

El diagnóstico de la fibrosis quística en el adulto

R.M. Girón Moreno y J. Ancochea Bermúdez

Servicio de Neumología. Hospital Universitario de la Princesa. Madrid.

La fibrosis quística (FQ) es la enfermedad genética potencialmente letal más frecuente en la raza blanca. Su herencia es autosómica recesiva, estimándose una incidencia de enfermos de uno de cada 2.500 a 3.500 nacidos vivos y alrededor de un 4 a un 5% de portadores de la enfermedad. Las cifras exactas en España no se conocen, al carecerse de registros publicados. Datos recientes señalan que en la Comunidad de Madrid se atiende a un total de 419 pacientes en las distintas unidades de FQ, 225 varones y 194 mujeres, con una edad media de 15,46 años, de los que sólo 262 (62,53%) residen en dicha comunidad¹.

Antes de 1950, la FQ era una entidad conocida pero no bien catalogada, que se englobó en determinados momentos como uno más de los diferentes síndromes malabsortivos o, incluso, como un déficit primario de vitamina A. Probablemente, la inexistencia de pruebas diagnósticas fiables dificultó la comprensión de la enfermedad. El desarrollo del test del sudor por iontoforesis con pilocarpina en 1959² significó el principal avance en el diagnóstico y, a pesar de los cuarenta años transcurridos, esta prueba sigue constituyendo el pilar fundamental. En 1985 se localizó el gen responsable de la enfermedad en el brazo largo del cromosoma 7 y, en 1989, se consiguió identificar la proteína codificada por el mismo, a la que se denominó "regulador de la conductancia transmembrana" de la FQ (CFTR). La CFTR funciona como un canal de cloro regulado por AMPc y se distribuye en el páncreas, las criptas intestinales, los vasos deferentes y la submucosa del aparato respiratorio, entre otros órganos. En el exón 10 del gen se detectó una delección de tres pares de bases que llevaba a la desaparición del residuo de fenilalanina en la posición 508 de la proteína y a la consiguiente pérdida de función de la misma. Posteriormente, se comprobó que aunque esta mutación era la más frecuente ($\Delta F508$), no era la única que podía dar lugar a la enfermedad³.

La mayoría de los enfermos a los que nos enfrentamos han sido diagnosticados en la edad pediátrica (alrededor del 71% se detecta antes del primer año de vida, según datos de la Cystic Fibrosis Foundation⁴). De los 20.096 pacientes registrados en los EE.UU. hasta el año

1995, el 16,8% se diagnosticó a partir de la historia familiar, el 0,8% por diagnóstico prenatal, el 2,3% por *screening* neonatal y el resto presentaba un cuadro relacionado con FQ, siendo las infecciones respiratorias agudas o persistentes (50,5%), la malnutrición o el retraso del crecimiento (42,9%) y la esteatorrea (35%) los trastornos más frecuentes⁴.

La sospecha diagnóstica está clara si el paciente tiene familiares directos afectados por la enfermedad y/o presenta manifestaciones clásicas de la FQ, como tos crónica con expectoración, sinusitis o poliposis nasal, presencia de acropaquias, colonización por gérmenes típicos (*Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, especialmente los morfotipos mucosos, *Burkholderia cepacia*), bronquiectasias, síntomas gastrointestinales por la insuficiencia pancreática, esterilidad por azoospermia obstructiva y un sudor con alta concentración de sal. Mediante la valoración de pruebas de imagen para detectar la presencia de bronquiectasias y/o afectación de los senos paranasales, cultivos de frotis faríngeos, esputo o, en su caso, muestras fibrobroncoscópicas, determinación de quimotripsina y grasas en heces de 72 h, para valorar la función pancreática, y un espermiograma, se obtiene el soporte clínico que apoya la sospecha diagnóstica, teniendo en cuenta que un 15% de los enfermos son suficientes pancreáticos^{5,6}.

