

Fibrosis quística: Actualización en sus aspectos básicos

Luis E. Vega-Briceño¹, Ignacio Sánchez D.¹

Resumen

Los avances en torno al conocimiento de la proteína de regulación de transmembrana de la fibrosis quística (CFTR) han permitido entender mejor la fisiopatología de ésta enfermedad y la compleja relación genotipo-fenotipo. Los diversos fenotipos clínicos están influenciados no sólo por la clase de mutación registrada, sino también por factores ambientales y probablemente otros genes reguladores. CFTR regula la composición y cantidad de líquido en el epitelio de la vía aérea, primariamente por su acción sobre el cloro, pero también regula diferentes canales y transporta otras moléculas. Además, CFTR regula una respuesta inflamatoria frente a bacterias como *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Es probable que todos estos factores influyen en la historia natural de la FQ de cada paciente. El entendimiento de los aspectos básicos y sus implicancias clínicas podría brindar futuras y nuevas aproximaciones terapéuticas.

(**Palabras clave:** Fibrosis quística, gen, CFTR, vía aérea, ENaC).

Rev Chil Pediatr 76 (5); 464-470, 2005

Cystic Fibrosis: an overview of its basic aspects

Advances in the knowledge of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) allows a better understanding of the pathology of this disease and the complex genotype – phenotype relationship. Various clinical phenotypes are influenced not only by the type of mutation found, but also by environmental factors and probably other regulating genes. CFTR regulates the composition and amount of fluid in epithelial respiratory tract, specifically by its action on chlorine, but also regulates different channels and transports other molecules. In addition, CFTR modulates the inflammatory response against bacteria such as *Pseudomona aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. All these factors are likely to influence the clinical evolution of each patient. The understanding of basic features and clinical outcome of this disease can bring new therapeutic approaches in the future.

(**Key words:** Cystic fibrosis, gen, CFTR, airway, ENaC).

Rev Chil Pediatr 76 (5); 464-470, 2005

1. Pediatra Broncopulmonar. Sección de Respiratorio Pediátrico. Departamento de Pediatría. Pontificia Universidad Católica de Chile.

Trabajo recibido el 5 de julio de 2005, aprobado para publicación el 9 de septiembre de 2005.

Correspondencia a: Dr. Luis Enrique Vega-Briceño. Fono: 0056 (2) 354-3767 / Fax: 0056 (2) 247-3879. E-mail: levega@puc.cl

INTRODUCCIÓN

La Fibrosis Quística (FQ) es la enfermedad autosómica recesiva letal más frecuente en la raza caucásica; de evolución crónica, progresiva y compromiso multisistémico, presenta grandes variaciones fenotípicas según los diversos grupos étnicos estudiados. Si bien es cierto que existe un incremento en el número de casos reportados en Chile, el promedio de sobrevivencia aún no es ni siquiera la mitad de lo reportado en Estados Unidos, en donde se estima cercano a los 40 años; ello representan el doble de lo que fue hace 20 años¹. La incidencia de FQ en el hemisferio norte es alrededor de 1/2 000-1/2 500 nacidos vivos, siendo el 50% de los pacientes diagnosticados a la edad de 6 meses y el 90% a la edad de 8 años^{1,2}. En Chile, se estima alrededor de 1/5 000-6 000 nacidos vivos, aunque este dato es sólo una aproximación y probablemente no represente la realidad epidemiológica. Existen al menos 309 pacientes con FQ registrados, de los cuales 44 (14,2%) son mayores de 18 años (Mayo 2005, comunicación personal). El objetivo de la presente revisión es brindar una actualización en torno a algunos aspectos básicos de las interacciones moleculares y la fisiopatología de la FQ.

