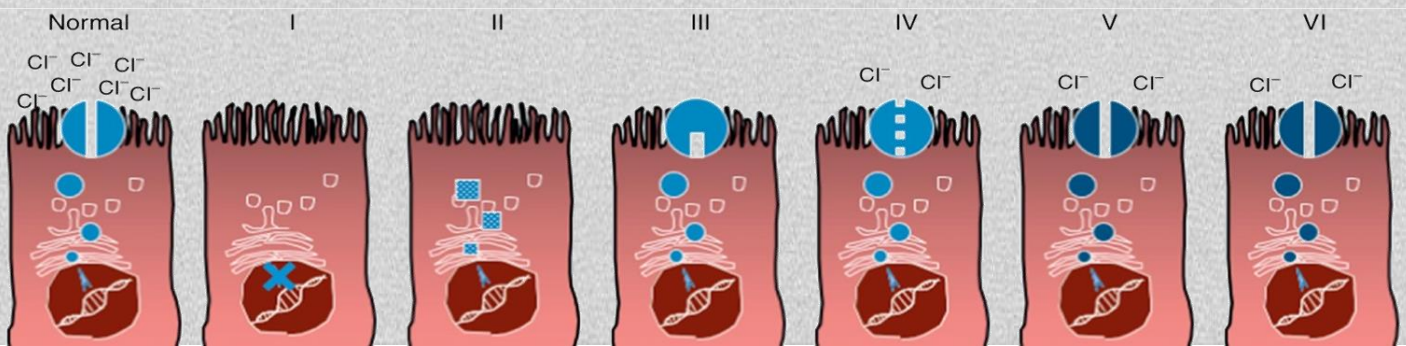


Bases Bioquímicas y Avances en la Terapia de la

FIBROSIS QUÍSTICA

Nuria Romero Losada
Facultad de Farmacia
Universidad de Sevilla





- **Universidad de Sevilla**
- **Facultad de Farmacia**
- **TRABAJO FIN DE GRADO**
- **GRADO EN FARMACIA**
- **TÍTULO: “Bases Bioquímicas y Avances en la Terapia de la Fibrosis Quística”**
- **AUTORA: Nuria Romero Losada**
- **DEPARTAMENTO: Departamento de Bioquímica y Biología Molecular**
- **LUGAR Y FECHA DE PRESENTACIÓN: Sevilla, julio de 2017**
- **TUTOR: D. Martiniano Santiago Pavón. Catedrático de Universidad**
- **TIPOLOGÍA DEL PROYECTO: Revisión bibliográfica**

RESUMEN

La fibrosis quística (FQ) es un trastorno autosómico recesivo monogénico que afecta a unas 70 000 personas en todo el mundo. Las manifestaciones clínicas de la enfermedad son causadas por defectos en la proteína de la conductancia transmembrana (CFTR) de la fibrosis quística. El descubrimiento del gen CFTR en 1989 ha llevado a una comprensión precisa de cómo miles de mutaciones en el gen CFTR afectan a la estructura y la función de la proteína CFTR que es un canal aniónico de cloro regulado por AMPc. Cuando está ausente o su actividad se reduce, el transporte de cloruro y bicarbonato se reduce, lo que da lugar a secreciones viscosas, obstrucción y el posible daño a distintos órganos. En la última década, se ha avanzado mucho en el tratamiento de esta enfermedad con el desarrollo de fármacos, biodisponibles por vía oral, que actúan sobre las proteínas CFTR defectuosas causadas por mutaciones específicas. Además, existe un considerable optimismo acerca de la perspectiva de la sustitución de genes o las terapias de edición para corregir todas las mutaciones en la fibrosis quística. Las recientes aprobaciones de los principios activos ivacaftor y lumacaftor representan el comienzo de una nueva era de la medicina de precisión en el tratamiento de esta enfermedad. Estos fármacos están teniendo un impacto positivo en la vida de las personas con fibrosis quística y son potencialmente modificadores de la enfermedad. Esta revisión bibliográfica proporciona una actualización sobre los avances en nuestra comprensión de la estructura y función del CFTR, con un enfoque en el estado de las nuevas y emergentes terapias de la fibrosis quística.

Palabras clave: Fibrosis quística, tratamiento, CFTR, mutación, bioquímica, genética.

ÍNDICE

I- Introducción.....	3
II- Objetivos de la revisión.....	4
III- Metodología.....	4
IV-Resultados y discusión.....	5
1. Epidemiología.....	5
2. Gen CFTR.....	7
3. Proteína CFTR.....	8
3.1. Estructura y Función.....	8
3.2. Mutaciones.....	9
4. Sintomatología.....	12
5. Diagnóstico.....	17
6. Tratamiento.....	20
6.1. Convencional.....	20
6.1.1. Antibioterapia.....	20
6.1.2. Fisioterapia respiratoria.....	21
6.1.3. Tratamiento dietético.....	22
6.1.4. Otros.....	23
6.2. Medicamentos actuales y futuros.....	24
6.2.1. Moduladores CFTR.....	24
A) Potenciadores CFTR.....	25
B) Correctores CFTR.....	26
C) Terapias de combinación.....	26
6.2.2. Tecnología genética.....	28
A) Terapia de reemplazo génica.....	28
B) Edición del genoma.....	29
V- Conclusiones.....	30
VI-Bibliografía.....	31

I- INTRODUCCIÓN

La Fibrosis Quística (FQ) es una enfermedad genética, crónica y multisistémica, también conocida como mucoviscidosis. Es la enfermedad de carácter hereditario y de transmisión autosómica recesiva más grave y frecuente dentro de la población de raza caucásica. Se produce por una mutación en un gen ubicado en el brazo largo del cromosoma siete, el cual se encarga de codificar una proteína de 1.482 residuos de aminoácidos denominada Regulador de la Conductancia Transmembrana de la Fibrosis Quística (CFTR: Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator) (Macneill et al., 2015).

El CFTR, regulado por adenosin monofosfato cíclico (AMPc), se encarga de regular e intervenir en el transporte de electrolitos a través de la membrana celular. Para ello funciona como un canal de iones cloro (Cl⁻). Concretamente se localiza en la membrana apical de las células epiteliales secretoras y de absorción de los tejidos exocrinos del sistema respiratorio, digestivo, genital y de las glándulas sudoríparas. Una disfunción en dicha proteína genera un desequilibrio en la concentración de iones dando lugar a que las glándulas exocrinas segreguen un moco espeso y viscoso con una concentración de NaCl superior al rango normal, que obstruye los conductos del órgano en que se localiza, conduciendo a infecciones pulmonares especialmente serias de *Pseudomonas sp.* Además existe una infiltración masiva de neutrófilos que liberan elastasa, que inhibe las antiproteasas pulmonares, contribuyendo a la destrucción tisular. Adicionalmente, los neutrófilos desgranulantes liberan grandes cantidades de ácidos nucleicos y proteínas de la matriz del citosol que contribuyen a la hiperviscosidad del moco.

La enfermedad afecta a un amplio número de órganos, siendo los pulmones y el páncreas los más gravemente afectados, que conducen a la muerte en el 90% de los pacientes, por lo que se les considera los mejores indicadores tanto del pronóstico como de la mortalidad de la enfermedad (Sojo y Bousoño, 2011).

En el tracto gastrointestinal (TGI), los tapones mucosos obstruyen los canalículos del páncreas y el conducto de la vesícula biliar, impidiendo que las enzimas y el flujo biliar entren en el duodeno, lo cual provoca malabsorción y alteraciones de la digestión. Además, el Síndrome de Obstrucción Intestinal Distal (SOID), que es distintivo de la FQ, suele darse especialmente en aquellos pacientes con insuficiencia pancreática. Se caracteriza por la obstrucción ileocecal debido a la acumulación de grandes masas fecales, que da lugar a la característica distensión abdominal. También hay desequilibrio de los minerales en la sangre debido a una pérdida extra de sal en el sudor que conduce a deshidratación, arritmias, fatiga, debilidad, golpe de calor y en raras ocasiones la muerte.

Hasta hace poco, los tratamientos médicos para la fibrosis quística se dirigían exclusivamente a los órganos con secuelas específicas de la enfermedad subyacente. En las vías respiratorias, se usa dornasa alfa inhalada (Fuchs et al., 1994), solución salina hipertónica (Elkins et al., 2006), y manitol para mejorar el aclaramiento mucociliar de las vías respiratorias. Los antibióticos inhalados se utilizan para reducir la infección bacteriana (McCoy et al., 2008) y los antibióticos macrólidos orales, junto a altas dosis de ibuprofeno se utilizan para reducir la inflamación (Saiman et al., 2010). Durante la década pasada, las tecnologías avanzadas han permitido enfoques de cribado de alto rendimiento (HTS) para el descubrimiento de fármacos que han producido compuestos de moléculas pequeñas biodisponibles oralmente, actuando sobre el defecto subyacente.

II- OBJETIVOS DE LA REVISIÓN

Realizar una revisión bibliográfica actualizada de los avances en nuestra comprensión de la estructura y función del gen CFTR, con un enfoque en el desarrollo de fármacos dirigidos a la proteína CFTR (Tabla 1).

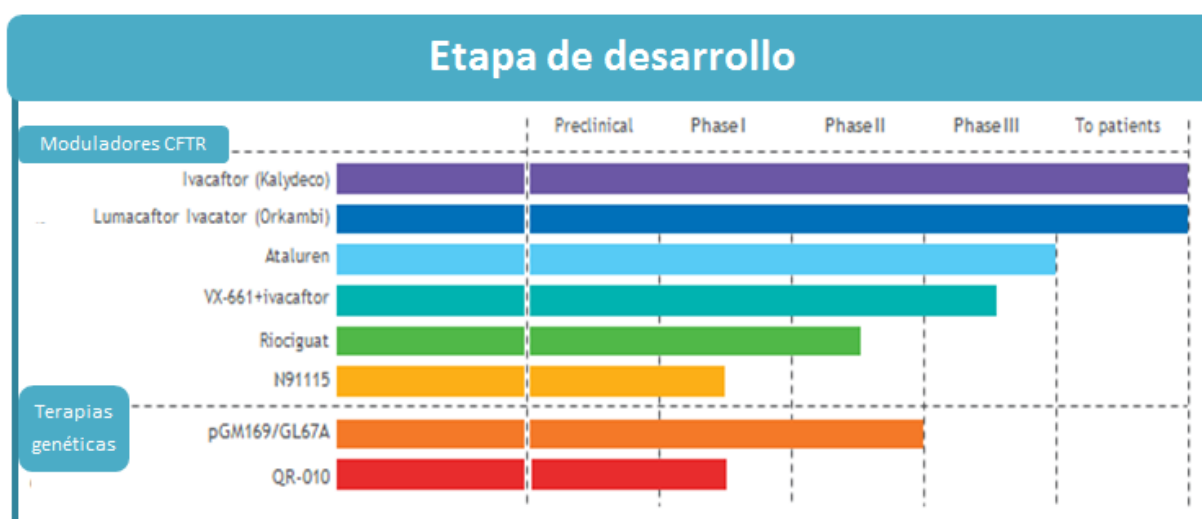


Tabla 1. Estado del desarrollo de los principales fármacos dirigidos a la proteína CFTR

III- METODOLOGÍA

En este trabajo bibliográfico se han consultado diversos tipos de fuentes:

- Libros de texto de Bioquímica.
- Artículos científicos.
- Páginas webs.