Alrededor del 8% de los enfermos se diagnostica en la adolescencia o la edad adulta. Muchos de ellos presentan los síntomas clásicos de la enfermedad, pero en forma más atenuada⁷. En un subgrupo de pacientes, las manifestaciones pulmonares no empiezan a ser evidentes hasta la adolescencia, como sinusitis, tos crónica o neumonías recurrentes y, en algunos, la presentación es más inusual, en forma de aspergilosis broncopulmonar alérgica, asma atípica de difícil control, hemoptisis recurrente o el hallazgo de *Pseudomonas aeruginosa* en una muestra respiratoria. Otro subgrupo de enfermos padece, en ausencia de afectación pulmonar, procesos aislados como cirrosis hepática, pancreatitis⁸ o agenesia bilateral de los conductos deferentes (ABCD)⁹. Por ello, ante esta heterogeneidad clínica que muestra la FQ, es fácil pensar que exista un infradiagnóstico. Ello se debe, en parte, a la falta de experiencia de los médicos de adultos, ya que durante muchos años la FQ ha sido una entidad eminentemente pediátrica. También, por otra parte, se debe a la relativa frecuencia de presenta-

Correspondencia: Dra. R.M. Girón Moreno.
Hospital Universitario de la Princesa. Servicio de Neumología.
Diego de León, 62. 28006 Madrid.

ciones leves o atípicas de la enfermedad, que pueden pasar desapercibidas o inducir a un diagnóstico erróneo de asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

La Cystic Fibrosis Foundation publicó, en 1998⁴, un documento de consenso que recoge los criterios aceptados para el diagnóstico de la FQ. Estos criterios se pueden resumir en los siguientes puntos: existencia de una o más de las características fenotípicas clásicas, historia de un hermano afectado o un test de *screening* neonatal positivo, asociado a dos o más determinaciones del test del sudor positivas, a la identificación de dos mutaciones en el gen de CFTR o a varias mediciones del potencial transnasal alteradas.

A pesar de los años, el test del sudor sigue siendo la técnica fundamental en el diagnóstico. Con esta prueba se mide la concentración de cloro en el sudor, tras estimular la glándula sudorípara por iontoforesis con pilocarpina. Se considera positivo si se encuentra una concentración de cloro superior a 60 mmol/l en dos muestras separadas. En los niños, una concentración superior a 40 mmol/l es muy sugestiva de FQ¹⁰. Ha de tenerse en cuenta que la concentración de iones aumenta discretamente con la edad, y que algunos sujetos sanos pueden tener valores superiores a 60 mmol/l¹¹. Por ello, para algunos autores, como Stern⁵, el test debería considerarse claramente positivo en adultos a partir de 80 mmol/l. En caso de duda se puede realizar la determinación de la concentración de sodio y determinar el cociente Cl/Na, que es mayor de 1 en los pacientes con FQ, estando ambos iones proporcionalmente elevados. El test puede tener falsos positivos en el hipotiroidismo, la insuficiencia suprarrenal, la malnutrición grave o la anorexia nerviosa, entre otras. Debe repetirse el test del sudor siempre que resulte positivo, si está cercano al límite (50-70 mmol/l en adultos) y en aquellos pacientes supuestamente diagnosticados de FQ que no siguen la evolución clínica esperada¹². Otros métodos alternativos, como la determinación de la conductividad y la osmolaridad del sudor, se utilizan sólo como *screening*. Caso de ser positiva (conductividad mayor de 50 mmol/l y osmolaridad mayor de 200 mmol/l), debe realizarse una determinación de cloro. Por otra parte, desde 1975 se han descrito pacientes con alta sospecha diagnóstica de FQ, pero con un test del sudor negativo. Estos casos han ido proliferando en la bibliografía paralelamente al mayor conocimiento del gen de la CFTR y de los efectos que sus mutaciones tienen sobre el individuo¹³⁻¹⁵.

