

Jornadas Nacionales del Centenario  
de la Sociedad Argentina de Pediatría  
Gastroenterología, Hepatología y Nutrición Pediátricas

# FIBROSIS QUÍSTICA

Desde la sospecha clínica al  
diagnóstico genético

Dra. Hilda Lande  
Pediatra Gastroenteróloga  
Hospital de Niños Vilela - Rosario

# Fibrosis quística

Es la enfermedad genética severa más frecuente en la población caucásica cuyo patrón de herencia es autosómico recesivo

# Historia

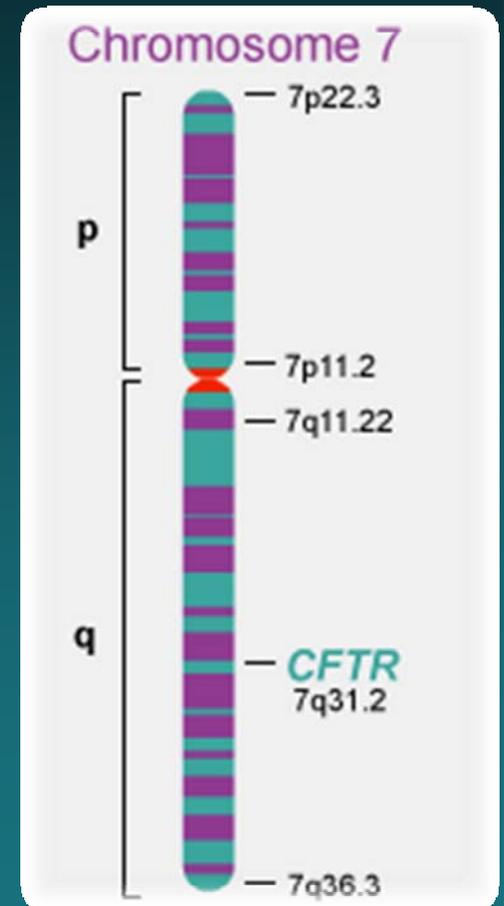
- **1705** lactantes salados → embrujados
- **1905** íleo meconial (Landsteiner)
- **1938** Andersen: 1ra. descripción
- **1950** Farber describe síndrome de secreciones espesas como "mucoviscidosis"
- **1956** Shwachman: puntaje
- **1959** Gibson y Cooke: método de test del sudor
- **1989** Rommers, Riordan y Kerem: secuenciación y clonación del gen

# Incidencia

- En el mundo:  
*1 cada 2500 nacidos vivos*
- En Latinoamérica:  
*se desconoce*
- En Buenos Aires:  
*1 en 6400 nacidos vivos*
- Portadores sanos  
*1 en 40*

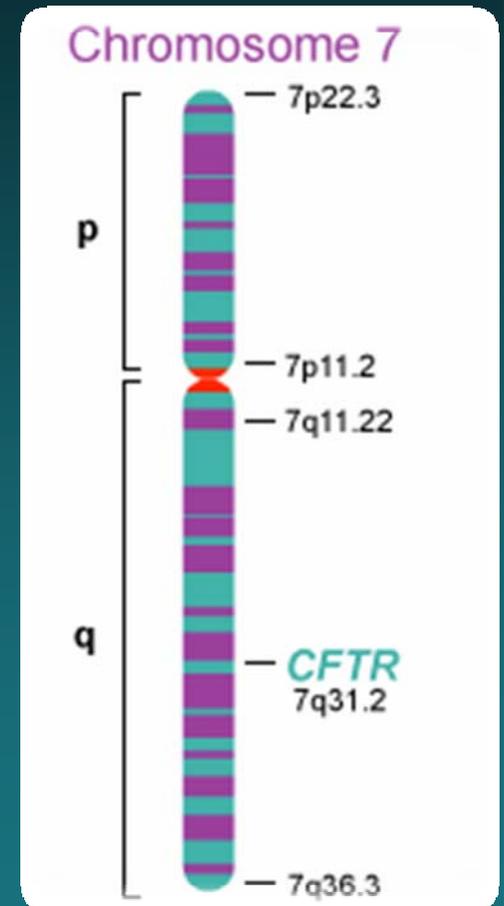
# Genética

- El gen alterado localiza en el brazo largo del cromosoma 7
- Forma parte del ATP binding cassette (ABCC7)
- Codifica para la síntesis ed proteína CFTR que funciona como canal de cloro dependiente de AMPc