Ya que el tema del trabajo se conoce desde hace poco tiempo, se ha optado por la búsqueda y utilización de artículos tanto originales, donde se describió por primera vez el gen, como revisiones y artículos más recientes publicados en los últimos años. La búsqueda de artículos se ha realizado a través de una parte de la Biblioteca Nacional de Medicina de Estados Unidos llamada NCBI (The National Center for Biotechnology Information) y en las bases de datos PubMed (proporciona información para los consumidores y los médicos en la prevención y tratamiento de enfermedades y sus condiciones) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>) y OMIM (Online Mendelian Inheritance in Man; que es un compendio exhaustivo de los genes humanos y fenotipos genéticos, de acceso libre y que es actualizado diariamente) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>).

SciELO (<http://www.scielo.org/php/index.php?lang=es>). Drug information portal (<https://druginfo.nlm.nih.gov/drugportal/>).

Además, se han utilizado herramientas como DeCS (Descriptores en Ciencias de la Salud) (<http://decs.bvs.br/E/homepagee.htm>) para optimizar la búsqueda en las diferentes bases de datos.

Para ello hemos introducido las palabras clave en inglés: “Cystic fibrosis”, obteniéndose en la base de datos PubMed un total de 46.332 artículos.

Para reducir el número de resultados introdujimos como filtros que fuesen artículos de revisión y la fecha de publicación se limitó a los últimos 2 años. Más tarde, se fueron añadiendo palabras concretas en el buscador como “treatmen“, “gene“, “therapy“, “CFTR” y “diagnosis”. Una vez leídos los resúmenes de los artículos se seleccionaron aquellos que nos parecieron más relevantes por su relación con el tema de este trabajo.

IV- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Epidemiología.

Hay alrededor de 70.000 casos en todo el mundo y aproximadamente 1.000 nuevos casos se añaden cada año con una prevalencia que varía según la ubicación y el origen étnico de las personas. Es más común en los caucásicos de ascendencia europea septentrional y, por lo tanto, su prevalencia es más alta en Europa, Norteamérica y Australia (~ 1/3.000 nacimientos). La prevalencia es mucho más baja en el Medio Oriente (Bahrein 1/6.000), Sudamérica (Brasil 1/7.000), África (Sudáfrica 1/12.000) y Asia (Japón 1/350.000) (Macneill et al., 2015).

En el caso de España ésta se estima en 1 afectado por cada 5.000 recién nacidos vivos, la siguiente tabla (Tabla 2) muestra la incidencia en algunos de los países del ámbito europeo.

Tabla 1. Incidencia de la Fibrosis Quística en Europa.	
PAIS	INCIDENCIA (RNV)
Finlandia	1/25.000
Noruega	1/6.500
España	1/5.000
Dinamarca	1/4.700
Francia	1/4.000
Suecia	1/4.000
Holanda	1/3.600
Italia (Verona)	1/2.730
Reino Unido	1/2.500
Suiza	1/2.000
Irlanda	1/1.461
Fuente: Federación Española de Fibrosis Quística.	

Se trata de una enfermedad autosómica recesiva, es decir, para que se manifieste la enfermedad en un individuo es necesario que ambos progenitores sean portadores sanos de dicha enfermedad. En una pareja de portadores, el riesgo para su descendencia de padecer la enfermedad es de un 25%, siendo un 25% la probabilidad de hijos sanos y un 50% de hijos portadores. A nivel mundial, se estima una frecuencia de 1 portador sano por cada 25 personas (Fig. 1) (Guggino y Banks-Schlegel, 2014).

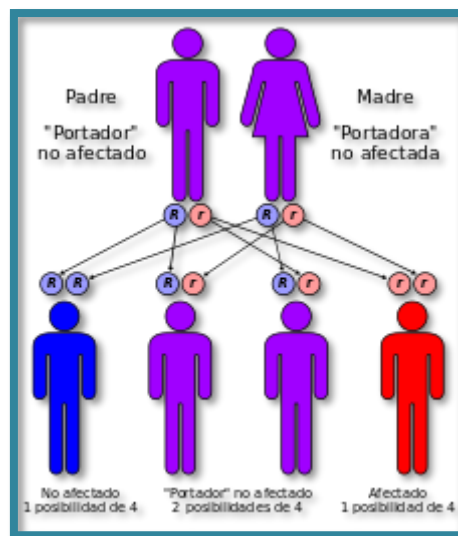


Fig. 1. Esquema de herencia del gen de la FQ

En España, se estima que la incidencia es de 1 portador sano por cada 35 habitantes.

En el año 2016, la prevalencia en Europa fue de 7.4 afectados por cada 100.000 habitantes.

La esperanza de vida es muy variable, depende del tipo de mutación y la gravedad de las manifestaciones de la enfermedad, principalmente las relativas al sistema pulmonar y pancreático que suelen ser las más severas, pero, en los últimos años, se ha incrementado notablemente gracias a un mejor conocimiento de la fisiopatología de esta enfermedad y al tratamiento multidisciplinario, partiendo de una esperanza de vida media que no superaba los 10 años de edad en torno a 1960 y llegando a alcanzar los 40 años en la actualidad.

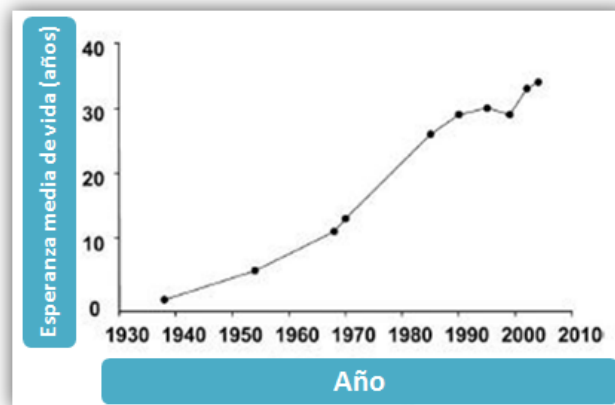


Fig. 2. Gráfica representativa del aumento de la esperanza de vida en pacientes con FQ en los últimos años.

Además, debido a la mejor calidad de las intervenciones médicas y la atención integral, hay un notable aumento en el porcentaje de pacientes (29,2% en 1986 a 49,7% en 2013) que sobrevive por encima de los 18 años.

2. Gen CFTR

El gen de la FQ (CFTR), está localizado en 7q31.2, es decir, en el cromosoma 7, brazo largo, región 3, banda 1.2 (Fig. 3) (Orenstein et al., 2002).

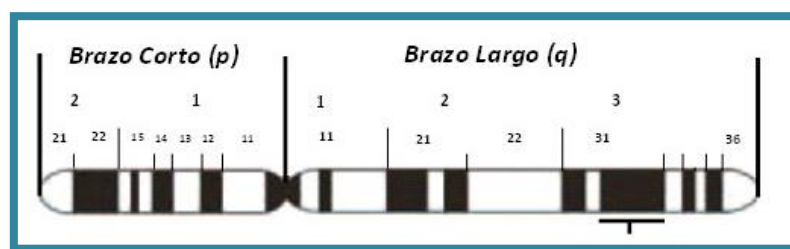


Fig. 3. Cromosoma 7.

Este gen se denomina gen regulador de la conductancia transmembrana de la Fibrosis Quística (CFTR). Está compuesto por 27 exones y 26 intrones y abarca 188.704 kb en el genoma. Codifica una proteína glicosilada de 1.480 residuos de aminoácidos, aproximadamente 6.130 nucleótidos, la cual actúa como un canal de cloro. Cada individuo hereda un gen CFTR de cada progenitor, por lo que al ser una enfermedad recesiva solo se manifestará si existe una mutación perjudicial en ambos genes. Si dicha mutación es la misma en ambos genes CFTR, entonces es homocigótico para esa mutación, si por el contrario son mutaciones distintas en cada gen CFTR, se denomina heterocigótico compuesto para ambas mutaciones. En el caso de que un único gen CFTR tuviera una mutación perjudicial el individuo sería únicamente portador de la FQ y estaría sano.

3. Proteína CFTR

3.1 Estructura y función

El CFTR es un miembro de la familia de las proteínas transportadoras ABC (del inglés ATP binding cassette), caracterizado por dos dominios transmembrana, que anclan la proteína a la membrana celular y que están compuestos por hélices alfa que atraviesan la membrana, formando el poro del canal y con dos dominios de unión a nucleótidos que se unen e hidrolizan ATP, denominados NBD1 y NBD2. A diferencia de otros transportadores ABC, CFTR tiene un dominio que regula la apertura y el cierre del canal. (Riordan, 2008) La fosforilación del dominio regulador por la proteína quinasa A, seguida por la unión de ATP y su hidrólisis por los dominios de unión a nucleótidos (Hwang et al., 2009) conduce a la dimerización de los dominios de unión a nucleótidos y al cambio conformacional de los dominios transmembrana para permitir la apertura del poro del canal CFTR (fig. 4) (Kanelis et al., 2010).

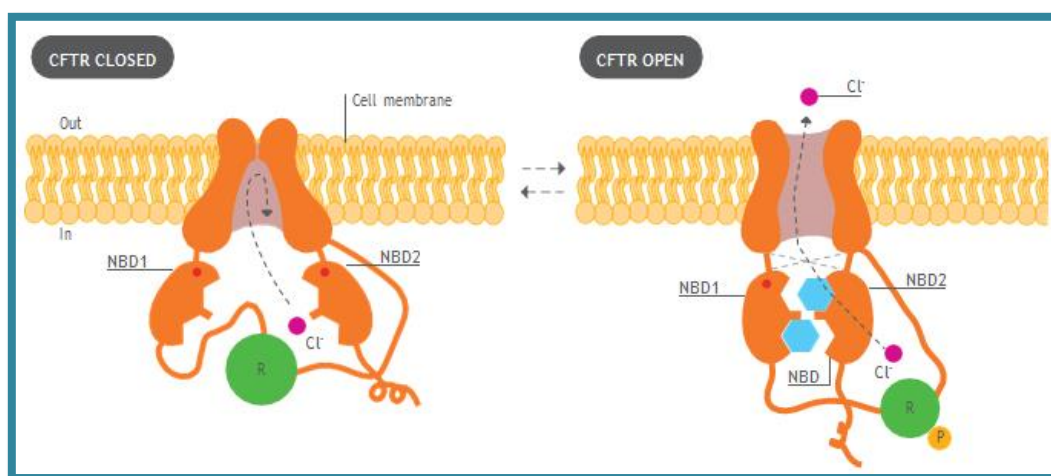


Fig. 4. Ilustración del canal cerrado y abierto de la proteína CFTR.

El papel principal de la proteína CFTR es el transporte de aniones (como el cloruro y el bicarbonato) a través de la membrana apical de las células epiteliales, creando así un gradiente osmótico para la secreción de fluidos (Quinton, 1990). La ausencia o disfunción del CFTR produce secreciones deshidratadas y espesas que obstruyen los conductos recubiertos de epitelio (como vías respiratorias y conductos biliares y pancreáticos), dando lugar al daño tisular.

