos genes mutados para obtener un individuo afectado. Se consideran portadores sanos a aquellos individuos que han sufrido una mutación solamente en uno de los dos genes correspondientes. Por ende, no es lo mismo frecuencia de mutación génica (proporción de un gen mutado con respecto al gen normal en la población) que frecuencia de enfermedad.

La prevalencia y la incidencia de esta enfermedad son desconocidas en nuestro país. La información de frecuencias génicas de grupos europeos no es claramente extrapolable a nuestra población. Esto no es posible porque si bien la población en Uruguay es mayoritariamente de origen europeo, probablemente tiene una importante mezcla con poblaciones indígenas y africanas <sup>(7,8)</sup>.

### Diversas mutaciones en la génesis de la FQ

El patrón complejo de expresión del gen de la FQ, así como los diferentes grados de presentación de la enfermedad en distintos tejidos y órganos, sugieren la existencia de más de una mutación para su producción.

La evidencia primaria que el CFTR era el gen responsable de la FQ se realizó por análisis de una de sus mutaciones. Este estudio mostró que 67.2 por ciento de los casos examinados (afectados y portadores) presentaba una delección (pérdida) de tres pares de bases correspondientes a un residuo de fenilalanina en la posición 508 del polipéptido resultante; a esta mutación se le llamó  $\Delta F508$  <sup>(1,2,5,9)</sup>. Dada la fuerte asociación de esta mutación con la enfermedad propiamente dicha, en un principio, no se pensó en la existencia de otras mutaciones. A medida que se avanzó en el estudio molecular del gen, se llegó a la conclusión que existían otras mutaciones y es así que actual-

mente se reconocen alrededor de trescientas (Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium) <sup>(2)</sup>. De estas trescientas, sólo ocho tienen una frecuencia significativa en la raza caucásica (aproximadamente 85 por ciento) <sup>(2)</sup>.

Es claramente entendible la existencia de las enormes dificultades prácticas y económicas que traería aparejada la búsqueda de las trescientas mutaciones en cada paciente. Es por eso, que solamente se busca la presencia o ausencia de las ocho mutaciones más frecuentes en la raza blanca.

La ubicación de cada una de estas ocho mutaciones en el gen coincide con la porción proteica unida al ATP lo que se relaciona con el grado de intensidad de los síntomas de la enfermedad <sup>(2)</sup> (figura 1).

Las frecuencias relativas de algunas mutaciones de la FQ en varias poblaciones, se muestran en la figura 2. Es importante destacar que las diferentes frecuencias de las mutaciones no sólo existen entre distintos grupos étnicos, sino entre individuos de la misma raza, que habitan en poblaciones muy cercanas entre sí <sup>(2)</sup>.

Aproximadamente la mitad de las mutaciones ocurridas en el gen CFTR han sido descritas como simples sustituciones de aminoácidos; esto da lugar a una alteración, no al azar de la proteína resultante, la cual presenta mayores niveles de cambios en el sector NBF1 que en NBF2.

Las múltiples sustituciones de un único par de bases pueden encontrarse en varios lugares del gen, por ejemplo una región del exon 11 da lugar, al menos, a once distintas secuencias alteradas. Por el contrario, hay muchas regiones donde hasta el momento, no ha sido descrita ninguna mutación. El sitio de unión de la proteína con el ATP es fundamental para el funcionamiento del gen CFTR; por lo tanto cualquier mutación en esta región se traduce necesariamente en una alteración patológica <sup>(2)</sup>.

La distribución no al azar de las mutaciones entre las diferentes regiones del gen, debe tener consecuencias directas sobre el planeamiento de estrategias para el diagnóstico genético a gran escala de afectados y portadores, mediante el uso de técnicas de amplificación de ADN.

### Diagnóstico clínico

Antiguamente conocida como *fibrosis quística del páncreas*, esta entidad ha sido etiquetada en la actualidad simplemente como *fibrosis quística*. Sus manifestaciones no solamente tienen que ver con la disrupción de la función exócrina del páncreas sino también con las glándulas intestinales (ileo meconial), árbol biliar (cirrosis biliar), glándulas bronquiales (infección broncopulmonar crónica con enfisema) y glándulas sudoríparas (niveles altos de electrolitos en el sudor) <sup>(10)</sup>.

Este florido cuadro clínico no se presenta en forma constante en todos los pacientes afectados por esta enfermedad.