El único método directo existente para el diagnóstico de la enfermedad es el hallazgo de mutaciones en los dos alelos del gen de la CFTR. Toda mutación en el gen CFTR debe causar cambios en la secuencia de aminoácidos que afecten a la síntesis o a la función del CFTR: un 42% de las mutaciones produce el cambio de un aminoácido en la secuencia de la proteína, un 23% produce un cambio en la pauta de lectura por inserción o delección de un fragmento de un número de nucleótidos no múltiplo de tres, en un 16% se trata de mutaciones en las zonas intrónicas del gen o de *splicing*, que afectan a la eficiencia de maduración del ARN mensajero, y

en un 15% son mutaciones sin sentido o de parada, que dan lugar a una proteína acortada. Hasta la fecha se han descrito 877 mutaciones (pueden consultarse en Internet en la página del CF Genetic Analysis Consortium, www.genet.sickkids.on.ca/cftr, donde están ordenadas por su localización dentro del gen). En España, la población es genéticamente muy heterogénea. Casals et al¹⁶ señalan que 75 mutaciones serían responsables del 90,3% de las alteraciones. De todas ellas, sólo 3 presentan una frecuencia superior al 2%: $\Delta F508$ (53,2%), G542X (8,4%) y N1303K (2,6%). La distribución de estas mutaciones es bastante desigual en las distintas áreas de la península. Así, por ejemplo, en el norte la $\Delta F508$ es mucho más frecuente (80% en Asturias y 73% en el País Vasco), mientras que la mutación G542X es más habitual en la cuenca mediterránea (11,8%).

El amplio abanico de mutaciones existentes ha permitido establecer importantes relaciones entre el genotipo del paciente (la combinación de mutaciones que presenta) y los fenotipos (características clínicas de la enfermedad)¹⁷. El fenotipo clásico de la FQ, con insuficiencia pancreática, infertilidad masculina, enfermedad pulmonar progresiva y concentración elevada de iones en el sudor, se asocia a la presencia de mutaciones graves (siendo la $\Delta F508$ la mutación tipo) en ambos cromosomas. Este tipo de enfermo es el que suele diagnosticarse en la etapa infantil. El problema diagnóstico puede surgir cuando se encuentra un paciente con, al menos, una mutación leve. En estos casos, el espectro clínico de la enfermedad puede variar ampliamente, con ausencia de clínica digestiva, fertilidad e, incluso, un test del sudor normal, con el consiguiente problema diagnóstico que conlleva.

Se ha postulado que el genotipo determina la cantidad de proteína funcionante. Así, se señala que para que el páncreas se afecte debe haber menos del 1% de CFTR normal, mientras que las glándulas sudoríparas se afectan con menos del 5%, existe clínica pulmonar con menos del 4,5% y ausencia congénita de vasos deferentes con menos del 10%¹⁸. En esta última situación se encontraría el caso de la mutación IVS8-6(5T) (localizada en el intrón 8, mutación de *splicing*), también conocida como alelo 5T^{9,19}, cuya presencia en los varones se asocia con frecuencia a una agenesia congénita de los vasos deferentes (CBAVD) y a poca o ninguna manifestación pulmonar o digestiva, aunque parecen implicados otros factores genéticos no conocidos. El mecanismo molecular por el que ocurre este fenómeno no está completamente dilucidado. Parece que esta mutación permitiría la existencia de, aproximadamente, un 10% de proteína activa, cantidad que sería suficiente para el normal funcionamiento del tejido pulmonar o digestivo, pero no así del aparato genital masculino. La presencia de esta mutación en ambos cromosomas no se considera diagnóstica de FQ, pero la asociación de un alelo 5T con una mutación reconocida como causante de enfermedad sí es diagnóstica⁴. Un caso similar ocurre con la mutación R117H (mutación leve relacionada con edad tardía de inicio de los síntomas, suficiencia pancreática y concentraciones bajas de cloro en el su-

dor), que acompañada de la mutación 5T en el mismo cromosoma se asocia a enfermedad, aunque ninguna de las dos, de manera aislada, puede considerarse mutación de FQ.