El volumen reducido de líquido de la superficie de las vías respiratorias causa un deterioro del aclaramiento mucociliar y la obstrucción de las vías respiratorias pequeñas y medianas con las secreciones viscosas (Cantin et al., 2015). Las anormalidades inherentes del moco de la fibrosis quística que aumentan su viscosidad y adhesión a la superficie epitelial también afectan a los pulmones y otros órganos. Esto crea un círculo vicioso de retención de moco, infección e inflamación, lo que perpetúa aún más los daños en las vías respiratorias.

Además de los impedimentos en el aclaramiento mucociliar, hay fuerte evidencia de que la disfunción CFTR en sí misma lleva a defectos inmunes innatos y adaptativos que resultan en el aclaramiento bacteriano comprometido y en la inflamación desregulada (Birket et al., 2014) (Hoegger et al., 2014)

3.2 Mutaciones

Desde su descubrimiento en 1989 (Kerem et al., 1989), se han descubierto un total de 2.019 mutaciones para el gen CFTR según la base de datos de mutaciones de la Fibrosis Quística. A pesar de la diversidad alélica en este gen causante de la enfermedad, el 85-90% de las personas caucásicas con fibrosis quística llevan al menos una copia de la mutación F508del (c.1521_1523delCTT) (deleción de tres bases que codifican fenilalanina en la posición 508^a).

Anteriormente, las personas con fibrosis quística fueron genotipadas sólo para confirmar el diagnóstico o para predecir la gravedad de la enfermedad (McKone et al., 2003), pero con la aprobación reciente de los tratamientos específicos para cada mutación, la información genotípica se considera esencial.

Para entender las terapias moleculares nuevas y emergentes, es necesario un conocimiento básico de la estructura y función del CFTR y cómo las diversas clases mutacionales conducen a la disfunción del canal iónico.

Las mutaciones del CFTR pueden clasificarse en seis categorías según los mecanismos que causan síntesis o función aberrante de CFTR (fig. 3) (Haardt et al., 1999) (Antunovic et al., 2013)

- Clase I: incluye aquellas mutaciones que provocan defectos en la síntesis de proteínas CFTR funcionales, esto es debido a alteraciones en la transcripción del ARNm, cuyo origen son mutaciones en los codones de detención o mutaciones que provocan cambios en la pauta de lectura del ARN (inserciones y deleciones). Esto da lugar a la ausencia de síntesis o la síntesis de proteínas CFTR anormales de estructura inestable. Se da en el 2-5% de los casos de todo el mundo.
- Clase II: incluye aquellas mutaciones que provocan defectos en el procesamiento de la proteína, lo que conduce a una localización aberrante, dando lugar a proteínas CFTR anormales que no logran madurar ni plegarse adecuadamente, por lo que pierden resistencia y son degradadas rápidamente. Incluye la mutación F508del, que es la más común.
- Clase III: incluye aquellas mutaciones que producen anormalidades en la regulación, dando lugar a proteínas CFTR que maduran correctamente y llegan a la membrana apical de la célula, pero que provocan alteraciones en la regulación del canal de cloro, produciendo una disminución de su actividad. También incluye otras mutaciones especialmente en el ámbito regulador. G551D es la mutación de clase III más común.
- Clase IV: incluye aquellas mutaciones que provocan defectos en la conductancia, dando lugar a proteínas CFTR que presentan propiedades conductoras defectuosas debido a mutaciones en el poro de conducción que modifican el flujo del ion cloruro. La mutación más común es R117H.
- Clase V: incluye aquellas mutaciones que provocan defectos parciales en la producción o el procesamiento, dando lugar a una producción deficiente de proteínas CFTR funcionales. Por tanto, incluye a todas las mutaciones mencionadas anteriormente, de la clase I a la clase IV, cuando no tienen una afectación completa.
- Clase VI: son las mutaciones descubiertas más recientemente y dan lugar a una menor estabilidad de CFTR en la superficie celular, lo que conduce a un aumento de la rotación proteica.

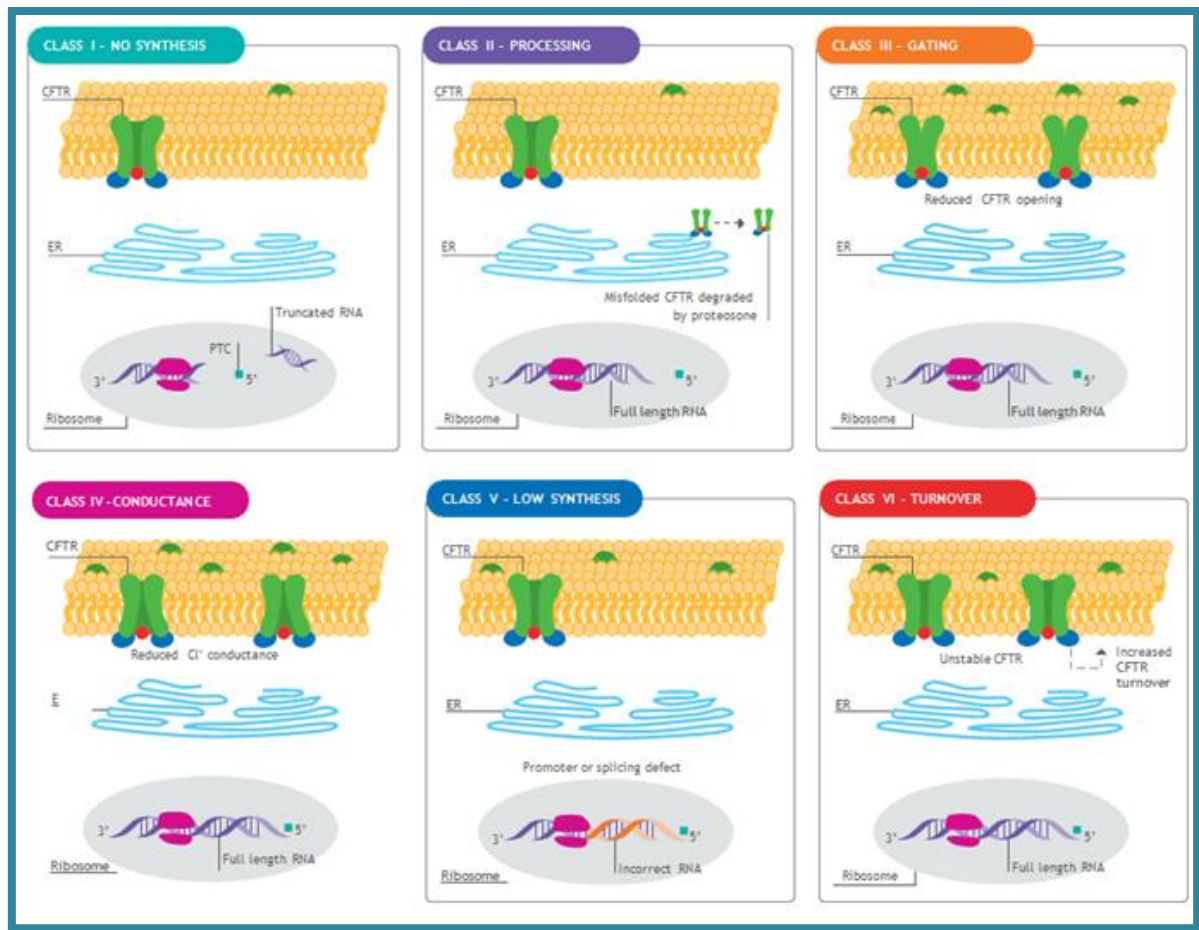


Fig. 5. Clases de mutaciones del gen CFTR según el mecanismo que causa déficit de síntesis o de función de la proteína.

Los pacientes portadores de mutaciones de clase I-III tienen niveles bajos de actividad CFTR (<10% de lo normal), por lo que manifiestan una forma más grave de la enfermedad, presentando una afectación pulmonar severa e insuficiencia pancreática, dando lugar a lo que se conoce como fibrosis quística clásica. En cambio, las personas que poseen al menos un alelo con mutaciones de clase IV, V y VI con función residual (> 10% de lo normal) son consideradas de menor gravedad (McKone et al., 2003).

La mutación más común, perteneciente a la clase II, según su nomenclatura HGVS es c.1521_1523delcTT (p.Phe508del) y según su nomenclatura clásica es $\Delta F508$ (F508del). Representa el 70% de los alelos causantes de la enfermedad en los Estados Unidos y el norte de Europa. Aproximadamente el 50% de los pacientes con FQ son homocigóticos y el 90% son heterocigotos para esta mutación. En la mayor parte de las regiones se pueden encontrar otras mutaciones con frecuencias de entre el 1% y el 2%, entre las que destacan mutaciones como c.1624G>T (p. Gly542*), c.1652G>A (p. Gly551Asp), c.1657C>T (p. Arg553*), c.3846G>A (p. Trp1282*) y c.3909C>G (p. Asn1303Lys).

A su vez, también se pueden ver mutaciones con el mismo rango de frecuencias, entre el 1% y el 2%, que son específicas de determinadas etnias. Todas estas mutaciones constituyen el 85-95% de todos los genes CFTR mutados, el 15%-5% restante lo constituyen aquellas mutaciones raras que se dan en una familia en concreto (Bombieri et al., 2011). En la siguiente tabla (Tabla 3) se muestran las mutaciones más comunes y la frecuencia con que se presentan.

Nombre	Frecuencia* %		Consecuencia
$\Delta F508$	66.3	(72.1 - 31.6)	Delección de Phe en el codón 508
G542X	2.6	(7.5 - 1.4)	Gly \Rightarrow stop en el codón 542
W1282X	2.2	(45.9 - 0.24)	Trp \Rightarrow stop en el codón 1282
G551D	1.9	(3.1 - 0.2)	Gly \Rightarrow Asp en el codón 551
621+1G \Rightarrow T	1.3	(1.6 - 0.3)	Mutación de <i>splicing</i>
N1303K	1.3	(2.8 - 0.35)	Asn \Rightarrow Lys en el codón 1303
R553X	1.2	(2.8 - 0.8)	Arg \Rightarrow stop en el codón 553
$\Delta I507$	0.9	(1.9 - 0.2)	Delección de Ile en el codón 507
3849+10KbC \Rightarrow T	0.8	(5.3 - 0.2)	<i>Splicing</i> aberrante
3120+1G \Rightarrow T	0.8	(9.6 - 0.1)	Mutación de <i>splicing</i>
R117H	0.5	(0.7 - 0.06)	Arg \Rightarrow His en el codón 117
1717- 1G \Rightarrow A	0.4	(0.7 - 0.3)	Mutación de <i>splicing</i>

Tabla 3. Mutaciones más frecuentes del gen CFTR.

4. Sintomatología

Originariamente, la FQ era calificada como una enfermedad muy severa de origen genético que producía manifestaciones tales como malabsorción intestinal, diarrea crónica, malnutrición e infecciones respiratorias recurrentes. En cambio, en la actualidad se la considera una enfermedad que produce un amplio número de manifestaciones clínicas que pueden comenzar a cualquier edad y expresarse de forma atípica.

