

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

**“CARACTERIZACIÓN GENÉTICA, EPIDEMIOLÓGICA Y CLÍNICA  
DE PACIENTES PEDIÁTRICOS Y ADOLESCENTES CON FIBROSIS QUIÍSTICA”**

Estudio descriptivo prospectivo de corte transversal realizado de los hospitales:  
General San Juan de Dios, Roosevelt, General de Enfermedades del Instituto  
Guatemalteco de Seguridad Social -IGSS- y Liga del Pulmón Guatemala

Tesis

Presentada a la Honorable Junta Directiva  
de la Facultad de Ciencias Médicas de la  
Universidad de San Carlos de Guatemala

**María Fernanda Castillo Alfaro  
Claudia Virginia Orellana Aragón  
Cristian Josué López Gramajo  
Santiago José Guillermo Ordoñez Quiroa**

**Médico y Cirujano**

Guatemala, octubre de 2018

El infrascrito Decano y el Coordinador de la COTRAG de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, hacen constar que:

Los estudiantes:

- |    |                                        |           |               |
|----|----------------------------------------|-----------|---------------|
| 1. | María Fernanda Castillo Alfaro         | 201110193 | 2156911560114 |
| 2. | Claudia Virginia Orellana Aragón       | 201110195 | 2171843750114 |
| 3. | Cristian Josué López Gramajo           | 201110297 | 2149479390101 |
| 4. | Santiago José Guillermo Ordoñez Quiroa | 201119268 | 1714788350101 |

Cumplieron con los requisitos solicitados por esta Facultad, previo a optar al Título de Médico y Cirujano en el grado de Licenciatura, y habiendo presentado el trabajo de graduación titulado:

**"CARACTERIZACIÓN GENÉTICA, EPIDEMIOLÓGICA Y CLÍNICA DE PACIENTES PEDIÁTRICOS Y ADOLESCENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA"**

Estudio descriptivo, prospectivo y de corte transversal realizado en los hospitales: General San Juan de Dios, Roosevelt, General de Enfermedades del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social -IGSS- y Liga del Pulmón Guatemala

Trabajo asesorado por el Dr. Gabriel de Jesús Silva Arévalo, co-asesorado por la Dra. Brenda Verónica Figueroa y Figueroa y revisado por la Dra. Mónica Ninet Rodas González, quienes avalan y firman conformes. Por lo anterior, se emite, firman y sellan la presente:

**ORDEN DE IMPRESIÓN**

En la Ciudad de Guatemala, el dos de octubre del dos mil dieciocho

DR. MARIO HERRERA CASTELLANOS  
DECANO

DECANATO  
FACULTAD DE  
CIENCIAS MÉDICAS



**USAC**  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



Centro de Investigación y Desarrollo

COORDINADOR

DR. CÉSAR OSWALDO GARCÍA GARCÍA  
COORDINADOR

César O. García G.  
Doctor en Salud Pública  
Colegiado 5,950

El infrascrito Coordinador de la COTRAG de la Facultad de Ciencias Médicas, de la Universidad de San Carlos de Guatemala, HACE CONSTAR que los estudiantes:

- |    |                                        |           |               |
|----|----------------------------------------|-----------|---------------|
| 1. | María Fernanda Castillo Alfaro         | 201110193 | 2156911560114 |
| 2. | Claudia Virginia Orellana Aragón       | 201110195 | 2171843750114 |
| 3. | Cristian Josué López Gramajo           | 201110297 | 2149479390101 |
| 4. | Santiago José Guillermo Ordoñez Quiroa | 201119268 | 1714788350101 |

Presentaron el trabajo de graduación titulado:

**"CARACTERIZACIÓN GENÉTICA, EPIDEMIOLÓGICA Y CLÍNICA  
DE PACIENTES PEDIÁTRICOS Y ADOLESCENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA"**

Estudio descriptivo, prospectivo y de corte transversal realizado en los hospitales:  
General San Juan de Dios, Roosevelt, General de Enfermedades del Instituto  
Guatemalteco de Seguridad Social-IGSS- y Liga del Pulmón Guatemala

El cual ha sido revisado por la Dra. Mónica Ninet Rodas González y, al establecer que cumplen con los requisitos establecidos por esta Coordinación, se les **AUTORIZA** continuar con los trámites correspondientes para someterse al Examen General Público. Dado en la Ciudad de Guatemala, al día dos de octubre del año dos mil dieciocho.

"ID Y ENSAÑAD A TODOS"

César O. García G.  
Doctor en Salud Pública  
Colegiado 5950

Dr. C. César Oswaldo García García  
Coordinador

 **USAC**  
UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS  
COORDINACIÓN DE TRABAJO DE GRADUACIÓN  
COORDINADOR

Guatemala, 2 de octubre del 2018

Doctor  
César Oswaldo García García  
Coordinador de la COTRAG  
Facultad de Ciencias Médicas  
Universidad de San Carlos de Guatemala  
Presente

Dr. García:

Le informamos que nosotros:

1. María Fernanda Castillo Alfaro
2. Claudia Virginia Orellana Aragón
3. Cristian Josué López Gramajo
4. Santiago José Guillermo Ordoñez Quiroa

Presentamos el trabajo de graduación titulado:

"CARACTERIZACIÓN GENÉTICA, EPIDEMIOLÓGICA Y CLÍNICA  
DE PACIENTES PEDIÁTRICOS Y ADOLESCENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA"

Estudio descriptivo, prospectivo y de corte transversal realizado en los hospitales:  
General San Juan de Dios, Roosevelt, General de Enfermedades del Instituto  
Guatemalteco de Seguridad Social -IGSS- y Liga del Pulmón Guatemala

Del cual el asesor y el revisor se responsabilizan de la metodología,  
confiabilidad y validez de los datos, así como de los resultados obtenidos y  
de la pertinencia de las conclusiones y recomendaciones propuestas.

FIRMAS Y SELLOS PROFESIONALES:

Asesor: Dr. Gabriel de Jesús Silva Arévalo  
Co-asesora: Dra. Brenda Verónica Figueroa y Figueroa  
Revisora: Dra. Mónica Ninet Rodas González  
Reg. de personal 20180429

Dr. Gabriel de J. Silva A.  
MÉDICO Y CIRUJANO  
Colegiado 4010

DRA. BRENDA V. FIGUEROA  
NEUMÓLOGA PEDIATRA  
COL. 11,365

Dra. Mónica Ninet Rodas González  
Médica y Cirujana  
Col. 17,866

## **AGRADECIMIENTOS ESPECIALES**

Al Dr. Gabriel Silva por compartir su conocimiento.

A la Dra. Mónica Rodas, por creer en nosotros.

Al Licenciado Elder Lay por su paciencia y tiempo.

Al Dr. Luis Rosal Palomo, por su apoyo incondicional.

Al Dr. Manfred Sandi, por brindarnos a distancia una sincera amistad.

Al Dr. Alberto García, por creer siempre que lograríamos alcanzar la meta.

A las doctoras: Barreda, Figueroa y Villatoro por su asesoría.

A la Familia Monzón Aragón por su hospitalidad.

A la Gloriosa Universidad de San Carlos de Guatemala por ser nuestra casa de estudios.

A los hospitales: General San Juan de Dios, Roosevelt, General de Enfermedades –IGSS- y Liga del Pulmón Guatemala.

Al Hospital Universitario de Berna “INSELSPITAL”, especialmente a los doctores: Sabina Gallati y Javier Sanz.

A la Asociación Guatemalteca de Fibrosis Quística.

A la Dirección General de Investigación.

A Dios por permitirme ver mi sueño hecho realidad.

A mis padres, Jorge Monzón y Virginia Aragón por ser impulsores, promotores y proveedores de este sueño.

A mis hermanos, Jesika y Facundo por ser mi orgullo y fuente de inspiración.

A mi abuelita Yuyu por apoyarme hasta el final.

A mis tíos Claudia, Siomara y Armando por su cariño y por creer en mí. Al resto de mi familia por su apoyo.

A Mafer y Santiago por trabajar incansablemente para que juntos alcanzáramos la meta.

A mis amigos Linda, Elena, Alejandra y Marco su amistad alegró mis días.

A Cristian, gracias por tu amor incondicional y por recorrer conmigo este camino.

A todos los pacientes con fibrosis quística, por enfrentar esta enfermedad con valentía.

Claudia Virginia Orellana Aragón

A Dios, por haber tomado mi mano a lo largo de la carrera.

A mis padres, Luis Castillo y Astrid Alfaro, por ser los pilares de mi vida.

A mi hermana, Ma. Regina Castillo, por ser esa persona que me hacía reír y me motivaba a buscar esta gran recompensa.

A mis abuelitas, Maribel de Alfaro y Dora Luz Sazo, por estar siempre a mi lado.

A mi madrina, Ingrid Alfaro, por ser un ejemplo de lucha.

A mi novio, José Ramírez, por motivarme a llegar a la meta sin importar lo difícil que pareciera.

A mis amigas, sin ustedes este camino hubiera sido más difícil.

A mis amigos de tesis, porque sin su ayuda esto no hubiera sido posible, pero llegamos al final a pesar de todas las adversidades y hoy estamos aquí, lo hicimos.

María Fernanda Castillo Alfaro

A Dios, gracias por darme vida, fuerza y sabiduría para poder completar esta carrera.

A mis padres Sergio López y Sonia Gramajo quienes son los pilares de mi vida, por el sacrificio que realizaron día a día, este triunfo es de ustedes jamás lo hubiera logrado sin su ayuda.

A mis hermanos Robin y Daniela por su apoyo incondicional, que esto sirva de ejemplo para impulsarlos a alcanzar sus metas.

A Claudia por ser mi mejor amiga y llenar mi vida con tu amor, además de poder compartir este triunfo junto a ti y por todos los que aún nos falta alcanzar juntos.

A mis compañeros de tesis Mafer y Santiago porque a pesar de tantas adversidades, logramos alcanzar la meta.

A mis amigos Mancio, Lucio, David, Javier y Vega por estar siempre dispuestos a escuchar mis historias, a Alejandra por haber estado conmigo en los momentos más difíciles del externado, a Beris, Ebelin, Francisco, Edson y Christian por haber sido una segunda familia en el internado y hacer la carga de trabajo, mucho más fácil de llevar.

Cristian Josué López Gramajo

A mi madre por darme el regalo más grande; su amor.

A mi padre por su lealtad, amor y dedicación.

A mi familia por su apoyo incondicional.

A mis amigos por demostrar que la vida sin amistad está incompleta.

A mis compañeros de tesis por su tenacidad y disciplina, eternamente agradecido.

A Aida Stamm porque sin ella nada hubiera sido posible.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala por forjar mi vida profesional.

A la doctora Mónica Rodas por su apoyo en la elaboración de este trabajo.

Al doctor Javier Sanz por su cooperación fundamental

A la niñez guatemalteca afectada por fibrosis quística, que esta investigación sirviere para mejorar sus vidas.

Santiago José Guillermo Ordoñez Quiroa

*De la responsabilidad del trabajo de graduación:*

El autor o autores es o son los únicos responsables de la originalidad, validez científica, de los conceptos y de las opiniones expresadas en el contenido del trabajo de graduación. Su aprobación en manera alguna implica responsabilidad para la Coordinación de Trabajos de Graduación, la Facultad de Ciencias Médicas y para la Universidad de San Carlos de Guatemala. Si se llegara a determinar y comprobar que se incurrió en el delito de plagio u otro tipo de fraude, el trabajo de graduación será anulado y el autor o autores deberá o deberán someterse a las medidas legales y disciplinarias correspondientes, tanto de la Facultad, de la Universidad y otras instancias competentes.

## RESUMEN

**OBJETIVO:** Determinar las características genéticas, epidemiológicas y clínicas de los pacientes pediátricos y adolescentes con diagnóstico de fibrosis quística de los hospitales: General San Juan de Dios, Roosevelt, General de Enfermedades del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social –IGSS- y Liga del Pulmón Guatemala de mayo a septiembre 2018. **POBLACIÓN Y MÉTODOS:** Estudio descriptivo, de corte transversal. Se estudiaron a 38 pacientes, para lo cual se realizó una revisión de expedientes clínicos y toma de sangre para su análisis genético; se realizó un análisis descriptivo univariado. Este estudio contó con el aval del Comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Médicas. **RESULTADOS:** La media de edad fue 8.59 y DE 5.03, con predominio del sexo femenino 64.16% (24), procedentes de la región metropolitana 52.63% (20). La mutación genotípica más prevalente fue F508 29.17% (14), 7.15% (2) homocigoto y 42.85% (12) heterocigotos, perteneciente a la clase II 21.05% (8). Estado nutricional adecuado 42.11% (16) y desnutrición 39.47% (15), colonización bacteriana 89.47% (34) con predominio de *Pseudomona aeruginosa* 57.89% (22), con daño pulmonar 89.47% (34), e insuficiencia pancreática 84.21% (32). **CONCLUSIONES:** Los pacientes con fibrosis quística presentan una edad media de 8.5 años, con predominio del sexo femenino y procedentes de la región metropolitana; la mutación más frecuente es la F508 correspondiendo a la clase II, en 4 pacientes no se identificó ninguna de las 50 mutaciones más frecuentes a nivel mundial; clínicamente presentan estado nutricional adecuado, la mayoría de ellos colonizados por *Pseudomona aeruginosa*, con afección pulmonar en grado moderado e insuficiencia pancreática.