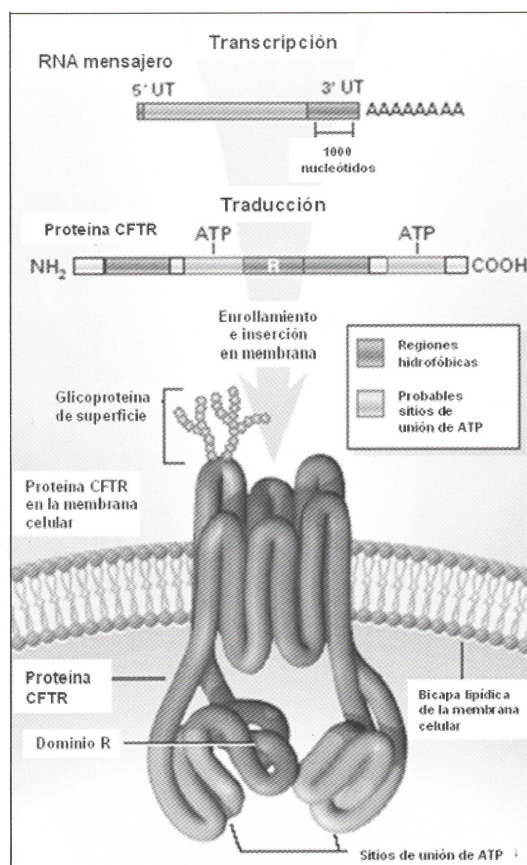
ASPECTOS GENÉTICOS

Un avance crucial en el entendimiento de FQ fue sin lugar a dudas la clonación del gen en 1989³. Este gen de 230 kb, se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 7 y codifica una proteína de 1 480 aminoácidos denominada CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator) situada en la porción apical de la membrana de las células epiteliales, que se expresa en las células secretorias, senos paranasales, pulmones, páncreas, hígado y tracto reproductivo. Consiste en doce regiones de membranas hidrofóbicas ligadas a dos puentes nucleótidos con su respectivo dominio y múltiples sitios para fosforilación (figura 1). Desde que el gen fue clonado hasta junio del 2005, se han identificado al menos 1 385 mutaciones⁴.

Sin lugar a dudas, la mutación más frecuente es la delección del codón que produce la pérdida de un residuo de fenilalanina en la posición 508, denominada mutación

$\Delta F508$. Cerca del 70% de pacientes con FQ exhiben esta variedad, aunque existen grandes variaciones geográficas que oscilan entre 32 y 82%². Generalmente, los pacientes homocigotes para $\Delta F508$ expresan enfermedad pulmonar, insuficiencia pancreática, azoospermia obstructiva y universalmente tienen test de sudor elevado. Sin embargo, la función pulmonar es variable, lo cual sugiere la presencia de otros factores genéticos y ambientales. En un grupo de pacientes chilenos, nuestro grupo describió una prevalencia de $\Delta F508$ cercana al 50%, siendo la segunda mutación más frecuente la G542X. Otras mutaciones encontradas fueron: W1282X, R1162X, R553X, G551D, R334W y 3849+10kbC>T^{5,6}.

En la actualidad se han descrito seis clases de mutaciones. La mutación **Clase I** (G542X, R1162X) es resultante de un defecto de inestabilidad del ácido ribonucleico



Tomado y modificado de Science 1992; 256: 774-9.

Figura 1. Representación gráfica de la proteína CFTR en la membrana celular.

mensajero o de una proteína anormal, la cual es rápidamente degradada. La mutación **Clase II** resulta de una falla en el proceso de síntesis de la proteína o del transporte de la misma a través de la membrana celular; esta clase incluye a la mutación $\Delta F508$. La mutación **Clase III** (G551D) resulta de una proteína correctamente localizada pero defectuosa en la actividad del canal. En la mutación **Clase IV** (R117H), la proteína está correctamente localizada y regulada pero tiene un defecto en la conductancia del cloro. La mutación **Clase V** (A455E) resulta en una reducida síntesis de CFTR. Finalmente, en la mutación **Clase VI** existe un defecto en la regulación de otros canales (principalmente Na, Cl). Las mutaciones clases I-III son las más comunes y están asociadas usualmente con insuficiencia pancreática. Esta característica está en relación con el efecto de la mutación en la producción de la proteína CFTR; valores $< 3\%$ se asocian a fenotipos más graves (figura 2).

