



Facultad de Ciencias  
Biológicas y Ambientales  
Universidad de León



universidad  
de león

# Fibrosis quística: Mutaciones en el gen CFTR y estrategias de Terapia Génica.

Cystic fibrosis: CFTR gene mutations and  
Gene Therapy strategies.

Marina Ortiz Sanz

Ana Isabel González Cordero

Grado en Biología

07/2023

## ÍNDICE

1. Introducción.....	pág. 1-4
2. Objetivos.....	pág. 4
3. Material y Métodos.....	pág. 4 y 5
4. Manifestaciones clínicas.....	pág. 5-7
5. Gen CFTR.....	pág. 7-13
5.1 Tipos de mutaciones.....	pág. 11-13
6. Terapias.....	pág. 13-19
6.1 Terapia molecular.....	pág. 14-20
6.1.1 Correctores.....	pág. 15
6.1.2 Potenciadores.....	pág. 16
6.1.3 Estabilizadores.....	pág. 17
6.1.4 Agentes de lectura.....	pág. 17
6.1.5 Amplificadores.....	pág. 17
6.1.6 Moduladores de combinación doble.....	pág. 18 y 19
6.1.7 Moduladores de combinación triple.....	pág. 19
6.1.8 Otros compuestos que presentan actividad correctora/modificadora.....	pág. 19 y 20
6.2 Terapia génica.....	pág. 20-22
6.2.1 CRISPR-Cas9.....	pág. 20
6.2.2 Oligonucleótidos antisentido.....	pág. 20 y 21
6.2.3 RNA interferente pequeño.....	pág. 21
6.2.4 Vectores virales.....	pág. 22
6.2.5 Vectores no virales.....	pág. 22
6.3 Conclusiones.....	pág. 23
6.4 Bibliografía.....	pág. 24-26

## **RESUMEN**

La fibrosis quística es una enfermedad genética autosómica recesiva causada por diferentes mutaciones en el gen CFTR. El cual codifica para la proteína CFTR cuya función es formar parte del canal de cloruro esencial para el equilibrio osmótico y para la viscosidad. Esta enfermedad afecta principalmente al aparato respiratorio, digestivo, reproductor y a las glándulas sudoríparas, y sus principales manifestaciones clínicas son infección pulmonar crónica, elevación de cloro en el sudor, insuficiencia pancreática e infertilidad en los varones.

Gracias a los avances en el conocimiento de esta enfermedad, en la actualidad existen terapias dirigidas a mejorar los defectos proteicos o a corregir las mutaciones subyacentes. Aunque no se ha encontrado una cura definitiva los avances en las terapias son muy prometedores para el futuro.

Palabras clave: Fibrosis quística, gen CFTR, mutaciones genéticas, terapia génica, y CRISPR-Cas9

## **ABSTRACT**

Cystic fibrosis is an autosomal recessive genetic disease caused by different mutations in the CFTR gene. Which codes for a CFTR protein whose function is the essential chloride channel for osmotic balance and viscosity. It mainly affects the respiratory, digestive, and reproductive systems, and the sweat glands, and its main clinical manifestations are chronic lung infection, elevated sweat chloride, pancreatic insufficiency, and male infertility.

Thanks to advances in the knowledge of this disease, there are currently therapies aimed at improving protein defects or correcting underlying mutations. However, a definitive cure has not been found but advances in therapies are very promising for the future.

Key words: Cystic fibrosis, CFTR gene, genetic mutations, gene therapy y CRISPR-Cas9

## **ABREVIATURAS**

ASL: Líquido de la superficie de las vías respiratorias

ASO: Oligonucleótidos antisentido

CFRD: Diabetes mellitus relacionada con la fibrosis quística

CFTR: Regulador de la conductancia transmembrana

ENaC: Canal de sodio epitelial sensible a la amilorida ENaC

FQ: Fibrosis quística

HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> : Bicarbonato

HDR: reparación dirigida por homología

NBD: Dominio de unión nuclear

NER: Escisión de nucleótidos

NFkB: Factor nuclear potenciador de las células B activadas

PERT: Terapia de reemplazo de enzimas pancreáticas

PKA: Proteína quinasa A

PTC: Codón de terminación prematura

R: Dominio regulador

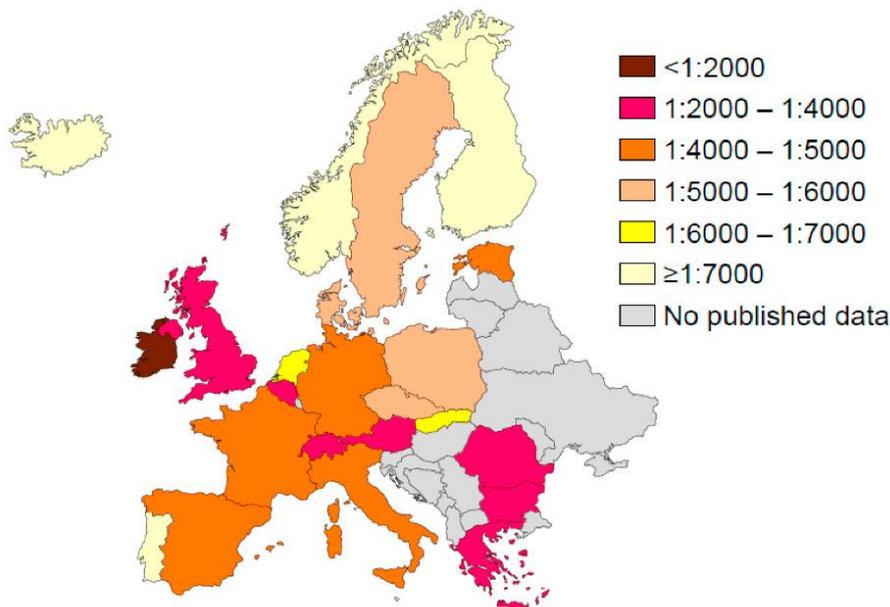
siRNA: RNA interferente pequeño

TIR: Prueba de la tripsina inmunorreactiva

TMD: Dominio transmembrana

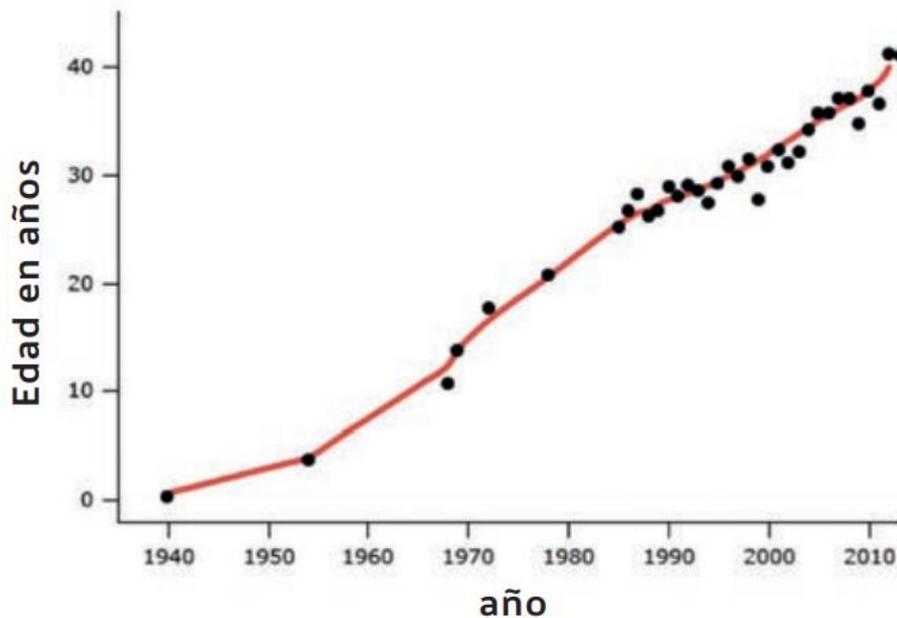
## INTRODUCCIÓN

La fibrosis quística (FQ) es un trastorno genético con herencia autosómica recesiva caracterizado principalmente por obstrucción e infección en las vías respiratorias y por signos y síntomas del aparato digestivo (Scotet *et al.*, 2020). En los Caucásicos es la enfermedad genética autosómica recesiva más común y con una incidencia bastante elevada (Dayama *et al.*, 2020) aproximadamente de 1 en 3000 nacimientos (Hangül *et al.*, 2019), aunque la incidencia no es uniforme en todo el mundo ya que depende de la distribución geográfica y del origen étnico del individuo. En Europa la incidencia varía entre un máximo de 1:2000 individuos y un mínimo de más de 1:7000 individuos (Scotet *et al.*, 2020) (Figura 1).



**Figura 1.** Incidencia de la fibrosis quística en Europa (Scotet *et al.*, 2020).

En las últimas décadas el pronóstico de los pacientes con fibrosis quística ha mejorado notablemente debido al diagnóstico precoz, una mejor comprensión del curso de la enfermedad y a los tratamientos médicos. De hecho, en 1950 la esperanza de vida era de un año y en la actualidad ha aumentado considerablemente llegando a los 45 años (Figura 2) (Fielbaum, 2017).



**Figura 2.** Mediana de la supervivencia en pacientes con fibrosis quística (Fielbaum, 2017).

Esta enfermedad está causada por mutaciones en el gen CFTR, localizado en el cromosoma 7, que codifica una proteína reguladora de la conductancia transmembrana (CFTR), un canal de cloruro activado por AMP cíclico (Ortigosa, 2007).