- **Aparato Respiratorio.**

Constituyen las manifestaciones más graves de esta enfermedad, siendo un claro indicador de su morbilidad y su pronóstico. Fruto de la enfermedad respiratoria se va produciendo un progresivo deterioro de los pulmones desembocando en insuficiencia respiratoria y causando finalmente, el 90% de los fallecimientos por FQ (Gentzsch et al., 2010).

Como manifestaciones respiratorias de las **vías altas** destacan:

- Sinusitis: aparece en el 95% de los pacientes aproximadamente, con sintomatología de obstrucción nasal, ronquidos o rinorrea purulenta durante la infancia y de cefalea intensa durante la adolescencia y la edad adulta.
- Pólipos nasales: afecta entre el 10% y el 36% de los pacientes con FQ, destacan los ronquidos y la obstrucción nasal como síntomas principales, aunque un amplio porcentaje de los afectados permanecen asintomáticos.

Las manifestaciones respiratorias de las **vías bajas** se dividen por grupos de edad:

- Lactantes: lo común es que se inicien con tos seca y dificultad respiratoria, bronquiolitis. En otras ocasiones se inician con tos productiva paroxística emetizante, igual que en la tosferina. En ambas situaciones, mediante auscultación pulmonar, se determina la gravedad de los síntomas, tanto de la obstrucción bronquial (sibilancias) como de la presencia de placas de moco (crepitaciones). Así mismo, mediante radiografía de tórax también se observa la hiperinsuflación pulmonar característica e infiltrados alveolares.
- Preescolares y escolares: durante estas etapas se desarrollan infecciones respiratorias recurrentes, asma de evolución tórpida o tos crónica con expectoración, destacando la obstrucción de las pequeñas vías aéreas como alteración inicial. La hipoxia, la infección y la inflamación originan acropaquias (hipertrofia en las zonas distales del cuerpo, especialmente en los dedos de las manos) observables mediante la exploración física. Además, mediante radiografía de tórax se observan bronquiectasias.
- Adolescentes y adultos: durante estas etapas se producen neumonías de forma recurrente o bronquitis crónica, las cuales ocasionan el desarrollo de bronquiectasias que evolucionan en insuficiencia respiratoria. Mediante espirometría, con el aumento gradual de la obstrucción, se observa la alteración progresiva del volumen espiratorio máximo en el primer segundo (FEV1), constituyendo el parámetro principal para determinar la evolución de la enfermedad. Las bronquiectasias son observables radiológicamente, apareciendo en el 100% de los afectados. En las fases más avanzadas se desarrollan zonas de colapso, consolidaciones o bullas. Casi todos los pacientes sufren exacerbaciones de la enfermedad pulmonar crónica fruto del deterioro respiratorio continuado. Dichas exacerbaciones se caracterizan por aumento de la tos, cambios en el aspecto y el volumen del esputo, disnea, disminución de la actividad, pérdida de apetito y peso, alteraciones en la auscultación y en las imágenes radiológicas y un destacable deterioro de la actividad pulmonar.

En el inicio de la enfermedad los patógenos más comunes son *Haemophilus influenzae* y posteriormente, el *Staphylococcus aureus*. Después, con el avance de la enfermedad, la bacteria más frecuente es la *Pseudomonas aeruginosa*, la cual es indicadora del progreso del deterioro pulmonar. Además, también existen otros patógenos de relevancia como *Sternotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* y *Alcaligenes xylosoxydans* (Kimura et al., 2011).

Como consecuencia de las manifestaciones respiratorias anteriormente comentadas existen una serie de **complicaciones** derivadas, entre las que destacan las siguientes:

- Atelectasias: disminución de la expansión pulmonar. Afecta entre el 5% y el 10% de los pacientes, generalmente adultos. Se origina por una obstrucción de la vía aérea debido a tapones de secreciones espesas o por una aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA).
- Hemoptisis: expectoración de sangre que procede de las vías respiratorias. El 60% de los pacientes adultos presentan hemoptisis leve de manera recurrente asociándose a las exacerbaciones pulmonares. Por otra parte, la hemoptisis masiva aparece en un 1% de los pacientes, siendo necesaria una embolización arterial de urgencia
- Neumotórax: presenta una incidencia del 10%, la cual se incrementa progresivamente con la edad. Se origina por la ruptura de las bullas subpleurales que aparecen fruto de la afectación pulmonar durante la edad adulta. Se manifiesta con un dolor torácico intenso de aparición brusca y dificultad respiratoria.
- Aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA): afecta entre el 10 y el 20% de los pacientes. Se trata de una respuesta de hipersensibilidad alérgica al *Aspergillus fumigatus* que produce obstrucción de las vías respiratorias, infiltrados pulmonares, eosinofilia y fiebre.
- Insuficiencia respiratoria: constituye la manifestación más grave de la enfermedad y es signo de un estado avanzado de la misma y se trata mediante oxigenoterapia. Se inicia con hipoxemia seguida de hipercapnia. Fruto del progresivo deterioro que causa y de los efectos del tratamiento aparece hipertensión pulmonar y el Cor pulmonale (insuficiencia del lado derecho del corazón), las cuales si no se estabilizan y controlan pueden derivar en trasplante pulmonar.

- **Sistema pancreático**

Dentro de las manifestaciones debidas a la afectación pancreática destacarían:

- Insuficiencia pancreática: el páncreas exocrino es el encargado de producir y segregar el jugo pancreático compuesto por agua, bicarbonato y las enzimas amilasa, proteasa, colipasa, lipasa y fosfolipasas. Como consecuencia de las mutaciones originadas en el CFTR se producen alteraciones en esta función desarrollando insuficiencia pancreática, la cual afecta aproximadamente al 85% de los enfermos de FQ. También se ve modificada la lipólisis de los triglicéridos, debido al déficit de lipasa y al medio ácido en el duodeno que la inactiva. Junto a esto, se altera la formación de micelas, por déficit de colipasa y de sales biliares.
- Malabsorción: como consecuencia de la insuficiencia pancreática se produce una malabsorción de las grasas que deriva en un déficit en la absorción de vitaminas liposolubles, tales como las vitaminas A, D, E y K, siendo la vitamina E la más afectada. En la población con FQ se produce la pérdida entre un 10 y un 12% de ácidos biliares por las heces siendo ésta de un 1% en la población en general, lo que demuestra la alteración de la circulación enteropática de los ácidos biliares y convierte a la esteatorrea en el mayor indicador de la malabsorción.
- Pancreatitis: afecta al 1%, aproximadamente, y se da sobre todo en adultos y adolescentes con mutaciones en las que se desarrollan pocas manifestaciones de la FQ. En esta patología se produce la inflamación del páncreas y destacan dolor intenso en la parte superior del abdomen, vómitos y náuseas como síntomas principales.
- Diabetes mellitus: fruto del progresivo deterioro del páncreas se va desarrollando una disminución de la tolerancia a la glucosa que ocasiona, con el tiempo, la aparición de diabetes mellitus. Casi el 20% de las personas con fibrosis quística desarrollan diabetes a los 30 años, aumentando acorde disminuye el número de células beta. Esto hace necesario realizar anualmente una prueba de tolerancia oral a la glucosa. El síntoma más común que se manifiesta es la hiperglucemia, siendo poco frecuente la cetoacidosis, destacando los cambios microvasculares en retina y riñones como complicaciones principales.

- **Glándulas Sudoríparas.**

La manifestación más característica de la FQ y, generalmente, la primera en ser detectada, es el sabor salado que presenta la piel en los afectados por esta enfermedad, debido a la elevada concentración de sal (NaCl) en el sudor, apareciendo incluso, cristales de sal en la piel en días muy calurosos.

En condiciones normales, el sudor constituye una solución isotónica con el plasma, el cual es secretado en el ducto de la glándula sudorípara. El ducto es impermeable al agua y en él se reabsorben el cloro y el sodio del sudor, originando una solución hipotónica con bajas concentraciones de ambos en los sujetos sin FQ. Sin embargo, en los individuos afectados por la enfermedad el ducto permanece impermeable al cloro, provocando la acumulación de éste y secundariamente la del sodio en el sudor.

La elevada concentración de sal en el sudor afecta, aproximadamente, al 98% de los enfermos de FQ y da lugar a manifestaciones típicas de épocas con altas temperaturas. Destaca en primer lugar la postración por calor, la cual cursa con deshidratación hiponatrémica aguda con hipotensión. Se produce por una gran ingesta de agua acompañada de grandes pérdidas de sal (NaCl), típicas de una sudoración profusa durante una ola de calor. En segundo lugar, y con menor frecuencia, destaca la alcalosis hipoclorémica crónica producida por la pérdida progresiva de sal, comenzando con apatía o irritabilidad, vómitos, pérdida de peso y rechazo a la comida.

- **Sistema Digestivo.**

Las manifestaciones digestivas están relacionadas principalmente con la afectación pancreática, siendo la diarrea, la desnutrición y el retraso en el desarrollo los síntomas más comunes.

Dentro de las manifestaciones del intestino destacarían:

- Íleo meconial: entre el 7-10% lo de los recién nacidos con FQ. Meconio con alto grado de viscosidad que ocluye la luz intestinal total o parcialmente. Constituye una de las primeras manifestaciones que aparece en los afectados de FQ.
- Síndrome de obstrucción intestinal distal (SOID): afecta al 20% de los enfermos de FQ, principalmente a adolescentes y a adultos. Sus principal síntoma es el estreñimiento, pudiéndose palpar grandes masas fecales en el abdomen y siendo causante de la oclusión del colon ascendente y/o el íleon terminal. Produce la característica distensión abdominal.
- Reflujo gastro-esofágico (RGE): debida a la posición de Trendelenburg que se adopta durante la fisioterapia respiratoria, a las crisis de tos recurrentes, al uso de broncodilatadores que disminuyen el tono del cardias, así como a la disminución de la motilidad del tracto digestivo.

- **Sistema hepatobiliar.**

Dentro de la afectación hepatobiliar destacarían:

- Patología hepática: obstrucción de los conductos biliares intrahepáticos por la secreción de una bilis más espesa. Si este proceso continúa, aumentará la fibrosis y se ocasionará la atrofia del parénquima hepático con cirrosis multilobular, Aproximadamente, entre el 2 y 5% de los enfermos de FQ, presentarán alteración hepática.
- Colelitiasis: aparece en aproximadamente el 12% de los enfermos de FQ. Consiste en la formación de cálculos en las vías biliares.

- **Manifestaciones Genitourinarias.**

Según el género:

- Masculino: testículos de menor tamaño y en una posición anormal (criptorquidia) y vesículas seminales atroficas. No se observa disminución en los niveles hormonales, pero en torno al 95-98% de los varones presentarán azoospermia obstructiva y serán estériles.
- Femenino: no presentan anomalías en el aparato reproductor. Sin embargo, frecuentemente presentan menarquía atrasadas en 2 años, ciclos anovulatorios con niveles bajos de estradiol y progesterona y niveles elevados de testosterona y ovario poliquístico. Por tanto, las mujeres afectadas de FQ permanecen fértiles, aunque dicha fertilidad se ve disminuida, aproximadamente, en un 10-20% de la que sería la de una mujer sana.