La afección puede sospecharse casi a cualquier edad, desde su clásica presentación en el neonato por el íleo meconial, hasta manifestaciones mínimas como la esterilidad masculina como modo de presentación. El cuadro clásico de enfermedad respiratoria crónica, síndrome malabsortivo y elevación de los electrolitos en el sudor, no siempre está presente. Hay que afinar el diagnóstico y pensar en la enfermedad frente a manifestaciones no habituales, como una poliposis nasal recidivante, o una afección digestiva pura sin grandes manifestaciones respiratorias o manifestaciones respiratorias sin insuficiencia pancreática. A estos efectos, hay que recordar que el pulmón del paciente fibroquístico es normal al nacimiento y se deteriora con las sucesivas infecciones; a su vez, hay algunos pacientes que conservan por mucho tiempo la suficiencia pancreática<sup>(11)</sup>.

### Métodos diagnósticos

El *test* del sudor fue el primer método de laboratorio empleado en el diagnóstico de la FQ, siendo utilizado aún hoy. Mide la cantidad de cloruro de sodio excretado por las glándulas sudoríparas; si bien es un buen indicador del trastorno electrolítico existente en la enfermedad, no permite una absoluta precisión diagnóstica.

Antes de la utilización de métodos moleculares, se recurría a la búsqueda de elementos sugestivos que apoyaran el diagnóstico, tales como la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en el esputo o la esteatorrea.

Una mejor aproximación diagnóstica, se obtuvo con la introducción del análisis de polimorfismos del largo de los fragmentos de restricción del ADN (RFLPs)<sup>(9)</sup>. Este método se basa en la identificación de diferentes tamaños de fragmentos de ADN obtenidos mediante la utilización de enzimas que lo cortan en forma muy específica. Esta metodología permitió incrementar en forma importante la certeza diagnóstica tanto en personas afectadas como en portadores sanos.

Recién con la identificación del propio gen y su posterior secuenciación, fue posible un diagnóstico molecular exacto. Dado que el defecto molecular básico de esta enfermedad involucra un reducido número de pares de bases, la forma práctica de detectar las mutaciones responsables, no fue posible hasta el advenimiento de la técnica de PCR (*Reacción de la Polimerasa en Cadena*), que permite la amplificación en gran escala del fragmento de ADN problema y su ulterior visualización en un gel de poliacrilamida. Para estudiar las diversas mutaciones del gen de la FQ desde el punto de vista molecular, se puede utilizar la técnica de PCR múltiple que consiste básicamente en la amplificación de cada una de esas mutaciones a partir de "primers" específicos<sup>(12)</sup>. Se entiende por "primers" (cebadores) cortas "secuencias" comple-

mentarias a las regiones de ADN iniciales y terminales del segmento a amplificar.

### Asesoramiento

Como en toda enfermedad hereditaria, en la FQ no interesa solamente el diagnóstico de aquellos pacientes afectados por la enfermedad, sino también la detección de posibles portadores de mutaciones del gen CFTR. El asesoramiento genético implica entonces brindar dos tipos de información: al paciente y a la familia. Con respecto al paciente, el diagnóstico debe ser temprano y preciso a los efectos de establecer el tratamiento sintomático lo antes posible. Se ha podido comprobar que el diagnóstico temprano implica una mayor sobrevivencia<sup>(13,14)</sup>, así como una reducción en los días de hospitalización<sup>(15)</sup>. El diagnóstico realizado mediante la técnica de PCR mejora en forma muy importante la certeza diagnóstica. A la familia se le debe dar la información sobre los individuos portadores de las mutaciones, para el manejo de los posibles riesgos de aparición de la enfermedad en su descendencia. Es en las familias donde ya existen individuos afectados o portadores conocidos, que cobra especial importancia la realización de este estudio en etapa prenatal.

### Fibrosis quística en Uruguay

En la actualidad, nuestro laboratorio realiza el diagnóstico molecular de FQ empleando la técnica de PCR múltiple para las ocho mutaciones descritas como las más frecuentes y graves. Este tipo de estudio se realiza tanto en ADN extraído a partir de células sanguíneas como de células provenientes de líquido amniótico o de vellosidades coriales (diagnóstico prenatal).

Por tratarse de una técnica recientemente puesta a punto en nuestro laboratorio, hasta la fecha, hemos estudiado solamente 10 pacientes de los cuales sólo uno presentaba la mutación  $\Delta$  F508 (la de mayor frecuencia) en estado homocigota; 2 de 10 fueron dobles heterocigotas para 2 mutaciones diferentes (N1303K y R553X), las que en su conjunto son responsables de la FQ; otros dos casos fueron heterocigotas para  $\Delta$  F508, no habiéndose podido detectar la doble mutación dentro de las testadas; los cinco restantes no presentaban ninguna de estas ocho mutaciones.

