

22
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

TOPICOS SOBRE FIBROSIS
QUISTICA

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A ;

MARIA TERESA CABRAL MEDINA

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE GENERAL

A. Justificación.	1
B. Objetivos.	3
C. Introducción.	4
D. Historia.	7
E. Etiología e Incidencia.	9
F. Características Patológicas y Clínicas.	12
1. Tracto Respiratorio.	
2. Tracto Gastrointestinal.	
3. Tracto Genitourinario.	
4. Glándulas Sudoríparas.	
G. Diagnóstico.	21
H. Pruebas de Laboratorio para Diagnóstico de la Enfermedad.	26
1. Medición de electrolitos en sudor.	
2. Detección de tripsina en meconio.	
3. Detección de tripsina en sangre.	
4. Impresiones digitales sobre placas de agar.	
5. Datos radiológicos.	
6. Diferencias en el potencial bioeléctrico.	
7. Excreción fecal de yodo radioactivo.	
8. Marcadores bioquímicos.	
9. Diagnóstico prenatal.	
I. Tratamiento.	47
J. Biología del Defecto Básico.	59
I. Normalidad.	
1. Normalidad en las Secreciones.	
2. Normalidad en el Transporte Electrolítico.	
II. Anormalidad en Fibrosis Quística.	
1. Anomalías en las Secreciones.	
2. Defecto en el Transporte Electrolítico.	
a) En Ductos de Glándulas Sudoríparas.	
b) En Parte Secretora de Glándulas Sudoríparas.	
c) En Epitelio de Vías Aéreas.	
d) En Páncreas.	

K. Genética.	86
L. Nuevos Estudios Genéticos.	113
M. Avances en Estudios Clínicos.	134
N. Importancia del Asesoramiento Genético.	136
O. Instituciones Relacionadas con la Difusión, Apoyo, Diagnóstico y Tratamiento de la Fibrosis Quística.	139
P. Discusión y Conclusiones.	142
Q. Bibliografía.	152

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla I. Enfermedades génicas más comunes.

Figura 1. Fisiopatología de la FQ.

Figura 2. Niveles de cloruros en sudor en
pacientes con FQ e individuos control.

Tabla II. Causas de falsos positivos en la
cuantificación de electrolitos en sudor.

Tabla III. Causas de falsos negativos en la
cuantificación de electrolitos en sudor.

Figura 3. Impresiones digitales sobre placas de
agar.

Figura 4. Amniocentesis.

Figura 5. Estudios familiares con marcadores de
DNA.

Figura 6. Bomba de sodio electrogénica.

Figura 7. Representación esquemática del
transporte electrolítico en la glándula
sudorípara.

- Figura 8. Valores del voltaje transepitelial obtenidos de pacientes normales y pacientes con FQ.
- Figura 9. Cambios del voltaje transepitelial en ductos de glándulas sudoríparas normales y con FQ.
- Tabla IV. Respuestas defectuosas mediadas por AMPC en FQ.
- Figura 10. Representación esquemática del transporte electrolítico en el epitelio de las vías aéreas.
- Figura 11. Posibilidades génicas en FQ.
- Figura 12. Mapa del brazo largo del cromosoma 7 (7q) que muestra la localización de 6 loci marcadores para FQ.
- Figura 13. Recorrido cromosómico alrededor de la región del oncogén met.
- Figura 14. Construcción de una genoteca.
- Figura 15. Modelo esquemático de la proteína CFTR.
- Figura 16. Mecanismo de acción de las enzimas de restricción.

Figura 17. Electroforesis en gel y ensayo enzimático.

Figura 18. Transferencia.

Figura 19. Inserción de moléculas de DNA en vectores génicos.

Figura 20. Clonación de cDNA.

Figura 21. Secuenciación del DNA según Maxam y Gilbert.

Figura 22. Promedio de vida en FQ.

A. JUSTIFICACION

La Fibrosis Quística (FQ) es una enfermedad humana cuya patología tiene bases genéticas y bioquímicas específicas. Esto la hace un modelo de estudio interesante para investigación en diversas áreas de la Biología, como por ejemplo: el desarrollo de técnicas de biología molecular aplicadas al diagnóstico de FQ, creación de modelos experimentales en animales que permiten estudiar la fisiopatología de la enfermedad y la posible aplicación de la ingeniería genética para el tratamiento de la FQ.

Un inconveniente fundamental en el estudio de la FQ es que se ha generado un cúmulo de información dispersa, como resultado de la falta de sistematización de los conocimientos de la enfermedad. Esto trae consigo una dificultad importante para fundamentar líneas de investigación que produzcan resultados relevantes sobre FQ.

Por otro lado, se sabe que la FQ es, dentro de las enfermedades metabólico-genéticas, una de las más comunes, lo que ha hecho que recientemente se tenga, a nivel mundial, un interés particular sobre investigación básica en FQ principalmente a nivel de estudios genéticos y metabólicos. La importancia actual para llevar a cabo investigación básica sobre FQ, radica fundamentalmente en conocer más sobre los mecanismos de producción de la enfermedad a nivel molecular y avanzar sobre métodos terapéuticos específicos.

En México, las enfermedades metabólico-genéticas como la FQ han sido pobremente estudiadas a todos los niveles, por ejemplo, no existen datos sobre casuística de FQ en nuestra población, como tampoco existen estudios sistematizados a nivel clínico y/o básico (Pérez-Fernández, et al., 1990). Esto hace que se deba de empezar desde la base para poder plantear en nuestro país estudios sobre FQ que utilicen metodología actual basada en los reportes de la literatura.

Esto último hace de gran importancia el llevar a cabo un estudio de tipo bibliográfico sobre FQ, cuyo objetivo será, principalmente, organizar la información que se tiene actualmente a nivel mundial sobre esta enfermedad, que permita plantear de forma ordenada protocolos de investigación sobre FQ en México.

B. OBJETIVOS

1. Organizar la información que se tiene sobre FQ, comprendida básicamente de 1975 a 1989.
2. Difundir los conocimientos básicos sobre esta enfermedad.

C. INTRODUCCION

La unión conceptual de la genética y la bioquímica es quizá una de las más importantes aportaciones a la ciencia biológica de las décadas pasadas. Cada una de estas disciplinas influye en la otra y ambas participan en la comprensión de las enfermedades humanas.

La historia de la genética y la bioquímica humanas comienza a principios de siglo cuando Sir Archibald Garrod inicia sus brillantes estudios acerca de la alcaptonuria, de los que se derivó el concepto de Errores Innatos del Metabolismo (EIM): Enfermedades hereditarias que tienen en común un trastorno de alguno de los múltiples procesos químicos que continuamente se llevan a cabo en el cuerpo (Garrod, 1908 y Stanbury, 1983).

Otro concepto muy relacionado con el concepto de EIM de Garrod, es el concepto de un gen-una enzima de Beadle y Tatum, el cual está basado en los cuatro corolarios siguientes: a) todos los procesos bioquímicos en todos los organismos están bajo control genético; b) estos procesos bioquímicos son resolubles en una serie de reacciones individuales; c) cada reacción bioquímica está bajo el control final de un diferente gen individual; y d) las mutaciones de un gen individual resultan o afectan solamente la habilidad de la célula para llevar a cabo una sólo reacción química primaria (Beadle y Tatum, 1941; Bondy y Rosenberg, 1979).

Así en los EIM hay un defecto o mutación en el gen que codifica para una enzima o proteína de una vía metabólica en particular, la cual se ve afectada globalmente (Stanbury, 1983 y Velázquez, 1981). Hay una gran cantidad y variedad de EIM, por defectos de enzimas para la degradación de aminoácidos (aa) o de azúcares, así como en proteínas involucradas en el transporte, entre las cuales se encuentra la FQ. En estos casos el sustrato de la enzima inactivada se acumula y es muy frecuente que se desvíe en rutas metabólicas alternativas. El normalmente integrado y balanceado metabolismo de la célula se desajusta y es entonces, cuando algunos de los metabolitos se acumulan anormalmente mientras que otros son severa o completamente deficientes. De esta manera el cuerpo comienza a envenenarse y los síntomas característicos de cada enfermedad se manifiestan.

La FQ es una enfermedad hereditaria debida al mal funcionamiento generalizado de las glándulas exócrinas: páncreas, glándulas intestinales, conductos biliares, glándulas bronquiales y glándulas sudoríparas (Palacios-Treviño y Picazo, 1983; Pérez-Fernández, et al., 1990; Robbins, et al., 1988; Vaughan, et al., 1975 y Velázquez, 1987). La enfermedad aparece en la mayoría de los casos en los primeros meses de vida, casi siempre en la primera década y se ha visto que en la totalidad de los casos existen complicaciones pulmonares, deficiencia pancreática, alta concentración de electrolitos en sudor y en algunos casos se puede presentar también cirrosis hepática (Pérez-

Fernández, et al., 1990 y Rommens, et al., 1989). Talamo en 1983 señala evidencias de la enfermedad durante la vida intrauterina como la obliteración de los vasos aferentes del varón, lo que provoca que en estado adulto sea infértil.

D. HISTORIA

Antes de reconocer a la FQ como una entidad clínica, muchos pacientes con la enfermedad morían durante la infancia fundamentalmente por complicaciones de bronconeumonía. La enfermedad como tal fué descrita por primera vez por Fanconi en 1936 (Cortina-Watson, 1989), aunque el primer reporte completo de la descripción patológica y clínica fué realizado por Andersen en 1938 (Boat, et al., 1989).

Durante el estudio de la FQ se involucraron distintas fases:

1. En 1936, Fanconi y colaboradores señalan que los cambios patológicos en el páncreas y los efectos clínicos debidos a las deficiencias pancreáticas dieron lugar a investigaciones para poder dar nombre a la enfermedad: Fibrosis Quística del Páncreas.

2. En 1945, Farber puntualizó que las alteraciones en las secreciones mucosas pueden explicar muchos de los síntomas de la enfermedad y sugirió entonces el nombre de Mucoviscidosis.

3. Con la demostración de Di Sant' Agnese y colaboradores en 1953, de la clara participación de las glándulas salivales y sudoríparas, se evidenció que la FQ es en realidad una enfermedad que afecta muchas o quizá a todas las glándulas exócrinas.

4. Las evidencias más recientes sugieren que el gen anormal es expresado en todas las células del cuerpo (Vaughan, et al., 1975).

E. ETIOLOGIA E INCIDENCIA

En aproximadamente 200 de las más de 500 enfermedades génicas más comunes se conoce cuál es el defecto en la enzima o proteína correspondiente (Tabla I), que se transmite a la descendencia por mecanismos de herencia mendeliana. En el caso de la FQ, que es una de estas enfermedades genéticas, se asume en general que es transmisible como una característica autosómica recesiva (Robbins, et al., 1988 y Velázquez, 1987).

La incidencia teórica entre hijos de portadores es de 1:4 y ambos sexos son afectados aproximadamente con la misma frecuencia (Vaughan, et al., 1975).

Muchos aspectos de investigación genética, indican que la incidencia de homocigotos es de aproximadamente 1 en 2000 nacimientos (Tabla I), en ciudades con poblaciones predominantemente caucásicas (Kirby, et al., 1981 y Wainwright, et al., 1985). Esto trae consigo que el 5% de la población general, en estos lugares sea portadora del gen de FQ (heterocigotos). En general la FQ es rara entre la gente oriental y entre negros africanos (Pérez-Fernández, et al., 1990 y Robbins, et al., 1988). En la población negra de Estados Unidos de Norteamérica, la incidencia de FQ es de 1 en 17,000 nacimientos, lo cual indica que la frecuencia del gen de FQ en negros norteamericanos es de

TABLA 1. ENFERMEDADES GENICAS MAS COMUNES *

ERRORES INNATOS DEL METABOLISMO	INCIDENCIA
1. Fibrosis Quística (defecto en la regulación del canal de Cloro)	1/2000 caucásicos
2. Distrofia Muscular (defecto básico desconocido)	1/3000 varones (ligada al X)
3. Enfermedad de Gaucher (defecto en la glucocerebrosidasa)	1/2500 judios 1/75000 total
4. Enfermedad de Tay-Sachs (defecto en la hexosaminidasa A)	1/3500 judios 1/35000 total
5. Pentosuria Esencial (condicion favorable)	1/2000 judios 1/50000 total
6. Hemofilia Clásica (defecto del factor VIII de coagulación)	1/10000 varones (ligado al X)
7. Fenilcetonuria (defecto en la fenilalanina hidroxilasa)	1/5000 irlandeses 1/15000 total
8. Cistinuria (defecto básico desconocido)	1/15000
9. Leucodistrofia Metacromática (defecto en la arilsulfatasa A)	1/40000
10. Galactosemia (defecto de la Gal-1-P uridil transferasa)	1/40000
HEMOGLOBINOPATIAS	INCIDENCIA
1. Anemia de Células Falciformes (defecto en la cadena β de la hemoglobina)	1/400 negros
2. β -Talasemia (defecto en la cadena β de la hemoglobina)	1/400 población del mediterraneo

* (Watson, *et al.*, 1983)

aproximadamente 1 en 130 (Cutting, 1989). En la República Mexicana debe haber de 750 a 1,000 casos nuevos anualmente (Pérez-Fernández, et al., 1990 y Rivera, 1989), aunque en realidad no se cuenta con cifras estadísticas de la población general.

Pérez-Fernández y colaboradores en 1990, señalan textualmente que en la población latinoamericana, con un importante componente europeo entre sus ancestros, es de esperarse que la incidencia de FQ sea mayor de lo que se ha informado.

F. CARACTERISTICAS PATOLOGICAS Y CLINICAS

En la fisiopatología de la FQ, en general, el problema más importante es que las glándulas exócrinas producen moco más espeso y pegajoso, lo que provoca una serie de complicaciones en los aparatos respiratorio y digestivo, así como en conductos pancreáticos y hepáticos (Cortina-Watson, 1989) (Fig. 1).

1. Tracto Respiratorio.

Las secreciones mucosas en el aparato respiratorio causan obstrucciones principalmente en los bronquiolos que a su vez provocan retención de aire (hiperinflación), colapsos (atelectasia) o infecciones que traen como consecuencia daños histopatológicos irreversibles al tejido pulmonar (Cortina-Watson, 1989). La obstrucción mucosa y la infección, los mayores eventos patológicos en el pulmón, están confinados, al menos inicialmente, a los conductos de las vías aéreas. Por lo tanto las lesiones patológicas tempranas consisten en la obstrucción mucosa de bronquiolos acompañada de inflamación de la pared bronquiolar (Boat, et al., 1989). La enfermedad de los conductos aéreos se adquiere postnatalmente (Pérez-Fernández, et al., 1990).

Las vías aéreas de niños con FQ que han muerto dentro de los primeros días de vida, no manifiestan anomalías obvias (Sturges e Imrie, 1982). Por ejemplo el número y la distribución de las células en copa productoras de moco y el

DEFECTO EN LA REGULACION DEL CANAL DE CLORO



TRASTORNOS DE LA LIBERACION DE ENERGIA

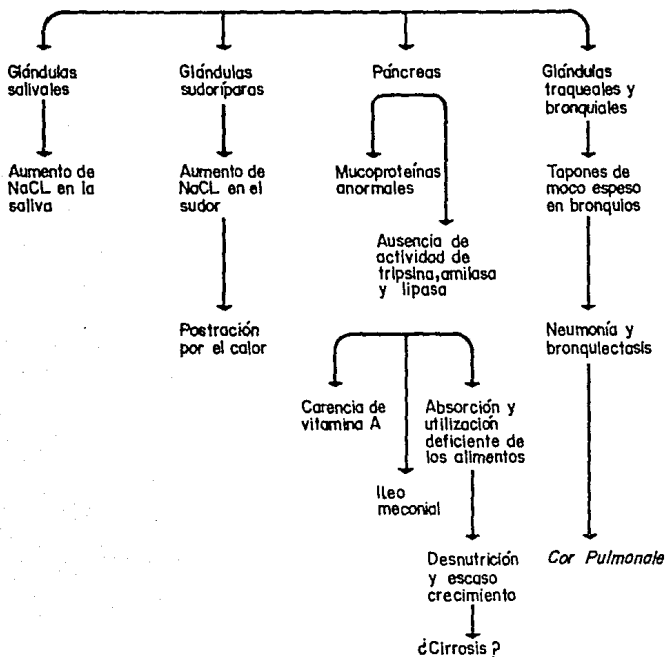


Fig.1.- Fisiopatología de la FQ. Se muestra el trastorno generalizado de la función de las glándulas exócrinas como causa de los signos y síntomas de la enfermedad (Yi-Yung, 1961).

número y la talla de las glándulas submucosas parecen estar dentro de la proporción normal al nacimiento.

Un cuidadoso análisis morfométrico de las vías aéreas en pacientes con FQ, durante los primeros días de vida, ha manifestado que existen células acinares dilatadas y lúmenes de ductos en las glándulas submucosas antes de que una reacción de infección crónica se presente (Boat, et al., 1989). Este hallazgo sugiere ya sea una hipersecreción o acumulación de secreciones con propiedades anormales en una edad temprana y proporciona fuertes evidencias de que el evento patológico primario lo constituye la acumulación de secreciones antes de la infección.

A medida que avanza la enfermedad pulmonar, se hace evidente la bronquiolititis y la bronquitis, la hipertrofia de las glándulas submucosas y las células en copa no sólo aumentan en número sino que se extienden distalmente dentro de los bronquiolos. Algunas de las vías aéreas más pequeñas pueden también estar obstruidas (Boat, et al., 1989).

La bronquioectasis (dilatación anormal irreversible y localizada de los bronquiolos) y la posterior bronquioectasis (dilatación anormal irreversible y localizada de los bronquios) son consecuencia de repetidos ciclos de obstrucción y de infección broncopulmonares (Ruiz-Manzano, et al., 1986). La bronquioectasis extensiva puede ser un hallazgo raro en la segunda década de la vida del paciente, ya que casi siempre se manifiesta mucho antes.

Cuando se presenta neumonía, generalmente se localiza a nivel peribronquial (Bedrossian, et al., 1976).

Los quistes bronquioectásicos se hacen inicialmente más prominentes en los lóbulos superiores y ocupan más del 50% del área de la sección transversa del pulmón (Tomashefski, et al., 1986a).

Además de la dilatación, los bronquiolos sufren de estenosis y obliteración (Sobonya y T'auszig, 1986).

La ausencia de una mayor destrucción de la pared alveolar, se explica porque la infección crónica más bien se dirige hacia las vías aéreas. Muchos patrones de neumonía intersticial también han sido descritos (Tomashefski, et al., 1986b).

La fibrosis (formación de tejido conectivo fibroso) peribronquiolar y peribronquial se acelera con el tiempo y contribuye a la restricción funcional del pulmón. Las arterias bronquiales se vuelven largas y tortuosas, y dan lugar a la hemoptisis (expectoración con sangre por hemorragia pulmonar) (Boat, et al., 1989).

La hipertrofia (aumento en el tamaño de un órgano, con o sin aumento en el número de sus células) e hiperplasia (aumento en el tamaño de un tejido u órgano, por incremento en el número de sus células) de los elementos secretorios y los cambios inflamatorios crónicos, también son característicos de los senos paranasales y de los pasajes nasales. Un aspecto común en la patología nasal es el edema

inflamatorio de la mucosa con la subsecuente pedunculación y formación de pólipos (Stern, *et al.*, 1982).

Las manifestaciones clínicas más frecuentes del tracto respiratorio son:

- En un estadio temprano, tos seca, aumento de la frecuencia respiratoria, prolongación de la espiración respiratoria y adinamia (Cortina-Watson, 1989).

- En un estadio moderado, se presentan signos clínicos de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), como son tos productiva constante, estertores roncantes, estertores silbantes diseminados o localizados e infecciones respiratorias de repetición. También existe aumento del diámetro torácico, disminución del área cardíaca, diafragma deprimido e hiporexia (falta de apetito) (Ruiz-Manzano, *et al.*, 1986).

- Finalmente, en un estadio avanzado, se presenta un cuadro franco de insuficiencia respiratoria acompañado de datos de insuficiencia cardíaca (Cortina-Watson, 1989).

2. Tracto Gastrointestinal.

No se observan cambios prominentes en el tracto intestinal. Las glándulas de Brunner del duodeno están hipertrofiadas lo cual provoca la dilatación de ductos y las células acinares se llenan de moco. El apéndice frecuentemente muestra hiperplasia de células en copa y de

células epiteliales, así como acumulación de secreciones mucosas dentro de criptas (Boat, et al., 1989).

Las manifestaciones gastrointestinales están presentes en el 85-90% de los pacientes con FQ (Park y Grand, 1981).

Estas manifestaciones clínicas pueden incluir ileo meconial en el 5-10% de los recién nacidos (Boat, et al., 1989); obstrucción intestinal por masas fecales; disminución de la curva ponderal con apetito voraz (no hay aumento de peso aún con administración de alimento); deficiencias vitamínicas; abdomen distendido; evacuaciones abundantes, frecuentes, grasosas y fétidas; prolapso rectal; masas palpables en colon; cólicos y flatulencia; desnutrición; tono muscular disminuido; falta de grasa subcutánea; hipoproteinemia con edema generalizado; pancreatitis; calambres musculares; debilidad; datos de una cirrosis biliar o hipertensión portal con un borde hepático nodular y duro; esplenomegalia (el bazo aumenta de tamaño) e hiperesplenismo (el bazo aumenta su función y digiere un mayor número de células); anemia, leucopenia y plaquetopenia; vómitos esofágicos con hematemesis (vómito acompañado de sangre debido a hemorragia del tubo digestivo alto) y/o melena (sangre digerida en heces fecales), entre otros (Cortina-Watson, 1989; Park y Grand, 1981).

3. Tracto Genitourinario.

Más del 95% de los pacientes masculinos con FQ tienen alterados los derivados wolffianos: Canales deferentes, cuerpo del epidídimo y vesículas seminales atrofiadas, fibróticas o completamente ausentes. La patogénesis de estos cambios estructurales probablemente se lleve a cabo muy tempranamente *in utero* (Boat, et al., 1989).

Se observa que en hombres con FQ puede haber completa ausencia de espermatozoides o frecuentes anomalías químicas como aumento en la acidez, disminución de la concentración de fructosa y un incremento en los niveles de ácido cítrico y fosfatasa ácida. Estos cambios químicos reflejan por tanto la ausencia de secreciones por parte de las vesículas seminales (Boat, et al., 1989).

El análisis de la leche materna de pacientes con FQ, ha mostrado una composición normal de proteínas y electrolitos y una mínima variación en la composición de fosfolípidos, similar a la encontrada en sangre (Alpert y Cormier, 1983; Bitman, et al., 1987).

Las manifestaciones clínicas del tracto genitourinario incluyen aspermia con ausencia de conductos deferentes en el varón, pólipos en el cérvix uterino con viscosidad del moco disminuida e incluso se ha postulado un defecto metabólico en las prostaglandinas (Cortina-Watson, 1989).

En varones con FQ puede haber una alta incidencia de hernia inguinal, hidrocele y criptorquidia. Los aspectos

reproductivos no podrían analizarse sino hasta la segunda década de vida, en donde ya se ha observado que del 2 al 3% de los hombres con FQ son infértiles (Boat, et al., 1989).

En mujeres con FQ la irregularidad menstrual y la oligomenorrea son comunes (Neinstein, et al., 1983). Muchas mujeres tienen ciclos anovulatorios debidos a la malnutrición y a la infección crónica pulmonar. Otro obstáculo mayor para procrear podría ser la presencia de un tapón mucoso sumamente espeso, el cual es muy difícil de desalojar del cuello uterino. El moco uterino en FQ está deshidratado y por lo tanto tiene concentraciones electrolíticas anormales, lo que impide la migración normal del esperma (Boat, et al., 1989).

En general la función sexual es normal y sólo se limita por factores psicológicos (Boat, et al., 1989).

4. Glándulas Sudoríparas.

Las anormalidades en los electrolitos del sudor se presentan desde el nacimiento, a través de toda la vida y aumentan con la severidad de la enfermedad, que a su vez depende del grado de afección pulmonar y pancreática. En los pacientes con FQ se presenta, entonces, un exceso de electrolitos en sudor, tales como el sodio, cloro e incluso potasio (Cortina-Watson, 1989), comparado con la marcada hipotonicidad del sudor de individuos normales. Esto adquiere gran importancia ya que una pérdida masiva de sales, por vómito o diarrea puede provocar, sobre todo en

sítios con clima cálido, una profunda hipocloremia, hiponatremia y alcalosis (Beckerman y Taussig, 1979; Nussbaum, et al., 1979 y Pérez-Fernández, et al., 1990). Incluso se puede provocar liberación de aldosterona, retención de sal por los riñones o presentarse un colapso cardíaco y por lo tanto la muerte (Boat, et al., 1989).

El padecimiento, en general, provoca un marcado retraso del crecimiento. Asimismo se han observado datos interesantes, tales como que el contenido de sodio, manganeso, plomo, hierro, cromo, titanio y aluminio es mayor en el cabello de los enfermos con FQ que en individuos normales (Cortina-Watson, 1989).

Otro hallazgo interesante es el que propone el Dr. Joel Wallach, quien asegura que, el selenio es un elemento causante de FQ, y que se halla en bajas concentraciones en la sangre de los pacientes con FQ. Esta hipótesis se basó en la similitud que había entre monos rhesus y pacientes con FQ, en cuanto a la presencia de algunos signos clínicos como la malnutrición generalizada, bajo peso corporal y concentraciones de hemoglobina de 2.3 gm/dl, todos ellos consecuencia de la acción del selenio (Hubbard, et al. 1980).