ASPECTOS MOLECULARES Y FISIOPATOLOGÍA

Aunque es considerable el conocimiento molecular de CFTR, aún no se sabe exactamente cuál es la conexión entre la mutación del gen y la enfermedad pulmonar⁷. Existe un considerable número de trabajos que muestran como el gen que codifica CFTR es regulado y procesado. La expresión de un gen defectuoso no es el único determinante que contribuye a los diferentes fenotipos clínicos, existiendo otros modificadores de ca-

nales también afectados. La tabla 1 muestra algunos de los mecanismos propuestos. CFTR es más que un canal de cloro; es una proteína compleja, responsable del transporte de iones y otras moléculas diferentes al cloro. Funciona como un exportador de membrana dependiente de AMP cíclico regulando la "exportación de iones" mediante la rectificación del canal, además de autorregular los canales de sodio sensibles (ENaC)^{2,8}.

Existen diversas teorías que tratan de explicar la fisiopatología de la FQ. El transporte de iones (especialmente sodio) a través de la porción apical de la membrana genera diferencias de potencial (DP) que pueden ser medidos *in vivo* en la mucosa nasal o en la vía aérea baja. La administración de amiloride a pacientes con FQ reduce los DP a niveles normales, lo que sugiere que la "hiperabsorción" de sodio está incrementada dos o tres veces en los pacientes con FQ. Es probable que el defecto en ENaC sea secundario al defecto de la proteína CFTR (figura 3). El transporte de electrolitos es parcialmente responsable de la cantidad y composición del fluido en la superficie de la vía aérea (ASL: *airway surface liquid*)⁹. El ASL es una fina capa de 20-25 μm de profundidad de los cuales sólo 10 μm es líquido y el resto moco. El ASL provee una efectiva barrera defensiva frente a toxinas y agentes infecciosos, además de mantener un estado de hidratación "normal". La relación entre FQ, CFTR y alteración del ASL ha sido motivo de dos teorías opuestas (figura 4). Ambas teorías explican en parte, la infección temprana y persistente

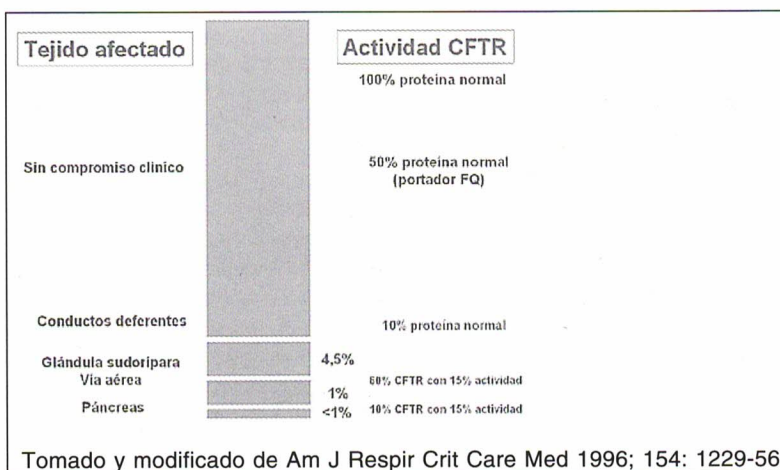


Figura 2. Expresión de la actividad normal de la proteína CFTR en relación con el tejido comprometido.

Tabla 1. Funciones de la proteína CFTR

Equilibrio del agua
Mecanismo de defensa
Propiedades de ligazón de <i>Pseudomona aeruginosa</i>
Acción sobre canales de ENaC*
Acción sobre la rectificación de canales de cloro
Acción sobre los canales de potasio
Acción sobre canales de bicarbonato
Acción sobre canales de acuaporina
Activación de las β -defensinas humanas-1