5. Diagnóstico.

En la actualidad, según la Cystic Fibrosis Foundation (CFF) y el consenso alcanzado en el año 2006 para diagnosticar de FQ, es preciso que se cumplan una serie de criterios (Farrel et al., 2008). Destacan los siguientes métodos como los más utilizados:

- **Cribado neonatal.**

Se trata de un screening que busca determinar los recién nacidos con riesgo de Fibrosis Quística. En los recién nacidos afectados de FQ la tripsina se encuentra elevada como resultado de la obstrucción de los conductos pancreáticos exocrinos. Como consecuencia, en los 3 - 5 primeros días de vida se realiza un análisis de la sangre seca extraída en la prueba del talón, buscando establecer los niveles séricos de tripsina inmunoreactiva (TIR).

Existen múltiples técnicas para la detección de la tripsina [Radioinmunoensayo (RIA), Enzimoimmunoensayo (ELISA), etc.] destacando la Inmunofluorescencia a tiempo retardado (DELFIA) sobre el resto, en la cual se establece una concentración <60 ng/ml como normal.

En caso de obtenerse un resultado positivo, es decir, un valor >60 ng/ml (hipertripsinogemia), se realiza una segunda determinación de TIR entre los 20-40 primeros días de vida. Con este protocolo en dos pruebas se busca aumentar el valor predictivo positivo, así como disminuir los falsos positivos. Posteriormente, en caso de un segundo resultado positivo, se procederá a realizar un estudio genético donde se determinará la existencia de una, dos o ninguna mutación del CFTR, al que le seguirá la realización del test del sudor para confirmar el diagnóstico. En caso de que el resultado del Test del sudor fuera positivo (>60 mmol/l) y se detectaran dos mutaciones del gen CFTR, se diagnosticaría al paciente de FQ clásica.

- **Test del sudor.**

Constituye el test de referencia para el diagnóstico de la FQ.

El método utilizado es el test cuantitativo de iontoforesis con pilocarpina (QPIT). En dicho test se estimula la producción de sudor de las glándulas sudoríparas mediante iontoforesis con pilocarpina. En la técnica se limpia la piel de la cara anterior del antebrazo o del muslo, se aplica pilocarpina y se conectan dos electrodos de 2-5 mV durante 5-10 min. Posteriormente, se recoge durante 30 minutos la muestra de sudor mediante una gasa prepesada (Método Gibson y Cooke) o un disco cóncavo conectado a tubo espiral de plástico (Método de conductibilidad de Macroduct), concretamente 75 mg de sudor en el método de Gibson y Cooke y 15 μ l en el caso del método de Conductibilidad. Finalmente, se realiza el análisis de la muestra en el laboratorio y mediante colometría se determina la concentración de ion cloruro en un cloridómetro para micromuestras.

La FQ se diagnostica con una concentración de ion cloruro >60 mmol/l, tanto en lactantes como en pacientes de mayor edad. En lactantes se consideran intermedias o valores umbrales aquellas concentraciones entre 30 y 59 mmol/l y concentraciones normales las <30 mmol/l. En los pacientes de mayor edad se establecen concentraciones entre 40 y 49 mmol/l como intermedias o valores umbrales y concentraciones <40 mmol/l como normales. Aproximadamente, entre el 98-99% de los afectados con FQ presentan una concentración de ion cloruro >60 mmol/l, mientras que solo entre el 1-2% presentan concentraciones entre 40- 60 mmol/l, o en su defecto entre 30-60 mmol en el caso de lactantes, por otra parte, es raro encontrar afectados con una concentración <40 mmol/l o <30 mmol/l.

- **Estudio genético.**

La detección de dos mutaciones del gen CFTR en un individuo resulta suficiente para confirmar el diagnóstico de FQ, aun siendo el resultado del test del sudor normal. En el caso de hallarse una única mutación se podría tratar de un portador sano o un afectado de FQ no clásica. El análisis de las mutaciones más prevalentes se realiza mediante kits comerciales basados en la PCR, presentes en los laboratorios de diagnóstico molecular, logrando detectar el 80% de los alelos mutantes de la población de estudio. Cuando estos análisis no son satisfactorios se realiza un rastreo completo del CFTR, además, debido a que muchas mutaciones son muy específicas, se emplean técnicas como electroforesis en gradiente de geles desnaturizante (DGGE) y el análisis de la conformación de la cadena sencilla (SSCA) con las que se logra detectar el 98% de las mutaciones.

- **Estudio de la diferencia de potencial transepitelial nasal.**

En la prueba se mide la diferencia de potencial eléctrico a nivel de la mucosa nasal. En todo individuo existe un intercambio de iones a través de la membrana celular de las células apicales del epitelio respiratorio dando lugar a un potencial eléctrico medible mediante la prueba del potencial diferencial (PD) nasal. Esta prueba se ha demostrado útil en el diagnóstico de la FQ en situaciones de pacientes con manifestaciones de la enfermedad, con resultados no concluyentes del test del sudor y del estudio genético.

En el caso de la **FQ Clásica o Típica**, como primer criterio para su diagnóstico, se establece la presencia de, al menos, una manifestación fenotípica de dicha enfermedad y, como segundo criterio, la presencia de pruebas de laboratorio que indicarán la disfunción del CFTR, siendo válida la concentración elevada de cloro en el sudor (Test del sudor positivo: >60 mmol/l). A su vez, también es posible encontrar dos mutaciones en ambas copias del gen CFTR.

Por otra parte, en el caso de la **FQ no Clásica o Atípica**, como primer criterio para su diagnóstico, se establece la presencia, al menos, de una manifestación fenotípica de dicha enfermedad, como segundo criterio, la presencia de una concentración de cloro de entre 30- 60 mmol/l (Test del sudor de resultado dudoso) o < 30 mmol/l (Test del sudor normal) y, como último criterio, la presencia de dos mutaciones en ambas copias del gen CFTR y/o la diferencia de potencial transepitelial nasal.

Por tanto, en el caso de sospecha clínica de FQ o la presencia de historia familiar de la enfermedad, tanto clásica como no clásica, se seguirá el siguiente procedimiento que parte del resultado obtenido en el test del sudor (Fig. 6).

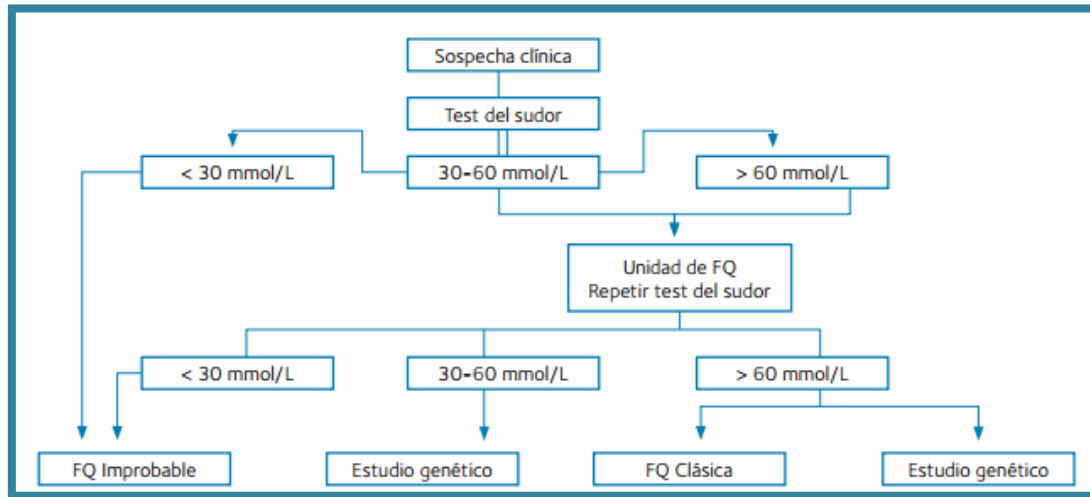


Fig.6. Esquema del procedimiento de diagnóstico a seguir partiendo del test del sudor.

6. Tratamiento

6.1. Convencional

La Fibrosis Quística es una enfermedad multiorgánica progresiva de carácter crónico, por lo que precisa de un manejo multidisciplinar y ser tratada en unidades especializadas. Los tres pilares principales del tratamiento convencional son la antibioterapia, la fisioterapia respiratoria y el tratamiento dietético.

6.1.1. Antibioterapia.

En los afectados por esta enfermedad es preciso administrar altas dosis de antibiótico por la amplia distribución de la infección y la alta eliminación renal. En el caso de las **infecciones agudas**, con la administración de antibióticos se busca volver a la situación basal de salud, eligiendo la vía de administración y la duración del tratamiento a seguir según la gravedad de la exacerbación.

- En el caso de exacerbaciones **agudas leves y moderadas**, el tratamiento a seguir debería ser de 14 días empleando la vía oral. Los antibióticos más utilizados son ciprofloxacino, cotrimoxazol y fosfomicina contra *Pseudomona aeruginosa* y cefalosporinas contra *Haemophilus influenzae*.

- En el caso de las exacerbaciones **agudas graves**, el tratamiento a seguir debería ser de ciclos de entre 14 y 21 días empleando uno o más antibióticos por vía intravenosa. En el caso de *Staphylococcus aureus* o *Haemophilus influenzae* se emplean β -lactámicos, *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina se emplea cotrimoxazol, linezolid, vancomicina o teicoplanina y en exacerbaciones por *Pseudomonas aeruginosa* se emplean por lo menos 2 antibióticos, como primera opción, cefalosporina antipseudomonica (ceftazidima) más un aminoglucósido (Hogardt et al., 2010).

Por otra parte, en las colonizaciones **crónicas** con aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa*, el objetivo es disminuir la carga bacteriana, las exacerbaciones y el progresivo deterioro pulmonar que derivaría en insuficiencia respiratoria. Entre las opciones de tratamiento destacarían:

- Tratamiento supresivo vía oral: los antibióticos a emplear de forma crónica con mejores resultados son los macrólidos, concretamente azitromicina en aquellos afectados con más de 6 años, logrando así un efecto inmunomodulador y no bactericida.
- Tratamiento crónico con antibióticos inhalados: es el tratamiento con el que se obtienen mejores resultados, lo que le convierte en el más empleado, en gran medida por las altas concentraciones locales que se alcanzan y por generar pocas resistencias. Los más usados son azitromicina, tobramicina, aztreonam y levofloxacino. Otros antibióticos recomendados son ciprofloxacino, cefalexina, amoxicilina y doxiciclina dependiendo de los patrones de sensibilidad.
- Aminoglucósidos: gentamicina y tobramicina inhalada (Tobi®) último el más utilizado y que logra mayores resultados, pues mejora la función pulmonar y disminuye las hospitalizaciones así como los tratamientos intravenosos.

6.1.2. Fisioterapia respiratoria.

Busca limpiar las vías respiratorias y drenar los acúmulos de secreciones viscosas y espesas, las cuales son contenedoras de altas concentraciones de bacterias y productos de las mismas.

La fisioterapia respiratoria se inicia nada más establecerse el diagnóstico, se realizan dos o más sesiones diarias según la gravedad y las complicaciones, separándolas un mínimo de 2 horas con las comidas. Las principales técnicas empleadas serían las siguientes:

- **Técnicas que fomentan la eliminación de secreciones:** drenaje postural, vibraciones, técnicas de espiración forzada y percusión.