**Palabras clave:** Fibrosis quística, mutación, diagnóstico

## ÍNDICE

|           |                                                   |           |
|-----------|---------------------------------------------------|-----------|
| <b>1.</b> | <b>INTRODUCCIÓN .....</b>                         | <b>1</b>  |
| <b>2.</b> | <b>MARCO DE REFERENCIA .....</b>                  | <b>3</b>  |
| 2.1       | Marco de antecedentes .....                       | 3         |
| 2.2       | Marco teórico .....                               | 6         |
| 2.3       | Marco teórico .....                               | 7         |
| 2.4       | Marco conceptual .....                            | 32        |
| 2.5       | Marco geográfico .....                            | 33        |
| 2.6       | Marco demográfico .....                           | 34        |
| 2.7       | Marco institucional .....                         | 34        |
| <b>3.</b> | <b>OBJETIVOS .....</b>                            | <b>35</b> |
| <b>4.</b> | <b>POBLACIÓN Y MÉTODOS .....</b>                  | <b>37</b> |
| 4.1       | Enfoque y diseño de la investigación .....        | 37        |
| 4.2       | Unidad de análisis y de información .....         | 37        |
| 4.3       | Población y muestra .....                         | 37        |
| 4.4       | Selección de sujetos de estudio .....             | 38        |
| 4.5       | Definición y operacionalización de variables..... | 39        |
| 4.6       | Recolección de datos .....                        | 44        |
| 4.7       | Procesamiento y análisis de los datos .....       | 49        |
| 4.8       | Alcances y límites .....                          | 49        |
| 4.9       | Aspectos éticos de la investigación .....         | 50        |
| <b>5.</b> | <b>RESULTADOS .....</b>                           | <b>51</b> |
| <b>6.</b> | <b>DISCUSIÓN.....</b>                             | <b>57</b> |

|            |                                         |           |
|------------|-----------------------------------------|-----------|
| <b>7.</b>  | <b>CONCLUSIONES</b> .....               | <b>61</b> |
| <b>8.</b>  | <b>RECOMENDACIONES</b> .....            | <b>63</b> |
| <b>9.</b>  | <b>APORTES</b> .....                    | <b>65</b> |
| <b>10.</b> | <b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> ..... | <b>67</b> |
| <b>11.</b> | <b>ANEXOS</b> .....                     | <b>73</b> |

# 1. INTRODUCCIÓN

La Fibrosis quística (FQ) es la enfermedad autosómica recesiva, de afección multisistémica más frecuente en personas de origen caucásico. Su incidencia varía de 1 entre 3000 a 1 entre 8000 nacidos vivos. En Latinoamérica debido a la presencia de múltiples grupos étnicos su incidencia varía, en Cuba es de 1/3862 nacidos vivos, Argentina de 1/7213 nacidos vivos, México de 1/9000 nacidos vivos<sup>1, 2</sup> y Costa Rica de 1.5/10 000 nacidos vivos.<sup>3</sup>

La FQ está causada por mutaciones de un solo gen localizado en el brazo largo del cromosoma 7, que codifica para la proteína reguladora de conductancia transmembrana (CFTR), esta proteína, se comporta como un canal de cloro ( $Cl^-$ ), controlado por adenosín monofosfato cíclico (AMPC) que regula directamente los movimientos de las partículas de cloruro e indirectamente los movimientos de sodio ( $Na^+$ ) y agua ( $H_2O$ ), su alteración produce un moco anómalo provocando disfunción de las glándulas exocrinas, manifestándose con compromiso del tracto respiratorio, digestivo, reproductivo y glándulas sudoríparas.<sup>1</sup>

Según el Consorcio de análisis genético de Fibrosis Quística, a nivel mundial se han descrito 2026 mutaciones, siendo la más común la F508 con una frecuencia de 28 948 apariciones, lo cual representa el 66%, seguida de la mutación G542X con 1062 apariciones (2.4%), y la mutación G551D con una frecuencia de 717 apariciones (1.6%), siendo estas las tres más frecuentes. Por la cantidad de mutaciones existentes, se han agrupado en VI clases según la mutación de la función proteica del gen CFTR, las cuales permiten brindar un tratamiento dirigido y multidisciplinario.<sup>2</sup>

La sobrevida de los pacientes con FQ en países europeos alcanza los 38 años de edad, mientras que a nivel Latinoamericano esa sobrevida se ve limitada, por la escasez de recursos, retraso en el diagnóstico y falta de tratamiento multidisciplinario. Además, debido al pobre acceso a la atención sanitaria, no se tiene un adecuado registro de los casos, generándose así un subdiagnóstico de esta patología, lo que limita el desarrollo de estudios de investigación sobre la misma.<sup>4</sup>

Actualmente, se tiene conocimiento mediante bibliografía internacional, que para el diagnóstico de FQ se debe emplear estudio genético que delimite con exactitud el tipo de mutación y alteración de CFTR, ya que debido a la mutación que se presente, existirá una

correlación clínica con el paciente tal y como lo menciona la Asociación Europea de fibrosis quística (ECFS).<sup>5</sup>

La ECFS indica que cuanto más temprano se realice el diagnóstico genético como clínico, se puede brindar un manejo integral y eficaz aumentando así la esperanza de vida de estos pacientes.<sup>5</sup> En países desarrollados que cuentan con programas para un manejo integral de la enfermedad las curvas de sobrevivencia media muestran una evidente mejoría alcanzando 37 años en E.E.U.U y 50 años en Dinamarca. Sin embargo, el promedio de sobrevivencia actual en América Latina no sobrepasa los 18 años, según lo registra países como Chile y México.<sup>6</sup> En Guatemala, se desconoce estadísticamente esta información, teniendo como dato único los hospitales de referencia nacional en donde se tiene registro de un paciente de 20 años de edad con FQ.

Actualmente en Guatemala, debido a la limitación de recursos económicos en el sistema de salud y en las familias de los pacientes con diagnóstico de FQ, la realización de un estudio genético se torna de difícil acceso, por lo que no se ha logrado tipificar la mutación genotípica en nuestro país, y siendo elemento importante para enfocar de mejor manera el tratamiento a seguir, además de estadificar la gravedad de la misma, se hace evidente la importancia de recabar información genética, clínica y epidemiológica de estos pacientes para poder dirigir de una mejor manera el tratamiento favoreciendo así su calidad de vida.

Debido a lo mencionado anteriormente surgió la interrogante ¿Cuáles son las características genéticas, epidemiológicas y clínicas de pacientes pediátricos y adolescentes con diagnóstico de fibrosis quística de los hospitales: General San Juan de Dios, Roosevelt, General de Enfermedades del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social -IGSS- y Liga del Pulmón Guatemala?

## 2. MARCO DE REFERENCIA

### 2.1 Marco de antecedentes

La importancia de estudiar aspectos genéticos, clínicos y epidemiológicos ha ido en aumento en los últimos años, ya que anteriormente la FQ se conocía como una patología propia de la infancia, pero desde hace algunos años gracias al avance de la tecnología y pruebas diagnósticas más sensibles y específicas, se ha hecho un diagnóstico temprano; se han realizado varios estudios en relación a esta importante triada, ya que el conocimiento del genotipo ayuda a dirigir mejor el tratamiento del paciente con FQ. En un estudio realizado por la ECFS publicado en el Journal of Cystic Fibrosis (JCF) en 2010, se hizo la comparación demográfica entre la población de países pertenecientes a la Unión Europea (EU) con FQ versus la población de países no pertenecientes a la EU, utilizando los indicadores demográficos de edad, edad de diagnóstico, sexo y genotipo, se estudiaron a 29 025 pacientes en total, divididos entre 25 216 pacientes de la EU y 3809 pacientes no pertenecientes a esta. Los resultados que se obtuvieron fueron, una edad media de 17 años sobrepasando los 40 años de edad únicamente un 5% y una media de 12 años de edad, un 2% de los pacientes sobrepasó ese grupo etáreo, respectivamente. Se llegó a la conclusión que la población de pacientes con FQ de los países no europeos aumentaría en un 84% si no existiese subdiagnóstico y si tuvieran las mismas oportunidades de diagnóstico.<sup>7</sup>

En un estudio publicado en el año 2014 de la Costa Caribe Colombiana en un período comprendido entre 2005 y 2012 con el objetivo de caracterizar a los pacientes con FQ. Un grupo de médicos internistas y pediatras neumólogos realizaron, mediante revisión de 32 expedientes clínicos, un estudio descriptivo, retrospectivo, transversal, reportando que: la enfermedad presentaba una distribución equitativa en cuanto al género, entre 1 y 12 meses de edad se evidenció la mayor prevalencia de inicio de la patología, 56.2% de los pacientes fueron diagnosticados antes del primer año de vida, la mayor proporción de pacientes no presentaba antecedentes familiares de FQ, la mutación genética presentada con mayor frecuencia fue la F508, dentro del diagnóstico los pacientes presentaban sobre todo afectación pulmonar y gastrointestinal y en los cultivos de secreciones el patógeno que predominantemente se aisló fue *Pseudomona aeruginosa* (*P. AERUGINOSA*) y *estafilococo aureus* (*S. AUREUS*) *meticilinosensible*.<sup>8</sup>

En Chile se llevó a cabo un estudio que fue publicado en el año 2002 con la aprobación del Comité de Ética de la Universidad de Valparaíso, realizaron una extracción de sangre en pacientes con un rango de edad desde su nacimiento hasta los 20 años en el cual lograron reunir a 18 pacientes con el objetivo de buscar las mutaciones del gen CFTR que ya presentaban el diagnóstico de FQ confirmado. Concluyeron que las mutaciones más frecuentes fueron: F508 en 11 pacientes, G542X en 3 pacientes, 2 presentaban ambas mutaciones mencionadas anteriormente y 2 eran desconocidas.<sup>9</sup>

Otro estudio fue publicado en Ecuador en el año 2004, se tomó en cuenta a los pacientes que acudían a las fundaciones de FQ en Quito y Guayaquil, la muestra fue tomada durante los años 1996 al 2004 para un total de 62 pacientes con diagnóstico de FQ. El objetivo era identificar las mutaciones genéticas más frecuentes en la población de niños con FQ en Ecuador, fue un estudio descriptivo, retrospectivo, transversal, reportando que se evidenciaba un descenso en el número de pacientes mayores de 15 años aunque en literaturas europeas menciona que la sobrevida es alrededor de 40 años por lo que lo asocian a las condiciones socioeconómicas de un país subdesarrollado comparado con uno desarrollado, además de ello encontraron una incidencia de 1/11 252 nacidos vivos, los porcentajes de mutaciones encontrados fueron de F508 en 37.1%, G85E en 8.9%, G542X en 2.4%, N1303K en 2.4%, G551D en 1.6%, R334W en 0.8%. Cabe resaltar que el porcentaje de la mutación G85E encontrada en Ecuador, es el más alto registrado a nivel mundial incluso mayor que en Grecia de donde se creía que provenía dicha mutación.<sup>10</sup>

A nivel centroamericano se tiene registro que en la Universidad de Costa Rica se llevó a cabo un estudio de posgrado titulado: “Análisis de las mutaciones del gen CFTR y de los marcadores polimórficos asociados en familias con fibrosis quística”, en este estudio se incluyó a todos los pacientes con FQ del Hospital Nacional de Niños, analizándose un total de 130 pacientes. La conclusión fue que la mutación CFTR que más prevalencia tuvo fue la G542X con 24.5%, la segunda mutación fue la F508 con 16.7%, existieron otras seis mutaciones que representan el 10% entre las cuales se encuentra R117H, G551D, W128X, 1717-AG-A, 621+1G-T, 3849+10.<sup>3</sup>

En Honduras se realizó el estudio “Caracterización de los pacientes con Fibrosis Quística diagnosticados por cloruros en sudor”, este se llevó a cabo en el Hospital Nacional Mario Catarino Rivas. Se tomó de muestra a 5 pacientes, se revisaron expedientes clínicos y se aplicó un instrumento de 20 preguntas a pacientes en control médico, durante enero 2010 a junio 2015, los resultados del estudio fueron que la edad al momento del diagnóstico varió de recién nacido a 5 años; al inicio de la enfermedad 3 tenían sintomatología respiratoria y digestiva, en relación a talla/edad al momento del diagnóstico 4 se encontraban por debajo del percentil Z-3. La totalidad reportó cultivos positivos para *P. aeruginosa* y respecto al manejo terapéutico de los pacientes en la totalidad de ellos se indicó nebulizaciones con salino hipertónico al 7%, Beta-2-agonistas, antibióticos sistémicos y suplementación enzimática y de vitaminas liposoluble. En 2 pacientes, se encontró la mutación F508 en el gen CFTR.<sup>11</sup>

Durante los meses de mayo a julio de 1998 se llevó a cabo una tesis de grado de la Licenciatura en Medicina y Cirugía de la Universidad de San Carlos de Guatemala (USAC) titulada: “Análisis del tratamiento y pronóstico de pacientes menores de 12 años con diagnóstico de fibrosis quística atendidos en el departamento de pediatría en el hospital Roosevelt” con el objetivo de analizar edad, sexo, procedencia, tratamiento y pronóstico de pacientes con diagnóstico de fibrosis quística a través de la revisión de 12 expedientes clínicos evidenciándose predominio del sexo masculino, edad de diagnóstico de 0 a 3 años en su mayoría, pertenecientes a la etnia ladina, procedentes del área urbana con antecedente de neumopatía crónica familiar, el tratamiento médico utilizado era efectivo y el estado nutricional de los pacientes se veía deteriorado por la enfermedad.<sup>12</sup>

En Guatemala en el año 2016, a cargo de Mirna Lucía García Tellez, se realizó la tesis de grado de la Licenciatura en Medicina y Cirugía USAC, titulada: “Caracterización clínica y epidemiológica de los pacientes pediátricos con fibrosis quística”, la cual fue un estudio de series de casos realizado en los hospitales: General San Juan de Dios y General de Enfermedades del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social –IGSS- durante los meses de mayo a junio del año antes mencionado, se tomaron 30 expedientes clínicos obteniendo como resultado lo siguiente: predominio de sexo femenino, el rango de edades con mayor frecuencia fue entre 6 a 10 años, provenientes del área urbana, en cuanto a la función pulmonar los pacientes tenían predominio de patrón obstructivo y daño pancreático exocrino, los pacientes se encontraban con déficit nutricional y colonizados principalmente por *P. aeruginosa*.<sup>13</sup>

Como se puede evidenciar, la bibliografía en nuestro país es escasa, con una cantidad reducida de pacientes a pesar del rango de años en los que se revisaron los expedientes clínicos y en ninguno de los estudios se registró una descripción genética de la mutación del gen CFTR de los pacientes.

