



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

VARIANTES DEL GEN CFTR EN
PACIENTES CON DIAGNÓSTICO DE
FIBROSIS QUÍSTICA DE LA
FUNDACIÓN FUNDAFIQ CUENCA-
ECUADOR

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE
MAESTRA EN GENÉTICA HUMANA

MONICA SUSANA FLORES GARCIA

LIMA - PERÚ

2020

ASESOR

MSc. Carlos Román Collazo

CO-ASESOR

Dr. Yasser Sullcahuaman Allende

JURADO DE TESIS

DR. JORGE RODRIGUEZ BAILON

PRESIDENTE

MG. ALDO MARUY SAITO

VOCAL

MG. JOSE LUIS ROJAS VILCA

SECRETARIO

DEDICATORIA

A mi hija Sofía Victoria y mi esposo Cristian.

A mis amados padres Luis y Norma

Por ser el pilar de mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por haberme bendecido al permitirme cumplir una meta tan importante en mi vida. Al Dr. Yasser Sullcahuaman por la asesoría y la guía en la culminación de la tesis, gran ser humano y excelente profesional. Al MSc. Carlos Román por la paciencia y apoyo en la realización de la tesis.

Finalmente quiero agradecer a la Fundación Fundafiq, a cada uno de los pacientes y padres, por abrirme las puertas no solo de la institución sino de sus corazones y enseñarme el gran valor de un respiro; siempre llevare conmigo su

frase *“Tú respiras sin pensar, yo solo pienso en respirar”*.

FUENTES DE FINANCIAMIENTO

Tesis Autofinanciada

TABLA DE CONTENIDOS

LISTADO DE FIGURAS	
LISTADO DE GRÁFICOS	
LISTADO DE TABLAS	
ABREVIATURAS	
RESUMEN	
ABSTRACT	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN	3
2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
2.2 MARCO TEÓRICO	4
2.2.1 GEN CFTR	4
2.2.2 PROTEÍNA CFTR	5
2.2.3 MUTACIONES DEL GEN CFTR	7
2.2.4 HERENCIA MENDELIANA DE LA FIBROSIS QUÍSTICA	11
2.2.5 ÁRBOL GENEALÓGICO	13
2.2.6 MANIFESTACIONES CLÍNICAS	15
2.2.6.1 PATOLOGÍA RESPIRATORIA	15
2.2.6.2 PATOLOGÍA DIGESTIVA	16
2.2.6.3 MANIFESTACIONES HEPÁTICAS Y BILIARES	19
2.2.6.4 AUSENCIA BILATERAL DE CONDUCTOS DEFERENTES	21
2.2.7 DIAGNÓSTICO	24
2.2.7.1 TEST DE SUDOR	24
2.2.7.2 CRIBADO NEONATAL	25
2.2.7.3 DIAGNÓSTICO MOLECULAR	27
2.2.8 INCIDENCIA Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA	29
2.3 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	32
2.4 OBJETIVO	34
2.4.1 OBJETIVO GENERAL	34
2.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	34
III. METODOLOGÍA	35
3.1 DISEÑO DEL ESTUDIO	35

3.2	POBLACIÓN Y MUESTRA	35
3.3	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	35
3.4	PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS	36
3.5	CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	37
3.6	PLAN DE ANÁLISIS	37
IV.	RESULTADOS.....	38
V.	DISCUSIÓN.....	44
VI.	CONCLUSIONES	49
VII.	RECOMENDACIONES.....	50
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	51
	IX.1 Anexo 1	
	IX.2 Anexo 2	

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1. Gen CFTR.....	4
Figura 2. Estructura proteína CFTR.....	7
Figura 3. Clases de mutaciones del gen CFTR.	11
Figura 4. Símbolos, definiciones y abreviaturas comunes de pedigrí.....	14
Figura 5. Diagrama de diagnóstico de Fibrosis Quística para recién nacidos.	27

LISTADO DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Distribución de pacientes por sexo.	38
Gráfico 2. Resultado del análisis del árbol genealógico para Antecedente familiar.....	42
Gráfico 3. Resultado del análisis del árbol genealógico para Consanguinidad.	43
Gráfico 4. Árbol genealógico del paciente 1.	1
Gráfico 5. Árbol genealógico del paciente 2.	1
Gráfico 6. Árbol genealógico del paciente 3.	1
Gráfico 7. Árbol genealógico del paciente 4.	2
Gráfico 8. Árbol genealógico del paciente 5.	2
Gráfico 9. Árbol genealógico del paciente 6.	2
Gráfico 10. Árbol genealógico del paciente 7.....	3
Gráfico 11. Árbol genealógico del paciente 8.....	3
Gráfico 12. Árbol genealógico del paciente 9.....	3

LISTADO DE TABLAS

Tabla 1. Criterios de Sospecha Clínica y Derivación Diagnóstica para los Pacientes con Fibrosis Quística.....	23
Tabla 2. Variantes patogénicas del gen CFTR identificadas en pacientes con Fibrosis Quística en Cuenca.....	38
Tabla 3. Frecuencia de variantes patogénicas del gen CFTR identificadas en pacientes con Fibrosis Quística en Cuenca.....	39
Tabla 4. Genotipo e historia clínica de los 9 pacientes con diagnóstico de Fibrosis Quística.	40
Tabla 5. Variantes patogénicas poco frecuentes de pacientes con diagnóstico de Fibrosis Quística.....	41
Tabla 6. Variante patogénica nueva de pacientes con diagnóstico de Fibrosis Quística.	42

ABREVIATURAS

ACBVD	Ausencia Congénita Bilateral de Conductos Deferentes
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
AMPc	Adenosin Monofosfato Cíclico
ATP	Adenosin Trifosfato
CFTR	Regulador de la Conductancia Transmembrana de la Fibrosis Quística
ENaC	Canales epiteliales de sodio
FQ	Fibrosis Quística
IP	Insuficiencia Pancreática
MP	Peritonitis meconial
MSD	Dominio Transmembrana
NBD	Dominio de Unión a Nucleótido
PKA	Proteína quinasa A
PKC	Proteína quinasa C
RD	Dominio Regulador
SOID	Síndrome de obstrucción intestinal distal
TIR	Tripsinógeno inmunorreactivo

RESUMEN

La Fibrosis Quística es una enfermedad autosómica recesiva causada por variantes de pérdida de función en el gen CFTR. Conocer la genética de la enfermedad se dificulta, debido a que en la actualidad se han descrito más de 2000 variantes genéticas diferentes, que causan fenotipos variables con gran heterogeneidad clínica, cuya incidencia varía en la población según sus orígenes geográficos y étnicos. El objetivo del presente estudio fue identificar las variantes del gen CFTR en los pacientes con Fibrosis Quística de la Fundación Fundafiq en la ciudad de Cuenca. Se realizó un estudio observacional de tipo descriptivo y transversal en base a la revisión de los registros clínicos de Fundafiq y el Hospital Vicente Corral Moscoso. Se identificó un grupo de 9 pacientes con análisis molecular, encontrando las siguientes variantes, cuyas frecuencias fueron F508del 4, N1303K 4, H609R 3, G85E 2, c.2672del 2, W496R 2 y L15P 1. En el análisis del árbol genealógico se encontró consanguinidad en 4 pacientes y antecedente familiar en seis pacientes. En conclusión, en los resultados de este estudio muestran que las variantes identificadas con mayor frecuencia fueron la F508del, N1303K y H609R. Se identificó una variante nueva la W496R no reportada en otras poblaciones, la cual es relevante en el conocimiento del espectro de variantes en la población de Ecuador.

Palabras clave: Fibrosis Quística, Variante patogénica, Alelo.

ABSTRACT

Cystic Fibrosis is an autosomal recessive disease caused by loss of function variants in the CFTR gene. Knowing the genetics of the disease is difficult, because at present more than 2000 different genetic variants have been described, which cause variable phenotypes with great clinical heterogeneity, whose incidence varies in the population according to their geographical and ethnic origins. The aim of this study was to identify the variants of CFTR gene in patients with Cystic Fibrosis from Fundafiq Foundation in Cuenca city. A descriptive and transversal observational study was carried out based on the review of Fundafiq and Vicente Corral Moscoso Hospital clinical records. It was identified a group of 9 patients with molecular analysis, finding the following variants, whose frequencies were F508del 4, N1303K 4, H609R 3, G85E 2, c.2672del 2, W496R 2 and L15P 1. In the analysis of the family tree it was found consanguinity in 4 patients and family history in six patients. In conclusion, the results of this study show that the most frequently identified variants were F508del, N1303K and H609R. It was identified a new variant the W496R not reported in other populations, which is relevant in the knowledge of the spectrum of variants in the population of Ecuador

Keywords: Cystic Fibrosis, Pathogenic Variant, Allele

I. INTRODUCCIÓN

La Fibrosis Quística es una alteración genética con herencia autosómica recesiva, causada por variantes patogénicas en el gen CFTR (Regulador de la Conductancia Transmembrana de la Fibrosis Quística). Codifica una proteína de 1480 aminoácidos, que funciona como un canal de cloruro dependiente de adenosin monofosfato cíclico (AMPc) (1). En donde la proteína defectuosa produce la aparición de un amplio fenotipo clínico con un compromiso multisistémico, siendo la enfermedad pulmonar obstructiva la causa primordial de muerte en los pacientes con Fibrosis Quística. Sin embargo, también afecta otros sistemas de órganos causando obstrucción, inflamación, daño tisular y destrucción. Estas alteraciones conducen a la muerte en los diez primeros años de vida de los enfermos sin un diagnóstico y tratamiento oportuno (2).

Hasta la actualidad se han descrito más de 2000 variantes del gen CFTR y al menos 360 variantes patogénicas causan FQ, siendo la delección de la fenilalanina 508 (p.Phe508del), la mutación más común que afecta al 85% de pacientes con la enfermedad (3). La mayoría de las otras mutaciones son raras y específicas de una población y grupo étnico. En la actualidad la identificación de variantes del gen CFTR se basa en el diagnóstico para variantes comunes, estos resultados cambian según las variantes incluidas y la heterogeneidad alélica de cada población. Siendo una necesidad el diagnóstico molecular completo del gen CFTR, que permita la identificación de las variantes no incluidas en los paneles comunes.

En Ecuador las variantes del gen CFTR que causan Fibrosis Quística son heterogéneas, donde se han descrito diferencias en la prevalencia de variantes entre la población ecuatoriana con otros países de Latinoamérica y a nivel mundial. El presente estudio busca identificar las variantes del gen CFTR en los pacientes diagnosticados con FQ de la Fundación Fundafiq, importantes para el conocimiento del espectro y las frecuencias de las variantes de la FQ en Ecuador, el cual es fundamental para un diagnóstico molecular adecuado. Los resultados logrados en esta investigación pueden ser el inicio de estudios de análisis moleculares más amplios, que permitan conocer las variantes del gen regulador de la conductancia transmembrana (CFTR), en la mayoría de pacientes de la población ecuatoriana.

II. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La Fibrosis Quística es una alteración genética de herencia autosómico recesivo, causada por variantes en el gen CFTR (Regulador de la Conductancia Transmembrana de la Fibrosis Quística). Es una enfermedad multisistémica que produce la formación de un moco viscoso que obstruye principalmente las vías respiratorias y los conductos del páncreas. El promedio de sobrevida en Ecuador en donde no existe implementado un diagnóstico temprano y programas de manejo de la enfermedad, es de 9.5 años y además se desconoce la incidencia real de la enfermedad.

En el presente trabajo se planteó identificar las variantes del gen CFTR en pacientes diagnosticados con Fibrosis quística de la fundación Fundafiq en la ciudad de Cuenca, en donde es escasa la información existente de la enfermedad, enfocándose principalmente en conocer las frecuencias de las variantes en la población y de esta forma establecer un análisis molecular adecuado que influya en el diagnóstico, tratamiento y pronóstico de la enfermedad, que contribuya en mejorar la calidad de vida de los pacientes.

Al ser la Fibrosis Quística un trastorno con patrón de herencia autosómico recesivo es interesante también el estudio de análisis de árbol genealógico fundamentales para identificar consanguinidad y antecedente familiar de la enfermedad enfocada en el asesoramiento genético.

2.2 MARCO TEÓRICO

2.2.1 GEN CFTR

El gen CFTR se ubica en el brazo largo del cromosoma 7, en la posición 7q31.2 y fue identificado mediante técnicas de ligamiento en el año 1989 por Riordan et al. Tiene aproximadamente 180.000 pares de bases de longitud (4). Está compuesto por 27 exones, que abarcan aproximadamente 190 kb de ADN genómico que se transcribe en un RNAm de 6,2 kb. Codifica para una proteína de 1480 aminoácidos denominada regulador de la conductancia transmembrana de la Fibrosis quística, CFTR por sus siglas en inglés (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) (5).

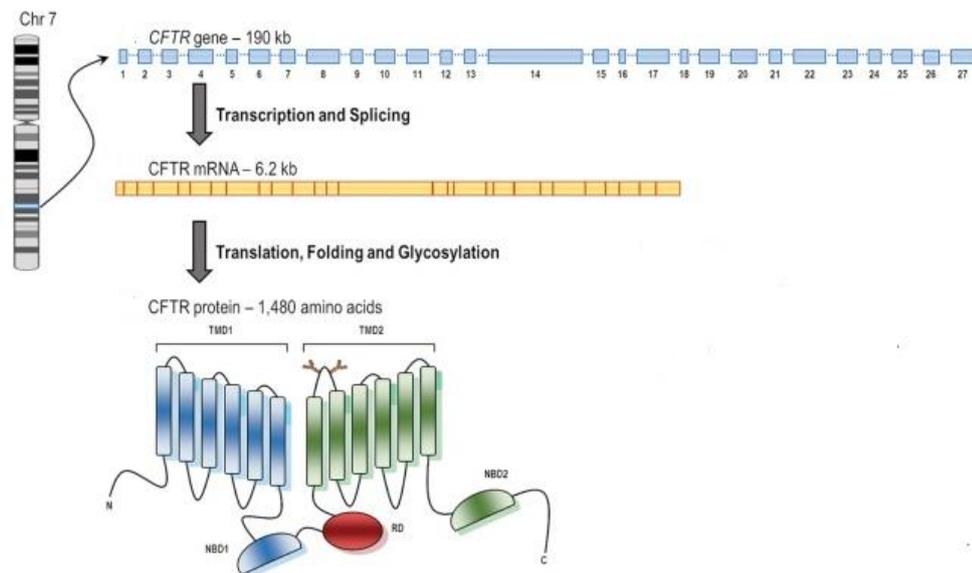


Figura 1. Gen CFTR. Ubicación en el brazo largo del cromosoma 7; contiene 27 exones; 190 kb de ADN genómico humano. El ARNm tiene una longitud de 6,2 kb, incluidas las regiones no traducidas. La proteína forma un canal de cloruro/bicarbonato compuesto por cinco dominios: dos dominios transmembrana TMD1 y TMD2, dos dominios de unión a nucleótidos NBD1 y NBD2 y un dominio regulador RD.