* ENaC: Canales de Sodio Sensibles

de la vía aérea. La hipótesis del volumen sostiene que CFTR regula el equilibrio del ASL mediante un transporte isotónico; bajo esta perspectiva, la deshidratación de la vía aérea interfiere con el trabajo y limpieza ciliar, produciendo un incremento de las bacterias e iniciando un proceso de inflamación. Existen trabajos que demuestran que el ASL obtenido de nariz de pacientes con FQ muestra igual osmolaridad que los sujetos controles; por su parte la hipótesis de la osmolaridad sostiene que en condiciones de salud, el ASL es hipotónico y la desproporcionada absorción de sal produce un incremento en la concentración de NaCl del orden de los 50 mM. A estas concentraciones las molé-

culas defensivas anti-bacterianas (defensinas 1 y 2) son inactivas. Ya que los pacientes con FQ pierden la función de CFTR, ASL es relativamente inactivo, impidiendo la función de éstas moléculas defensoras, con una multiplicación de *P. aeruginosa* en cultivos celulares. No existe un consenso único que determine cuál ni cómo es la tonocidad del ASL en los sujetos con FQ. Existen serias limitaciones técnicas en la recolección de las muestras de ASL¹⁰⁻¹².

Es muy probable que las secreciones viscosas de los pacientes FQ sea el resultado de la pobre hidratación del ASL secundaria a una secreción anormal de cloro y una hiperabsorción de sodio, por lo que los tapones mucosos resultantes impiden la limpieza ciliar normal promoviendo la sobrecolonización con bacterias. Estas bacterias encuentran un medio microaerófilo con condiciones favorables para crecer e inducir una respuesta inflamatoria permanente, responsable de la destrucción final del tejido pulmonar. Este medio pobre en oxígeno, gatilla un cambio de la forma no mucóide a la forma mucóide¹³. Además del ASL, la disfunción de CFTR puede predisponer la adherencia de bacterias a la vía aérea y esto puede resultar en un aumento de la actividad de células inflamatorias. La función de estas células puede estar mal regulada en los pacientes con FQ. Se ha visto, en modelos *in vitro*, que las altas concentraciones de cloro

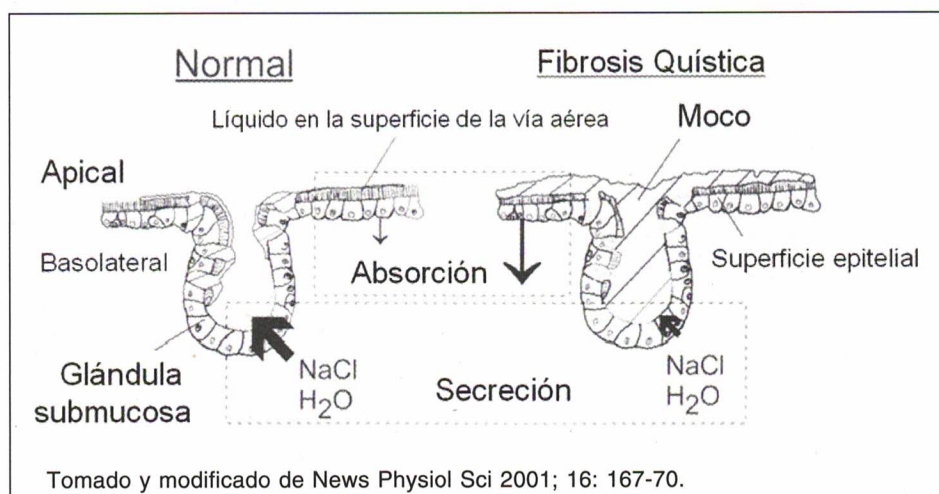


Figura 3. Actividad de la proteína CFTR en la membrana celular del humano.

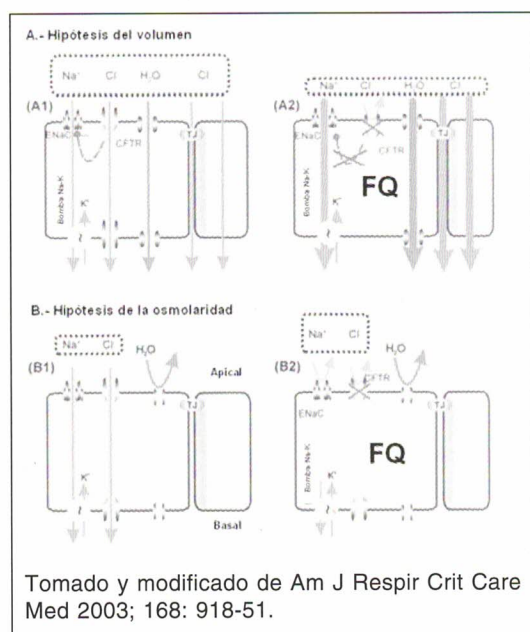


Figura 4. Representación esquemática de las hipótesis del volumen y la osmolaridad.