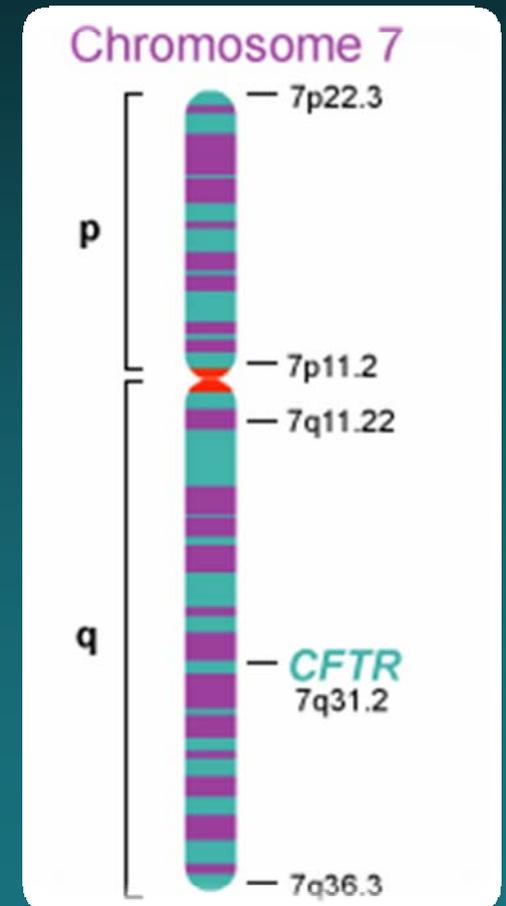
# Genética

- Mutación: alteración molecular en la secuencia de ADN de un gen
- Polimorfismo: variaciones en la secuencia que no causan enfermedad presentes en 1% de la población