Fuente: Lopes. 2019. (5)

El gen CFTR es un miembro de la súper familia de genes de casete de unión a ATP (ATP-binding cassette) denominado ABC, un codifica un canal de aniones activado por fosforilación y Trifosfato de adenosina (ATP) (6), que conduce cloruro, bicarbonato y otros sustratos, regulando así la composición y el volumen de las secreciones epiteliales de las vías respiratorias, tracto gastrointestinal, conducto biliar, conductos sudoríparos, páncreas y órganos reproductivos. Se han descrito más de 2000 variantes del gen CFTR, de las cuales al menos 360 variantes patogénicas causan Fibrosis Quística (7).

2.2.2 PROTEÍNA CFTR

Es una glicoproteína transmembrana de 1480 aminoácidos que funciona como un canal selectivo de ion cloruro en la membrana plasmática de las células epiteliales, regulada por adenosín monofosfato cíclico (AMPC) (8). Su función normal inicia en el núcleo celular con la transcripción de un ARNm con modificaciones postranslacionales en su paso por el retículo endoplasmático con un correcto acoplamiento, glicosilación y tránsito a través del aparato de Golgi hasta la membrana celular, donde se ancla y cumple su función de un canal regulador de cloro (9).

La proteína CFTR está constituida por cinco dominios diferentes; dos dominios transmembrana (TMD1 y TMD2), dos dominios de unión a nucleótidos (NBD1 y NBD2) y un dominio regulador (R). Los dominios transmembrana (TMD) están formados cada uno por seis hélices alfa que atraviesan por completo la bicapa de fosfolípidos y forman un poro de

conducción de aniones. En su estructura los segmentos de transmembrana (TM) están unidos por bucles extracelulares e intracelulares en cada dominio transmembrana (TMD) los cuales cumplen funciones importantes en la biogénesis del CFTR y en el plegamiento postraduccional para lograr la estabilidad conformacional (4).

Los dominios de unión a nucleótidos NBD1 y NBD2 están expuestos al citosol y presentan una secuencia altamente conservada para la unión e hidrólisis de ATP (10). Y el dominio regulador R que también está expuesto al citosol, tiene secuencias consenso que contienen serinas y treoninas para la fosforilación por la proteína quinasa A (PKA) y la proteína quinasa C (PKC) dependientes de adenosín trifosfato (ATP) y adenosín monofosfato cíclico (cAMP) que inducen alteraciones en la conformación de la proteína CFTR y permite la conductancia de aniones a través del canal (11). Así el dominio R adapta su conformación necesaria para una proteína completamente funcional, en donde un dominio R no fosforilado evita la dimerización de NBD1 y NBD2, lo que da como resultado un canal cerrado. Existe una pequeña hélice inhibidora en el dominio R que está acoplado dentro del vestíbulo intracelular entre los dominios de unión de nucleótidos, lo que impide la apertura del canal cuyas funciones están mediadas por la proteína quinasa A (PKA), dando como resultado la dimerización de NBD y la posterior apertura del canal iónico (4,12,13).

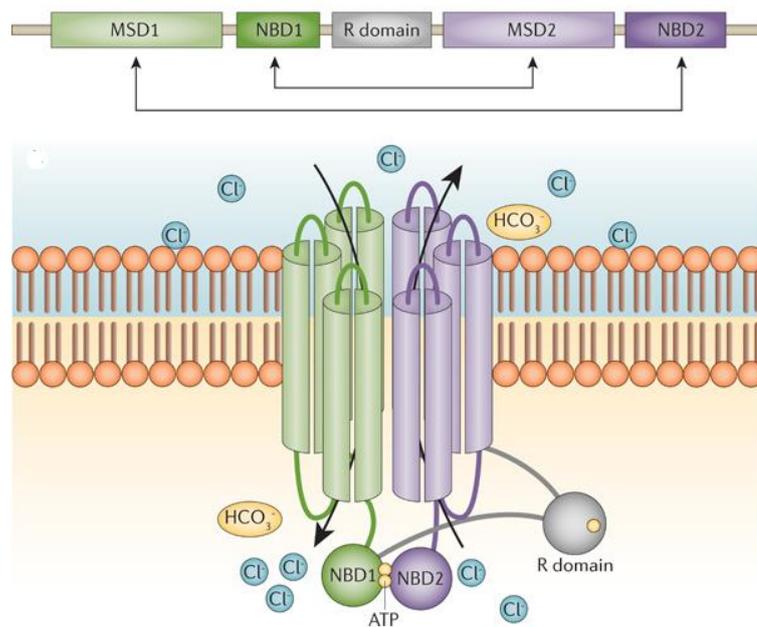


Figura 2. Estructura proteína CFTR. La proteína reguladora de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR), es una glicoproteína politópica de 1.480 aminoácidos de la familia de transportadores ABC (ABCC7). Contiene dos TMD (TMD1 y TMD2) que forman el poro del canal, dos NBD citosólicos (NBD1 y NBD2) que impulsan la compuerta del canal y un dominio regulador (RD) intrínsecamente no estructurado que controla la actividad del canal a través de la fosforilación mediada por PKA.

Fuente: Ratjen et al. 2015. (6)

2.2.3 MUTACIONES DEL GEN CFTR

El gen CFTR que causa la Fibrosis quística fue aislado por clonación posicional y caracterizado en 1989 y hasta la actualidad se han descrito más de 2000 variantes del gen CFTR (<http://genet.sickkids.on.ca/cftr/app>), de las cuales 360 de estas variantes se ha confirmado causan Fibrosis quística (<https://cftr2.org/>) y su frecuencia se presenta con considerables variaciones según sus orígenes geográficos y étnicos (6). La variante de delección de una fenilalanina en la posición 508 (F508del) es la variante más prevalente que

causa Fibrosis Quística y que afecta aproximadamente al 90% de los alelos a nivel mundial. Sin embargo, la mayoría de las variantes demuestran cierta frecuencia en regiones específicas y aproximadamente 20 mutaciones alcanzan una frecuencia mayor al 0,1% considerando toda la población con Fibrosis quística (14,15).

Las variantes del gen *CFTR* se clasifican en seis clases según el defecto molecular que puede afectar la producción, el procesamiento, la función o la estabilidad del canal de aniones *CFTR* (6,16).

Clase I: variantes que causan un ARNm inestable y poca o ninguna proteína *CFTR*, ocasionadas por cambios de marco de inserción o deleción, empalme anormal o codones de parada prematuros. Así los ejemplos de variantes de Clase I incluyen R553X y G542X, consideradas como un fenotipo grave de la enfermedad, siendo la G542X la segunda mutación *CFTR* más común (14).

Clase II: variantes que causan el procesamiento defectuoso de la proteína, las cuales no pueden recorrer la vía de proteostasis *CFTR* y pocas veces llegan a la membrana celular. Así la variante F508del causada por la deleción de tres pares de bases en el exón 11 que ocasiona la eliminación de una fenilalanina en el residuo 508 (F508del) se encuentra aproximadamente en el 90% de los pacientes con Fibrosis quística quienes tienen uno o dos alelos

F508del. En esta clase de variantes también se incluye N1303K, G85E y E92K, consideradas también como un fenotipo grave de la enfermedad (17,18).

Clase III: variantes que alteran la regulación de canal defectuoso, las cuales pueden causar una actividad reducida del canal debido a que afecta los dominios de unión a nucleótidos (NBD) o los sitios de fosforilación del dominio regulador (R) de CFTR. Así la mutación G551D, ubicada en ABP2, evita la unión de ATP, inhibiendo así la apertura del canal CFTR. Lo cual es debido a que con la dimerización de los NBD de CFTR que forma dos bolsas de unión a ATP, denominadas ABP1 y ABP2. Así la unión de ATP a ABP1 ayuda a estabilizar la conformación de canal abierto de CFTR y la unión de ATP de ABP2 depende la apertura del canal (19).

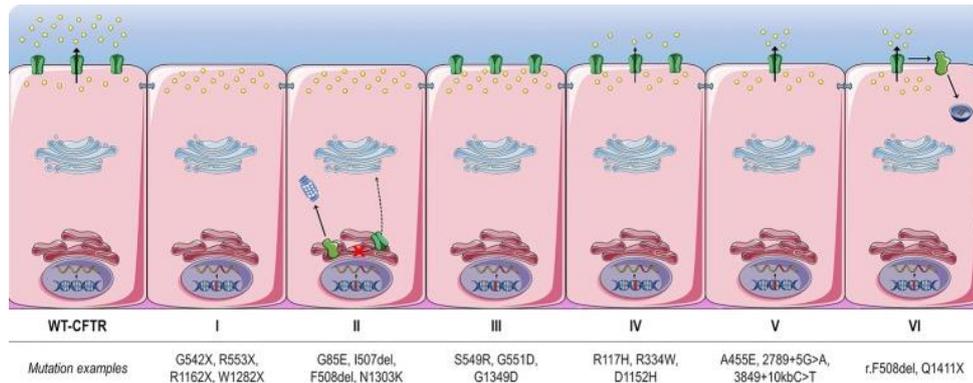
Clase IV: variantes que causan la conductancia defectuosa o activación de canales, así las proteínas de esta clase alcanzan un procesamiento y una compuerta adecuados, pero las mutaciones en sus dominios que atraviesan la membrana provocan una proteína deformada que restringe el transporte de aniones dando como resultado una disminución en el flujo de iones a través de cada canal abierto y una disminución general de la corriente conducida por CFTR. Así las variantes que afectan la actividad de los poros del canal son R117H, R347P, R334W (20,21).

Clase V: variantes que causan la reducción de la síntesis de proteínas a causa de la producción de versiones empalmadas incorrectamente del ARNm

de CFTR en proporciones variables y las proteínas resultantes pocas veces circulan a la membrana celular, lo que resulta en una disminución del número de canales CFTR funcional. Así los ejemplos de variantes de clase V más prevalentes incluyen c.3717 + 12191C> T y c.3140-26A> G (22).

Clase VI: variantes que causan proteína inestable, las cuales en la superficie celular pueden actuar como proteínas funcionales, sin embargo, la inestabilidad en la estructura de la proteína produce una menor residencia en la superficie celular, un recambio de proteínas más rápido causando una menor conductancia iónica. Así un ejemplo de esta clase de variantes incluye c.120del123, Q1412X (23).

Las variantes de la clase I, II y III se asocian a una expresión clásica y grave de la enfermedad, con insuficiencia pancreática, enfermedad pulmonar crónica e infertilidad en los varones; pero puede existir una gran variabilidad de manifestaciones clínicas en pacientes con el mismo genotipo. Las variantes de clase IV, V y VI se relacionan con fenotipos leves o incluso atípicos de la enfermedad que conduce a un diagnóstico tardío. La gran heterogeneidad molecular del gen CFTR ha determinado una amplia variabilidad clínica de la enfermedad, cuya gravedad incluso se asocia con los factores ambientales, sociales y económicos (24–26).



*Figura 3. Clases de mutaciones del gen CFTR.
Fuente: Lopes. 2019 (15)*

2.2.4 HERENCIA MENDELIANA DE LA FIBROSIS QUÍSTICA

La Fibrosis Quística es un trastorno de herencia mendeliana autosómico recesivo (Online Mendelian Inheritance in Man - 219700), que se manifiesta cuando el alelo mutado están en homocigosis, así el individuo afectado por la FQ hereda el alelo mutado de sus dos progenitores quienes serán heterocigotos para el alelo mutado y no expresan las características fenotípicas de la enfermedad, estos individuos son denominados portadores sanos (27,28).

En base al patrón de herencia de la Fibrosis Quística se puede establecer con el uso del diagrama del cuadro de Punnet, la probabilidad de individuos afectados en la descendencia de los pacientes con la enfermedad; así en una pareja de portadores del alelo mutado existe la probabilidad en cada embarazo de tener $\frac{1}{4}$ hijos con la enfermedad en la cual está presente las dos copias de alelo mutado, siendo el riesgo de recurrencia del 25%, es decir 1 de 4

de probabilidad de que se manifieste nuevamente la enfermedad en un hijo. La probabilidad de tener hijos portadores es de $\frac{1}{2}$, es decir es riesgo de recurrencia será del 50% de portadores de una copia del alelo mutado y no presentaran la enfermedad, y la probabilidad de tener hijos sanos es de $\frac{1}{4}$ con riesgo de recurrencia del 25% para hijos sanos. En los hijos de una pareja conformada por una persona portadora del gen y una persona con Fibrosis quística la probabilidad de que se manifieste la enfermedad es de $\frac{1}{2}$ es decir un riesgo de recurrencia es del 50% de tener hijos con la enfermedad y la probabilidad de que sean portadores del gen mutado es de $\frac{1}{2}$ es decir el riesgo de recurrencia es del 50%; así al ser la FQ autosómica recesiva existe la misma probabilidad tanto en hombres y mujeres de presentar la enfermedad, y no se manifiesta en todas las generaciones de una familia afectada (29).