y sodio inactivan la β -defensina-1 humana, un péptido natural presente en la superficie de la vía aérea¹⁴. Se ha postulado que CFTR puede actuar por sí mismo como receptor de ligazón y endocitosis contra *P. aeruginosa*, función que estaría perdida en los pacientes con FQ¹⁵.

OTROS GENES INVOLUCRADOS

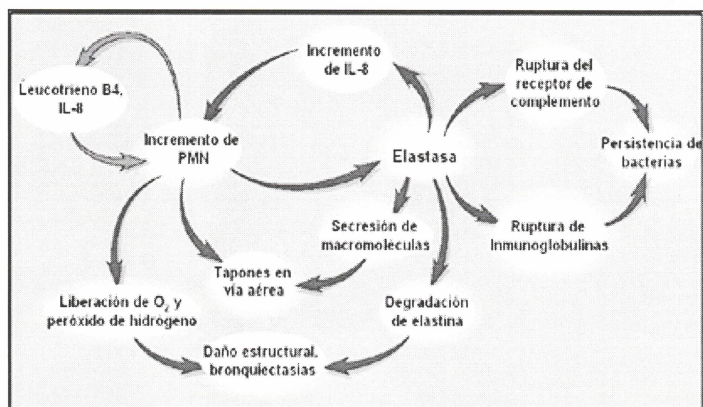
Algunos estudios interesantes, exploraron el efecto de otras mutaciones en genes y el polimorfismo en los fenotipos de FQ, tratando de explicar la variabilidad de los pacientes homocigotes para $\Delta F508$ ¹⁶. Por ejemplo, el gen de la $\alpha 1$ -antitripsina y sus mutaciones S y Z han sido involucrados en las formas leves. En contraste, el gen de la lectina ligadora de manosa (MBL) está asociado a peor pronóstico¹⁷. MBL es parte del sistema inmune innato de todo ser humano y es particularmente importante en los primeros meses de la vida. Existe una asociación entre los sujetos portadores de alelos defectuosos con una peor función pulmonar, especialmente los pacientes con FQ crónicamente infectados por *P. aeruginosa*. El factor de transformación de crecimiento (TGF β -1)

es también un importante modificador de genes. Diversos polimorfismos han sido asociados a fibrosis pulmonar y mayor gravedad de la enfermedad. Estas áreas de investigación están actualmente en desarrollo y los genes que codifican citoquinas como IL-1, IL-10 y el factor de necrosis tumoral (TNF) están siendo estudiados.

MICROBIOLOGÍA

Staphylococcus aureus y *Haemophilus influenzae* son las bacterias más frecuentemente aisladas en el tracto pulmonar de niños con FQ. A diferencia de otras enfermedades, la FQ exhibe una clara distribución de gérmenes adquiridos en función de la edad. *S. aureus* es usualmente el primer patógeno aislado de la vía aérea de los pacientes con FQ, con una tasa de infección que disminuye con la edad, mientras que por su parte la tasa de *P. aeruginosa* se incrementa. La presencia de *S. aureus* en el tracto respiratorio en forma intermitente debe obligar a su erradicación completa por ser quien mayor destrucción produce en la vía aérea. A través de este invasor primario, la *P. aeruginosa* ve facilitada su entrada y posterior colonización. Si bien ambas bacterias pueden coexistir, el desarrollo abundante de *P. aeruginosa* puede inhibir el crecimiento de *S. aureus*¹⁸.