La proteína CFTR se localiza en las membranas apicales y basolaterales de las vías aéreas, intestino y glándulas exocrinas (Fielbaum, 2017).

Es muy abundante en los ionocitos, que son células columnares no ciliadas que expresan aproximadamente el 50% de las transcripciones de CFTR en el epitelio superficial de las vías respiratorias (Miah *et al.*, 2019).

Se han descrito más de 2000 mutaciones en el gen CFTR, las cuales se clasifican en 7 grupos. Las clases I, II y III ocasionan ausencia total del canal del cloruro, sin embargo, las clases IV, V y VI producen un fallo parcial de la proteína (Fielbaum, 2017). Recientemente se ha introducido la clase VII que conduce a la ausencia de RNA maduro de longitud completa (Moliteo *et al.*, 2022).

El diagnóstico de la fibrosis quística se realiza en los primeros meses/años de vida y para ello se ha constatado una gran variedad de manifestaciones clínicas. Aunque las manifestaciones respiratorias no son muy frecuentes en el período neonatal (Fielbaum, 2017).

Primeramente, se observa si hay síntomas de sospecha en el recién nacido y primer año de vida como la presentación de íleo meconial, coloración amarilla de la piel y/o mucosas

causadas por un obstáculo que dificulta la llegada de la bilis al duodeno (ictericia colestática), disminución del nivel de proteínas séricas por debajo de lo normal, edemas y lesiones pulmonares (Ortigosa, 2007).

Los aspectos clínicos que se pueden ver en niños entre 1 y 12 años son: bronquitis crónica, inflamación de la mucosa que recubre los senos paranasales (sinusitis), neumonías de repetición: *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, diarrea crónica con presencia de grasa en las heces, aumento del bicarbonato en sangre, fleo meconial y colapso completo o parcial del pulmón debido a que los alveolos se desinflan o se llenan de líquido (atelectasia) (Ortigosa, 2007).

Los adolescentes y adultos suelen padecer bronquitis crónica, colonización de *Pseudomonas aeruginosa* en los pulmones, eliminación de sangre por el aparato respiratorio (hemoptisis), disfunción del hígado, esterilidad masculina con azoospermia (no hay espermatozoides en el semen que eyacula el hombre) y diabetes mellitus (Ortigosa, 2007).

Posteriormente se comprueba si hay disfunción del gen CFTR. Para ello se pueden realizar varias pruebas: test de sudor, estudio genético o prueba del potencial nasal diferencial.

El test del sudor es la prueba fundamental de comprobación diagnóstica. Se utiliza la técnica de Gibson y Cook y para confirmarse se debe obtener dos test del sudor positivos (Gale *et al.*, 2016).

En esta técnica se mide la concentración de cloro en el sudor y se obtiene mediante el método de electroestimulación con pilocarpina (Gale *et al.*, 2016) que consiste en colocar en la parte anterior del antebrazo dos electrodos (ánodo y cátodo) con un disco cada uno de pilocarpina (Martín de Vicente *et al.*, 2015). Dependiendo de los valores obtenidos se puede clasificar como:

- <30 mmol/l: Fibrosis quística muy improbable o descartado
- 30-60 mmol/l: el resultado es dudoso, pero se repite la prueba del test del sudor
- >60 mmol/l se diagnóstica fibrosis quística (Gale *et al.*, 2016).

También se utiliza la prueba de la tripsina inmunorreactiva (TIR) ya que con una gota de sangre se puede diagnosticar precozmente la enfermedad. Cuando hay niveles elevados de TIR es posible que el paciente padezca fibrosis quística provocando una producción

anormal de enzimas pancreáticas. Aunque esta prueba presenta baja especificidad, es decir, puede dar un alto número de falsos positivos (Arrudi-Moreno *et al.*, 2021).

Hay dos tipos de FQ

**Fibrosis quística típica o clásica:** se caracteriza por obtener un test de sudor positivo (>60 mmol/l), presentan uno o más rasgos fenotípicos característicos y dos mutaciones del gen CFTR. Y pueden tener o no insuficiencia pancreática (Aparicio *et al.*, 2015).

**Fibrosis quística atípica:** suele ser diagnosticada en pacientes adultos que pueden tener un test del sudor dudoso, presentan al menos una característica fenotípica de la FQ y en ellos se detectan 2 mutaciones del gen CFTR. Tienen enfermedad pulmonar leve y función pancreática normal (Aparicio *et al.*, 2015).

## **OBJETIVOS**

El objetivo principal es realizar una revisión bibliográfica sobre la fibrosis quística con el fin de:

- Explicar las causas genéticas y moleculares de la enfermedad estudiando las diferentes mutaciones en el gen CFTR y sus consecuencias fenotípicas.
- Explicar los tratamientos que se llevan a cabo para combatir la enfermedad, además de aportar los posibles tratamientos futuros.

## **MATERIAL Y MÉTODOS**

Para realizar la revisión bibliográfica se llevo a cabo la búsqueda tanto en artículos de revisión como de investigación científica en las siguientes bases de datos:

- ScienceDirect (<https://www.sciencedirect.com/>)
- PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>)
- Google Académico (<https://scholar.google.es/>)

Para citar los artículos y realizar la bibliografía se ha utilizado el estilo bibliográfico Harvard.

Palabras clave: Cystic fibrosis, CFTR, genetic mutations, gene therapy, molecular therapy, incidence, cystic fibrosis incidence, cystic fibrosis epidemiology, clinical manifestations, modulators cystic fibrosis, CRISPR-Cas9, cystic fibrosis viral therapy y cystic fibrosis antisense oligonucleotides.

Criterios de exclusión: Estudios publicados muy antiguos, estudios sin validación científica, resultados que no estén relacionados con el tema y artículos que no estén en inglés o español.

## **MANIFESTACIONES CLÍNICAS**

Las principales manifestaciones clínicas son enfermedad pulmonar obstructiva crónica, insuficiencia pancreática exocrina, elevación de cloro en sudor (conduciendo a una hidratación insuficiente lo que dificulta la eliminación de bacterias) e infertilidad en varones por azoospermia obstructiva. Aunque algunos pacientes (15% de los diagnosticados) presentan suficiencia pancreática y en algunos casos niveles normales de electrolitos en sudor y con afectación pulmonar leve (Escobar y Sojo, 2016).

La insuficiencia pancreática se debe a que la cantidad de cloro luminal es insuficiente para el intercambio con bicarbonato. Esto conlleva a la obstrucción de los conductos pancreáticos y a que disminuya el jugo pancreático provocando destrucción del tejido pancreático. En los pacientes adultos se observa otro rasgo con elevada prevalencia que es la pérdida de masa ósea (osteopenia y osteoporosis) y puede estar presente en el 75% de los que presentan la enfermedad (Melo y Fernández, 2015).

Otra manifestación clínica con una prevalencia bastante alta es la diabetes mellitus relacionada con la fibrosis quística (CFRD), la presentan el 2% de los niños, el 19% de los adolescentes y el 40-50% de los adultos. Para detectar la CFRD se realiza la prueba de tolerancia anormal a la glucosa, aunque normalmente no se detecta antes de la pubertad. El diagnóstico se relaciona con un empeoramiento de la función pulmonar y un aumento de la mortalidad. Se caracteriza por una pérdida parcial o disfunción de los islotes pancreáticos (conduciendo a una deficiencia de la secreción de insulina), inflamación basal crónica y un aumento del gasto energético (Granados *et al.*, 2019).

También hay otras manifestaciones menos comunes como el síndrome de obstrucción intestinal distal. Se observa en pacientes mayores de 15 años y provoca el depósito de material fecal en el íleon distal y el colon proximal. Los pacientes presentan dolor abdominal, náuseas, capacidad limitada para defecar, etc. Es común en pacientes con genotipos menos graves y enfermedad pulmonar avanzada (Abraham y Taylor, 2017).

Debido a que se altera el transporte iónico, se produce una deshidratación de líquido en las vías aéreas y un aumento de la viscosidad de moco. Esto favorece la colonización

bacteriana crónica que está asociada a una respuesta inflamatoria produciendo la obstrucción del flujo aéreo y conduciendo a la insuficiencia respiratoria e incluso provocando la muerte (Ruiz, 2016) (Figura 3).



**Figura 3.** Evolución de la enfermedad respiratoria en la fibrosis quística (Ruiz, 2016).

En las expectoraciones de los pacientes los primeros patógenos que se aíslan son *Staphylococcus aureus* y *Haemophilus influenzae*. Con la edad la bacteria dominante es *Pseudomonas aeruginosa* y perdura hasta el final de la vida. También se ha observado un patógeno oportunista, *Burkholderia cenocepacia*, el cual contribuye al deterioro de la función pulmonar. Otros patógenos que se han observado en los pacientes son *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans*, micobacterias no tuberculosas y hongos (Vargas-Roldán *et al.*, 2022).

*Pseudomonas aeruginosa* puede infectar de forma crónica el pulmón. La prevalencia de esta bacteria aumenta con la edad, alcanzando en la edad adulta casi el 70%. *Burkholderia cenocepacia* produce el síndrome de cepacia (presencia de neumonía necrosante y sepsis). Los pacientes que desarrollan este síndrome fallecen muy pronto. Además, esta bacteria es altamente transmisible (Vargas-Roldán *et al.*, 2022).