En las enfermedades autosómicas recesivas es importante conocer el antecedente familiar y verificar la presencia de consanguinidad que representa la relación por descendencia de un ancestro común; siendo un aspecto importante en el incremento del riesgo de homocigosis para genes autosómicos recesivos responsables en este caso de la enfermedad de fibrosis quística. En la actualidad existen más de dos billones de personas en todo el mundo con un matrimonio o unión consanguínea (<http://consang.net>), siendo el coeficiente de endogamia (F) el indicativo de probabilidad de que sean idénticos dos alelos de un gen en un locus específico y se hereden de un ancestro común (30,31).

2.2.5 ÁRBOL GENEALÓGICO

El árbol genealógico o pedigrí es una representación gráfica de una historia familiar, con la documentación de antecedentes familiares y clínicos de un paciente. Es una herramienta fundamental en la práctica de la genética médica para el asesoramiento genético y la investigación genética (32); además permite identificar personas en riesgo, existencia de consanguinidad, patrones hereditarios de enfermedades en la familia. Se realiza usando un sistema de símbolos de la nomenclatura de pedigrí humano, el cual fue estandarizado en 1995 por el Grupo de Trabajo de Normalización de Pedigrí (PSTF) de la Sociedad Nacional de Consejeros Genéticos (NSGC), quienes propusieron un sistema de nomenclatura de pedigrí con su actualización en el año 2008 (33).

En el desarrollo del árbol genealógico se debe preservar la confidencialidad del paciente y la familia. Cada símbolo estandarizado permite documentar información importante de cada individuo según sus antecedentes familiares. Se inicia con la identificación del caso probando o índice, el cual es indicado con una flecha y es quien describe el historial médico y familiar que integre como mínimo tres generaciones, las cuales están designadas por números secuenciales romanos desde arriba hacia abajo y cada individuo recibe la designación en números arábigos de izquierda a derecha facilitando su identificación.

La consanguinidad se representa con dos líneas horizontales entre la pareja, indicando que ancestro común comparten; siendo importante identificar

el grado de consanguinidad en la pareja que permita orientar sobre la información del riesgo de recurrencia que existe para la descendencia. Se utiliza el símbolo de diamante para indicar personas con un género no especificado y se puede usar en personas con trastornos congénitos del desarrollo sexual (DSD) y en personas transgénero. Así mismo se utiliza el símbolo de triángulo para un embarazo que no ha llegado a término. Una línea discontinua de descenso para identificar una relación parental no biológica la cual es importante para los casos de donantes de gametos parentales y la relación portadora gestacional a un embarazo. La utilidad del árbol genealógico o pedigrí se centra en la capacidad para representar información compleja de manera simple y gráfica (34,35).

Instructions:				
— Key should contain all information relevant to interpretation of pedigree (e.g., define fill/shading)				
— For clinical (non-published) pedigrees include:				
a) name of proband/consultand				
b) family names/initials of relatives for identification, as appropriate				
c) name and title of person recording pedigree				
d) historian (person relaying family history information)				
e) date of intake/update				
f) reason for taking pedigree (e.g., abnormal ultrasound, familial cancer, developmental delay, etc.)				
g) ancestry of both sides of family				
— Recommended order of information placed below symbol (or to lower right)				
a) age; can note year of birth (e.g., b.1978) and/or death (e.g., d. 2007)				
b) evaluation (see Figure 4)				
c) pedigree number (e.g., I-1, I-2, I-3)				
— Limit identifying information to maintain confidentiality and privacy				
	Male	Female	Gender not specified	Comments
1. Individual				Assign gender by phenotype (see text for disorders of sex development, etc.). Do not write age in symbol.
2. Affected individual				Key/legend used to define shading or other fill (e.g., hatched, dots, etc.). Use only when individual is clinically affected.
				With ≥2 conditions, the individual's symbol can be partitioned accordingly, each segment shaded with a different fill and defined in legend.
3. Multiple individuals, number known				Number of siblings written inside symbol. (Affected individuals should not be grouped).
4. Multiple individuals, number unknown or unstated				"n" used in place of "?".
5. Deceased individual				Indicate cause of death if known. Do not use a cross (#) to indicate death to avoid confusion with evaluation positive (+).
6. Consultand				Individual(s) seeking genetic counseling/testing.
7. Proband				An affected family member coming to medical attention independent of other family members.
8. Stillbirth (SB)				Include gestational age and karyotype, if known.
9. Pregnancy (P)				Gestational age and karyotype below symbol. Light shading can be used for affected; define in key/legend.
Pregnancies not carried to term				
10. Spontaneous abortion (SAB)				If gestational age/gender known, write below symbol. Key/legend used to define shading.
11. Termination of pregnancy (TOP)				Other abbreviations (e.g., TAB, VTOP) not used for sake of consistency.
12. Ectopic pregnancy (ECT)				Write ECT below symbol.

Figura 4. Símbolos, definiciones y abreviaturas comunes de pedigrí.
Fuente: Bennet et al. 2008 (34).

2.2.6 MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La Fibrosis Quística altera la función de los tejidos epiteliales en los que el gen CFTR está altamente expresado, principalmente en el epitelio glandular. Los pacientes con la enfermedad presentan una expresión fenotípica variable de manifestaciones clínicas complejas, manifestándose principalmente en los pulmones, páncreas, tracto gastrointestinal, glándulas sudoríparas y conductos deferentes, los cuales están basados en las diferentes clases de mutaciones presentes en el gen CFTR (36,37).

2.2.6.1 PATOLOGÍA RESPIRATORIA

La manifestación más prevalente de la Fibrosis Quística es la enfermedad pulmonar obstructiva crónica en el 95% de los casos, debido a que la proteína CFTR con pérdida o ausencia de función conduce a una disminución de secreción de cloruro y bicarbonato, lo que conduce a una menor hidratación de la superficie de las vías respiratorias, lo que dificulta el aclaramiento mucociliar (38). La reducción de la función de la proteína CFTR también interviene en la absorción de agua y sodio dependiente de ENaC (canales epiteliales de sodio), que conlleva a la pérdida de líquido en la superficie de las vías respiratorias. Además, la capa periciliar se colapsa causando la pérdida de función en el transporte mucociliar debido a que esta capa de gel de mucina entre la superficie celular y la capa de moco es sensible a las fuerzas osmolares del moco suprayacente; que en ausencia de un transporte adecuado de líquidos

las mucinas superpuestas se concentran (39,40). La dificultad del aclaramiento y la continua producción de moco por las células del epitelio respiratorio causan una inflamación crónica y colonización recurrente por patógenos oportunistas de *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae* y *Burkholderia cepacia*, causando lesión pulmonar irreversible, bronquiectasias, insuficiencia respiratoria y muerte prematura. La prevalencia de cada una de estas bacterias patógenas varía en las poblaciones de los pacientes con FQ (41). La infección por *Pseudomona aeruginosa* está asociada con un aumento de la mortalidad en los pacientes, debido a que sobrevive y se desarrolla dentro de biopelículas de baja tensión de oxígeno en el interior de la capa de moco. Iniciando la producción de alginato que forma un microambiente que favorece el desarrollo de micro colonias, que altera la virulencia y los mecanismos de resistencia a los antimicrobianos. Ocasionando colonización bronquial crónica con exacerbaciones frecuentes, aumento de la inflamación y el rápido deterioro de la función pulmonar (42,43).

2.2.6.2 PATOLOGÍA DIGESTIVA

Páncreas

La insuficiencia pancreática (IP) afecta alrededor del 85% de los pacientes con Fibrosis Quística y se presenta en gran porcentaje de los casos desde el nacimiento. Es una de las manifestaciones clínicas que potencia la

gravedad de la enfermedad a causa de la malnutrición; además de ser la primordial causa del retraso en el crecimiento de los pacientes con FQ (44,45).

La secreción pancreática tiene un contenido alto de bicarbonato (HCO_3), estimulado por la hormona gastrointestinal secretina. Que origina el incremento de secreción de bicarbonato (HCO_3) por las células ductales que son las específicas del páncreas y células centroacinares. Al activar la adenilciclase y elevar el AMPc, el cual incrementa la secreción de bicarbonato y está regulado por la proteína CFTR con la activación de un canal de cloro en la membrana luminal. El cual además está adaptado a un intercambiador de $\text{Cl}^- / \text{HCO}_3$ en donde se origina la sustitución de cloro por bicarbonato dando como resultado el incremento del mismo en la luz ductal. La hormona gastrointestinal secretina, también incita al cotransportador de $\text{Na}^+ - \text{HCO}_3$ en la membrana basolateral, cuyos efectos también ayudan la secreción de bicarbonato (HCO_3) con dirección a la luz ductal. Su función primordial es neutralizar el pH ácido originado por las secreciones gástricas y posibilitar una función óptima de las enzimas pancreáticas (46,47).

El gen CFTR se expresa en la mayoría de los epitelios digestivos y su disfunción está relacionado con una secreción deficiente de bicarbonato pancreático con una función inadecuada en los ductos intralobulares y una reducción del pH duodenal, afectando la función adecuada de las enzimas digestivas del páncreas exocrino como la amilasa, proteasa, lipasa, colipasa y fosfolipasas (48). La deficiencia de amilasa pancreática origina una mala

digestión del almidón, causando un aumento de la fermentación bacteriana del colon. La disminución de secreción de bicarbonato pancreático también está asociada a la mala absorción de los lípidos al reducir su solubilización. La insuficiencia pancreática causa también malabsorción de las grasas, proteínas y azúcares (49).

El cuadro clínico de IP se manifiesta con dolor en el abdomen, esteatorrea y reducción en la absorción de las vitaminas liposolubles E, A, D, K y ácidos grasos esenciales (50). Se manifiesta también el trastorno de transferencia iónica transepitelial, hiperplasia de las glándulas mucosas y anomalías cualitativas de mucinas, causando una mucosa intestinal gruesa y deshidratada que funciona barrera lo cual restringe la difusión y absorción de nutrientes por las células epiteliales del intestino (51).

Íleo meconial

El IM es causado por la obstrucción del íleo terminal con meconio espeso que contiene grandes cantidades de proteínas. Afecta aproximadamente al 20% de los niños con Fibrosis quística y con IP (52). El IM suele ser la manifestación inicial de la Fibrosis quística en el periodo prenatal y es complejo cuando está asociado con perforación ileal, atresia y necrosis; lo cual causa una peritonitis meconial (MP) (53).

Síndrome de obstrucción intestinal distal (SOID)

SOID se puede desarrollar aproximadamente en el 10% de los enfermos con FQ y está causado por la obstrucción parcial o completa del intestino delgado, el cual inicia en la región ileocecal (54). Su cuadro clínico puede manifestarse con dolor en el abdomen, abdomen distendido, disminución del peso corporal y flatulencia. Existiendo también materia fecal evidente y obstrucción intestinal parcial o completa por la impactación fecal en íleo terminal (55). Además, presenta cambios inconstantes del tránsito intestinal debido a que la obstrucción puede ser parcial. El cuadro clínico con obstrucción completa se manifiesta con dolor en la fosa ilíaca derecha, distensión abdominal y peristaltismo (56).

2.2.6.3 MANIFESTACIONES HEPÁTICAS Y BILIARES

La afección hepática en la Fibrosis Quística está asociada a la tercera de las principales causas de morbilidad y mortalidad de los enfermos con FQ. Es causada por una expresión defectuosa del gen CFTR en la superficie apical del epitelio biliar, el cual aumenta la secreción de cloruro biliar apical incrementando el flujo de bilis independiente de los ácidos biliares. Su función anormal o la ausencia de CFTR disminuyen la fluidez y alcalinidad de la bilis, causando acumulación y precipitación de secreciones biliares hiperviscosas en

el árbol intrahepático (57). La afección hepática en la Fibrosis Quística se presenta de forma variada, desde elevaciones asintomáticas de las aminotransferasas hasta cirrosis terminal e hipertensión portal. Siendo la esteatosis hepática la afección más frecuente que se manifiesta aproximadamente en el 75% de los pacientes con la enfermedad, la cual puede progresar a una cirrosis biliar focal que es un síntoma específico de la FQ. Sin embargo la cirrosis biliar multilobulillar es la manifestación avanzada de la afección hepática y afecta del 2% al 5% de los pacientes (58,59) .

Algunos estudios describen que las anomalías de la vesícula biliar afectan alrededor del 50% de los enfermos con FQ, con el desarrollo de distensión de la vesícula biliar en el 20% de los pacientes con la enfermedad y en el 25% de los pacientes pediátricos se desarrolla cálculos biliares que son con mayor frecuencia cálculos de bilirrubinato de calcio (60). Las manifestaciones clínicas con afección hepática y biliar se observan en los enfermos con las variantes de clase I, II, III y VI, las cuales afectan la síntesis, el procesamiento o la regulación del gen CFTR, pero no se han identificado asociación mutaciones específicas de CFTR. También se han establecido causas de riesgo a la insuficiencia pancreática y antecedentes de íleo meconial que están asociados con la manifestación de la enfermedad hepática (57).

2.2.6.4 AUSENCIA BILATERAL DE CONDUCTOS DEFERENTES

La ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes (ACBVD) afecta aproximadamente al 97% de los hombres con FQ. El diagnóstico se fundamenta en la presencia de conductos deferentes no palpables, azoospermia y producción de espermatozoides en los testículos (61). Es causada por mutaciones que afectan la función de los canales de cloruro, lo cual impide que se regulen el flujo de iones de cloruro y agua a través de las membranas celulares, derivando a que las células del tracto genital masculino produzcan una mucosidad espesa y pegajosa que obstruye los conductos deferentes. Estos genotipos son heterocigotos compuestos con una mutación severa en un alelo y una mutación leve en el otro, o en ciertos casos, una mutación leve en cada alelo, causando formas atípicas de Fibrosis quística o infertilidad masculina sin ninguna otra manifestación clínica de la enfermedad (62).