- Ciclo activo: conjunto de técnicas para fomentar la movilización de las secreciones, se inicia con respiración controlada, posteriormente, con ejercicios de expansión del tórax junto con vibraciones y finaliza con expiración forzada, logrando provocar tos productiva.
 - Drenaje autógeno: respiración controlada manteniendo constante la frecuencia, la profundidad y la localización de la respiración.
 - Terapia Vojta: consiste en la estimulación de la locomoción refleja con fines terapéuticos.
- **Ayudas mecánicas para eliminar las secreciones:**
 - Máscara de presión espiratoria positiva (PEP): se trata de una mascarilla con resistencia en la espiración.
 - Dispositivos de presión espiratoria positiva oscilante: combinan tanto la PEP como la oscilación, generando vibraciones que separan las secreciones bronquiales en toda la vía aérea.
 - Compresión torácica de alta frecuencia: chaleco de percusión que, mediante una bomba, genera una presión sobre el tórax.
 - Ventilador intrapulmonar percusivo: incluye la administración de un aerosol continuo junto con la percusión torácica interna a través de pequeños estallidos de aire a 200-300 ciclos por minuto.
 - **Ejercicio de reeducación respiratoria:** busca mejorar la función del diafragma, para ello se trata de conseguir un patrón respiratorio con una menor frecuencia respiratoria y un elevado volumen corriente.
 - **Ejercicio de entrenamiento muscular:** se ha demostrado que el ejercicio mejora la ventilación pulmonar, la disnea, la propia tolerancia al ejercicio, la ansiedad, la depresión e incrementa la sensación de bienestar y el rendimiento en el trabajo. Los deportes más recomendados serían: natación, ciclismo y correr al aire libre, por regla general, ejercicios que incluyan ejercicio aeróbico y de resistencia.

6.1.3. Tratamiento dietético.

Conservar un estado nutricional adecuado es esencial, pues constituye un factor clave en la supervivencia y la mejora de la calidad de vida, siendo necesario hacer hincapié en la necesidad de un balance de energía positivo en todo momento. Debido a la infección crónica con frecuentes exacerbaciones, la ingesta disminuida, el aumento del gasto y los factores genéticos, se produce un déficit energético que deriva en un deterioro progresivo del estado nutricional.

Como consecuencia es necesaria una dieta con un alto contenido calórico, en torno al 120-150% de las calorías recomendadas para personas sanas de su misma edad, sexo y composición corporal. Por tanto, para proporcionar una nutrición adecuada y prevenir la deshidratación, se recomienda una dieta rica en grasas, vitaminas liposolubles (A, D, E, y K) y minerales, incluyendo fluoruro y zinc. Adicionalmente, la suplementación con cloruro de sodio se realiza de acuerdo con la edad del paciente y las condiciones ambientales.

Es importante la prevención o tratamiento de los bloqueos intestinales mediante rehidratación oral y laxantes osmóticos (en caso de bloqueo incompleto) y enemas de contraste hiperosmolar (en caso de SOID completo). Además, como resultado de la afectación pancreática y de la consiguiente insuficiencia pancreática, se produce una disminución en la secreción por parte del páncreas de: agua, bicarbonato, electrólitos y enzimas y, con ello, la consiguiente reducción en la absorción de proteínas, grasas y vitaminas liposolubles. Esta situación hace preciso la terapia de sustitución enzimática pancreática (PERT) que contiene múltiples combinaciones de proteasas, lipasas y amilasas (Kreon®). Se busca controlar los síntomas, disminuir la esteatorrea y conseguir una nutrición, un desarrollo y un crecimiento normal.

6.1.4. Otros

- **Broncodilatadores:** para favorecer la expulsión del esputo y previamente a la administración de antibióticos inhalados. Son válidos tanto anticolinérgicos como agonistas β -adrenérgicos.
- **Agentes capaces de alterar las propiedades del esputo:** mucolíticos, el suero salino hipertónico y la ADNasa, siendo esta última la más empleada. Disminuye la viscoelasticidad del esputo al hidrolizar el ADN extracelular.
- **Antiinflamatorios:** disminuyen el deterioro en la afectación pulmonar debida a la inflamación crónica de la vía aérea como resultado de la infección bacteriana. Por otra parte, los corticoides orales se usan en pautas cortas como tratamiento para la aspergilosis broncopulmonar alérgica (ABPA) y exacerbaciones agudas. El ibuprofeno supone una alternativa a los corticoides.
- **Trasplante pulmonar:** la FQ presenta un importante componente infeccioso por lo que es preciso trasplantar ambos pulmones. El sistema inmunitario del trasplantado tiende a rechazar el pulmón por lo que necesitará un tratamiento inmunosupresor de por vida. En torno al 10% de los afectados de FQ precisarán un trasplante pulmonar. Actualmente, la supervivencia ronda el 74% y 52% en los 3 y 5 primeros años posteriores al trasplante respectivamente.

6.2. Medicamentos actuales y futuros

Los objetivos terapéuticos actuales y futuros se centran principalmente en corregir las anomalías estructurales y funcionales de la proteína CFTR. Además, algunos agentes para la mejora sintomática también están en estudio.

6.2.1. Moduladores CFTR

Los moduladores CFTR están diseñados para tratar la causa subyacente de la fibrosis quística dirigiéndose al defecto de la proteína CFTR. Los agentes farmacológicos de moléculas pequeñas que se dirigen a defectos en la apertura del canal, el procesamiento y la síntesis de CFTR han sido sometidos a una rigurosa evaluación preclínica durante la última década e incluyen potenciadores de CFTR, correctores y agentes transcripcionales de lectura respectivamente (Rafeeq y Murad, 2017).

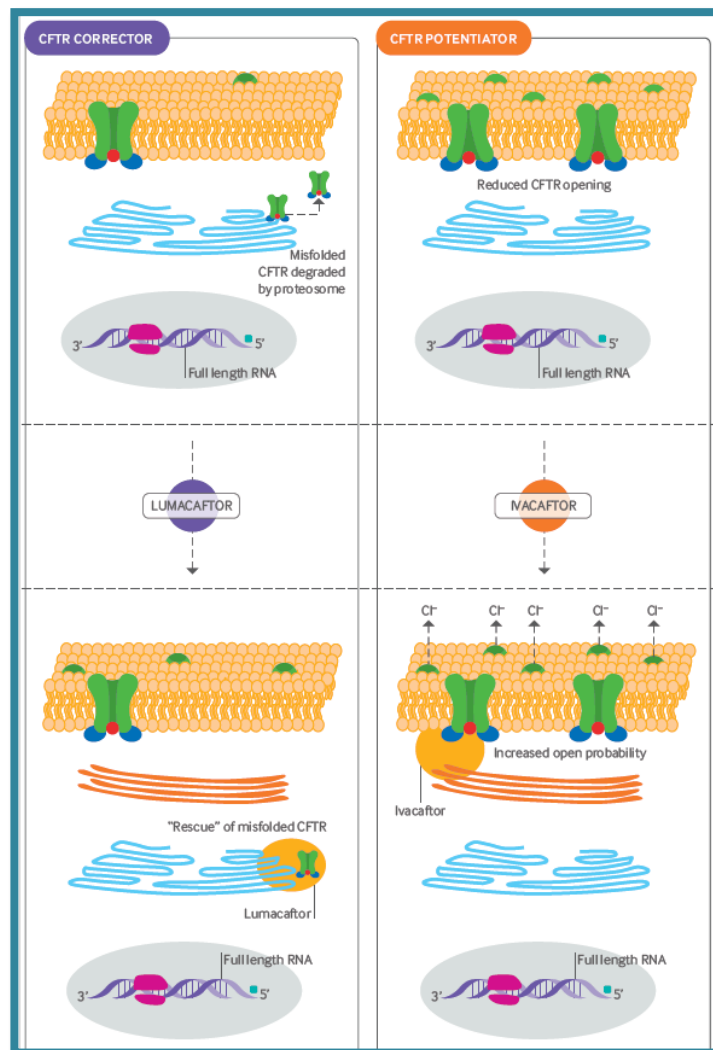


Fig. 7. Mecanismo de acción de los moduladores Lumacaftor e Ivacaftor.

A) Potenciadores CFTR

Los potenciadores de CFTR aumentan el flujo de iones a través de canales localizados y activados de CFTR (Van Goor et al., 2009). Las personas con mutaciones de clase III como G551D tienen cantidades normales de proteína CFTR en la superficie celular pero tienen defectos primarios en CFTR, lo que los convierte en objetivos ideales para la terapia potenciadora (Li et al., 1996).

Ivacaftor

Desarrollado por Vertex Pharmaceuticals y aprobado por la FDA en 2012 para niños ≥ 6 años con la mutación rara G551D (clase III), ivacaftor (Kalydeco) fue el primer medicamento exitoso para rectificar la proteína defectuosa y ha demostrado ser muy eficaz en dos grandes ensayos multicéntricos (Ramsey et al., 2011) (Davies et al., 2013). Se observaron mejorías marcadas en el FEV1, peso corporal y calidad de vida. Ahora la FDA ha ampliado su uso en otras mutaciones y también a niños de 2-5 años basándose en los resultados del ensayo (Davies et al., 2014). Otro estudio de fase IV también informó mejoras en el FEV1 y la CVF (capacidad vital forzada), el IMC, la calidad de vida y la disminución de la concentración de cloruro de sudor en pacientes que llevan al menos un alelo G551D.

Además, la mejora de la función de CFTR conduce a un aclaramiento mucocíclico mejorado. El pH gastrointestinal también aumentó, lo que sugiere que la alcalinización del tracto gastrointestinal a través de la potenciación CFTR de cloruro y el transporte de bicarbonato puede mejorar la absorción de nutrientes y explicar las fuertes mejoras en el peso. Las tasas de colonización con *Pseudomonas aeruginosa* también disminuyeron, particularmente en personas con enfermedad pulmonar leve o crecimiento intermitente del microorganismo, lo que sugiere que la función mejorada del CFTR conduce a la erradicación de estas bacterias.

Más del 72% de los pacientes en este ensayo también llevaron F508del como segundo alelo (Rowe et al., 2014). La mutación G551D hace que el canal actúe como una puerta cerrada, evitando el paso del cloruro y del fluido. La ubicación del canal es correcta pero la función está dañada. Ivacaftor estabiliza el estado abierto del canal aumentando así el tiempo de apertura del canal. Como resultado, el ivacaftor está ahora aprobado para pacientes de 2 años o más con mutaciones selectivas en Estados Unidos, Europa y Canadá. Pero la principal limitación de esta terapia es que la mutación G551D está presente en sólo el 2,3% de los pacientes. No se ha encontrado que sea eficaz en la mutación F508del (clase II), la más común, debido a la disminución de la disponibilidad de proteína. Adicionalmente, el alto costo de la terapia también puede ser un factor limitante (Whiting et al., 2014).

No obstante, el descubrimiento de ivacaftor ha proporcionado una prueba de que la secreción de cloruro por parte de la CFTR puede potenciarse.