Se ha observado que *Pseudomonas aeruginosa* y *Burkholderia cenocepacia* son resistentes a múltiples fármacos por lo que hace que el manejo de los pacientes que presentan estos patógenos sea complicado (Lambiase *et al.*, 2006).

También se ha observado que los pacientes con fibrosis quística tienen un mayor estrés oxidativo que los pacientes con otras enfermedades o sujetos sanos. El estrés oxidativo afecta a los componentes estructurales y funcionales de las células a nivel molecular debido a que hay un exceso de especies reactivas de oxígeno y se reducen las moléculas

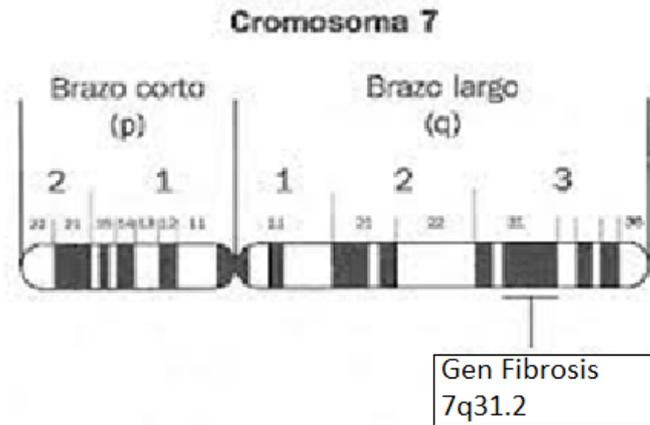
antioxidantes. Este desequilibrio redox induce a la inflamación crónica, contribuyendo al daño celular persistente y evita la remodelación de las vías respiratorias (Moliteo *et al.*, 2022).

El desequilibrio redox produce la alteración de diversas vías de señalización como la vía NFκB (factor nuclear potenciador de las células B activadas) necesaria para la transcripción de diversas moléculas proinflamatorias. Y se observa una sobreexpresión de esta vía debido al aumento de producción de especies reactivas de oxígeno y por la estimulación bacteriana en la superficie celular. Además, los pacientes con fibrosis quística tienen una deficiencia de glutatión, el cual representa la primera línea de defensa del pulmón contra el estrés oxidativo y es fundamental para mantener un buen estado redox en las células (Moliteo *et al.*, 2022).

Existe una gran variación en los signos y síntomas entre la edad de inicio y el ritmo individual de progresión de la enfermedad, ya que esta depende del genotipo del paciente y del tiempo de evolución. Suele manifestarse en los primeros meses de vida con problemas respiratorios asociados a manifestaciones digestivas (Escobar y Sojo, 2016). Además, hay que tener en cuenta que en cada paciente la gravedad y el ritmo de progresión de la enfermedad varía considerablemente y estas variaciones también podrían relacionarse con las diferentes mutaciones del gen CFTR (Fernández *et al.*, 2010).

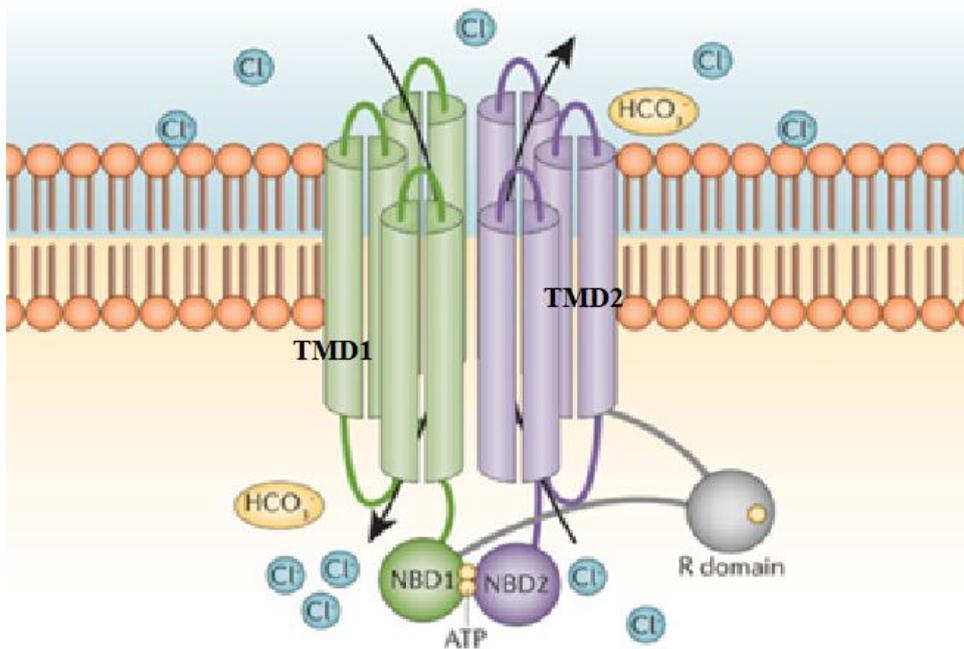
## **GEN CFTR**

El gen CFTR fue aislado en 1989, está ubicado en el brazo largo del cromosoma 7 (7q31.2) y tiene un tamaño de 250 kb que comprende 27 exones y 26 intrones que codifican un ARNm de 6,5 kb, el cual se traduce en una proteína de 1480 aminoácidos. Forma parte de un canal de cloruro regulado por AMP cíclico el cual activa la proteína quinasa A (PKA) que a su vez fosforila el dominio regulador (R) y produce la apertura del canal (Figura 4).



**Figura 4.** Localización del gen de la fibrosis quística (Ortigosa, 2007).

La estructura de la proteína CFTR contiene dos dominios transmembrana (TMD1 y TMD2), los cuales son hidrofóbicos y cada uno está conectado a un dominio de unión nuclear (NBD1 y NBD2), que se unen a ATP y una subunidad reguladora R (hidrófila). TMD1 está conectado a NBD1 y TMD2 está conectado a NBD2, formando así los dos complejos que los une el dominio R. Los TMD forman el canal y los NBD regulan su apertura y cierre (Ratjen *et al.*, 2015) (Figura 5).



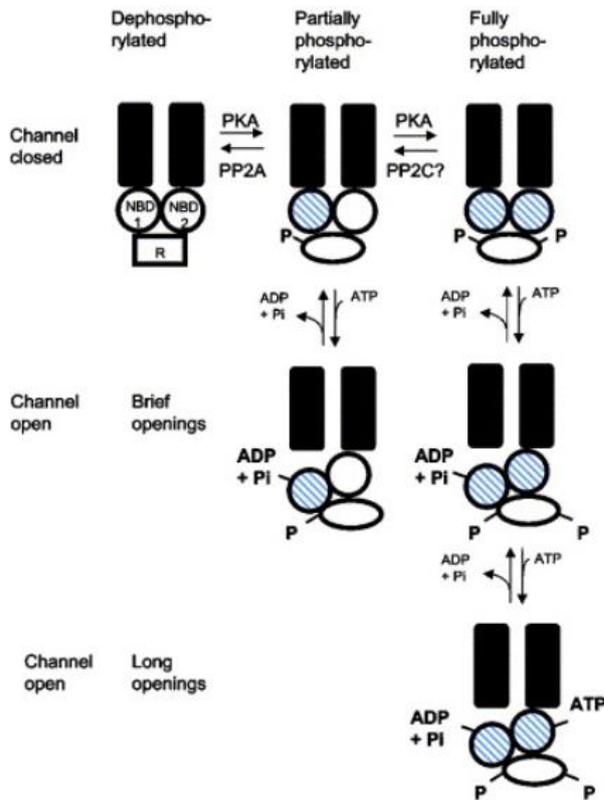
**Figura 5.** Estructura de la proteína CFTR (modificada de Ratjen *et al.*, 2015).

La función de la proteína CFTR está regulada por la fosforilación mediada por fosfoquinasas dependientes de AMPc. Esta fosforilación se hace en presencia de ATP y desencadena la apertura del canal y permite la migración de aproximadamente 10 iones de cloruro hacia el exterior de la célula en cada minuto. Para que se active el canal de cloruro se requiere la fosforilación del dominio “R” mediado por la fosfoquinasa A (Chen *et al.*, 2021).

La proteína CFTR tiene la función del canal de cloruro que es esencial para el equilibrio osmótico y su viscosidad. Pero no solo tiene esta función, sino que también regula otros canales iónicos como el canal de sodio epitelial sensible a la amilorida (ENaC), el cual juega un papel esencial en la absorción de sal. Debido a que en las células epiteliales se absorben  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  pero no el agua concurrente por su baja permeabilidad (este mecanismo es el que evita la pérdida de sal en el cuerpo). El canal ENaC depende del funcionamiento de CFTR y como está alterado sucede lo siguiente: la bomba de  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa bombea el  $\text{Na}^+$  intracelular hacia fuera de la célula (al fluido intersticial). Este gradiente eléctrico favorece la absorción de  $\text{Cl}^-$  a través de CFTR y se produce la despolarización potencial de la membrana apical, eliminando la fuerza impulsora eléctrica y evitando la difusión pasiva de  $\text{Na}^+$ . Por lo tanto, el  $\text{Na}^+$  y el  $\text{Cl}^-$  se retienen en la luz y el sudor final excretado contiene concentraciones más altas de ellos (>60 mmol/l). Lo cual es una característica diagnóstica de la fibrosis quística (Hanssens *et al.*, 2021).