## **2.2 Marco teórico**

Según el Consorcio de Análisis Genético de la Fibrosis Quística a nivel mundial existen 2026 mutaciones. La mutación más común es la F508 con una frecuencia de 28 948 apariciones, representa el 66% y afecta a la mayoría de las personas. La segunda mutación es la G542X con 1062 apariciones, representa 2.4%, la población con mayor prevalencia es la española. La tercera mutación es la G551D con una frecuencia de 717 apariciones, representa 1.6% apreciándose mayor prevalencia de ésta en la población inglesa.<sup>2</sup>

Según Fanen en su obra Atlas de genética y citogenética en oncología y hematología casi la mitad de los pacientes con FQ son homocigotos para la mutación F508. El 40% de los pacientes son heterocigotos y la mutación F508 en uno de los alelos es la que se muestra con mayor frecuencia. Este grupo de pacientes muestra la forma clásica de la enfermedad; se caracterizan por aumento anormal de electrolitos en sudor, obstrucción pulmonar y manifestaciones gastrointestinales; quien también describe que la función pulmonar, la edad de aparición de los síntomas y la cantidad de cloruro se relaciona con el genotipo. Esto demuestra la correlación que hay entre la mutación y las manifestaciones clínicas de la FQ. Así mismo explica que el gen A455E se asocia a mejor función pulmonar. También explica que el efecto de una mutación puede verse alterado por una segunda mutación sobre el mismo alelo.<sup>14</sup>

En el año 2006 se publica una tesis doctoral en el departamento de medicina de la Universidad Autónoma de Barcelona, España, en la cual se realiza una correlación genotípica-fenotípica pulmonar de pacientes adultos con fibrosis quística, se realizó un estudio prospectivo en el cual se incluyeron 74 pacientes que fueron clasificados en base a la mutación del gen CFTR que presentaban, se tomaron en cuenta tanto características demográficas como valores de espirometría, progresión del daño pulmonar, esperanza de vida y aumento de la probabilidad de presentar enfermedad pulmonar moderada-grave y como se correlaciona con la existencia o no de insuficiencia pancreática (IP). Las clases I, II y III presentaron menores valores espirométricos, mayor progresión de la enfermedad pulmonar,

mayor proporción de pacientes con enfermedad pulmonar terminal, riesgo elevado de desarrollar enfermedad pulmonar moderada a grave y menor probabilidad de sobrevivir en comparación con las clases IV, V, VI.<sup>15</sup>

Un estudio llevado a cabo por el departamento de genética humana del Instituto Nacional de Pediatría (INP) y la Asociación Mexicana de Fibrosis Quística en el año 2013, correlacionó el genotipo-fenotipo de 230 pacientes con FQ, los cuales fueron clasificados con base al genotipo y afectación pancreática, ambas estratificaciones se correlacionaron con parámetros como: niveles de cloruros en sudor, daño pulmonar y pancreático y colonización por *P. aeruginosa*, el estudio reveló que existe una íntima correlación entre la gravedad de la mutación y la manifestación clínica, sobre todo en IP. Se observaron diferencias significativas en pacientes con IP y insuficiencia pancreática (SP) en cuanto a niveles de Cl<sup>-</sup> en sudor, afectación pulmonar y colonización por *P. aeruginosa*, así mismo la edad de inicio de la sintomatología y diagnóstico de los mismos. Los pacientes que presentan IP muestran mutaciones graves de CFTR lo que conlleva a la aparición de cuadros clínicos más severos en comparación con otros en los cuales la mutación del gen CFTR se estratifica como leve.<sup>16</sup>

## **2.3 Marco referencial**

### **2.3.1 Fibrosis quística**

#### **2.3.1.1 Historia**

Antes de que se tuviera el conocimiento de que la FQ era una patología, se tenía la creencia que al besar a un niño y sentir un sabor muy salado, éste moría precozmente por lo que en el siglo XV se les conocía como niños encantados.<sup>17</sup>

En 1606 el Dr. Juan Alonso y de los Ruyzes de Fontecha, quien era profesor de medicina, menciona por primera vez en sus escritos médicos que se reconocía a la gente embrujada si luego de rasarle la frente se notaba un sabor salado en los dedos, sin embargo, aún no se establecía una relación entre el sabor salado y el encantamiento.<sup>17</sup>

El holandés Peter Paaw, en 1595, realizó la primera descripción anatomopatológica macroscópica al llevar a cabo una necropsia en una niña de 11 años, en la cual evidenció un páncreas muy agrandado, cirroso y de color blanco brillante al cortarlo, relacionando de esta forma el hechizo con la causa de muerte; de

igual forma en 1677 Gerardus Blasius lo evidenció al estudiar a un niño de 9 años que muere de páncreas cirroso.<sup>17</sup>

La primera historia clínica fue realizada en Polonia 1673 por Georg Seger teniendo como paciente a una niña de 3 años con vómitos, fiebre, dificultad para ganar peso e inanición prolongada a quien luego de su muerte, Bartholomeus Taubenheim le realiza una necropsia evidenciando páncreas endurecido y cirroso.<sup>17</sup>

El sueco Nils Rosen von Rosenstein en su libro sobre enfermedades infantiles refiere un cuadro conocido como fluxus coeliasus que probablemente hacía referencia a un cuadro de FQ.<sup>17</sup>

Carl Von Rokitansky, Viena 1838, describe los resultados de una necropsia en un feto de 7 meses, donde evidencia perforación intestinal y meconio libre en la cavidad peritoneal, tratándose posiblemente de lo que hoy conocemos como íleo meconial.<sup>17</sup>

En 1936 Fanconi describe un síndrome celíaco con IP y bronquiectasias que sin duda pertenecía a un paciente con FQ. La primera descripción clínica e histopatológica de FQ se debe a Dorothy Andersen, quién publicó en 1938 la asociación de los signos de esta enfermedad con el íleo meconial y lo atribuía a una deficiencia de vitamina A.<sup>17</sup>

En 1943, Farber propuso que los pacientes fallecidos con FQ presentaban aumento de la producción de moco, por lo que introduce el término mucoviscidosis, nombre con el cual se le continúa conociendo en la actualidad. Andersen y Hodges en 1945 evidenciaron la herencia autosómica recesiva de la enfermedad, al estudiar a 47 familias de pacientes que padecían FQ de lo cual surgió que el diagnóstico se realizara por la existencia de familiaridad, IP y afección pulmonar crónica.<sup>17</sup>

En el año de 1952, Bodian, elaboró teorías patogénicas por las lesiones que se evidenciaban en el páncreas, pulmón, hígado y conductos deferentes las cuales se debían a secreciones anormales que tapaban los conductos excretores de las

glándulas exocrinas produciendo fibrosis y destrucción de los tejidos, así mismo describió la cirrosis como lesión patognomónica de la FQ.<sup>17</sup>

En el mismo año en Nueva York, hubo un aumento del calor lo que hacía que los pacientes sufrieran deshidratación con alcalosis hipoclorémica, por lo que Dí Sant Agnese concluyó que se debía a una pérdida excesiva de  $\text{Cl}^-$  por el sudor, de esta forma la medición de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en el sudor se convirtió en el método diagnóstico. Debido a que se tenía que someter a los pacientes a altas temperaturas para lograr que sudaran, Gibson y Cook en 1959 diseñaron el test cuantitativo de iontoforesis por pilocarpina (QPIT) para realizar de forma segura el diagnóstico sin tener que someter a los pacientes a altas temperaturas, mismo que sigue siendo utilizado hasta la fecha.<sup>17</sup>

En 1983, se describe por Quinton que el defecto específico de FQ es una reabsorción defectuosa de  $\text{Cl}^-$  a nivel de las células epiteliales del epitelio glandular, marcando así un cambio en la investigación médica de la enfermedad del embrujo.<sup>17</sup>

#### 2.3.1.2 Definición

FQ es un trastorno hereditario autosómico recesivo más frecuente en pacientes de raza blanca,<sup>17</sup> causada por mutaciones en el gen CFTR que codifica para la proteína CFTR de la FQ, es decir, que el individuo debe de presentar alteración en una o ambas copias del gen para manifestar la enfermedad. Estos alelos o copias mutadas provienen de ambos padres que son portadores heterocigotos, es decir que poseen una copia sana del gen y otra alterada.<sup>6</sup>

#### 2.3.1.3 Incidencia

Se estima que en las poblaciones blancas del norte de Europa, Norteamérica, Australia y Nueva Zelanda la prevalencia se aproxima a 1/3500 nacidos vivos y una frecuencia de portadores de 1 por cada 25 pacientes.<sup>7</sup> Esto contrasta con la población norteamericana de raza negra donde la incidencia es de 1/17 000 nacidos vivos. Debido a la alta mezcla racial, en Latinoamérica también se cuenta con esta enfermedad, siendo la prevalencia de 1/3862 nacidos vivos en Cuba, Argentina de 1/7213 nacidos vivos y México de 1/9000 nacidos vivos.<sup>18</sup>

#### 2.3.1.4 Fisiopatología

En la membrana basal de una célula epitelial con funciones conservadas, los iones  $\text{Cl}^-$  entran en contra del gradiente de concentración transportados pasivamente a través de un transportador activo que introduce potasio ( $\text{K}^+$ ) y expulsa  $\text{Na}^+$  de la célula. Es así como el  $\text{Cl}^-$  se acumula en el interior. Por otra parte, en la membrana apical de las células epiteliales los iones  $\text{Cl}^-$  salen a favor del gradiente de concentración cuando se abren los canales para dicho ion, al mismo tiempo, sale  $\text{H}_2\text{O}$  que ayuda a mantener la fluidez de las secreciones. Además, también se han observado canales de  $\text{Na}^+$  en la membrana apical que permiten la entrada de  $\text{Na}^+$  a favor del gradiente de concentración y que se cierran cuando se estimula la secreción de  $\text{Cl}^-$ .<sup>19</sup>

En la FQ la función de las células epiteliales se encuentra alterada, evidenciando que uno de los canales de  $\text{Cl}^-$  ubicado en la membrana apical del epitelio respiratorio, el canal CFTR, se encuentra ausente o no responde a los estímulos fisiológicos, quedando bloqueado el flujo de  $\text{Cl}^-$  lo que conlleva a una disminución del flujo de  $\text{H}_2\text{O}$  hacia el exterior. Al mismo tiempo, se ve aumentada la reabsorción de  $\text{Na}^+$  en la membrana apical, lo que favorece pasivamente la reabsorción de  $\text{H}_2\text{O}$  creando como resultado que las secreciones se deshidraten elevando su viscosidad e impidiendo un adecuado movimiento ciliar, lo cual se ve reflejado en una limpieza inadecuada que favorece la obstrucción de los bronquios y finalmente las infecciones respiratorias.<sup>19</sup>

En las glándulas, las células secretoras del acino glandular producen una secreción isotónica que, al pasar por el conducto excretor, el cual es impermeable al  $\text{H}_2\text{O}$ , se convierte en hipotónica por la reabsorción  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Na}^+$ . En la FQ la secreción del acino está disminuida y el bloqueo de la permeabilidad de los canales de  $\text{Cl}^-$  hace que las concentraciones de este ion y de  $\text{Na}^+$  no se reabsorban ya que el potencial electroquímico está alterado, elevando así la concentración de  $\text{Cl}^-$  en el sudor.<sup>19</sup>

#### 2.3.1.5 Manifestaciones clínicas

De acuerdo al grupo etario en el que se encuentren los pacientes con FQ, así serán los síntomas y signos, podemos mencionar las siguientes manifestaciones clínicas:

- En los recién nacidos y lactantes menores se evidencia íleo meconial, ictericia neonatal prolongada secundaria a un proceso colestásico, síndrome de edema, anemia y desnutrición, esteatorrea, síndrome de malabsorción, incremento ponderal inadecuado y vómitos recurrentes.<sup>20</sup>
- En lactantes se observa tos o sibilancias recurrentes o crónicas, neumonía, retardo del crecimiento, diarrea crónica, prolapso rectal, hiponatremia e hipocloremia crónica.<sup>20</sup>
- Preescolares presentan tos crónica con o sin expectoración, sibilancias crónicas, deficiencia de peso y talla, dolor abdominal recurrente, prolapso rectal, invaginación intestinal, diarrea crónica, hipocratismo digital, hiponatremia e hipocloremia crónica, hepatomegalia y pólipos nasales.<sup>20</sup>
- En cuanto a la edad escolar se puede observar síntomas respiratorios crónicos, poliposis nasal, sinusitis crónica, bronquiectasias, diarrea crónica, síndrome de obstrucción intestinal, pancreatitis, hepatomegalia y prolapso rectal.<sup>20</sup>
- Durante la adolescencia y edad adulta se evidencia enfermedad pulmonar crónica, hipocratismo digital, dolor abdominal recurrente, pancreatitis, síndrome de obstrucción intestinal, cirrosis hepática, hipertensión portal, retardo del crecimiento, esterilidad masculina evidente con azoospermia y disminución de la fertilidad en mujeres.<sup>20</sup>