B) Correctores CFTR

Los correctores de CFTR reparan el procesamiento defectuoso facilitando la maduración apropiada y el suministro de proteína a la membrana plasmática. Los correctores actúan directamente sobre la CFTR para facilitar su plegado correcto o modulando componentes de control celular (Rowe y Verkman, 2013). Los pacientes con mutaciones de clase II (como F508del) son dianas primarias para la terapia con un corrector CFTR debido a que la proteína mal plegada es retenida dentro del retículo endoplasmático (RE) y es degradada prematuramente. El impacto potencial del desarrollo de un tratamiento corrector CFTR eficaz es importante, ya que el 85-90% de los pacientes con fibrosis quística tienen al menos una copia del alelo F508del.

Lumacaftor

Es un ejemplo de corrector CFTR. Lumacaftor ha mostrado resultados favorables en la mutación F508del. Esta es la mutación más común que afecta aproximadamente a 1/3 de la población de FQ en EE.UU. y casi el 70% en la UE. Esta mutación afecta la estabilidad al calor de la proteína debido al mal plegamiento del dominio NBD1 y restringe el CFTR en RE para su posterior degradación. No es capaz de localizar la ubicación correcta epitelial y lograr una estructura normal. El aumento del transporte de proteínas a la superficie de las células se observó in vitro utilizando cultivos humanos de epitelio bronquial (Van Goor et al., 2011). Sin embargo, a pesar del aumento del transporte de proteínas a la localización adecuada, no se observó corrección del deterioro funcional subyacente. Además, otro estudio in vitro reveló resultados negativos contrastados por un ensayo clínico (Kopeikin et al., 2014). No se observó una mejora significativa en el FEV1 ni en las tasas de exacerbación respiratoria (Clancy et al., 2012).

C) Terapias de combinación CFTR

Orkambi

Con base en los mecanismos individuales, se propuso una combinación de lumacaftor e ivacaftor (Orkambi) para corregir tanto el tráfico de proteínas, como anomalías en la apertura del canal. Inicialmente, se realizaron ensayos de fase II para pacientes F508del homocigóticos >12 años. Los resultados aislados y agrupados mostraron una mejoría significativa en los parámetros incluyendo FEV1, reducción de exacerbaciones, disminución de las hospitalizaciones, aumento de los índices de IMC y mejora en la función CFTR; consistente.

A través de diferentes regímenes de dosificación y grupos de pacientes. Los efectos adversos fueron comparables a los del grupo placebo excepto un caso de muerte durante la última fase (Ramsey et al., 2014) (Wainwright et al., 2015).

En base a estos resultados, lumacaftor-ivacaftor fue el primer corrector CFTR aprobado para su uso en personas homocigóticas F508del.

Además, un estudio de fase I en niños homocigóticos ≤ 12 años también mostró resultados prometedores, pero se necesitan más estudios de fase avanzada (Rosenfeld et al., 2014).

Orkambi (lumacaftor + ivacaftor) ha sido aprobado recientemente para pacientes homocigotos F508del ≥ 12 años. Orkambi actúa por un método de dos pasos. Lumacaftor ayuda a mover la proteína defectuosa a su ubicación correcta e ivacaftor rectifica y mejora su actividad eventualmente aumentando la conductancia de iones y fluidos. La figura 8 (Fig. 8) muestra el posible mecanismo de acción de Orkambi.

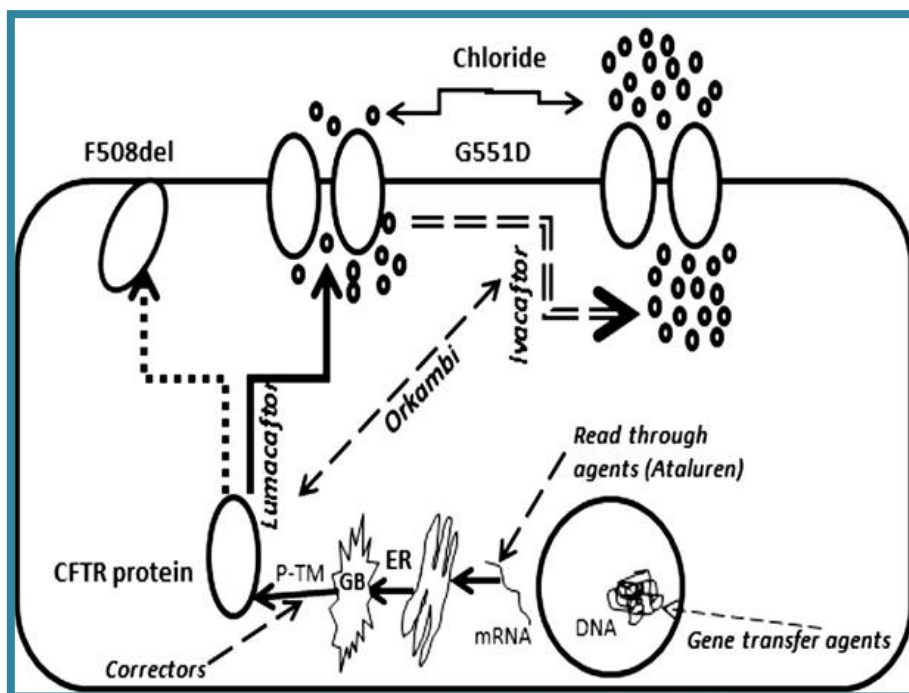


Fig. 8. Representación del posible mecanismo de acción de Orkambi (lumacaftor + ivacaftor)

Posibles limitaciones:

Aunque la llegada de moduladores CFTR ha mejorado la gestión de la FQ, todavía hay algunas limitaciones que incluyen:

- Respuesta no significativa en la mutación F508del heterocigotos por ivacaftor.
- Necesidad de continuar con otro tratamiento sintomático diario.
- Interacción con inductores e inhibidores de CYP3A.
- Efectos secundarios incluyendo elevadas transaminasas, cataratas, dolor orofaríngeo e URTI.
- Beneficio insignificante en < 12 años de edad.
- Necesidad de dosis más elevadas de hasta 600 mg (en el caso de lumacoftor).

g) La interacción mutua de lumacofor e ivacaftor conduciendo al aumento del metabolismo de ivacaftor y la necesidad de una combinación de dosis más alta.

Además, debido a la estructura de múltiples dominios y plegado secuencial de CFTR, ningún "fármaco corrector" puede solucionar todo el repliegue erróneo en diferentes dominios, por lo que la combinación de fármacos es una necesidad.

6.2.2. Tecnologías terapéuticas genéticas

A) Terapia de reemplazo genético

La clonación del gen CFTR llevó a la esperanza de que la terapia de reemplazo genético, utilizando un enfoque independiente de la mutación, podría ser utilizada para curar esta enfermedad monogénica (Kerem et al., 1989) (Riordan et al., 1989). Desafortunadamente, el desarrollo inicial fue impedido por las dificultades para encontrar un vector de transferencia de genes adecuado capaz de superar la fuerte barrera físicas e inmunológicas de las vías respiratorias (Armstrong et al., 2014). Las vías respiratorias de las personas con FQ son particularmente inhóspitas para el suministro en aerosol de los vectores de terapia génica debido a las secreciones espesas y a la obstrucción del flujo aéreo. Incluso si el vector penetra estas barreras, entonces debe alcanzar la superficie apical del epitelio de las vías respiratorias y ser transportado al núcleo para su transcripción. Los esfuerzos iniciales de terapia génica se centraron en adenovirus y vectores de virus adeno-asociados, y aunque el ARNm de CFTR se ha expresado utilizando este enfoque, el efecto disminuye después de la administración repetida debido a una respuesta inmune contra el vector (Zabner et al., 1996) (Harvey et al., 1999) (Griesenbach y Alton, 2012). Más recientemente, se ha centrado la atención en vectores no virales debido al menor riesgo de inmunogenicidad. (Mintzer et al., 2009). Como los portadores liposomales, complejados con ADN plásmido que codifica el gen CFTR con los cuales no se detectó respuesta inmune ni eficacia reducida después de una administración semanal durante cuatro semanas (Hyde et al., 2000).

Para superar el duro ambiente fisiológico de las vías respiratorias en la fibrosis quística, también se está estudiando la administración de genes basados en nanopartículas sintéticas (Suk et al., 2014).

Un inconveniente de los portadores liposómicos catiónicos (cargados positivamente) es que pueden interactuar con el moco cargado negativamente. Los polímeros biodegradables son estables en fluidos fisiológicos y pueden penetrar en la capa de gel de moco humano altamente adhesiva para alcanzar el epitelio subyacente (Anderson et al., 2005).

En un estudio preclínico muy reciente, las nanopartículas de ADN fueron capaces de penetrar el moco recién esperado de pacientes con fibrosis quística in vitro y proporcionaron una expresión transgénica sostenida en pulmones de ratón in vivo, demostrando un rendimiento superior a varios sistemas de administración de genes estándar (Mastorakos et al., 2015). Aunque los efectos del tratamiento fueron modestos, el tratamiento fue seguro, sin efectos adversos graves relacionados con el tratamiento excepto fiebre transitoria, que remitía con paracetamol. Este estudio ha proporcionado la esperanza de que la terapia génica puede ser eficaz en la fibrosis quística, pero los vectores de entrega y las condiciones deben ser optimizados para proporcionar un beneficio clínicamente significativo.

B) Edición del genoma

La edición de ADN consiste en la inserción, reemplazo o extracción de ADN de un genoma utilizando "tijeras moleculares" ("molecular scissors"), como nucleasas. El uso de nucleasas artificialmente manipuladas que introducen pautas precisas en el ADN para eliminar los segmentos génicos mutados seguidos por recombinación homóloga con el gen, representa una estrategia terapéutica potencial en la fibrosis quística.

Esta tecnología se ha utilizado in vitro para reparar el locus CFTR en células madre intestinales humanas y restaurar la función CFTR de forma definitiva (Schwank et al., 2013)

La edición de ARN es una estrategia más útil porque el ARNm es más accesible y los efectos de edición son transitorios, reduciendo así el impacto de cualquier efecto inesperado fuera de destino. Actualmente se están estudiando oligonucleótidos antisentido para reemplazar los segmentos suprimidos de ARNm (Zamecnik et al., 2016)

V. CONCLUSIONES

1. La FQ es una enfermedad multiorgánica muy compleja, especialmente grave en pulmones y páncreas, de carácter degenerativo y asociada a multitud de infecciones por diversos microorganismos. Todo ello dificulta un tratamiento sintomatológico óptimo. Aun así, el diagnóstico precoz y las mejoras en la triple terapia convencional (antibioterapia, fisioterapia y tratamiento dietético) han supuesto una notable mejora en la calidad y esperanza de vida de los pacientes con FQ.
2. Los moduladores CFTR suponen una solución a la causa subyacente de la enfermedad, ya que actúan sobre el déficit de síntesis o funcionalidad de la proteína CFTR, pero con ciertas limitaciones, ya que cada fármaco debe ser específico para una determinada mutación o un grupo reducido de ellas y, actualmente, se han descrito 2.019 mutaciones diferentes.
3. Gracias a la introducción de la nanotecnología y los avances en la edición del genoma, las tecnologías terapéuticas genéticas son cada vez una solución más cercana que podría llegar a curar la enfermedad.
4. Aunque aún queda mucho por hacer para restaurar completamente la función del CFTR en todos los pacientes, el campo terapéutico de la fibrosis quística avanza a un ritmo acelerado y puede servir como modelo de medicina de precisión para otros trastornos genéticos.

