

**ARTÍCULO ORIGINAL**

# Correlación genotipo-fenotipo en una muestra de pacientes mexicanos con fibrosis quística

Emiy Yokoyama,\* José Luis Lezana,‡§ Rosa María Vigueras-Villaseñor,† Julio Rojas-Castañeda,†  
Yolanda Saldaña-Álvarez,|| Lorena Orozco,|| Margarita Chávez-Saldaña†

\*Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Pediatría.

‡ Laboratorio de Fisiología Pulmonar, Hospital Infantil de México Federico Gómez.

§ Asociación Mexicana de Fibrosis Quística, A.C.

† Subdirección de Medicina Experimental, Instituto Nacional de Pediatría.

|| Laboratorio de Inmunogenética y Enfermedades Metabólicas, Instituto Nacional de Medicina Genómica.

**Genotype-phenotype correlation in a sample of Mexican patients with cystic fibrosis**

**ABSTRACT**

**Introduction.** Cystic fibrosis is a lethal autosomal recessive disease, commonly seen in Caucasian population. The World Health Organization (WHO) estimated that in Mexico, the incidence is approximately 1 per 8,500 live births. Defects in CFTR (cystic fibrosis transmembrane conductance regulator) protein are responsible for alterations in the transport of chloride in the apical membrane of exocrine epithelial cells. This results to a lot of variability in the clinical manifestations, which range from a very serious disease that compromises the life of the patient, to only primary infertility due to absence of CBAVD. The study of the CFTR gene, responsible for this entity, has led to understand the correlation between the molecular defects in this gene and the clinical expression of the patients. Most reports show that only pancreatic function in CF patients directly correlated with genotype and not with other clinical features such as lung disease. **Objective.** In this work we analyzed the genotype-phenotype correlation in a cohort of Mexican patients with CF. **Material and methods.** We included 230 patients with CF, stratified based on the genotype and pancreatic disease. Both ratings were correlated with clinical parameters as in sweat chloride levels, lung disease, pancreatic insufficiency or sufficiency (IP and SP) and colonization by *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*). **Results and Discussion.** Our data suggest a strong correlation between the severity of mutations and pancreatic function. Related to this, significant differences were observed in sweat chloride levels, lung disease, colonization by *P. aeruginosa*, and the age of onset of symptoms, and diagnosis among patients with IP and SP ( $p < 0.001$ ). The close correlation between IP, both with mutations that eliminate the function

**RESUMEN**

**Introducción.** La fibrosis quística (FQ) es la enfermedad letal autosómica recesiva más común en la población caucásica. En México, la Organización Mundial de la Salud estima una incidencia aproximada de 1 por cada 8,500 nacidos vivos. A la fecha, más de 1,930 mutaciones han sido descritas en el gen regulador de la conductancia transmembranal de la FQ (CFTR). Estas alteraciones conducen a un efecto variable sobre la función de la proteína CFTR, lo que genera una gran variabilidad en las manifestaciones clínicas, que van desde una enfermedad muy grave que compromete la vida del paciente, hasta infertilidad primaria por ausencia de vasos deferentes. El estudio de la proteína CFTR ha permitido establecer una correlación entre los defectos moleculares del gen y la sintomatología del paciente, siendo la función pancreática la que más correlaciona directamente con el genotipo. **Objetivo.** Analizar la correlación genotipo-fenotipo en una cohorte de pacientes mexicanos con FQ. **Material y métodos.** Se incluyeron 230 pacientes con FQ, los cuales se estratificaron con base en la afección pancreática y el genotipo. Ambas clasificaciones se correlacionaron con parámetros clínicos como: niveles de cloruros en sudor, afectación pulmonar, insuficiencia o suficiencia pancreática (IP y SP) y colonización por *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*). **Resultados y Discusión.** Nuestros datos sugieren una estrecha correlación entre la gravedad de las mutaciones y la función pancreática. Aunado a esto, se observaron diferencias significativas entre los niveles de cloruros en sudor, afectación pulmonar, colonización por *P. aeruginosa*, así como la edad de inicio de los síntomas y edad al diagnóstico entre los pacientes con IP y SP ( $p < 0.001$ ). En pacientes con IP existe una estrecha correlación entre mutaciones graves que eliminan la función del gen CFTR, así como una relación directa con un cuadro clínico grave, lo que sugiere que la IP podría ser utilizada como un

of *CFTR* gene, as with the presence of more serious clinical picture, suggests that IP could be used as an indicator of the severity of CF patients especially in those without characterized mutations yet.