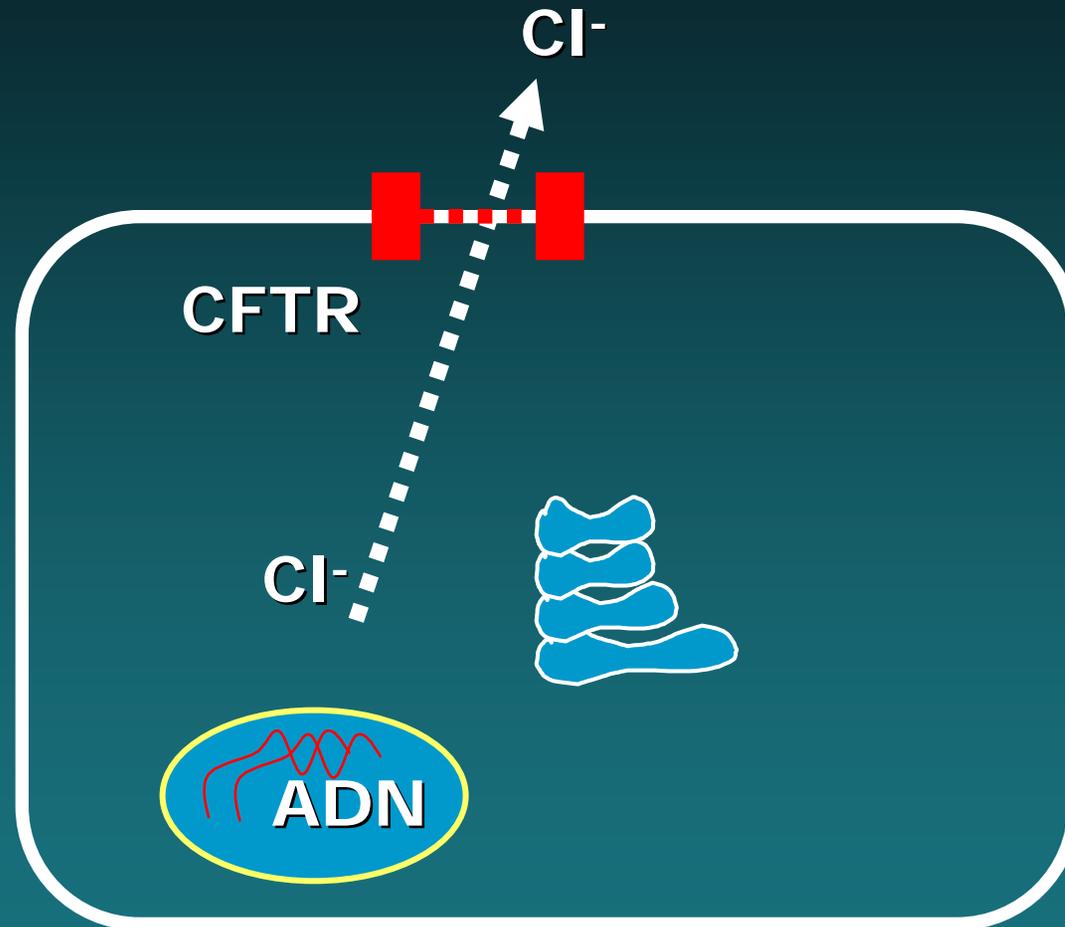


# Genética

- Se conocen más de 1700 mutaciones de las cuales 20 son relevantes.
- La  $\Delta F508$  es 2/3 del total a nivel mundial
- El resto se distribuye en distinta proporción según región y/o etnia



# Fisiopatogenia



Célula normal

# Fisiopatogenia

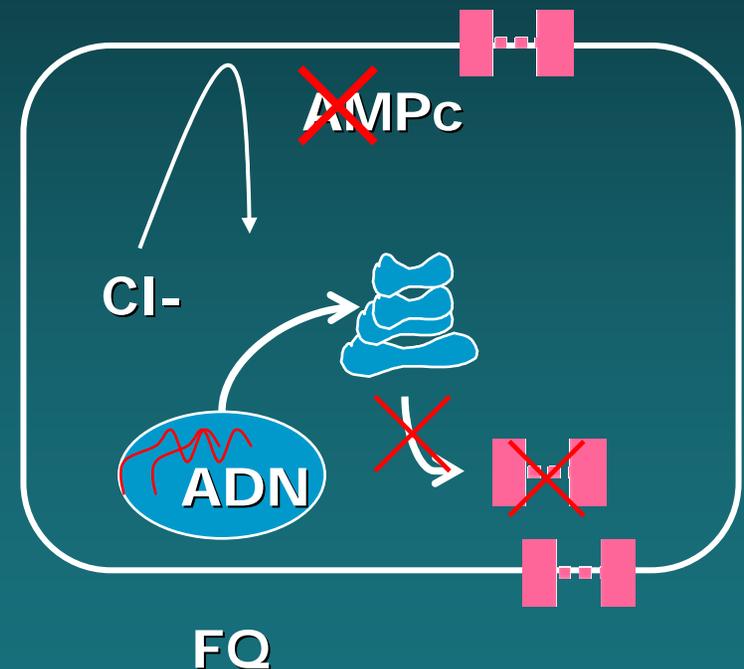
Clase I: La mutación existente hace que no se sintetice CFTR  
Ej: G542X; 394 de ITT; 1717-16A

Clase II: Existe una alteración en el procesamiento del CFTR  
Ej: N1303K;  $\Delta$  F508

Clase III: Hay un bloqueo en la regulación  
Ej: G551D

Clase IV: Alteración de la conductancia del cloro o la permeabilidad del canal  
Ej: R117H; R347P

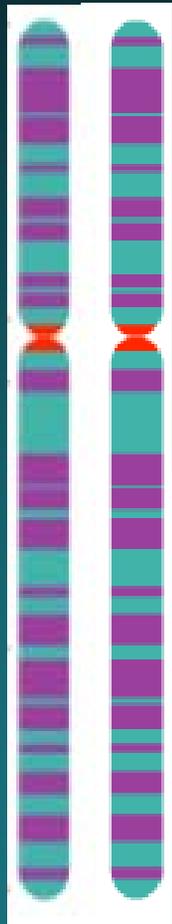
Clase V: Disminución en la síntesis.  
Ej: 3849+10kB C-T



Genotipo  
CFTR

Niveles fenotípicos  
intermedios CF

Fenotipo  
CFTR



Órgano

Pólipos  
nasales



Celular

Función celular  
anormal  
Histopatología



Enfermedad  
pulmonar

Funcional

Flujo de Cl<sup>-</sup> defectuoso  
relacionado con CFTR  
Regulación defectuosa de  
otros canales



Enfermedad  
hepática

Molecular

Transcripción defectuosa  
Traducción defectuosa  
Procesamiento intracelular  
defectuoso