Debe de tomarse siempre en cuenta que los sistemas más comprometidos son el aparato respiratorio, gastrointestinal y reproductor.<sup>20</sup>

#### A. Aparato respiratorio

El proceso inflamatorio es una respuesta de defensa del cuerpo contra la infección, en los pacientes con FQ no se ha evidenciado deficiencia en la inmunidad y se tiene conocimiento que podría encontrarse alterada la defensa local.<sup>21</sup>

La defensina humana beta 1 (HBD1), es un péptido con propiedades antibacterianas producida por las células epiteliales, que se encuentra inactiva en los pacientes con FQ debido a las altas concentraciones de sales; valorando esto como desencadenante de la patogénesis de las infecciones respiratorias. Además, una célula epitelial normal produce interleucina 10 (IL-10), una citosina encargada de regular la respuesta inflamatoria y activación de las células T, la cual se encuentra en menor concentración en pacientes con FQ. El epitelio de las vías aéreas de pacientes fibroquísticos produce interleucina 8 (IL-8) y expresan la molécula de

adhesión ICAM-1, que no se producen en personas sanas, atrayendo de esta forma neutrófilos al pulmón lo cual contribuye aún más a la respuesta inflamatoria.<sup>21</sup>

El neutrófilo libera una enzima, la elastasa del neutrófilo, que además de producir daño en el parénquima pulmonar estimula la producción de IL-8, convirtiendo este proceso en un ciclo vicioso. Esta enzima incrementa la producción de moco y contribuye a la obstrucción. Al momento de lisarse los neutrófilos y liberarse ácido desoxirribonucleico (ADN) incrementa aún más la viscosidad del moco.<sup>21</sup>

La *P. aeruginosa* es el principal microorganismo que coloniza el sistema respiratorio, lo hace a través de su adherencia por pili bacterianos y proteasas mucoides que la une al moco y a las células dañadas. La *P. aeruginosa* libera proteasas que facilitan la colonización, daña el tejido, digiere inmunoglobulinas y fracción del complemento afectando de esta forma la opsonización y la fagocitosis. Los anticuerpos antipseudomona se une al antígeno formando inmunocomplejos que contribuyen aún más al daño pulmonar.<sup>21</sup>

Debido a la patogénesis antes descrita las exacerbaciones respiratorias infecciosas se caracterizan por un incremento de los síntomas respiratorios y secreciones. Se evidencia un aumento en la frecuencia y duración de la tos, aumento de la producción de esputo, incremento de la disnea y retracciones intercostales que conllevan a una disminución de la función pulmonar. Puede aparecer pérdida de peso y fiebre con leucocitosis. Si se lograra evaluar una radiografía de tórax aparecerán nuevos infiltrados, los senos paranasales se observan con opacidades lo que puede ser sugestivo de sinusitis.<sup>21</sup>

#### A.1 Diagnóstico radiológico:

A nivel pulmonar existen hallazgos radiológicos que sugieren FQ, pero estos no son específicos. Entre estos podemos mencionar: hiperinsuflación de los pulmones de forma precoz, cuando existe engrosamiento bronquial y tapones de moco, sombras anilladas sugieren bronquiectasias y suelen mostrarse en los lóbulos superiores, seguido de densidades nodulares, atelectasias parcheadas e infiltrados confluentes. También pueden aparecer adenopatías hiliares. Cuando la enfermedad progresa se presenta importante hiperinsuflación, depresión diafragmática, abombamiento hacia delante del esternón y estrechamiento de la silueta cardíaca, además pueden producirse quistes, bronquiectasias extensas, dilatación de segmentos de la arteria pulmonar y atelectasias lobulares o

segmentarias. Se toman radiografías de senos paranasales que muestran opacificación y falta de desarrollo del seno frontal.<sup>1</sup>

La tomografía axial computarizada (TAC) detecta y localiza los engrosamientos de las paredes bronquiales, presencia de tapones de moco, hiperinsuflación focal y bronquiectasias. Sin embargo, no se suele usar de forma rutinaria en la valoración de la enfermedad torácica.<sup>1</sup>

Existen varios sistemas de puntaje para cuantificar el compromiso pulmonar. El puntaje radiológico de Brasfield es el más usado y es recomendado para evaluar anualmente a pacientes con FQ. Se valora la presencia de atrapamiento aéreo, engrosamientos peribronquiales, lesiones quístico-nodulares, lesiones grandes y la impresión general de la radiografía de tórax.<sup>1</sup> Cada 6 meses debe de realizarse un estudio de rayos x de tórax anteroposterior y lateral para evaluación por sospecha de exacerbación infecciosa o neumotórax. La escala en mención se describe en las tablas 2.1 y 2.2.<sup>22</sup>

**Tabla 2.1** Puntaje de radiografía de Brasfield

| Categoría                   |  | Definición                            | Puntaje |                     |
|-----------------------------|--|---------------------------------------|---------|---------------------|
| Atrapamiento aéreo          |  |                                       | 5       | ausente             |
|                             |  | Distensión pulmonar generalizada      | 4       | gravedad en aumento |
|                             |  | con protrusión del esternón,          | 3       |                     |
|                             |  | aplanamiento del diafragma o cifosis  | 2       |                     |
|                             |  | torácica.                             | 1       |                     |
|                             |  |                                       | 0       |                     |
| Engrosamiento peribronquial |  | Densidades lineales por prominencia   | 5       | ausente             |
|                             |  | broncoperibronquial; se ven como      | 4       | gravedad en aumento |
|                             |  | líneas de densidad paralelas, a veces | 3       |                     |
|                             |  | ramificándose, otras como tapones     | 2       |                     |
|                             |  | terminales, con engrosamiento de la   | 1       |                     |
|                             |  | pared bronquial.                      | 0       |                     |

Continuación Tabla 2.1

|                                                   |                                                                                                                                                                                                                              |   |                        |
|---------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---|------------------------|
| Lesiones quístico<br>nodulares                    | Densidades pequeñas redondeadas y múltiples, de 0.5 cm de diámetro (o mayores), con centros translúcidos, radiopacos (no relacionados con los habituales del hilio), son nódulos confluyentes no clasificados como lesiones. | 5 | ausente                |
|                                                   |                                                                                                                                                                                                                              | 4 |                        |
|                                                   |                                                                                                                                                                                                                              | 3 |                        |
|                                                   |                                                                                                                                                                                                                              | 2 | gravedad en aumento    |
|                                                   |                                                                                                                                                                                                                              | 1 |                        |
|                                                   |                                                                                                                                                                                                                              | 0 |                        |
| Lesiones grandes                                  | Atelectasias segmentar o lobular incluyendo neumonía aguda                                                                                                                                                                   | 5 | ausente                |
|                                                   |                                                                                                                                                                                                                              | 3 | atelectasia única      |
|                                                   |                                                                                                                                                                                                                              | 0 | atelectasias múltiples |
| General                                           | Impresión general de graves alteraciones en la radiografía de tórax.                                                                                                                                                         | 5 | ausente                |
|                                                   |                                                                                                                                                                                                                              | 4 |                        |
|                                                   |                                                                                                                                                                                                                              | 3 |                        |
|                                                   |                                                                                                                                                                                                                              | 2 | gravedad en aumento    |
|                                                   |                                                                                                                                                                                                                              | 1 |                        |
|                                                   |                                                                                                                                                                                                                              | 0 |                        |
| Complicaciones: Cardiomegalia, neumotórax.        |                                                                                                                                                                                                                              |   |                        |
| Puntaje de radiografía de tórax normal: 25 puntos |                                                                                                                                                                                                                              |   |                        |

**Tabla 2.2** Grado de severidad según Brasfield

| Grado de severidad | Puntaje |
|--------------------|---------|
| Leve               | 20 – 25 |
| Moderado           | 10 – 19 |
| Severo             | < 9     |

#### A.2 Evaluación de la función pulmonar:

El inicio de las alteraciones funcionales se produce en la vía aérea de pequeño calibre. La espirometría muestra disminución del flujo medio espiratorio forzado (FEF), al progresar la enfermedad y al afectarse las vías aéreas centrales, disminuye el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (VEF1). Para mantener un monitoreo se utiliza el índice VEF1 dividido la capacidad vital forzada (CVF), este índice desciende con el aumento de la obstrucción. Existen

cambios reversibles e irreversibles de la CVF y el VEF1. El componente reversible se asocia a la acumulación intraluminal de secreciones o broncoespasmo. El componente irreversible refleja la destrucción crónica de la pared de las vías aéreas y el desarrollo de bronquiolitis obliterante. El VEF1 es el parámetro funcional que mejor se correlaciona con el riesgo de muerte. Un VEF1 menor al 30% del valor teórico tendría un riesgo de muerte a los 2 años del 45%, por lo que debería considerarse el trasplante pulmonar.<sup>23</sup>

### A.3 Gasometría

Esta evaluación se usa para verificar qué tan eficientemente los pulmones mueven oxígeno (O<sub>2</sub>) a la sangre y remueven dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) de la misma. Cuando la sangre pasa a través de los pulmones, O<sub>2</sub> fluye a la sangre mientras que el CO<sub>2</sub> es transferido de la sangre a los pulmones. La prueba de gasometría utiliza sangre arterial, donde niveles de O<sub>2</sub> y CO<sub>2</sub> son medidos antes de penetrar en los tejidos del cuerpo, mostrando hipoxemia y acidosis respiratoria crónica en los casos avanzados.<sup>24</sup>

### A.4 Estudios microbiológicos:

El lavado broncoalveolar debe ser la muestra de referencia para el estudio microbiológico, sin embargo, debido a la dificultad en su obtención, el estudio se realiza a través de esputo o en niños más pequeños se deben realizar aspirados bronquiales o toma retrofaríngeas.<sup>25</sup>

- Esputo: debe de realizarse en un frasco estéril, si la muestra no se procesará de inmediato debe de mantenerse a una temperatura de 4°C ya que, aunque a temperatura ambiente la viabilidad de *S. aureus* y *P. aeruginosa* no se ve afectada en las primeras 24 a 48 hrs, si se afectan los recuentos bacterianos. En el caso de *Haemophilus Influenzae* (*H. INFLUENZAE*) y *Streptococcus Pneumoniae* (*S. PNEUMONIAE*) los recuentos disminuyen drásticamente con el tiempo y los cultivos podrían ser falsos negativos.<sup>25</sup>
- Lavado broncoalveolar: recomendado en pacientes con escasa expectoración, con uso prolongado de antibióticos, donde se sospecha de contaminación con *Burkholderia cepacia* (*B. CEPACIA*).<sup>25</sup>
- Muestras retrofaríngeas: El valor diagnóstico varía de acuerdo a la edad y del patrón de colonización. En pacientes menores de 5 años el valor predictivo positivo es cerca del 95% y negativo en alrededor de 40% en el caso de *P. aeruginosa*, siendo inferiores para *S. aureus*. Por el contrario, en pacientes

jóvenes el valor predictivo positivo para *P. aeruginosa* es de 83% y algo mayor el negativo en 70%, los valores de *S. aureus* son de 91 y 80% respectivamente.<sup>25</sup>

#### B. Aparato digestivo:

La insuficiencia pancreática exocrina (IPE) está presente en 85 a 90% de los pacientes con FQ en población caucásica, sin embargo, puede descender hasta un 14% en pacientes que son diagnosticados en edad adulta; la IPE en niños, produce fallo de medro en un 80% de los pacientes.<sup>26</sup> Al correlacionar genotipo-fenotipo el daño pancreático es más frecuente en los pacientes con delección F508.<sup>27</sup>

La IPE se produce por la obstrucción de los conductos pancreáticos por material proteiforme. Esto se debe al defecto de secreción de  $\text{Cl}^-$  e hiperabsorción de  $\text{Na}^+$  y  $\text{H}_2\text{O}$  secundario a la alteración de la proteína CFTR, como consecuencia hay hiposecreción en la luz del duodeno de bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ),  $\text{H}_2\text{O}$ , lipasa, amilasa y proteasa, lo que causa una digestión deficiente intraluminal de grasas, proteínas, carbohidratos y vitaminas liposolubles. La baja concentración de  $\text{HCO}_3^-$  no logra neutralizar el ácido que se encuentra en el estómago, favoreciendo la inactivación de la lipasa pancreática y la precipitación de sales biliares.<sup>27</sup>

El diagnóstico se basa en la determinación de la elastasa 1 (E1) fecal y la cuantificación de esteatorrea. La E1 es una enzima pancreática que es secretada en el duodeno y no sufre ningún cambio a lo largo del tracto digestivo, la concentración en heces refleja el estado de la función exocrina del páncreas. Para la obtención de la muestra, las heces no deben de estar contaminadas con orina para su mayor confiabilidad, debe de transportarse en un lapso de tres horas para su evaluación, si las muestras se almacenan a una temperatura de 4 a 8°C permanecen estables hasta por tres días o hasta un año a -20°C. El rango de normalidad oscila entre 200 a mayor de 500  $\mu\text{g}$  E1/g heces, se evidencia una IPE leve a moderada de 100 a 200  $\mu\text{g}$  E1/g heces e una IPE severa menor de 100  $\mu\text{g}$  E1/g heces.<sup>28</sup> La aparición de esteatorrea pancreática es la consecuencia más grave de IPE y se presenta cuando se ha reducido en un 90% la actividad de la lipasa en el duodeno. Esto puede deberse a varios motivos: lesión en la célula pancreática que impide la síntesis, o la existencia de un obstáculo en el conducto pancreático que no permite la salida de la secreción hacia el duodeno, en estos casos la IPE recibe el nombre de primaria; también existe la IPE secundaria causada por la

desnaturalización de las enzimas pancreáticas a nivel del duodeno por un exceso de ácido, inadecuada mezcla del bolo alimenticio o por disminución del estímulo sobre el páncreas.<sup>29</sup>