Otro caso de mutación del gen de la CFTR que presenta variaciones de expresión según órganos es la mutación 3849 + 10 Kb C → T, también de localización intrónica, que en homocigosis o heterocigosis con la mutación ΔF508 produce una enfermedad pulmonar sugestiva de FQ, pero con suficiencia pancreática, fertilidad masculina y test del sudor normal, lo que frecuentemente conduce a errores diagnósticos²⁰⁻²². Otras mutaciones que se han demostrado que pueden dar lugar a un test del sudor normal son la G551S o la A455E. Se han descrito pacientes con 3 mutaciones en el gen de la CFTR (ΔF508-R553Q/R553X) con enfermedad pulmonar y pancreática, pero con test del sudor normal o en el límite. Al parecer, una segunda mutación (R553Q) en el mismo alelo en el que se encuentra la ΔF508 podría revertir los efectos que ésta produce sobre las glándulas sudoríparas²³.

La madeja genética de la FQ vuelve a enredarse con las nuevas aportaciones de casos de FQ en los que se demuestra la existencia de un único alelo anómalo del gen (mutación 1895 + 3 A → G) lo que, teóricamente, no debería producir enfermedad, pero complejas combinaciones de polimorfismos intragénicos parecen predisponer a una disminución tanto en la expresión como en la funcionalidad de la CFTR²⁴. En resumen, el fenotipo de la FQ no sólo está determinado por las mutaciones en el gen de la CFTR, sino que también inciden sobre él el contexto genético en el que se encuentra y factores externos, tanto químicos como patógenos bacterianos. La contribución relativa de estos factores es específica de cada tejido, de modo que los vasos deferentes parecen ser los más sensibles a las mutaciones de la CFTR, mientras que la evolución de la enfermedad pulmonar viene determinada, en gran medida, por la exposición del enfermo a distintos agentes ambientales.

En aquellos casos en los que el test del sudor no es concluyente, se ha demostrado como una herramienta muy útil la constatación de la alteración del transporte activo de iones (sodio y cloro) que se produce en el epitelio respiratorio, a través de la medida del diferencial del potencial transnasal (PD)²⁵. La técnica para medir el PD fue descrita en 1981 por Knowles et al²⁶. En 1994 fue modificada por Middleton et al²⁷, realizándose no sólo la determinación del PD basal, sino también tras la perfusión con amiloride, terbutalina o isoprenalina. Ello permitió una mayor discriminación entre pacientes con y sin FQ²⁷. Tres fenómenos ocurren en el paciente con FQ: mayor diferencia del PD, debido al aumento de absorción de sodio y a la impermeabilidad al cloro, mayor inhibición del PD tras la perfusión con un inhibidor de los canales de sodio, como el amiloride, y poco o ningún cambio tras la perfusión con soluciones bajas o libres de cloro junto a isoproterenol (estimulador de AMPc)⁴. Recientemente, Fajac et al²⁸ y Ho et al²⁹ han señalado que los pacientes con un PD mayor presentan una peor función pulmonar y un deterioro clínico respiratorio más rápido. Por el contrario, los enfermos (incluso algunos con mutaciones graves) con un PD bajo

presentan una mejor evolución respiratoria. Ello corrobora lo comentado previamente sobre la existencia de factores adicionales a las mutaciones en la CFTR que influyen en el fenotipo respiratorio. Además de su uso con fines diagnósticos, esta técnica se está utilizando en los estudios de terapia génica para valorar la eficacia del proceso³⁰. En España pocas unidades de FQ disponen de ella, ya que no existen sistemas validados en el mercado y, en la mayoría de los casos, se ha de realizar un montaje manual de un voltímetro de alta impedancia con electrodos que se localizan uno, el de medida, bajo la turbina inferior de la fosa nasal y, otro, el de referencia, en el antebrazo. Recientemente se han descrito métodos que simplifican el protocolo modificando las técnicas de perfusión de los electrodos o el lugar donde se localizan los mismos^{31,32}. Es importante, al poner en marcha la técnica, validarla rigurosamente estableciendo valores de referencia con un grupo control, instaurar un protocolo bien definido y realizar siempre varias mediciones, teniendo en cuenta la importancia del lugar de colocación de los electrodos. Debe recordarse que la presencia de pólipos nasales o de edema de la mucosa puede alterar los resultados.