Ileo meconial



Diabetes

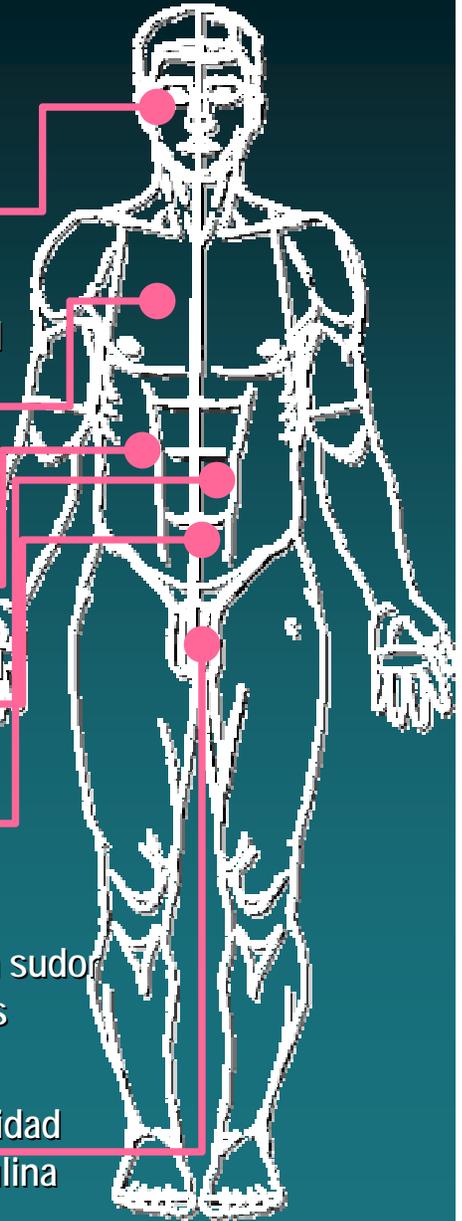
Insuficiencia  
pancreática



Electrolitos en sudor  
elevados



Infertilidad  
masculina



# Relación genotipo/fenotipo

El fenotipo FQ está determinado por:

- Tipo de mutaciones
- Genes modificadores(LEP:modula respuesta inflamatoria y estado nutricional)
- Estilo de vida
- Medio ambiente:tabaco, virus,etc
- Tratamiento

# Diagnostico de FQ (Cystic Fibrosis Foundation Panel)

Presencia de **uno o más** de los siguientes síntomas:

- Enfermedad respiratoria crónica
- Alteraciones gastrointestinales y nutricionales
- Síndrome de depleción salina con alcalosis metabólica
- Historia familiar positiva
- Azoospermia obstructiva
- TIR neonatal elevado

+

**2 test del sudor** elevados y/o **2 mutaciones** conocidas del gen FQ y/o **diferencia anormal de potencial nasal**

# Formas clínicas

- Desde el descubrimiento del gen CFTR se ha podido ver la gran heterogeneidad en las manifestaciones clínicas de FQ

Pre FQ

CF-like

FQ clásica o  
típica

**Formas  
clínicas**

Desórdenes  
relacionados al  
CFTR

FQ atípica

# PRE FQ

- Asintomáticos
- El diagnóstico llega por screening neonatal o por ser hermanos de FQ

# FQ CLASICA O TIPICA

- Una o más manifestaciones clínicas o fenotípicas de presentación temprana
- Con o sin suficiencia pancreática
- Curso clínico moderado a severo
- Test Sudor patológico