**Key words.** Cystic fibrosis. Genotype-phenotype correlation. Mexican patients.

## INTRODUCCIÓN

La fibrosis quística (FQ; OMIM 219700) es la enfermedad letal autosómica recesiva más frecuente en la población caucásica con una incidencia de uno en 2,000 a 4,000 recién nacidos vivos.<sup>1</sup> En México la incidencia de esta entidad es desconocida, aunque la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que es de aproximadamente uno en 8,500 nacidos vivos.<sup>2</sup> La clonación del gen *CFTR* (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*) ha permitido la caracterización de más de 1,930 mutaciones diferentes a nivel mundial.<sup>3-5</sup> La FQ es una enfermedad multisistémica que se caracteriza por neumopatía crónica, insuficiencia pancreática, disfunción gastrointestinal, niveles elevados de cloruros en sudor e infertilidad masculina con una gran variabilidad en la expresividad clínica. Esta variación en el fenotipo puede atribuirse, en parte, al efecto de las mutaciones sobre la función de la proteína; sin embargo, diversos estudios han documentado que la función pancreática es la única manifestación clínica que correlaciona directamente con el tipo de mutación en el gen *CFTR*.<sup>6-8</sup> Con base en estas observaciones, las mutaciones en el gen *CFTR* se han clasificado como graves (mutaciones de las clases I, II y III), cuando causan insuficiencia pancreática (IP), y como leves (mutaciones de las clases IV y V), cuando la función pancreática se mantiene, lo cual es conocido como suficiencia pancreática (SP); así, el estado pancreático se considera un marcador evidente de la gravedad de la enfermedad a dicho nivel.<sup>9</sup> Dado el carácter recesivo de la FQ, donde el paciente requiere de ambos alelos mutados para presentar la enfermedad, un paciente con función pancreática conservada deberá ser portador al menos de una mutación leve en el gen *CFTR*, ya que las mutaciones leves son dominantes sobre las mutaciones graves. Por ello, aún cuando la gran mayoría de las mutaciones documentadas en los pacientes con FQ son graves, sólo de 85 a 90% de los pacientes presentan IP.<sup>9-14</sup> Estas aportaciones han llevado a un enorme progreso en el entendimiento de la fisiopatología de este padecimiento y su contribución en el diagnóstico y manejo integral del paciente.

indicador de la gravedad de la FQ, sobre todo en aquellos pacientes con mutaciones aún sin caracterizar.

**Palabras clave.** Fibrosis quística. Correlación genotipo-fenotipo. Pacientes mexicanos.

Recientemente nuestro grupo de trabajo caracterizó 77.7% de los alelos afectados en 230 pacientes mexicanos con FQ, documentándose un total de 46 mutaciones distintas. Estos datos permitieron establecer la frecuencia de las mutaciones *CFTR* presentes en la población mexicana.<sup>15</sup> Al comparar las frecuencias de estas mutaciones con lo reportado para otros grupos étnicos, se observan diferencias importantes en la distribución, la frecuencia, así como en el número de mutaciones caracterizadas en cada población, lo que nos ubica como una de las poblaciones con mayor heterogeneidad genética para esta entidad. Este comportamiento genético dificulta la caracterización de las mutaciones responsables en cada paciente. Por lo tanto, dado que la IP correlaciona directamente con las mutaciones *CFTR* graves, ésta podría utilizarse como un indicador de la gravedad en aquellos pacientes con mutaciones aún sin caracterizar y en quienes un diagnóstico temprano les brinda la posibilidad de un tratamiento oportuno, el cual puede prevenir o retardar las complicaciones propias de la enfermedad, lo que sin duda tendría una repercusión invaluable en la calidad y sobrevida de estos pacientes. Así, dado que en México no hay estudios de correlación entre el genotipo y el fenotipo en pacientes con FQ, en este trabajo se propuso determinar dicha correlación en una cohorte de pacientes mexicanos previamente genotipados.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Pacientes

Se incluyeron un total de 230 pacientes mexicanos previamente genotipados por el grupo de investigación.<sup>15</sup> El diagnóstico clínico de FQ se realizó con base en los niveles elevados de cloruros en sudor ( $> 60$  mEq/L), datos sugestivos de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, insuficiencia pancreática exocrina e historia familiar positiva. La afección pulmonar se evaluó mediante:

- Espirometría anual, tomando en cuenta el valor más alto del volumen espiratorio forzado en el

- primer minuto (VEF1) menos el VEF1 más bajo entre el número de años realizado.<sup>16</sup>
- Escala de Brasfield, considerando como valor de 25 puntos cuando la radiografía pulmonar muestra ausencia de daño y puntaje de cero cuando ésta presenta daño pulmonar grave.<sup>17</sup>
  - Presencia de colonización por *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*).

La función pancreática se determinó por el contenido de grasas en heces fecales ( $> 5\text{ g}$  en 72 h), la actividad tríptica y pruebas de función pancreática.<sup>18</sup> Una vez confirmado el diagnóstico de FQ por clínica se realizó la genotipificación de *CFTR* a partir de un tamizaje de mutaciones mediante una combinación de metodologías con alta especificidad: un kit (InnoLiPa *CFTR*/36, INNOGENETICS, NV, Brussels, Belgium) que incluye el análisis de 36 mutaciones, el SSCP (*single strand conformation polymorphism*) y secuenciación automatizada; estas dos últimas para el rastreo de mutaciones en regiones consideradas con mayor susceptibilidad.<sup>15</sup> El estudio se realizó con autorización y de acuerdo con lo estipulado en los Comités de Investigación y Ética del Instituto Nacional de Pediatría.

#### Estudio de correlación genotipo-fenotipo

Para el análisis de la correlación entre el genotipo (mutaciones) con las manifestaciones clínicas (fenotipo), los 230 pacientes se estratificaron con base en dos criterios:

- Función pancreática, en SP e IP.
- Genotipos particulares,<sup>15</sup> de acuerdo con la clasificación de mutaciones (clase I, II y III como mutaciones graves; clase IV y V como mutaciones leves):
  - Pacientes con ambas mutaciones graves.
  - Con al menos una mutación leve.
  - Con sólo una mutación grave caracterizada.
  - Con sólo una mutación leve caracterizada.
  - Pacientes con ambos alelos no caracterizados.

Finalmente, se realizó un análisis por grupos etarios para determinar si la edad influye tanto en la gravedad de la enfermedad pulmonar como en la función pancreática.