De acuerdo a los valores de esteatorrea, cuando la cantidad de grasa fecal es superior a 7g/24 hrs, la concentración de lipasa es menor 10% de su secreción normal. En la actualidad el Gold estándar para llegar a estos valores es la técnica de Van der Kammer<sup>30</sup> la cual es la determinación cuantitativa de las grasas en heces por 72 horas y deben de consumir una dieta de 70 a 120 gr de grasa al día. En personas sanas la normalidad de esteatorrea es menor de 6 g/24 hrs y se mantiene constante aun incrementando el consumo de grasas de 100 a 125 g por día.<sup>31</sup>

Para el tratamiento se administran enzimas pancreáticas<sup>27</sup> las dosis recomendadas inicialmente se calculan en base al aporte de lipasa y son: en lactantes 2000 unidades/kg/alimentación en la leche, en menores de 4 años 1000 unidades/kg/alimentación, en mayores de 4 años 500 unidades/kg/alimentación, no se debe de sobrepasar las 2500 unidades/kg/alimentación o 10 000 unidades/kg/día y la dosificación debe de regularse de acuerdo a la ganancia de peso y la cantidad excretada en las heces,<sup>32</sup> además deben prescribirse vitaminas liposolubles<sup>27</sup> para los menores de 1 año a 1ml/ día, entre 1 y 3 años 2ml/día, entre 4 y 10 años 1 comprimido/día y mayores de 11 años 2 comprimidos al día.<sup>33</sup> El control de grasas en heces y los niveles séricos de vitaminas liposolubles se deben de realizar al menos cada 6 a 12 meses.<sup>27</sup>

La desnutrición en FQ se debe al desbalance entre el consumo energético y el gasto calórico que se encuentra determinado por tres factores: aumento de los requerimientos, descenso de la ingesta y aumento de las pérdidas.<sup>26</sup>

- Pérdidas energéticas: la pérdida de los nutrientes en pacientes que persisten con esteatorrea produce un desbalance energético. Los factores que favorecen la malabsorción son la alteración del pH en las secreciones biliares e intestinales, e interferencias en el moco intestinal.<sup>26</sup>
- Ingesta: esofagitis por reflujo, síndrome de obstrucción intestinal, enfermedad hepática avanzada y alteración de la vía biliar son algunas de las complicaciones que favorecen el bajo consumo calórico, aunado a esto, las infecciones respiratorias también producen anorexia.<sup>26</sup>

- Gasto energético (GE): la enfermedad pulmonar junto con la sobreinfección y aumento del trabajo respiratorio aumentan el GE, estudios evidencian que se observa con mayor frecuencia en la mutación F508 y se asocia al sexo femenino.<sup>26</sup>

Se encuentra alterada la digestión parietal y la absorción a nivel de la mucosa del intestino por la presencia de moco muy espeso en el vértice del enterocito, una hipersecreción de mucina por las glándulas caliciformes y alteraciones del transporte.<sup>27</sup>

El estado nutricional adecuado en pacientes con FQ se ha relacionado con una menor progresión de la enfermedad respiratoria, mejor calidad de vida y mayor supervivencia. No obstante, la desnutrición aún es un problema muy importante que afecta a un gran número de pacientes que cursa con esta enfermedad.<sup>26</sup>

La detección de la desnutrición en los pacientes con FQ debe realizarse mediante la combinación de diferentes métodos y en función de la disponibilidad de los mismos. Como mínimo la historia clínica debe recoger, en adultos, el peso, el índice de masa corporal (IMC) y la pérdida de peso en el tiempo. Y en niños la evaluación antropométrica será expresada en peso, talla, relación peso/talla, e IMC. Aunque el consenso americano sobre el seguimiento de personas adultas con FQ incluye como método de clasificación del estado nutricional el porcentaje de peso ideal junto con el IMC, parece claro que es mejor emplear el criterio del IMC como recomienda el consenso europeo. Esto es así porque, en hombres, el porcentaje del peso ideal (% PI) sobreestimaría la severidad de la malnutrición sobre todo en pacientes de talla baja. Además, no está claro qué valor debe considerarse para el peso ideal a partir de las tablas de referencia poblacionales o del IMC ideal. De hecho, en la Conferencia del año 2005 sobre FQ de Norteamérica se recomendó abandonar el % PI para evaluar la desnutrición en adultos.<sup>23</sup>

En niños también se ha empleado, clásicamente, el porcentaje del peso en relación a la talla, peso en relación a la edad y la altura en relación a la edad, para la evaluación nutricional, junto con los percentiles de IMC. Sin embargo, los criterios para clasificar la desnutrición más empleados: % PI menor a 90% y un percentil del IMC menor a 10%, no son equivalentes entre sí. Así, el % PI infraestima la severidad de la desnutrición en niños de baja estatura que equivale a la talla para la edad menor del percentil 25 y sobreestima la severidad de la misma en niños de talla elevada equivalente a la talla para edad mayor al percentil 75. Además, el método de estimación del peso ideal en niños basado en la edad y la estatura

tampoco es un método válido, siendo mucho más fiable emplear los datos de los percentiles de IMC obtenidos de los estudios poblacionales.<sup>23</sup>

Una vez realizada la evaluación del paciente, se procede a estadificarlo en tres categorías: adecuado, en riesgo potencial y desnutrición. Para cada uno de estos parámetros se dicta la conducta que se describe en la tabla 2.3<sup>26</sup>

**TABLA 2.3** Clasificación nutricional según percentiles para IMC

| <b>Estado nutricional</b> | <b>IMC</b>                     | <b>Indicación</b>                     |
|---------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|
| Adecuado                  | IMC mayor al percentil 25      | Controles de rutina                   |
| En riesgo potencial       | IMC entre el percentil 10 y 25 | Evaluación y suplementación dietética |
| Desnutrición              | IMC menor al percentil 10      | Rehabilitación nutricional            |

Dentro de las recomendaciones nutricionales se encuentran:

- Energía: 120 a 150% más que para personas sanas según edad, sexo y composición corporal.<sup>30</sup>
- Carbohidratos: 30 a 40% del valor calórico total (VCT)<sup>21</sup>
- Proteínas: 15 a 20% VCT<sup>30</sup>
- Lípidos: 35 a 40% VCT, menos del 10% de ácidos grasos saturados (AGS), menor del 10% de ácidos grasos poli-insaturados (AGP).<sup>30</sup>
- Vitaminas: se deben de suplementar como se menciona en el apartado de IPE.<sup>30</sup>
- Minerales: la mayoría de los pacientes presentan rangos normales. Será necesario suplementar con Na<sup>+</sup> si el paciente realiza ejercicio intenso, presenta fiebre e hipersudoración. Magnesio (MG<sup>+</sup>) en pacientes tratados con aminoglucósidos. Calcio (CA<sup>+</sup>) en osteoporosis. Hierro (FE<sup>+</sup>) y Zinc (ZN) en pacientes que presentan niveles bajos.<sup>30</sup>

#### C. Aparato reproductor:

En el aparato reproductor, las secreciones espesas pueden provocar obstrucciones y afectar el desarrollo y funcionamiento de los órganos sexuales. Cerca del 98% de los hombres con FQ presentan obstrucción de los conductos espermáticos y son estériles.<sup>34</sup> Algunos de

ellos tienen una producción normal de espermatozoides sin embargo carecen de conductos deferentes los cuales conectan los testículos con los conductos eyaculadores.<sup>32</sup>

Un 20% de mujeres con FQ son infértiles<sup>32</sup> debido a un aumento de la mucosidad cervical lo cual dificulta el paso del esperma.<sup>34</sup> Estas mujeres pueden llevar un proceso de embarazo normal sin empeorar su daño pulmonar ni reducir la expectativa de vida, pero deben de recibir cuidados permanentes por un especialista y un obstetra.<sup>32</sup>

#### 2.3.1.6 Estudios para el diagnóstico de FQ

##### A. Test del sudor:

Descrito por primera vez en 1959 por Gibson y Cook, se basa en la medición de las concentraciones de  $\text{Cl}^-$  y si es posible de  $\text{Na}^+$  por medio del QPIT. Se requieren al menos 2 QPIT positivos para hacer diagnóstico de FQ, las cuales se deben de realizar a partir del mes de vida para que los resultados sean confiables.<sup>35</sup> (ver figura 1, anexo 4)

El QPIT tiene 3 fases:

1. Estimulación del sudor: se lava el antebrazo con agua destilada y alcohol. En el brazo del niño se colocan 2 electrodos con pilocarpina, colocándole una corriente de 1.5 miliamperios (MA) por 5 minutos (MIN), luego de la estimulación se retiran los electrodos y se vuelve a lavar el antebrazo con agua destilada y alcohol y se seca. Es importante que el área de la piel que se elija no curse con procesos inflamatorios o infecciosos.<sup>35</sup>
2. Recolección de la muestra: se realiza a través de papel filtro, la muestra mínima de sudor debe de ser de 75 miligramos (MG), tal papel presenta una pequeña cantidad de colorante azul que permite por inspección visual, comprobar si la cantidad de sudor es correcta. El periodo en el que se toma la muestra no debe exceder los 30 min debido a que se puede asociar a falsos negativos por proceder de glándulas subóptimas.<sup>35</sup>
3. Análisis de la muestra: la determinación del nivel de  $\text{Cl}^-$  en el sudor se realiza por medio de un cloridómetro y la técnica formada por la exposición de un electrodo de plata a una solución de  $\text{Cl}^-$ .<sup>35</sup>

Según la ECFS los criterios diagnósticos actuales se diferencian en dos tipos:

- FQ clásica: uno o más rasgos fenotípicos característicos aunados a una concentración de  $\text{Cl}^-$  en sudor mayor o igual a 60 mmol/l.<sup>35</sup>

- FQ no clásica: uno o más rasgos fenotípicos característicos más prueba del sudor con resultados dudosos (30 a 60 mmol/l), más 2 mutaciones causantes de la enfermedad y/o una diferencia de potencial transepitelial nasal anormal.<sup>35</sup>

La Cystic Fibrosis Foundation (CFF) en Estados Unidos de América en su último consenso indica que, en lactantes los valores se consideran dudosos entre 30-59 mmol/l y en pacientes de más edad entre 40-59 mmol/l, valor indicativo de FQ en cualquier edad es mayor de 60 mmol/l.<sup>35</sup>

#### B. Cribado neonatal:

Para que se indique la realización de un cribado neonatal deben de considerarse cinco aspectos:<sup>36</sup>

- Que la enfermedad presente una incidencia importante.<sup>36</sup>
- Que el método de cribado sea práctico y sencillo.<sup>36</sup>
- Que sea altamente sensible y específico.<sup>36</sup>
- Que sea adecuada la relación entre costo beneficio.<sup>36</sup>
- Que el tratamiento precoz sea de beneficio para el paciente.<sup>36</sup>

La FQ cumple estos criterios y es importante para conocer la incidencia de las poblaciones, para realizar un asesoramiento genético adecuado y poder iniciar el tratamiento necesario para disminuir el daño pulmonar. Múltiples estudios demuestran que el cribado neonatal es la base para iniciar el tratamiento precoz y de esta forma mejorar la función pancreática, el estado nutricional y desarrollo cognitivo. El diagnóstico en el periodo neonatal permite un adecuado manejo frente a una primera infección por *P. aeruginosa*, la cual en la mayoría de los casos se logra erradicar, retrasando la colonización crónica.<sup>36</sup>

Actualmente la estrategia utilizada para el cribado neonatal es la medición de tripsina inmunorreactiva (TIR). En esta prueba se recoge una gota de sangre del talón del bebé sobre papel filtro y se deja secar a temperatura ambiente, esta se debe de tomar durante los primeros 30 días de vida ya que la TIR disminuye paulatinamente hasta valores normales luego de este tiempo, debido a que el tejido fibroso y graso va reemplazando al tejido pancreático normal. Los valores deben de ser hasta 210 ng/ml, presentando un nivel de alerta cuando el valor se encuentre por arriba de los 250 ng/ml.<sup>36</sup>

### C. Medición de diferencia de potencial nasal transepitelial (DPN):

Este método se desarrolló en 1981 por Knowles. El epitelio ciliado respiratorio regula la composición de los fluidos en las superficies respiratorias por el transporte activo de los iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ . Esta prueba se realiza a través de la medición *in vivo*, expresada en milivoltios (mV). La submucosa se toma como negativa en todos los epitelios respiratorios ya que es isoelectrónica.<sup>37</sup>

Las anomalías en el transporte iónico de los epitelios respiratorios en pacientes con FQ se asocian a un patrón de DPN diferente a los individuos normales. Hay tres rasgos que distinguen a la FQ:<sup>37</sup>