VI. BIBLIOGRAFÍA

Anderson DG, Akinc A, Hossain N, Langer R. Structure/property studies of polymeric gene delivery using a library of poly(beta-amino esters). *Mol Ther* 2005;11:426-34.

Antunovic SS, Lukac M, Vujovic D. Longitudinal cystic fibrosis care. *Clin Pharmacol Ther.* 2013;93:86–97.

Armstrong DK, Cunningham S, Davies JC, Alton EW. Gene therapy in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 2014;99:465-8.

Birket SE, Chu KK, Liu L, et al. A functional anatomic defect of the cystic fibrosis airway. *Am J Respir Crit Care Med* 2014;190:421-32.

Bombieri C, Claustres M, De Boeck K, Derichs N, Dodge J, Girodon E, et al. Recommendations for the classification of diseases as CFTR-related disorders. *J Cyst Fibros.* 2011;10Suppl2:S86-102

Bradley S Quon y Steven M Rowe. New and emerging targeted therapies for cystic fibrosis. *BMJ.* 2016; 124 (16): 606-12.

Cantin AM, Hartl D, Konstan MW, Chmiel JF. Inflammation in cystic fibrosis lung disease: pathogenesis and therapy. *J Cyst Fibros* 2015;14:419-30

Clancy JP, Rowe SM, Accurso FJ, et al. Results of a phase IIa study of VX-809, an investigational CFTR corrector compound, in subjects with cystic fibrosis homozygous for the F508del-CFTR mutation. *Thorax.* 2012;67:12–8.

Davies JC, Robertson S, Green Y, Rosenfeld M. An open-label study of the safety, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of ivacaftor in patients aged 2 to 5 years with CF and CFTR gating mutation: the KIWI study. In: The 28th Annual North American Conference of the Cystic Fibrosis Foundation, Atlanta, GA, October 9–11, 2014.

Davies JC, Wainwright CE, Canny GJ, et al. Efficacy and safety of ivacaftor in patients aged 6 to 11 years with cystic fibrosis with G551D mutation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187:1219–25.

Elkins MR, Robinson M, Rose BR, et al. National Hypertonic Saline in Cystic Fibrosis (NHSCF) Study Group. A controlled trial of long-term inhaled hypertonic saline in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 2006;354:229-40.

Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, et al. Guidelines for Diagnosis of Cystic Fibrosis in Newborns through Older Adults: Cystic Fibrosis Foundation Consensus Report. *J Pediatr*. 2008;153:S4-S14.

Federación Española de Fibrosis Quística. Libro blanco de atención a la Fibrosis Quística [Internet]. 1ª ed. Valencia: Federación Española de Fibrosis Quística; 2002 [Consultado 30 Enero 2017]. Disponible en: <http://www.fibrosisquistica.org/images/recursos/31.pdf>

FEDER, Federación Española de Enfermedades raras [Internet]. Madrid: Federación Española de Enfermedades Raras; 2016 [Consultado 10 Febrero 2016]. Patología: Fibrosis Quística. Disponible en: http://www.enfermedades-raras.org/index.php?option=com_content&view=article&id=3100&idpat=634

Fuchs HJ, Borowitz DS, Christiansen DH, et al. The Pulmozyme Study Group. Effect of aerosolized recombinant human DNase on exacerbations of respiratory symptoms and on pulmonary function in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1994;331:637-42.

Gentzsch M, Dang H, Dang Y, GarciaCaballero A, Suchindran H, Boucher RC, The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator impedes proteolytic stimulation of the epithelial Na⁺ channel. *J Biol Chem*. 2010;285(42):32227-32.

Griesenbach U, Alton EW. Progress in gene and cell therapy for cystic fibrosis lung disease. *Curr Pharm Des* 2012;18:642-62.

Guggino WB, Banks-Schlegel SP. Macromolecular interaction and ion transport in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;170:815–20.

Haardt M, Benharouga M, Lechardeur D, Kartner N, Lukacs GL. C-terminal truncations destabilize the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator without impairing its biogenesis. A novel class of mutation. *J Biol Chem* 1999;274:21873-7.

Harvey BG, Leopold PL, Hackett NR, et al. Airway epithelial CFTR mRNA expression in cystic fibrosis patients after repetitive administration of a recombinant adenovirus. *J Clin Invest* 1999;104:1245-55.

Hoegger MJ, Fischer AJ, McMenimen JD, et al. Impaired mucus detachment disrupts mucociliary transport in a piglet model of cystic fibrosis. *Science* 2014;345:818-22.

Hogardt M, Heesemann J. Adaptation of *Pseudomonas aeruginosa* during persistence in the cystic fibrosis lung. *Int J Med Microbiol*. 2010;300:557-62.

Hwang TC, Sheppard DN. Gating of the CFTR Cl⁻ channel by ATP-driven nucleotide-binding domain dimerisation. *J Physiol* 2009;587:2151-61.

Hyde SC, Southern KW, Gileadi U, et al. Repeat administration of DNA/ liposomes to the nasal epithelium of patients with cystic fibrosis. *Gene Ther* 2000;7:1156-65.

Kalydeco™ (ivacaftor). Product information. Cambridge: Vertex Pharmaceuticals Inc.; 2012.

Kanelis V, Hudson RP, Thibodeau PH, Thomas PJ, Forman-Kay JD. NMR evidence for differential phosphorylation-dependent interactions in WT and DeltaF508 CFTR. *EMBO J* 2010;29:263-77.

Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 1989;245:1073-80.

Kimura T, Kawabe H, Jiang C, Zhang W, Xiang YY, Lu C, et al. Deletion of the ubiquitin ligase Nedd4L in lung epithelia causes cystic fibrosis-like disease. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(8):3216-21.

Kopeikin Z, Yukesk Z, Yang H, Bompadre SG. Combined effects of VX-770 and VX-809 on several functional abnormalities on F508del-CFTR channels. *J Cyst Fibros*. 2014;13:508–14.

Li C, Ramjee Singh M, Wang W, et al. ATPase activity of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *J Biol Chem* 1996;271:28463-8.

Macneill, Hodson, Geddes. Cystic fibrosis: Epidemiology of cystic fibrosis. 4th ed. CRC Press. 2015; 68 (1):809-18

Mastorakos P, da Silva AL, Chisholm J, et al. Highly compacted biodegradable DNA nanoparticles capable of overcoming the mucus barrier for inhaled lung gene therapy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015;112:8720-5.

McCoy KS, Quittner AL, Oermann CM, Gibson RL, Retsch-Bogart GZ, Montgomery AB. Inhaled aztreonam lysine for chronic airway *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2008;178:921-8.

McKone EF, Emerson SS, Edwards KL, Aitken ML. Effect of genotype on phenotype and mortality in cystic fibrosis: a retrospective cohort study. *Lancet* 2003;361:1671-6.

Mintzer MA, Simanek EE. Nonviral vectors for gene delivery. *Chem Rev* 2009;109:259-302.

Quinton PM. Cystic fibrosis: a disease in electrolyte transport. *FASEB J* 1990;4:2709-17.

Ramsey B, Boyle MP, Elborn S, et al. Effect of lumacaftor in combination with ivacaftor in patients with cystic fibrosis who are homozygous for F508del-CFTR: pooled results from the phase 3 TRAFFIC and TRANSPORT studies. In: The 28th Annual North American Conference of the Cystic Fibrosis Foundation, Atlanta, GA, October 9–11, 2014.

Rafeeq y Murad J. Cystic fibrosis: current therapeutic targets and future approaches. *Transl Med*. 2017; 15:84

Ramsey BW, Davies J, McElvaney NG, et al. A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation. *N Engl J Med*. 2011;365(18):1663–72.

Riordan JR. CFTR function and prospects for therapy. *Annu Rev Biochem* 2008;77:701-26

Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989;245:1066-73.

Rosenfeld M, Marigowda G, Liu F, Waltz D. Pharmacokinetics and safety of lumacaftor in combination with ivacaftor in patients aged 6–11 years with CF who are homozygous for

F508del-CFTR. In: The 28th annual North American conference of the cystic fibrosis foundation, Atlanta, GA, October 9–11, 2014.

Rowe SM, Heltshe SL, Gonska T, Donaldson SH, Borowitz D, Gelfond D, Sagel SD, Khan U, Mayer-Hamblett N, Van Dalfsen JM, Joseloff E, Ramsey BW. Network G1otCFFTD. Clinical mechanism of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator potentiator ivacaftor in G551D- mediated cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;190(2):175–84.

Rowe SM, Verkman AS. Cystic fibrosis transmembrane regulator correctors and potentiators. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2013;3:a009761.

Saiman L, Anstead M, Mayer-Hamblett N, et al. AZ0004 Azithromycin Study Group. Effect of azithromycin on pulmonary function in patients with cystic fibrosis uninfected with *Pseudomonas aeruginosa*: a randomized controlled trial. *JAMA* 2010;303:1707-15

Schwank G, Koo BK, Sasselli V, et al. Functional repair of CFTR by CRISPR/ Cas9 in intestinal stem cell organoids of cystic fibrosis patients. *Cell Stem Cell* 2013;13:653-8.

Sojo Aguirre A, Bousoño García C. La fibrosis quística en la actualidad (II): aspectos nutricionales. *Acta Pediatr Esp*. 2011;69(1):31-7

Suk JS, Kim AJ, Trehan K, et al. Lung gene therapy with highly compacted DNA nanoparticles that overcome the mucus barrier. *J Control Release* 2014;178:8-17.

Van Goor F, Hadida S, Grootenhuis PD, et al. Correction of the F508del- CFTR protein processing defect in vitro by the investigational drug VX-809. *Proc Natl Am Sci USA*. 2011;108(46):18843–8.

Van Goor F, Hadida S, Grootenhuis PD, et al. Rescue of CF airway epithelial cell function in vitro by a CFTR potentiator, VX-770. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:18825-30.

Wainwright CE, Elborn JS, Ramsey BW, et al. TRAFFIC Study Group; TRANS- PORT Study Group. Lumacaftor–ivacaftor in patients with cystic fibrosis homozygous for Phe508del CFTR. *N Engl J Med*. 2015;373(3):220–31.

Whiting P, Al M, Burgers L, Westwood M, Ryder S, Hoogendoorn M, Armstrong N, Allen A, Severens H, Kleijnen J. Ivacaftor for the treatment of patients with cystic fibrosis and the G551D mutation: a systematic review and cost-effectiveness analysis. *Health Technol Assess.* 2014;18:100–6.

Zabner J, Ramsey BW, Meeker DP, et al. Repeat administration of an adenovirus vector encoding cystic fibrosis transmembrane conductance regulator to the nasal epithelium of patients with cystic fibrosis. *J Clin Invest* 1996;97:1504-11.

Zamecnik PC, Raychowdhury MK, Tabatadze DR, Cantiello HF. Reversal of cystic fibrosis phenotype in a cultured Delta508 cystic fibrosis transmembrane conductance regulator cell line by oligonucleotide insertion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2016;101:8150-5.