#### Análisis estadístico

Los datos clínicos y su relación con el genotipo *CFTR* se analizaron con el paquete estadístico SPSS

v16. Para las variables numéricas continuas como edad al diagnóstico, edad de fallecimiento y escala de Brasfield se aplicó la prueba estadística de Kruskal-Wallis o la U de Mann-Whitney. Para las variables categóricas, como función pancreática y presencia de íleo meconial, se aplicó la  $\chi^2$  o la prueba exacta de Fisher. En cualquier caso se consideró como significativo un valor de  $p < 0.05$ .

## RESULTADOS

Al estratificar a los pacientes de acuerdo con su función pancreática, se observó que de los 230 pacientes incluidos, 192 presentaron IP y 38 SP, las edades (en años) de inicio de las manifestaciones clínicas ( $0.9 \pm 1.8$  en IP y  $3.7 \pm 4.5$  en SP;  $p < 0.001$ ), de diagnóstico ( $3.3 \pm 4.1$  en IP y  $11.1 \pm 9.1$  en SP;  $p < 0.001$ ), así como del tiempo transcurrido entre ambos parámetros ( $2.4 \pm 3.1$  años en IP vs.  $7.3 \pm 6.3$  en SP;  $p < 0.001$ ), fueron significativamente mayores en el grupo SP que en el grupo IP. De manera similar, al analizar las edades (en años) de la primera infección pulmonar ( $4.6 \pm 4.1$  en IP y  $13.1 \pm 8.0$  en SP;  $p < 0.001$ ) y de la primera espirometría ( $8.9 \pm 4.3$  en IP y  $15.1 \pm 6.9$  en SP;  $p < 0.001$ ), se observó un comportamiento similar e incluso la determinación de los cloruros en sudor fue mayor en los pacientes con IP en relación con los pacientes con SP ( $104.2 \pm 12.3$  en IP y  $93.8 \pm 15.8$  mEq/l en SP;  $p = 0.001$ ). Además, es importante resaltar que solamente se documentan casos de íleo meconial en pacientes con IP (7.3%) y que la frecuencia de defunciones también fue más alta en este grupo, aunque no se observaron diferencias significativas ( $31.8$  vs.  $11.0\%$ ;  $p > 0.05$ ). Por otro lado, la frecuencia de infecciones por *P. aeruginosa* fue mayor en pacientes con IP (73.4%) en comparación con las pacientes SP (47.4%) (OR = 3.1; IC 95% 1.5-6.3;  $p < 0.05$ ), y de igual manera, el deterioro pulmonar evaluado mediante la caída anual del VEF1, mostró que los pacientes con IP también tienen un deterioro pulmonar relativamente mayor que aquellos con SP ( $5.8$  vs.  $3.8\%$ ;  $p = 0.014$ ) (Cuadro 1). La correlación entre el deterioro pulmonar medido por la escala de Brasfield y el tiempo de evolución de la enfermedad mostró un coeficiente de correlación negativo tanto en pacientes con SP ( $R = -0.071$ ;  $p > 0.05$ ) como en aquellos con IP, aunque no se observaron diferencias significativas ( $R = -0.134$ ;  $p > 0.05$ ).

Al estratificar a los pacientes con base en sus genotipos particulares (Cuadro 2) y al hacer la correlación con la función pancreática, se observa que del grupo de pacientes con ambos alelos caracterizados,

77.8% (91/117) son portadores de mutaciones graves y todos presentaban IP; mientras que en el resto del grupo, nueve de ellos (9/117; 7.7%), aun cuando eran portadores de al menos una mutación leve, también presentaron IP; en tanto que el resto de los pacientes de este grupo, 14.5% (17/117) con al menos una mutación leve cursaron con SP (Cuadros 2 y 3). De los pacientes con sólo un alelo caracterizado, 83.0% (88/106) presentó IP y 17.0% (18/106) una función pancreática normal (Cuadro 2 y 4). De los siete pacientes con ambos alelos sin caracterizar 57.1% (4/7) presentaron IP y 42.9% (3/7) SP (Cuadro 2).

Además, al clasificar a los pacientes con base en los genotipos particulares se documentó que 100% de los pacientes con ambas mutaciones graves, así como casi 90% (88/101) de los pacientes portadores de sólo una mutación grave, cursaban con IP. De los

pacientes con al menos una mutación leve, 34.6% (9/26) cursaron con IP y el resto presentó una función pancreática normal. Es notable que bajo esta misma estratificación, los grupos de pacientes con ambas mutaciones graves o sólo una mutación grave se comportan de manera muy similar, ya que en ambos grupos se observa una mayor gravedad en los parámetros clínicos, sobre todo a edades más tempranas; de hecho el análisis estadístico muestra diferencias significativas en la mayoría de los parámetros ( $p < 0.05$ ). Es importante hacer notar que los siete pacientes sin genotipo caracterizado (ambos alelos desconocidos) fueron eliminados del estudio (Cuadro 5). Finalmente al estratificar a los pacientes por grupos etarios e insuficiencia pancreática se documentó que 71.7% de los pacientes con IP presentaron infección pulmonar por *P. aeruginosa* antes de los cinco años de edad ( $n = 114/159$ ;  $p < 0.001$ ), observándose una

Cuadro 1. Características clínicas en pacientes suficientes e insuficientes pancreáticos.