G. DIAGNOSTICO

La FQ es una enfermedad multifacética. Se considera la gran simuladora ya que sus manifestaciones se pueden confundir con demasiadas entidades clínicas, por lo tanto el médico debe estar alerta y:

1. Considerar la importancia de los estudios que forman parte de un tamiz, para diagnosticar la enfermedad en lactantes menores aún sin sospecharla (Cortina-Watson, 1989).

2. Sospechar clínicamente la enfermedad y siempre tenerla en mente (Cortina-Watson, 1989).

3. Conocer las variaciones de la enfermedad, ya que existen grados diferentes en la severidad de la misma (Cortina-Watson, 1989).

4. Actualmente esta enfermedad se diagnostica con mayor frecuencia en niños mayores, adolescentes y adultos jóvenes, lo que significa que no fué descubierta en las primeras etapas de la vida del enfermo (Cortina-Watson, 1989).

5. El diagnóstico preferencial se debe hacer con entidades como: bronquitis crónica, asma, bronconeumonía, alergia respiratoria, tosferina, tuberculosis, síndrome de mala absorción, desnutrición primaria y amibiasis crónica (Cortina-Watson, 1989).

6. Desechar el antiguo concepto de que un paciente tiene demasiado buen aspecto para padecer FQ (Cortina-Watson, 1989).

Siempre que existan las siguientes condiciones, es importante sospechar y descartar FQ:

a) Tos crónica, bronquitis, neumonía, tosferina: Los pacientes que presentan cuadros respiratorios como bronquitis o neumonías de repetición, cuadros asmáticos, bronquiolitis o cuadros coqueluchoides (similares a tosferina) deben ser estudiados como sospechosos de FQ (Cortina-Watson, 1989).

b) Alergias: Cuadros respiratorios altos como rinitis, pólipos nasales, sinusitis crónica, etc. Estos hallazgos son inespecíficos, sin embargo es importante descartar FQ (Cortina-Watson, 1989).

c) Asma: A todos los niños a los que se hace diagnóstico de asma o que presentan cuadros recurrentes de bronquitis asmática o bronquiolitis, se debe descartar FQ (Cortina-Watson, 1989).

d) Tuberculosis pulmonar no confirmada: Ocasionalmente se ha confundido con FQ (Cortina-Watson, 1989).

Para detectar las lesiones pulmonares tempranas en la FQ, la radiografía de tórax es un procedimiento muy útil. Los cambios iniciales que pueden presentarse son

hiperaereación, atelectasia y cuando el cuadro está más avanzado, los hallazgos incluyen bronquiectasias extensas y atelectasia lobar (Coates, et al., 1981).

e) Obstrucción intestinal en el recién nacido: El íleo meconial es la manifestación típica de la FQ en el recién nacido; cuando existe cuadro obstructivo intestinal, ya sea por atresia o estenosis del intestino además del íleo meconial debe considerarse la posibilidad de FQ y mantener al paciente en observación (Cortina-Watson, 1989).

f) Retardo del crecimiento, desnutrición: En las edades pediátricas, cuando el aporte calórico es adecuado tanto en el lactante como en el preescolar y coexiste retardo en el crecimiento con desnutrición en cualquier grado, se debe considerar el diagnóstico de FQ, principalmente si hay compromiso del aparato respiratorio (Cortina-Watson, 1989).

g) Diarreas agudas de repetición: En México donde la desnutrición ocupa un lugar preponderante en la patología pediátrica, las infecciones entéricas ocupan un lugar relevante. Si se analizan las historias de pacientes con FQ, casi siempre presentan numerosos cuadros diarreicos, que frecuentemente se asocian a intolerancia a disacáridos. En estos pacientes es muy importante conocer si la desnutrición es primaria o secundaria y se debe pensar por tanto en FQ (Pérez-Fernández, et al., 1990).

h) Síndrome de mala absorción: En todos los pacientes con evacuaciones esponjosas, abundantes, mal olientes y disminución sérica del nivel de carotenos, es indispensable descartar FQ por medio de la determinación de electrolitos en sudor, principalmente si el paciente presenta problemas respiratorios (Fondacaro, et al., 1982).

i) Prolapso rectal: Esta manifestación se presenta en el 25% de los pacientes con FQ, por lo que en todo prolapso rectal además de los estudios para determinar las causas se debe incluir la determinación de electrolitos en sudor (Cortina-Watson, 1989).

j) Hipogamaglobulinemia o agamaglobulinemia: En las edades pediátricas es frecuente observar pacientes con cuadros respiratorios de repetición, los cuales pueden ser debidos a hipogamaglobulinemia; esta entidad puede algunas ocasiones confundirse con la FQ, por lo que es conveniente siempre considerar la posibilidad de esta entidad y descartarla (Cortina-Watson, 1989).

k) Cirrosis hepática: Aunque casi siempre es un hallazgo anatomopatológico se puede presentar con o sin hipertensión portal, por lo que siempre deben practicarse electrolitos en sudor (Cortina-Watson, 1989).

De 3260 autopsias consecutivas, practicadas en niños mexicanos, durante el año de 1980, se informa de 32 casos

con FQ, lo cual indica que, la frecuencia de la enfermedad es de 1% en el material de autopsias. Es importante señalar que en esta serie sólo 9 casos fueron diagnosticados en vida y que 27 de los fallecimientos, es decir, la mayoría de ellos, ocurrió antes del segundo año de edad (Pérez-Fernández, et al., 1990).

Los autores atribuyen su excepcional identificación a la falta de conocimiento de la enfermedad, a la patología relacionada con el medio y a la temprana mortalidad de los niños afectados (Pérez-Fernández, et al., 1990).

H. PRUEBAS DE LABORATORIO PARA DIAGNOSTICO DE LA ENFERMEDAD

Debido a que es una enfermedad multifacética, es conveniente tenerla siempre en mente para poder sospecharla clínicamente, con todas sus variaciones y diferentes grados de severidad.

1. Una prueba que casi puede ser considerada patognomónica es la elevación de electrolitos en sudor (sodio y cloro). Los valores normales de electrolitos se encuentran en un rango de aproximadamente 18-50 mEq/L (Rodríguez, 1985), de manera que, por arriba de 60 mEq/L, se considera un hallazgo diagnóstico específico de FQ (Boat, et al., 1989; Davis, et al., 1983 y Pérez-Fernández, et al., 1990). (Fig. 2).

El diagnóstico se debe confirmar siempre con esta prueba, ya que los electrolitos se encuentran elevados en un 99% de los pacientes (Cortina-Watson, 1989). Además esta elevación está presente incluso en los primeros días de vida (Boat, et al., 1989).

Para la recolección del sudor el método más confiable y fácil es la técnica de iontoforesis que emplea pilocarpina (Gibson y Cooke, 1959). Este método no presenta ninguna dificultad y se puede hacer en menos de una hora, no es doloroso y no ofrece complicaciones. Para realizar la recolección normalmente se estimulan las glándulas sudoríparas en

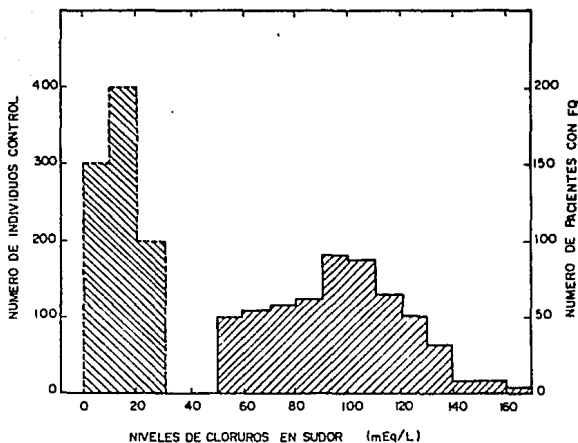


Fig. 2- Niveles de cloruros en sudor en pacientes con FQ e individuos control. Promedio de edad hasta 20 años (Vaughan , *et al.*, 1975). ▨ = 1094 individuos control (18 mEq / L) ; ▩ = 531 pacientes con FQ (97 mEq / L).

una pequeña superficie de la piel, que generalmente es el brazo, al que se aplica una solución diluida de pilocarpina y una carga eléctrica muy débil; se puede recolectar el sudor en una gasa o papel filtro que se aplica en la zona cubierta con un plástico. En la interpretación de esta prueba hay que considerar: el método de recolección de la muestra de sudor; la edad del paciente, ya que en el recién nacido y en el adolescente los niveles de electrolitos en sudor están más elevados que en el resto de las edades; la dieta y demás condiciones particulares del paciente; y las cantidades de sudor recolectado, ya que cuando la muestra es mayor la determinación es más fácil (Cortina-Watson, 1989). La mínima cantidad confiable para determinar niveles de electrolitos, es de 50 mg de sudor (Cortina-Watson, 1989). No hay correlación entre la cantidad de electrolitos y la severidad de la enfermedad (Cortina-Watson, 1989).

De cualquier manera es necesario descartar las múltiples causas de resultados falsos positivos y de falsos negativos (Tablas II y III).

2. La prueba más sencilla para estudiar la función pancreática en niños es la actividad triptica en heces, que está disminuida cuando hay insuficiencia pancreática. En casos especiales el examen de jugo duodenal para el estudio de la función pancreática,

**TABLA II. CAUSAS DE FALSOS POSITIVOS EN LA
CUANTIFICACION DE ELECTROLITOS EN SUDOR***

ERRORES DEL LABORATORIO

CONTAMINACION EN LA COLOCACION DE LA MUESTRA

ERROR EN LA DILUCION

CONDICIONES ASOCIADAS CON ELEVACION DE ELECTROLITOS EN SUDOR
(Insuficiencia Adrenal, Mucopolisacridosis, Diabetes Insípida
Nefrogénica Hereditaria y Síndrome Colectático Familiar)

***(Pérez-Fernández, *et al.*, 1990)**

**TABLA III. CAUSAS DE FALSOS NEGATIVOS EN LA
CUANTIFICACION DE ELECTROLITOS EN SUDOR***

METODOLOGIA NO CONFIABLE

ERRORES TECNICOS

VARIABILIDAD FISIOLOGICA

*(Pérez-Fernández, *et al.*, 1990)

dará aumento de la viscosidad, con disminución o ausencia de las enzimas pancreáticas (amilasa, tripsina, quimiotripsina o carboxipeptidasa). Las pruebas normales de la función pancreática no descartan el diagnóstico, ya que la insuficiencia pancreática se presenta en el 80% de los pacientes con FQ (Cortina-Watson, 1989).

Las heces pueden investigarse de acuerdo con su actividad triptica, al diluir una muestra libre de orina 1:10 y 1:100 con una solución de bicarbonato de sodio al 5% en agua destilada. Se coloca una gota de cada una de las diluciones sobre la superficie gelatinosa de un fragmento de radiografía no expuesto, para luego incubarlo durante una hora a 37°C. Se enjuaga con agua fría y se observa el cambio de coloración en la película. Las pruebas que se leen constantemente negativas, o sea, las que no muestran una mayor zona clara, en cualquiera de las diluciones, sugieren FQ.

Otro método para detectar la presencia de tripsina en heces fecales de recién nacido, se lleva a cabo por medio de una reacción colorimétrica. Este método, comparado con el de detección de albúmina en meconio, reportado por Dankert-Roelse y colaboradores en 1987, es mucho más efectivo debido a que no produce falsos positivos en un rango de 0.1 al 1.2% para el primer

especimen y en un 0.05% para la segunda prueba (Crossley, et al., 1977).

En tarjetas de papel filtro, donde se indica nombre y edad del paciente, así como el hospital al que pertenece, se coloca la muestra (como del tamaño de un chicharo). Un disco de 6 mm de diámetro de cada tarjeta se transfiere con pinzas a un tubo de ensaye de 4 ml de capacidad. Los estándares (0.01, 0.1 y 1.0 g de tripsina) y un disco de una tarjeta de un paciente con FQ no tratada, se colocan también en un tubo de ensaye de 4 ml. La solución BAPNA (Benzoil arginina-p-nitroanilida, L-isómero 0.65 mg/ml en agua destilada), se mezcla con un volúmen igual de amortiguador y 0.8 ml se añaden a cada uno de los tubos.

Los tubos se dejan a temperatura ambiente y en la obscuridad, durante toda la noche. A la mañana siguiente, contra un blanco de agua, se mide la absorbancia a 410 nm; un resultado positivo es una absorbancia menor a 0.5 (Crossley, et al., 1977 y Forrest, et al., 1980).

3. Recientemente ha habido mucho interés en medir tripsina inmunoreactiva en sangre de recién nacidos (Fost y Farrell, 1989), porque concentraciones altas de esta proteína se han observado en la sangre de niños que presentan FQ (Crossley, et al., 1979; Hammond, et al., 1987 y Kirby, et al., 1981).

La principal ventaja de este método es que la sangre en papel filtro se obtiene cotidianamente gracias a los tamices ya implementados para la prevención del retardo mental en donde se toman rutinariamente las muestras de papel filtro de una determinada población infantil (Fost y Farrell, 1989).

La sangre se obtiene al puncionar por medio de una lanceta, la planta del pie de los recién nacidos y las gotas son colectadas dentro de un área determinada con el fin de que el volúmen de sangre sea el suficiente para la realización de la prueba. En cuanto a la prueba de tripsina, existen 2 variantes, una dada por Crossley y colaboradores en 1979 y otra por Kirby y colaboradores en 1981:

Según Crossley, et al. (1979), se perforan de cada una de las tarjetas, dos discos de 12 mm de diámetro. Para eluir la tripsina, se añaden 0.5 ml de un amortiguador de fosfatos que a su vez contienen 0.33% de albúmina de suero bovino y se incuban por dos horas a temperatura ambiente. La tripsina inmunoreactiva (IRT) en suero y el eluido de la sangre en papel filtro se miden por un radioinmunoensayo de doble anticuerpo (Elias, et al., 1977) que utiliza la mitad del volúmen de todos los reactivos. El anticuerpo y la tripsina-¹²⁵ se añaden en volúmenes pequeños, de manera que 150 µl de eluido puedan ser utilizados en el ensayo.

Se ha confirmado que los componentes de los eritrocitos lavados con la tripsina a partir de discos de papel filtro, no interfieren en la prueba de tripsina estándar y que la tripsina porcina usada terapéuticamente en FQ, no provoca reacciones cruzadas significativas en la prueba.

Elias, et al. (1977), proponen que la tripsina humana altamente purificada, preparada a partir de tejido pancreático, por el método de Temler y Kagi, se puede usar como inmunógeno y para la radio-iodinación. Los anticuerpos son producidos en conejos. La radio-iodinación se lleva a cabo por medio del método de cloramina-T con yoduro de sodio- I^{125} . Los estándares para la prueba se clasifican de 80 a 1280 $\mu\text{g/l}$ de una preparación de tripsina humana semipurificada. El estándar de tripsina posee aproximadamente una tercera parte de la actividad enzimática P/P del material purificado, al que nos referimos anteriormente. El ensayo es más preciso con 300 μg de tripsina estándar por litro de suero.

En el otro método propuesto por Kirby, et al. (1981), los estándares liofilizados son reconstituídos con lavado salino isotónico de eritrocitos para dar aproximadamente 50% de hematocrito. Estos estándares son apropiadamente diluidos para dar un rango de 1-15 ng por muestra. Estos estándares ya diluidos son aplicados en alícuotas de 50 μl a los círculos de 12 mm

de diámetro removidos de las tarjetas de papel filtro con sangre. Se retira un círculo de 6 mm de diámetro que equivale a un cuarto de los 50 µl del material aplicado por círculo. Se prepara un blanco no específico. Para esto se sigue el mismo procedimiento que para los estándares, excepto que no se añade el primer anticuerpo a los tubos del blanco no específico. Para cada paciente se toma un círculo de 6 mm de diámetro. Cuando todos los círculos se encuentran en su respectivo tubo de ensaye se añaden 100 µl del primer anticuerpo, después de 5 hrs a temperatura ambiente, se añaden 100 µl de trazas radioactivas a cada tubo y se incuban en obscuridad a temperatura ambiente, de 12 a 16 hrs, después se añaden 100 µl del segundo anticuerpo y se incuba por 5 hrs a temperatura ambiente. Al día siguiente (se guarda a 4°C) se añaden 1.5 ml del reactivo de lavado frío y se centrifuga, se decanta y se cuenta la radioactividad del precipitado en un contador gamma.

Este es un procedimiento sin riesgos, con una sensibilidad de hasta 96% y con un porcentaje muy bajo de falsos negativos (Pérez-Fernández, et al., 1990).

4. Otra prueba para la detección de FQ, se lleva a cabo mediante el análisis de la concentración de sodio, potasio y cloro en mEq/L en impresiones digitales de pacientes sobre placas de agar tratadas previamente con cloruros. La impresión se realiza durante

aproximadamente 2 segundos. La evaluación se hace al tomar en cuenta la intensidad (clara u obscura) de la impresión sobre agar (Fig. 3). Este método diagnóstico no se recomienda para niños menores de 2 meses de edad, ya que la huella digital es muy tenue, sin embargo, en niños mayores puede realizarse la impresión completa del pie o la mano.

Algunas condiciones como el estrés o la estimulación emocional pueden alterar los resultados del estudio, ya que producen aumento en la concentración de electrolitos sobre las manos. este es un método fácil, rápido y barato, pero no sustituye la eficacia del método de medición de electrolitos en sudor por iontoforesis (Shwachman y Mahmoodian, 1981).

5. En cuanto a los datos radiológicos se ha visto que las placas de tórax en un principio son normales, pero más adelante pueden mostrar zonas difusas de enfisema obstructivo, densidad aumentada, múltiples abscesos pulmonares y bronconeumonía (Pérez-Fernández, et al., 1990). Las series gastrointestinales en ocasiones muestran retraso en el tiempo de vaciamiento del bario en el íleo y colon (Boat, et al., 1989). El *cor pulmonale* (conjunto de trastornos circulatorios secundarios a procesos pulmonares crónicos, como

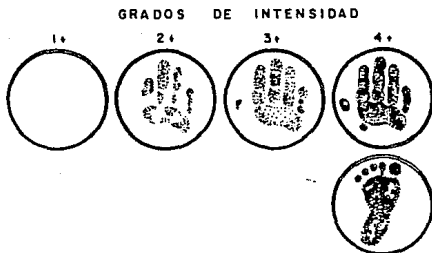


Fig. 3- Impresiones digitales sobre placas de agar. De izquierda a derecha se observan los grados de intensidad 1+ - 4+. Las impresiones del extremo derecho corresponden a un niño de 10 semanas de vida con FQ. La concentración de electrolitos en sudor fue de 74.0 mEq/L (Shwachman y Mahmoodian, 1981).

resultado de la resistencia de los pulmones al paso de la sangre) también puede originar alteraciones cardíacas características y visibles, como la hipertrofia o dilatación del ventrículo derecho, secundaria a la enfermedad parenquimatosa pulmonar o a las disfunciones respiratorias (Ruiz-Manzano, et al., 1986).

Se concluye, que los datos radiológicos de las placas del tórax son un buen indicador de la severidad de la enfermedad pulmonar, pero deben ir acompañados de pruebas de función pulmonar regional (RFL, Tests of Regional Lung Function), que permiten detectar anormalidades pulmonares localizadas y generalizadas, por medio de la inhalación y la inyección intravenosa alternadas de nitrógeno "pesado" (N^{15}) y deben acompañarse también de pruebas de tolerancia al ejercicio (Coates, et al., 1981).

6. El descubrimiento de diferencias en el potencial bioeléctrico a través del epitelio respiratorio, el cual está elevado en los individuos con FQ de todas las edades, ofrece otra prueba diagnóstica para pacientes que no presentan síntomas típicos (Boat, et al., 1989).

7. Se han descrito métodos radioyodados para medir la pérdida de proteínas en el estudio de la enfermedad celiaca. Se administra polivinilpirrolidona marcada con I^{131} al paciente y se mide la radioactividad en el

excremento. En las personas cuyo metabolismo proteico es normal, la excreción fecal de yodo radioactivo es baja, mientras que en los pacientes con enfermedad celiaca, la excreción fecal de yodo radioactivo es más alta (Gammacord, 1968).

8. En los últimos 15 años se han llevado a cabo investigaciones de sustancias biológicas activas o marcadores bioquímicos que pueden ser de ayuda en la identificación de sujetos con FQ:

8.1 Inhibidores del transporte de sodio. La saliva y el sudor de individuos homocigotos contienen factores inhibidores de la reabsorción de sodio en la glándula parótida de rata. Estos factores inhibidores son moléculas cargadas positivamente (básicas), que pueden ser de gran utilidad en la identificación de enfermos con FQ (Mangos y McSherry, 1968).

8.2 Sustancias mucociliares. Debido al aumento de secreción de moco y una función ciliar anormal en la enfermedad, las investigaciones han buscado sustancias que podrían producir moco o disfunción ciliar. El suero de individuos homocigotos enfermos y heterocigotos portadores, contiene una o más sustancias que inhiben la movilidad de los cilios de la tráquea de conejo y las branquias de la ostra en cultivo de tejidos (Fondacaro, et al., 1982 y Robbins, et al., 1988). Se ha considerado que esta es la razón por la que se acumula gran cantidad de moco en las vías

respiratorias, que obstruye o dificulta la respiración, y por tanto se infiere que el suero de homocigotos y heterocigotos induce la producción aumentada de moco en FQ. Por otro lado se encontró que el material inhibitorio de la función ciliar en la tráquea de conejo es termolábil, no dializable y precipita con euglobinas; tiene un peso molecular de entre 1,000 y 10,000 g y está asociado con IgG.

8.3 Sustancias semejantes a lectina. El comportamiento del suero de enfermos en cultivo de linfocitos, sugiere la presencia de un material con actividad semejante a la lectina. Este material presenta las siguientes características: Se puede disociar por acidificación a un pH de 5.0; contiene moléculas monoméricas y diméricas con un peso molecular de 460 y 780 daltons respectivamente; su actividad puede ser inhibida por fructosa y otros carbohidratos, así como por una variedad de drogas utilizadas en los pacientes con FQ; se encuentra ligado a IgM; puede aislarse de suero de homocigotos y heterocigotos en una columna de fructosa-sefarosa y tiene una carga ligeramente positiva a un pH de 8.4 (Talamo, 1983).

9. En algunos casos es posible determinar si un feto tiene o no un defecto genético, y de este modo proporcionar un diagnóstico basado en el análisis prenatal. Por lo tanto, aún en los casos en que un gen

no se exprese, ha llegado a ser posible determinar si se desarrollará alguna condición al nacimiento.

A pesar de los avances en el tratamiento y prevención de los EIM, para la mayoría de ellos no se cuenta aún con medidas terapéuticas eficaces. De cualquier forma, algunas veces es posible detectarlos mediante el empleo del diagnóstico prenatal seguido del aborto profiláctico (Velázquez, 1981). Por desgracia la identificación de parejas de riesgo requiere frecuentemente que hayan tenido ya cuando menos un hijo afectado, lo cual impone una carga a estas familias y limita considerablemente los beneficios de esta forma de prevención (Velázquez, 1981).

Durante su desarrollo, el feto regularmente libera células y algunos fluidos en su ambiente líquido. Mediante el método de amniocentesis, el médico puede tomar una muestra de líquido amniótico con una aguja hipodérmica a través del abdomen de la madre (Fig. 4). Las células, predominantemente fibroblastos, y las secreciones existentes en el líquido amniótico pueden ser analizadas en cultivo desde el punto de vista citológico, bioquímico y molecular. La amniocentesis no

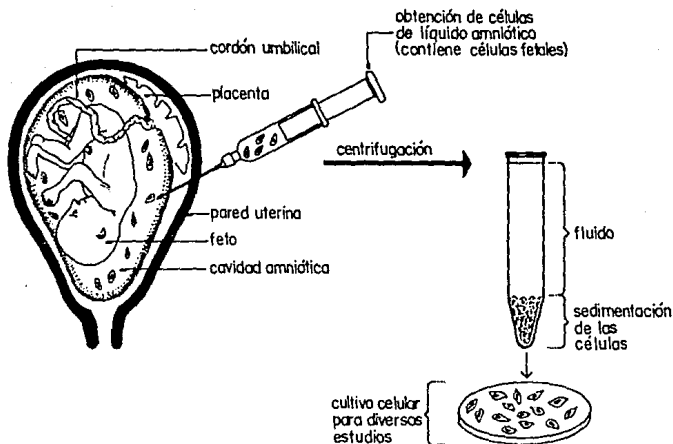


Fig. 4- Amniocentesis. Una muestra de líquido amniótico se toma a través del abdomen de la madre y se procesa citológica y bioquímica para el análisis de diversos rasgos fetales (Avers, 1985).

se efectua antes de la duodécima semana de embarazo, debido al alto riesgo que representa (Avers, 1985).

En el diagnóstico prenatal se pueden medir los niveles de alfa-glutamyl-transpeptidasa y otras enzimas que se producen en las microvellosidades intestinales del embrión y que se encuentran disminuidas en el líquido amniótico en casos de FQ (Boat, et al., 1989; Pérez-Fernández, et al., 1990 y Spence, et al., 1987).

En la determinación de la actividad enzimática intestinal en el líquido amniótico, entre la 16 y 18 semanas de gestación en familias con riesgo, se informó disminución en la actividad de gamma-glutamyl-transpeptidasa, leucina, aminopeptidasa y fosfatasa alcalina en productos con FQ. La sensibilidad de esta prueba es de 96 a 98%, con falsos positivos de 1 a 4% y falsos negativos de 6 a 8%. Sus resultados se alteran en presencia de obstrucción intestinal y aneuploidia (Pérez-Fernández, et al., 1990).