En cuatro de estos últimos casos, al realizar su estudio, encontramos pacientes que si bien no presentaban el cuadro completo de esta enfermedad, por su diagnóstico clínico y estudios de *test* de sudor, fueron catalogados como posibles afectados. Sin embargo, para las mutaciones analizadas, el diagnóstico molecular no evidenció homocigosis de una determinada mutación ni doble heterocigosis (condiciones necesarias para que la enfermedad se evidencie). Al individuo restante se le estudió por ser hermano de los dos pacientes afectados que desde el punto

de vista molecular fueron identificados como dobles heterocigotas.

El hecho de encontrar individuos, cuyo cuadro clínico indicaría la presencia de una FQ, los que sólo eran portadores de una mutación en estado heterocigota para una de las ocho analizadas y, sumado a que determinados pacientes con *test* de sudor en el límite no eran portadores de ninguna de estas mutaciones, nos hace pensar que se esté frente a la posibilidad que nuestra población presente mutaciones cuya frecuencia sea diferente a las del Viejo Mundo. No olvidemos que nuestra población tiene un mayor índice de mestizaje del que se creía, lo cual puede perfectamente haber influido en esta diferencia<sup>(7,8)</sup>.

Por tal motivo se hace imprescindible un estudio más profundo para esclarecer dos interrogantes: a) cuál es la real frecuencia de FQ en nuestro país y b) cuáles son las mutaciones que están en juego en la determinación de la FQ en Uruguay. Tengamos en cuenta que no necesariamente debe tratarse de la presencia de mutaciones diferentes. En el caso que sean las mismas, es posible que su frecuencia sea distinta.

### Programa

Los datos obtenidos a partir de la pequeña muestra estudiada por nosotros, nos hace pensar que la información aportada por los trabajos realizados en el hemisferio norte, no son suficientes para poder interpretar y ajustar la búsqueda de los mutantes del gen CFTR frecuentes en nuestra población. Como fue expresado anteriormente, es necesario complementar el estudio que realizamos (investigación de ocho alelos mutantes) para establecer en primer lugar la frecuencia de estas mutaciones y por ende de enfermedad así como dilucidar la existencia de otras alteraciones en juego. Por esta razón creemos que sería imprescindible realizar, en forma paralela a nuestro servicio asistencial, un programa de investigación a nivel poblacional para determinar estos parámetros genéticos.

### Resume

La fibrose kystique (FK) est une maladie génétique caractérisée par des affections pulmonaires variables et par une insuffisance pancréatique. Du point de vue étiopathogénique, c'est une altération des canaux de chlore au niveau de la membrane cellulaire. Plus de 300 mutations au niveau du gène régulateur de la conduction transmembrane (CFTR) de la FK, placé au chromosome 7 et dont les fréquences varient selon les populations étudiées, furent décrites.

Se basant sur les rapports existant en Uruguay sur le mélangement et les mutations observées, on peut dire qu'elles seraient différentes à celles décrites en Europe. Notre laboratoire utilise des techniques de biologie moléculaire,