- Mayor valor absoluto de diferencia de potencial (el valor es más negativo), lo que refleja un transporte de  $\text{Na}^+$  aumentado a través de la membrana que es impermeable al  $\text{Cl}^-$ . Un valor absoluto de DPN basal elevado es patognomónico de FQ. Los valores de personas sanas son de -20 mV y en FQ son mayores de -50mV.<sup>37</sup>
- Mayor reducción de la diferencia de potencial después de perfusión nasal con un inhibidor del canal de  $\text{Na}^+$  (amilorida) lo cual refleja el bloqueo del transporte de  $\text{Na}^+$ , al estar los iones de  $\text{Na}^+$  en el lado luminal del epitelio ciliado, lo que hace la carga más positiva en los valores de DPN.<sup>37</sup>
- Cambio mínimo o ausencia de cambio de la DPN debido a la respuesta a la perfusión de la superficie epitelial nasal con una solución libre de  $\text{Cl}^-$  con la unión de un betaagonista (fenoterol) lo que refleja la falta de secreción de  $\text{Cl}^-$ .<sup>37</sup>

#### 2.3.1.7 Gen CFTR

En 1985 se localiza el gen CFTR por medio de técnicas de clonación, en el cromosoma 7, brazo largo, región 3, banda 1.3. Tiene una extensión aproximada de 250 kilo bases, 27 exones y codifica un ácido ribonucleico mensajero (ARNM) de 6130 nucleótidos. El resultado final es una proteína transmembrana glicosilada de longitud de 1480 aminoácidos (A.A) y recibe el nombre de proteína CFTR.<sup>38</sup> Su expresión se da principalmente en el tracto respiratorio, reproductor, glándulas sudoríparas, salivales, páncreas, hígado, intestino, riñones, glándula paratiroides, corazón, linfocitos. En la mayoría de estos tejidos el patrón de expresión de CFTR se da durante el primer y segundo trimestre de vida fetal y su patrón es similar al encontrado durante la vida adulta.<sup>3</sup>

### 2.3.1.8 Proteína CFTR

#### A. Estructura

La proteína CFTR tiene un peso molecular de 170 000 Dalton anclada a la membrana apical de las células epiteliales. El polipéptido CFTR se integra en la membrana del retículo endoplásmico (RE), y se N-glicosila mediante la adición de dos grupos de glucosilación central en su cuarto bucle extracelular. De esta forma, el peso molecular de la proteína CFTR aumenta de 130 000 a 150 000 Dalton. Con la ayuda de proteínas chaperona, como calnexina y Hsp70, el polipéptido se pliega correctamente, se vuelve resistente a la proteasa y se transporta al aparato de Golgi. En este último, los grupos de glicosilación se modifican adicionalmente para formar una proteína madura de 170 000 Dalton y finalmente localizarse en la membrana apical de los epitelios secretores de las glándulas exocrinas.<sup>39</sup>

La estructura de la proteína posee dos dominios transmembrana, y cada dominio atraviesa la doble membrana lipídica en seis ocasiones (MSD1 y MSD2). Posee dos sitios de unión de trifosfato de adenosina (ATP), dominio ligador de nucleótido (NBD 1 y 2), y un dominio regulador (DOMINIO R) de alto contenido de a.a eléctricamente cargados.<sup>38</sup>

La activación de la CFTR depende de la fosforilación especialmente mediante la proteína cinasa A, la actividad del canal está regulada por los dominios NBD 1 y 2 encargados de la apertura del mismo. Los dominios MSD 1 y 2 son el soporte físico del canal.<sup>38</sup>

#### B. Función

La proteína CFTR funciona como un canal de  $\text{Cl}^-$ , caracterizada por una conductancia aproximadamente 8-10 picoSiemens (pS). Es selectivo para aniones sobre cationes. La regulación de esta proteína es compleja, ya que múltiples cinasas pueden activar el canal, pero solo se han descrito a detalle la activación por la cinasa A. Primero el dominio R es fosforilado por el AMPc dependiente de cinasa A, esto permite la unión de ATP al NBD1, posteriormente el ATP es hidrolizado y el canal se abre permitiendo el paso de aniones de acuerdo al gradiente electroquímico a través del poro formado por los dominios transmembrana. Cuando el dominio R está completamente fosforilado, el NBD2 se puede enlazar con el ATP. Este proceso estabiliza la apertura del canal y lo mantiene permeable por más tiempo. A continuación, el ATP es hidrolizado en el NBD2 dando como resultado adenosín difosfato (ADP) y fósforo ( $\text{P}^+$ ), lo que se traduce como el cierre del canal. Sin embargo,

cuando el dominio R está desfosforilado, los NBD no son capaces de unirse a ATP y el canal permanece cerrado, hasta que se refosforila por medio de la cinasa A.<sup>39</sup>

#### 2.3.1.9 Mutaciones del gen CFTR

Actualmente según el Consorcio de Análisis Genético de la Fibrosis Quística existen 2026 mutaciones. Para que puedan ser consideradas mutaciones deben cumplir con algunos criterios entre los cuales están: causar cambios en la secuencia aminoacídica que afecte severamente la síntesis o función de la proteína, introducir una señal de terminación prematura, alterar los nucleótidos de los sitios intronicos de maduración del ARNm, generar una secuencia aminoacídica nueva que no ocurra en los genes normales de al menos cien portadores de mutaciones para la FQ del mismo grupo étnico.<sup>2</sup>

Dentro de la distribución de las mutaciones que actualmente se tienen contempladas en el gen, se encuentran: sin sentido con recuento de 797 mutaciones (39.34%), cambio en el marco de lectura 318 mutaciones (15.70%), polimorfismos 269 mutaciones (13.29%), que afectan el procesamiento de ARN 225 mutaciones (12.25%), de parada 169 mutaciones (8.34%), desconocida 133 mutaciones (6.56%), deleciones/inserciones sin cambio de pauta 42 mutaciones (2.07%) y promotor 17 mutaciones (0.84%).<sup>2</sup>

#### 2.3.1.10 Mutaciones más frecuentes del gen CFTR

Se tiene registro de las diferentes mutaciones que sufre el gen CFTR alrededor del mundo y el porcentaje que estas mutaciones representan. Como se ha descrito previamente esta enfermedad predomina en la raza blanca pero debido a la mezcla racial, se evidencia en casi todas las poblaciones.<sup>2</sup>

A nivel mundial, el consorcio de análisis genético de fibrosis quística, en su base de datos registra las mutaciones más comunes y la población afectada en cada una de ellas, entre estas se menciona: la mutación más común corresponde a F508 con una frecuencia de 28 948 apariciones, representa el 66% de las mutaciones y afecta a la mayoría de las personas. La segunda mutación es la G542X con 1062 apariciones, representa 2.4% de las mutaciones y la población con mayor prevalencia es la española. La tercera mutación es la G551D con una frecuencia de 717 apariciones, representa 1.6% con mayor prevalencia en población inglesa.<sup>2</sup>

A nivel continental, en el norte de Europa las mutaciones más comunes son: F508 representa el 70%, G542X el 2.07%, G551D el 1.68%. En el sur de Europa F508 con 55.51%, G542X el 3.6%, N1303K el 2.47%. En Norteamérica F508 con 66.10%, G542X el 2.24%, G551D el 21.97%. En Suramérica y América Central F508 con 45.11%, G542X el 5.01%, G551D el 0.13%.<sup>2</sup>

Las características de las tres mutaciones más frecuentes a nivel mundial son:

#### A. Mutación F508

La mutación F508 es la más común a nivel mundial, pertenece a la clase II consiste en la delección de tres pares de bases en el exón 11, produce la pérdida del A.A fenilalanina en la posición 508 la cual afecta la síntesis del NBD1, lo que resulta con un defecto en el plegamiento de la proteína y su posterior destrucción.<sup>40</sup>

#### B. Mutación G542X

Es la segunda mutación a nivel mundial, pertenece a la clase I, produce un cambio de Guanina por Tiamina en la posición 542 (c.1624G>T), lo cual produce un codón de parada provocando que por error se finalice la formación de la proteína, se produce en el exón 12.<sup>41</sup>

#### C. Mutación G551D

Es la tercera mutación a nivel mundial, pertenece a la clase III, se produce un cambio entre glicina y ácido aspártico en la posición 551 del exón 12. La mutación se localiza en el NBD1 e interfiere con la hidrólisis del ATP produciendo una reducción del canal.<sup>42</sup>

### 2.3.1.11 Clasificación de mutaciones del gen CFTR según función proteica

La identificación del gen y de sus mutaciones ha permitido el estudio de la correlación genotipo - fenotipo, logrando identificar seis tipos de mutaciones en la proteína CFTR.<sup>39</sup>

#### A. Clase I: ausencia de producción de la proteína:

Las mutaciones que se encuentran en esta categoría son: sin sentido, cambio en el marco de lectura y las que afectan el procesamiento de ácido ribonucleico (ARN). El mecanismo por el cual se termina la traducción se debe a la identificación de un codón de parada o terminación prematuro en la lectura del ARN. Produciendo la ausencia de síntesis de la proteína o síntesis de una proteína anormal la cual tiende a ser inestable y a degradarse

relativamente rápido en el citoplasma o que se desprende fácilmente de la membrana celular. El resultado de esta clase de mutación causa la pérdida de actividad del canal CFTR en el epitelio afectado, haciendo que se produzcan pocos o ningún canal de  $\text{Cl}^-$ . La mutación genotípica más común en esta clasificación es la G542X.<sup>39</sup>

**B. Clase II: maduración defectuosa y degradación prematura de la proteína:**

En esta clase se encuentran la mayoría de las mutaciones del gen CFTR, la mutación F508 representa el mayor porcentaje de aparición. Se produce porque la proteína CFTR no puede plegarse correctamente y asumir su configuración terciaria apropiada en el proceso de glicosilación y plegamiento que se lleva a cabo en el RE y el aparato de Golgi, por lo que la proteína defectuosa es retenida en el RE y es reconocida para la degradación por medio de proteosomas citoplasmáticos.<sup>39</sup>

Cuando la proteína está relacionada a un defecto en la maduración, la mutación ocurre en la síntesis del dominio NBD1, haciendo que el patrón de plegamiento del NBD1 o de las secuencias contiguas sean muy sensibles a los cambios debidos a las mutaciones haciendo que se produzca ausencia de la proteína en la membrana apical de las células.<sup>39</sup>

**C. Clase III: alteración de la regulación y disminución de la ligadura e hidrólisis de ATP:**

En esta mutación la proteína se produce y procesa en el citoplasma, se transporta e inserta en la membrana apical de la célula, sin embargo, es resistente a la fosforilación y a la unión con el ATP, esto quiere decir que se produce un defecto en la actividad reguladora de la proteína CFTR, lo que afecta el proceso de regulación al impedir la unión del ATP y la hidrólisis de los dominios NBD1 Y 2 requeridos para la activación del canal. El efecto neto de la proteína CFTR es una cantidad normal pero no funcional en la membrana apical de las células. La mutación genotípica característica es la sin sentido G551D.<sup>39</sup>

**D. Clase IV: conductancia alterada al cloruro o la apertura defectuosa del canal:**

La mayoría de las mutaciones se localizan en el dominio MSD1, el cual está implicado en la formación del poro del canal, haciendo que la conductancia a través del canal esté alterada, la proteína mantiene cierta función residual. El efecto neto es la presencia de una cantidad normal de la proteína CFTR en la membrana apical, pero presentan una reducción

en el transporte de Cl<sup>-</sup> en este canal. Las mutaciones genotípicas que caracterizan esta clase son R117H, R347P y la R334W.<sup>39</sup>

E. Clase V: defecto parcial en la producción o en el procesamiento:

En esta clase de mutación se presenta una reducida síntesis de proteína CFTR, por esta razón se origina una disminución de la cantidad de proteína activa en la membrana apical de las células y se debe a mutaciones del promotor o procesamiento ineficaz. Esta mutación también se puede presentar en pacientes con azoospermia obstructiva, bronquiectasias diseminadas, pancreatitis crónica. Las mutaciones genotípicas que caracterizan esta clase son 2789+5G>A, 3849+10kbC>T, A455E.<sup>39</sup>

F. Clase VI: defecto en la regulación de otros canales:

En esta clase se agrupan mutaciones que afectan las propiedades reguladoras de gen CFTR sobre otros canales de iones como el canal de cloruro de rectificación saliente (ORCC) o el canal de Na<sup>+</sup> epitelial (ENAC).<sup>39</sup>

A continuación, se resume cada una de las clases de mutaciones y sus principales características, se sabe que dependiendo de las clases de mutaciones que se combinan en ambos cromosomas de un paciente, puede resultar un fenotipo con los síntomas de FQ clásica que es multisintomática o de una FQ más leve o incluso monosintomática.<sup>8</sup>

**TABLA 2.4** Influencia de las diferentes clases de mutaciones sobre el fenotipo en la FQ

| Clase                    | I                   | II                          | III                      | IV                    | V                         | VI                        |
|--------------------------|---------------------|-----------------------------|--------------------------|-----------------------|---------------------------|---------------------------|
| Defecto                  | No síntesis         | Bloqueo en el procesamiento | Bloqueo en la regulación | Conductancia alterada | Síntesis reducida         | Defecto en la regulación  |
| Tipos de mutaciones      | marco de parada     | Sin sentido                 | Sin sentido              | Sin sentido           | Sin sentido               | Sin sentido               |
| Efecto sobre el fenotipo | Grave IPE, ARG, CLE | Grave IPE, ARG, CLE         | Grave IPE, ARG, CLE      | Leve SP, ARG-M, CLL   | Leve SP, ARG-M, CLL O CLE | Leve SP, ARG-M, CLL O CLE |

ARG: afectación respiratoria grave, ARG-M: afectación respiratoria grave-moderada, CLE: cloro en sudor elevado, CLL: cloro en sudor limite.