El diagnóstico durante el primer trimestre del embarazo, también es posible, cuando se utilizan sondas de DNA y análisis de tejido fetal (Brock, et al., 1985; Curtis, et al., 1988; Farrall, et al., 1986; Fenerty y Garber, 1989 y Pérez-Fernández, et al., 1990). Por ejemplo, en la Fig. 5, se muestran los estudios familiares realizados con marcadores de DNA. El esquema

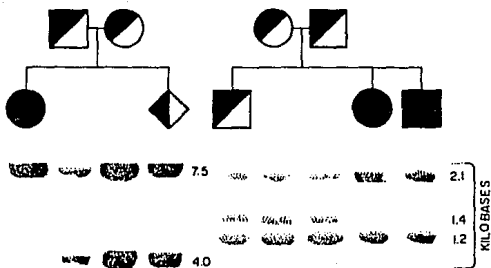


Fig. 5- Estudios familiares con marcadores de DNA.
En el esquema de la izquierda se muestra la utilidad del marcador *met H* en el diagnóstico prenatal de FQ. En el esquema de la derecha se muestra el análisis de segregación del marcador XV-2c, en una familia con dos niños que poseen FQ. El tamaño de los fragmentos se establece en kilobases (Estivill y Williamson, 1988).

de la izquierda, ejemplifica nitidamente, la utilidad del marcador met H para el diagnóstico prenatal en una familia en la que ambos padres son heterocigotos y ya poseen una hija afectada que es homocigota para el marcador. Se obtuvo material fetal, se preparó DNA, que fué digerido con la enzima de restricción Taq I, transferido a una membrana de nylon e hidridado con la sonda met H. La autorradiografía obtenida mostró que el feto (representado en la figura como un rombo sombreado sólo por la mitad) ha heredado un alelo ligado a la FQ y otro ligado a un cromosoma sano, por lo que será portador heterocigoto de la enfermedad. El esquema de la derecha muestra la segregación del marcador XV-2c en una familia con dos niños que padecen FQ. En estudios realizados en más de 500 familias europeas y norteamericanas, se ha podido observar que el alelo de 2.1 kb se encuentra asociado a la enfermedad en el 90% de los cromosomas de FQ, mientras que en cromosomas normales ese alelo tiene una frecuencia de sólo el 35% (Estivill y Williamson, 1988).

Durante 1988 se han realizado más de 100 diagnósticos prenatales de FQ en Europa (sólo unos 50 en Estados Unidos de Norteamérica), en los que se ha utilizado DNA fetal preparado a partir de vellosidades coriónicas y los marcadores J3.11 y met (Estivill y Williamson, 1988).

El uso de marcadores genéticos se ha difundido ampliamente por su alta especificidad y sensibilidad, pero, como se mencionó antes, su uso se restringe a familias que ya han tenido un hijo afectado con la enfermedad (Brock, et al., 1985). Este tamiz puede ser aplicado a la población general, sin ningún antecedente de FQ, pero los costos se incrementan hasta en 63,000 dólares por cada caso de FQ detectado (Fenerty y Garber, 1989).

El diagnóstico prenatal de la FQ ha permitido reducir el número de casos de FQ, pero aún requiere mejoramiento y una mayor difusión en hospitales y servicios de maternidad regionales, con el fin de brindar el mejor cuidado tanto para la madre como para el niño en las primeras semanas de vida (Brook y Manson, 1980; Dankert-Roelse, et al., 1987).

I. TRATAMIENTO

Actualmente la terapia es de tipo preventivo, ya que trata de evitar algunos de los efectos secundarios de la enfermedad. Los cuidados generales incluyen la restricción de algunas actividades como el deporte y trabajos que requieran de extrema fuerza física, aunque esto depende básicamente de la tolerancia del paciente.

Se recomiendan las rutinas de inmunización contra tétanos, difteria, tosferina e incluso vacunación contra la gripe, sobre todo en pacientes con afección pulmonar, ya que por mínimas que sean las molestias de la gripe, pueden acarrear en pacientes con FQ serias complicaciones pulmonares (Vaughan, et al., 1975).

Es necesario un abordaje multidisciplinario para el tratamiento de esta enfermedad. El papel del médico se ve complementado con las aportaciones de la trabajadora social, el terapeuta físico y en algunas ocasiones del psiquiatra. Los padres del enfermo no sólo deben cooperar con las medidas terapéuticas sino que también deben ofrecerle al paciente apoyo emocional, para que él mismo supere sentimientos de culpa, se sienta motivado a actuar profesionalmente y conviva con sus compañeros de escuela o trabajo.

1. Tratamiento para afecciones pulmonares. Incluye la terapia física; el uso de broncodilatadores, aerosoles y expectorantes para la evacuación de secreciones

mucopurulentas; administración de antibióticos para combatir infecciones; aplicación de DNasa I humana recombinante para disminuir la viscosidad de las secreciones y sólo en condiciones extremas se recurre a la cirugía (Pérez-Fernández, et al., 1990; Ruíz-Manzano, et al., 1986; Shak, et al., 1990 y Vaughan, et al., 1975).

La terapia física se realiza en pacientes en los que hay obstrucción pulmonar por la acumulación de secreciones. en este caso se ayuda al paciente a expulsar el moco por medio de golpes vigorosos en la espalda, gárgaras, compresión torácica, etc. El uso de broncodilatadores, aerosoles y expectorantes se realiza con ayuda de un nebulizador (Fisoneb, 1989). Su objetivo es hidratar las secreciones bronquiales para que sean posteriormente evacuadas por medio de la terapia física.

Para la administración de antibióticos, se realiza primero un análisis en el laboratorio (principalmente en cultivo de tejidos) que permita conocer el tipo de microorganismos que se alojan en el tracto respiratorio. Los microorganismos que se encuentran frecuentemente son: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Hemophilus influenzae* y *Proteus mirabilis* (Cortina-Watson, 1989).

El tipo de administración del antibiótico (inhalación, parenteral u oral) se elige de acuerdo a la severidad de la enfermedad. El tiempo de administración debe ser en un período de 7 a 15 días, ya que se ha visto que el control no puede ser efectivo en pacientes con terapia de antibióticos

prolongada, porque se corre el riesgo de que se aumente la resistencia a los mismos. Algunos microorganismos que crean resistencia son: *S. aureus* y *P. aeruginosa* (Cortina-Watson, 1989 y Vaughan, et al., 1975).

Generalmente el cloranfenicol es el antibiótico más efectivo, aunque si se presenta infección por *Pseudomona* sp se usa la gentamicina parenteral o la carbenicilina. Si los estafilococos son resistentes a la penicilina G, se usan cefalosporinas o penicilinas semisintéticas, pero la dosis se determina de acuerdo con la ruta de administración y edad del paciente. Para niños menores de 8 años, la penicilina se usa en conjunción con la ampicilina que es efectiva para combatir *H. influenzae* y *P. mirabilis*. Si el paciente tiene más de 8 años se prefiere el uso de tetraciclina (Vaughan, et al., 1975).

Uno de los medicamentos más efectivos para el tratamiento de la FQ, lo constituyen las cefalosporinas como la ceftazidima. Esta aminotiazolilcefalosporina, tiene notable actividad contra *P. aeruginosa* y otras especies de pseudomonas (Fortum-Ceftazidima, 1989). Otra característica importante de la ceftazidima es su alta actividad intrínseca contra casi todas las enterobacterias y otros microorganismos como *Pasteurella multocida*, *Yersinia enterocolitica*, *H. influenzae* y *Hemophilus parainfluenzae*. Tiene actividad *in vitro* contra *Legionella pneumophila*. La actividad de la ceftazidima *in vitro* contra los estafilococos es menor en comparación con otras

cefalosporinas, tales como la cefotaxima, la ceftizoxima y la ceftriaxona (Fortum-Ceftazidima, 1989).

En los pacientes con FQ, las especies de pseudomonas experimentan mutación a formas que son mucoides; es decir, producen cantidades excesivas de alginato, un material mucoso que proporciona una barrera contra la penetración de un antibiótico, antes que éste pueda inhibir al microorganismo (Fortum-Ceftazidima, 1989).

La ceftazidima como casi todos los antibióticos β -lactámicos, es un ácido y es ionizado en alto grado en el pH del cuerpo. Al ser ionizada, la distribución de la ceftazidima se limita al compartimiento del líquido extracelular. La ceftazidima, en común con otros β -lactámicos, tiene dificultad para atravesar las barreras lipídicas; sin embargo, en presencia de inflamación, los compartimientos tisulares, por ejemplo, el líquido cefalorraquídeo, el esputo y los líquidos oculares, son penetrados más fácilmente (Fortum-Ceftazidima, 1989).

Se encontró que la concentración mínima inhibitoria (CMI) contra la mayoría de las cepas de *P. aeruginosa* es de menos de 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Incluso en los pacientes que han recibido el antibiótico durante períodos prolongados, la frecuencia de resistencia parece ser baja. Una ventaja de la ceftazidima es que, en común con casi todas las cefalosporinas, tiene una toxicidad suficientemente baja para ser administrada en dosis altas. La baja toxicidad también es útil en el tratamiento de la FQ, pues pueden

requerirse concentraciones séricas extremadamente altas para penetrar el exceso de moco en los alveolos infectados y el alginato producido por pseudomonas (Cullen, 1983 y Fortum-Ceftazidima, 1989).

Las concentraciones séricas de la ceftazidima aumentan proporcionalmente con el incremento de la dosis. En los pacientes con FQ, la eliminación es rápida y se han reportado valores de vida media que varían de 1.35 a 1.57 hrs en comparación con la vida media normal de 1.8 a 2.0 hrs. Sin embargo, se observan grandes variaciones interpacientes de los parámetros farmacocinéticos. A los pacientes con FQ que tienen función renal normal pueden administrárseles dosis intravenosas de 100 a 150 mg/Kg/día durante 3 ó 4 semanas (Cullen, 1983 y Fortum-Ceftazidima, 1989). Para erradicar la infección se requieren, además del tratamiento con ceftazidima, otras mediciones objetivas tales como el aumento de peso o las pruebas de función respiratoria.

Se ha demostrado que muchos antibióticos tienen efectos sobre el sistema de defensa del huésped y esto podría tener particular importancia en los pacientes con FQ que tienen infección por pseudomonas. Se han estudiado los efectos de la ceftazidima sobre la función de los granulocitos y los monocitos. Los estudios *in vitro* con ceftazidima no demostraron ningún efecto sobre la función de los granulocitos, pero en algunos casos, las concentraciones más

altas (200 a 400 mg/l) produjeron una depresión de la función de los monocitos (Cullen, 1983).

Algunos de los antibióticos que se administran en forma de aerosol son la penicilina G, naficilina, ampicilina y gentamicina (Vaughan, et al., 1975).

A partir de diciembre de 1990, de acuerdo con experimentos realizados en los 50's y 60's, se implementó el uso de la DNasa I humana recombinante para el tratamiento de la FQ. Estos experimentos revelaron que el DNA está presente en grandes cantidades (3-14 mg/ml) en las secreciones pulmonares purulentas. El DNA, un polianión extremadamente viscoso, contribuye tanto en el aumento de viscosidad de las secreciones pulmonares como en la reducción de la efectividad de los antibióticos aminoglicosídicos. Por este hecho las secreciones pulmonares incubadas *in vitro* con DNasa I pancreática bovina parcialmente purificada, mostraron una fuerte disminución en la viscosidad. En base a estas observaciones, la DNasa I pancreática bovina se aprobó en los Estados Unidos de Norteamérica en el año de 1958, para reducir la viscosidad de la secreciones pulmonares (Shak, et al., 1990).

Ocasionalmente pueden presentarse reacciones respiratorias adversas como consecuencia de una reacción alérgica o bien puede haber irritación debida a proteasas contaminantes como tripsina y quimiotripsina.

La DNasa I bovina se caracterizó bioquímicamente en 1973, mientras que, la proteína humana, menos conocida, se purificó parcialmente a partir de páncreas, jugo duodenal, suero y orina. Se observó que, tanto en la DNasa I humana como en la DNasa I bovina se encuentran cuatro cisteínas en las posiciones 101, 104, 173 y 209 y se localizan también dos sitios potenciales de glicosilación en las posiciones 18 y 106. La histidina de la posición 134 también está conservada. Excepto por una región, casi todas las diferencias entre la proteína humana y la bovina están localizadas en regiones hidrofílicas de la superficie de la molécula. Asimismo, se observó que existe divergencia suficiente entre la DNasa I pancreática humana y la DNasa I pancreática bovina en cuanto a las regiones parcialmente inmunogénicas, lo que sugiere que algunas de las reacciones adversas ante la proteína bovina se deben a una respuesta inmune (Shak, et al., 1990).

A partir de estas dos proteínas se obtuvo la DNasa I humana recombinante (rhDNasa), que se clonó, secuenció y expresó para probar su efectividad en el tratamiento de FQ. Esta proteína, al igual que la DNasa I bovina, depende de cationes divalentes para una óptima actividad enzimática, se inactiva por calor (100°C por 10 min), se inhibe específicamente con actina y muestra una actividad óptima a un pH neutro de 5.5-7.5 (Shak, et al., 1990). Las concentraciones presentes de calcio y magnesio, así como el pH del esputo de FQ son suficientes para mantener la actividad de la rhDNasa.

Los efectos de la rhdNasa sobre las secreciones de FQ se analizaron cualitativamente a partir de un ensayo de movimiento del esputo. La proteína recombinante incrementa dramáticamente el movimiento del esputo de FQ, de acuerdo con el tiempo de acción, de manera que después de 30 min, el esputo se mueve libremente dentro del tubo. Este tipo de estudio cualitativo se confirmó cuantitativamente al medir la viscosidad con ayuda de un densitómetro. Después de incubar el esputo de FQ con diferentes concentraciones de rhdNasa, se observó que la reducción de la viscosidad depende de la concentración de la proteína y se asocia con la disminución de tamaño del DNA del esputo (Shak, et al., 1990).

La viscosidad del moco pulmonar no infectado (esputo blanco) depende principalmente de las glicoproteínas mucosas, mientras que la viscosidad de las secreciones pulmonares purulentas e infectadas (esputo verde o amarillo) depende no sólo de estas glicoproteínas mucosas sino de la cantidad de DNA presente en el esputo (Shak, et al., 1990).

El que la rhdNasa reduzca bruscamente la viscosidad del esputo de FQ, indica que el DNA es el factor responsable de la gran viscosidad del esputo purulento. Este DNA, liberado por neutrófilos, se acumula en las secreciones y contribuye sustancialmente a que se mantenga esa enorme red viscosa.

De acuerdo con todo lo anterior, se propone que la inhalación de rhdNasa en aerosol puede ser efectiva para reducir la viscosidad de las secreciones purulentas y por lo

tanto facilitar la respiración al despejar las vías aéreas de los pacientes con FQ (Shak, et al., 1990).

La cirugía y otro tipo de tratamientos se llevan a cabo sólo en situaciones especiales. La cirugía pulmonar se realiza sólo en el 2% de los pacientes con FQ, ya que el daño debe estar perfectamente localizado. En el caso de que haya una hemoptisis masiva y recurrente se puede realizar la lobectomía o la neumonectomía.

La traqueotomía se realiza en pacientes sumamente enfermos, que requieren de una ventilación mecánica a través de un respirador.

Existen otro tipo de tratamientos como el lavado de pulmones y tráquea, con solución salina isotónica (para evitar la irritación de la mucosa); aspiración traqueal (sólo se realiza en pacientes jóvenes ya que requiere de una "activa" participación); oxigenación; administración de diuréticos (cuando están involucradas las afecciones cardíacas), antihistamínicos (que tienen efecto secante sobre las secreciones), inhalación de preparaciones enzimáticas, etc.

2. Tratamiento para afecciones digestivas. Incluye el suministro de dietas ricas en calorías y proteínas, pero pobres en grasas, así como la administración de enzimas pancreáticas de sustitución (Cortina-Watson, 1989; Duhamel, et al., 1988 y Vaughan, et al., 1975). La administración de extractos pancreáticos en dosis adecuadas, disminuye la

distensión abdominal por flatulencia y mejora el estado del paciente en cuanto a nutrición y crecimiento corporal (Beverley, 1987).

Estudios recientes han demostrado que el sistema de microgránulos, liberador de preparaciones enzimáticas, aumenta significativamente la absorción de grasas, comparado con las preparaciones enzimáticas convencionales en forma de tabletas entéricas (Beverley, 1987 y Pérez-Fernández, et al., 1990). Esto es debido a las características farmacológicas de los microgránulos, ya que han mostrado *in vitro*, ser estables a un pH menor de 6. Esto es importante ya que se ha demostrado que el pH duodenal de niños con FQ es en promedio más ácido que en sujetos normales, por lo tanto el riesgo de desintegración de los microgránulos disminuye considerablemente (Duhamel, et al., 1988).

Los microgránulos son administrados en una cápsula gelatinosa que se disuelve hasta el estómago y resiste la digestión por ácido/pepsina. Los gránulos se mezclan con el contenido gástrico y las enzimas no se liberan hasta que el pH del quimo excede 5.5 dentro del duodeno (Beverley, 1987).

Los suplementos de enzimas pancreáticas más efectivos son Pancrease, Creon, Pancrex V Forte y Pancreatin Merck. Con este tipo de medicamentos la absorción de grasas se ha visto favorablemente incrementada (en un 80% de los pacientes adultos y en un 90% en uno de cada tres niños con FQ), lo cual mejora los síntomas gastrointestinales y

permite dietas ricas en energía sin ninguna restricción de grasas (Beverley, 1987 y George, et al., 1987). Por desgracia, si la dosis de extractos pancreáticos es excesiva se puede provocar constipación y anorexia.

En los primeros meses de vida se dá a los bebés, preparados lácteos que contienen altas concentraciones de proteína, pero a medida que el tiempo transcurre, los preparados son substituídos por leche homogeneizada. También se puede abastecer de vitamina A, D y E en grandes cantidades. La vitamina K es necesaria cuando se presenta hipoprotrrombinemia (Vaughan, et al., 1975).

Los anabólicos esteroides pueden ser usados para incrementar el apetito y para ganar peso, aunque se debe tener cuidado por los efectos secundarios que se producen (Boat, et al., 1989). Recientemente se ha confirmado que el uso de la arginina (administrada oralmente) mejora la esteatorrea (Boat, et al., 1989).

En caso que las bajas concentraciones de selenio estén relacionadas con un bajo peso corporal por malnutrición, el Dr. Wallach recomienda administrar selenio en dosis de 50-200 µg/día en adultos, con el fin de mejorar las condiciones nutricionales del paciente. De cualquier forma, los pacientes que reciben selenio, deben checar continuamente sus concentraciones de electrolitos, ya que puede detectarse una intoxicación por selenio (Hubbard, et al., 1980).

La cirugía se realiza también para el íleo meconial (Boat, et al., 1989).

3. Tratamiento para la sudoración profusa. La pérdida masiva de electrolitos en sudor puede condicionar una emergencia, de manera que se recomienda la administración intravenosa de solución salina, con el fin de reestablecer el volúmen del fluido intracelular y evitar así el colapso cardio-vascular. También se pueden ingerir 10 ml de solución salina isotónica por Kg de peso, complementada por 2 ó 4 g por día de cloruro de sodio (sal común) con el fin de reincorporar el estado electrolítico del paciente, sobre todo si éste vive en sitios calurosos (Cortina-Watson, 1989 y Vaughn, et al., 1975).

Con un adecuado tratamiento, se ha visto que el 75% de los pacientes sobrevive hasta después de la adolescencia, el 50% llega a la mitad de la segunda década de vida y cerca del 40% sobrevive incluso hasta la cuarta década (Boat, et al., 1989).

J. BIOLOGIA DEL DEFECTO BASICO

I) Normalidad.

1. Normalidad en las Secreciones.

Las células secretoras normalmente producen sustancias ricas en carbohidratos. De hecho, se sugirió que los carbohidratos eran componentes esenciales de todos los productos sintetizados en vías de ser secretados. Estos carbohidratos son glucoproteínas, proteoglucanos o simplemente complejos de polisacáridos (Karp, 1987).

La formación de las secuencias de carbohidratos tiene lugar cuando los monosacáridos se enlazan entre sí covalentemente para formar las cadenas de oligosacáridos y se efectúa por medio de la adición de un azúcar a la vez en el extremo no reducido de la cadena en formación. Un gran grupo de enzimas denominadas glucosiltransferasas es el que cataliza la adición de los azúcares, al transferir un monosacárido desde un donador apropiado de azúcar hacia el aceptor de azúcar adecuado. En todos los casos, la molécula donadora es un azúcar nucleótido, o bien, una molécula similar al ATP como donadora de fosfato. Son ejemplos de azúcares nucleótidos, el ácido siálico, glucosa-UDP, galactosa-UDP y glucosamina-UDP (Karp, 1987).

El carbohidrato puede encontrarse en porcentajes relativamente pequeños del producto total. Al parecer el papel de la porción de carbohidrato de las glucoproteínas varía de acuerdo con la especie molecular (Karp, 1987).

Las glucoproteínas y los proteoglicanos (glucosaminoglucanos + proteínas) son las sustancias más abundantes secretadas por las células hacia el espacio extracelular. La mayoría de estas sustancias son de aspecto amorfo y de consistencia viscosa (Karp, 1987).

2. Normalidad en el Transporte Electrolítico.

En condiciones normales, la membrana celular presenta ciertas características específicas, como son: presencia de poros; es selectivamente permeable; con cargas eléctricas que la aíslan del medio acuoso que la rodea; mantiene concentraciones a uno y otro lado de la célula, ya sea de iones, otras moléculas y agua (osmótico); es flexible, lo que permite el crecimiento celular y el movimiento (esto si posee ácidos grasos insaturados, ya que si son ácidos grasos saturados se pierde la flexibilidad); con doble capa lipídica y proteínas intrínsecas y extrínsecas (ancho aproximado de 70 a 100 μm); con partes hidrofóbicas e hidrofílicas en superficie e interior; con glucocalix; asimétrica (capa externa e interna con diferente cantidad y tipos de proteínas y fosfolípidos); se destruye por detergentes y pueden serle extraídas las proteínas periféricas con amortiguadores o sales; actúa como condensador, ya que separa las cargas (positivas en el exterior y negativas en el interior) y finalmente posee una alta resistencia y una baja conductancia.

La membrana es liposoluble y para ello se toman en cuenta: el coeficiente de partición (paso de solutos a

través de la membrana directamente proporcional a la solubilidad en lípidos e inversamente proporcional a la solubilidad en agua), el tamaño o peso molecular, la valencia del ión y la ionización (Factores de Overton) (Karp, 1987).

Para poder permitir el paso de moléculas a través de la membrana, existen transportadores, proteínas de la membrana que funcionan a favor o en contra de gradiente. Por ejemplo, el movimiento de iones como el sodio o el calcio hacia afuera de la célula se lleva a cabo por transportadores que acoplan este movimiento al transporte hacia el interior de alguna otra sustancia (Avers, 1985).

En los casos contra gradiente, denominados bombas, se requiere de energía. Una de ellas, relacionada con la F₀ es la bomba de sodio electrogénica o bomba electrogénica. En ella, los iones sodio son transportados activamente hacia afuera, en contra del gradiente de concentración esperado. La energía para este bombeo hacia afuera de los iones sodio es proporcionada por la hidrólisis del ATP, que es a su vez catalizada por una ATPasa que se activa con magnesio y que se ubica en la membrana. Por cada molécula de ATP hidrolizada se sacan 3 iones sodio y se meten 2 iones potasio.

La ATPasa de sodio-potasio consiste de una subunidad catalítica transmembrana (aproximadamente de 100,000 daltons), con centros de unión en su superficie citoplásmica para sodio y ATP; y para potasio y ouabaina en su superficie

externa. Tiene además una glucoproteína asociada (aproximadamente de 45,000 daltons) de función desconocida (Alberts, et al., 1989) (Fig. 6).

La explicación más adecuada para aclarar cómo la hidrólisis del ATP se halla acoplada al transporte iónico se obtuvo con el hallazgo de que el grupo fosfato terminal del ATP se transfiere a un residuo aspartato de la ATPasa en presencia de sodio. Luego este grupo fosfato se hidroliza en presencia de potasio. La fosforilación sodio-dependiente probablemente altera la conformación de la ATPasa y da lugar de alguna manera al transporte de sodio hacia el exterior de la célula, mientras que la desfosforilación potasio-dependiente dá lugar al transporte de potasio hacia el interior de la célula y a la vuelta de la ATPasa a su conformación original (Alberts, et al., 1989). Esto último se puede comprobar al usar venenos que desacoplen a las ATPasas y luego volver a activar el sistema con ATP (Karp, 1987).

A medida que los iones sodio continúan su movimiento desde una menor concentración dentro de la célula hacia una

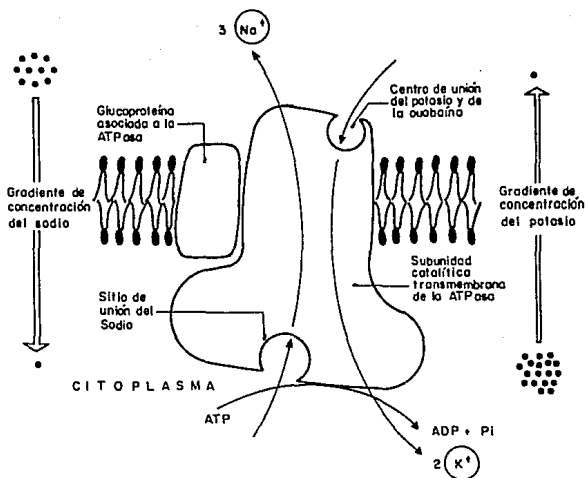


Fig.6- Bomba de sodio electrogénica. El sodio es bombeado activamente hacia el exterior y el potasio hacia el interior de una célula, en contra de sus gradientes de concentración. Observe que el potasio y la ouabaina compiten por el mismo centro de unión en el lado externo de la ATPasa (Alberts, *et al.*, 1989).

mayor concentración en el exterior celular, se establece un gradiente electroquímico a través de la membrana. La potencia de este gradiente electroquímico rico en energía, proporciona también la energía para el transporte de diversas sustancias esenciales, desde una región de menor concentración fuera de la célula, hacia una región de mayor concentración en el interior de ella (Avers, 1985).