Estudios describen que la variante específica de la ACBVD es el tracto polimórfico de politimidina (Tn) en el intrón 9 de *CFTR*, debido a que del tamaño de secuencia de timinas denominada poli-T, la cual puede contener 5, 7 o 9 timinas (T5, T7 o T9) y se conoce como c.1210_12T (5_9); es la que condiciona la presencia o ausencia del exón 10 en el ARNm de *CFTR*. La eficiencia con la que se usa el sitio aceptor de empalme disminuye en paralelo con el tamaño de la cadena poli-T, lo que incrementa la probabilidad de pérdida del exón 10 durante el empalme y el ARNm que carece del exón 10 se traduce en una proteína inmadura sin actividad de canal. Así mismo el alelo IVS9-5T

con afección en el 10% de población mundial y se presenta como una variante de penetrancia incompleta deriva a la formación de solo el 10% de la proteína normal, lo cual causa la malformación de los conductos deferentes. En genotipo homocigoto ocasiona alrededor del 95% de ARNm sin exón 10 en el epitelio respiratorio, lo que resulta en una alteración en el dominio NBD-1 de la proteína CFTR (61,63) .

En base al amplio espectro clínico de la Fibrosis quística, con diferentes manifestaciones clínicas a cualquier edad, la OMS en 1995, estableció criterios de sospecha clínica y derivación diagnóstica para los pacientes con Fibrosis quística (64) .

Tabla 1. Criterios de Sospecha Clínica y Derivación Diagnóstica para los Pacientes con Fibrosis Quística.

<p>Recién nacidos y lactantes menores Íleo meconial Ictericia neonatal prolongada (colestásica) Síndrome de edema, anemia, desnutrición Esteatorrea, síndrome de malabsorción Incremento ponderal inadecuado Vómitos recurrentes</p>
<p>Lactantes Tos y/o sibilancias recurrentes o crónicas que no mejoran con tratamiento Neumonía recurrente o crónica Retardo del crecimiento Diarrea crónica Prolapso rectal Sabor salado de piel Hiponatremia e hipocloremia crónicas Historia familiar de Fibrosis quística o muerte en lactantes o hermanos vivos con síntomas sugerentes.</p>
<p>Preescolares Tos crónica con o sin expectoración purulenta, sin respuesta a tratamiento Sibilancias crónicas recurrentes inexplicadas sin respuesta a tratamiento Incremento deficiente de peso y talla Dolor abdominal recurrente Prolapso rectal Invaginación intestinal Diarrea crónica Hipocratismo digital Hiponatremia e hipocloremia crónicas Hepatomegalia o enfermedad hepática inexplicada Pólipos nasales</p>
<p>Escolares Síntomas respiratorios crónicos inexplicados Pseudomona aeruginosa en secreción bronquial Sinusitis crónica, poliposis nasal Bronquiectasias Diarrea crónica Síndrome de obstrucción intestinal distal Pancreatitis Prolapso rectal Hepatomegalia</p>
<p>Adolescentes y adultos Enfermedad pulmonar supurativa crónica e inexplicada Hipocratismo digital Dolor abdominal recurrente Pancreatitis</p>

Síndrome de obstrucción intestinal distal Cirrosis hepática e hipertensión portal Retardo del crecimiento Esterilidad masculina con azoospermia obstructiva Disminución de la fertilidad en mujeres

2.2.7 DIAGNÓSTICO

2.2.7.1 TEST DE SUDOR

El test de sudor fue creado en el año 1959 por Gibson y Cook, y es la prueba estándar para un diagnóstico de la FQ. Fundamentado en inducir al sudor y medir una concentración de cloruro (Cl^-) y sodio (Na^+), mediante la técnica de iontoforesis de pilocarpina, consta de tres fases: inducción, recolección y medición de electrolitos (65).

La muestra se adquiere de la región del antebrazo en la cara anterior de la superficie flexora; se desinfecta el área elegida con alcohol, retirando los residuos con agua destilada. Una vez seca la región elegida se induce la iontoforesis con pilocarpina con una corriente eléctrica de 1,5 mA con un control automático de la intensidad y de la duración de la estimulación. Luego se recoge la muestra, con gasa o papel filtro, o a través de microtúbulos o por un colector estándar digitalizado (66,67) .

Los valores que confirman el diagnóstico de la enfermedad son una concentración de Ion cloruro en sudor igual o superior a 60 mmol/L; en resultados con un valor limítrofe de 40–60 mmol/L se debe repetir el test cuando

existe una alta sospecha clínica de la enfermedad. En resultados con niveles de cloruro <40 mmol/L su resultado es negativo y en los lactantes menores de seis meses la prueba es considerada dudosa a partir de resultados con niveles de cloruro en el sudor de 30 mmol/L (64).

Según los el último consenso de la European Cystic Fibrosis Society, se puede diferenciar dos tipos de enfermedad:

Fibrosis Quística típica o clásica: los pacientes presentan manifestaciones fenotípicas características de la enfermedad y una concentración del test de sudor positivo, es decir un valor mayor o igual de 60 mmol/L

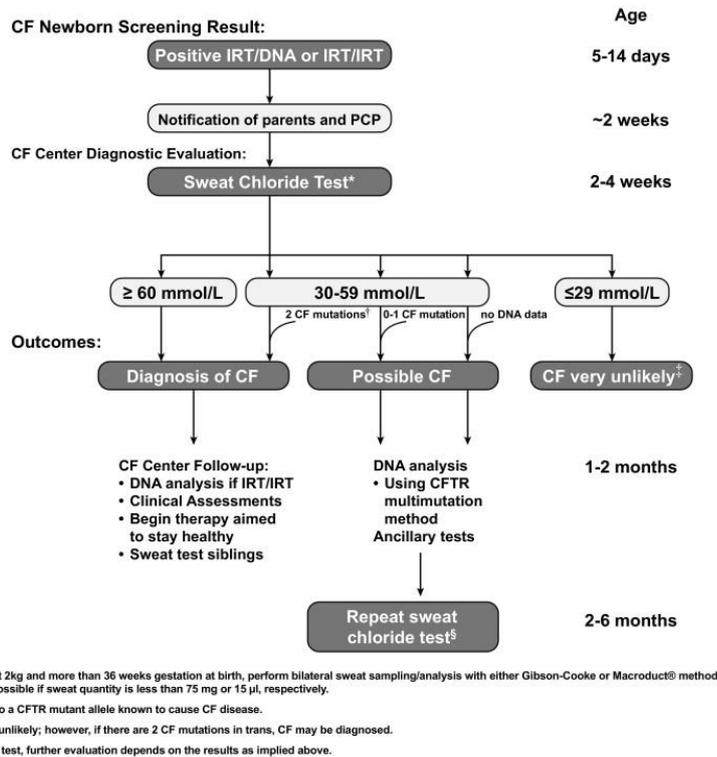
Fibrosis Quística no clásica o atípica: las características fenotípicas de estos pacientes son manifestaciones leves de enfermedad pulmonar y compromiso gastrointestinal, pueden presentar un fenotipo clásico de fibrosis quística en un solo sistema de órganos y un valor del test de sudor normal de <40 mmol/L o en el límite de 40–60 mmol/L. Estos pacientes suelen presentar dos variantes del gen CFTR, siendo la una variante leve (64,65).

2.2.7.2 CRIBADO NEONATAL

El cribado neonatal fue implementado desde 1979 como un programa de detección de Fibrosis Quística en recién nacidos, al evidenciar que los niveles del tripsinógeno inmunoreactivo (TIR) se encontraban elevados en pacientes con la enfermedad. En 1981 Australia y Nueva Zelanda implementaron los primeros programas de detección de la enfermedad, siendo

el inicio para que la prueba sea implementada en otros países como España, en donde el programa ha sido utilizado en más de un millón de recién nacidos(68,69).

La prueba valora el tripsinógeno inmunoreactivo (TIR/TIR) y consiste en evaluar una gota de sangre, que es extraída del talón del pie del neonato entre el tercer y quinto día de nacido, en una tarjeta de Guthrie con la finalidad de empezar un tratamiento temprano para disminuir el daño pulmonar y mejorar la calidad de vida del paciente con Fibrosis Quística. Una vez revelada la prueba de tripsinógeno inmunoreactiva (TIR) con niveles elevados se debe derivar al paciente al centro de referencia para la valoración y realización del test de sudor. La misma muestra de sangre extraída del talón del pie del neonato permite realizar también la evaluación de Tripsina inmunoreactiva/ADN (TIR/ADN) de recién nacidos, que presentaron la primera prueba de TIR/TIR en niveles elevados y realizar el análisis genético de mutaciones de la Fibrosis quística (70,71).



*Figura 5. Diagrama de diagnóstico de Fibrosis Quística para recién nacidos.
Fuente: Philip et al. 2008. (72)*

2.2.7.3 DIAGNÓSTICO MOLECULAR

En el estudio molecular del gen CFTR se utilizan técnicas que son indispensables en la búsqueda e identificación de las variantes patogénicas más prevalentes y de mayor morbilidad de la enfermedad. En la actualidad se han descrito más de 2000 variantes del gen CFTR con una distribución y frecuencia que varía ampliamente según el origen étnico de cada población. Así en poblaciones mestizas como la de Ecuador se describe una amplia variación de mutaciones (1,3).

Para el análisis molecular del gen CFTR se utilizan un panel de variantes que en gran porcentaje están dirigidas a la detección de variantes específicas, las cuales identifican del 75-90% de variantes causantes de la enfermedad y que son observadas en alelos de los enfermos con FQ en la mayoría de las poblaciones. La detección completa de variantes del gen CFTR se realiza mediante secuenciación masiva del gen, lo que en la actualidad ha permitido un gran avance en el pronóstico de la enfermedad, en la investigación de formas atípicas de Fibrosis Quística y en la investigación de terapia molecular específica de mutación que actúen como correctores y potenciadores de la proteína CFTR, algunos de los cuales han sido aprobados en varios países, mientras que otros están en desarrollo (73,74). Además de ser fundamental en la identificación de portadores heterocigotos para la evaluación de riesgo de recurrencia de la enfermedad y asesoramiento genético en (75,76):

- Individuos asintomáticos sin antecedentes familiares de Fibrosis Quística.
- Cuando el cónyuge tiene Fibrosis Quística o es portador asintomático de una mutación el gen CFTR
- Individuos asintomáticos con familiares de primer, segundo o tercer grado con Fibrosis Quística en la familia.

En la actualidad el diagnóstico molecular con todos los avances tecnológicos ha permitido aplicarlo en el diagnóstico genético prenatal y preimplantacional de FQ, para un embarazo actual o futuro en parejas que ya tienen un hijo con FQ, en embriones de parejas heterocigotas y cuando el feto

presenta ecogenicidad del meconio intraluminal que sugiera sospecha de la enfermedad (77,78).

2.2.8 INCIDENCIA Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

La Fibrosis Quística afecta a más de 85000 personas en el mundo y se presenta con mayor frecuencia en la población caucásica (37), cuya incidencia es variable entre los diferentes grupos étnicos; así en Europa es de 1 en cada 2000-3000 recién nacidos, en Europa Occidental de 1- 4500 y 1-6000, en Europa del Norte y Central. En América del Norte la incidencia es de 1-4000 recién nacidos.

En América Latina la distribución étnica es muy heterogénea debido a la mezcla genética de su población y su incidencia promedio es aproximadamente de 1-8 000 a 1- 10,000 recién nacidos. En Argentina es de 1-6100 y 1 / 15,000 en Costa Rica (79) y en Ecuador en donde el 85% de la población es mestiza se estima una incidencia de 1-11.252 recién nacidos (64).

Datos provenientes de un estudio de meta análisis realizado en el 2007 por Perez *et al*, donde los resultados obtenidos en la investigación de 4354 cromosomas en pacientes latinoamericanos con Fibrosis quística de los países de Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Costa Rica, Cuba, Ecuador, México, Uruguay y Venezuela se encontraron 89 variantes, siendo las más frecuentes

(>1%) la F508del (46,69%), G542X (5.07%), N1303K (1.65), W1282X (1.13) y R1162X (0.96).

Las variantes con frecuencias entre 0,1% y 1% fueron R334W, G85E, R553X, c.1811+1.6KbA>G, c.3849+10KbC>T, c.1717-1G>A, c.3120 + 1G>A, I507del, c.2789 + 5G>A, c.621 + 1G>T, S549N, S549R, G551D, R1066C, c.2183A>G; c.2184delA, Y1092X, c.1812-1G>A, c.IVS8-5T, c.3659delC y las variantes con frecuencias inferiores al 0,1% fueron R75X, W1089X, c.406-1G>A, c.1898 + 1G>A, c.2686_2687insT, L206W, I506T, S589I, c.711+1G>T, c.935delA, c.2055_2063del, c.2347delG, c.2566_2567insT*, c.2789+2_2789+3insA, c.3199_3204del, c.3272-26A>G y c.4016_4017insT. Además, identifiqué el 37,21% de variantes desconocidas. Este estudio describe la complejidad del diagnóstico molecular del gen CFTR cuyo panel de variantes sugiere incluir para un primer análisis las variantes F508del, G542X, R1162X, N1303K, R334W, G85E, W1282X y adaptarlo geográficamente (80).

Estudios realizados en Ecuador describen algunas distribuciones de frecuencia de las variantes de Fibrosis Quística; así en el estudio realizado por Paz y Miño *et al*, en el año 1999 con 10 pacientes ecuatorianos para el análisis de la variante F508del mediante la técnica de PCR y mediante el test INNO-Lipa se analizó las siete variantes más frecuentes de la población de Europa, G542X, N1303K, 1717-1, W1282X, G551D, R553X, Δ1507. La incidencia de la variante F508del fue del 25% y ninguna de las siete variantes más frecuentes de la población

européa fue detectada. Esto sugiere que el 60% de las variantes estudiadas en la población son distintas de las más frecuentes de la población europea (81).

En el estudio de Valle *et al*, se determinó una incidencia estimada en Ecuador de 1 por cada 11.252 nacidos vivos. Se incluyeron 62 pacientes, utilizando para el análisis de la variante F508del la técnica de PCR (Polimerase Chain Reaction) por medio de la técnica de heterodúplex y la técnica de hibridación reversa in situ (test INNO-LiPA CFTR 29+Tn) que identifica las 29 variantes de Europa más frecuentes. Las variantes identificadas fueron F508del 37.1%, G85E 8.9%, G542X 2.4%, N1303K 2.4%, G551D 1.6% y R334W 0.8% (82).