H. influenzae, una bacteria muy difícil de cultivar por sus requerimientos metabólicos, puede producir colonización crónica con deterioro significativo de la función pulmonar. La persistencia de al menos un cultivo positivo a *S. aureus* y/o *H. influenzae* debe alertar al médico hacia la sospecha de FQ. *P. aeruginosa* produce la infección pulmonar crónica más severa y se asocia a un deterioro progresivo de la función pulmonar; su aparición por primera vez en las secreciones bronquiales es indicación de antibioticoterapia agresiva aunque no exista ningún indicador clínico de exacerbadión. En la mayoría de los pacientes la infección por *P. aeruginosa* es iniciada por cepas no mucoides y la transición a la variante mucóide se relaciona con el incremento de anticuerpos antipseudomonas¹⁹. Aún con el empleo de terapias antibióticas agresivas, la infección por la forma mucóide de *P. aeruginosa* puede no ser erradicada, probablemente por la pobre penetración del antibiótico dentro del "biofilm"



Tomado y modificado de N Engl J Med 1996; 335: 179-88.

Figura 5. Interacciones fisiopatológicas entre inflamación e infección.

del ASL¹⁸. *Burkholderia cenocepacia* (previamente denominada *Burkholderia cepacia*, y antes de ello, *Pseudomonas cepacia*) emergió en 1970 como un patógeno en FQ. Debido a la evidencia de infección cruzada y al impacto sobre la función pulmonar (especialmente en adolescentes y adultos), todos los centros tienden a aislar a aquellos pacientes colonizados con esta bacteria. A menudo es muy resistente a todos los antibióticos y fácilmente transmisible. Nuevos organismos, como la *Stenotrophomonas maltophilia*, han sido descritos, aunque aparentemente sin un impacto claro en las pruebas de función pulmonar o en la supervivencia.

INFECCIÓN VS INFLAMACIÓN: EL DILEMA

La interacción infección e inflamación en FQ es compleja (figura 5). Existe evidencia que muestra una respuesta inflamatoria exagerada aún en ausencia de infección. La infiltración de neutrófilos y los niveles de IL-8 como respuesta a una infección están incrementados en la vía aérea de FQ²⁰. Khan y colaboradores mostraron que los niños con FQ tienen un incremento en el número de neutrófilos y de interleukina 8 (IL-8) en lavado broncoalveolar (LBA) a las 4 semanas de vida, aún sin ninguna evidencia de infección²¹. Por su parte, otros grupos sugieren que la infección precede a la inflamación. Los niveles de IL-10, un poderoso anti-inflamatorio endógeno, en LBA permanecen inhibidos aún después de erradicada la infección²², lo cual hace más susceptible a la

célula frente a una excesiva respuesta inflamatoria neutrofílica ante futuras infecciones principalmente por *S. aureus* o *P. aeruginosa* (figura 5).

Diferentes líneas celulares de FQ infectadas por *P. aeruginosa* muestran incremento de los niveles de TNF α , IL-6 y IL-8 en comparación con líneas celulares de sujetos normales, existiendo un defecto en la regulación de diversas citoquinas. Los neutrófilos provenientes de pacientes con FQ eliminan más niveles de elastasa y oxidantes y menos L-selectina que sujetos controles, además de una exagerada respuesta frente a estimulación con IL-8 y TNF α ²⁰. La actividad neutrofílica es sensible a los niveles de concentración de electrolitos mostrando una disminución en medio hipo o hipertónicos. El óxido nítrico (NO) tiene propiedades antimicrobianas e influye en la actividad mucociliar modulando la actividad de diversos canales. NO puede ser protector frente a la inflamación. Una falla en el incremento de los niveles de NO puede predisponer a la inflamación de la vía aérea. Los bajos niveles de NO modulados por una deficiente actividad de CFTR es un modelo atractivo para establecer una relación en FQ²³.

En resumen, es muy probable que sean muchos los distintos mecanismos que participen en forma simultánea en la destrucción de la vía aérea. Todos estos procesos determinan la expresión fenotípica de la enfermedad en diferentes grados. Si bien el proceso inflamatorio se inicia en forma muy precoz en la vida, la respuesta inflamatoria exagerada frente a infecciones posteriores

por patógenos como *S. aureus* y *P. aeruginosa* tiene una implicancia más crítica en la injuria y remodelación del epitelio ciliar respiratorio. Esto puede tener un significado importante para la pesquisa y el manejo cada vez agresivo con antibióticos y drogas antiinflamatorias. Aun existe mucho por aprender acerca de estos procesos, pero indudablemente; el comprenderlo ayudará a establecer conductas más efectivas en términos de sobrevida.