En células nerviosas y musculares se da un transporte activo por medio de una bomba neutra acoplada o bomba de intercambio sodio-potasio, en la cual hay bombeo de sodio hacia afuera pero acompañado por un movimiento de iones potasio hacia el interior, en una proporción 1:1 (Alberts, et al., 1989).

En el epitelio (con interés particular en FQ), el intercambio iónico se realiza a través de una bomba de sodio electrogénica o bomba electrogénica, en donde la salida de iones sodio no es compensada por la entrada de iones potasio en una proporción 1:1. La bomba electrogénica es la más difundida entre las diferentes formas celulares y organismos pluricelulares y puede distinguirse de las bombas neutras acopladas, en razón de los niveles de intercambio iónico (por cada 3 iones sodio que salen, entran 2 iones potasio) (Avers, 1985 y Karp, 1987) (Fig. 6).

Las células aeróbicas necesitan especialmente una concentración intracelular alta de ión potasio, independientemente de las concentraciones externas de sodio y potasio, ya que el potasio intracelular se requiere para

síntesis de proteínas en los ribosomas y en el catabolismo de la glucosa (Avers, 1985).

La mayor parte del potencial de membrana (aproximadamente el 80%) se debe a los gradientes de sodio y potasio mantenidos por la ATPasa. El otro 20% es contribución directa de la ATPasa de sodio-potasio (Alberts, et al., 1989).

En las condiciones mencionadas anteriormente se genera el voltaje del potencial de reposo de la membrana o potencial transmembrana (ya que es un voltaje que se produce entre el interior y el exterior de la membrana) que tiene un valor aproximado de -70 mV en una célula en condiciones normalmente estables (Alberts, et al., 1989).

Este voltaje del potencial de reposo de la membrana total, se obtiene por medio de la Ecuación de Goldman, que define la conductancia para los iones. Por tanto cuando se altera la resistencia de la membrana, la conductancia aumenta y por lo tanto hay mayor flujo de iones:

$$V_{\text{membrana total}} = 58 \log_{10} \frac{P_K[K]_o + P_{Na}[Na]_o + P_{Cl}[Cl]_i}{P_K[K]_i + P_{Na}[Na]_i + P_{Cl}[Cl]_o}$$

donde: V= voltaje

P= permeabilidad de los respectivos iones

o= inicial
i= final
K= ión potasio
Na= ión sodio
Cl= ión cloro

II) Anormalidad en Fibrosis Quística.

Se han propuesto varias teorías sobre la patogénesis de FQ, pero ninguna ha explicado adecuada y/o completamente las anomalías fisiológicas, entre las que se encuentran: La secreción de moco en cantidades anormales y la secreción de electrolitos en sudor y saliva (Boat, et al., 1989).

1. Anomalías en las Secreciones.

Como resultado de la conducta fisicoquímica anormal, las secreciones mucosas se precipitan y obstruyen los conductos de varios órganos, lo que provoca las manifestaciones clínicas más frecuentes de la FQ: Obstrucción de bronquios y bronquiolos, con enfermedad pulmonar crónica; obstrucción de los ductos pancreáticos; obstrucción de ductos biliares, con cirrosis hepática y varias formas de obstrucción intestinal.

La FQ fué considerada en algún tiempo como un EIM de glicoproteínas, pero la evidencia está lejos de ser confirmada. Se sugirió que la alteración primaria en la FQ, estaba a nivel de la porción carbohidrato de la glicoproteína, que provocaba el respectivo aumento en fucosa (una metilpentosa) y cambiaba, como consecuencia de este

aumento, la proporción fucosa-ácido siálico (Vaughan, et al., 1975).

Algunos estudios apoyan estas ideas, pero los análisis químicos detallados de macromoléculas y glicoproteínas urinarias, y de fracciones glicoproteicas en saliva y moco rectal, no presentan diferencias cualitativas significativas con respecto a lo encontrado normalmente. Además se ha visto que las cantidades de algunos de los componentes pueden incrementarse o disminuir con el tiempo.

En cuanto a los mucopolisacáridos ácidos (MPSA) en orina, no hay anormalidades significativas en la cantidad y composición de los mismos, en la mayoría de los pacientes con FQ (Vaughan, et al., 1975).

Se han iniciado investigaciones sobre macromoléculas anormales o cantidades anormales de macromoléculas, que pueden cambiar las propiedades físicas de las secreciones exócrinas en FQ. Se hizo particular énfasis en el análisis de las glicoproteínas mucosas (mucinas) que son glicocomponentes de alto peso molecular, que determinan por sí mismas la viscoelasticidad del moco (Boat, et al., 1989 y Robbins, et al., 1988).

Se han aislado numerosas glicoproteínas mucosas del aparato respiratorio, gastrointestinal y genitourinario, pero existen dificultades al compararlas entre individuos control e individuos afectados, ya que hay algunas de estas glicoproteínas que se exponen sólo *in vitro*, se enmascara la

forma nativa o muestran una fuerte heterogeneidad en los componentes carbohidrato. Es por esta razón que el análisis de las propiedades físicas del moco son muy difíciles de estudiar comparativamente (Rose, et al., 1987).

Se sugiere que en FQ, las mucinas gastrointestinales contienen altas concentraciones de fucosa y bajas concentraciones de ácido siálico. Esto no sucede en las mucinas del tracto respiratorio (Boat, et al., 1989 y Wesfy, et al., 1983).

Quizá es más importante la evidencia de que las mucinas en FQ están excesivamente glicosiladas. Las mucinas aisladas de secreciones traqueobronquiales de individuos con FQ, poseen cadenas de oligosacáridos que en promedio son más largas por algunos residuos de azúcar que aquellas mucinas obtenidas de individuos normales (Boat, et al., 1989), de ahí la mayor viscosidad en FQ. Similarmente, las mucinas extraídas de epitelio de intestino delgado de pacientes con FQ, parecen poseer cadenas de oligosacáridos más largas de lo normal (Wesfy, et al., 1983).

Los estudios realizados en las mucinas submandibulares mostraron que las interacciones carbohidrato-carbohidrato son determinantes en las propiedades físicas de las mucinas en solución o en gel (Hill, et al., 1977). Esto sugiere que el aumento de la glicosilación podría estar relacionado con la retención de secreciones mucosas en FQ.

Los reportes recientes indican que los pacientes con FQ presentan un mayor número de ácidos grasos unidos covalentemente a mucinas gástricas y contienen una mayor cantidad de glicoproteína aciltransferasa en la mucosa rectal (Boat, et al., 1989 y Slomiany, et al., 1983).

Las mucinas que contienen ácidos grasos covalentemente unidos pueden ser resistentes a la proteólisis y pueden formar fluidos más viscosos (Slomiany, et al., 1986).

El papel de los lípidos unidos covalentemente o no en las secreciones mucosas de FQ, necesita ser aclarado aún más (Boat, et al., 1989).

Ha sido difícil discernir cómo macromoléculas alteradas se relacionan con las anormalidades del transporte electrolítico en células epiteliales con FQ (Boat, et al., 1989).

Evidencias recientes sugieren fuertemente que las anormalidades en el transporte del cloro y posiblemente del sodio, son producto de un proceso regulatorio intracelular alterado. Si esto es así, es concebible que el control celular de procesos tales como la glicosilación y sulfatación de macromoléculas o acilación de mucinas, están también perturbados en el epitelio con FQ (Boat, et al., 1989).

Algunos investigadores han intentado relacionar cambios en las secreciones de FQ, al interaccionar con mucinas de otras secreciones mucosas. Por ejemplo, se dieron cuenta que

la albúmina y las mucinas intestinales, interactúan para mejorar o acrecentar la viscosidad de los fluidos en los cuales se encuentran o residen (List, et al., 1978).

Este descubrimiento tiene especial relevancia en pacientes con íleo meconial, en los que existen elevados niveles de albúmina y mucinas intestinales. Como otro ejemplo, están las interacciones de calcio con mucinas que disminuyen la solubilidad de macromoléculas secretoras y contribuyen en los cambios de las secreciones (Forstner y Forstner, 1975).

El contenido de calcio en células epiteliales con FQ es elevado (Schoni, et al., 1987).

Aunque los mecanismos de transporte de calcio (ATPasa dependientes) están intactos (Dearborn, et al., 1984) y los niveles de calmodulina son normales (Tallant y Wallace, 1987), excesivas cantidades de calcio son secretadas en algunos fluidos corporales como la saliva de glándulas submaxilares, las secreciones nasales y quizá las secreciones traqueobronquiales.

Las interacciones entre calcio y fosfoproteínas de bajo peso molecular, provocan la precipitación de la proteína y la turbidez de la saliva submandibular en FQ. Esta interacción se presenta por la existencia de altos niveles de calcio en la saliva de fibróticos (Boat, et al., 1989).

Se han encontrado también anomalías en las proteínas séricas de pacientes con FQ. Por ejemplo, al

realizar un patrón de corrimiento de las proteínas de acuerdo con su punto isoeléctrico (pI), se encontró una doble banda con un pI de 8.41, que corresponde a una proteína catiónica de bajo peso molecular (11,000-13,700 daltons) que forma un complejo con inmunoglobulina G (complejo CFIgG) en suero. Esta proteína ha sido llamada "proteína FQ" o "antígeno FQ", aunque provisionalmente, ya que se ha encontrado en bajas concentraciones en el suero de algunos individuos normales. Al emplear un antisuero contra la proteína FQ, algunos investigadores han sido capaces de distinguir homocigotos de heterocigotos y normales (Brock y Manson, 1980).

Por medio de la hibridación de células somáticas, Van Heyningen y colaboradores mapearon la proteína FQ en el cromosoma 1 (Van Heyningen, et al., 1985). El gen de FQ ha sido mapeado en el cromosoma 7, de manera que la acumulación de la proteína FQ, parece no ser un resultado directo de la mutación genética. La secuencia de la proteína FQ se obtuvo por clonación de DNA complementario (cDNA) (Dorin, et al., 1987) y se comparó con otra secuencia proteínica (subunidad bovina, S100a, de una proteína que se une a calcio en el cerebro), que presentó una significativa homología (43%). Otra anomalía que se observó en suero fue una baja glicosilación del complejo CFIgG con respecto a la galactosa y ácido siálico (Margolies y Boat, 1983).

2. Defecto en el Transporte Electrolítico.

Se ha sugerido que los canales de cloro están afectados en FQ y el defecto básico involucra precisamente la regulación de la absorción electrolítica. Debido a que el producto genético de la FQ puede expresarse en cultivos celulares, la anormalidad en la función del canal de cloro puede ser demostrada *in vitro* con las técnicas de "patch-clamp" (técnica en la que se colocan microelectrodos intracelulares a través de la membrana con el propósito de estudiar el transporte iónico) en cultivos de células provenientes de glándulas de sudor y de epitelio traqueal (Boat, et al., 1989).

La activación del canal de cloro en FQ puede ser de 2 tipos: Física (considera efectos de temperatura y voltaje) y Química (considera efectos de pH y fosforilación). Físicamente, el canal permanece inactivo a 23°C y se activa espontáneamente a 37°C. En cuanto al voltaje, el canal se activa cuando pasa de -50 mV a +80 mV, esto es, cuando pasa de hiperpolarizado a despolarizado (Quinton, 1989).

En cuanto a la actividad química, se ha experimentado, con cambios en el pH (de 6.5 a 8.5) y cambios en las concentraciones de calcio (de 10^{-9} a 10^{-3} M), pero no se ha visto ningún efecto importante, lo que indica que en FQ, estos aspectos se encuentran normales. El tipo de activación química más importante, lo constituye la fosforilación con proteína-cinasa A (PKA) y proteína-cinasa C (PKC) (Quinton, 1989).

La estructura del canal de cloro en FQ es normal. El problema está a nivel de la regulación de la fosforilación de la proteína-cinasa A y la proteína-cinasa C, por lo tanto, aunque el canal esté bien constituido en FQ, no se abre (Quinton, 1989 y Riordan, et al., 1989).

El transporte de cloro está afectado en muchos epitelios, cuando se presenta FQ. Los 3 órganos clásicamente involucrados en FQ son las glándulas sudoríparas, vías aéreas y páncreas, que están constituidos por epitelio. También existen otros órganos afectados, como las glándulas salivales, epidídimo, intestino e hígado (Boat, et al., 1989; Welsh y Fick, 1987).

a) En Ductos de Glándulas Sudoríparas. Las glándulas sudoríparas están compuestas por 2 diferentes regiones: el conjunto secretorio y el ducto de absorción. Normalmente la parte secretora produce sudor isotónico, por lo que cuando el sudor se dirige hacia arriba y pasa por el ducto impermeable al agua, el NaCl se absorbe y un fluido hipotónico emerge en la superficie de la piel. En esta parte (secretora) el transporte activo de cloro conduce a la secreción fluida; en el ducto el transporte activo de sodio conduce a la absorción de electrolitos (Boat, et al., 1989; Welsh y Fick, 1987) (Fig. 7).

La observación clínica de que las concentraciones de cloro y sodio están incrementadas en el sudor de fibróticos, condujeron a algunos investigadores a examinar las

propiedades del transporte iónico en el ducto sudoríparo (Quinton y Bijman, 1983; Quinton, 1983).

Quinton y Bijman en 1983, encontraron *in vivo* e *in vitro* que los ductos de las glándulas sudoríparas con FQ, tienen un voltaje transepitelial más grande que el que poseen los ductos de glándulas normales. Los ductos normales generan un voltaje de aproximadamente -28mV mientras que los ductos con FQ tienen un voltaje de -70mV (Boat, et al., 1989; Welsh y Fick, 1987) (Fig. 8).

Cuando en el lumen de ductos normales las concentraciones de cloro (ó NaCl) se reducen, el voltaje transepitelial se hace cada vez más negativo; este hallazgo indica que el transporte de cloro es eléctricamente conductivo. En contraste, cuando el cloro disminuye en ductos con FQ, el voltaje transepitelial se hace más positivo (Fig. 9). Esto sugiere que los ductos de glándulas sudoríparas con FQ son impermeables al cloro y que el aumento del voltaje transepitelial resulta de un mecanismo de absorción normal de sodio en presencia de la impermeabilidad al cloro (Boat, et al., 1989; Welsh y Fick, 1987).

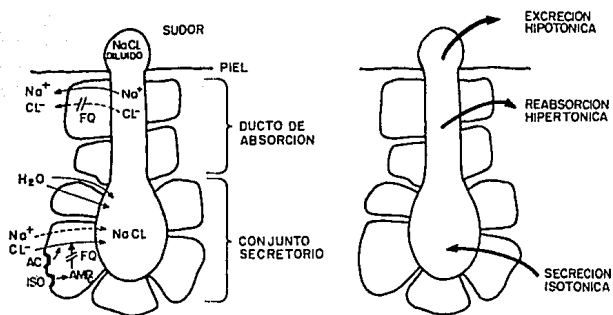


Fig. 7- Representación esquemática del transporte electrolítico en la glándula sudorípara. AC Acetilcolina; ISO Isoproterenol (Boat, *et al.*, 1989).

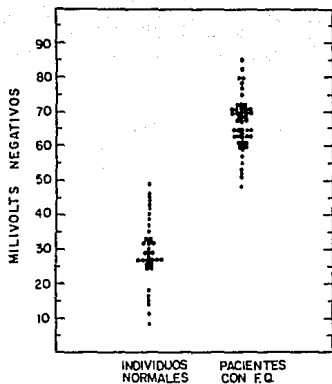


Fig. 8-Valores del voltaje transeptal obtenidos de pacientes normales y pacientes con FQ. (Quinton y Bijman, 1983).

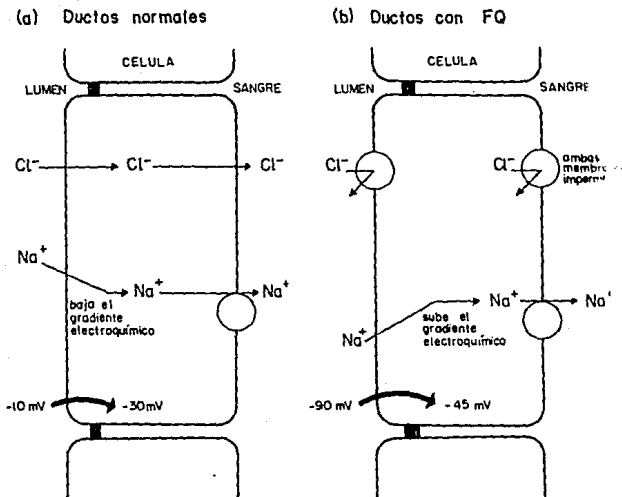


Fig.9-Cambios del voltaje transepitelial en ductos de glándulas sudoríparas normales (a) y con FQ (b). (Quinton, 1989).

Si, como en muchos de los epitelios el cloro es el co-
ión que pasivamente permite la reabsorción activa de sodio a
través del ducto de la glándula sudorípara, el potencial
altamente negativo en las glándulas de FQ, podría ser
resultado de un aumento en el transporte activo de sodio o
de una disminución en la permeabilidad del cloro relativa al
sodio (Quinton y Bijman, 1983).

La fuerza electroquímica para que pase el cloro del
lumen a las células, se revierte en FQ (Quinton, 1989).

Algunos estudios de la conductancia eléctrica
transepitelial fundamentan y confirman que los ductos de las
glándulas de sudor con FQ son impermeables al cloro
(Quinton, 1986).

Los ductos sudoríparos normales tienen una conductancia
epitelial de aproximadamente 100 a 125 mS/cm² (milisiemens
por centímetro cuadrado), de la cual el 90% resulta de la
conductancia de cloro. En contraste los ductos con FQ tienen
una conductancia de 10 a 20 mS/cm², ya que la conductancia
de cloro es muy baja o incluso ausente (Boat, et al., 1989;
Welsh y Fick, 1987).

El decremento en la conductancia de cloro explica la
patofisiología; el cloro no puede permitir la absorción de
sodio y por consiguiente las concentraciones de NaCl en
sudor aumentan (Boat, et al., 1989).

b) En Parte Secretora de Glándulas Sudoríparas. En la parte secretora de la glándula sudorípara con FQ también es anormal el transporte iónico (Boat, et al., 1989).

La secreción de proteínas y fluidos a través de la membrana está controlada por neurotransmisores del sistema nervioso autónomo y por las hormonas circulantes. El tipo de agonista determina la naturaleza de la respuesta (Brown, 1987 y McPherson, 1988).

Los mensajeros intracelulares más importantes, que controlan la secreción de fluidos y proteínas, son el AMPc y el calcio (McPherson, 1988).

Hay evidencia de que los agonistas β -adrenérgicos y la secretina (hormona intestinal), funcionan por el aumento de las concentraciones de AMPc y que el estímulo colinérgico y α -adrenérgico funcionan por el aumento intracelular de calcio (Barnes, 1987 y McPherson, 1988).

Tanto los agonistas β -adrenérgicos como los colinérgicos (muscarínicos) pueden estimular la producción de sudor (Barnes, 1987). La anomalía en la regulación β -adrenérgica ha sido observada tanto *in vivo* como *in vitro* y no es resultado de una interacción defectuosa entre la hormona y el receptor, más bien, todo parece residir en una alteración en la regulación de la secreción de cloro mediada por AMPc (Sato y Sato, 1984; Welsh y Fick, 1987).

Welsh y Fick en 1987, demostraron que los agonistas adrenérgicos abren los canales de potasio activados por

calcio e indirectamente sugieren que la relación estímulo-respuesta calcio-dependiente está intacta en FQ. Estos resultados muestran una regulación defectuosa de los canales de cloro en un sitio distal a la acumulación de AMPc (Welsh y Liedtke, 1986).

Otros agonistas que incrementan los niveles de AMPc, tienen una respuesta marcadamente reducida en FQ y sugieren un defecto regulatorio generalizado mas allá del nivel del receptor (McPherson, 1988) (Tabla IV).

Actualmente, aún no queda claro si los agonistas β -adrenérgicos y los agonistas colinérgicos-muscarínicos estimulan diferentes células en la parte secretora de la glándula, diferentes mecanismos secretores en la misma célula o un mismo mecanismo secretor pero regulado por un segundo mensajero diferente (Brown, 1987; Welsh y Fick, 1987).

En general, las glándulas sudoríparas muestran dos tipos de anormalidad en FQ: en el ducto de la glándula la disminución del transporte de cloro inhibe la absorción de fluido; en la parte secretora de la glándula la disminución del transporte de cloro inhibe la secreción de fluido mediada por AMPc (Welsh y Fick, 1987).

**TABLA IV. RESPUESTAS DEFECTUOSAS MEDIADAS
POR AMPc EN FIBROSIS QUÍSTICA***

AGONISTA	RESPUESTA REDUCIDA EN FQ
ISOPROTERENOL NORADRENALINA	SECRECION DE MUCINAS Y AMILASA POR LAS CELULAS SUBMANDIBULARES
ISOPROTERENOL	SECRECION DE FLUIDOS POR LAS GLANDULAS SUDORIPARAS
ISOPROTERENOL	REABSORCION DE CLORO EN EL CULTIVO DE DUCTOS DE GLANDULAS SUDORIPARAS
ISOPROTERENOL ADRENALINA FORSKOLIN 8-BROMO-AMPc	SECRECION DE CLORO EN LA MEMBRANA APICAL DE CELULAS EPITELIALES DE VIAS AEREAS
PROSTAGLANDINA E ₂	SECRECION DE CLORO EN TEJIDOS DEL YEUONO

*(McPherson, 1988)

c) En Epitelio de Vías Aéreas. En la Fig. 10 se representa esquemáticamente el transporte electrolítico que se lleva a cabo a través del epitelio de las vías aéreas (Welsh y Fick, 1987). El transporte electrolítico transepitelial controla la cantidad y composición del fluido del tracto respiratorio. Esto es importante en el movimiento de moco por los cilios. El epitelio puede transportar activamente cloro desde la superficie submucosa hasta la superficie mucosa, lo que permite la secreción del fluido y la absorción activa de sodio y conduce el fluido en dirección opuesta (Welsh, 1987).

Las observaciones clínicas de que las secreciones de las vías aéreas en FQ son espesas y deshidratadas, condujeron a estudios para conocer cómo se llevaba a cabo el transporte electrolítico en el epitelio respiratorio. Knowles y colaboradores, encontraron que *in vivo* el voltaje a través del epitelio de las vías aéreas altas (nasales) y bajas (tráquea y bronquios) está más elevado en pacientes con FQ (-50 mV, lumen con respecto a la submucosa) que en individuos normales o controles (-20 a -25 mV) (Knowles, et al., 1981; Welsh y Fick, 1987). Esto sugiere algún defecto en el transporte electrolítico.

En el epitelio con FQ, la secreción de cloro decae cuando se estimula con isoproterenol (Widdicombe, et al., 1985 y Yankaskas, et al., 1985).

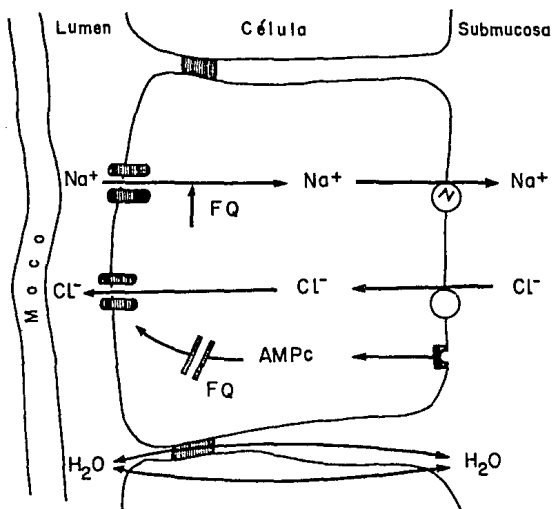


Fig. 10-Representación esquemática del transporte electrolítico en el epitelio de las vías aéreas. (Boat, *et al.*, 1989 ; Welsh y Liedtke, 1986).

La impermeabilidad al cloro es una propiedad de las células epiteliales por sí mismas. Esta impermeabilidad se localizó específicamente en la membrana apical, a través de los estudios de sustitución iónica y microelectrodos intracelulares (Cotton, et al., 1987).

Observaciones recientes en membranas aisladas de cultivo de células epiteliales respiratorias con FQ, sugieren fuertemente que el problema fundamental ocurre a nivel de la regulación del transporte celular y de los procesos secretorios (Welsh y Liedtke, 1986).

d) En Páncreas. En este órgano, los estudios más importantes se realizaron *in vivo*, ya que el páncreas es muy complejo y es difícil de mantener para estudios *in vitro*. Se encontraron elevadas concentraciones de proteína en las secreciones de fibróticos en comparación con las secreciones de individuos control. Esta diferencia está dada por la disminución en la secreción del fluido del páncreas con FQ (Kopelman, et al., 1985; Welsh y Fick, 1987).

Como la secreción de aniones parece ser importante en la producción del fluido pancreático, se piensa que es esta secreción la que está disminuida en el páncreas con FQ. Este defecto en la secreción puede explicar la patología de la enfermedad pancreática: las secreciones deshidratadas obstruyen los ductos y eventualmente destruyen la glándula (Kopelman, et al., 1985; Welsh y Fick, 1987).

Como conclusión, se puede decir que:

(1) Muchos de los epitelios en FQ son impermeables al cloro.