	Estado pancreático		p
	Insuficiencia n = 192	Suficiencia n = 38	
Promedio $\pm$ DE <sup>‡</sup>			
Edad al inicio de síntomas (años)*	0.9 $\pm$ 1.8	3.7 $\pm$ 4.5	< 0.001
Edad al diagnóstico (años)*	3.3 $\pm$ 4.1	11.1 $\pm$ 9.1	< 0.001
Lapso (años)**	2.4 $\pm$ 3.1	7.3 $\pm$ 6.3	< 0.001
Escala de Brasfield	17.6 $\pm$ 3.3	18.5 $\pm$ 3.3	NS
Edad de primera infección pulmonar (años)***	4.6 $\pm$ 4.1	13.1 $\pm$ 8.0	< 0.001
Edad de primera espirometría (años)*	8.9 $\pm$ 4.3	15.1 $\pm$ 6.9	< 0.001
Edad al fallecimiento (años)*	11.8 $\pm$ 8.4	17.9 $\pm$ 9.5	NS
Niveles de cloruros en sudor (mEq/L)	104.2 $\pm$ 12.3	93.8 $\pm$ 15.8	0.001
Caída anual de VEF1 (%/año)	5.8 $\pm$ 5.4	3.8 $\pm$ 3.6	0.014
Positivos (n) / estudiados, n (%)†			
Infección pulmonar***	141/192 (73.4)	18/38 (47.4)	0.008
Íleo meconial	15/192 (7.3)	0/38 (0)	NS
Fallecimientos	61/192 (31.8)	8/38 (21.0)	NS

\* En años. \*\* Lapso entre edad de inicio de síntomas y edad al diagnóstico. \*\*\* Infección pulmonar por *Pseudomonas aeruginosa*. † U Mann-Whitney. ‡  $\chi^2$ . NS: estadísticamente no significativo. n = número de pacientes.

Cuadro 2. Pacientes estratificados con base en la función pancreática y alelos caracterizados.

Genotipo	Función pancreática		Total
	Insuficiencia (%)	Suficiencia (%)	
Ambas mutaciones graves (n = 91)	91 (77.8)	0 (0)	117
Al menos una mutación leve (n = 26)	9 (7.7)	17 (14.5)	
Sólo una mutación grave caracterizada (n = 101)	88 (83.0)	13 (12.3)	106
Sólo una mutación leve caracterizada (n = 5)	0 (0)	5 (4.7)	
Ninguna mutación caracterizada (n = 7)	4 (57.1)	3 (42.9)	7
Totales	192	38	230

Cuadro 3. Genotipos *CFTR* de los pacientes IP y SP con ambos alelos caracterizados (n = 117).

IP Genotipo (ambas mutaciones graves)	n = 91	IP Genotipo (al menos una mutación leve)	n = 9	SP Genotipo (al menos una mutación leve)	n = 17
p.F508del/p.F508del	41	c.3849+10kbC>T/c.711+1G>T	1	c.3849+10kbC>T/p.W1282X	1
p.F508del/c.1078delT	2	c. 846delT/c.3272-26A>G	1	p.A455E/p.Q552X	2
p.F508del/c.1716G>A	1	p.F508del/p.A455E	2	p.F508del/c.3199del6	2
p.F508del/c.1924_1930del	1	p.F508del/p.D1152H	1	p.F508del/c.3849+10kbC>T	3
p.F508del/c.2055_2063del	2	p.F508del/p.G551S	1	p.F508del/p.I506T	1
p.F508del/c.2183AA>G	2	p.F508del/p.R117H	1	p.F508del/p.R334W	6
p.F508del/c.297-1G>A	1	p.G542X/ c.3849+10kbC>T	1	p.I148T/c.3199del6	1
p.F508del/c.406-1G>A	2	p.I148T/c.3199del6	1	p.W1098C/p.R75X	1
p.F508del/c.935delA	1				
p.F508del/p.G542X	6				
p.F508del/p.G85E	2				
p.F508del/p.I148T	1				
p.F508del/p.I507del	4				
p.F508del/p.L558S	1				
p.F508del/p.N1303K	3				
p.F508del/p.P750L	1				
p.F508del/p.R1162X	1				
p.F508del/p.S549N	2				
p.F508del/p.W1069X	1				
p.F508del/p.W1282X	1				
p.G542X/p.G542X	5				
p.G542X/p.N1303K	1				
p.G542X/p.R347P	1				
p.G542X/p.S549N	1				
p.G551D/p.R553X	1				
p.H199Y/c.406-1G>A	1				
p.I507del/p.I507del	1				
p.N1303K/c.711+1G>T	1				
p.N1303K/p.N1303K	1				
p.R75X/p.R75X	1				
p.S549N/p.S549N	1				

disminución paulatina de este evento conforme avanzaba la edad de estos pacientes (Figura 1).

## DISCUSIÓN

El estudio del gen *CFTR* ha contribuido de manera importante al conocimiento de la etiología y la fisiopatología de la FQ. Hasta la fecha se han descrito más de 1,930 mutaciones asociadas con las diferentes formas del fenotipo o expresión de la enfermedad. Cada mutación, así como la combinación de éstas, tienen un impacto diferente sobre la proteína y una repercusión particular en su función en la membrana apical de las células epiteliales exocrinas. La gran variabilidad del genotipo ha proporcionado, en parte, la base para explicar los efectos de las mutaciones sobre la variación del fenotipo y el grado de

afección, por consiguiente, el amplio espectro de signos y síntomas del cuadro clínico de la FQ.<sup>18</sup>

Diversos estudios de correlación genotipo-fenotipo han sido desarrollados para encontrar una correlación entre la variabilidad clínica y la heterogeneidad genética de la enfermedad, donde en la mayoría se ha documentado que el genotipo *CFTR* invariablemente correlaciona con la función pancreática.<sup>19-26</sup> En este trabajo, se documentó que todos los pacientes que presentan ambos alelos con mutaciones clasificadas como graves, así como casi 90% de los portadores con al menos una mutación grave, cursaron con insuficiencia pancreática (IP), lo que evidenció una estrecha correlación entre mutaciones *CFTR* graves y dicha manifestación clínica. De esta manera, los resultados apoyan que en la mayoría de los casos se podría inferir que pacientes con IP son

Cuadro 4. Genotipos *CFTR* de los pacientes IP y SP con al menos un alelo caracterizado (n = 106).