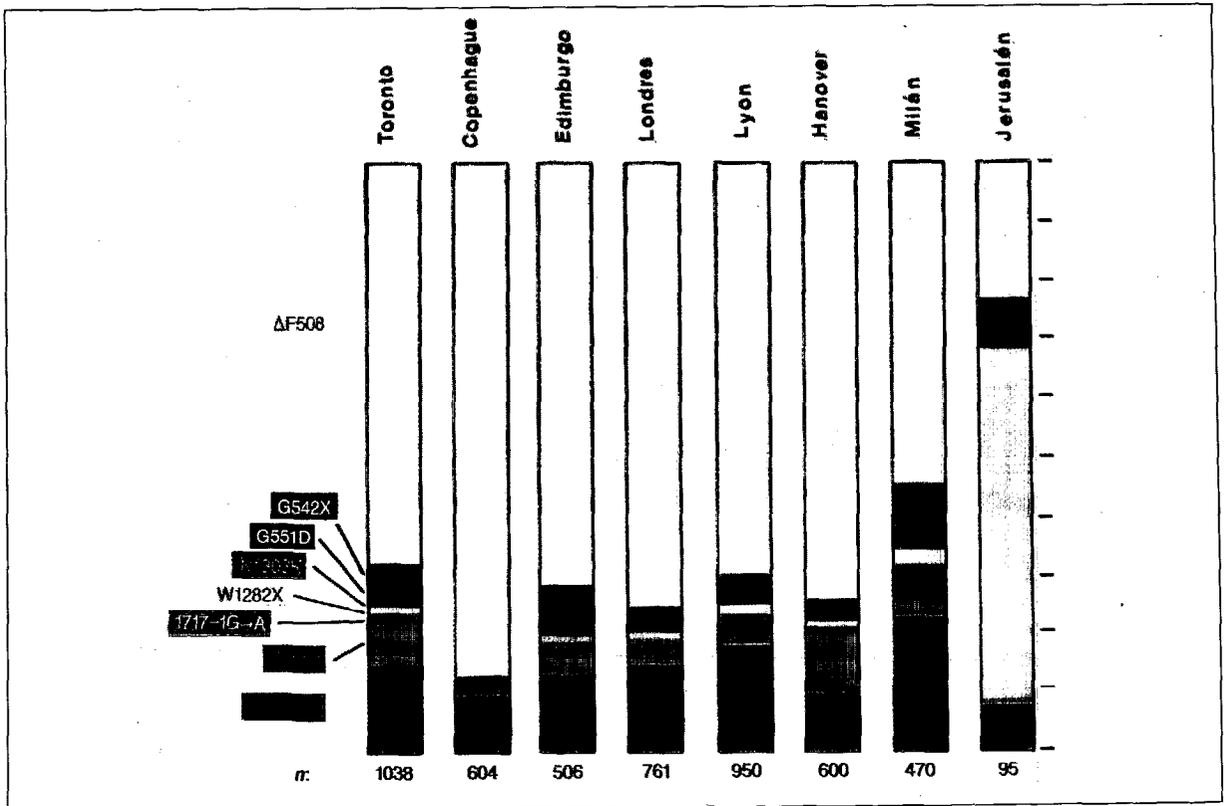
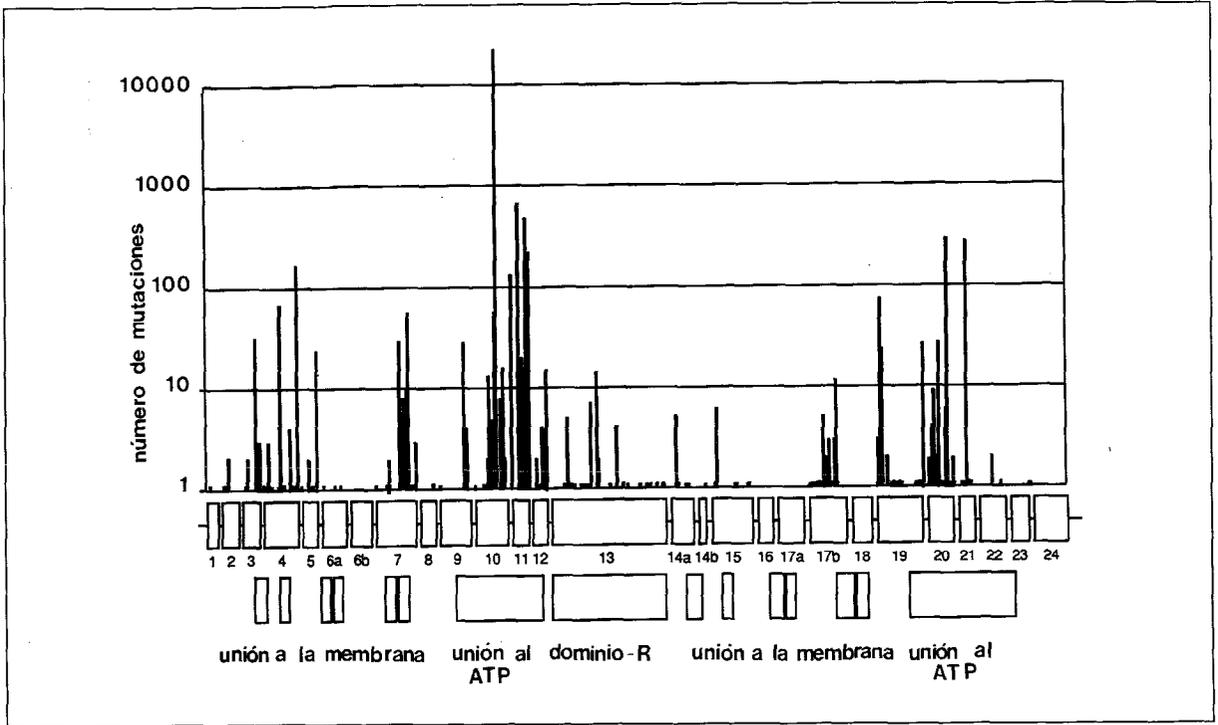
en ce cas particulier, la réaction de la polymérase en chaîne (PCR) afin d'établir deux paramètres de population qu'on considère intéressants déterminer: a) fréquence réelle du FK dans le pays et b) mutations qui déterminent la FK en Uruguay.