# FQ ATÍPICA O NO CLÁSICA

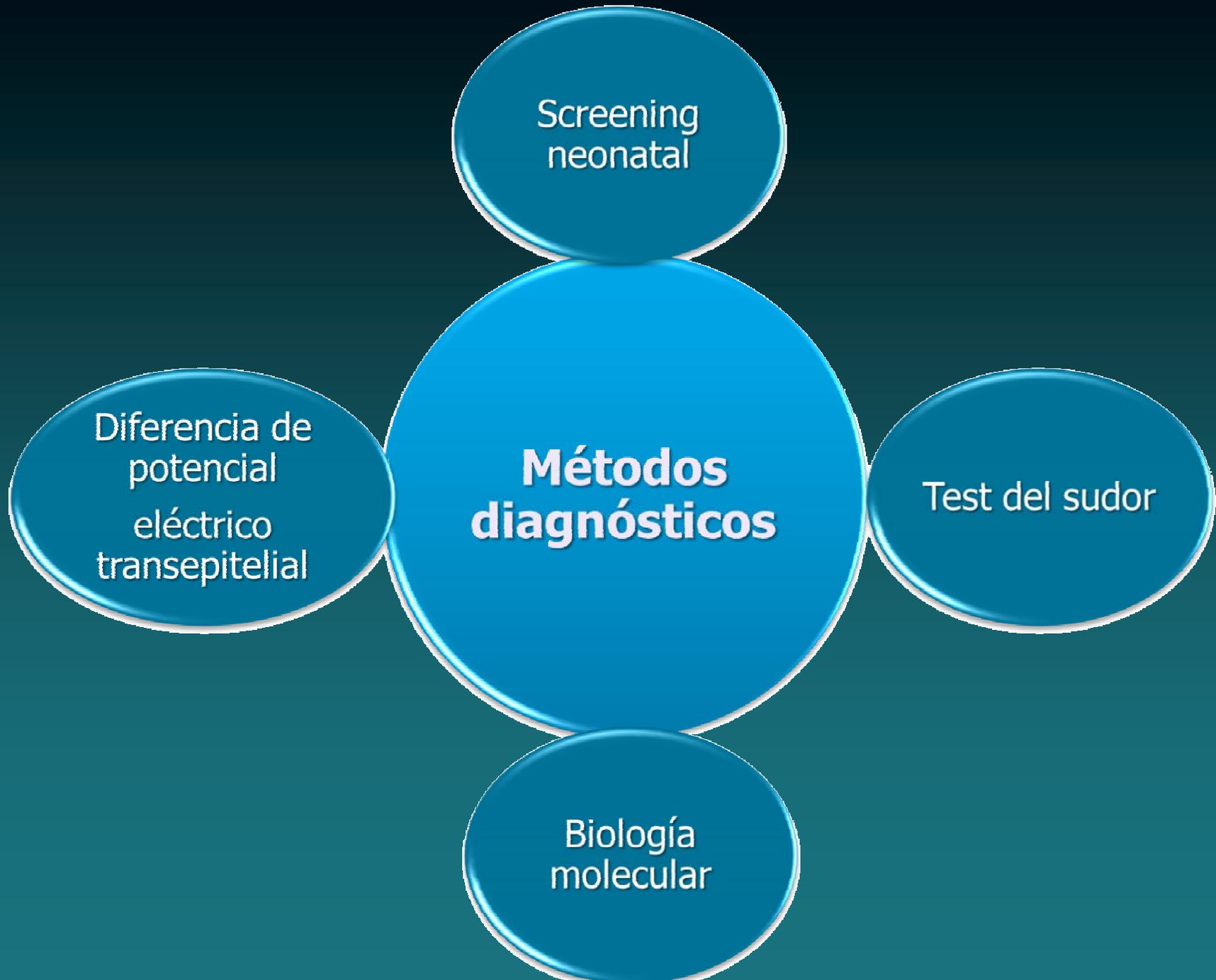
- Fenotipo FQ uni o multiorgánica
- Comienzo clínico más tardío y el curso suele ser leve a moderado con sobrevida más prolongada.
- Suficiencia Pancreática
- Test Sudor con valores de Cloro menores a 60meq/l (normal o border line)
- 2 alelos mutados y/o DPN alterada.

# CFTR- RELATED DISEASES

- Azoospermia obstructiva
- Bronquiectasias diseminadas
- Pancreatitis crónica idiopática
- Aspergilosis broncopulmonar alérgica
- Sinusitis crónica

+

1 MUTACION del CFTR



# Métodos Diagnósticos

## Pesquisa neonatal (screening)

- Obligatoria por Ley Nacional
- TIR (Autodelfia): hasta 70 nanogr/ml.
- Valores elevados de TIR suelen permanecer por varios meses en pacientes FQ
- En falsos + los valores de TIR se normalizan en 1ras. semanas de vida

# TIR falsos positivos (0,2-0,5 %)

- Hipertripsinemia neonatal transitoria
- Infecciones virales congénitas (pancreatitis por CMV)
- Trisomía 13, 18 y 21
- Hipoxia y mala perfusión del páncreas
- Insuficiencia renal
- Portadores de FQ (6% de  $\Delta$  F508)

## TIR falsos negativos (0 - 20%)

- Ileo meconial 30% falsos negativos.
- Importante la **sospecha clínica**.

# Métodos Diagnósticos

## Test del sudor

- Método cuantitativo de electrolitos (cloro) por iontoforesis con pilocarpina:
  - Procedimiento de Gibson y Cooke (colorimétrico)
  - Procedimiento por conductividad.

# Test sudor: Gibson y Cooke

## Valores normales

- Recién nacido: Hasta 30 meq/l
- A partir del mes: 40 meq/l.  
Valores borderline: entre 40 y 60 meq/l (3-5 % del total TS efectuados).  
Valores positivos: mayor de 60 meq/l.
- Las concentraciones de electrolitos en sudor se incrementan con la edad pero se carece de intervalos de referencia confiables en población sana
- Clin Biochem Rev 2007, 28:60-76, Mishra y col
- J Pediatrics 2008, 153:758-63, Mishra y col



# Sweat-Testing: A Review of Current Technical Requirements

M. Beauchamp, BSc and L.C. Lands, MD, PhD\*

**Summary.** Sweat-testing remains a key component of the diagnostic workup for cystic fibrosis. However, it is technically challenging, especially in young children. This review covers technical aspects related to the devices and protocols associated with conducting successful tests. **Pediatr Pulmonol. 2005; 39:507–511.** © 2005 Wiley-Liss, Inc.