En un estudio posterior realizado por Moya *et al* en España, a 6 pacientes ecuatorianos con Fibrosis Quística, describe la variante H609R que no ha sido descrita en otra población y que se identificó en 4 pacientes homocigotos. También describe en los otros dos pacientes los genotipos G85E/G85E y G85E/S549R (83).

De análisis mediante la secuenciación de los 27 exones del gen CFTR realizado por Ortiz a 48 pacientes ecuatorianos con FQ se identificó nueve variantes que causan la enfermedad; F508del, G85E, G330E, A455E, G970S, W1098X, R1162X, N1303K y H609R en población ecuatoriana. Este estudio constituye el segundo reporte de la variante H609R en Ecuador (84).

2.3 JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

En Ecuador se estima que la incidencia de la Fibrosis quística es de 1 por cada 11.252 recién nacidos lo cual no coincide con el número de casos reportados en Ecuador, lo que dificulta una estimación real actual por la falta de registros y los pocos estudios realizados en nuestro país (64). Los pacientes con Fibrosis Quística presentan un amplio fenotipo de manifestaciones clínicas con afección principal del aparato respiratorio y aparato digestivo; y conforme avanza la enfermedad muestran dificultades en la realización de actividades diarias, por lo que requieren el cuidado y atención de otras personas. Esto genera afecciones sociales, psicológicas y económicas de los enfermos con FQ y su familia.

En la actualidad el tratamiento va enfocado en reducir los síntomas y mejorar la calidad de vida de los pacientes, para lo cual es imprescindible un diagnóstico temprano de la enfermedad. En nuestro país existen muchas limitaciones en el acceso al diagnóstico molecular y las investigaciones realizadas se basan en un panel de variantes más comunes en Latinoamérica.

El amplio espectro de variantes del gen CFTR con variaciones en base al grupo étnico y distribución geográfica hace necesario incrementar estudios del gen CFTR en la población de Ecuador; es por ello que el presente estudio de variantes del gen CFTR, es el primer estudio de identificación de variantes del gen CFTR en la ciudad de Cuenca, que pretende dar respuestas a

varias preguntas planteadas sobre la Fibrosis Quística al inicio del estudio, una de ellas es identificar si los pacientes diagnosticados con FQ de Fundafiq presentan variantes del gen CFTR ya descritas o son variantes genéticas nuevas y contribuya a conocer el espectro de variantes del gen CFTR en la población de Ecuador, fundamental para un diagnóstico temprano y oportuno.

2.4 OBJETIVO

2.4.1 OBJETIVO GENERAL

- Identificar variantes del gen CFTR en pacientes con diagnóstico de Fibrosis Quística de la Fundación Fundafiq en el periodo 2017-2018 en la ciudad de Cuenca, Ecuador.

2.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la frecuencia de las variantes en los pacientes con diagnóstico de Fibrosis Quística de la Fundación Fundafiq en la ciudad de Cuenca, Ecuador.
- Describir las variantes patogénicas poco frecuentes o nuevas del gen CFTR en pacientes con diagnóstico de Fibrosis Quística de la Fundación Fundafiq en la ciudad de Cuenca, Ecuador.
- Identificar consanguinidad y antecedente familiar en pacientes con diagnóstico de Fibrosis Quística de la Fundación Fundafiq en la ciudad de Cuenca, Ecuador.

III. METODOLOGÍA

3.1 DISEÑO DEL ESTUDIO.

La investigación se acogió a un paradigma positivista y un enfoque cuantitativo. El diseño de investigación es observacional de tipo descriptivo y transversal.

3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA

El estudio incluye los 9 pacientes con diagnóstico clínico y molecular de Fibrosis Quística de Fundafiq en el periodo 2017-2018 en la ciudad de Cuenca, Ecuador.

3.3 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición	Categorización	Tipo de variable	Escala
Variante gen CFTR	Cambios en la secuencia de nucleótidos del ADN.	Positivo Negativo	Cualitativa	Nominal
Frecuencia de variantes.	Número de veces que se repite las variantes del gen CFTR	Porcentaje	Cuantitativa	Razón
Variantes poco frecuentes o variantes	Variantes descritas o no en estudios	Variantes poco frecuentes Variantes nuevas	Cualitativa	Nominal

nuevas del gen CFTR.	previos del gen CFTR.			
Antecedente familiar	Familiares hasta 5 generaciones que presenten o hayan presentado la enfermedad.	Si No	Cualitativa	Nominal
Consanguinidad	Vínculo de sangre entre individuos.	Si No	Cualitativa	Nominal

3.4 PROCEDIMIENTOS Y TÉCNICAS

Se tomó como punto de partida aquellos pacientes con Fibrosis Quística de Fundafiq, con diagnóstico molecular de la enfermedad, a quienes previamente se les realizó la socialización del propósito de la investigación. Después se procedió a la firma de consentimiento informado la misma que se realizó en el domicilio de cada paciente. Con la firma de este se realizó la revisión de los registros clínicos tanto los que se encontraban en el archivo de Fundafiq como en el Hospital Vicente Corral Moscoso; luego se procedió a la extracción manual de datos mediante el llenado de una ficha de recolección en donde se detallan las variantes genéticas de cada paciente para el posterior procesamiento de las mismos.

Para la elaboración del árbol genealógico se procedió a realizar una entrevista estructurada a cada paciente, obteniendo información de las variables antecedente familiar y consanguinidad de los miembros de la familia del paciente índice hasta cinco generaciones atrás. Si el paciente índice no contaba con la

información necesaria acerca de sus antecedentes se procedía a realizar una entrevista a sus familiares más cercanos. La misma se realizó en la sala de Fundación garantizando la intimidad y el confort del paciente, con una duración de 30 min.

3.5 CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente estudio se realizó con la información obtenida de Fundafiq “Fundación de Ayuda a Pacientes con Fibrosis quística” y el Hospital Vicente Corral Moscoso; aprobado por el Comité de Ética de la UPCH, código 101938 con constancia N° 111-14-19 y la firma del consentimiento informado de los pacientes y sus representantes legales. Todos los métodos, técnicas y procedimientos aplicados en la investigación estuvieron dentro de las normas nacionales e internacionales para proyectos de investigación en humanos, aplicando la versión de Helsinki de confidencialidad, respeto y anonimato.

3.6 PLAN DE ANÁLISIS

Tras la obtención de los datos se realizó el procesamiento de los mismos, estos se tabularon en el programa Microsoft Excel. Para el análisis de las variables se utilizó estadística descriptiva a través de porcentajes y frecuencias absolutas de las variables investigadas.

IV. RESULTADOS

De los 25 pacientes que acuden a Fundafiq, se incluyeron en este estudio a 9 pacientes que tenían el diagnóstico molecular de las variantes del gen CFTR.

El grupo de estudio estuvo comprendido en su mayoría por el sexo masculino, con edades comprendidas entre los 7 años hasta los 30 años.

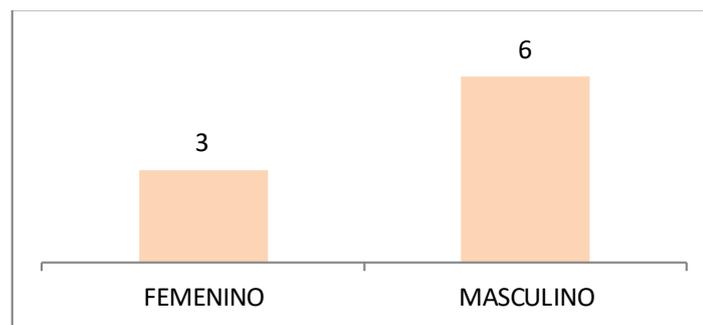


Gráfico 1. Distribución de pacientes por sexo.

Se identificaron 7 variantes del gen CFTR descritas en tabla 2, donde se detalla el número de alelos identificados y la localización en el gen.

Tabla 2. Variantes patogénicas del gen CFTR identificadas en pacientes con Fibrosis Quística en Cuenca.

Variante patogénica	Alelos	Exón	Consecuencia
F508del	4	11	Delección
N1303K	4	24	Missense
H609R	3	14	Missense
G85E	2	3	Missense
W496R	2	11	Missense
c.2672del	2	17	Delección
L15P	1	1	Missense
Total	18		

En la tabla 3 se detalla la frecuencia de las variantes identificadas del gen CFTR, siendo las de mayor frecuencia alélica la F508del identificada en 4 pacientes, la N1303K identificada en 4 pacientes y la variante H609R identificada en 2 pacientes.

Tabla 3. Frecuencia de variantes patogénicas del gen CFTR identificadas en pacientes con Fibrosis Quística en Cuenca.

Variante patogénica	Frecuencia alélica Absoluta
F508del	4
N1303K	4
H609R	3
G85E	2
Trp496Arg	2
c.2672del	2
L15P	1

En la tabla 4 se muestra el genotipo y los signos clínicos que presentaron los 9 pacientes con Fibrosis Quística previo al diagnóstico clínico de la enfermedad, cuyos síntomas coinciden con los criterios de sospecha clínica de la OMS de acuerdo al grupo etario. La etapa de vida en que se encontraba la mayoría los pacientes al momento del diagnóstico de la enfermedad fue la preescolar y escolar, lo cual sugiere que en la mayoría de los casos la clínica de la enfermedad se manifiesta en las primeras etapas de vida.

Tabla 4. Genotipo e historia clínica de los 9 pacientes con diagnóstico de Fibrosis Quística.

Paciente	Genotipo	Signos clínicos	Edad de diagnóstico	Test de sudor	Criterios de sospecha clínica diagnóstica de la OMS de acuerdo al grupo etario.
4	F508del+N1303K	Íleo meconial	4 meses	93	Recién nacido.
1	G85E+c.2672del	Problemas pulmonares. Tos con expectoración. Dolor abdominal recurrente.	4 años	115	Preescolar
3	F508del+N1303K	Problemas pulmonares. Incremento deficiente de peso y talla	2 años	129	
5	F508del+N1303K	Problemas pulmonares. Incremento deficiente de peso y talla	2 años	103	
8	Trp496Arg+Trp496Arg	Problemas pulmonares Tos con expectoración. Incremento deficiente de peso y talla.	4 años	101	
2	G85E+c.2672del	Síntomas respiratorios. Pseudomona aeruginosa Bronquiectasias	12 años	108	
7	F508del+N1303K	Síntomas respiratorios Pseudomona aeruginosa	6 años	100	Escolar
9	H609R+H609R	Síntomas respiratorios	11 años	106	

		Pseudomona aeruginosa Bronquiectasias			
6	L15P+H609R	Problemas respiratorios Dolor abdominal recurrente. Retardo del crecimiento	20 años	113	Adulto

La tabla 5 describe las variantes patogénicas poco frecuentes identificadas en el estudio. Se incluye la variante c.2672delA que ha sido descrita únicamente en un estudio previo en un paciente de la ciudad de Guayaquil por Paz y Miño *et al* en el 2019, se identificó en 2 pacientes en estado heterocigoto y en el análisis de árbol genealógico se evidencio la presencia de consanguinidad y antecedente familiar. También se incluye la variante H609R, la cual ha sido reportada en pacientes ecuatorianos en dos estudios previos por Moya *et.al* (2009) y por Ortiz *et.al* (2017). En este estudio se identificó en 2 pacientes, quienes presentaron valores positivos en el diagnóstico del test de sudor y en análisis de árbol genealógico no presentaron consanguinidad ni antecedente familiar.

Tabla 5. Variantes patogénicas poco frecuentes de pacientes con diagnóstico de Fibrosis Quística.

Paciente	Variante Patogénica poco frecuente	Consecuencia de la variante	Test de Sudor	Antecedente familiar	Consanguinidad
1	G85E+c.2672delA	Delección	115	Si	Si
2	G85E+c.2672delA	Delección	108	Si	Si
6	L15P + H609R	Missense	113	No	No
9	H609R + H609R	Missense	106	No	No

La tabla 6 describe la variante patogénica W496R, la cual es una variante nueva que no ha sido reportada en estudios previos. Es una variante de intrón, causada por una transición de timina a citosina. Se identificó con genotipo homocigoto y una frecuencia alélica baja dentro del grupo de estudio. En el análisis de árbol genealógico se evidenció la presencia de consanguinidad en los padres del paciente y antecedente familiar con más afectados con la enfermedad dentro del grupo familiar.

Tabla 6. Variante patogénica nueva de pacientes con diagnóstico de Fibrosis Quística

Paciente	Variante Patogénica nueva	Consecuencia de la variante	Test de Sudor	Antecedente familiar	Consanguinidad
8	W496R+W496R	Missense	101	Si	Si

Los resultados encontrados en base al análisis del árbol genealógico, indican que 6 pacientes con Fibrosis Quística presentaron antecedentes familiares de la enfermedad dentro del núcleo familiar, evidenciando dos o más afectados con FQ.

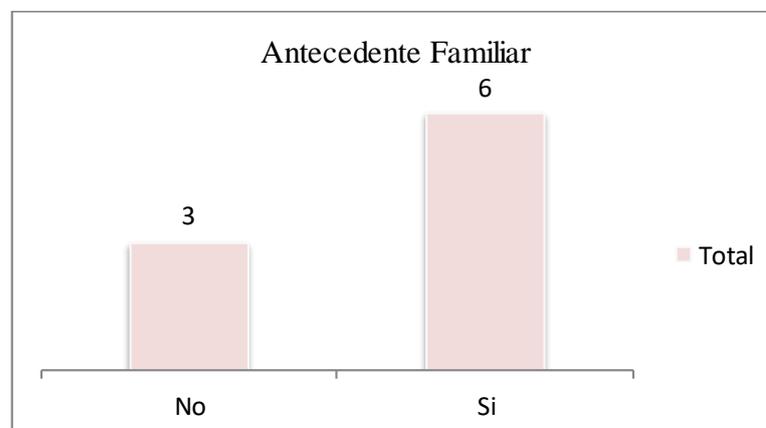


Gráfico 2. Resultado del análisis del árbol genealógico para Antecedente familiar.

El grafico 3 describe que la presencia de consanguinidad entre los padres de 4 pacientes, el cual es un factor característico para la aparición de enfermedades genéticas con patrón de herencia autosómica recesiva.