También regula el transporte de bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ), este tiene un papel clave en la homeostasis del pH del líquido de la superficie de las vías respiratorias (ASL), y por lo tanto en el sistema de inmunidad innato y la viscosidad del moco. Además, es esencial para inhibir el crecimiento bacteriano, la colonización de las vías respiratorias y la formación de biopelículas. En la fibrosis quística estos mecanismos están alterados por la disminución del pH de ASL (Hanssens *et al.*, 2021).

La proteína quinasa A fosforila el dominio R para que comience la activación del canal de cloruro de CFTR. Cuando el dominio R está completamente fosforilado, se produce la unión e hidrólisis de ATP por NBD1 que además de producir la apertura del canal también se consigue la unión de ATP a NBD2. De esta forma se consigue una estabilización del canal abierto. Cuando el dominio R es desfosforilado por las fosfatasas, el canal se cierra (Vankeerberghen *et al.*, 2002) (Figura 6).



**Figura 6.** Activación de canales CFTR (Vankeerberghen *et al.*, 2002).

Para que se produzca la activación de los canales CFTR la proteína tiene que ser madura y debe ser procesada. Para ello primero se produce el transporte cotraduccional a través del translocón Sec 61, el polipéptido CFTR se integra en la membrana del retículo endoplasmático y se N-glucosila. De esta forma el peso molecular de la proteína aumenta de 130 a 150 kDa. Con la ayuda de moléculas como la calnexina y la Hsp70 (chaperonas), se pliega y así es resistente a las proteasas y puede transportarse al aparato de Golgi. Aquí se modifican aún más los grupos de glucosilación y se forma una proteína madura de 170 kDa, la cual será transportada a la membrana celular de las células donde podrá funcionar como una proteína reguladora de la conductancia transmembrana (Vankeerberghen *et al.*, 2002).

No obstante, este proceso de plegado es muy poco eficiente y solo el 25% de los productos de la traducción alcanzan el plegamiento correcto y pueden abandonar el retículo endoplasmático, el resto se degradan en una vía dependiente de ubiquitina por el complejo citosólico proteasoma 26S (Vankeerberghen *et al.*, 2002).

Las proteínas CFTR defectuosas (debido a mutaciones genéticas) no pueden realizar un transporte efectivo a la membrana celular ya que el retículo endoplasmático no puede

procesarlas adecuadamente. Pero si que hay algunas proteínas CFTR mutadas que alcanzan la membrana celular, aunque al ser disfuncionales no pueden llevar a cabo el transporte de iones de cloruro, lo que conduce a la acumulación de iones de cloruro y moléculas de agua que se asocian en las células epiteliales y se produce una falta de hidratación de la mucosidad y de las secreciones extracelulares (Chen *et al.*, 2021).

### TIPOS DE MUTACIONES

Las mutaciones en el gen CFTR se han dividido en 7 grupos dependiendo de su gravedad ya que pueden reducir el número de canales, la función o ambos. Sin embargo, se ha observado que muchas mutaciones en el gen exhiben más de una característica (Ratjen *et al.*, 2015).

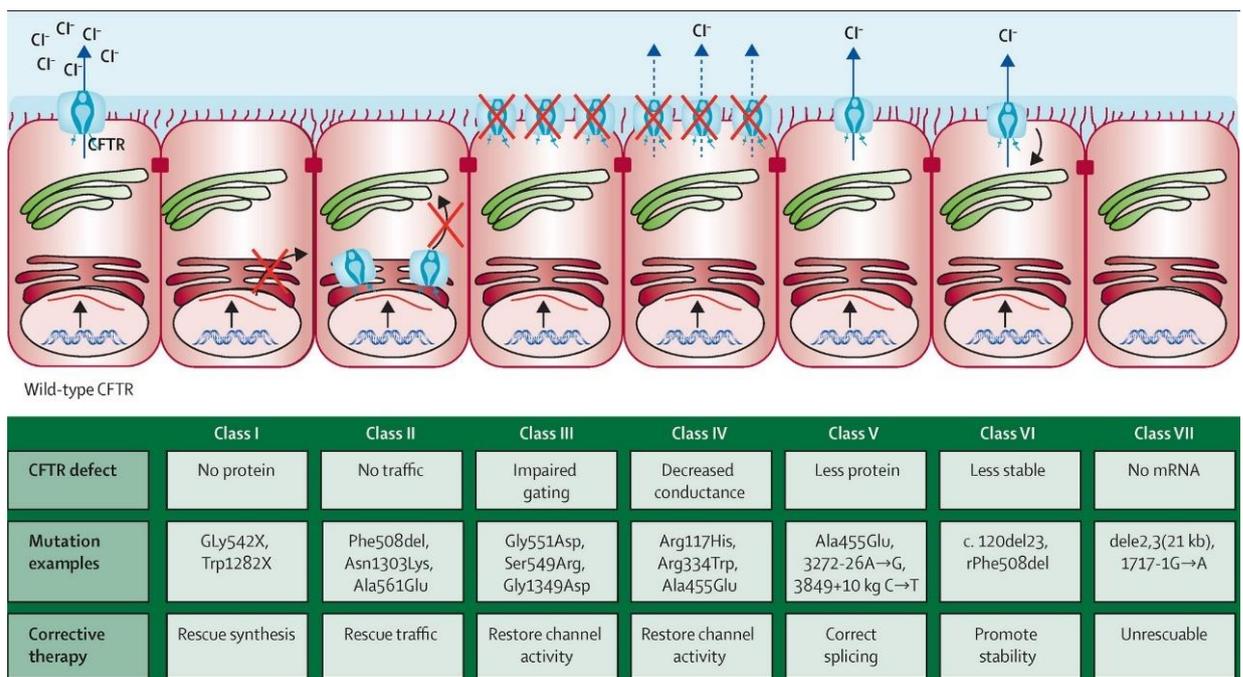
- **Clase I:** Se produce un defecto en la síntesis que provoca una pérdida total o parcial de la producción de una proteína funcional. Se puede deber a inserciones, deleciones (provocando un cambio en el marco de lectura) y codones de terminación prematura. Debido a que el transporte de cloruro se hace imposible, aumenta la viscosidad de las secreciones y esto produce la obstrucción de los conductos de distintos órganos.  
Ejemplos: Gly542X y Trp1282X
- **Clase II:** Debido a un defecto en el plegamiento de la proteína se produce un defecto en el procesamiento de esta. Por ello es sometida a una degradación en el retículo endoplasmático, interrumpiendo su localización normal en la membrana plasmática. Estas mutaciones son las más comunes debido a la eliminación de la fenilalanina en la posición 508 (F508del).  
Ejemplos: Phe508del, Asn1303Lys y Ala561Glu
- **Clase III:** Es causada por mutaciones sin sentido y se produce un defecto en la apertura del canal.  
Ejemplos: Gly551Asp, Ser549Arg y Gly349Asp
- **Clase IV:** Ciertas mutaciones sin sentido disminuyen la conductancia del canal y se produce un defecto en el transporte de los iones.  
Ejemplos: Arg117His, Arg334Trp y Ala455Glu
- **Clase V:** Disminución en la síntesis proteica debido a empalme aberrante que reduce o elimina ARNm estable o cambios puntuales en la región promotora del gen.  
Ejemplos: Ala455Glu

- **Clase VI:** Mutaciones que reducen la estabilidad proteica, aumentando su endocitosis o reduciendo su entorno en la superficie celular, y producen una vida media reducida (Ratjen *et al.*, 2015).

Ejemplos: c.120del23

- **Clase VII:** Estas mutaciones han sido introducidas recientemente. Interfieren con el empalme del ARNm, lo que conduce a la ausencia de un ARN maduro de longitud completa (Moliteo *et al.*, 2022) (Figura 7).

Ejemplos: 1717-1G→A



**Figura 7.** Representación de los tipos de mutaciones (De Boeck, 2020).

Las clases I, II y III son conocidas como “mutaciones con mínima función” ya que presentan escasa o nula función del gen CFTR y por lo tanto una enfermedad más grave. En cambio, las mutaciones IV, V y VI presentan un debut más tardío de la enfermedad y se relacionan con un fenotipo más leve, estas son conocidas como “mutaciones con función residual”. Además, la mediana de edad estimada de supervivencia de los portadores de al menos una mutación leve suele ser diez años mayor que la de los pacientes con mutaciones graves (Wang *et al.*, 2010).

Se realizó un estudio observando a pacientes con diferentes mutaciones, y en concreto se vieron grandes diferencias entre los que presentaban mutaciones de las Clase I, II o III y los que presentaban mutaciones de la clase IV o V. Porque los que presentaban una mutación de clase IV o V tenían valores más bajos de cloruro en el sudor, menos

insuficiencia pancreática, disminución más lenta de la función pulmonar, menos infecciones crónicas por *Pseudomonas aeruginosa* y por lo tanto necesitaban una menor carga de tratamiento (Dewulf *et al.*, 2015).

La mutación más común es la delección de la fenilalanina en la posición 508, ya que representa más o menos el 70% de los alelos CFTR mutantes presentes en el mundo. F508 se encuentra en el primer dominio de unión a nucleótidos (NBD1) de CFTR y promueve el paso inicial en el desarrollo de hNBD1 produciendo un intermediario parcialmente desplegado que está destinado a la degradación (Wang *et al.*, 2010).