(2) En el epitelio de las vías aéreas, en la parte secretora de las glándulas sudoríparas y probablemente en el páncreas existe una disminución en la "secreción" de cloro; En el ducto de las glándulas sudoríparas hay una disminución en la "absorción" de cloro.

(3) En las vías aéreas, la anormalidad consiste en una regulación defectuosa del canal de cloro en la membrana apical.

Como se puede observar, el defecto básico en FQ está estrechamente ligado a la regulación del canal de cloro. Por esta razón estas anormalidades en el transporte electrolítico proporcionan una mejor explicación para una de las más importantes manifestaciones clínicas en FQ: la obstrucción de órganos debida a la acumulación de secreciones deshidratadas.

K. GENETICA

El eminente genetista Theodosius Dobzhansky decía que "nada en biología tiene sentido si no es a la luz de la evolución", pero aún es más cierto que nada en biología es comprensible si no es a la luz de la genética. La genética es el núcleo de las ciencias biológicas; ella provee la infraestructura dentro de la cual la diversidad de la vida y sus procesos se pueden entender como un todo intelectual (Ayala y Kiger, 1984).

Durante la primera mitad del siglo XX se estableció gradualmente que los genes desempeñan un papel importante en la función y evolución de los organismos. El significado fundamental de esta función, sin embargo, sólo se puso de manifiesto con el reconocimiento de que los ácidos nucleicos (DNA y RNA) son el material hereditario de todos los organismos. El descubrimiento de la naturaleza química del DNA estableció los principios de la herencia y condujo a la comprensión de cómo los genes en forma de moléculas de DNA se transmiten de generación en generación y, a la vez, se expresan en cada generación. La información hereditaria está incluida en la secuencia de nucleótidos del DNA y se expresa al especificar la secuencia de aminoácidos de las proteínas. La unidad de todos los seres vivos está demostrada por el hecho de que el código que relaciona secuencias de nucleótidos con secuencias de aminoácidos es el mismo en todos los organismos. El código es universal (Ayala y Kiger, 1984).

En las células procariontes el DNA es una molécula circular y se encuentra en el citoplasma; en las células eucariontes el DNA se encuentra empaquetado en cromosomas, asociado a proteínas histonas y rodeado por la envoltura nuclear (Alberts, et al., 1989).

En las células somáticas humanas se han reconocido 46 cromosomas, 44 autosomas y 2 cromosomas sexuales (Alberts, et al., 1989).

En un momento del ciclo celular (fundamentalmente en la fase S), el DNA tiene que ser copiado a través de la "replicación", que se define como el proceso de síntesis de DNA con un mínimo de error y constituye el primer paso en el flujo de información genética, de acuerdo con el "Dogma Central de la Biología Molecular" (Alberts, et al., 1989).

El siguiente paso en el flujo de la información genética es la "transcripción", que es el proceso de formación de una cadena de RNA, que toma como molde a una de las hebras de DNA. Este RNA puede ser de tres tipos: mensajero, ribosomal y de transferencia (Alberts, et al., 1989).

La "traducción", constituye el tercer paso en el flujo de la información y es el proceso de síntesis de una cadena polipeptídica. En los procariontes la transcripción y la traducción son simultáneas, a diferencia de los eucariontes, en los cuales estos procesos están separados en tiempo y espacio (Alberts, et al., 1989).

Finalmente, la proteína nativa puede sufrir diversas modificaciones sobre su estructura original.

Asimismo, el material genético puede experimentar alteraciones estables y heredables denominadas mutaciones, que a su vez, constituyen las causas bioquímicas de la enfermedad. Estas mutaciones comunmente se expresan como fenotipos desadaptativos (manifestaciones clínicas) en el ambiente universal (Beaudet, et al., 1989b).

Un concepto importante para entender el papel que juegan las mutaciones en los procesos de transmisión genética es el de polimorfismo genético. Este concepto se refiere a la existencia de diferentes formas moleculares de un gen en su locus génico; las diferentes variedades de un mismo gen se denominan alelos. Para cada locus génico un individuo posee dos alelos, cada uno de ellos proveniente de un progenitor (con excepción de los loci de los cromosomas X y Y en varones, que presentan un sólo alelo por locus) (McKusick, 1986).

Existen tres características que deben ser consideradas cuando una enfermedad es transmitida genéticamente: Heterogeneidad, variabilidad y pleiotropismo. La heterogeneidad se refiere a la posibilidad de tener un fenotipo clínico o bioquímico particular producido por más de un genotipo. Tal heterogeneidad puede resultar de diferentes mutaciones en un sólo locus o bien de alelos mutantes en loci diferentes (Guizar-Vázquez, 1988). La variabilidad está dada por los diferentes alelos que pueden

ocupar un mismo locus. Cada alelo se expresará fenotípicamente con una cierta actividad de acuerdo con el tipo y extensión de la mutación. Por último, el pleiotropismo es el efecto por el cual un sólo gen mutante afecta a dos o más aspectos del fenotipo de un organismo (Ayala y Kiger, 1984).

Las enfermedades genéticas se clasifican en tres categorías:

1) Desórdenes cromosómicos que involucran pérdida, exceso o arreglo anormal de uno o más cromosomas, lo cual afecta muchos genes.

2) Desórdenes mendelianos o monogénicos, que son determinados primariamente por mutación en un sólo gen. Por consiguiente, estas enfermedades presentan patrones de herencia simple (Mendeliana), que puede clasificarse en autosómica dominante, autosómica recesiva, dominante ligada al X, recesiva ligada al X y herencia ligada al Y u holándrica.

3) Desórdenes multifactoriales que son causados por una interacción de múltiples genes y multiples factores exógenos o ambientales (Beaudet, et al., 1989b).

Una vez establecidas las bases anteriores, se puede señalar que la FQ es un padecimiento genético de tipo autosómico recesivo y por lo tanto clínicamente aparente sólo en estado homocigoto, es decir, cuando ambos alelos en un locus génico particular están alterados.

El gen responsable de una enfermedad autosómica recesiva tiene las siguientes características:

1. Se localiza en uno de los 22 pares de autosomas.
2. El sexo del individuo afectado no ejerce una influencia importante en su manifestación, porque se encuentra localizado en los autosomas.
3. Cuando ocurre una mutación puede encontrarse tanto en estado homocigoto (cuando ambos alelos en un mismo locus son iguales) como heterocigoto (cuando los alelos en un mismo locus son diferentes) y sus manifestaciones fenotípicas sólo pueden observarse en estado homocigoto al reunirse los dos alelos mutados.
4. Al heterocigoto se le designa como portador del carácter anormal, y en ocasiones es posible detectarlo. (Guízar-Vázquez, 1988).

Las condiciones especiales de la herencia autosómica recesiva son:

1. Los afectados son producto de progenitores heterocigotos con fenotipo normal.
2. Si ambos progenitores son portadores del mismo gen autosómico recesivo, tres tipos de descendencia resultarán de esto, el 25% de los hijos será normal, el 50% será portador heterocigoto y el 25% restante será homocigoto y enfermo (Fig. 11).

3. Si un individuo afectado se une con un heterocigoto (como puede ocurrir en una unión consanguínea), el 50% de los hijos será portador heterocigoto y el otro 50% estará afectado, lo que genera un pedigrí que simula herencia dominante.

4. Si dos individuos con el mismo padecimiento recesivo se unen, toda la progenie resultará afectada.

5. Cuanto más raro es el gen mutante en la población, más fuerte es la probabilidad de que los individuos afectados sean producto de padres consanguíneos, ya que es más probable que los parientes compartan genes en común.

6. La transmisión es horizontal, es decir, en la construcción del árbol genealógico pueden observarse saltos en las generaciones (Guízar-Vázquez, 1988).

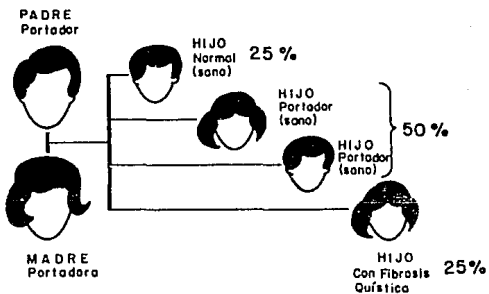


Fig. II- Posibilidades génicas en FQ.
(Cortina - Watson, 1989).

El cuadro clínico de los padecimientos autosómicos recesivos tiende, por tanto, a ser más uniforme que el de las enfermedades dominantes, y la edad de inicio es con frecuencia en las primeras etapas de la vida. Tales evidencias denotan que los homocigotos para el gen de FQ presentan todas o casi todas las manifestaciones clínicas de la enfermedad, mientras que los heterocigotos no tienen síntomas clínicos reconocibles, sólo son portadores que no poseen una enfermedad fenotípica.

Como regla general, las enfermedades recesivas se diagnostican más comúnmente en la infancia, mientras que las dominantes se encuentran con más frecuencia en adultos.

Afortunadamente por el cuadro clínico relativamente uniforme de los padecimientos recesivos y porque la mayoría se puede diagnosticar en forma directa con pruebas bioquímicas, usualmente se puede hacer el diagnóstico correcto aún cuando no haya otros miembros de la familia clínicamente afectados.

Si, como se supone comúnmente, la expresión de una mutación recesiva en un organismo diploide, como el humano, requiere de dos eventos mutacionales independientes, las enfermedades por mutaciones recesivas serán menos frecuentes (Guizar-Vázquez, 1988). Sin embargo algunas de las alteraciones recesivas, como la FQ, son muy frecuentes y comunes. En consecuencia, alrededor de 1 en 20 caucásicos es portador heterocigoto de la FQ (McPherson, 1988), y el padecimiento ocurre en una proporción de 1 en 2000

nacimientos de niños caucásicos (Wainwright, et al., 1985). Pero, Cómo se puede mantener una frecuencia génica tan alta?. Para explicar esta paradoja, se han postulado principalmente 2 hipótesis:

1. Los heterocigotos tienen superioridad sobre los homocigotos, con respecto a uno o más caracteres (Heterosis o Vigor Híbrido) (Dobzhansky, 1975), o bien,

2. hay una elevada tasa de mutación para este gen, estimada entre 0.7 y 1.0×10^{-3} (Frézal, et al., 1974).

En el caso de la hipótesis de la heterosis, se ha visto que algunas variantes génicas dan lugar a vigor híbrido, pero poco es relativamente lo que se sabe respecto a los orígenes fisiológicos y ecológicos de tal superioridad. Pueden considerarse diversas posibilidades: supervivencia diferencial; mayor fecundidad; mayor actividad sexual; mayor longevidad o la combinación de algunos o todos estos factores. Puede advertirse, asimismo, que para poseer una elevada aptitud darwiniana (heterosis), el heterocigoto no necesita ser superior en todos los componentes del valor de adaptación. Uno de los heterocigotos puede ser similar en fenotipo a uno de los homocigotos (dominancia completa), o bien ser intermedio entre los homocigotos (dominancia incompleta), o sobrepasar la gama de los homocigotos (sobredominancia). Si la característica sobresaliente del fenotipo es la viabilidad o la aptitud, la sobredominancia puede significar que el heterocigoto es heterótico y superior a los dos homocigotos, tal como se piensa que

ocurre en FQ (Dobzhansky, 1975; Kerem, et al., 1989 y Meindl, 1987). Al parecer esta sobredominancia de los heterocigotos portadores de FQ, podría darse como resultado de una selección gamética durante o después de la meiosis, pero esto aún no ha sido confirmado (Mornet, et al., 1989).

Actualmente la segunda hipótesis es la más aceptada. El que haya una elevada tasa de mutación para el gen de FQ, implica que la zona en donde se encuentra dicho gen es muy susceptible. La alta frecuencia génica se mantiene ya que los heterocigotos, al no presentar manifestaciones fenotípicas de la enfermedad, se reproducen sin ningún problema y heredan la mutación a la siguiente generación.

Una tercera hipótesis había sido postulada: la posible heterogeneidad genética en FQ (Mornet, et al., 1989). Esta explicación se desechó fácilmente, al demostrar con marcadores genéticos, que una sólo mutación es responsable de la mayoría de los casos de FQ (Tsui, 1989).

Hasta hace pocos meses el defecto básico de la FQ era desconocido, ya que el gen aún no estaba identificado. El descubrimiento del gen junto con el de la proteína que produce fue anunciado formalmente por tres científicos que encabezaron un equipo internacional de investigaciones: Lap-Chee Tsui y John Riordan, del Hospital de Niños de Toronto y el Dr. Francis Collins, de la Universidad de Michigan. Los tres investigadores estudiaron durante 4 años, miles de genes pertenecientes al séptimo de los 46 cromosomas presentes en cada célula humana.

Riordan menciona que la investigación no sólo encontró el gen defectuoso, sino que suministró información acerca de las mutaciones o defectos precisos que producen el funcionamiento incorrecto (Tsui, et al., 1986).

Para la localización del gen se usaron 2 estrategias generales:

1. Teóricamente la localización puede efectuarse por medio de métodos fisiológicos, farmacológicos y bioquímicos que identifiquen la proteína defectuosa en células de pacientes con FQ.

2. La segunda estrategia, más fructífera aún, fue la aplicación de las técnicas de genética molecular referidas como tecnología del DNA recombinante, usadas por Tsui y Riordan en Toronto, los descubridores del gen de FQ (Goodfellow, 1989).

Las fases consistieron en:

1. Utilizar fragmentos de restricción polimórfica (RFLP) obtenidos al digerir DNA con enzimas de restricción y recurrir al análisis de entrecruzamiento genético para localizar el gen blanco en un cromosoma concreto y en una región determinada del mismo (Kerem, et al., 1989; Tsui, et al., 1985; Wainwright, et al., 1985 y White, et al., 1985).

2. Un segundo paso implicó el aislamiento de fragmentos de DNA de esa región cromosómica, cada vez más cercanos al gen blanco, así como el estudio paralelo de posibles genes

candidatos (aquellos cuya secuencia de DNA se presume que ha sufrido alguna mutación que puede causar el fenotipo clínico anómalo), fisiológicamente relacionados con la enfermedad (Estivill y Williamson, 1988).

Durante años abundaron las sugerencias sobre posibles genes mutados, responsables de la FQ. Como ejemplo, estaba el gen que determina la superóxido desmutasa, el que codifica la calmodulina, el de la albúmina, el del factor III del complemento, así como reguladores de proteínquinas dependientes de AMPc (Estivill y Williamson, 1988).

3. El estudio final estribó en la identificación del gen en cuestión y de la mutación o mutaciones responsables de la enfermedad.

Estas nuevas formas de análisis se conocen como "Genética Reversa" y posibilitan el estudio de una enfermedad de la que se desconoce el producto bioquímico, como es el caso de la FQ (Estivill y Williamson, 1988).

A partir de 1985 se aceleró la investigación, de manera que, Riordan y colaboradores en 1989, localizaron el gen de la FQ en el brazo largo del cromosoma 7.

El método que condujo a este hallazgo se basó como se mencionó anteriormente, en la saturación del genoma humano con marcadores polimórficos y el estudio de ligamiento en familias con varios hijos afectados. Saturar el genoma con marcadores polimórficos significa utilizar marcadores situados en regiones cromosómicas determinadas, de forma que

el total de estos marcadores cubra el genoma entero en los estudios de ligamiento genético (Fujimara, et al., 1989).

En agosto de 1985, en Helsinki, durante la octava conferencia sobre cartografía genética humana, varios grupos asistentes, esforzados por aislar el gen de la FQ, elaboraron un mapa de exclusión para la enfermedad.

Los primeros marcadores genéticos que se vieron ligados al gen de FQ fueron D7S15, met y J3.11 (D7S8), obtenidos por White y colaboradores en 1985. Estos marcadores flanqueaban al gen de la FQ en una región de aproximadamente $1-2 \times 10^6$ p.b. Posteriormente se redujo la longitud de esta zona por medio de 2 marcadores, D7S122 y D7S340. Un tercer marcador, el IRT (Int-Related Protein), obtenido por Estivill, et al., en 1987a, apareció como un buen candidato para el gen de la FQ, aunque se vió más tarde que sólo estaba muy cerca del propio gen (Goodfellow, 1989 y Rommens, et al., 1989).

Una vez que se tuvieron estas pruebas, se inició el abordaje bidireccional del gen y se aislaron clonas que contenían secuencias traslapadas derivadas de esta región blanco. Esto se aceleró con la técnica de "Salteo Cromosómico" cuyo pionero fué Collins. De esta manera se clonaron $2-3 \times 10^5$ p.b. de secuencia genómica (Goodfellow, 1989 y Rommens, et al., 1989).

Se describió además ligamiento para la FQ con las sondas anónimas 7C22 y B79a, el gen pro- α -2(I) de la colágena (COL1A2) y el gen de la cadena β del receptor de

células T (TCR β) (Estivill y Williamson, 1988; McPherson, 1988 y Wainwright, et al., 1985) (Fig. 12).

Las sondas informativas estrechamente ligadas a la FQ son difíciles de ordenar en distancias pequeñas, del orden de varios millones de pares de bases. Obedece ello a que hay pocas familias con recombinación; por ello, los grupos que trabajan en FQ han colaborado en el estudio de familias que presentaban fenómenos de recombinación con FQ y los diferentes marcadores (Curtis, et al., 1988).

Se trataba, pues, de aislar la secuencia de DNA que se encuentra entre los diferentes marcadores y estudiar esa región por medio de técnicas físicas y moleculares de cartografía física como por ejemplo: Análisis de DNA de alto peso molecular por electroforesis en geles mediante campos de pulsación (PFGE o Pulsed-Field Gel Electrophoresis), sobreposición de cósmidos (vectores que permiten clonar fragmentos de DNA hasta de 45 kilobases y que combinan las propiedades de un plásmido y un fago en relación a que las partículas del fago se usan para transportar un plásmido

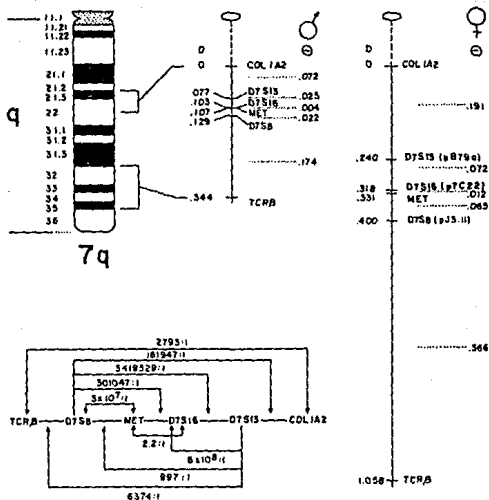


Fig. 12- Mapa del brazo largo del cromosoma 7 (7q), que muestra la localización de seis loci marcadores para FQ. Se muestran las localizaciones físicas del gen de la cadena pro- α -2(1) de la Colágena (COL1A2) y del gen de la subunidad β del receptor de células T (TCR β). D= Distancia génica en Morgans; Θ = Fracción de recombinación (Boat, *et al.*, 1989).

bacteriano) (Karp, 1987), genotecas saltadoras y ligadoras (conocidas también por jumping y linking, respectivamente) y, por último, caminata cromosómica o "chromosome walking" (White, et al., 1985). Para que no fracasara esta batería de posibilidades técnicas, fue necesario conocer el orden de los marcadores y asegurar así que cualquier paso o salto tenga un principio, un orden y un final (Estivill y Williamson, 1988 y Rommens, et al., 1989).

Se aislaron líneas celulares de ratón que contenían como único componente humano la región del cromosoma 7, donde se halla el gen de la FQ. La selección del fragmento del cromosoma humano se realizó gracias a que uno de los marcadores más próximos al gen de la FQ es un oncogén (met), y éste, cuando se halla activado, es capaz de transformar células 3T3 de ratón. Se establecieron varias líneas celulares híbridas, que contenían fragmentos del cromosoma 7, de entre un millón a varios millones de bases (megabases). Tales líneas celulares se obtuvieron a partir de una línea celular tumoral. Este es el tamaño de genoma que puede analizarse con relativa sencillez mediante la técnica de PFGE (Estivill y Williamson, 1988).

Con el propósito de examinar con detalle esas líneas celulares y la región del cromosoma 7 que contiene el gen de la FQ, se construyeron y analizaron varias genotecas de cósmidos.

Así se aislaron 6 cósmidos (X.254, X.250, X.285, X.12, H.70 y H.5) que cubrían unas 160 kilobases de la región del

oncogén met. Se procedió luego a su análisis mediante el método de "impresión de huellas digitales". La enzima de restricción Hinf I se encargó de digerir el DNA de los cósmidos; los fragmentos resultantes se marcaron radioactivamente y se introdujeron en un gel de poliacrilamida. La autorradiografía mostró que las clonas comparten varios fragmentos (Estivill y Williamson, 1988) (Fig. 13). Pero no fue fácil, ya que se desconocía el alcance de las reordenaciones o mutaciones puntuales que podrían haberse dado en la construcción de estas líneas celulares. Fue, pues, necesario elaborar estrategias de análisis para obtener nuevos marcadores espaciados e identificar secuencias codificadoras.

El genoma de los mamíferos se encuentra metilado en su mayor parte, aunque existe un 1% del DNA libre de metilación. La metilación del DNA se limita casi exclusivamente al dinucleótido CpG. Hay enzimas de restricción que reconocen secuencias ricas en ese dinucleótido si no se hallan metiladas. Tales enzimas (Not I, Bssh II, Sac II, Nar I, Nae I y Xma III) generan fragmentos de elevado peso molecular. Estos lugares de restricción han recibido distintas denominaciones: islas HTF (del inglés Hpa II Tiny Fragments), islas CpG o islas libres de metilación. Las islas HTF se hallan asociadas a genes, y

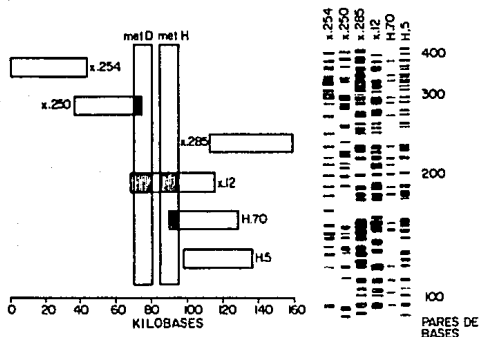


Fig.13- Recorrido cromosómico alrededor de la región del oncogén met. En el esquema de la izquierda se identifican los seis cósmidos que cubren 160 kilobases de la región del oncogén met. La autorradiografía de la derecha muestra que las clonas obtenidas, comparten varios fragmentos (Estivill y Williamson, 1988).

se han descrito en posición 5' de la mayoría de estos (Brown y Bird, 1986; Estivill, et al., 1987a; Estivill y Williamson, 1988 y McPherson, 1988). De esta manera, la identificación de islas HTF como marcadores, permitió aislar genes candidatos.

Para detectar estas islas HTF en el DNA de células híbridas de hombre/ratón, se construyeron genotecas de la siguiente forma:

Primero, el DNA genómico se digiere parcialmente con la enzima Hind III, y de forma completa, con la enzima Xma III. Después este DNA se fracciona en gradientes de sal y se inserta en el DNA del cósmido (localizado originalmente en el vector especial llamado Lorist-6) previamente digerido con las enzimas Not I y Hind III. Las moléculas recombinantes se introducen en las cápsidas de bacteriófagos mediante empaquetamiento *in vitro*. Posteriormente, cada cósmido infecta una bacteria y le confiere resistencia contra la kanamicina. Esto permite seleccionar las clonas recombinantes.

Finalmente, se usa DNA humano como sonda para hibridar el DNA de la genoteca y detectar así las clonas humanas positivas. Por este procedimiento se identificaron cósmidos que se hallaban unidos por una secuencia Not I común, que a su vez forma parte de una isla HTF situada entre los marcadores más cercanos a la FQ, met y J3.11 (D7S8) (Estivill y Williamson, 1988) (Fig. 14).

Se había pasado, pues, desde estos marcadores hacia el gen de la FQ sin perder demasiado tiempo en exhaustivos análisis de caminata cromosómica.

El paso siguiente consistió en descubrir si había un gen asociado a esa isla. Se recurrió al análisis de hibridación cruzada de DNA de distintas especies (Rommens, et al., 1989).

La hibridación con RNA de tejidos diferentes confirmó que había una secuencia que lograba expresarse o traducirse. El posterior análisis de genotecas de DNA complementario (cDNA) de pulmón fetal y placenta, permitió aislar dos segmentos clonados, que luego serían secuenciados (Riordan, et al., 1989).

Los estudios de comparación entre los análisis de secuencias de cDNA perteneciente a clonas de tejidos de FQ y de secuencias de cDNA perteneciente a tejidos normales, no mostraron ninguna diferencia en el patrón de expresión proteínica (Estivill y Williamson, 1988).