**Key words:** sweat-testing; cystic fibrosis; Macroduct; Gibson-Cooke; conductivity; reference values; false positives; false negatives.

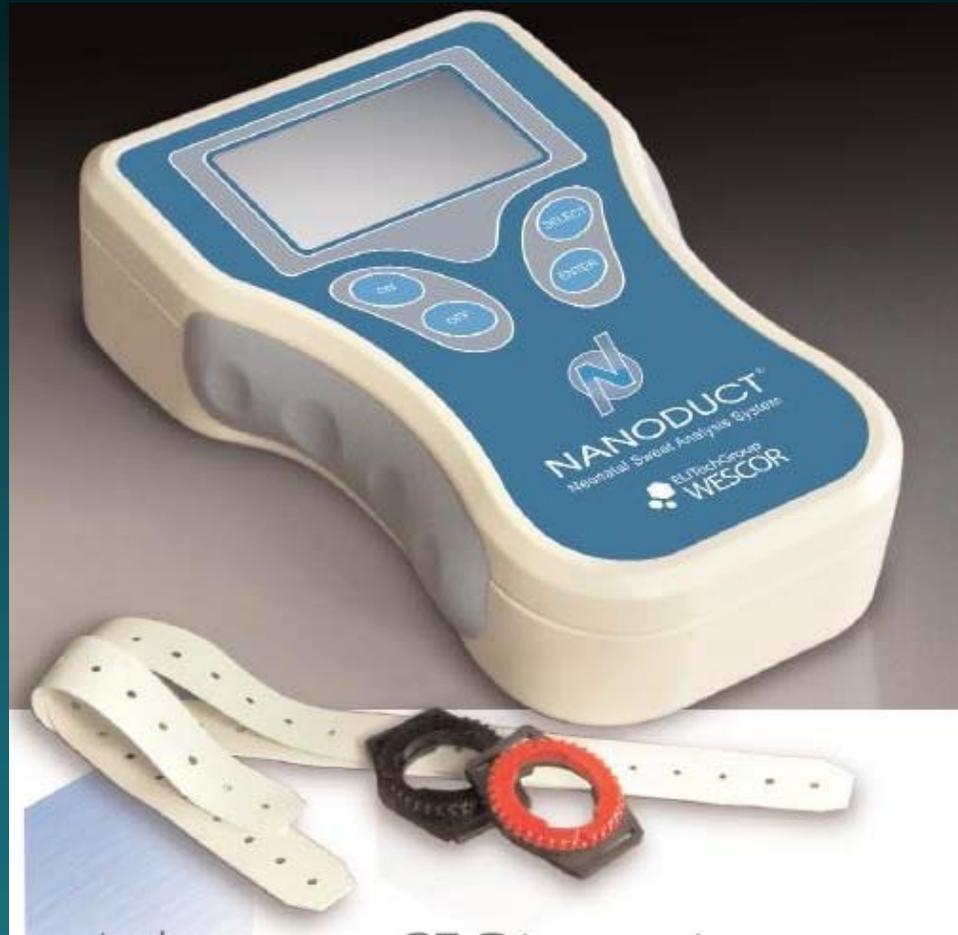
# Metodo cuantitativo de cloruros por conductividad

- MACRODUCT (MCS-Wescor Sweat Check-Orion, Scandipharm)
- NANODUCT  
Mide conductividad en el sudor que esta determinada por cloruros, lactato y bicarbonato, por eso valores normales son 15 mmol/l superiores.
- Es método de screening → Valores mayores a 50 deben ser remitidos para el método cuantitativo de Gibson y Cooke

# Ventajas/Desventajas Nanoduct

- Menor volumen requerido de sudor (3  $\mu$ l sudor)
- Determinación inmediata , útil para RN en neo
- Desventaja > Precio: en Suiza alrededor de 26 euros

Eur J Pediatr(2008)167:299-304 research Group, Berne, Switzerland  
Ann Clin Biochem 43: 375-381, Losty HC, Wheatley H, 2006



# Diagnóstico diferencial de electrolitos elevados en sudor

- Desnutrición
- Dermatitis atópica
- Displasia ectodérmica
- Hipotiroidismo
- Hipoparatiroidismo familiar
- Insuficiencia adrenal
- Glucogenosis tipo I
- Mucopolisacaridosis
- Fucosidosis
- Inmunodeficiencia común variable

# Test del sudor: falsos negativos

- Edema
- Tratamiento con corticoides
- Algunas mutaciones del gen CFTR (R 117H, A455E, G551S, D1152H, 3849 + 10KbC-T).