### 2.3.1.12 Farmacogenética en FQ

Durante enero del 2012, se creó el primer medicamento dirigido a la solución de los defectos básicos de CFTR. Dentro del desarrollo de los fármacos reparadores de la proteína CFTR, se han identificado tres grupos principales:<sup>43</sup>

El primer grupo, son efectivos para la mutación de clase I, los cuales consiguen que no se identifique el codón de terminación prematuro, continuando así la síntesis completa de la proteína. El segundo grupo, son llamados correctores del CFTR y están diseñados para las mutaciones de clase II, corrigen el defecto del plegamiento de la proteína permitiendo que tenga una función casi normal. El tercer grupo, son conocidos como potenciadores del CFTR y están diseñados para las mutaciones de la clase III a la VI, tienen como diana la proteína CFTR y el objetivo que persiguen es mejorar su función.<sup>43</sup>

- Tratamiento para las mutaciones clase I:

Alrededor de un 10% de los pacientes presentan este tipo de mutación, predominando en pacientes descendientes de judíos. Los primeros fármacos utilizados para esta clase de mutación fueron los aminoglucósidos, los cuales se unen al ARN procariota o eucariota disminuyendo la exactitud de la traducción, de esta forma el número de errores aumenta ocultando el codón de parada prematuro que evita la síntesis de la proteína CFTR, englobando esta capacidad la gentamicina. Esto se consigue insertando un aminoácido que permita a los ribosomas continuar la lectura del gen para producir una proteína de longitud completa.<sup>43</sup>

Estudios preclínicos demostraron que *in vitro* se podría recuperar la función de la proteína en un 35%. La administración intravenosa de gentamicina en pacientes con FQ presentó una respuesta positiva sin embargo no es universal el beneficio, sumado a esto la toxicidad renal y ototoxicidad de los aminoglucósidos es desfavorable. Hay una alternativa sintética constituida por un compuesto oral no aminoglucosídico, el ataluren, que es una molécula diseñada para que los ribosomas puedan saltarse el codón de parada prematuro obteniendo como resultado una proteína funcional. Su actividad farmacocinética se ha demostrado en modelo de animales y en estudios clínicos fase II.<sup>43</sup>

En el 2012 se llevó a cabo la Conferencia Americana de FQ en donde publicaron los siguientes resultados luego del uso del ataluren en ensayo clínico fase III, el cual incluyó a un total de 238 pacientes mayores de 6 años, ambos sexos, quienes fueron aleatorizados para

tomar ataluren o un placebo cada 8 horas por 48 semanas, evidenciado que todos los participantes presentaron al menos una copia mutada, no hubo cambios en la calidad de vida, función pulmonar, exacerbación, niveles de Cl<sup>-</sup> en sudor o peso en los que tomaron ataluren. El ensayo clínico descubrió que los pacientes presentaban más daño renal. Por lo que decidieron indagar más y compararon que el uso de ataluren o el placebo afecta a los pacientes si usan o no tobramicina inhalada, evidenciando que los que no usaban tobramicina inhalada presentaban menos disfunción pulmonar y ocurrían menos exacerbaciones en el grupo que tomaba ataluren que el grupo del placebo.<sup>43</sup>

Por lo que no encontraron evidencia suficiente para determinar el efecto positivo en los pacientes con FQ tratados con ataluren.<sup>43</sup>

- Tratamiento para las mutaciones clase II:

Este grupo presenta el número más grande de pacientes debido a que incluye la mutación más frecuente, esto lo convierte en un objetivo primordial de investigación. En este grupo se está investigando un medicamento conocido como Ivacaftor, un fármaco para las mutaciones de clase III en pacientes homocigotos.<sup>43</sup>

Se compararon 4 ensayos clínicos en los que se comparó la eficacia de Ivacaftor frente a un placebo, se contó con la participación de 378 voluntarios. En 3 de ellos participaron 238 voluntarios con una copia en la mutación G551X y en el otro, 140 voluntarios con mutación en F508 presente en dos copias, durante 4 y 48 semanas. En ningún ensayo hubo mortalidad. Con la mutación G551X que recibieron Ivacaftor mostraron mejoría en la función pulmonar, pero solo los adultos mejoraron su calidad de vida, mientras que en la mutación F508 no mejoraron.<sup>43</sup>

La evidencia sugiere que Ivacaftor es un tratamiento efectivo para las personas mayores de 6 años con FQ que presentan mutación G551X. La ausencia de beneficio terapéutico con Ivacaftor en la mutación F508 hizo que se estudiara el fármaco lumacaftor, el cual es el mejor candidato, debido a que aumenta el tiempo de apertura y la conducción de Cl<sup>-</sup> a través de las células epiteliales y la mejoría de la mutación podría darse con la combinación de ambas moléculas. Estudios *in vitro* evidencian que el uso de Lumacaftor aumenta el transporte de Cl<sup>-</sup> en un 15% y si se le añade Ivacaftor aumenta casi un 30% el transporte de Cl<sup>-</sup> en pacientes con mutación F508.<sup>43</sup>

Se realizaron dos ensayos clínicos, TRAFFIC y TRANSPORT, en pacientes de 12 años o mayores con mutación F508 para valorar el tratamiento combinado de Lumacaftor e Ivacaftor. Las variables que utilizaron fueron: función pulmonar en 24 semanas, IMC, frecuencia de exacerbaciones respiratorias y la calidad de vida, encontrando los siguientes resultados: la función pulmonar se incrementó entre 2.6% a 4% en el grupo tratado con ambos fármacos frente al tratado con placebo. Clínicamente fue más significativa la reducción de 30 a 39% de las exacerbaciones pulmonares en el grupo tratado con ambos fármacos comparado con el placebo. El IMC aumentó un valor absoluto de 0.24 a 0.28 kg/m<sup>2</sup> en pacientes tratados con ambos fármacos. Debido a estos resultados, en el año 2016, la Food and Drugs Administration (FDA) y la European Medicines Agency (EMA) aprobaron el uso de ambos medicamentos combinados en mayores de 12 años para la mutación F508.<sup>43</sup>

Tezacaftor es otro compuesto que se encuentra en estudio, tiene como objetivo restaurar la función del gen CFTR moviendo la proteína a la posición correcta en la superficie celular, su eficacia combinada con Ivacaftor se está ensayando.<sup>43</sup>

- Tratamiento para mutaciones clase III:

Basados en las mejoras del transporte de Cl<sup>-</sup> usando Ivacaftor en pacientes con mutación G551X, se han realizado dos ensayos clínicos: STRIVE realizado en 144 pacientes de 12 años o más y ENVISION realizado en 52 niños de entre 6 y 11 años. Luego de 48 semanas de tratamiento se les ofreció que participaran en un estudio abierto longitudinal, PERSIST, durante 96 semanas.<sup>43</sup>

En el estudio STRIVE los pacientes presentaron una mejoría de 10.6% en la función pulmonar, se observó una disminución en la concentración de Cl<sup>-</sup> en sudor, aumento del peso de 2.7 kg, mejora en la calidad de vida y disminución en un 55% de las exacerbaciones.<sup>43</sup>

El estudio ENVISION es similar en adolescentes y adultos con la diferencia de que la calidad de vida no tiene significancia. Los resultados del estudio PERSIST revelan mejoría en la función pulmonar, síntomas respiratorios y aumento de peso en pacientes tratados con Ivacaftor.<sup>43</sup>

Para otras mutaciones diferentes a G551X, se realizó el estudio KONNECTION, presentando resultados similares a los estudios mencionados anteriormente, utilizándose Ivacaftor en 8 mutaciones diferentes, una novena mutación que es de clase IV presenta la

aprobación para el tratamiento con Ivacaftor, así como en otros potenciadores de CFTR que están en desarrollo, tales como QBW-251 y GLPG1837.<sup>43</sup>

#### 2.3.1.13 Reacción en cadena de polimerasa (PCR)

La PCR es un sistema que permite obtener en pocas horas varios millones de copias de una secuencia blanco de ADN. La reacción se lleva a cabo dentro de un tubo de ensayo y comprende varios ciclos, que incluyen a su vez tres pasos. La mezcla de la reacción consta de una pequeña muestra de ADN que se utiliza como molde y que se puede obtener de tejidos frescos o de aquellos que han estado guardados en parafina. En adición, se necesita oligonucleótidos que actúen como cebadores, ADN polimerasa termoestable, desoxirribonucleotidos, que se utilizan como sustratos para copiar las cadenas nuevas a partir del molde, y un amortiguador que se encarga de estabilizar la reacción.<sup>44</sup>

El primer ciclo de la reacción, conocido como desnaturalización, consiste en separar las dos cadenas de la molécula de ADN a una temperatura entre 94°C y 96°C, aplicada durante 1 min. A continuación, se produce el anillamiento o hibridación de los cebadores con las secuencias complementarias del ADN, los cebadores son oligonucleótidos sintéticos que delimitan el sitio que se busca amplificar y se anillan a temperaturas que oscilan entre 50°C y 65°C. El último ciclo o ciclo de extensión, toma 1 min a 72°C, lo que permite a la ADN polimerasa sintetizar las nuevas hebras de ADN, que serán complementarias a las cadenas originales. A medida que avanza el proceso se logra amplificar el segmento deseado unas 10<sup>7</sup> veces.<sup>44</sup>

#### 2.3.1.14 Sistema de mutación refractario a la amplificación por PCR (ARMS-PCR)

El sistema ARMS, es una aplicación de la técnica PCR en donde el ADN es amplificado por cebadores específicos para alelos. Esta técnica requiere del diseño y construcción de oligonucleótidos alelo-específicos a los cuales se les añade intencionalmente una mutación en los primeros nucleótidos del extremo 3' para crear desajustes o errores entre las bases no complementarias. La presencia de cambios intencionales de nucleótidos en el extremo 3' de los cebadores y el ADN permite una mayor especificidad y discriminación por parte de la Taq ADN-polimerasa, ya que ésta no tiene capacidad de corrección exonucleolítica 3'.<sup>45</sup>

Para el ARMS-PCR se requieren de tres cebadores. Un cebador es inespecífico ya que es complementario para los dos alelos en cuestión, mientras que los otros dos son alelos específicos. De manera que el oligonucleótido “normal” permite solo la polimerización sobre el ADN del alelo normal, pero no sobre el ADN mutado. Por otro lado, el oligonucleótido específico para el alelo mutado no se polimeriza para el ADN “normal” únicamente para el mutado, bajo condiciones normales para PCR,<sup>45</sup> el Kit Elucigene® CF-EU2v1 es un ejemplo de la aplicación de esta tecnología.

El procedimiento del método consiste en preparar dos mezclas de reacción para PCR, una para el alelo mutado y otra para el normal. De manera que los resultados que se obtienen de la reacción son dos productos de amplificación para un paciente heterocigoto, y si se observa un único producto de amplificación el paciente es homocigoto para un alelo.<sup>45</sup>

## **2.4 Marco conceptual**

- ADN: ácido desoxirribonucleico.<sup>46</sup>
- Alelo: cualquier forma alternativa de un gen que puede ocupar un locus cromosómico concreto.<sup>46</sup>
- ARN mensajero: moléculas de ARN, generalmente con una longitud de 400 a 10 000 bases, que sirve como molde para la síntesis de proteínas.<sup>46</sup>
- CFTR: proteína que tiene como función ser un regulador de los canales de Cl<sup>-</sup>.<sup>46</sup>
- Colonización: implantación y crecimiento de un microorganismo en el hospedador.<sup>46</sup>
- Daño pulmonar: afección en el parénquima pulmonar que disminuye su capacidad funcional.<sup>46</sup>
- Diagnóstico: determinación de la naturaleza de un caso de enfermedad.<sup>46</sup>
- Edad: tiempo que ha vivido una persona.
- Exón: secuencia codificadora para un gen.<sup>46</sup>
- Fenotipo: configuración física, bioquímica y fisiológica completa de un individuo, determinada por los factores genéticos y ambientales.<sup>46</sup>
- Fibrosis quística: trastorno autosómico recesivo de los lactantes, niños y adultos jóvenes en el que existe una disfunción generalizada de las glándulas exocrinas, con signos de enfermedad pulmonar crónica, deficiencia pancreática, concentraciones anormalmente elevadas de electrolitos en el sudor y, en ocasiones, cirrosis biliar.<sup>46</sup>

- Gen: segmento de una molécula de ADN que contiene toda la información necesaria para la síntesis de un producto, lo que comprende secuencias codificadas y no codificadas.<sup>46</sup>
- Genotipo: constitución genética completa de un individuo.<sup>46</sup>
- Heterocigoto: individuo con diferentes alelos para un carácter determinado.<sup>46</sup>
- Homocigoto: individuo que posee un par de alelos idénticos en un locus dado.<sup>46</sup>
- Índice de masa corporal: peso en kilogramos dividido por el cuadrado de la altura en metros; medición de la grasa del organismo que aporta una indicación del estado nutritivo.<sup>46</sup>
- Insuficiencia: incapacidad total o parcial de un órgano para realizar adecuadamente sus funciones.<sup>46</sup>
- Locus: posición que ocupa un gen en un cromosoma, existiendo diferentes formas de estos genes en la misma posición de cromosomas homólogos.<sup>46</sup>
- Microorganismo: organismo microscópico; entre los de interés médico destacan bacterias, hongos y protozoos.<sup>46</sup>
- Mutación: cambio en el material genético.<sup>46</sup>
- Nutrición: ingestión y metabolización de los alimentos y otros materiales nutritivos por un organismo.<sup>46</sup>
- Origen: patria, país donde alguien ha nacido o donde tuvo principio su familia.<sup>46</sup>
- Proteína: sustancia nitrogenada que se hallan en el organismo, tiene funciones de estructuras y de regulación.<sup>46</sup>
- PCR: tipo de amplificación rápida de ácidos nucleicos en secuencias específicas de ADN o ARN, que permite analizar sin clonación pequeñas cantidades de secuencias cortas.<sup>46</sup>
- Sexo: condición orgánica masculina o femenina.<sup>46</sup>
- Test del sudor: método por excelencia para el diagnóstico de fibrosis quística, determinación de la concentración de cloro en una muestra de sudor estimulado por iontoforesis por pilocarpina.<sup>35</sup>