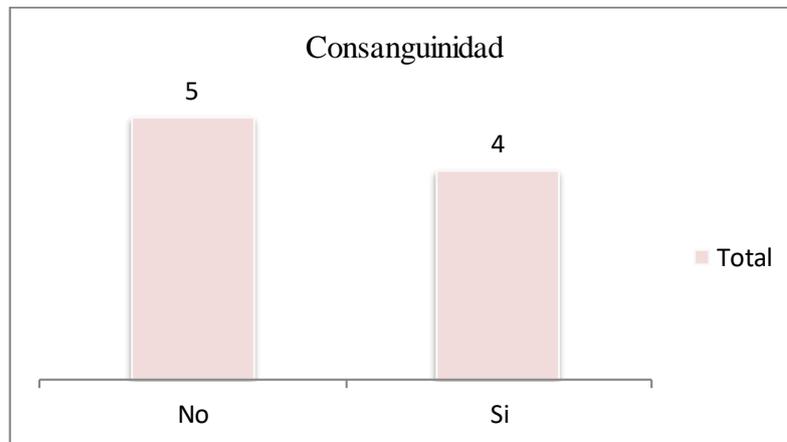


Gráfico 3. Resultado del análisis del árbol genealógico para Consanguinidad.

V. DISCUSIÓN

En Ecuador son muy pocos los estudios realizados sobre la genética molecular y poblacional de la Fibrosis Quística, donde se han identificado diferencias en la prevalencia de variantes entre la población ecuatoriana y otros países de Latinoamérica. Esta variabilidad genética surge por la colonización española y su mezcla entre los pueblos indígenas, con aportes menores de africanos y asiáticos en nuestra población.

El objetivo del presente estudio fue identificar las variantes del gen CFTR en pacientes con diagnóstico clínico y molecular de Fibrosis Quística; cuyo análisis molecular fue realizado mediante secuenciación de próxima generación (NGS) disponible; siendo la base para así poder realizar la primera descripción de variantes del gen CFTR en pacientes con Fibrosis Quística de la ciudad de Cuenca.

Los resultados de este estudio permitieron identificar 7 variantes del gen CFTR asociadas con la enfermedad, así la variante patogénica F508del, N1303K, G85E, H609R, L15P, c.2672delA y W496R representa el 100% de la población estudiada descritas en la tabla 3. Uno de los hallazgos más importantes de este estudio fue la identificación de la variante patogénica W496R que es causada por una transición de timina a citosina, es una transición sin sentido que ocurrió en residuos de aminoácidos altamente conservados en la primera región NBF del gen CFTR. Es una variante de intrón y que en la revisión de la literatura no se ha encontrado en ninguna otra población. Siendo el primer reporte de detección de la variante en la población ecuatoriana. El paciente de estudio presentó la variante en genotipo homocigoto. Su lugar de procedencia es de la zona rural de la ciudad de

Cuenca y su ascendencia es mestiza. En el análisis de árbol genealógico se evidencio la presencia de consanguinidad entre sus padres y más afectados con la enfermedad dentro del núcleo familiar, quienes además no tenían el diagnóstico molecular. Enfatizando la necesidad de realizar el análisis completo del gen CFTR en los miembros de esta familia que no tienen el diagnóstico molecular que ayude a determinar la frecuencia de esta variante en la población ecuatoriana.

Otro hallazgo muy importante dentro de este estudio es la identificación de la variante patogénica c.2672delA y la variante H609R que son variantes poco frecuentes reportadas únicamente en la población de Ecuador. Así la variante c.2672delA resultante de la eliminación de un único par de bases que afecta al codón 891, ha sido descrita únicamente un paciente de la ciudad de Guayaquil por Paz y Miño *et al* en el 2019 (85) . En este estudio se identificó en 2 alelos en pacientes con genotipo heterocigoto con la variante G85E. En el análisis del árbol genealógico de los pacientes que presentaron esta variante se evidencio consanguinidad entre sus padres y más afectados con la enfermedad dentro del núcleo familiar.

La variante H609R se identificó en este estudio en dos pacientes con genotipo homocigoto y heterocigoto con la variante L15P, con una frecuencia alélica de 3 de los 18 alelos identificados. Los resultados de esta variante constituyen el tercer reporte en la población de Ecuador. El primer reporte fue descrito en un estudio de Moya realizado en España en el 2009 en donde cuatro de seis pacientes ecuatorianos presentaron la variante en estado homocigoto. En el 2017 fue reportado por Ortiz *et al* con una frecuencia alélica de 14. A nivel mundial la variante fue descrita por primera vez por Bienvenu *et al*, en un paciente con

Fibrosis quística de Columbia, pero no existieron datos clínicos disponibles y en la revisión de la literatura esta mutación no se ha encontrado en ninguna otra población. Estos resultados ayudan a conocer la variabilidad genética del perfil de variantes del gen CFTR dentro de la población siendo importantes considerarlas en el análisis de la enfermedad (83).

Con respecto a las otras variantes identificadas, la variante de eliminación de fenilalanina 508 o F508del que está presente en el 85% de los pacientes con Fibrosis Quística en todo el mundo (86), sigue siendo la variante más común. En este estudio se identificó en 4 pacientes con genotipo heterocigoto y con una frecuencia alélica de 4 de los 18 alelos identificados. Esta variante también fue descrita en otros estudios realizados en Ecuador por Ortiz *et.al* en el 2017 en 13 pacientes con una frecuencia alélica de 15 (84) y en un estudio realizado por Valle *et al* en el 2007 donde se identificaron 46 alelos para la variante (82). En países de América Latina como Argentina esta variante de presenta con un porcentaje alto del (59,2%), Uruguay (56,6%), Brasil (43,1%), Chile (39,3%), Cuba (34,0%) y Costa Rica (22,9%) (87).

La variante G85E causada por un cambio de nucleótido de guanina por adenosina (G>A) en la posición 386 en el exón 3 y da como resultado la sustitución del ácido glutámico por glicina; es una mutación de clase II, descrita con una frecuencia del 0,4% a nivel mundial (88) y reportada con la frecuencia más alta en países de Europa como España e Italia. En este estudio se identificaron 2 dos alelos de un total de 18 analizados en 2 pacientes heterocigotos. Esta variante también fue descrita en el 2017 por Ortiz quien identifico 6 alelos para la variante y en el estudio de Valle en el 2007 quien identifico 11 alelos en los 62 pacientes. Quien además

describe que la frecuencia de esta variante genética en Ecuador es la más alta en América Latina y a nivel mundial con un porcentaje superior al que se observa en el Sur de Grecia de donde se cree se originó la variante (82).

La variante N1303K es una variante severa sin sentido de clase II (6), con una mayor incidencia en Europa, es la segunda variante más común en Italia y con una mayor frecuencia al suroeste de Francia. En este estudio se identificó en heterogeneidad alélica con la variante F508del con una frecuencia alélica de 4 de los 18 alelos identificados a diferencia del estudio realizado por Ortiz *et.al* (2017) quien describe una frecuencia alélica de 1 (89).

En el análisis del árbol genealógico de los 9 pacientes se evidencio padres consanguíneos en 4 pacientes, con dos o más afectados de la enfermedad dentro del grupo familiar lo cual sugiere que este factor en el estudio tiene un efecto pequeño sobre la incidencia de esta enfermedad debido a que se encontraron pocos casos en el análisis del árbol genealógico. Sin embargo, es importante continuar con el estudio de análisis genealógico a todos los pacientes con la enfermedad que permita establecer la relación del factor consanguinidad con la incidencia de la enfermedad. En los pacientes que no presentaron padres consanguíneos, se evidencio también antecedentes familiares con dos o más afectados con la enfermedad lo que sugiere la falta de asesoramiento genético en el grupo familiar, el cual es un aspecto importante a considerar dentro de esta enfermedad. Enfatizando la necesidad de realizar el análisis molecular de portadores que facilite el asesoramiento genético. Los resultados obtenidos en el estudio coinciden con una publicación realizada por Malambo en el año 2008 donde describe en el análisis de árbol genealógico la reincidencia de enfermos y la consanguinidad en varias familias (90).

Los resultados de este estudio reafirman la diferencia del espectro de variantes del gen CFTR en nuestro país, lo cual sugiere pueden estar asociadas a la distribución étnica, la muestra estudiada y al lugar geográfico. Las variantes identificadas pueden contribuir a que se realicen más estudios de diagnóstico molecular que involucren a todos los pacientes de Fundafiq, mediante el análisis completo del gen CFTR que contribuya a que exista mayor información de la genética molecular de nuestra población. Siendo importante también mencionar las implicaciones emocionales, sociales y económicas que causa la enfermedad más aún cuando se pierde hijos a causa de misma, lo cual se ha evidenciado en este grupo de estudio y más aún en dos familias que perdieron a sus hijos a causa de la Fibrosis Quística y tienen más hijos afectados; reafirmando la importancia de un diagnóstico molecular indispensable y oportuno para la enfermedad, el cual es importante para el inicio de un tratamiento temprano destinado a prevenir o minimizar el desarrollo de los signos clínicos que mejoren la calidad de vida del paciente con Fibrosis Quística.

VI. CONCLUSIONES

- La frecuencia de las variantes identificadas en los pacientes con diagnóstico de Fibrosis Quística de Fundafiq en la ciudad de Cuenca fue de 4 para la variante F508del, 4 para la variante N1303K, 3 para la variante H609R, 2 para la G85E, 2 para la variante W496WR, 2 para la variante c.2672delA y 1 para la variante L15P.
- La variante W496R constituye el primer reporte de detección de la variante en la población ecuatoriana, siendo este un aporte relevante para el análisis molecular en la determinación de frecuencias propias de la población ecuatoriana.
- La variante c.2672delA y la variante H609R son variantes reportadas únicamente en la población de Ecuador que deben ser incluidas en el diagnóstico molecular para el análisis de la enfermedad.
- La consanguinidad tiene un efecto pequeño sobre la incidencia de esta enfermedad debido a que se encontraron pocos casos en el análisis del árbol genealógico.
- La presencia de antecedentes familiares de la enfermedad dentro del grupo familiar hace necesario el análisis de portadores que facilite el asesoramiento genético.

VII. RECOMENDACIONES

Continuar con los estudios de análisis molecular del gen CFTR en los pacientes diagnosticados con Fibrosis Quística de la Fundación Fundafiq, que permita determinar la frecuencia de las variantes en la población y realizar el análisis molecular de portadores a las familias con análisis genealógico y molecular que faciliten el asesoramiento genético.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cutting GR. Cystic fibrosis genetics: from molecular understanding to clinical application. *Nat Rev Genet.* enero de 2015;16(1):45-56.
2. Vankeerberghen A, Cuppens H, Cassiman J-J. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an intriguing protein with pleiotropic functions. *Journal of Cystic Fibrosis.* 1 de marzo de 2002;1(1):13-29.
3. Strug LJ, Stephenson AL, Panjwani N, Harris A. Recent advances in developing therapeutics for cystic fibrosis. *Hum Mol Genet.* 1 de agosto de 2018;27(R2):R173-86.
4. Hwang T-C, Yeh J-T, Zhang J, Yu Y-C, Yeh H-I, Destefano S. Structural mechanisms of CFTR function and dysfunction. *J Gen Physiol.* 2 de abril de 2018;150(4):539-70.
5. Lopez, M. CFTR Modulators: The Changing Face of Cystic Fibrosis in the Era of Precision Medicine [Internet]. [citado 30 de septiembre de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7046560/>
6. Ratjen F, Bell SC, Rowe SM, Goss CH, Quittner AL, Bush A. Cystic fibrosis. *Nat Rev Dis Primers.* 14 de mayo de 2015;1:15010.
7. Liou TG. The Clinical Biology of Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator Protein. *Chest.* marzo de 2019;155(3):605-16.
8. Cui G, Rahman KS, Infield DT, Kuang C, Prince CZ, McCarty NA. Three charged amino acids in extracellular loop 1 are involved in maintaining the outer pore architecture of CFTR. *J Gen Physiol.* agosto de 2014;144(2):159-79.
9. Gadsby DC, Vergani P, Csanády L. The ABC protein turned chloride channel whose failure causes cystic fibrosis. *Nature.* 23 de marzo de 2006;440(7083):477-83.
10. Moody JE, Millen L, Binns D, Hunt JF, Thomas PJ. Cooperative, ATP-dependent Association of the Nucleotide Binding Cassettes during the Catalytic Cycle of ATP-binding Cassette Transporters. *J Biol Chem.* 14 de junio de 2002;277(24):21111-4.
11. Csanády, L., Chan, K. W., Nairn, A. C., & Gadsby, D. C. Functional Roles of Nonconserved Structural Segments in CFTR's NH₂-terminal Nucleotide Binding Domain [Internet]. [citado 1 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2217481/>
12. Muallem D, Vergani P. ATP hydrolysis-driven gating in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 27 de enero de 2009;364(1514):247-55.