# Métodos Diagnósticos

## Análisis molecular

- Panel comercial con mutaciones más frecuentes para determinado país y/o etnia. Debe abarcar 70% o más de las mutaciones prevalentes en esa población.
- Amplificación por PCR de regiones con predisposición a mutaciones del gen CFTR, seguido de secuenciación de los segmentos obtenidos
- Secuenciación completa del gen

# Mutaciones causantes de CF

- Causa un cambio en la secuencia de aminoácidos que afecta severamente síntesis y/o función del CFTR
- Introduce una señal de terminación prematura (inserción, delección o mutación sinsentido)
- Altera los nucleótidos invariantes de los sitios de splicing de intrones

# Ventajas del análisis molecular

- Confirmación del diagnóstico
- Detección de portadores asintomáticos
- Definición genotípica de la familia para asesoramiento genético
- Predicción de ciertas características fenotípicas
- Implementación de terapias farmacológicas específicas al tipo de mutación.

# Ventajas del análisis molecular

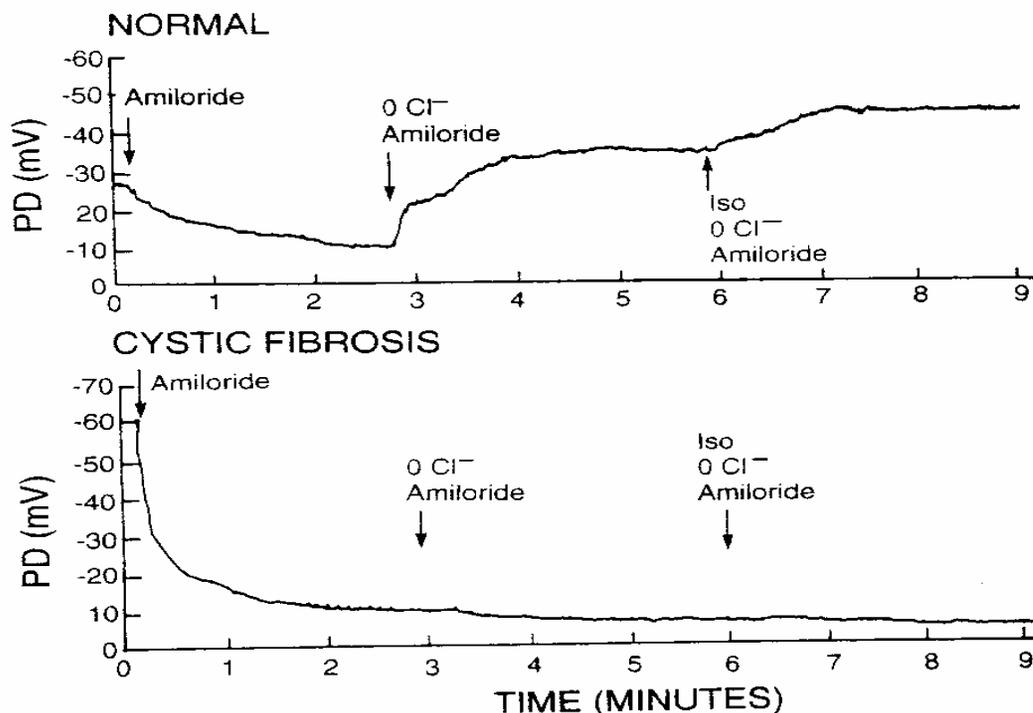
- Categorización de pacientes para protocolos de investigación e inclusión en futuras estrategias terapéuticas.
- Diagnostico prenatal.