IP Genotipo (al menos una mutación grave caracterizada)	n = 88	SP Genotipo (al menos una mutación grave caracterizada)	n = 13	SP Genotipo (al menos una mutación leve caracterizada)	n = 5
c.2055_2063del/NC	1	p.F508del/NC	9	c.3272-26A>G/NC	1
c.3120+1G>A/NC	2	p.G542X/NC	2	p.I506T/NC	1
c.4160_4161insGGGG/NC	1	p.N1303K/NC	1	p.IVS8-5T/NC	1
c.935delA/NC	1	p.S549N/NC	1	p.R334W/NC	1
p.F508del/NC	62			p.R75Q/NC	1
p.G542X/NC	12				
p.I148T/NC	1				
p.I507del/NC	1				
p.N1303K/NC	3				
p.S549N/NC	1				
p.T1036N/NC	1				
p.W1204X/NC	1				
p.Y1092X//NC	1				

NC: no caracterizados.

Cuadro 5. Características clínicas en pacientes con FQ con base en genotipos.

	Ambas mutaciones graves n = 91	Al menos una mutación leve n = 26	Sólo una mutación grave caracterizada n = 101	Sólo una mutación leve n = 5	p
Promedio ± DE <sup>‡</sup>					
Edad al inicio de síntomas (años)*	0.7 ± 1.4	3.4 ± 4.7	1.4 ± 2.4	2.1 ± 2.2	NS
Edad al diagnóstico (años)*	3.1 ± 3.7	9.3 ± 9.7	4.3 ± 5.4	9.4 ± 4.1	0.006
Lapso (años)**	2.4 ± 3.1	5.9 ± 6.3	2.9 ± 3.9	7.3 ± 2.3	0.007
Escala de Brasfield	17.4 ± 3.4	17.9 ± 3.2	18.1 ± 3.2	19.0 ± 4.2	NS
Edad de primera infección pulmonar (años)***	4.8 ± 3.9	10.6 ± 9.2	5.3 ± 5.4	9.3 ± 4.1	0.011
Edad de primera espirometría (años)*	8.9 ± 4.8	14.2 ± 8.3	10.5 ± 4.5	10.1 ± 3.3	0.003
Edad al fallecimiento (años)*	11.3 ± 9.1	16.5 ± 10.9	12.0 ± 7.1	NANS	
Niveles de cloruros en sudor (mEq/L)	104.7 ± 11.8	92.6 ± 16.7	104.5 ± 11.4	93.3 ± 22.6	0.006
Caída anual de VEF1 (%/año)	5.3 ± 5.0	5.1 ± 4.4	6.2 ± 6.2	2.7 ± 2.9	NS
Positivos (n) / estudiados, n (%) <sup>†</sup>					
Insuficiencia pancreática	91/91 (100)	9/26 (34.6)	88/101 (87.1)	0/5 (0)	< 0.001
Infección pulmonar***	69/91 (75.8)	15/26 (57.7)	68/101 (67.3)	3/5 (60.0)	NS
Íleo meconial	7/91 (7.7)	0/26 (0)	8/101 (7.9)	0/5 (0)	NS
Fallecimientos	32/91 (35.2)	8/26 (30.8)	26/101 (25.7)	1/5 (20.0)	NS

\* En años. \*\* Lapso entre edad de inicio de síntomas y edad al diagnóstico. \*\*\* Infección pulmonar por *Pseudomonas aeruginosa*. <sup>†</sup> Kruskal-Wallis. <sup>‡</sup>  $\chi^2$ . NS: estadísticamente no significativo. NA: no aplica. Ningún paciente con sólo una mutación leve caracterizada había fallecido hasta el momento del análisis. n = número de pacientes.

portadores de mutaciones graves, aún cuando los alelos *CFTR* no hayan sido caracterizados. Sin embargo, no todos los pacientes portadores de al menos una mutación leve cursaron con SP como se esperaba, ya que 34.6% se les diagnosticó IP (Cuadro 2). Esto sugiere que la correlación entre las mutaciones de la clase I a la V y el fenotipo pancreático no es absoluta, ya que algunas mutaciones se pueden asociar tanto a IP como a SP.<sup>27</sup>

Con base en lo anterior, se ha documentado que otros factores genéticos pueden influir en la gravedad del fenotipo de FQ, como los alelos complejos, llamados así por la coexistencia de dos alteraciones diferentes en el mismo alelo *CFTR*.<sup>28-30</sup> Un ejemplo clásico es la mutación sin sentido R117H, que causa una disfunción en la conductancia del canal *CFTR*, de la cual se ha determinado que dependiendo en qué alelo del polimorfismo se presente, ya sea *CFTR-5T*,

7T o 9T, se puede clasificar como una mutación grave o como una mutación leve. Cuando esta alteración ocurre en *cis* con el polimorfismo 5T en uno de los cromosomas, y en *trans* se localiza una mutación grave como la p.F508del, da como resultado pacientes con IP; mientras que cuando se presenta la variante 7T, los pacientes presentan desde un cuadro clínico con sintomatología leve hasta una FQ atípica con sólo CBAVD.<sup>31-33</sup> En este trabajo, uno de los pacientes con genotipo p.F508del/p.R117H cursaba con IP, lo que sugiere que la mutación p.R117H se encuentra en *cis* con el polimorfismo 5T (Cuadro 3). Otra situación similar es lo actualmente reportado sobre la mutación 3199del6, de la cual ha sido muy controversial su efecto en pacientes con FQ.<sup>34,35</sup> Esta mutación se localiza en la región de los dominios transmembranales (TM10),<sup>36</sup> se clasifica como mutación tipo IV (mutaciones que afectan la conductancia del cloro),<sup>28</sup> es decir, mutación leve. Sin embargo, en fechas recientes, esta mutación 3199del6 aunada a la I148T forma otro tipo de alelo complejo, en donde al estar en *cis*, actúan como un cambio importante en la función de la proteína.<sup>35</sup>