13. Strub MD, McCray, Jr. PB. Transcriptomic and Proteostasis Networks of CFTR and the Development of Small Molecule Modulators for the Treatment of Cystic Fibrosis Lung Disease. *Genes (Basel)* [Internet]. 13 de mayo de 2020 [citado 1 de octubre de 2020];11(5). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7288469/>
14. Gentsch M, Mall MA. Ion Channel Modulators in Cystic Fibrosis. *Chest*. agosto de 2018;154(2):383-93.
15. Lopes-Pacheco M. CFTR Modulators: The Changing Face of Cystic Fibrosis in the Era of Precision Medicine. *Front Pharmacol* [Internet]. 21 de febrero de 2020 [citado 30 de septiembre de 2020];10. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7046560/>
16. Fukuda R, Okiyoneda T. Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) Ubiquitylation as a Novel Pharmaceutical Target for Cystic Fibrosis. *Pharmaceuticals (Basel)* [Internet]. 22 de abril de 2020 [citado 1 de octubre de 2020];13(4). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7243099/>
17. Rowe S, Pyle L, Jurkevante A, Varga K, Collawn J, Sloane P, et al. Δ F508 CFTR processing correction and activity in polarized airway and non-airway cell monolayers. *Pulm Pharmacol Ther.* agosto de 2010;23(4):268-78.
18. Lazrak A, Fu L, Bali V, Bartoszewski R, Rab A, Havasi V, et al. The silent codon change I507-ATC \rightarrow ATT contributes to the severity of the Δ F508 CFTR channel dysfunction. *FASEB J.* noviembre de 2013;27(11):4630-45.
19. Ramsey BW, Davies J, McElvaney NG, Tullis E, Bell SC, Dřevínek P, et al. A CFTR Potentiator in Patients with Cystic Fibrosis and the Mutation. *New England Journal of Medicine.* 3 de noviembre de 2011;365(18):1663-72.
20. Gervais R, Dumur V, Rigot J-M, Lafitte J-J, Roussel P, Claustres M, et al. High Frequency of the R117H Cystic Fibrosis Mutation in Patients with Congenital Absence of the Vas Deferens. *New England Journal of Medicine.* 11 de febrero de 1993;328(6):446-7.
21. Morral N, Llevadot R, Casals T, Gasparini P, Macek M, Dörk T, et al. Independent origins of cystic fibrosis mutations R334W, R347P, R1162X, and 3849 + 10kbC \rightarrow T provide evidence of mutation recurrence in the CFTR gene. *Am J Hum Genet.* noviembre de 1994;55(5):890-8.
22. Harutyunyan M, Huang Y, Mun K-S, Yang F, Arora K, Naren AP. Personalized medicine in CF: from modulator development to therapy for cystic fibrosis patients with rare CFTR mutations. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 1 de abril de 2018;314(4):L529-43.

23. Yeh J, Yu Y, Hwang T. Structural mechanisms for defective CFTR gating caused by the Q1412X mutation, a severe Class VI pathogenic mutation in cystic fibrosis. *J Physiol*. 15 de enero de 2019;597(2):543-60.
24. Dechecchi, M. C., Tamanini, A., & Cabrini, G. Molecular basis of cystic fibrosis: from bench to bedside [Internet]. [citado 1 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6174194/>
25. Breakthrough Therapies: Cystic Fibrosis (CF) Potentiators and Correctors [Internet]. [citado 1 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4620567/>
26. Griesenbach U, Alton EFWF. Recent advances in understanding and managing cystic fibrosis transmembrane conductance regulator dysfunction. *F1000Prime Rep* [Internet]. 27 de mayo de 2015 [citado 9 de enero de 2018];7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4447040/>
27. Guillén-Navarro E, Ballesta-Martínez MJ, López-González V. Genética y enfermedad. Concepto de genética médica. *Nefrología*. 1 de mayo de 2011;2(1):3-10.
28. Gracia J de, Mata F, Álvarez A, Casals T, Gatner S, Vendrell M, et al. Genotype-phenotype correlation for pulmonary function in cystic fibrosis. *Thorax*. 1 de julio de 2005;60(7):558-63.
29. Alliance G, ScreeningServices TNY-M-AC for G and N. PATRONES HEREDITARIOS [Internet]. Genetic Alliance; 2009 [citado 13 de septiembre de 2019]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK132213/>
30. Asael DJ. Asesoramiento genético en parejas consanguíneas. :8.
31. Barriga HHA. Risk factors in genetic diseases. :8.
32. Moskowitz SM, Chmiel JF, Stern DL, Cheng E, Gibson RL, Marshall SG, et al. Clinical practice and genetic counseling for cystic fibrosis and CFTR-related disorders. *Genet Med*. diciembre de 2008;10(12):851-68.
33. Bennett MS,R. Steinhaus,K. Uhrich,S. O’Sullivan,C. The need for developing standardized family pedigree nomenclature - Bennett - 1993 - *Journal of Genetic Counseling* - Wiley Online Library [Internet]. [citado 1 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1007/BF00961575>
34. Bennett R, Steinhaus French K, Resta R, Doyle D. Standardized Human Pedigree Nomenclature: Update and Assessment of the Recommendations of the National Society of Genetic Counselors. *Journal of genetic counseling*. 2008;17:424-33.
35. Byers PH, Ashkenas J. Pedigrees—Publish? or Perish the Thought? *The American Journal of Human Genetics*. 1 de septiembre de 1998;63(3):678-81.

36. Vanscoy LL, Blackman SM, Collaco JM, Bowers A, Lai T, Naughton K, et al. Heritability of Lung Disease Severity in Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 15 de mayo de 2007;175(10):1036-43.
37. Sanders DB, Fink A. Background and Epidemiology. *Pediatr Clin North Am*. agosto de 2016;63(4):567-84.
38. Cabrini, G., Rimessi, A., Borgatti, M., Lampronti, I., Finotti, A., Pinton, P., & Gambari, R. Role of Cystic Fibrosis Bronchial Epithelium in Neutrophil Chemotaxis [Internet]. [citado 2 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7427443/>
39. Scambler T, Jarosz-Griffiths HH, Lara-Reyna S, Pathak S, Wong C, Holbrook J, et al. ENaC-mediated sodium influx exacerbates NLRP3-dependent inflammation in cystic fibrosis. *eLife* [Internet]. [citado 2 de octubre de 2020];8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6764826/>
40. Berdiev BK, Qadri YJ, Benos DJ. Assessment of the CFTR and ENaC association. *Mol Biosyst*. febrero de 2009;5(2):123-7.
41. Cuthbertson L, Rogers GB, Walker AW, Oliver A, Green LE, Daniels TWV, et al. Respiratory microbiota resistance and resilience to pulmonary exacerbation and subsequent antimicrobial intervention. *ISME J*. mayo de 2016;10(5):1081-91.
42. Bhagirath AY, Li Y, Somayajula D, Dadashi M, Badr S, Duan K. Cystic fibrosis lung environment and *Pseudomonas aeruginosa* infection. *BMC Pulm Med* [Internet]. 5 de diciembre de 2016 [citado 2 de octubre de 2020];16. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5139081/>
43. Borriello G, Werner E, Roe F, Kim AM, Ehrlich GD, Stewart PS. Oxygen Limitation Contributes to Antibiotic Tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* in Biofilms. *Antimicrob Agents Chemother*. julio de 2004;48(7):2659-64.
44. Noël, S., & Sermet-Gaudelus, I. Mucoviscidosis: fisiopatología, genética, aspectos clínicos y terapéuticos [Internet]. [citado 2 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7147672/>
45. Stark, L. J., Opiari-Arrigan, L., Quittner, A. L., Bean, J., & Powers, S. W. The Effects of an Intensive Behavior and Nutrition Intervention Compared to Standard of Care on Weight Outcomes in CF [Internet]. [citado 2 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4410776/>
46. Sastre J, Sabater L, Aparisi L. Fisiología de la secreción pancreática | Gastroenterología y Hepatología [Internet]. [citado 2 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-gastroenterologia-hepatologia-14-articulo-fisiologia-secrecion-pancreatica-13071380>

47. Lee MG, Ohana E, Park HW, Yang D, Muallem S. Molecular Mechanism of Pancreatic and Salivary Glands Fluid and HCO₃⁻ Secretion. *Physiol Rev.* enero de 2012;92(1):39-74.
48. Rotti PG, Xie W, Poudel A, Yi Y, Sun X, Tyler SR, et al. Pancreatic and Islet Remodeling in Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (CFTR) Knockout Ferrets. *Am J Pathol.* abril de 2018;188(4):876-90.
49. Madácsy T, Pallagi P, Maleth J. Cystic Fibrosis of the Pancreas: The Role of CFTR Channel in the Regulation of Intracellular Ca²⁺ Signaling and Mitochondrial Function in the Exocrine Pancreas. *Front Physiol* [Internet]. 20 de diciembre de 2018 [citado 2 de octubre de 2020];9. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6306458/>
50. Alshaikh, B., Schall, J. I., Maqbool, A., Mascarenhas, M., Bennett, M. J., & Stallings, V. A. Choline Supplementation Alters Some Amino Acid Concentrations with No Change in Homocysteine in Children with Cystic Fibrosis and Pancreatic Insufficiency [Internet]. [citado 2 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4841899/>
51. Gibson-Corley, K. N., Meyerholz, D. K., & Engelhardt, J. F. Pancreatic Pathophysiology in Cystic Fibrosis [Internet]. [citado 2 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4699289/>
52. Del Ciampo IRL, Oliveira TQ, Del Ciampo LA, Sawamura R, Torres LAGMM, Augustin AE, et al. Early manifestations of cystic fibrosis in a premature patient with complex meconium ileus at birth. *Rev Paul Pediatr.* junio de 2015;33(2):241-5.
53. Gorter, RR*; Karimi, A*; Sleeboom, C*; Kneepkens, CMF†; Heij, HA. Clinical and Genetic Characteristics of Meconium Ileus in Ne... : *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* [Internet]. [citado 2 de octubre de 2020]. Disponible en: https://journals.lww.com/jpgn/Fulltext/2010/05000/Clinical_and_Genetic_Characteristics_of_Meconium.20.aspx
54. Lavie M, Manovitz T, Vilozni D, Levy-Mendelovich S, Sarouk I, Weintraubv I, et al. Long-term follow-up of distal intestinal obstruction syndrome in cystic fibrosis. *World J Gastroenterol.* 7 de enero de 2015;21(1):318-25.
55. Van der Doef, H. P., Kokke, F. T., van der Ent, C. K., & Houwen, R. H. Intestinal Obstruction Syndromes in Cystic Fibrosis: Meconium Ileus, Distal Intestinal Obstruction Syndrome, and Constipation [Internet]. [citado 2 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3085752/>
56. Dalzell AM, Heaf DP, Carty H. Pathology mimicking distal intestinal obstruction syndrome in cystic fibrosis. *Arch Dis Child.* mayo de 1990;65(5):540-1.

57. Kobelska-Dubiel N, Klincewicz B, Cichy W. Liver disease in cystic fibrosis. *Prz Gastroenterol.* 2014;9(3):136-41.
58. Flass T, Narkewicz MR. Cirrhosis and other liver disease in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* marzo de 2013;12(2):116-24.
59. Feigelson J, Anagnostopoulos C, Poquet M, Pecau Y, Munck A, Navarro J. Liver cirrhosis in cystic fibrosis--therapeutic implications and long term follow up. *Arch Dis Child.* mayo de 1993;68(5):653-7.
60. Fabris, L., Fiorotto, R., Spirli, C., Cadamuro, M., Mariotti, V., Perugorria, M. J., Banales, J. M., & Strazzabosco, M. Pathobiology of inherited biliary diseases: a roadmap to understand acquired liver diseases [Internet]. [citado 2 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6661007/>
61. de Souza DAS, Faucz FR, Pereira-Ferrari L, Sotomaior VS, Raskin S. Congenital Bilateral Absence of the Vas Deferens as an Atypical Form of Cystic Fibrosis: Reproductive Implications and Genetic Counseling. *Andrology.* enero de 2018;6(1):127-35.
62. Taulan M, Girardet A, Guittard C, Altieri J-P, Templin C, Beroud C, et al. Large genomic rearrangements in the CFTR gene contribute to CBAVD. *BMC Med Genet.* 20 de abril de 2007;8:22.
63. Havasi V, Rowe SM, Kolettis PN, Dayangac D, Şahin A, Grangeia A, et al. Association of cystic fibrosis genetic modifiers with congenital bilateral absence of the vas deferens. *Fertil Steril.* noviembre de 2010;94(6):2122-7.
64. Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Fibrosis quística: Guía de práctica clínica y manual de procedimientos. [Internet]. Quito: El Telégrafo; 2013. Disponible en: <http://salud.gob.ec>
65. Gomez CCS, Marson FAL, Servidoni MF, Ribeiro AF, Ribeiro MÂGO, Gama VAL, et al. Evaluation of continuous constant current and continuous pulsed current in sweat induction for cystic fibrosis diagnosis. *BMC Pulm Med* [Internet]. 14 de septiembre de 2018 [citado 31 de julio de 2019];18. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6137935/>
66. Australasian Guideline (2nd Edition): an Annex to the CLSI and UK Guidelines for the Performance of the Sweat Test for the Diagnosis of Cystic Fibrosis [Internet]. [citado 2 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5759161/>
67. Mishra A, Greaves R, Massie J. The Relevance of Sweat Testing for the Diagnosis of Cystic Fibrosis in the Genomic Era. *Clin Biochem Rev.* noviembre de 2005;26(4):135-53.
68. Rueegg CS, Kuehni CE, Gallati S, Baumgartner M, Torresani T, Barben on behalf of the Swiss CF Screening Task Force J. One-Year Evaluation of a

Neonatal Screening Program for Cystic Fibrosis in Switzerland. *Dtsch Arztebl Int.* mayo de 2013;110(20):356-63.