REFERENCIAS

- 1.- Cystic Fibrosis Foundation. Cystic fibrosis Foundation Patient Registry Annual Report 2000. Bethesda: Cystic Fibrosis Foundation, 2001.
- 2.- Ratjen F, Doring G: Cystic fibrosis. Lancet 2003; 361: 681-9.
- 3.- Rommens J, Iannuzzi M, Kerem B, et al: Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. Science 1989; 245: 1059-65.
- 4.- <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr> revisado el 07 de Junio del 2005.
- 5.- Navarro H, Kolbach M, Repeto G, et al: Correlación genotipo-fenotipo de un grupo de pacientes con fibrosis quística. Rev Méd Chile 2002; 130: 475-81.
- 6.- Molina G, González F, Cvae R, et al: Estudio clínico-genético molecular de la fibrosis quística en la V Región, Chile. Rev Méd Chile 2002; 130: 850-8.
- 7.- Mckone E, Emerson S, Edwards K, Aitken M: Effect of genotype on phenotype and mortality in cystic fibrosis: a retrospective cohort study. Lancet 2003; 361: 1671-6.
- 8.- Gibson R, Burns J, Ramsey B: Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. Am J Respir Crit Care Med 2003; 168: 918-51.
- 9.- Mcauley D, Elborn J: Cystic Fibrosis: basic science. Paed Resp Rev 2000; 1: 93-100.
- 10.- Boucher RC: New concepts of the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. Eur Respir J 2004; 23: 146-58.
- 11.- Coakley R, Grubb B, Paradiso A, et al: Abnormal surface liquid pH regulation by cultured cystic fibrosis bronchial epithelium. Proc Natl Acad Sci U S A. 2003; 100: 16083-8.
- 12.- Song Y, Thiagarajah J, Verkman AS: Sodium and chloride concentrations, pH, and depth of airway surface liquid in distal airways. J Gen Physiol 2003; 122: 511-9.
- 13.- Worlitzsch D, Tarran R, Ulrich M, et al: Effects of reduced mucus oxygen concentration in airway Pseudomonas infections of cystic fibrosis patients. J Clin Invest 2002; 109: 317-25.
- 14.- Cole A, Waring A: The role of defensins in lung biology and therapy. Am J Respir Med 2002; 1: 249-59.
- 15.- Bals R, Weiner DJ, Meegalla RL: Salt-independent abnormality of antimicrobial activity in cystic fibrosis airway surface fluid. Am J Respir Cell Mol Biol 2001; 25: 21-5.
- 16.- Accurso F, Sontag M: Seeking modifier genes in cystic fibrosis. Am J Respir Crit Care Med 2003; 167: 289-90.
- 17.- Garred P, Pressler T, Madsen H, et al: Association of mannose-binding lectin gene heterogeneity with severity of lung disease and survival in cystic fibrosis. J Clin Invest 1999; 104: 431-7.
- 18.- Doring G, Conway S, Heijerman H, et al: Antibiotic therapy against Pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis: a European consensus. Eur Respir J 2000; 16: 749-67.
- 19.- Pilewski J, Frizzell R: Role of CFTR in Airway Disease. Physiol Rev 1999; 79: 215-55.
- 20.- Taggart C, Coakley R, Grealley P, et al: Increased elastase release by CF neutrophils is mediated by tumor necrosis factor-alpha and interleukin-8. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 2000; 278: 33-41.
- 21.- Khan TZ, Wagener JS, Bost T, Martinez J, Accurso F, Riches D: Early pulmonary inflammation in infants with cystic fibrosis. Am J Respir Crit Care Med 1995; 151: 1075-82.
- 22.- Colombo C, Costantini D, Rocchi A, et al: Cytokine levels in sputum of cystic fibrosis patients before and after antibiotic therapy. Pediatr Pulmonol 2005; 40: 15-21.
- 23.- Widdicombe J: Yet another role for the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. Am J Respir Cell Mol Biol 2000; 22: 11-4.