# Diferencia potencial eléctrico transepitelial

- Diferencia Potencial Nasal
- Diferencia Potencial Rectal

## Diferencia potencial nasal

- Perfusión de epitelio nasal con AMILORIDE e ISOPROTERENOL.
- Patrones de DPN en FQ:
  - 1) Mayor negatividad de línea de base
  - 2) Gran cambio durante perfusión con amiloride
  - 3) Mínimo cambio ante perfusión de isoproterenol/solución libre de cloro



**Figure.** Nasal PD tracing in a normal subject (top panel) and a patient with CF (bottom panel). Tracings illustrate response of PD to perfusion with amiloride ( $10^{-4}$  mol/L), addition of a Cl<sup>-</sup>-free solution (gluconate buffer) to amiloride, and addition of isoproterenol ( $10^{-5}$  mol/L) to the Cl<sup>-</sup>-free solution containing amiloride (see text).

certain patients with CF will carry an unidentified mutation, even when test sensitivity approaches 95%. These patients will have to be diagnosed by using other measures of CFTR dysfunction (sweat test or nasal potential difference testing). Perhaps the most difficult diagnostic situation facing the clinician is the patient with clinical features consistent with CF but a nondiagnostic sweat test result and only one identified CF mutation. In such cases, evaluation involves weighing the possibility that the individual is a carrier of a CF mutation against the possibility that the patient has atypical CF. Nasal PD testing and ancillary laboratory tests (see below) may be particularly helpful for this group of patients. If CFTR dysfunction cannot be demonstrated by any method (sweat test, mutation analysis, or nasal PD), a definitive diagnosis cannot be made, and the decision to monitor or treat the patient rests on the strength of that individual's clinical presentation.

In summary, in individuals with clinical features consistent with CF, identification of two known CF mutations by a Clinical Laboratory Improvement Amendment-accredited DNA diagnostic laboratory confirms the diagnosis. Individuals with one CF mutation should be diagnosed on

# Diferencia potencial nasal

- A partir de 1er. mes de vida
- Requiere colaboración del paciente
- Inflamación de mucosa nasal invalida resultados
- Requiere de 2 determinaciones en días distintos
- Valores diferentes entre FQ clásica y no clásica
- Es diagnóstica de enfermedad y permite evaluar la eficacia del tratamiento farmacológico molecular





## Intestinal current measurements to diagnose cystic fibrosis

Martin J. Hug<sup>a,\*</sup>, Burkhard Tümmler<sup>b</sup>

<sup>a</sup>*Institute of Physiology II- Nanolab, University of Münster, D-48149 Münster, Germany*

<sup>b</sup>*Klinische Forschergruppe, OE 6711, Medizinische Hochschule Hannover, D-30625 Hannover, Germany*

---

### Abstract

Electrophysiological techniques are essential for the diagnosis of cystic fibrosis. In the past ten years intestinal current measurements has emerged as valuable tool for this purpose. This overview highlights the objectives, methodology and current protocols to diagnose cystic fibrosis by intestinal current measurement on rectal biopsies.

© 2004 European Cystic Fibrosis Society. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.

*Keywords:* Intestinal current measurements; Ussing chamber

---

The diagnosis of cystic fibrosis (CF) is based on the clinical interpretation of the phenotypic features and further confirmed by the well-established sweat test and mutational analysis. However, an increasing number of patients does

study differences between biopsies obtained from CF patients and non-CF individuals. In the early 1990s, the CF research group at the Erasmus University in Rotterdam<sup>1</sup> applied ICM to colonic biopsies of a wide array of patients

# PROBLEMAS/DILEMAS DIAGNOSTICOS

- TIR elevado con TS normal y 1 alelo mutado
- TIR elevado con TS normal o border-line, sintomatología respiratoria inespecifica y 1 alelo mutado o ninguno.
- Clinica respiratoria compatible con FQ con TS normal o borderline + 1 alelo mutado o ninguno

# Conclusiones

- FQ es enfermedad de diagnóstico eminentemente clínico con espectro muy amplio de expresión fenotípica determinando diferentes expectativas en calidad de vida y supervivencia
- Diagnóstico de FQ conlleva implicancias a nivel emocional, seguros de salud, posibilidad de empleo, fertilidad y relaciones interpersonales por lo que resulta necesario que la comunidad médica y la población conozcan nuevas terminologías que mejor la caracterizan

# Conclusiones

- TEST del Sudor continúa siendo GOLD STANDARD para el diagnóstico
- DPN es muy útil para las formas clínicas atípicas y su práctica debería difundirse en los centros de atención de pacientes FQ

# Conclusiones

- Pesquisa neonatal es pilar fundamental en el diagnóstico temprano lo que repercute en mejor sobrevida. La sospecha clínica debe mantenerse ante la importante tasa de falsos negativos
- El análisis molecular del CFTR per se no establece ni excluye el diagnóstico, éste debe ser interpretado en el contexto clínico del paciente considerando sus antecedentes familiares, etnia y región



¡Muchas gracias!