Afortunadamente se encontraron tres nuevos marcadores que ponen de manifiesto una asociación alélica o desequilibrio de ligamiento (Beaudet, et al., 1989a); Esto es, cuando alelos de diferentes loci no están asociados al azar (la frecuencia con que se encuentran juntos es mayor

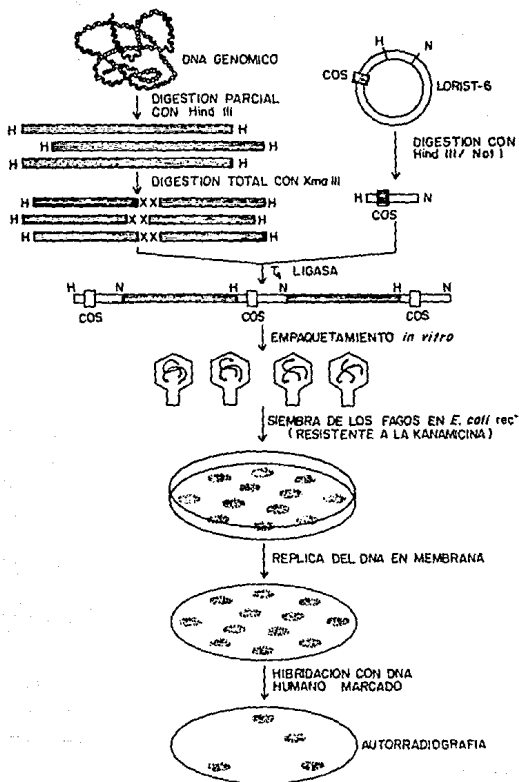


Fig.14- Construcción de una genoteca. (Estivill y Williamson, 1988).

que sus frecuencias individuales) se dice que están en desequilibrio de ligamiento. Cuando los alelos de diferentes loci están asociados al azar (en proporción a sus frecuencias), los loci están en equilibrio de ligamiento. Consecuentemente, en poblaciones naturales el desequilibrio de ligamiento es más común entre loci más íntimamente ligados (Ayala y Kiger, 1984). Los nuevos marcadores fueron pXV-2c, pCS.7 y pKM.19 (Estivill, et al., 1987b y Fujimara, et al., 1989). Las posibles combinaciones de las asociaciones alélicas se denominan haplotipos. La FQ se encuentra asociada con un haplotipo determinado en más del 85% de los casos, mientras que el mismo haplotipo está presente en sólo el 17% de los cromosomas normales (Estivill y Williamson, 1988).

El desequilibrio encontrado con esos marcadores para la FQ es excepcional entre las enfermedades hereditarias y reviste una enorme importancia (Tsui, et al., 1985 y White, et al., 1985): indica, en primer lugar, la homogeneidad de la enfermedad, de forma que una sola mutación es responsable, por lo menos, del 85% de los casos de FQ (Cutting, 1989; Tsui, et al., 1985; Tsui, et al., 1986 y Tsui, 1989); en segundo lugar, informa que la mutación sucedió después de la separación de razas, hace miles de años; por último, este desequilibrio implica que se está físicamente muy cerca del gen de FQ (Estivill, et al., 1987a y 1987b; Estivill y Williamson, 1988).

El análisis de otras clonas HTF procedentes de la misma genoteca, terminó por dilucidar finalmente cuál era el gen mutado en la FQ.

Ahora, Cómo se supo que se había llegado verdaderamente al gen?:

- Primero debe observarse la distribución de transcritos (mRNA's) en tejidos pertinentes (páncreas, pulmón y glándulas sudoríparas).

- Se deben observar cambios en el patrón de expresión génica o bien cambios en el producto del gen, la proteína CFTR (Regulador Transmembranal de Fibrosis Quística), que pueden ser probados en experimentos de fisiología celular para verificar si efectivamente esta proteína CFTR, es la codificada por el gen de FQ.

- Finalmente, se realizan análisis genéticos en personas afectadas. Esto tiene gran dificultad, ya que hay un fuerte desequilibrio de ligamiento a lo largo de la región en donde se encuentra el gen de la FQ, como se vió anteriormente (Fujimara, et al., 1989 y Rommens, et al., 1989).

Una vez aplicados estos conocimientos en la práctica, los puntos específicos que evidenciaron el descubrimiento del gen de FQ fueron:

1. La identificación de la misma delección de 3 pb en el gen, que corresponde a la pérdida de un residuo de

Fenilalanina en el aminoácido 508 en cerca del 70% de los cromosomas analizados (la deleción no se encontró en 200 cromosomas normales) (Harris y Bobrow, 1989; Kerem, et al., 1989 y Riordan, et al., 1989).

2. El mRNA analizado por hibridación en gel (Riordan, et al., 1989) está expresado en altos niveles en páncreas y pólipos nasales y en menor cantidad en glándulas sudoríparas, pulmón, colon, hígado, glándulas parótidas y placenta y aparentemente no está expresado en cerebro, fibroblastos de piel y células linfoides (Harris y Bobrow, 1989).

3. La presencia de la proteína CFTR (Regulador Transmembranal de Fibrosis Quística), predicha a partir de la secuenciación del gen de FQ. Esta proteína comprende 1480 aa y tiene un peso molecular de 168,138 daltons. Estructuralmente, está constituida por dos mitades simétricas, unidas a través de un gran dominio (Fig. 15).

Cada una de las mitades está formada, a su vez, por un pequeño dominio citoplásmico e hidrofílico que posee secuencias consenso plegadas e involucradas en la unión de ATP (dominio NBF's o Nucleotide(ATP)-Binding Folds). Tienen también 6 segmentos hidrofóbicos que en realidad son α -hélices, capaces de atravesar varias veces la bicapa

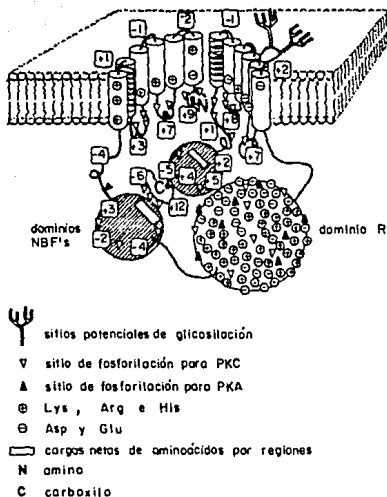


Fig.15- Modelo esquemático de la proteína CFTR. Los dominios NBF's se representan por pequeñas esferas sombreadas y las α -hélices que atraviesan la membrana se indican como cilindros. El dominio R que une las dos mitades de la proteína se esquematiza como una gran esfera adornada (Riordan, *et al.*, 1989).

lipídica de la membrana. Cabe aclarar, que sólo una de estas mitades contiene entre sus segmentos 5 y 6, dos sitios potenciales de glicosilación.

Ahora bien, el dominio que une las dos mitades simétricas de la proteína CFTR (dominio R), es un gran dominio citoplásmico, conformado por 241 aa, de los cuales 64 son residuos polares arreglados en clusters (grupos o racimos) de cargas positivas y negativas. Contiene también varios sitios de fosforilación para proteína-quinasa A (PKA) y proteína-quinasa C (PKC) (Harris y Bobrow, 1989; Higgins, 1989 y Riordan, et al., 1989).

Estas características estructurales de la proteína CFTR, son similares a las de otras proteínas asociadas a la membrana, como son: La glicoproteína P, resistente a múltiples drogas en mamíferos; la hemolisina B, involucrada en el transporte de péptido lítico en el sistema hemolisina de *Escherichia coli*; proteínas del sistema de transporte del soluto periplásmico de bacterias Gram-negativas y el producto del gen White de *Drosophila*, involucrado en el transporte de moléculas pigmentarias oculares (Higgins, 1989 y Riordan, et al., 1989).

Esto sugiere que la proteína CFTR, involucrada en el transporte de iones a través de la membrana, probablemente es parte de una superfamilia de proteínas membranales.

Lo cierto es que, aún permanece incierta la participación de la proteína CFTR en la regulación iónica,

por lo que, para entender el defecto básico en FQ, es necesario determinar el papel preciso de la Phe⁵⁰⁸ en la regulación del transporte iónico y entender los mecanismos que llevan a la fisiopatología de la enfermedad (Riordan, et al., 1989).

El gen de FQ se encuentra localizado en el cromosoma 7, banda q31, es grande, de 250 Kb de longitud (Kerem, et al., 1989 y Rommens, et al., 1989), con 24 exones que producen un mensajero de 6.5 Kb (Harris y Bobrow, 1989). El 70% de los cromosomas de FQ llevan la misma mutación, aparentemente en el mismo haplotipo (Cutting, 1989).

Esta mutación es la responsable de la alteración de los canales de cloro en las células epiteliales y se caracteriza por provocar un aumento en la producción de moco en todas las glándulas exócrinas del organismo, lo que conduce al trastorno electrolítico del sudor (Pérez-Fernández, et al., 1990).

L. NUEVOS ESTUDIOS GENETICOS

Durante los últimos diez años los genetistas han descubierto técnicas que les permiten reproducir, en el laboratorio, pasos de la evolución de los organismos. En realidad estas técnicas científicas proporcionan los medios para realizar experimentos que la propia naturaleza no puede efectuar.

Con las técnicas de investigación del DNA recombinante, los genetistas han aprendido a trasplantar genes de un organismo a otro y a combinar los materiales genéticos en formas nunca experimentadas en la evolución de la vida sobre la tierra; este conocimiento y la habilidad para aplicar estas técnicas a nuevos propósitos tiene profundas implicaciones para toda la biología (Ayala y Kiger, 1984).

El avance metodológico ha permitido el aislamiento y caracterización de genes, su seguimiento a través de las familias afectadas y la detección de cambios evolutivos.

La citogenética, junto con las técnicas modernas de genética molecular, tienen una función muy importante, ya que permiten la identificación individual de los cromosomas y de sus regiones específicas, la localización geográfica del material genético en los cromosomas y el estudio visual de un locus en particular. Como consecuencia, la biología molecular ha permitido conocer con gran detalle, los mecanismos de la transmisión hereditaria, la síntesis de proteínas, la regulación del metabolismo y el control de la

respuesta inmune. Ahora también permite descifrar los misterios de la diferenciación celular y de la embriogénesis y es posible que logre explicar las funciones cerebrales superiores (Velázquez y Soberón, 1986).

Por otra parte, el uso de enzimas de restricción y tecnología de DNA recombinante definirá nuevos síndromes y determinará la localización de los genes responsables en regiones cromosómicas específicas (Estivill y Williamson, 1988).

El análisis del material genético es fundamental en Genética ya que define una gran cantidad de padecimientos mendelianos secundarios a mutaciones puntuales o deleciones génicas. Esta metodología de DNA recombinante se realiza con un grado mínimo de invasión, y consiste en el examen directo de las secuencias de DNA del genoma de un individuo. El uso de estas técnicas permite conocer el estado genético de los miembros de una familia o embarazo de alto riesgo (Farrall, et al., 1986), reconocer secuencias del cromosoma y estudiar FQ, hemoglobinopatías, distrofias musculares, etc. El mayor impacto en la clínica ha sido en la detección de portadores de enfermedades autosómicas recesivas (Beaudet, et al., 1988), enfermedades ligadas al X, diagnóstico presintomático de padecimientos autosómicos dominantes y en diagnóstico prenatal.

La clave para la aplicación clínica efectiva es el desarrollo de técnicas de biología molecular sensibles, confiables y rápidas. Entre ellas tenemos las siguientes:

Extracción de DNA.- Mediante técnicas estándares se puede extraer DNA de sangre periférica, material de vellosidades coriónicas e incluso de cualquier tejido que contenga células nucleadas.

Es necesario enfatizar la importancia de esta técnica en FQ, ya que el diagnóstico prenatal de la enfermedad se ha podido realizar mediante la extracción de DNA de leucocitos, fibroblastos y células de líquido amniótico principalmente. Los cultivos de estas células son los que permiten, precisamente, llevar a cabo estudios citológicos, bioquímicos y moleculares (Mornet, et al., 1989).

Elaboración de bancos de DNA.- Una vez extraído el DNA es estable y puede ser guardado en forma indefinida, de manera que muestras de pacientes con padecimientos genéticos pueden ser colectadas y guardadas para investigaciones futuras de otros individuos probablemente afectados. El almacenamiento de muestras ya ha beneficiado, en otros países, a muchas familias cuyos parientes afectados o mayores de edad no estaban vivos cuando se realizó el análisis de DNA, pero cuyos resultados fueron necesarios para realizar pruebas predictivas.

En FQ, es necesario realizar bancos de DNA, sobre todo en familias en las que hay antecedentes de miembros afectados con la enfermedad, ya que las muestras se utilizan para realizar ensayos predictivos con sondas de DNA que detectan portadores heterocigotos de FQ y de esta manera se puede ofrecer un mejor asesoramiento genético.

Enzimas de restricción.- El descubrimiento de las enzimas de restricción bacterianas fué muy importante en el desarrollo de técnicas para analizar genoma humano. Las enzimas de restricción reconocen secuencias de DNA específicas y cortan la doble cadena de DNA en estos sitios. Cada enzima reconoce una secuencia propia y cortará el DNA genómico en una serie de fragmentos que pueden ser posteriormente analizados (Fig. 16). El tamaño de los fragmentos producidos es constante para cada individuo pero varía comunmente entre varias personas debido a las diferencias presentes en las secuencias de DNA no codificantes. Esta variación (RFLP o fragmentos de restricción polimórficos) es la base de algunas pruebas predictivas cuando se presentan en o cerca del gen de interés (Tsui, et al., 1985; Velázquez y Soberón, 1986).

También, el análisis molecular de estos fragmentos en diferentes familias, demostró que la mutación en FQ está fuertemente asociada con diferentes haplotipos, dependiendo de la forma clínica de la enfermedad:

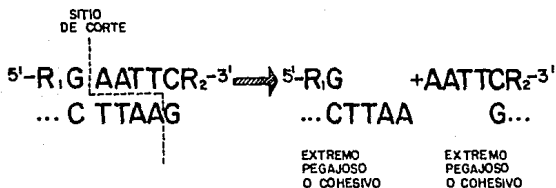


Fig. 16- Mecanismos de acción de las enzimas de restricción. Las enzimas de restricción cortan las cadenas del DNA en forma asimétrica, de tal forma que generan extremos de hélice sencilla o "cohesivos" (Velázquez y Soberón, 1986).

- Cuando existe FQ con ileo meconial, el RFLP encontrado en estos pacientes es el XV-2c y el haplotipo se define como $D_1E_2F_1$.

- Mientras que cuando existe FQ sin ileo meconial, el RFLP encontrado es el KM.19 y el haplotipo se define como $D_1E_2F_2$ (Mornet, et al., 1989).

Las enzimas de restricción permitieron saturar el genoma humano a lo largo de la región del brazo largo del cromosoma 7 (7q), con el fin de conocer el orden de los marcadores y saber cuales de ellos se encontraban ligados al gen de FQ. Algunas de las enzimas que se utilizaron en la digestión del DNA fueron Hind III, Xma III, Hinf I, Not I, Bssh II, etc (Brown y Bird, 1986).

Electroforesis.- La electroforesis en gel permite el estudio de la variación genética en las poblaciones naturales.

Las muestras de tejidos de los organismos son homogeneizadas individualmente a fin de liberar las enzimas y otras proteínas de la célula. El sobrenadante (fracción líquida) del homogeneizado se coloca en un gel. El gel se somete luego a una corriente eléctrica continua. Cada proteína del gel migra en una dirección y a una velocidad que depende de la carga eléctrica neta de la proteína y del tamaño molecular. Después, el gel se saca del campo eléctrico y se trata con una solución química específica

para revelar las posiciones de las enzimas (Ayala y Kiger, 1984) (Fig. 17).

El caso de FQ, los fragmentos de DNA obtenidos por enzimas de restricción pueden ser ordenados de acuerdo a su tamaño por electroforesis en gel de agarosa. Con el uso de marcadores de peso molecular se pueden deducir los pesos moleculares respectivos de los fragmentos obtenidos para un DNA en particular (Karp, 1987). Asimismo, la electroforesis es importante en FQ, sobre todo a nivel de estudios familiares, ya que permite de acuerdo con el patrón de manchas obtenidas, identificar cuáles son los genotipos de los individuos de una muestra, cuántos son homocigotos, cuántos son heterocigotos y para qué alelos (Ayala y Kiger, 1984; Curtis, et al., 1988).

Transferencia.- Los fragmentos de DNA en un gel pueden ser desnaturalizados a cadena sencilla para ser transferidos a filtros de nylon por la técnica de Southern, sin perder su posición original. Una vez unidos al filtro, los fragmentos de DNA pueden ser analizados mediante una reacción de hibridación con la sonda de DNA apropiada. La banda radioactiva puede visualizarse por medio de una autoradiografía (Velázquez y Soberón, 1986) (Fig. 18).

Hibridación.- Esta reacción se basa en la capacidad de unión que tienen las cadenas de DNA complementarias. Una sonda es un fragmento de DNA de cadena sencilla, marcada con ^{32}P , que se utiliza para detectar secuencias homólogas en

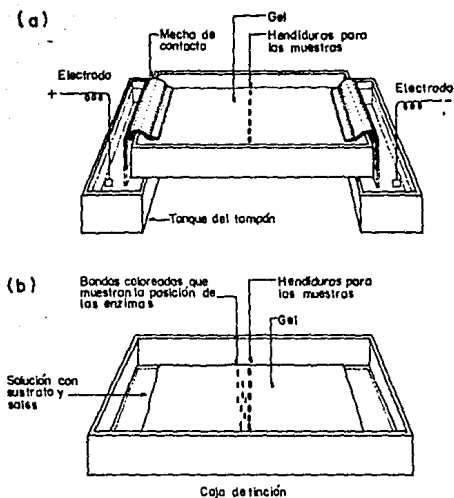


Fig. 17- Electroforesis en gel y ensayo enzimático. Las fracciones líquidas de los tejidos homogenizados se colocan en un gel y se someten a una corriente eléctrica continua (a). Después el gel se saca del campo eléctrico y se trata químicamente para revelar las posiciones de las enzimas (b) (Ayala y Kiger, 1984).

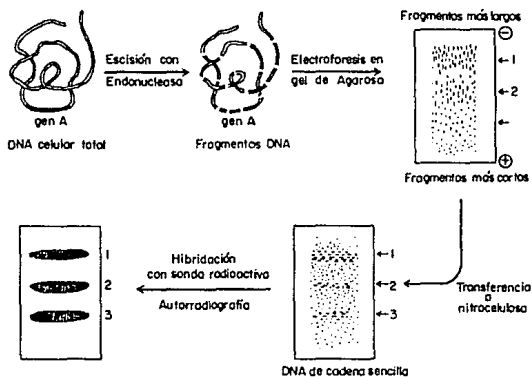


Fig. 18 - Transferencia. Identificación y caracterización de un segmento de DNA a través de una sonda o detector radioactivo (Velázquez y Soberón, 1986).

una muestra de DNA genómico. Las sondas que se usan para estudiar padecimientos mendelianos representan secuencias únicas que se presentan una vez en el genoma y que pueden corresponder al gen de interés, a DNA flanqueador o a secuencias más distantes. Estas sondas son invaluable ya que permiten la detección y caracterización de una secuencia de DNA específica derivada de una pequeña porción del DNA (6×10^9 pb) presente en cada célula somática (Velázquez y Soberón, 1986).

Las técnicas de transferencia e hibridación, están estrechamente relacionadas, por lo que su importancia en FQ se describe conjuntamente. Las dos técnicas se utilizaron a nivel de la caracterización del DNA localizado en el brazo largo del cromosoma 7, específicamente en el análisis de los cósmidos que se encontraban alrededor del oncogén met. Los fragmentos de DNA de estos cósmidos (obtenidos por la enzima de restricción Hinf I), se marcaron radioactivamente, se introdujeron en un gel de poliacrilamida y se hibridaron, para finalmente obtener la autorradiografía que mostró que las clonas compartían varios fragmentos.

La hibridación también fué útil en la detección de islas HTF dentro del DNA de células híbridas hombre/ratón y en el análisis de distribución y expresión de mRNA's en diferentes tejidos (Estivill y Williamson, 1988).

Clonación de DNA.- Para que se puedan manipular con éxito los genes, se deben lograr cuatro procesos diferentes: 1) el DNA debe poder cortarse en una forma predecible; 2)

debe ser posible combinar 2 piezas de DNA en una forma controlada; 3) es necesario amplificar millones de veces un segmento aislado de DNA; y, 4) debe cortarse con alguna forma de identificar el material genético así clonado. Se cuenta ya con métodos bien calibrados, relativamente sencillos, que permitirán, antes de que esta década termine, clonar los genes de la mayoría de las enzimas humanas, así como los de moléculas con estructura conocida.

Una vez cortado el segmento de DNA que nos interesa con enzimas de restricción, se recombina y pasa a formar parte de un vector plásmido, término que describe a cualquier elemento capaz de replicarse autónomamente en una célula más grande tal como la de una bacteria o una célula en cultivo procedente de mamíferos. Como ejemplos de vectores plásmidos se pueden mencionar a los virus bacterianos, a los virus de mamíferos o bien a las partículas responsables de resistencia múltiple a antibióticos en bacterias. Una vez que por medio de las endonucleasas de restricción se corta tanto el DNA que se desea insertar como el DNA del vector, fácilmente se lleva cabo la unión de ambos (Fig. 19). Al crecerlo en presencia de un medio favorable, el plásmido se reproduce desproporcionalmente y, junto con él, el segmento de DNA que uno desea reproducir, tal como ocurrió con el gen de FQ (Karp, 1987; Velázquez y Soberón, 1986).

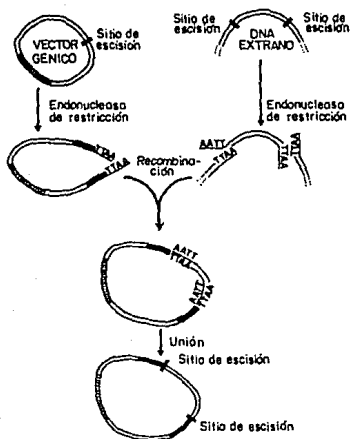


Fig. 19 - Inserción de moléculas de DNA en vectores génicos. La molécula de DNA que contiene el gen que se desea clonar, se inserta en un vector génico capaz de replicarse autónomamente en una célula (Velázquez y Soberón, 1986).

Clonación de cDNA.- La clonación de cDNA también posee gran importancia en el análisis de la estructura del gen y su expresión. Para clonar el cDNA, el primer paso es aislar una población de mRNA que se usa como molde para formar un complemento monocatenario de DNA, el cual se convierte en un estado bicatenario por la acción de la DNAPol (Fig. 20). Las poblaciones de mRNA contienen miles de especies diferentes y, al igual que con experimentos que utilizan fragmentos de DNA genómico, las clonas se deben muestrear para aislar una secuencia en particular de una población heterogénea de moléculas.

El análisis de los cDNA's en FQ sirvió para diversas funciones. Por lo general es más fácil estudiar una población de cDNA, que su población correspondiente de mRNA, de manera que el cDNA se utilizó para conocer el porcentaje de los mRNA's que los diferentes tipos de tejidos compartían (páncreas, pulmón, glándulas sudoríparas, etc.) y para saber el número de copias de mRNA por tipo celular. Además, el cDNA purificado se puede llegar a secuenciar más fácilmente, lo cual es una ventaja para determinar la secuencia de aminoácidos de un polipéptido (Karp, 1987).

Secuenciación del DNA.- Este procedimiento se inicia con una población de fragmentos idénticos de DNA. Todas las moléculas de la población se unen en un extremo común con una marca de ^{32}P radioactivo, y la preparación se divide en cuatro muestras que se someten a una serie diferente de

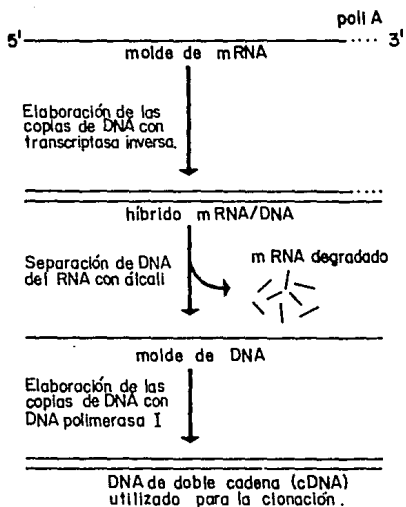


Fig. 20 - Clonación de cDNA. Procedimiento usado para la síntesis de una molécula de DNA de doble cadena (cDNA), a partir de un molde de RNA mensajero (mRNA) (Karp, 1987).

reacciones químicas. Una muestra se trata con reactivos que rompen a los polinucleótidos de preferencia por la eliminación de residuos de guanina; otras muestras se tratan para romper la cadena por medio de eliminación de residuos de adenina o de citosina. No existe un procedimiento para la timina, por lo tanto, se emplea un tratamiento específico para pirimidina. En este procedimiento de degradación limitada, los productos de cada mezcla de reacción se colocan en geles separados de poliacrilamida y se someten a electroforesis. La secuencia de toda la molécula puede leerse de manera directa a partir de las posiciones de las bandas en sus respectivos geles (Karp, 1987) (Fig. 21).

Finalmente, esta técnica permitió conocer cuál era la secuencia de bases del gen de FQ.

PCR (Polymerase Chain Reaction).- Muy recientemente se desarrolló una nueva metodología que permite amplificar enzimáticamente la secuencia de DNA de interés en relación al resto de DNA presente en la muestra colectada (Kerem, et al., 1989 y Riordan, et al., 1989). Esto permite utilizar muestras extremadamente pequeñas, como serían 50 μ l de sangre o 25 μ l de líquido amniótico. Además, reduce considerablemente el tiempo requerido para obtener resultados, de manera que para la mayoría de los casos utilizados, éstos se obtienen en aproximadamente 6 hr después de colectada la muestra (Karp, 1987).

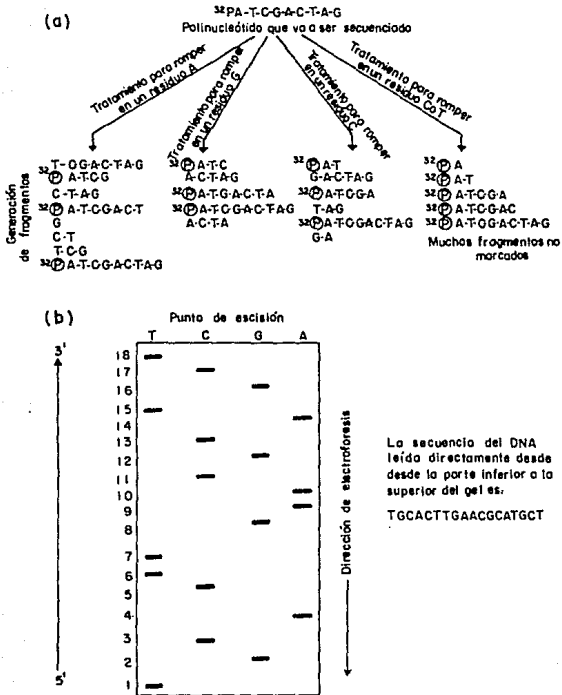


Fig. 21- Secuenciación del DNA según Maxam y Gilbert. (a) Generación de una familia de fragmentos de DNA, mediante la ruptura aleatoria de una cadena de DNA para un tipo particular de nucleótido (Karp, 1987). (b) Ejemplo de un patrón de corrimiento en gel, a partir del cual se lee la secuencia del DNA (Alberts, *et al.*, 1989).