Finalmente, cabe mencionar que el *screening* neonatal de la FQ, aunque conocido desde 1971, sólo se realizaba en 1997 en tres estados de los EE.UU. y en Australia. Consiste en determinar en sangre periférica (3 a 5 días después del nacimiento) la tripsina inmunorreactiva y, si ésta se encuentra elevada, efectuar un estudio genético para la mutación ΔF508. Si dicha mutación está en homocigosis, el recién nacido padece una FQ. Si sólo se detecta una mutación podría tratarse de un portador. Este protocolo tiene una sensibilidad de un 95%, buena especificidad y un valor predictivo positivo del 15-35%³³. Algunos autores defienden esta estrategia dado que la evolución de los pacientes diagnosticados por *screening* es mejor desde el punto de vista nutricional³⁴, aunque apenas se modifica en lo referente a la función pulmonar. Otros autores la rebaten, pues se ha comprobado que los pacientes diagnosticados por *screening* neonatal se colonizan más precozmente por *P. aeruginosa*, probablemente debido a las frecuentes visitas hospitalarias. Por todo ello, se precisan estudios más amplios y con valoración de resultados a más largo plazo para poder estimar los posibles beneficios que aportaría una política de *screening* neonatal para la FQ en la totalidad de la población³⁵.

Agradecimiento

A los doctores de la unidad FQ del Hospital Niño Jesús, Sequeiro, Neira y, especialmente, al Dr. Salcedo, por su amistad, enseñanza y consejos sobre la FQ.

BIBLIOGRAFÍA

1. Máiz L, y Grupo de Trabajo de Fibrosis Quística de la Sociedad Madrileña de Neumología y Cirugía Torácica. Estudio epidemiológico de pacientes con fibrosis quística atendidos en la Comunidad Autónoma de Madrid. Neumomadrid-par 1999; 2: 13-17.
2. 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.