Por otro lado, se ha propuesto que otros factores genéticos, denominados genes modificadores, tienen un impacto en la gravedad del resto de las manifestaciones clínicas de la FQ, aún cuando no participan en su etiología directamente, como los genes que codifican para alfa-1-antitripsina (*alfa1-AT*), alfa-1-antiquimotripsina (*alfa1-ACT*), HLA clase II, entre otros.<sup>37</sup> Más recientemente, se han reportado otros factores epigenéticos como microRNAs (miRNAs), que pueden regular la expresión del gen *CFTR* a nivel postranscripcional. Megiorni, *et al.*, demostraron que los miRNAs: miR-101/miR-494 pueden disminuir considerablemente la actividad de este gen, por lo que una alteración en la expresión de estas moléculas podría estar involucradas en la gran variabilidad fenotípica observada entre los pacientes con FQ. En este sentido, es indispensable tener en cuenta que existen mutaciones sensibles a variaciones en otros factores genéticos que pueden modular de manera particular las manifestaciones clínicas de la FQ.<sup>38</sup>

Sin duda, estas observaciones evidencian la complejidad de correlacionar algunas mutaciones *CFTR* con un fenotipo específico. Al clasificar a los pacientes de acuerdo con la función pancreática se observa que la edad de inicio de los síntomas, la edad al diagnóstico, el lapso transcurrido entre ambos, la determinación de cloruros en sudor, parámetros que evalúan la función pulmonar, así como la presencia de *P. aeruginosa* presentaron una estrecha correlación entre los pacientes clasificados por IP como por

genotipos particulares, pero significativamente diferentes a los pacientes con SP ( $p < 0.05$ ) (Cuadro 1).

Notablemente, la afección pulmonar en nuestros pacientes con IP se presentó desde edades muy tempranas a diferencia del grupo de pacientes con SP, donde el deterioro anual de la función pulmonar fue más lento, presentando una correlación negativa y estadísticamente significativa entre el tiempo de evolución y la gravedad de la función pulmonar. Esto sugiere que las mutaciones graves, las cuales se asocian a insuficiencia pancreática, conducen más rápidamente al deterioro de la función pulmonar, ya que los pacientes con este tipo de mutaciones –aunado a su fondo genético y a los factores ambientales– presentarán a edades más tempranas inflamación crónica provocada por secreciones viscosas e infecciones recurrentes por microorganismos oportunistas, como *P. aeruginosa*, proceso que conduce a un cuadro obstructivo-restrictivo de las vías respiratorias con hipertensión arterial pulmonar y posteriormente *cor pulmonale*, complicaciones que causan su fallecimiento. Aunado a esto, también se observó una correlación significativa entre la presencia de *P. aeruginosa* y la afección pancreática (OR = 3.1; IC 95% 1.5-6.3;  $p < 0.05$ ), lo que apoya fuertemente una correlación directa entre la IP y la gravedad de las manifestaciones respiratorias (Cuadro 2).

Cabe mencionar que en los pacientes con función pancreática normal se observa una diferencia importante entre el lapso transcurrido entre la edad de inicio de los síntomas y la edad al diagnóstico; esta brecha podría sugerir que todavía existe un subdiagnóstico de la FQ en México. De hecho, en nuestro país, hasta hace tres décadas se aseguraba que la FQ era un padecimiento inexistente o poco frecuente. Sin embargo, en un estudio *post mortem* de 3,260 autopsias se documentó una frecuencia cercana al 1% de esta enfermedad.<sup>39</sup> Aun cuando el conocimiento de la FQ ha ido en aumento en nuestro país, es muy probable que en hospitales de primero y segundo nivel un gran número de pacientes con FQ fallezcan sin diagnóstico y sin un tratamiento adecuado debido a la falta de conocimiento de la enfermedad o que ésta se enmascara con patologías propias de nuestro medio como desnutrición, diarreas y enfermedades de vías respiratorias. De hecho, a diferencia de otros países desarrollados en donde la sobrevida es de más de 35 años, en este estudio se observa que la edad de fallecimiento en ambos grupos es mucho menor ( $11.8 \pm 8.4$  años en pacientes IP y  $17.9 \pm 9.5$  años en SP).<sup>27</sup>

Por otro lado, es importante resaltar que lo observado al estratificar a los pacientes con base en su

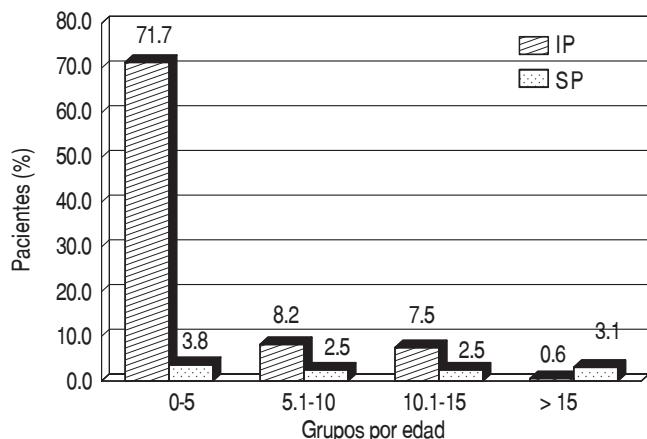


Figura 1. Infección por *Pseudomonas aeruginosa* estratificados por grupos etarios.