Esta técnica sirve para detectar heterocigotos portadores de FQ pero produce falsos negativos en aproximadamente 0.5% de los casos. Resultados falsos positivos podrían ocurrir secundariamente a la contaminación de la muestra con DNA amplificado previamente (Wilfond y Fost, 1990).

En general, todas estas técnicas fueron de gran utilidad en la clonación del gen de FQ, y ahora, su gran ventaja es que permiten conocer el estado genético de los miembros de una familia y realizar diagnósticos prenatales, aunque su principal aplicación en la clínica es la detección de portadores de FQ.

A este nivel de diagnóstico genético, los marcadores han sido de gran utilidad, ya que tienen una confiabilidad superior al 99% (Beaudet, et al., 1988). A través de este tipo de diagnóstico genético se ha estudiado al 97% de las familias con antecedentes de FQ y se determinó así, cuáles de los hijos que no se hallan afectados son portadores heterocigotos o son homocigotos normales (Estivill y Williamson, 1988).

Con independencia de estas ventajas para el diagnóstico, el desequilibrio puede utilizarse para detectar los portadores entre las familias de las que no existe material genético de un paciente con FQ. Por otra parte, en determinadas poblaciones, en las que el desequilibrio es muy intenso, se pueden realizar ya pruebas de exclusión de

portadores entre la población general con el empleo de estos marcadores (Beaudet, et al., 1988).

Algunos EIM, como la FQ, tienen altas frecuencias en grupos étnicos específicos, de manera que existen métodos eficaces para el diagnóstico de heterocigotos portadores, lo cual permite identificar a las parejas de riesgo antes de que hayan tenido un hijo afectado y así les es posible tomar decisiones reproductivas más racionales (Beaudet, et al., 1989a; Pérez-Fernández, et al., 1990 y Velázquez, 1981).

No obstante, el valor de estos avances ha sido limitado. En primer lugar, un 15% de las familias no se beneficiaban del diagnóstico prenatal al no ser informativas para los marcadores; esto es, los marcadores de DNA no eran útiles en estas familias (Beaudet, et al., 1988). Por otro lado ese ligamiento para la FQ no suponía una ventaja para los propios enfermos de FQ. Por último, la reducción del número de casos de FQ gracias al diagnóstico prenatal y la detección de portadores se halla casi siempre restringida a las familias que tienen ya un hijo enfermo (Estivill y Williamson, 1988).

Así pues, fue necesario aislar el gen que se encuentra mutado en la FQ para poder hallar nuevas formas diagnósticas.

Las implicaciones genéticas y clínicas de la clonación del gen de FQ son obvias, de inmediato se hizo factible el

diagnóstico prenatal de FQ y la detección de portadores dentro de las familias afectadas.

Se deberá hacer un estudio de poblaciones para heterocigotos, ya que existen más de 2,000,000 de portadores en Estados Unidos de Norteamérica (Harris y Bobrow, 1989).

En este momento sólo se ha aceptado una mutación mayor que ocurre en el 40% de los cromosomas. El poder combinado de la reacción en cadena de polimerasa y los métodos para detección directa, indudablemente mostrarán, en los próximos años, la naturaleza de otras mutaciones en el gen de FQ.

Para comprender las frecuencias del gen de FQ *in vivo* será fundamental incluir sistemas biológicos celulares para expresar el defecto básico, tales como los cultivos de células epiteliales humanas. Uno de estos sistemas, el epitelio de los ductos de las glándulas sudoríparas, ha jugado un papel importante en la clonación del gen. Las prioridades inmediatas probablemente son, lograr anticuerpos monoclonales contra la proteína CFTR y purificarla.

El aislamiento o creación de clonas de cDNA para FQ, permitirá demostrar si el efecto electrofisiológico medido como una regulación anormal en el transporte del ión cloro en la membrana apical de las células epiteliales de los ductos de las glándulas sudoríparas de FQ, puede ser corregido por inserción de un vector que expresará la contraparte normal del gen de FQ en estas células.

Otro camino potencial y muy interesante para la investigación, será la creación de un ratón transgénico que porte el gen de FQ mutado (a partir del cruce de especies homólogas en el nivel de DNA, parecería que el ratón tiene su propia contraparte del gen de FQ) (Harris y Bobrow, 1989). Tal es el poder de la nueva genética cuando se aplica a la patología molecular.

Mucho se ha escrito acerca de las posibilidades que se tienen para curar enfermedades genéticas por medio del trasplante de genes, sin embargo, la terapia de reemplazo génico es todavía cuestionable. Para que esta terapia se pueda realizar se requiere de ciertas habilidades, tales como:

1. Un abundante abastecimiento del gen normal y entender cómo es regulada su expresión génica.

2. Un método eficiente de introducción de genes en los cromosomas de las células, de tal manera que estos se integren y se expresen de manera normal.

3. Vectores que transporten los genes que van a sustituir, hasta las células específicas de tejidos particulares y órganos en los cuales el gen funciona anormalmente.

4. Habilidad para introducir los genes que se van a sustituir en proporciones adecuadas para la célula (Velázquez y Soberón, 1986).

Todo esto debe realizarse *in utero* o bien durante los primeros meses de vida, antes de que el daño sea irreparable.

En la actualidad ninguno de estos aspectos se han realizado de manera controlada, ya que las técnicas de transferencia celular aún son primitivas, los vectores genéticos escasean (la única esperanza la constituyen los virus) y no se tiene el conocimiento completo de la expresión y regulación genética.

La inserción de un gen normal en un organismo con el propósito de corregir un defecto genético, ha sido efectuada ya con éxito para restablecer el color normal de ojos en *Drosophila melanogaster* mutada y para corregir el enanismo genético en ratones con niveles reducidos de hormona de crecimiento. No hay razones para dudar que estos enfoques resulten igualmente exitosos en el humano (Velázquez y Soberón, 1986).

M. AVANCES EN ESTUDIOS CLINICOS

En todos los países se lleva a cabo una intensa investigación que permitirá aclarar el trastorno básico responsable de las manifestaciones de la FQ y brindar las respuestas básicas que permitan el control de la enfermedad. El programa de investigación de la FQ incluye los siguientes puntos:

- a) Estudio de glándulas exócrinas.
- b) Estudio de cultivos de células humanas.
- c) Bioquímica del moco.
- d) Técnicas para el diagnóstico prenatal.
- e) Estudios endocrinológicos.
- f) Estudios de nutrición.
- g) Inmunología de la FQ.
- h) Estudios histológicos pulmonares.
- i) Bacteriología de la enfermedad pulmonar.
- j) Antibioticoterapia.
- k) Naturaleza del defecto a nivel del gen.
- l) Métodos para la detección de enfermos.
- m) Aspectos psicosociales.

Hasta la actualidad no se ha observado ni ha podido ser inducida esta enfermedad en animales. Por lo tanto, los propios pácientes constituyen una parte esencial de la investigación (Cortina-Watson, 1989).

N. IMPORTANCIA DEL ASESORAMIENTO GENETICO

Cabe destacar que en la FQ como una enfermedad hereditaria y en la que se pueden detectar portadores, el primer nivel de prevención está constituido por el asesoramiento genético (Velázquez, 1981). El asesoramiento genético es un proceso de comunicación relacionado con problemas humanos que se generan con la ocurrencia de una enfermedad hereditaria en una familia o su riesgo de recurrencia. Lleva implícita la intervención de una o más personas debidamente capacitadas para ayudar a la familia o individuo en los siguientes aspectos:

1. Comprender los hechos médicos, inclusive el diagnóstico, la historia natural de la enfermedad y atención o tratamiento disponible.

2. Entender los mecanismos hereditarios por los que se produce el padecimiento y el riesgo de recurrencia en pacientes específicos.

3. Conocer diversas opciones encaminadas a evitar la recurrencia.

4. Elegir el curso de la acción que el consultante o los consultantes consideren apropiados de acuerdo a sus riesgos y metas familiares, y actuar de acuerdo con esa decisión.

5. Realizar la mejor adaptación posible del sujeto afectado; y determinar los riesgos de recurrencia del

padecimiento en estudio para el resto de sus familiares (Guizar-Vázquez, 1988; Super, 1987 y Ten Kate, 1989).

Al mismo tiempo que se educa o informa al consultante sobre estos puntos, se hace lo posible por cambiar actitudes, comportamiento, esquemas cognoscitivos y de entendimiento intelectual, que tienen como meta específica modificar las funciones cognoscitivas y afectivas de la persona, al grado que su conducta sea más "eficiente" y la persona se sienta "mucho mejor" (Guizar-Vázquez, 1988).

El asesoramiento genético en familias con problemas de FQ debe ser impartido por un grupo multidisciplinario, en el que intervienen profesionistas de diferentes áreas como: Genetistas, pediatras, neumólogos, gastroenterólogos, nutriólogos, psicólogos, fisioterapeutas y trabajadores sociales (Stewart, 1989).

El grupo humano afectado con FQ, tendrá que incorporar a su diario vivir la enfermedad, con todas las repercusiones que ello conlleva en energía, estabilidad emocional y recursos económicos.

Una recomendación importante es dar a conocer a la familia que esta entidad es hereditaria y recesiva; se debe insistir en que no se puede conocer de antemano esta situación para evitar sentimientos de culpa.

Es imprescindible insistir en que el riesgo para los siguientes embarazos es del 25% (Cortina-Watson, 1989 y Pérez-Fernández, et al., 1990).

Se debe dar consejo genético a todos los miembros inmediatos de la familia, ya que puede ser signo de advertencia con alto índice de sospecha para signos tempranos de FQ.

El riesgo en primos hermanos para esta enfermedad es de 1:60, si se toma en cuenta que la proporción de portadores en la población general es de 1:20; obviamente la consanguinidad aumenta el riesgo (Cortina-Watson, 1989).

O. INSTITUCIONES RELACIONADAS CON LA DIFUSION, APOYO,
DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO DE LA FIBROSIS QUISTICA

En 1982, un grupo pequeño de padres, médicos y voluntarios mexicanos, preocupados por el desconocimiento existente respecto al gran problema que representa la FQ, unieron sus esfuerzos y decidieron formar una asociación. Dicha asociación nace con un objetivo importante, el de coadyuvar, con todos los centros de atención médica del país y la sociedad, en la divulgación e información sobre el diagnóstico y tratamiento de la FQ.

La Asociación Mexicana de Fibrosis Quística, A.C. (AMFQ) cuenta con un Consejo Directivo que discute las actividades hechas y por hacer y presenta un informe anual.

El Programa Médico Científico está avocado al diagnóstico, tratamiento, prevención y control de la FQ. Del programa, depende un comité para investigación, que se encarga de analizar proyectos y protocolos.

La AMFQ, es un centro de registro, documentación e información a nivel nacional, constantemente, recibe información de todo el mundo como miembro de la International Cystic Fibrosis (Mucoviscidosis) Association, por medio de un sistema de computación, la recopila, clasifica y la pone a disposición de todos los médicos y personas que lo solicitan.

La asociación cuenta con el equipo adecuado, para realizar el diagnóstico mediante el examen de cloruros en

sudor, este servicio está a disposición de personas e instituciones que lo solicitan.

Ayuda y orienta a los familiares para la obtención del nebulizador, indispensable para su tratamiento de inhaloterapia.

Este programa médico científico, está formado, por un equipo multidisciplinario en el que intervienen médicos de las siguientes especialidades: Pediatría, Neumología Pediátrica, Gastroenterología Pediátrica, Genética, Nutrición, Psicología, Fisioterapia y Trabajo Social, con el objeto de proporcionar el seguimiento más adecuado a los pacientes.

Es función también de este programa, organizar Congresos, Simposios, Pláticas en Hospitales y Cursos Especiales, de esta manera, enseña y actualiza a los médicos y profesionistas similares en todo lo referente a la FQ.

Permanece en continuo contacto con el Sector Salud, para lograr la formación de centros en el interior de la República, que atiendan a los pacientes con FQ.

La AMFQ tiene también, como uno de sus objetivos más importantes, la difusión de la enfermedad y por esta razón edita folletos dirigidos a médicos, público en general y maestros. Estos folletos involucran aspectos generales de la enfermedad y su objetivo fundamental es crear conciencia de que existe la FQ en México, así como dar a conocer sus

síntomas, diagnóstico y pautas en el tratamiento. Con el mismo propósito, lo hace a través de la comunicación masiva.

Finalmente, la AMFQ, consciente de la problemática que envuelve el vivir con FQ, mantiene una labor de relaciones humanas como apoyo a los pacientes y sus familias en aspectos psicológicos, educativos y terapéuticos (Lezana, 1989).

P. DISCUSION Y CONCLUSIONES

Como se mencionó anteriormente, la FQ es una de las enfermedades génicas de tipo autosómico recesivo más frecuentes, que causa serios problemas e incluso la muerte en los sujetos afectados, debido al deterioro de los sistemas respiratorio y digestivo principalmente (Cortina-Watson, 1989). A pesar de esto, la FQ es poco conocida en México, lo que hace urgente el planteamiento de proyectos de investigación que proporcionen datos estadísticos para conocer la frecuencia de la enfermedad en la población mexicana y aclaren el defecto básico del padecimiento.

En cuanto a la *incidencia*, se sabe de acuerdo a estadísticas en los Estados Unidos de Norteamérica y otros países, que 1 de cada 2000 niños nacen con FQ (Cortina-Watson, 1989). En realidad en México, la serie de pacientes analizados, no constituye una muestra representativa de lo que verdaderamente ocurre, tanto a nivel de frecuencia de la enfermedad como a nivel del perfil clínico de la FQ, con respecto a los países desarrollados.

Las características patológicas y clínicas en general, ponen de manifiesto que el problema más importante es que las glándulas exócrinas producen moco más espeso y pegajoso, lo que provoca una serie de complicaciones en los tractos respiratorio, gastrointestinal y genitourinario, así como en las glándulas sudoríparas que presentan un contenido de sal mucho más elevado que el normal (Cortina-Watson, 1989).

De acuerdo con esto, un diagnóstico oportuno es esencial, ya que las manifestaciones más importantes de la enfermedad pueden confundirse con numerosas entidades clínicas como el asma, tosferina, bronquitis, diarreas crónicas, amibiasis crónica, síndrome de mala absorción, etc (Pérez-Fernández, et al., 1990).

Existen, como se planteó en el inciso I, varias pruebas para la detección de FQ. De todas ellas, la cuantificación de electrolitos en sudor constituye una prueba excelente para el diagnóstico de la enfermedad ya que proporciona una confiabilidad del 99% y tiene las ventajas de que los valores de electrolitos están elevados (60 mEq/L o más) en la mayoría de los pacientes, incluso, desde los primeros días de vida, además de que es un método fácil, no doloroso, sin riesgos y que se realiza en muy poco tiempo (Cortina-Watson, 1989; Gibson y Cooke, 1959). A pesar de ello, actualmente se ha tenido mucho interés en utilizar, el método que consiste en determinar, a través de un radioinmunoensayo, cuáles son los niveles de tripsina en sangre, debido a que no sólo es un método diagnóstico sino que constituye un tamiz neonatal para la detección de FQ en todos aquellos niños nacidos vivos en México. Este tamiz es recomendable por varias razones: por un lado, el pronóstico del niño es más alentador si se conoce desde su nacimiento que padece FQ, además de que si se aplica a la mayoría de los recién nacidos se puede conocer la incidencia de esta enfermedad en la población. El tamiz también ofrece un

estudio en población abierta y el apoyo al diagnóstico de pacientes con la sintomatología del padecimiento.

En este sentido, la medición de tripsina en sangre ofrece múltiples ventajas sobre cualquier otra prueba descrita anteriormente. Algunas de estas ventajas son:

1) Las muestras son inmediatamente colectadas aunque sea para detectar otro tipo de EIM, lo que implica que no sólo puede detectarse FQ, sino otro tipo de enfermedades al mismo tiempo.

2) La prueba proporciona los resultados anormales siempre que exista FQ, con una sensibilidad de hasta 96%, ya que se detectan fácilmente los altos niveles de IRT (Tripsina Inmunoreactiva) en suero.

3) Una prueba de tripsina tiene la ventaja de que refleja únicamente la producción pancreática, de manera que el radioinmunoensayo es específico y sensible para medir tripsina en suero o en plasma, en términos de concentraciones inmunológicas y no por su actividad enzimática. Esto confirma la especificidad de la prueba, ya que la prueba sólo funciona para tripsina o su zimógeno (tripsinógeno) y no hay peligro de reacciones cruzadas con otras proteasas en sangre, además de que los valores obtenidos no se ven afectados por la presencia de inhibidores (Crossley, et al., 1979 y Kirby, et al., 1981).

El alto costo de los reactivos y la accesibilidad al contador de radiación gamma es la principal desventaja de la

prueba, aunque vale la pena ya que en México no hay un tamiz de FQ que sea satisfactorio.

Ahora bien, una vez realizado el diagnóstico de la enfermedad, se debe dar tratamiento apropiado y oportuno para prevenir los daños irreversibles. En sí, no existe un tratamiento específico de fondo para la FQ, sólo existen numerosas medidas terapéuticas que retardan el desarrollo de la enfermedad y permiten a los pacientes llevar una vida normal y productiva (Cortina-Watson, 1989).

Los problemas respiratorios pueden aminorarse a través de la terapia física, inhalaciones con aerosol, administración de antibióticos y aplicación de rhdNasa en aerosol para reducir la viscosidad del esputo, principalmente. El tratamiento para afecciones digestivas incluye el suministro de dietas ricas en calorías y proteínas así como la administración de enzimas pancreáticas. Finalmente, para evitar la pérdida masiva de electrolitos por sudor se recomienda la administración intravenosa de solución salina o la ingestión directa de la misma (Cortina-Watson, 1989; Pérez-Fernández, et al., 1990 y Vaughan, et al., 1975).

Respecto a la *biología del defecto básico*, no ha sido posible determinar con claridad, cuáles son las anomalías fisiopatológicas en FQ. En general, se encuentran anomalías en las secreciones y defectos del transporte electrolítico en las glándulas sudoríparas

(ductos y parte secretora), epitelio de vías aéreas y páncreas (Boat, et al., 1989).

Para conocer más a fondo el defecto básico sería importante realizar experimentos que involucren las propiedades fisicoquímicas de las secreciones exócrinas, la regulación de la secreción glandular exócrina y las anomalías en el suero.

En cuanto a las propiedades fisicoquímicas de las secreciones, se debe conocer la composición bioquímica del moco, ya que se ha planteado que el moco obtenido de las células caliciformes intestinales de pacientes con FQ es más rico en glucógeno, pero esto no ha sido confirmado en todos los pacientes. También se ha propuesto que la hipersecreción de calcio por las glándulas mucosas es una de las anomalías primarias. Como la solubilidad de las glucoproteínas puede disminuir por un exceso de calcio, esta hipótesis podría ser plausible (Robbins, et al., 1988).

En la regulación de la secreción glandular exócrina, se ha visto que el calcio intracelular y la actividad del sistema nervioso autónomo, entre otros, son factores que regulan el proceso secretor. Se ha informado de un aumento en los niveles intracelulares de calcio en células obtenidas de enfermos con FQ, y en base a este dato se propone una hipótesis que relaciona las anomalías en el sudor y otras glándulas exócrinas con una alteración central de la homeostasis del calcio (Robbins, et al., 1988).

Dentro de las anomalías en el suero, se ha informado del hallazgo de factores séricos que inhiben la actividad ciliar *in vitro* en modelos animales como el epitelio traqueal de conejo y las branquias de la ostra. Más recientemente también se han aislado estos factores en la saliva, orina y en el sobrenadante de cultivos *in vitro* de fibroblastos y leucocitos. Como los métodos utilizados en estas investigaciones son subjetivos, existe mucho desacuerdo sobre la validez de los datos obtenidos. Actualmente se podría definir bioquímicamente a los inhibidores mucociliares para el posterior rastreo de heterocigotos (Robbins, et al., 1988).

Genéticamente, la FQ es provocada por un gen autosómico recesivo que se localiza en el brazo largo del cromosoma 7, específicamente en la banda q31. Este gen codifica para una proteína de 1480 aa que carece de un residuo de fenilalanina en la posición 508, debido a la mutación por delección de 3 pb en el gen (Harris y Bobrow, 1989; Kerem, et al., 1989; Riordan, et al., 1989 y Rommens, et al., 1989).

Los nuevos estudios genéticos que permitieron el descubrimiento de este gen no sólo sirvieron para la clonación del mismo, actualmente, tienen una gran utilidad en la práctica de diagnósticos prenatales y la detección de heterocigotos portadores de FQ. En otros países, estos portadores se detectan principalmente por medio de las técnicas de PCR y marcadores genéticos, de manera que, sería interesante introducir en México, programas piloto de

detección de portadores que pongan en práctica estas metodologías (McGourty, 1989; Wilfond y Fost, 1990).

Esto sería útil para conocer el número de portadores heterocigotos en la población mexicana y proporcionar un mejor asesoramiento genético a las parejas que desean tener más hijos y que requieren de una mayor información para tomar decisiones reproductivas (Wilfond y Fost, 1990).

De cualquier manera, sería importante recordarle a la pareja que el riesgo de tener un bebé afectado con FQ, se incrementa considerablemente después de haber detectado a ambos padres como portadores y que es necesario que piensen en las ventajas que ofrece el diagnóstico prenatal o la inseminación artificial (Stewart, 1989 y Ten Kate, 1989).

Finalmente, se discute sobre los factores que determinan el pronóstico de los individuos con FQ. Algunos datos obtenidos en centros norteamericanos de FQ sugieren que la sobrevivencia es más alta para los pacientes que viven en el norte que para los que viven en el sur, por el clima. En promedio, los hombres viven 3 años más que las mujeres. Miembros de raza negra que sobreviven a los primeros años de enfermedad, tienen una mejor respuesta a la misma, que los de raza blanca (Boat, et al., 1989).

El pronóstico de la enfermedad ha mejorado notablemente en los últimos años tanto en la morbilidad como en la mortalidad debido a los avances en el tratamiento de estos

enfermos. Sin embargo esto es impredecible individualmente ya que la severidad varía de enfermo a enfermo.

El curso de la enfermedad va a depender básicamente del grado y extensión de las lesiones en el momento en que se elabora el diagnóstico, por lo que de la prontitud del diagnóstico y de la iniciación de la terapéutica dependerá el futuro del paciente.

La mayor parte de los pacientes que se diagnostican correctamente a edades tempranas de la vida, pueden vivir hasta la etapa de adultos (Cortina-Watson, 1989) (Fig. 22). En la actualidad se ha calculado una esperanza de vida media de 20 a 25 años. Las razones principales de tan importante mejoría obedecen a un diagnóstico precoz, la antibioticoterapia y la medicina preventiva (Estivill y Williamson, 1988). En México, durante 1985, se informó de un promedio de supervivencia de 23 años en mujeres y de 28 en hombres (Pérez-Fernández, et al., 1990).

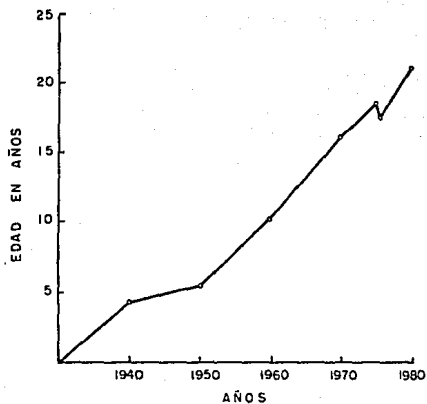


Fig. 22 - Promedio de vida en FQ. (Cortina-Watson, 1989).

Es importante señalar que, en los países desarrollados, la esperanza de vida y sobre todo la calidad de vida de los pacientes ha mejorado notablemente en las últimas décadas como consecuencia de un mejor conocimiento de la enfermedad, de mejores cuidados médicos y de mayor atención a los aspectos psicológicos y sociales.

Q. BIBLIOGRAFIA

- Alberts, B., D. Bray, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts y J.D. Watson. *Molecular Biology of the Cell*. 2a Ed. Nueva York: Garland Publishing, Inc: 1989: 1219.
- Alpert, S.E. y A.D. Cormier. Normal Electrolyte and Protein Content in Milk from Mothers with Cystic Fibrosis. *J. Pediatr.* 1983; 102: 77.
- Avers, Ch.J. *Biología Celular*. 5a Ed. México: Gpo. Ed. Iberoamérica: 1985: 532.
- Ayala, F.J. y J.A. Kiger. *Genética Moderna*. 1a Ed. México: Fondo Educativo Interamericano: 1984: 836.
- Barnes, P.J. Neuropeptides in Human Airways: Function and Clinical Implications. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1987; 136 (supl. 2): s77.
- Beadle, G.W. y E.L. Tatum. Genetic Control in Biochemical Reaction in *Neurospora*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1941; 27: 499.
- Beaudet, A.L., J.E. Spence, M. Montes, W.E. O'Brien, X. Estivill, M. Farrall y R. Williamson. Experience with New DNA Markers for the Diagnosis of Cystic Fibrosis. *N. Engl. J. Med.* 1988; 318: 50.
- Beaudet, A.L., G.L. Feldman, S.D. Fernbach, J. Gregory, B. Buffone y W.E. O'Brien. Linkage Disequilibrium, Cystic

Fibrosis and Genetic Counseling. *Am. J. Hum. Gen.* 1989a; 44: 319.