Además, las manifestaciones y la progresión de la fibrosis quística están influenciadas por modificadores de genes no CFTR y factores ambientales. Múltiples genes conducen a un mayor riesgo del íleo meconial en el recién nacido, esto influye en un daño pulmonar más temprano y la adquisición de infecciones (por ejemplo, de *Pseudomonas aeruginosa* a una edad más temprana) (Andrade y Pizarro, 2022).

## **TERAPIAS**

Anteriormente, el tratamiento de la fibrosis quística se centraba en aliviar los síntomas asociados con la enfermedad. Actualmente, gracias a los avances obtenidos en el estudio y conocimiento de la enfermedad, el objetivo principal es corregir el defecto básico que la subyace (Lee *et al.*, 2021).

Existen tres vías de actuación para tratar la enfermedad: mejora sintomática, terapia molecular y terapia genética.

En cuanto a la mejora sintomática se utilizan antibióticos, esteroides y antiinflamatorios no esteroideos, enzimas pancreáticas, antioxidantes, diluyentes de moco, soluciones salinas hipertónicas, etc.

Para controlar las infecciones pulmonares se recomiendan antibióticos. Se han obtenido beneficios a largo plazo en adolescentes inhalando trobamicina ya que mejoró la función pulmonar y se redujo la densidad de unidades formadoras de colonias de *Pseudomonas aeruginosa* (Musgo, 2002). Los esteroides se utilizan para controlar la inflamación de las vías respiratorias y para la insuficiencia pancreática se realiza una terapia de reemplazo de enzimas pancreáticas (PERT). También se recomienda una nutrición adecuada y prevenir la deshidratación (Rafeeq y Murad, 2017).

En el caso de la insuficiencia pancreática es muy importante el diagnóstico precoz para comenzar cuanto antes la terapia de reemplazo de enzimas pancreáticas. La dosis de PERT debe ser individualizada dependiendo del peso y los síntomas gastrointestinales del paciente.

Para ello se trata con capsulas PERT que contienen extracto pancreático, es decir, lipasa, proteasa y amilasa, para reemplazar las enzimas endógenas que faltan. Con esto se consigue mejorar los síntomas gastrointestinales y disminuir la grasa fecal (Freswick y Mascarenhas, 2022).

La inflamación es necesaria tratarla ya que juega un papel muy importante en la infección y obstrucción bronquial. Para ello se utilizan los esteroides, aunque no hay recomendaciones generales de cuando empezar el tratamiento antiinflamatorio pero lo que es evidente es que debe comenzar en una edad temprana. Se utilizan dos tipos de esteroides, los corticoesteroides o sustancias no esteroideas y antiproteasas o antioxidantes. El ibuprofeno es el fármaco no esteroideo más utilizado en la fibrosis quística ya que es capaz de inhibir la migración de los neutrófilos. Porque a pesar de que estos ayudan a controlar la inflamación, en exceso son perjudiciales (Konstan, 1998).

### **Terapia molecular**

En esta terapia se emplean moléculas pequeñas (moduladores) dirigidas a la mayoría de las mutaciones que causan esta enfermedad y proceden a mejorar la expresión o función de CFTR mutado (Andrade y Pizarro, 2022).

Los potenciadores y correctores están clínicamente disponibles, mientras que el desarrollo de las otras categorías de moléculas está en proceso como los amplificadores, estabilizadores y los agentes de lectura. Para la clase III y IV son altamente eficaces los potenciadores ya que mejoran o restauran la actividad de los canales iónicos, ya que en estas clases el defecto principal es la desregulación de estos canales. Los correctores se dirigen a las mutaciones de la clase II ya que ayudan al plegamiento de la proteína, como la mutación F508del. Los agentes de lectura suprimen los codones de terminación prematura y por ello están dirigidos a las mutaciones de clase I y los amplificadores aumentan la producción de proteína CFTR. Por último, los estabilizadores mejoran la

longevidad de la proteína madura en la membrana celular (Jia y Taylor-Cousar, 2022) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Clases de mutación CFTR, ejemplos y farmacoterapias potenciales (Jia y Taylor-Cousar, 2022).

	Clase I	Clase II	Clase III	Clase IV	Clase V	Clase VI
<b>Defecto</b>	Síntesis de proteínas	Tráfico de proteínas	compuerta de canal	conductancia del canal	Síntesis reducida de proteínas	Estabilidad de la proteína de la membrana plasmática
<b>Ejemplo de mutación</b>	G542X	F508del	G551D	R117H	3272-26A→G	C. 120del123
<b>enfoque de la terapia</b>	Lectura completa, terapia génica	corrector	potenciador	potenciador	Amplificador	Estabilizador
<b>Medicamentos disponibles</b>	Ninguno	Elx/tez/iva Tez/iva Lum/iva	iva	iva	Ninguno	Ninguno

Hay cinco tipos de moduladores: correctores, potenciadores, estabilizadores, agentes de lectura y amplificadores.

- Correctores:

Su objetivo es subsanar el procesamiento del CFTR defectuoso, estabilizando la proteína mal plegada e impidiendo su posterior degradación para que se pueda liberar en la membrana plasmática. Actúan como chaperonas (acompañantes), que contribuyen en el transporte interno de la proteína y la hacen llegar a la membrana (Lee *et al.*, 2021).

Ejemplos:

- Lumacaftor (VX-809). Modula la conformación de la proteína CFTR, mejorando el plegamiento, ensamblaje, estabilidad y transporte de la proteína a la superficie celular.  
En un estudio realizado con pacientes homocigotos para la mutación Phe508del que se expusieron a este corrector, mostraron un mejor transporte de cloruro a través de la membrana en las células epiteliales bronquiales humanas (Guevara y McColley, 2017).
- Tezacaftor (VX-661): Presenta similitudes químicas con Lumacaftor y también mejora el tráfico de la proteína CFTR a la superficie celular (Jia y Taylor-Cousar, 2022).
- Elexacaftor (VX-445): Esta diseñado para restaurar la función de la proteína Phe508del CFTR cuando se administra con Tezacaftor e Ivacaftor (Keating *et al.*, 2018).

- Potenciadores:

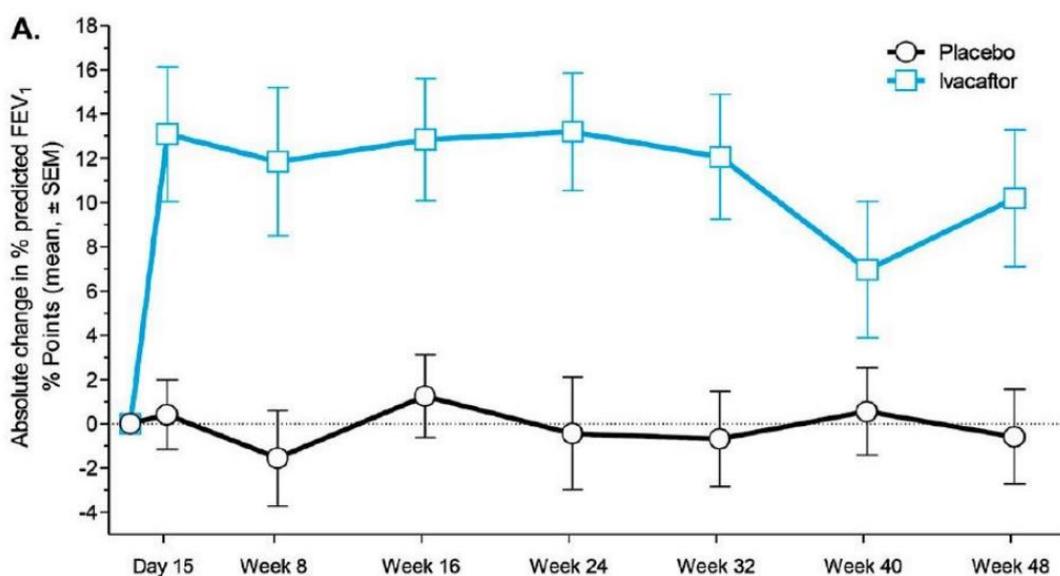
Se unen al dominio NBD del canal CFTR, aumentando el flujo de iones ya que facilitan su apertura (Lee *et al.*, 2021). Se dirigen a las mutaciones de clase III y IV

- Ivacaftor (VX-770). Fue el primer modulador aprobado para el uso en pacientes con fibrosis quística (Andrade y Pizarro, 2022). Este potenciador aumenta la probabilidad de apertura del canal CFTR activado.

En estudios realizados con Ivacaftor se ha observado como disminuyen las cantidades de cloro en el test del sudor y consigue una actividad del 35-40% de la función normal (Córdova y Pizarro, 2021).

Este potenciador fue aprobado para pacientes mayores de 6 años portadores de la mutación G551D. Esta mutación hace que la proteína CFTR sea defectuosa por lo que no responde al canal ATP-dependiente. Entonces Ivacaftor supera este bloqueo activando CFTR mediante la apertura del canal independiente de ATP. Mejora la función pulmonar, síntomas respiratorios, exacerbaciones pulmonares y ganancia de peso (Flume *et al.*, 2012).