69. Tridello G, Castellani C, Meneghelli I, Tamanini A, Assael BM. Early diagnosis from newborn screening maximises survival in severe cystic fibrosis. *ERJ Open Res* [Internet]. 20 de abril de 2018 [citado 2 de octubre de 2020];4(2). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5909061/>
70. Gartner S, Mondéjar-López P, Asensio de la Cruz Ó. Protocolo de seguimiento de pacientes con fibrosis quística diagnosticados por cribado neonatal. *Anales de Pediatría*. 1 de abril de 2019;90(4):251.e1-251.e10.
71. Hernández GG. Cribado neonatal de fibrosis quística. *An Pediatr Contin*. 1 de enero de 2014;12(1):34-8.
72. Philip M. Guidelines for Diagnosis of Cystic Fibrosis in Newborns through Older Adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report - The Journal of Pediatrics [Internet]. [citado 2 de octubre de 2020]. Disponible en: [https://www.jpeds.com/article/S0022-3476\(08\)00398-3/fulltext](https://www.jpeds.com/article/S0022-3476(08)00398-3/fulltext)
73. Barreiro Martínez T, Marín Soria JL. Fibrosis quística: detección bioquímica y diagnóstico molecular. *Laboratorio Clínico*. 1 de abril de 2015;8(2):82-91.
74. LAY-SON, G.VÁSQUEZ, M. PUGA, A. MANQUE, P. REPETTO, G. Secuenciación del gen CFTR en un grupo de pacientes chilenos con fibrosis quística [Internet]. [citado 2 de octubre de 2020]. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0370-41062014000400007&script=sci_arttext
75. Behar DM, Inbar O, Shteinberg M, Gur M, Mussaffi H, Shoseyov D, et al. Nationwide genetic analysis for molecularly unresolved cystic fibrosis patients in a multiethnic society: implications for preconception carrier screening. *Mol Genet Genomic Med*. 19 de febrero de 2017;5(3):223-36.
76. Watson MS, Cutting GR, Desnick RJ, Driscoll DA, Klinger K, Mennuti M, et al. Cystic fibrosis population carrier screening: 2004 revision of American College of Medical Genetics mutation panel. *Genet Med*. 2004;6(5):387-91.
77. Girardet A, Viart V, Plaza S, Daina G, De Rycke M, Des Georges M, et al. The improvement of the best practice guidelines for preimplantation genetic diagnosis of cystic fibrosis: toward an international consensus. *Eur J Hum Genet*. abril de 2016;24(4):469-78.
78. Genetics: Direct Comparison of Detection Systems Used for the Development of Single-Cell Genetic Tests in Preimplantation Genetic Diagnosis [Internet]. [citado 2 de octubre de 2020]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3455313/>
79. Scotet V, L'Hostis C, Férec C. The Changing Epidemiology of Cystic Fibrosis: Incidence, Survival and Impact of the CFTR Gene Discovery. *Genes (Basel)*

[Internet]. 26 de mayo de 2020 [citado 3 de octubre de 2020];11(6). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7348877/>

80. Pérez MM, Luna MC, Pivetta OH, Keyeux G. CFTR gene analysis in Latin American CF patients: Heterogeneous origin and distribution of mutations across the continent. *Journal of Cystic Fibrosis*. 1 de mayo de 2007;6(3):194-208.
81. Paz-y-Miño C, Pérez JC, Burgos R, Dávalos MV, Leone PE. The $\Delta F508$ mutation in Ecuador, South America. *Human Mutation*. 1999;14(4):348-50.
82. Valle ÉP, Burgos RI, Valle JR, Egas Béjar D, Ruiz-Cabezas J-C. Analysis of CFTR gene mutations and Cystic Fibrosis incidence in the Ecuadorian population. *Investigación Clínica [Internet]*. 2007 [citado 18 de enero de 2018];48(1). Disponible en: <http://www.redalyc.org/resumen.oa?id=372937666008>
83. Moya-Quiles MR, Glover G, Mondéjar-López P, Pastor-Vivero MD, Fernández-Sánchez A, Sánchez-Solís M. CFTR H609R mutation in Ecuadorian patients with cystic fibrosis. *Journal of Cystic Fibrosis*. 1 de julio de 2009;8(4):280-1.
84. Ortiz SC, Aguirre SJ, Flores S, Maldonado C, Mejía J, Salinas L. Spectrum of CFTR gene mutations in Ecuadorian cystic fibrosis patients: the second report of the p.H609R mutation. *Mol Genet Genomic Med*. 11 de octubre de 2017;5(6):751-7.
85. Paz-y-Miño C, Zambrano AK, Ruiz-Cabezas JC, Armendáriz-Castillo I, García-Cárdenas JM, Guerrero S, et al. Characterization of Ancestral Origin of Cystic Fibrosis of Patients with New Reported Mutations in CFTR. *Biomed Res Int [Internet]*. 29 de mayo de 2020 [citado 4 de octubre de 2020];2020. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7288203/>
86. Maiuri L, Raia V, Kroemer G. Strategies for the etiological therapy of cystic fibrosis. *Cell Death Differ*. noviembre de 2017;24(11):1825-44.
87. Aquino R, Protzel A, Rivera J, Abarca H, Dueñas M, Nestarez C, et al. Frecuencia de las mutaciones más comunes del gen CFTR en pacientes peruanos con fibrosis quística mediante la técnica ARMS-PCR. *Rev Peru Med Exp Salud Publica*. marzo de 2017;34:62-9.
88. Frecuencia de las mutaciones G85E y V754M en pacientes con diagnóstico clínico de fibrosis quística | Martínez Seoane | *Revista Cubana de Genética Comunitaria [Internet]*. [citado 15 de julio de 2020]. Disponible en: <http://revgenetica.sld.cu/index.php/gen/article/view/19/132>
89. Liu Q, Sabirzhanova I, Yanda MK, Bergbower EAS, Boinot C, Guggino WB, et al. Rescue of CFTR NBD2 mutants N1303K and S1235R is influenced by

the functioning of the autophagosome. *J Cyst Fibros.* septiembre de 2018;17(5):582-94.

90. Malambo D, Gómez D, Veloza L, Arbeláez J, Gómez C. Algunos aspectos hereditarios y ambientales en casos de fibrosis quística en la ciudad de Cartagena (Colombia). 2008;24(1):10-22.

ANEXOS

IX.1 Anexo 1

Gráfico 4. Árbol genealógico del paciente 1.

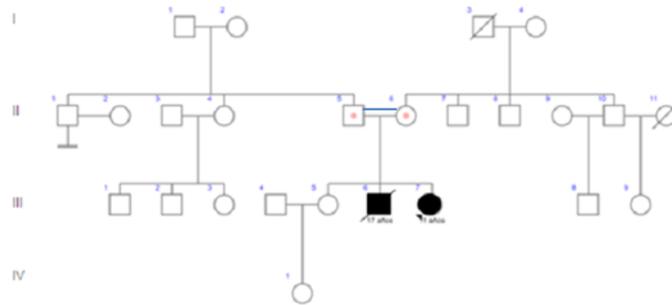


Gráfico 5. Árbol genealógico del paciente 2.

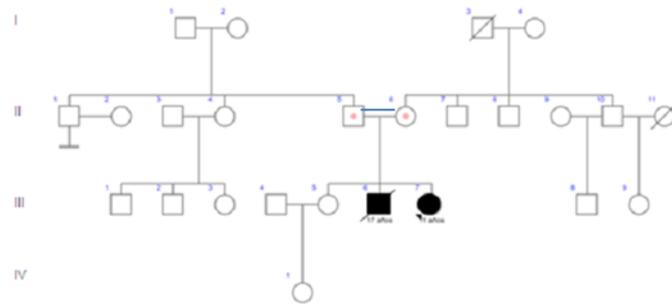


Gráfico 6. Árbol genealógico del paciente 3.

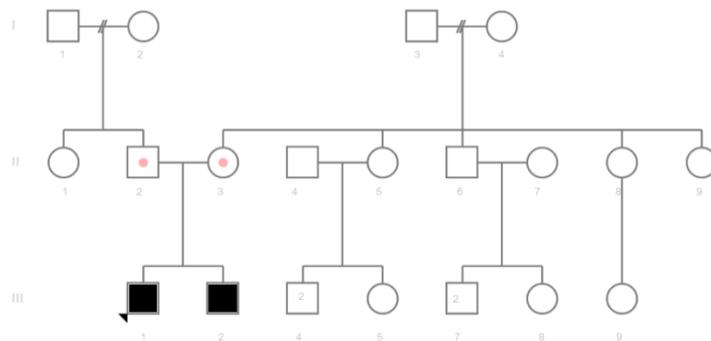


Gráfico 7. Árbol genealógico del paciente 4.

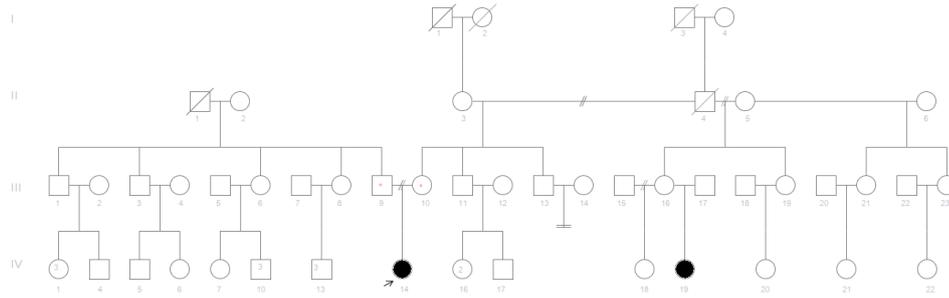


Gráfico 8. Árbol genealógico del paciente 5.

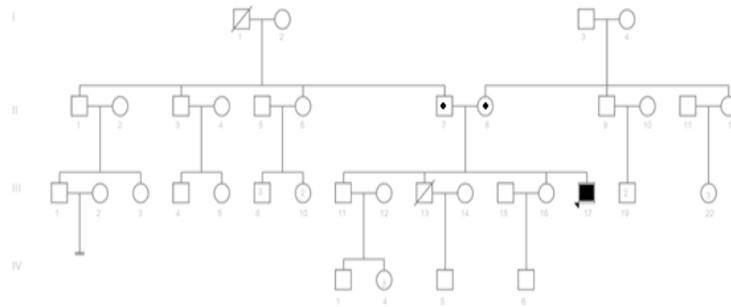


Gráfico 9. Árbol genealógico del paciente 6.

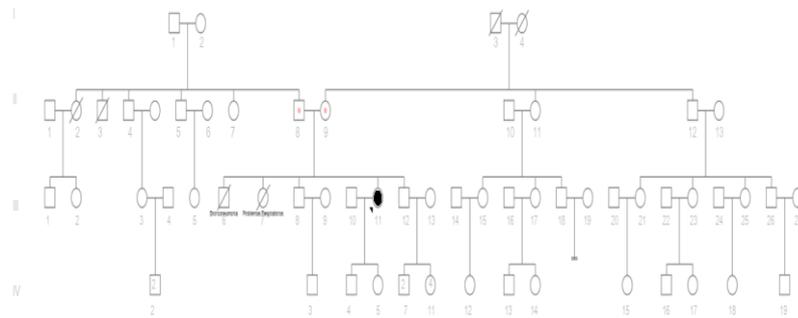


Gráfico 10. Árbol genealógico del paciente 7.

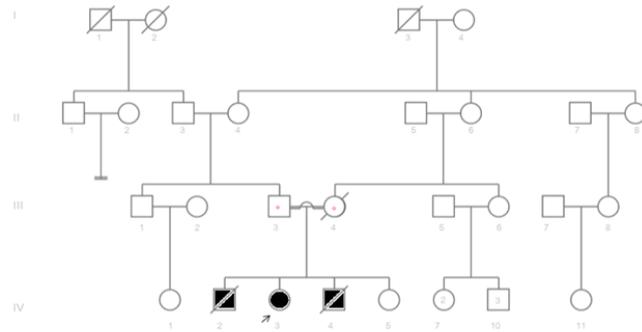


Gráfico 11. Árbol genealógico del paciente 8.

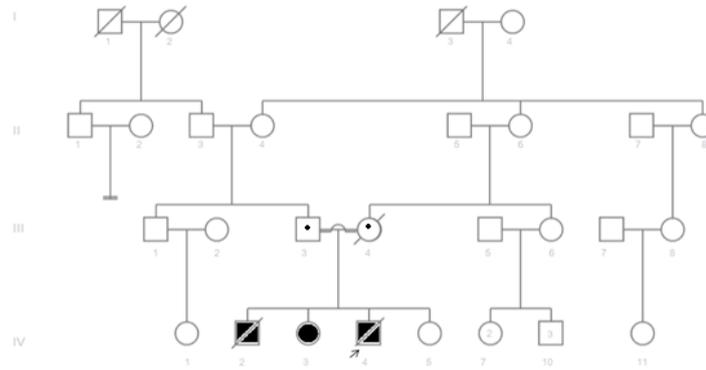
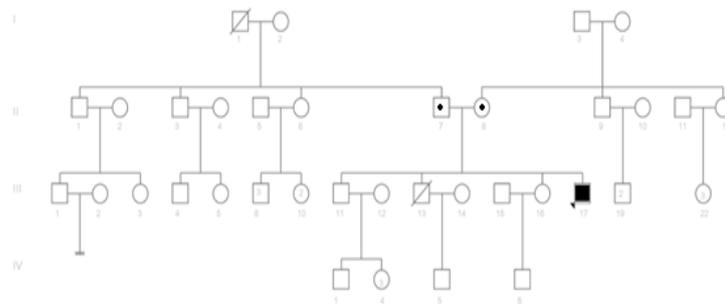


Gráfico 12. Árbol genealógico del paciente 9.

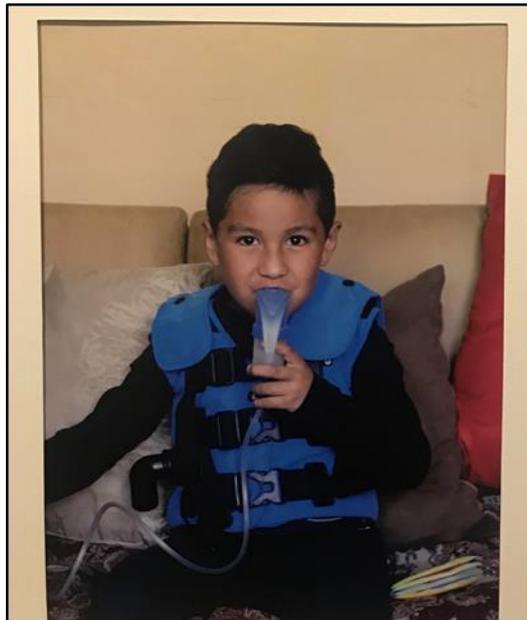


IX.2 Anexo 2

Fotografía 1. Paciente de 7 años con Fibrosis Quística. Fotografía obtenida y publicada con el consentimiento informado de su madre.



Fotografía 2. Paciente de 7 años con Fibrosis Quística. Fotografía obtenida y publicada con el consentimiento informado de su padre.



Fotografía 3. Paciente de 11 años con Fibrosis Quística. Fotografía obtenida y publicada con el consentimiento informado de su madre.



Fotografía 4. Padre de paciente con Fibrosis Quística de 7 años. Fotografía obtenida y publicada con el consentimiento informado