3. 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: 1066-1072.
4. Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. *J Pediatr* 1998; 132: 589-595.
5. Stern RC. The diagnosis of cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1997; 336: 487-491.
6. Salcedo A, García G, Antelo MC, Barrio MI, Girón RM. Diagnóstico de la fibrosis quística. *Neumadriid-par* 1999; 2: 25-33.
7. Gan KH, Geus WP, Bakker W, Lamers CBHW, Heijerman GM. Genetic and clinical features of patients with cystic fibrosis diagnosed after the age of 16 years. *Thorax* 1995; 50: 1301-1304.
8. Cohn JA, Friedman KJ, Noone PG, Knowles MR, Silverman LM, Jowell PS. Relation between mutations of the cystic fibrosis gene and idiopathic pancreatitis. *N Engl J Med* 1998; 339: 653-658.
9. Chillón M, Casals T, Mercier B, Bassas L, Lissens W, Silber S et al. Mutations in the cystic fibrosis gene in patients with congenital absence of the vas deferens. *N Engl J Med* 1995; 332: 1475-1480.
10. Farrell PM, Kosciak R. Sweat chloride concentrations in infants homozygous or heterozygous for F₅₀₈ cystic fibrosis. *Pediatrics* 1996; 97: 524-528.
11. LeGrys VA. Sweat testing for the diagnosis of cystic fibrosis: practical considerations. *J Pediatr* 1996; 129: 892-897.
12. Rosenstein BJ. What is a cystic fibrosis diagnosis? *Clin Chet Med* 1998; 19: 433-441.
13. Stewart B, Zabner J, Shuber AP, Welsh MJ, McCray PB. Normal sweat chloride values do not exclude the diagnosis of cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 151: 899-903.
14. Highsmith WE, Burch LH, Zhou Z, Olsen JC, Boet 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: 974-980.
15. Strong TV, Smit LS, Turpin SV, Cole JL, Hon CT, Markiewicz D et al. Cystic fibrosis gene mutation in two sisters with mild disease and normal sweat electrolyte levels. *N Engl J Med* 1991; 325: 1630-1634.
16. Casals T, Ramos MD, Giménez J, Larriba S, Nones V, Estivill X. High heterogeneity for cystic fibrosis in Spanish families: 75 mutations account for 90% of chromosomes. *Hum Genet* 1997; 101: 365-370.
17. The Cystic Fibrosis Genotype-Phenotype Consortium. Correlation between genotype and phenotype in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1993; 329: 1308-1313.
18. Chu CS, Trapnell BC, Curristin S, Cuttieng GR, Crystal RG. Genetic basis of variable exon 9 skipping in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mRNA. *Nat Genet* 1993; 3: 151-156.
19. Kerem E, Rave-Harel N, Augarten A, Magdar I, Nissim-Rafinia M, Yahav Y et al. A cystic fibrosis transmembrane conductance regulator splice variant with partial penetrance associated with variable cystic fibrosis presentations. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1914-1920.
20. Augarten A, Kerem BS, Yahav Y, Noiman S, Rivlin Y, Tal A et al. Mild cystic fibrosis and normal or borderline sweat test in patients with the 3849 + 10 Kb C → T mutation. *Lancet* 1993; 342: 25-26.
21. Stern R, Doershuk CF, Drumm M. 3849 + 10 Kb C → T mutation and disease severity in cystic fibrosis. *Lancet* 1995; 346: 274-276.
22. Dreyfus DH, Bethel R, Gelfand EW. Cystic fibrosis 3849 + 10 Kb C → T mutation associated with severe pulmonary disease and male fertility. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 153: 858-860.
23. Dork T, Wulbrand U, Richter T, Neumann T, Wolfes H, Wulf B et al. Cystic fibrosis with three mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Hum Genet* 1991; 87: 441-446.
24. Bronsveld I, Bijman J, Mekus F, Ballmann M, Veeze HJ, Tümmler B. Clinical presentation of exclusive cystic fibrosis lung disease. *Thorax* 1999; 54: 278-281.
25. Wilson DC, Ellis L, Zielenski J, Corey M, Ip WF, Tsui LC et al. Uncertainty in the diagnosis of cystic fibrosis: possible role of *in vivo* nasal potential difference measurements. *J Pediatr* 1998; 132: 596-599.
26. Knowles MR, Gatzky J, Boucher RC. Increased bioelectric potential difference across respiratory epithelia in cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1981; 305: 1489-1495.
27. Middleton PG, Geddes DM, Alton EFWF. Protocols for *in vivo* measurements of the ion transport defects in cystic fibrosis nasal epithelium. *Eur Respir J* 1994; 7: 2050-2056.
28. Fajac I, Hubert D, Bienvenu T, Richaud-Thiriez B, Matran R, Kaplan JC et al. Relationship between nasal potential difference and respiratory function in adults with cystic fibrosis. *Eur Respir J* 1998; 12: 1295-1300.
29. Ho LP, Samways JM, Porteous DJ, Dorin JR, Carothers A, Greening AP et al. Correlation between nasal potential difference measurements genotype and clinical conditions in patients with cystic fibrosis. *Eur Respir J* 1997; 10: 2018-2022.
30. Chinet TC. Use of *in vivo* nasal transepithelial potential difference to evaluate efficacy in CF gene therapy phase I trials. *Eur Respir J* 1994; 7: 1917-1920.
31. Hofmann T, Böhmer O, Hüls G, Terbrack HG, Bittner P, Klingmüller V et al. Conventional and modified nasal potential-difference measurement in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 155: 1908-1913.
32. Duperrex O, Berclaz PY, Bertrand D, Lacroix JS, Pochon N, Belli D et al. A new device for *in vivo* measurement of nasal transepithelial potential difference in cystic fibrosis patients and normal subjects. *Eur Respir J* 1997; 10: 1631-1636.
33. Wilcken B. Neonatal screening for cystic fibrosis: it is time. *Pediatr Pulmonol* 1998; 26: 219-221.
34. Farrell PM, Kosorok MR, Laxova A, Shem G, Kosciak RE, Bruns WT et al. Nutritional benefits of neonatal screening for cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1997; 337: 963-969.
35. Wald J, Morris JH. Neonatal screening for cystic fibrosis. No evidence yet of any benefit. *Br Med J* 1998; 316: 404-405.