Flume y colaboradores realizaron un estudio doble ciego y aleatorizado, la mitad de los pacientes recibieron Ivacaftor 150 mg/2 veces al día y el otro grupo recibió placebo. Estos tratamientos duraron 48 semanas y los resultados mostraron un incremento en el volumen espiratorio forzado en un segundo (FEV1) en los pacientes que recibieron el tratamiento con Ivacaftor (Flume *et al.*, 2012) (Figura 8).



**Figura 8.** Efectos de Ivacaftor y el tratamiento con placebo respecto al FEV1 (Flume *et al.*, 2012).

- Estabilizadores:

Promueve la maduración de CFTR y ayuda a la estabilidad de la proteína en la membrana plasmática (Lee *et al.*, 2021). Ejemplo:

- Cavosonstat: Reduce la concentración de cloro en pacientes homocigotos con la mutación F508del. Pero cuando se combinó con Lumacaftor/Ivacaftor no se demostró ningún beneficio adicional en la función pulmonar (Andrade y Pizarro, 2022).

- Agentes de lectura:

Están dirigidos a mutaciones de la clase I. Aumentan el nivel de proteína al reducir la afinidad del ribosoma por el codón de terminación prematura (PTC) ya que los codones de terminación prematura pueden pasarse por alto y producir una proteína extendida.

- Ataluren: Fármaco diseñado para que los ribosomas sean menos sensibles a los codones de terminación prematura (PTC) ya que evita la identificación del codón y por lo tanto la proteína puede seguir su síntesis evitando que se produzca una proteína corta y no funcionante (Rafeeq y Murad, 2017). Por otra parte, Ataluren no altera los niveles del ARN mensajero ya que no tiene efectos ni en la transcripción ni en la estabilidad del ARNm (Michorowska, 2021).

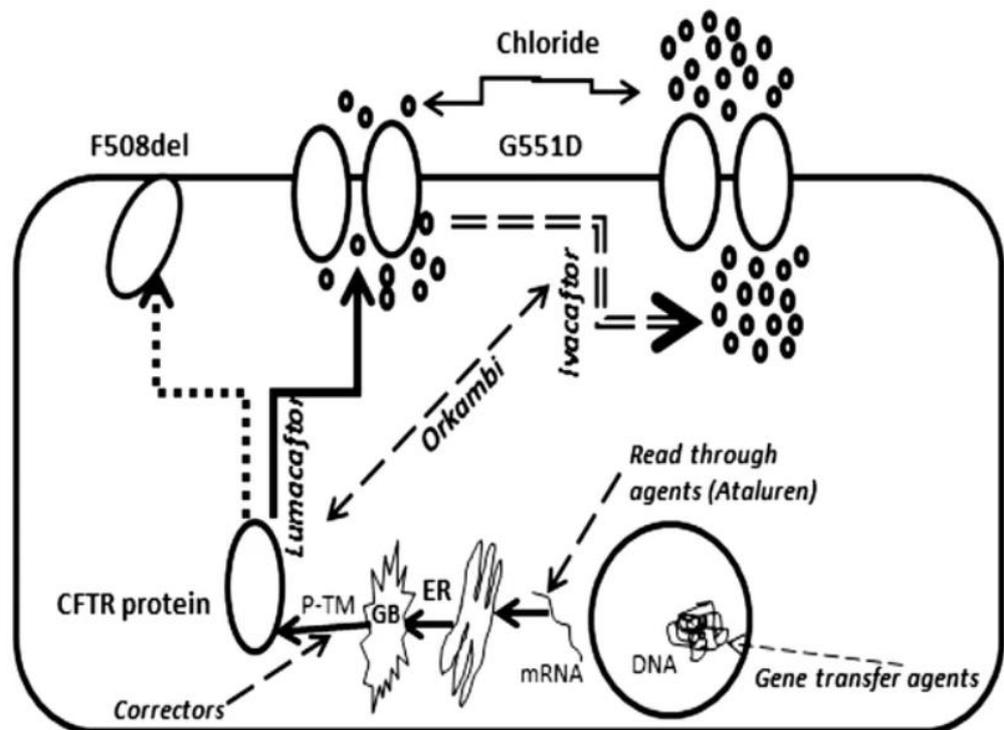
- Amplificadores:

Incrementan la cantidad de producción de CFTR (Lee *et al.*, 2021). Ejemplo:

- Nesolicaftor: Se realizó un estudio en presencia o ausencia de este amplificador con la combinación de Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor en células primarias del epitelio bronquial humano homocigotas para F508del. Los resultados obtenidos fueron un mejoramiento en las células primarias del epitelio bronquial humano en presencia de Nesolicaftor (Bengtson *et al.*, 2022).

- Moduladores de combinación doble:

- Administrando la combinación de Lumacaftor-Ivacaftor (Orkambi): Lumacaftor actúa moviendo la proteína defectuosa a su ubicación correcta e Ivacaftor modifica el tiempo de apertura de la puerta de cloruro, mejorando la conductancia de los iones de cloruro (Rafeeq y Murad, 2017) (Figura 9). Con este tratamiento se observó una mejora en la función pulmonar ya que los pacientes obtuvieron un aumento de FEV1 y disminuyeron las exacerbaciones pulmonares (Guevara y McColley, 2017).



**Figura 9.** Representación de la acción de Lumacaftor e Ivacaftor (Rafeeq y Murad, 2017).

- Combinación dual de Tezacaftor-Ivacaftor: Tezacaftor es un corrector que se une a TMD1 (primer dominio transmembrana) y actúa aumentando la cantidad de proteína CFTR en la superficie celular e Ivacaftor aumenta el tiempo de apertura del canal de cloruro. En un estudio en personas homocigotas F508del se administró 100 mg de Tezacaftor una vez al día y 150 mg de Ivacaftor dos veces al día, en los resultados se obtuvo un aumento de FEV1 y se redujo la tasa de exacerbaciones pulmonares, y en

personas heterocigotas para F508del también mejoró el FEV1 (Jia y Taylor-Cousar, 2022).

Estas combinaciones de correctores-potenciadores confirman la eficacia de un enfoque terapéutico de múltiples fármacos para la disfunción de CFTR (principalmente para la mutación F508del) (Rafeeq y Murad, 2017).

- Moduladores de combinación triple:

- Elexacaftor-Tezacaftor-Ivacaftor: Es la primera combinación triple. En un ensayo clínico participaron pacientes con uno o dos alelos de Phe508del, y se les administró 100 mg de Elexacaftor, 50 mg de Tezacaftor y 75 mg de Ivacaftor. El efecto de estos tres fármacos aumenta la cantidad y la función de F508del-CFTR en la superficie celular. Esta terapia demostró su eficacia ya que en los pacientes aumentó significativamente el porcentaje de FEV1 y mejoró el cloruro en el sudor (Keating *et al.*, 2018).

- Otros compuestos que presentan actividad correctora/modificadora

- 4PBA: En pacientes con mutación F580del mejora el transporte de cloruro *in vitro*.
- VRT-532: Corrige la irregularidad estructural de CFTR y aumenta la expresión y estabilidad de la proteína en pacientes que portan mutaciones F508del y G551D.
- N6022: Este compuesto disminuye la inflamación y aumenta la cantidad de CFTR en el epitelio.
- QBW251: es un potenciador de la dinámica del canal (mecanismo similar a Ivacaftor), aumenta la apertura del canal y se espera que no afecte la estabilidad de la membrana de CFTR (Rafeeq y Murad, 2017).

En el primer estudio que se realizó en humanos aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, de múltiples partes y de escala de una dosis o de dos dosis durante 14 días en pacientes sanos o pacientes con mutaciones de la clase III, IV o F508del (clase II) se observó que en los pacientes con mutaciones de clase III y IV mejoró el FEV1. Sin embargo, en los pacientes

homocigotos con mutación F508del no demostró eficacia. Esto sugiere que al igual que ocurre con Ivacaftor (potenciador) requiere una terapia combinada con un corrector (Kazani *et al.*, 2021).

## **Terapia genética**

La terapia génica ofrece un enfoque esperanzador para el tratamiento de enfermedades genéticas ya que ofrece una cura potencialmente permanente. Hay varias terapias: CRISPR-Cas9, oligonucleótidos antisentido, moléculas de RNA pequeño interferente, vectores virales (adenovirus) y vectores no virales (nanopartículas sintéticas)

### - CRISPR-Cas9

Es una herramienta cuyo objetivo es el silenciamiento de la expresión de un gen. En esta terapia se crea un ARN guía, el cual se diseña complementariamente a la secuencia específica del genoma que se quiere modificar (protoespaciador) y se utiliza la proteína Cas 9. Este ARN guía dirige a la proteína Cas 9 a la región que ha de cortar y crea una rotura de doble cadena y se pueda producir la recombinación homóloga usando el ARN guía (Castillo *et al.*, 2020).

En un estudio realizado con esta terapia se ha observado que la mutación F508del se puede reparar en organoides intestinales derivados de pacientes con FQ. En los organoides intestinales el transporte de fluidos a la luz depende totalmente de la actividad del canal CFTR, estimulado por el aumento de AMPc inducido por forskolina (compuesto químico que facilita la broncodilatación, disminución de las vías respiratorias y aumento del volumen espiratorio). Se consiguió la reparación de CFTR mediante recombinación homóloga por CRISPR-Cas9 exhibiendo a las líneas organoides a la forskolina, y como era de esperar los clones no reparados no respondieron a la forskolina (Geurts *et al.*, 2021).