genotipo, tanto el grupo de pacientes con ambos alelos graves, como aquéllos con al menos un alelo grave caracterizado, presentaron los datos clínicos de mayor gravedad (presentación clínica más temprana y datos respiratorios a edades más tempranas). Esto corrobora que la IP parece influir directamente en la gravedad del resto de las manifestaciones, tal y como se observa en el análisis al clasificar a los pacientes con base en su función pancreática (Cuadro 5). De igual manera, al dividir a los pacientes por grupos etarios, se observó que los pacientes con IP presentaron afección pulmonar a edades más tempranas (Figura 1).

## CONCLUSIONES

Los datos obtenidos en este estudio apoyan lo ya descrito en la literatura, donde en la mayoría de los casos se ha reportado una alta correlación, entre la función pancreática y el genotipo del paciente con FQ.<sup>27</sup> Además, a diferencia de lo reportado, donde se ha establecido que la afectación pulmonar es modulada principalmente por genes modificadores y el medio ambiente, en este estudio se observó una importante correlación entre la IP y la mayoría de los parámetros clínicos evaluados en los pacientes, tales como la edad de inicio de los síntomas, la edad al diagnóstico, el lapso transcurrido entre ambos, la edad al fallecimiento, los parámetros que evalúan la función pulmonar, así como la presencia de *P. aeruginosa* (OR = 3.1; p < 0.05), sobre todo con el agravamiento en la afección pulmonar que es la principal causa de fallecimiento en estos pacientes. Es importante remarcar que aun cuando la IP no es la principal causa de muerte, su estrecha correlación entre la gravedad de las mutaciones y la mayoría

de los parámetros clínicos sugiere fuertemente que el estado pancreático del paciente con FQ puede ser considerado como un marcador de la gravedad de esta entidad, lo cual sería de gran utilidad en países como el nuestro, con una gran heterogeneidad genética y en donde no se cuenta con acceso a estudios moleculares por su alto costo para un diagnóstico y tratamiento oportunos.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a CONACyT por el apoyo financiero (CONACyT-SALUD 2003-C01-066).

## REFERENCIAS

1. Cutting GR. Cystic fibrosis. In: Rimoin DL, Connor MJ, Pyeritz RE (eds.). *Principles and practice of medical genetics*. 5th Ed. London: Churchill-Livingston: Emery and Rimon's; 2007, p. 1561-606.
2. The molecular genetic epidemiology of cystic fibrosis. WHO/HGN/CF/WG/04.02
3. Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Available from: <http://www.genet.sickkids.on.ca>
4. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean M, Rozmahel R, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science* 1989; 245: 1059-65.
5. Culling B, Ogle R. Genetic counselling issues in cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev* 2010; 11(2): 75-9.
6. Groman JD, Meyer ME, Wilmott RW, Zeitlin TL, Cutting GR. Variant cystic fibrosis phenotypes in the absence of CFTR. *N Engl J Med* 2002; 347: 401-07.
7. Accurso FJ. Update in cystic fibrosis 2007. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177(10): 1058-61.
8. Goetzinger KR, Cahill AG. An update on cystic fibrosis screening. *Clin Lab Med* 2010; 30(3): 533-43.
9. Kerem E, Kerem B. Genotype-Phenotype correlation in cystic fibrosis. *Pediat Pulmonol* 1996; 22: 387-95.
10. Kerem B, Corey M, Kerem BS, Rommens J, Markiewicz D. The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis analysis of the most common mutation (delta F508). *N Engl J Med* 1990; 323: 1517-22.
11. Durno C, Corey M, Zielenski J, Tullis E, Tsui LC, Durie P. Genotype and phenotype correlation in patients with cystic fibrosis and pancreatitis. *Gastroenterology* 2002; 123: 1857-64.
12. Augarten A, Ben Tov A, Madgar I, Barak A, Akons H, Laufer J, Efrati O, et al. The changing face of the exocrine pancreas in cystic fibrosis: the correlation between pancreatic status, pancreatitis and cystic fibrosis genotype. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20(3): 164-8.
13. Ooi CY, Dorfman R, Cipolli M, Gonska T, Castellani C, Keenan K, Freedman SD, et al. Type of CFTR mutation determines risk of pancreatitis in patients with cystic fibrosis. *Gastroenterology* 2011; 140(1): 153-61.
14. Ooi CY, Durie PR. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene mutations in pancreatitis. *J Cyst Fibros* 2012; 11(5): 355-62.
15. Chávez-Saldaña M, Yokoyama E, Lezana JL, Carnevale A, Viguera RM, López M, Orozco L. CFTR allelic heterogeneity in mexican patients with cystic fibrosis: implications for molecular screening. *Rev Invest Clin* 2010; 62(6): 546-52.