### Summary

Cystic Fibrosis (CF) is a genetic disease, marked by the presence of variable degrees of pulmonary involvement and pancreatic failure. From the etiopathogenic standpoint we are concerned with an alteration of the chloride channels at the cell membrane level. A description has been provided of more than three hundred mutations at the gene regulator level of the transmembrane conductance of the CF (RTFC), located in chromosome 7, whose frequencies vary in the different populations analyzed. The information recorded in Uruguay as regards crossbreeding and the primary data contributed by the present work concerning the observed mutations, underlie the fact that such mutations, as well as their frequencies, may be regarded as different from those reported in Europe. Our laboratory uses techniques of molecular biology, in this particular case the reaction of the chain polymerase (RCP) to establish two population parameters the determination of which we regard with interest: a) which is the actual frequency of CF in Uruguay and b) which are the mutations involved in the determination of CF in Uruguay.

### Bibliografía

1. Tizzano EF, Buchwald M. Cystic fibrosis: beyond the gene to therapy. *J Pediatr* 1992; 120: 337-49.
2. Tsui LC. The spectrum of cystic fibrosis mutations. *TIG* 1992; 8: 392-8.
3. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem BS, Drumm ML, Melmer G, Dean M et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989; 245: 1059-65.
4. Riordan JR, Rommens JM, Kerem BS, 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.
5. Zielenski J, Rozmahel R, Bozon D, Kerem B, Grzelczak Z, Riordan JR et al. Genomic DNA sequence of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene. *Genomics* 1991; 10: 214-28.
6. Goodchild MC, Dodge JA. The nature of Cystic Fibrosis. In: *Cystic Fibrosis: manual of diagnosis and management* 2<sup>nd</sup> ed. Cystic Fibrosis Research Trust, Sussex: Ballière Tindall, 1985: 5-6.
7. Sanz M, Sosa M, Alvarez I, Toledo R, Bengochea M, Salzano FM. Blood groups sequences and the question of racial mixture in Uruguay. *Interciencia* 1993; 18: 29-32.
8. Sanz M, Salzano FM, Cakraborty R. Estructura genética y componentes de la mezcla racial en Uruguay. Resúmenes



- del XIII Congreso Internacional de Ciencias Antropológicas y Etnológicas. México, 1993: 400-1.
9. **Kerem BS, Rommens JM, Buchanan JA et al.** Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 1989; 245: 1073-9.
  10. **McKusick VA.** Mendelian inheritance in man. Catalogs of autosomal dominant, autosomal recessive and X-linked phenotypes 8<sup>th</sup> ed. Baltimore: Johns Hopkins University Press, 1988: 885-9.
  11. **Goodchild MC, Dodge JA.** Clinical and diagnostic features. In: *Cystic Fibrosis: manual of diagnosis and management* 2<sup>nd</sup> ed. Cystic Fibrosis Research Trust, Sussex: Ballière Tindall, 1985: 27-44.
  12. **Chamberlain JS, Gibbs RA, Ranier JE, Caskey CT.** PCR Protocols: A guide to methods and applications. Multiple PCR for the diagnosis of Duchenne Muscular Dystrophy. San Diego: Academic Press, 1990: 272-81.
  13. **Dankert-Roelse JE, Meerman TE, Martijn A, Ten Kate LP, Knol K.** Evaluation of neonatal screening for Cystic Fibrosis. Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Cystic Fibrosis Congress. Sydney, 1988: 21-2.
  14. **Barlocco EG, Borgo G, Braggio C, Canciani M.** Influence of genetic screening and medical care on the course of Cystic Fibrosis. Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Cystic Fibrosis Congress. Sydney, 1988: 26-7.
  15. **Wilcken B, Brown AED.** Evaluation of neonatal screening for Cystic Fibrosis. Proceedings of the 10<sup>th</sup> International Cystic Fibrosis Congress. Sydney, 1988: 11.

---

## Servicios de la Biblioteca SMU «Dr. Alejandro Saráchaga»

### □ *Conmutación bibliográfica*

Obtención de artículos originales en 48 horas vía fax, por convenio con la Biblioteca Nacional de Medicina de Estados Unidos.