- Beaudet, A.L., Ch.R. Scriver, W.S. Sly, D. Valle, D. Cooper, V. McKusick y J. Schmidke. Genetics and Biochemistry of Variant Human Phenotypes. En: *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. Scriver, Ch.R., A.L. Beaudet, W.S. Sly y D. Valle. Nueva York: McGraw-Hill, 1989b: 3-49.

- Beckerman, R.C. y L.M. Taussig. Hyperelectrolytemia. *Pediatrics*. 1979; 63: 580.

- Bedrossian, C.W.M., S.D. Greenberg, D.B. Singer, J.J. Hansen y H.S. Rosenberg. The Lung in Cystic Fibrosis. *Hum. Pathol.* 1976; 7: 195.

- Beverley, D.W. Comparison of Four Pancreatic Extracts in Cystic Fibrosis. *Arch. Dis. Child.* 1987; 62: 564.

- Bitman, J., M. Hamosh, D.L. Wood, L.M. Freed y P. Hamosh. Lipid Composition of Milk from Mothers with Cystic Fibrosis. *Pediatrics*. 1987; 80: 927.

- Boat, T.F., M.J. Welsh y A.L. Beaudet. Cystic Fibrosis. En: *The metabolic Basis of Inherited Disease*. Scriver, Ch. R., A.L. Beaudet, W.S. Sly y D. Valle. Nueva York: McGraw-Hill, 1989: 2649-2680..

- Bondy, Ph.K. y L.E. Rosenberg. *Enfermedades del Metabolismo*. 2a Ed. España: Salvat Editores: 1979: 583.

- Brock, D.J.H. y J.C. Manson. Population Screening for Cystic Fibrosis. *Lancet*. 1980; ii: 973.
- Brock, D.J.H., D. Bedgood, L. Barron y C. Hayward. Prospective Prenatal Diagnosis of Cystic Fibrosis. *Lancet*. 1985; i: 1175.
- Brown, W.R.A. y A.P. Bird. Long-Range Restriction Site Mapping of Genomic Mammalian DNA. *Nature*. 1986; 322: 477.
- Brown, D.R. Intracellular Mediators of Peptide Action in the Intestine and Airways: Focus on Ion Transport Function. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1987; 136 (supl. 2): s43.
- Coates, A.L., P. Boyce, D.G. Shaw, S. Godfrey y M. Mearns. Relationship Between the Chest Radiography, Regional Lung Function Studies, Exercise Tolerance and Clinical Condition in Cystic Fibrosis. *Arch. Dis. Child.* 1981; 56: 106.
- Cortina-Watson, J. *Fibrosis Quística: Resumen de Síntomas, Diagnóstico y Tratamiento*. México: Asociación Mexicana de Fibrosis Quística (AMFQ): 1989: 41.
- Cotton, C.U., M.J. Stutts, M.R. Knowles, J.T. Gatz y R.C. Boucher. Abnormal Apical Cell Membrane in Cystic Fibrosis Respiratory Epithelium: An *in vitro* Electrophysiologic Analysis. *J. Clin. Invest.* 1987; 79: 30.
- Crossley, J.R., C.C. Berryman y R.B. Elliot. Cystic Fibrosis Screening in the Newborn. *Lancet*. 1977; ii: 1093.

- Crossley, J.R., R.B. Elliot y P.A. Smith. Dried-Blood Spot Screening for Cystic Fibrosis in the Newborn. *Lancet*. 1979; 1: 472.
- Cullen, R.T. Ceftazidime in Cystic Fibrosis: Clinical, Microbiological and Immunological Studies. *J. Antimicrob. Chemother.* 1983; 12 (supl. A): 369.
- Curtis, A., L. Strain y D.J.H. Brock. Genotyping of Cystic Fibrosis Families with Linked DNA Probes. *Clinical Genetics*. 1988; 33: 53.
- Cutting, G.R. Analysis of DNA Polimorphism Haplotypes Linked to the Cystic Fibrosis Locus in North American Black and Caucasian Families Supports the Existence of Multiple Mutations of the Cystic Fibrosis Gene. *Am. J. Hum. Gen.* 1989; 44: 307.
- Dankert-Roelse, J.E., G.J. Te Meerman, A. Martijn, L.P. Ten Kate y K. Knol. Screening for Cystic Fibrosis: A comparative Study. *Acta. Paediatr. Scand.* 1987; 76: 209.
- Davis, P.B., S. del Rio, J.A. Muntz y L. Dieckman. Sweat Chloride Concentration in Adults with Pulmonary Disease. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1983; 138: 34.
- Dearborn, D.G., R.J. Wityk, L.R. Johnson, L. Poncz y R.C. Stern. Calcium-ATPase Activity in Cystic Fibrosis Eritthrocyte Membranes: Decreased Activity in Patients with Pancreatic Insufficiency. *Pediatr. Res.* 1984; 18: 890.

- Di Sant' Agnese, P.A., R.C. Darling, G.A. Perera y E. Shea. Abnormal Electrolyte Composition of Sweat in Cystic Fibrosis of the Pancreas. *Pediatrics*. 1953; 12: 549.
- Dobzhansky, T. *Genética del Proceso Evolutivo*. 1a Ed. México: Ed. Extemporáneos: 1975: 463.
- Dorin, J.R., M. Novak, R.E. Hill, D.J.H. Brock, D.S. Secher y V. Van Heyningen. A Clue to the Basic Defect in Cystic Fibrosis from Cloning the CF Antigen Gene. *Nature*. 1987; 326: 614.
- Duhamel, J.F., M. Vidailhet, B. Le Luyer, F. Douchain, M. Jehanne, R. Clavel y M. Guillot. Multicentre Comparative Assay of a New Pancreatin Preparation in the Form of Gastro-Resistant Microgranules for the Treatment of the Exocrine Pancreatic Insufficiency in Children with Cystic Fibrosis. *Ann. Pediatr.* 1988; 35: 1.
- Elias, E., T. Wood y M. Redshaw. Diagnostic Importance of Changes in Circulating Concentrations of Immunoactive Trypsin. *Lancet*. 1977; ii: 66.
- Estivill, X., M. Farrall, P.J. Scambler, G.M. Bell, K.M. Hawley, N.J. Lench, G.P. Bates, H.C. Kruyer, P.A. Frederick, P. Stanier, E.K. Watson, R. Williamson y B.J. Wainwright. A Candidate for the Cystic Fibrosis Locus Isolated by Selection for Methylation-Free Islands. *Nature*. 1987a; 326: 840.

- Estivill, X., P.J. Scambler, B.J. Wainwright, K.M. Hawley, P.A. Frederick, M. Schwartz, M. Baiget, J. Kere, R. Williamson y M. Farrall. Patterns of Polymorphism and Linkage Disequilibrium for Cystic Fibrosis. *Genomics*. 1987b; 1: 257.
- Estivill, X. y R. Williamson. Genética Molecular de la Fibrosis Quística. *Investigación y Ciencia*. 1988; 144: 6.
- Fanconi, G., E. Uehlinger y C. Knauer. Das Coeliaksyndrome bei Angeborener Zystischer Pankreasfibromatose und Bronchiectasien. *Wien. Med. Wochenschr.* 1936; 86: 753.
- Farber, S. Some Organic Digestive Disturbances in Early Life. *J. Mich. Med. Soc.* 1945; 44: 587.
- Farrall, M., H.Y. Law y C.H. Rodeck. First-Trimester Prenatal Diagnosis of Cystic Fibrosis with Linked DNA Probes. *Lancet*. 1986; i: 1402.
- Fenerty, J.P. y A.M. Garber. Cost and Benefits of Prenatal Screening for Cystic Fibrosis. *JAMA*. 1989; 261: 786.
- Fisonab. Nebulizador Ultrasónico. México: Fisons de México: 1989: 10.
- Fondacaro, J.D., J.E. Heubi y F.W. Kellogg. Intestinal Bile Acid Malabsorption in Cystic Fibrosis: A Primary Mucosal Cell Defect. *Pediatr. Res.* 1982; 16: 494.

- Forrest, D.C., B. Wilcken y G. Turner. Screening for Cystic Fibrosis by a Stool Trypsin Method. *Arch. Dis. Child.* 1980; 53: 151.
- Forstner, J.F. y G.G. Forstner. Calcium Binding to Intestinal Goblet Cell Mucin. *Biochim. Biophys. Acta.* 1975; 386: 283.
- Fortum-Ceftazidima. Monografía Técnica. México: Glaxo de México: 1989: 73.
- Fost, N. y P.M. Farrell. A Prospective Randomized Trial of Early Diagnosis and Treatment of Cystic Fibrosis: A Unique Ethical Dilemma. *Clinical Research.* 1989; 16: 495.
- Frézal, J., J. Feingold y H. Tuchmann-Duplessis. *Génética. Enfermedades Hereditarias del Metabolismo. Embriopatías.* la Ed. España: Ed. Espaxs: 1974: 54.
- Fujimara, T.M., K. Morgan, R.H. Schwartz, R.A. Doherty, S.R. Miller, K. Kingler, P. Sanislovitis, N. Stuart y P.C. Watkins. Genealogical Analysis of Cystic Fibrosis Families and Chromosome 7q RFLP Haplotypes in the Hutterite Brethren. *Am. J. Hum. Genet.* 1989; 44: 327.
- Gammacord. Manual de Operación. México: Ames Company, Division Miles Laboratories, Inc: 1968: 43.
- Garrod, A.E. Inborn Errors of Metabolism. *Lancet.* 1908; ii: 1, 73, 142 y 214.

- George, D.E., A.B. Miller, P.P. Toskes, N.T. Tucker y R. Pinero. Comparative Effectiveness of Two Pancreatic Enzyme Supplements in Patients with Cystic Fibrosis. Canadá: North American Cystic Fibrosis Conference Abstract from Toronto: 1987.
- Gibson, L.E. y R.E. Cooke. A Test for Concentration of Electrolytes in Sweat in Cystic Fibrosis of the Pancreas Utilizing Pilocarpine by Iontophoresis. *Pediatrics*. 1959; 23: 545.
- Goodfellow, P.N. Steady Steps Lead to the Gene. *Nature*. 1989; 341: 102.
- Guízar-Vázquez, J.J. *Genética Clínica. Diagnóstico y Manejo de las Enfermedades Hereditarias*. 2a Ed. México: El Manual Moderno: 1988: 547.
- Hammond, K., E. Naylor y B. Wilcken. Screening for Cystic Fibrosis. En: *Advances in Neonatal Screenings*. Therrell, Jr. Pennsylvania: Science Publishers, 1987: 377-381.
- Harris, A. y M. Bobrow. Fibrosis Quística: Después del Gen. *J. Medical. Genet.* 1989; 26: 737.
- Higgins, Ch. Protein Joins Transport Family. *Nature*. 1989; 341: 103.
- Hill, H.D., J.A. Reynolds y R.L. Hill. Purification, Composition, Molecular Weight and Subunit Structure of Ovine Submaxillary Mucin. *J. Biol. Chem.* 1977; 252: 3791.

- Hubbard, V.S., G. Barbero y H.P. Chase. Selenium and Cystic Fibrosis. *The Journal of Pediatrics*. 1980; 96: 421.
- Karp, G. *Biología Celular*. 1a Ed. México: McGraw-Hill: 1987: 950.
- Kerem, B., J.M. Rommens, J.A. Buchanan, D. Markiewicz, T.K. Cox, A. Chakravarti, M. Buchwald y L.C. Tsui. Identification of the Cystic Fibrosis Gene: Genetic Analysis. *Science*. 1989; 245: 1073.
- Kirby, L.T., D.A. Applegarth, A.G.F. Davidson, L.T.K. Wong y D.F. Hardwick. Use for a Dried Blood Spot in Immunoreactive-Trypsin Assay for Detection of Cystic Fibrosis in Infants. *Clin. Chem*. 1981; 27: 678.
- Knowles, M., J. Gatzky y R. Boucher. Increased Bioelectric Potential Difference Across Respiratory Epithelia in Cystic Fibrosis. *N. Engl. J. Med*. 1981; 305: 1489.
- Kopelman, H., P. Durie, K. Gaskin, Z. Weizman y G. Forstner. Pancreatic Fluid Secretion and Protein Hyperconcentration in Cystic Fibrosis. *N. Engl. J. Med*. 1985; 312: 329.
- Lezana, J.L. Comité Científico, AMFQ. *Comunicación Personal*. 1989.
- List, S.J., B.P. Findlay, G.G. Forstner y J.F. Forstner. Enhancement of the Viscosity of Mucin by Serum Albumin. *Biochem. J*. 1978; 175: 565.

- Mangos, J.A. y N.R. McSherry. Studies on the Mechanism of Inhibition of Sodium Transport in Cystic Fibrosis of the Pancreas. *Pediatr. Res.* 1968; 2: 378.
- Margolies, R. y T.F. Boat. The Carbohydrate Content of IgG from Patients with Cystic Fibrosis. *Pediatr. Res.* 1983; 17: 931.
- McGourty, C. Cystic Fibrosis Screening Premature?. *Nature.* 1989; 342: 334.
- McKusick, V.A. *Mendelian Inheritance in Man. Catalog of Autosomal Dominant, Autosomal Recessive and X-Linked Phenotypes.* 7a Ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press: 1986: 913.
- McPherson, M.A. Recent Advances in Cystic Fibrosis. *J. Inher. Metab. Dis.* 1988; 11 (supl. 1): 94.
- Meindl, R.S. Hypothesis: A Selective Advantage for Cystic Fibrosis Heterocygotes. *Am. J. Phys. Anthropol.* 1987; 74: 39.
- Mornet, E., B. Simon-Bouy, J.L. Serre, F. Muller, A. Taillandier, M. Martínez, J. Boue y A. Boue. Genetic Heterogeneity Between Two Clinical Forms of Cystic Fibrosis Evidenced by Familial Analysis and Linked DNA Probes. *Clin. Genet.* 1989; 35: 81.
- Neinstein, L.S., D. Stewart, C.I. Wong e I. Johnson. Menstrual Dysfunction in Cystic Fibrosis. *J. Adolesc. Health. Care.* 1983; 4: 153.

- Nussbaum, E., T.F. Boat, R.E. Wood y C.F. Doershuk. Cystic Fibrosis with Acute Hypoelectrolytemia and Metabolic Acidosis in Infancy. *Am. J. Dis. Child.* 1979; 133: 965.
- Palacios-Treviño, J.L. y M. E. Picazo. *Introducción a la Pediatría*. 1a Ed. México: Ed. Oteo: 1983: 897.
- Park, R.W. y R.J. Grand. Gastrointestinal Manifestations of Cystic Fibrosis: A Review. *Gastroenterology*. 1981; 81: 1143.
- Pérez-Fernández, L., C. Flores-Rojas, E. López-Corella, W. Parra-Cardaño y J.L. Fernández-Lezana. Fibrosis Quística en Niños Mexicanos. Análisis de 39 Casos Diagnosticados en Vida. *Acta Pediátrica de México*. 1990; 11: 149.
- Quinton, P.M. y J. Bijman. Higher Bioelectric Potential Due to Decreased Chloride Absorption in the Sweat Glands of Patients with Cystic Fibrosis. *N. Engl. J. Med.* 1983; 308: 1185.
- Quinton, P.M. Chloride Impermeability in Cystic Fibrosis. *Nature*. 1983; 301: 421.
- Quinton, P.M. Missing Cl Conductance in Cystic Fibrosis. *Am. J. Physiol.* 1986; 251: 649.
- Quinton, P.M. Bases Químicas: Regulación de Iones y Canales de Cloro. México: Conferencia Magistral en el III Congreso Latinoamericano de Fibrosis Quística: 1989.

- Riordan, J.R., J.M. Rommens, B. Kerem, N. Alon, R. Rozmahel, Z. Grzelczak, J. Zielenski, S. Lok, N. Plavsic, J.L. Chou, M.L. Drumm, M.C. Iannuzzi, F.S. Collins y L.C. Tsui. Identification of the Cystic Fibrosis Gene: Cloning and Characterization of Complementary DNA. *Science*. 1989; 245: 1066.

- Rivera, C.J. Genética Poblacional de la Fibrosis Quística en México. México: *Sesión de Trabajos Libres en el III Congreso Latinoamericano de Fibrosis Quística*: 1989.

- Robbins, S.L., R.S. Cotron y V. Kumar. *Patología Estructural y Funcional*. 3a Ed. México: Nueva Editorial Interamericana: 1988: 491.

- Rodríguez, R.S. Nueva Guía para el Diagnóstico y Tratamiento Pediátrico. México: Rorer de México: 1985: 1.

- Rommens, J.M., M.C. Iannuzzi, B. Kerem, M.L. Drumm, G. Melmer, M. Dean, R. Rozmahel, J.L. Cole, D. Kennedy, N. Hidaka, M. Zsiga, M. Buchwald, J.R. Riordan, L.P. Tsui y F.S. Collins. Identification of the Cystic Fibrosis Gene: Chromosome Walking and Jumping. *Science*. 1989; 245: 1059.

- Rose, M.C., C.F. Brown, J.Z. Jacoby, W.S. Lynn y B. Kaufman. Biochemical Properties of Thacheobronchial Mucins from Cystic Fibrosis and Non Cystic Fibrosis Individuals. *Pediatr. Res*. 1987; 22: 545.

- Ruíz-Manzano, J., J. Roig-Cutillas y J. Morera-Prat. *Esquemas Clínico-Visuales en Neumología*. 1a Ed. España: Ed. Doyma: 1986: 42, 48 y 60.
- Sato, K. y F. Sato. Defective β -Adrenergic Response of Cystic Fibrosis Sweat Glands *in vivo* and *in vitro*. *J. Clin. Invest.* 1984; 73: 1763.
- Schoni, M.H., F. Schoni-Affolter, D. Jeffery y S. Katz. Intracellular Free Calcium Levels in Mononuclear Cells of Patients with Cystic Fibrosis and Normal Controls. *Cell. Calcium*. 1987; 8: 53.
- Shak, S., D.J. Capon, R. Hellmiss, S.A. Marsters y C.L. Baker. Recombinant Human DNase I Reduces the Viscosity of Cystic Fibrosis Sputum. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1990; 87: 9188.
- Shwachman, H. y A. Mahmoodian. Reappraisal of the Chloride Plate Test as Screening Test for Cystic Fibrosis. *Arch. Dis. Child.* 1981; 56: 137.
- Slomiany, A., H. Witas, M. Aona y B.L. Slomiany. Covalently Linked Fatty Acids in Gastric Mucus Glycoprotein of Cystic Fibrosis Patients. *J. Biol. Chem.* 1983; 258: 8535.
- Slomiany, B.L., V.L.N. Murty, S.R. Carter y A. Slomiany. Effect of Covalently Bound Fatty Acids and Associated Lipids on the Viscosity of Gastric Mucus Glycoprotein in Cystic Fibrosis. *Digestion*. 1986; 34: 275.

- Sobonya, R.E. y L.M. Taussig. Quantitative Aspects of Lung Pathology in Cystic Fibrosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1986; 134: 290.

- Spence, J.E., G.J. Buffone y C.L. Rosenbloom. Prenatal Diagnosis of Cystic Fibrosis Using Linked DNA Markers and Microvillar Intestinal Enzyme Analysis. *Hum. Genet.* 1987; 76: 5.

- Stanbury, J.B., J.B. Wyngaarden y D.S. Fredrickson. Inborn Errors of Metabolism in the 1980's. En: *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. Stanbury, J.B., J.B. Wyngaarden y D.S. Fredrickson. Nueva York: McGraw-Hill, 1983: 3-38.

- Stern, R.C., T.F. Boat, R.E. Wood, L.W. Matthews y C.F. Doershuk. Treatment and Prognosis of Nasal Polyps in Cystic Fibrosis. *Am. J. Dis. Child.* 1982; 136: 1067.

- Stewart, A.D. Screening for Cystic Fibrosis. *Nature.* 1989; 341: 696.

- Sturgess, J. y J. Imrie. Quantitative Evaluations of the Development of Tracheal Submucosal Glands in Infants with Cystic Fibrosis and Control Infants. *Am. J. Pathol.* 1982; 106: 303.

- Super, M. Genetic Counseling and Antenatal Diagnosis of Cystic Fibrosis. *J. R. Soc. Med.* 1987; 80: 13.

- Talamo, R.C. Cystic Fibrosis. En: *The Metabolic Basis of Inherited Disease*. Stanbury, J.B., J.B. Wyngaarden y D.S. Fredrickson. Nueva York: McGraw-Hill, 1983: 1683-1710.

- Tallant, E.A. y R.W. Wallace. Altered Binding of ¹²⁵I-Labeled Calmodulin to a 46/5-Kilodalton Protein in Skin Fibroblasts Cultured from Patients with Cystic Fibrosis. *J. Clin. Invest.* 1987; 79: 643.
- Ten Kate, L.P. Carrier Screening in Cystic Fibrosis. *Nature.* 1989; 342: 131.
- Tomashefski, J.F.J.R., M. Bruce, H.I. Goldberg y D.G. Dearborn. Regional Distribution of Macroscopic Lung Disease in Cystic Fibrosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1986a; 133: 535.
- Tomashefski, J.F.J.R., M.W. Konstan y M. Bruce. The Pathology of Interstitial Pneumonia in Cystic Fibrosis. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1986b; 133: 365.
- Tsui, L.C., M. Buchwald, D. Barker, J.C. Braman, R. Knowlton, J.W. Schumm, H. Eiberg, J. Mohr, D. Kennedy, N. Plavsic, M. Zsiga, D. Markiewicz, G. Akots, V. Brown, C. Helms, T. Gravius, C. Parker, K. Rediker y H. Donis-Keller. Cystic Fibrosis Locus Defined by a Genetically Linked Polimorphic DNA Marker. *Science.* 1985; 230: 1054.
- Tsui, L.C., K. Buetow y M. Buchwald. Genetic Analysis of Cystic Fibrosis Using Linked DNA Markers. *Am. J. Hum. Genet.* 1986; 39: 720.
- Tsui, L.C. Tracing the Mutations in Cystic Fibrosis by Means of Closely Linked DNA Markers. *Am. J. Hum. Gen.* 1989; 44: 303.

- Van Heyningen, V., C. Hayward, J. Fletcher y C. McAuley. Tissue Localization and Chromosomal Assignment of a Serum Protein that Tracks the Cystic Fibrosis Gene. *Nature*. 1985; 315: 513.
- Vaughan, V.C., R.J. McKay y W.E. Nelson. *Text Book of Pediatrics*. 1a Ed. Canadá: W.B. Saunders Company: 1975: 905.
- Velázquez, A. Prevención y Tratamiento de los Errores Innatos del Metabolismo. Venezuela: Conferencia Dictada en las III Jornadas a Nivel Latinoamericano y VI Jornadas de la Asociación Venezolana de Padres y Amigos de Niños Excepcionales: 1981.
- Velázquez, A. y G. Soberón. Impacto de la Biología Molecular en la Medicina. *La Rev. Invest. Clín.* 1986; 38: 441.
- Velázquez, A. La Herencia en la Nutrición: A Propósito de los Errores Innatos del Metabolismo. *Nutrición*. 1987; 10: 17.
- Wainwright, B.J., P.J. Scambler, J. Schmidtke, E.A. Watson, H.Y. Law, M. Farrall, H.J. Cooke, H. Eiberg y R. Williamson. Localization of Cystic Fibrosis Locus to Human Chromosome 7 cen-q22. *Nature*. 1985; 318: 384.
- Watson, J.D., J. Tooze y D.T. Kurtz. *Recombinant DNA. A Short Course*. 1a Ed. Nueva York: Sci. Am. Books: 1983: 260.

- Welsh, M.J. y C.M. Liedtke. Chloride and Potassium Channels in Cystic Fibrosis Airways Epithelia. *Nature*. 1986; 322: 467.
- Welsh, M.J. Electrolyte Transport by Airway Epithelia. *Phys. Rev.* 1987; 67: 1143.
- Welsh, M.J. y R.B. Fick. Cystic Fibrosis. *J. Clin. Invest.* 1987; 80: 1523.
- Wesfy, A., J. Forstner, R. Qureshi, M. Mantle y G. Forstner. Human Intestinal Mucin in Cystic Fibrosis. *Pediatr. Res.* 1983; 17: 65.
- White, R., W. Woodward, M. Leppert, P.O. O'Connell, M. Hoff, F. Herbst, J.M. Lalouel, M. Dean y G. Vande Woude. Closely Linked Genetic Marker for Cystic Fibrosis. *Nature*. 1985; 318: 382.
- Widdicombe, J.H., M.J. Welsh y W.E. Finkbeiner. Cystic Fibrosis Decreases the Apical Membrane Chloride Permeability of Monolayers Cultured from Cells of Tracheal Epithelium. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1985; 82: 6167.
- Wilfond, B.S. y N. Fost. The Cystic Fibrosis Gene: Medical and Social Implications for Heterozygote Detection. *JAMA*. 1990; 263: 2777.
- Yankaskas, J.R., J.T. Gatzky, M.R. Knowles y R.C. Boucher. Persistence of Abnormal Chloride Ion Permeability in Cystic Fibrosis Nasal Epithelial Cells in Heterologous Culture. *Lancet*. 1985; 1: 8435.

- Yi-Yung, H. *Errores Innatos del Metabolismo*. 1a Ed.
México: Ed. Interamericana: 1961: 365.