16. Corey M, Edwards L, Levison H, Knowles M. Longitudinal analysis of pulmonary function decline in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr* 1997; 131(6): 809-14.
17. Brasfield D, Hicks G, Soong S, Tiller R. The Chest Roentgenogram in Cystic Fibrosis: A New Scoring System. *Pediatrics* 1979; 63(1): 24-9.
18. Lezana JL. Fibrosis quística: guías clínicas para el diagnóstico y tratamiento: Enfermedad digestiva. *Intersistemas Editores* 2008; 103: 57-65.
19. Duguépéroux I, De Braekeleer M. Genotype-Phenotype relationship for five CFTR mutations frequently identified in western France. *J Cyst Fibros* 2004; 3: 259-63.
20. Braun AT, Farrell PM, Frerec C, Audrezet MP, Laxova A, Li Z, Kosorok MR, et al. Cystic Fibrosis mutations and genotype-pulmonary phenotype analysis. *J Cyst Fibros* 2006; 5: 33-41.
21. Shastri SS, Kabra M, Kabra SK, Pandey RM, Menon PSN. Characterisation of mutations and genotype-phenotype correlation in cystic fibrosis: Experience from India. *J Cyst Fibros* 2008; 7: 110-5.
22. Makukh H, Krenková P, Tyrkus M, Bober L, Hancarová M, Hnteyko O, Macek M. A high frequency of the Cystic Fibrosis 2184insA mutation in Western Ukraine: Genotype-phenotype correlation, relevance for newborn screening and genetic testing. *J Cyst Fibros* 2010; 8: 371-5.
23. Salvatore D, Buzzetti R, Baldo E, Forneris MP, Lucidi V, Manunza D, Marinelli I, et al. An overview of international literature from cystic fibrosis registries. Part 3. Disease incidence, genotype/phenotype correlation, microbiology, pregnancy, clinical complications, lung transplantation, and miscellanea. *J Cyst Fibros* 2011; 10: 71-85.
24. Geborek A, Hjelte L. Association between genotype and pulmonary phenotype in cystic fibrosis patients with severe mutations. *J Cyst Fibros* 2011; 10: 187-92.
25. Poulou M, Fylaktou I, Fotoulaki M, Kanavakis E, Tzetzis M. Cystic fibrosis genetic counseling difficulties due to the identification of novel mutations in the CFTR gene. *J Cyst Fibros* 2012; 11: 344-8.
26. Salvatore F, Scudiero O, Castaldo G. Genotype-phenotype correlation in cystic fibrosis: The role of modifier genes. *Am J Med Genet* 2002; 111: 88-95.
27. Castellani C, Cuppens H, Macek M Jr., Cassiman JJ, Kerem E, Durie P, Tullis E, et al. Consensus on the use and interpretation of cystic fibrosis mutation analysis in clinical practice. *J Cyst Fibros* 2008; 7(3): 179-96.
28. Orozco L, Chávez M, Saldaña Y, Velázquez R, Carnevale A, González-Del Angel A, Jiménez S. Cystic fibrosis: molecular update and clinical implications. *Rev Invest Clin* 2006; 58(2): 139-53.
29. Rowntree R, Harris A. The phenotypic consequences of CFTR mutations. *Ann Hum Genet* 2003; 67: 471-85.
30. Zielenski J. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration* 2000; 67(2): 117-33.
31. Thauvin-Robinet C, Munch A, Huet F, Génin E, Bellis G, Gautier E, et al. The very low penetrance of cystic fibrosis for the R117H mutation: a reappraisal for genetic counselling and newborn screening. *J Med Genet* 2009; 46: 752-8.
32. de Nooijer RA, Nobel JM, Arends HG, Bot AG, van Berkhouw FT, de Rijke YB, de Jonge HR, et al. Assessment of CFTR function in homozygous R117H-7T subjects. *J Cyst Fibros* 2011; 10(5): 326-32.
33. Saldaña-Alvarez Y, Jiménez-Morales S, Echevarría-Sánchez M, Jiménez-Ruiz JL, García-Cavazos R, Velázquez-Cruz R, Carnevale A, et al. Molecular screening of the CFTR gene in Mexican patients with congenital absence of the vas deferens. *Genet Test Mol Biomarkers* 2012; 16(4): 292-6.
34. Monaghan KG, Highsmith WE, Amos J, Pratt VM, Roa B, Fries M, Pike-Buchanan LL, et al. Genotype-phenotype correlation and frequency of the 3199del6 cystic fibrosis mutation among I148T carriers: results from a collaborative study. *Genet Med* 2004; 6(5): 421-5.
35. Ruchon AF, Ryan SR, Fetni R, Rozen R, Scott P. Frequency and phenotypic consequences of the 3199del6 CFTR mutation in French Canadians. *Genet Med* 2005; 7(3): 210-1.
36. Claustres M, Laussel M, Desgeorges M, Demaille J. Identification of a 6 bp deletion (3195del6) in exon 17a of the cystic fibrosis (CFTR) gene. *Hum Mol Genet* 1994; 3(2): 371.
37. Drumm ML, Ziady AG, Davis PB. Genetic variation and clinical heterogeneity in cystic fibrosis. *Annu Rev Pathol* 2012; 7: 267-82.
38. Megiorni F, Cialfi S, Dominici C, Quattrucci S, Pizzuti A. Synergistic post-transcriptional regulation of the Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR) by miR-101 and miR-494 specific binding. *PLoS One* 2011; 6(10): e26601.
39. López-Corella E, Ridaura-Saenz C, López-Cervantes G. Cystic fibrosis in mexican children. A report of 32 cases in 3260 consecutive pediatric autopsies. *Patología* 1980; 18: 167-81.

*Reimpresos:*

**Dra. Margarita Chávez-Saldaña**

Subdirección de Medicina Experimental

Instituto Nacional de Pediatría

Insurgentes Sur, Núm. 3700-C

Col. Insurgentes-Cuicuilco

04530, México, D.F.

Tel.: 1084-0900, Ext. 1453

Correo electrónico: mchavez\_s2003@yahoo.com.mx

Recibido el 6 de febrero 2013.

Aceptado el 18 de septiembre 2013.