### - Oligonucleótidos antisentido (ASO)

Los ASO son una cadena de nucleótidos que tienen una secuencia de bases complementaria a un ARN mensajero. Formando un heterodúplex DNA-RNA sobre el que actuará una RNasaH1 que conducirá a la degradación de la molécula diana (Kole *et al.*, 2012).

Esta técnica se utilizó para una mutación sin sentido: CFTR-Trp1282X (mutación de clase I), es la sexta mutación más común en la FQ. Las mutaciones sin sentido causan la reducción de las proteínas funcionales debido a la terminación prematura de la traducción y la degradación del ARN mensajero.

Esta mutación se encuentra en el exón 23 de CFTR y la proteína CFTR-Trp1282X se expresa a un nivel muy bajo debido a la descomposición del ARNm ya que se introduce codones de terminación prematura (PTC).

Se realizó un tratamiento en células epiteliales bronquiales humanas y para ello se utilizó una cola de dos oligonucleótidos antisentido dirigidos al lugar de empalme, induciendo la expresión de ARNm de CFTR sin el exón 23 que contiene el codón de terminación prematura. Saltan el exón 23 (consiguiendo una omisión correcta), produciendo un aumento de la proteína CFTR, por otro lado, los oligonucleótidos antisentido aumentan la corriente de cloruro mediada por CFTR (Kim *et al.*, 2022).

Por otra parte, se están estudiando ASO para silenciar la cadena  $\alpha$  de ENaC (debido a que los pacientes con FQ lo tienen desregulado) y con ello mejorar la función pulmonar y la actividad del canal de sodio (Shei *et al.*, 2018).

- RNA interferente pequeño (siRNA)

Los siRNA se producen a partir de precursores de RNA de doble cadena. Los siRNA se incorporan a un complejo denominado siRISC y se separan dos cadenas sencillas, y una de ellas es la cadena guía que se mantiene asociada al complejo y sirve para identificar el ARNm con la secuencia complementaria, esto produce el corte de ese ARNm y su posterior degradación (López *et al.*, 2007).

En la fibrosis quística el ENaC no funciona correctamente por lo que hay un aumento de la absorción de  $\text{Na}^+$  y de la absorción de agua en las células epiteliales de las superficies respiratorias (Hanssens *et al.*, 2021). Los siRNA pueden inhibir ENaC y ser una terapia futura para corregir la deshidratación del líquido de las superficies respiratorias y para mejorar el transporte mucociliar. Hay varios genes que modulan la actividad de ENaC, en particular DGK $\iota$ . Se ha observado que la inhibición de este gen resultó en una actividad reducida de ENaC (Shei *et al.*, 2018).

- Vectores virales

A los vectores recombinantes virales se les extrae el ADN y se sustituye por el nuevo ADN terapéutico. Entonces el vector viral servirá como vehículo para insertar el ADN en la célula diana.

En un estudio se administró un vector adenoviral que contenía el ADN complementario de CFTR normal en 4 dosis de forma creciente. En los resultados este vector se detectó en el líquido nasal mediante PCR, por lo que hubo evidencia de transferencia de genes. Sin embargo, no se restauró el transporte de cloruro ni de sodio y en las dosis más altas algunos pacientes sufrieron inflamación de la mucosa (Knowles *et al.*, 1995).

- Vectores no virales

Piotrowski-Daspit y colaboradores hicieron un estudio mediante nanopartículas de PNA (formadas por un esqueleto peptídico). Las estructuras de PNA pueden iniciar una respuesta endógena de reparación de ADN mediada por vías de reparación por escisión de nucleótidos (NER) y de reparación dirigida por homología (HDR). Cuando se introduce el PNA con el ADN “donante” monocatenario que contiene la modificación de secuencia deseada se produce una modificación del sitio del genoma específica.

Se utilizaron ratones con mutación F508del. Las moléculas diseñadas de PNA se unían cerca de la mutación con tramos de homopurina/homopirimidina y en los resultados se obtuvo la corrección de esta mutación (Piotrowski-Daspit *et al.*, 2022).

Otro agente no viral que está en ensayo en fase IIb es PGM169/GL67A en pacientes mayores de 12 años. Este vector no viral son lípidos que dependen de la endocitosis para atravesar la membrana celular en la superficie celular y permite la transferencia del gen CFTR. Presenta una mejora en la función pulmonar pero la respuesta es muy variada. Además, los niveles de expresión de CFTR y los marcadores inflamatorios mostraron resultados no significativos (Rafeeq y Murad, 2017).

## CONCLUSIONES

La fibrosis quística es la enfermedad genética recesiva más común en los Caucásicos. Aunque en las últimas décadas ha mejorado mucho su pronóstico debido a un diagnóstico precoz y el mejoramiento de los tratamientos. Hay diferentes manifestaciones clínicas que nos alertan sobre esta enfermedad.

Se caracteriza por las diferentes mutaciones en el gen CFTR y estas se clasifican dependiendo de la disfunción de la proteína CFTR. Debido a ello hay una alteración de los iones que consiste en la disminución de cloro y bicarbonato y un aumento en sodio. La mutación más frecuente es F508del (clase II), que produce un defecto del plegamiento de la proteína.

Hay varios tipos de terapias para tratar la enfermedad, que son la mejora sintomática, la terapia molecular y la terapia génica. El avance terapéutico con los moduladores muestra como actuando sobre la mutación de la proteína CFTR se puede cambiar el curso de la enfermedad, y ya hay varios moduladores clínicamente disponibles como Ivacaftor y otros que están en proceso para su posterior aplicación. Por otra parte, la terapia génica esta teniendo mucho auge debido a que ofrece un enfoque esperanzador de una cura potencialmente permanente.

Se estan probando varias técnicas como la CRISPR-Cas9 en la que se han obtenido resultados óptimos. También hay otras técnicas muy importantes como los oligonucleótidos antisentido, siRNA, vectores virales y vectores no virales.

La terapia genética tiene como objetivo ofrecer tratamiento efectivo para todos los pacientes con fibrosis quística, independientemente del defecto genético subyacente.

Los recientes avances científicos en identificación de mutaciones, así como la aplicación de terapias están resultado esperanzadores para los pacientes con fibrosis quística.

## BIBLIOGRAFÍA

- Andrade, A. y Pizarro M. E. (2022) “Medicina de precisión en fibrosis quística”, *Revista Médica Clínica Las Condes* 33(1), pp. 44-50.
- Aparicio, F. G., Barranco, M. P. M., Pellitero, A. S., Rodríguez, R.C., Calvo, M. C. G., y Fernández, A. I. C. (2015) “Fibrosis quística atípica: la importancia de un diagnóstico precoz”, *Elsevier*, 4(4), pp.119-122.
- Arrudi-Moreno, M., García-Romero R., Samper-Villagrasa, P., Sánchez-Malo, M. J., Martín-de-Vicente, C. (2021) “Cribado neonatal de fibrosis quística: análisis y diferencias de los niveles de tripsina inmunorreactiva en recién nacidos con cribado positivo” *Anales de Pediatría*, 95(1), pp.11-17.
- Bengtson, C., Silswal, N., Baumlin, N., Yoshida, M., Dennis, J., Yerrathota, S., Kim, M. y Salathe, M. (2022) “The CFTR Amplifier Nesolicaftor Rescues TGF-β1 Inhibition of Modulator-Corrected F508del CFTR Function”. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(18).
- Castillo, K., Chacón, P., Chacón, R., Martínez, R., Portillo, J., (2020) “CRISPR-Cas9 in the genetic modification of Cystic Fibrosis”, *Revista de Ciencia y Salud: Integrando conocimientos*, 4(1), pp.2-3.
- Chen, Q., Shen, Y., y Zheng, J. (2021) “A review of cystic fibrosis: Basic and clinical aspects”, *Animal models and experimental medicine*, 4(3), pp. 220–232.
- Córdova, F. V., y Pizarro, E. M. (2021) “Progresos en farmacoterapia en fibrosis quística”, *Neumología Pediátrica*, 13(3), pp. 118–121.
- Dayama, G., Priya, S., Niccum, D. E., Khoruts, A., y Blekhman, R. (2020) “Interactions between the gut microbiome and host gene regulation in cystic fibrosis”. *Genome medicine*, 12(1), pp. 12.
- De Boeck, K. (2020) “Cystic fibrosis in the year 2020: A disease with a new face”, *Acta Paediatr.* 109(5), pp. 893 – 899.
- Dewulf, J., François Vermeulen, F. M. D., Wanyama, S. M. S., Thomas, M., Dupont, L., De Boeck, K. (2015) “Treatment burden in patients with at least one class IV or V CFTR mutation”, *Pediatric Pulmonology*, 50(12).
- Escobar, H. y Sojo, A., (2016) Fibrosis quística. Protocolos diagnósticos y terapéuticos en pediatría. *Gastroenterología*, pp. 99-110.
- Fernández, M. F., Jané, A. L, Rodríguez, F. C, García, H. C., Fernández, S. G., y Roblejo, H. B (2010) “Diagnóstico tardío de la fibrosis quística en la edad adulta: reporte de un caso”. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 9(2), pp. 196-202.
- Fielbaum, O. (2017) “Manejo actual de la fibrosis quística”, *Revista Médica Clínica Las Condes*, 28(1), pp. 60-71.
- Flume P. A., Liou T. G., Borowitz D. S., Li H., Yen K., Ordoñez C. L., Geller D.E. (2012) “Ivacaftor in Subjects With Cystic Fibrosis Who Are Homozygous for the F508del-CFTR Mutation”. *Chest Journal*, 142(3), pp. 718–724.
- Freswick, P. N., Reid, E. K., y Mascarenhas, M. R. (2022) “Pancreatic Enzyme Replacement Therapy in Cystic Fibrosis”. *Nutrients*, 14(7).
- Gale, S., Maynor Sabillón, y Ortega, J.C., (2016) “Caracterización de los pacientes con Fibrosis Quística diagnosticados por cloruros en Sudor” *Acta Pediátrica Hondureña*, 6(2) pp. 486-492.
- Geurts, M. H., de Poel, E., Pleguezuelos-Manzano, C., Oka, R., Carrillo, L., Andersson-Rolf, A., Boretto, M., Brunsveld, J. E., van Boxtel, R., Beekman, J. M., & Clevers, H. (2021) “Evaluating CRISPR-based prime editing for cancer modeling and CFTR repair in organoids”. *Life science alliance*, 4(10).
- Granados, A., Chan, C. L., Ode, K. L., Moheet, A., Moran, A., Holl, R. (2019) “Cystic fibrosis related diabetes: Pathophysiology, screening and diagnosis”, *Journal of Cystic Fibrosis*, 18(2).
- Guevara, M. T. y McColley, S. A., (2017). “The safety of lumacaftor and ivacaftor for the treatment of cystic fibrosis”. *Expert opinion on drug safety*, 16(11), pp. 1305–1311.
- Hangül, M., Pekcan, S., Köse, M., Acıcan, D., Şahlar, T. E., Erdoğan, M., Kendirci, M., Güney, D., Öznavruz, H., Demir, O., Ercan, Ö., & Göçlü, F. (2019), “The Incidence of Cystic Fibrosis in the Central Region of Anatolia in Turkey Between 2015 and 2016”, *Balkan medical journal*, 36(3), pp. 179–183.
- Hanssens, L. S., Duchateau, J. y Casimir, G. J. (2021) “CFTR Protein: Not Just a Chloride Channel?” *Cells*, 10(11).
- Abraham J.M y Taylor C.J. (2017) “Cystic Fibrosis & disorders of the large intestine: DIOS, constipation, and colorectal cancer” *Journal of Cystic Fibrosis*, 16(2).

- Jia, S. y Taylor-Cousar, J. L. (2022) “Cystic Fibrosis Modulator Therapies”. *Annual Review of Medicine*, 74(1), 413-426.
- Kazani, S., Rowlands D.J, Bottoli I., Julie Milojevic J., Alcantaraa, J., Jones L., Kulmatycki K., Machineni S., Mostovya, L., Nicholls I., Nicke J.A., Rowef S.M., Simmonds N.J, Vegesna R., Verheijena J, Danahayi H., Gosling M., Ayalavajjala P.S., Salmad M., Strieter R., (2021) “Safety and efficacy of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator potentiator icenticaftor (QBW251)”, *Journal of Cystic Fibrosis*, 20 (2), pp. 250-256.
- Keating, D., Marigowda, G., Burr, L. D., Daines, C. L., Mall, M. A., McKone, E. F., Ramsey, B. W., Rowe, S. P., Sass, L., Tullis, E., McKee, C. M., Moskowitz, S. M., Robertson, S. A., Savage, J. A., Simard, C., Van Goor, F., Waltz, D. L., Xuan, F., Young, T. M. y Taylor-Cousar, J. L. (2018) “VX-445–Tezacaftor–Ivacaftor in Patients with Cystic Fibrosis and One or Two Phe508del Alleles”. *The New England Journal of Medicine*, 379(17), pp. 1612-1620.
- Kim, Y. H., Sivetz, N., Layne, J., Voss, D. M., Yang, L., Zhang, Q., & Krainer, A. R. (2022) “Exon-skipping antisense oligonucleotides for cystic fibrosis therapy”. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 119(3).
- Knowles M. R, Hohneker K.W, Zhou Z, Olsen J.C, Noah T. L, Hu P. C, Leigh M.W, Engelhardt J. F, Edwards L. J, Jones K. R, et al. (1995) “A controlled study of adenoviral-vector-mediated gene transfer in the nasal epithelium of patients with cystic fibrosis”. *N Engl J Med*. 28(13), pp. 823-31.
- Kole, R., Krainer, A. R. y Altman, S. (2012) “RNA therapeutics: beyond RNA interference and antisense oligonucleotides”. *Nature reviews. Drug discovery*, 11(2), pp. 125–140.
- Konstan M.W., (1998) “Therapies aimed at airway inflammation in cystic fibrosis”, *Clinics in Chest Medicine*, 19(3), pp. 505-513.
- Lambiase, A., Raia, V., Pezzo, M. D., Sepe, A., Carnovale, V. y Rossano F., (2006) “Microbiology of airway disease in a cohort of patients with Cystic Fibrosis”, *BMC Infect Dis*, 6(4).
- Lee, J. A., Cho, A., Huang, E. N., Xu, Y., Quach, H., Hu, J. y Wong, A. O., (2021) “Gene therapy for cystic fibrosis: new tools for the medicine of precision”. *J Transl Med*, 19.
- López, T., Silva, D., López S. y Arias, C. (2007) “In RNA de interferencia: el silencio de los genes”. *Biotechnology*, 14, pp. 109-118.
- Martín de Vicente C., García R. R., Martínez de Zabarte J. M. F., Cenarro M. T. G., (2015) “Test del Sudor”, *Formación Activa en Pediatría de Atención Primaria*, 8(2).
- Melo, J., Fernández, V. P., (2015) “Fibrosis quística en el adulto” *Revista Médica Clínica Las Condes*, 26(3), pp. 276-284.
- Miah, K. M., Hyde S. C., Gill, D. R., (2019) “Emerging gene therapies for cystic fibrosis”, *Expert Rev Respir Med*. 13(8), pp. 709-725.
- Michorowska S., (2021) “Ataluren-Promising Therapeutic Premature Termination Codon Readthrough Frontrunner”, *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 14(8).
- Moliteo, E., Sciacca, M., Palmeri, A., Papale, M., Manti, S., Parisi, G. F y Leonardi, S. (2022) “Fibrosis quística y estrés oxidativo: el papel de CFTR”. *Moléculas*, 27(16).
- Musgo R. B., (2002),” Long-term benefits of inhaled tobramycin in adolescent patients with cystic fibrosis”. *Chest*, 121, pp. 55–63.
- Ortigosa, L. (2007) “Fibrosis quística. Aspectos diagnósticos”, *Colombia Médic*, 38(1), pp. 41-49.
- Piotrowski-Daspit, A. S., Barone, C., Lin, C. Y., Deng, Y., Wu, D., Binns, T. C., Xu, E., Ricciardi, A. S., Putman, R., Garrison, A., Nguyen, R., Gupta, A., Fan, R., Glazer, P. M., Saltzman, W. M., & Egan, M. E. (2022) “In vivo correction of cystic fibrosis mediated by PNA nanoparticles”. *Science advances*, 8(40).
- Rafeeq, M. M., y Murad, H. A. S. (2017) “Cystic fibrosis: current therapeutic targets and future approaches”. *Journal of translational medicine*, 15(1), pp. 84.
- Ratjen, F., Bell, S. C., Rowe, S. M., Goss, C. H., Quittner, A. L., & Bush, A. (2015), “Cystic fibrosis”, *Nature reviews. Disease primers*, 1.
- Ruiz M. V. M, (2016) “Fibrosis quística y sus manifestaciones respiratorias”. *Pediatr Integral*, 20(2), pp. 119-127.
- Scotet, V., Gutiérrez, H. y Farrell, F.M (2020) “Pruebas de detección de fibrosis quística en recién nacidos en todo el mundo: ¿dónde vale la pena?” *Revista internacional de detección neonatal*, 6(1), pp. 18.
- Scotet, V., L'Hostis, C., y Férec, C. (2020) “The Changing Epidemiology of Cystic Fibrosis: Incidence, Survival and Impact of the CFTR Gene Discovery”. *Genes*, 11(6), pp. 589.
- Shei, R. J., Peabody, J. E., Kaza, N., & Rowe, S. M. (2018) “The epithelial sodium channel (ENaC) as a therapeutic target for cystic fibrosis”. *Current opinion in pharmacology*, 43, pp. 152–165.

- Vankeerberghen, A., Cuppens, H y Cassiman, J. (2002) “The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an intriguing protein with pleiotropic functions”, *Elsevier*, 1(1), pp. 13-29.
- Vargas-Roldán, Silvia Y., Lezana-Fernández, José L., Cerna-Cortés, Jorge F., Partida-Sánchez, Santiago, Santos-Preciado, José I., & Rosales-Reyes, Roberto. (2022) “Fibrosis quística: patogenia bacteriana y moduladores del CFTR (regulador de conductancia transmembranal de la fibrosis quística)”. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 79(4), pp. 215-221.
- Wang, C., Protasevich, I., Yang, Z., Seehausen, D., Skalak, T., Zhao, X., Atwell, S., Spencer Emtage, J., Wetmore, D. R., Brouillette, C. G., & Hunt, J. F. (2010) “Integrated biophysical studies implicate partial unfolding of NBD1 of CFTR in the molecular pathogenesis of F508del cystic fibrosis”, *Protein science: a publication of the Protein Society*, 19(10), 1932–1947.