## **2.5 Marco geográfico**

El siguiente estudio se realizará en la ciudad de Guatemala, esta se encuentra localizada en el área centro-sur del país, colinda al norte con los municipios de Mixco, Chimaltenango, al noreste con el municipio de Palencia, al suroccidente con Villa Nueva, posee una

extensión territorial de 996km. De acuerdo con el último censo realizado por el Instituto Nacional de Estadística (INE), la República de Guatemala cuenta con una población de 17 311 085 habitantes, y en la ciudad de Guatemala habitan 994 867 personas, correspondiendo al 5.75% de la población guatemalteca.<sup>47,48</sup>

## **2.6 Marco demográfico**

La población actual en el municipio de Guatemala según la proyección de población 2018 proporcionada por el INE, es de 994 867 habitantes, correspondiendo 531 385 al sexo femenino (53.41%) y 463 482 al sexo masculino (46.59%). La población actual menor de 18 años es de 359 781 lo que representa el 36.16% de la población total del municipio, de estos 242 425 (67.38%) corresponde a menores de 12 años y 11 7356 (32.62 %) corresponde a la edad de 13 a 18 años. La esperanza de vida al nacer en Guatemala según los indicadores sociodemográficos tiene una media de 72.5 años, distribuidos en 76.1 años y 69.2 años para mujeres y hombres respectivamente.<sup>47</sup>

En el municipio de Guatemala no se cuenta con información fehaciente sobre FQ, únicamente son de conocimiento público las tesis antes mencionadas, el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS) no ha reportado ningún estudio de investigación. Existe una asociación de FQ y una escuela para padres instituida por el IGSS que brindan apoyo a familias de pacientes con este padecimiento, sin embargo, no están enfocada en realizar investigación científica sobre esta afección.

## **2.7 Marco institucional**

En el presente estudio participarán diversas instituciones dentro de las cuales se encuentran:

- Hospital General San Juan de Dios, Roosevelt, General de Enfermedades –IGGS- y Liga del Pulmón Guatemala, ya que a nivel nacional están catalogados como centros de atención de tercer nivel y de referencia, pudiendo brindar atención integral al paciente al contar con varias especialidades que pueden diagnosticar y tratar a estos pacientes.
- Centro de investigaciones Biomédicas (CIB) de la Facultad de Ciencias Médicas USAC, el cual brindará las instalaciones adecuadas, equipo funcional y personal capacitado para poder desarrollar el estudio genético, el cual será guiado por el Dr. Gabriel Silva, Genetista Pediatra.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 General**

Determinar las características genéticas, epidemiológicas y clínicas de los pacientes pediátricos y adolescentes con diagnóstico de fibrosis quística de los hospitales: General San Juan de Dios, Roosevelt, General de Enfermedades del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social –IGSS- y Liga del Pulmón Guatemala de mayo a septiembre 2018.

#### **3.2 Específicos**

- 3.2.1 Establecer las características epidemiológicas según: edad, sexo y lugar de origen de los pacientes.
- 3.2.2 Determinar la mutación genotípica y clasificación del gen CFTR según su función proteica más frecuente de los pacientes.
- 3.2.3 Indicar características clínicas según: edad de diagnóstico, estado nutricional, colonización bacteriana, edad de colonización, tipo de agente microbiológico, daño pulmonar y función pancreática de los pacientes.



## **4. POBLACIÓN Y MÉTODOS**

### **4.1 Enfoque y diseño de la investigación**

#### **4.1.1 Enfoque**

Cuantitativo.

#### **4.1.2 Diseño**

Descriptivo, prospectivo de corte transversal.

### **4.2 Unidad de análisis y de información**

#### **4.2.1 Unidad de análisis**

Datos genéticos, epidemiológicos y clínicos registrados en el instrumento diseñado para la recolección de los datos.

#### **4.2.2 Unidad de información**

Pacientes pediátricos y adolescentes con diagnóstico de fibrosis quística que asistieron a la consulta externa de neumología de los hospitales: General San Juan de Dios, Roosevelt, General de Enfermedades –IGSS– y Liga del pulmón Guatemala.

### **4.3 Población y muestra**

#### **4.3.1 Población**

Pacientes pediátricos y adolescentes con diagnóstico de fibrosis quística que asistieron a la consulta externa de neumología de los hospitales: General San Juan de Dios, Roosevelt, General de Enfermedades –IGSS– y Liga del Pulmón Guatemala.

#### **4.3.2 Muestra**

Pacientes pediátricos y adolescentes con diagnóstico de fibrosis quística que asistieron a la consulta externa de neumología de los hospitales: General San Juan de Dios, Roosevelt, General de Enfermedades –IGSS– y Liga del Pulmón Guatemala que cumplieron con los criterios de selección.

##### **4.3.2.1 Marco muestral**

La unidad primaria fue la consulta externa de neumología de los hospitales: General San Juan de Dios, Roosevelt, General de Enfermedades –IGSS– y Liga del Pulmón Guatemala, y la unidad secundaria pacientes pediátricos y adolescentes con

diagnóstico de fibrosis quística. El número de pacientes que asistieron a cada uno de los hospitales se distribuyeron en nueve, tres, veinte y seis pacientes de estudio respectivamente.

#### 4.3.2.2 Tipo y técnica de muestreo

No probabilístico por conveniencia.

### 4.4 Selección de sujetos de estudio

#### 4.4.1 Criterios de inclusión

- Pacientes con diagnóstico de fibrosis quística, con prueba de cloruros en sudor positiva, con un valor de  $\text{Cl}^-$  mayor de 60mEq/L
- Pacientes de 0 a 18 años de edad
- Pacientes de sexo femenino y masculino
- Pacientes cuyos padres aceptaron que sus hijos fueran parte del estudio
- Pacientes mayores de edad que aceptaron formar parte del estudio
- Pacientes que asistieron a la consulta externa de neumología de los hospitales: General San Juan de Dios, Roosevelt, General de Enfermedades –IGSS– y Liga del Pulmón Guatemala
- Paciente que asistió con regularidad al servicio de consulta externa de neumología de los hospitales: General San Juan de Dios, Roosevelt, General de Enfermedades –IGSS– y Liga del Pulmón Guatemala en un periodo no mayor de 6 meses.

#### 4.4.2 Criterios de exclusión

- Padre/tutor y paciente que no firmó el consentimiento y asentimiento informado
- Pacientes que no acudieron a la toma de muestra sanguínea
- Pacientes a quienes luego de una punción no se logró obtener la muestra sanguínea.
- Pacientes cuya muestra sanguínea fue insuficiente

#### 4.5 Definición y operacionalización de variables

| MACRO VARIABLE            | VARIABLE            | DEFINICIÓN CONCEPTUAL                                      | DEFINICIÓN OPERACIONAL                                                           | TIPO DE VARIABLE | ESCALA DE MEDICIÓN | CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN/ UNIDAD DE MEDIDA |               |
|---------------------------|---------------------|------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------|------------------|--------------------|----------------------------------------------|---------------|
| CARÁCTERÍSTICAS GENÉTICAS | Mutación genotípica | Cambio permanente en la estructura del ADN <sup>46</sup> . | Se observará al utilizar el kit Elucigene® CF-EU2v1 para detectar 50 mutaciones. | Categórica       | Nominal            | W1282X                                       | N1303K        |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | CFTRdele2,3,                                 | S549N         |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | E60X                                         | G551D         |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | P67L                                         | R553X         |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | G85E                                         | R560T         |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | 394delTT                                     | 1811+1.6kbA>G |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | 444delA                                      | 1898+1G>A     |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | R117C                                        | 2143delT      |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | R117H                                        | 2184delA      |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | Y122X                                        | 2347delG      |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | 621+1G>T                                     | W846X         |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | 711+1G>T                                     | 2789+5G>A     |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | L206W                                        | Q890X         |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | 1070delT                                     | 3120+1G>A     |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | R334W                                        | 3272-26A>G    |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | R347P                                        | R1066C        |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | R347H                                        | Y1092X        |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | A455E                                        | M1101K        |
|                           |                     |                                                            |                                                                                  |                  |                    | I507del                                      | D1152H        |

|                          |                                                                 |                                                                                                   |                                                                               |            |          |                      |              |
|--------------------------|-----------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|------------|----------|----------------------|--------------|
|                          |                                                                 |                                                                                                   |                                                                               |            |          | F508del              | R1158X       |
|                          |                                                                 |                                                                                                   |                                                                               |            |          | 1677delTA            | R1162X       |
|                          |                                                                 |                                                                                                   |                                                                               |            |          | V520F                | 3659delC     |
|                          |                                                                 |                                                                                                   |                                                                               |            |          | 17171-1G>A           | 3849+10kbC>T |
|                          |                                                                 |                                                                                                   |                                                                               |            |          | G542X                | S1251N       |
|                          |                                                                 |                                                                                                   |                                                                               |            |          | S549R                | 3905insT     |
|                          | Clasificación de mutaciones del gen CFTR según función proteica | Cambios presentados sobre la proteína CFTR. <sup>41</sup>                                         | Se obtuvo mediante el resultado de la mutación genética.                      | Categórica | Nominal  | Clase I a VI         |              |
| CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS | Edad de diagnóstico                                             | Edad en años o meses cumplida en la que se confirmó el diagnóstico. <sup>46</sup>                 | Edad en que se encontraban los pacientes al confirmar el diagnóstico de FQ.   | Numérica   | Discreta | Edad en meses y años |              |
|                          | Edad de colonización                                            | Edad en años o meses en la que se presentó colonización bacteriana por primera vez. <sup>46</sup> | Edad de los pacientes al detectar la primera infección por agente microbiano. | Numérica   | Discreta | Edad en meses y años |              |

|  |                           |                                                                                        |                                                                                       |            |         |                                                                    |
|--|---------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------|------------|---------|--------------------------------------------------------------------|
|  | Daño pulmonar             | Afección en el parénquima pulmonar que disminuye su capacidad funcional. <sup>46</sup> | Se obtuvo mediante puntaje radiológico de Brasfield.                                  | Categórica | Nominal | Con o sin daño y clasificación del daño en leve, moderado o severo |
|  | Insuficiencia pancreática | Incapacidad del páncreas de producir y/o transportar enzimas digestivas. <sup>46</sup> | Se obtuvo a través de los valores de esteatorrea reportados en el expediente clínico. | Categórica | Nominal | Si, No                                                             |
|  | Peso corporal             | Masa del cuerpo en kilogramos. <sup>49</sup>                                           | Se obtuvo al colocar al paciente en una balanza.                                      | Numérica   | Razón   | Kg                                                                 |
|  | Talla                     | Estatura o altura de la persona. <sup>49</sup>                                         | Se obtuvo utilizando tallímetro o infantómetro según corresponda.                     | Numérica   | Razón   | Metros                                                             |

|  |                    |                                                                                                                                                                                                       |                                                                                                                            |            |         |                                                                                 |
|--|--------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|---------|---------------------------------------------------------------------------------|
|  | Estado nutricional | Condición del organismo que resulta de la relación entre las necesidades nutritivas individuales y la ingestión, absorción y utilización de los nutrientes contenidos en los alimentos. <sup>46</sup> | Se categorizó a través de percentiles de IMC por medio de WHO Antro y WHO Antro plus.                                      | Categórica | Ordinal | Adecuado, en riesgo potencial y desnutrición                                    |
|  | Microorganismo     | Agente microscópico que produce enfermedades. <sup>46</sup>                                                                                                                                           | Se obtuvo del resultado de los últimos dos cultivos de esputo o aspirado nasofaríngeo reportados en el expediente clínico. | Categórica | Nominal | Nombre del microorganismo presente en cultivo de esputo o aspirado nasofaríngeo |

|                                    |                 |                                                                  |                                                                          |            |          |                            |
|------------------------------------|-----------------|------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|------------|----------|----------------------------|
| CARACTERÍSTICAS<br>EPIDEMIOLÓGICAS | Edad            | Tiempo que ha<br>vivido una<br>persona. <sup>49</sup>            | Edad en años o<br>meses que<br>indique el<br>padre/tutor o<br>paciente.  | Numérica   | Discreta | Edad en meses y años       |
|                                    | Sexo            | Condición<br>orgánica,<br>masculina o<br>femenina. <sup>49</sup> | Tomado del<br>expediente.                                                | Categórica | Nominal  | Masculino<br>Femenino      |
|                                    | Lugar de origen | Lugar donde<br>una persona<br>nació. <sup>49</sup>               | Lugar de<br>procedencia<br>indicado por el<br>padre/tutor o<br>paciente. | Categórica | Nominal  | Departamentos de Guatemala |

## 4.6 Recolección de datos

### 4.6.1 Técnicas

#### 4.6.1.1 Entrevista a padres/tutor o sujeto de estudio y toma de medidas antropométricas

- Se brindó el consentimiento y asentimiento informado (ver anexo 1 y 2), el cual debió ser firmado previa recolección de datos y toma de muestra sanguínea
- Se llevó a cabo una entrevista por medio de una boleta recolectora de datos elaborada por los investigadores con los padres/tutores o el sujeto de estudio en caso de ser mayor de edad (ver anexo 3)
- Se tomaron medidas antropométricas para evaluar el estado nutricional
- Revisión de expediente clínico.

#### 4.6.1.2 Obtención de muestra sanguínea

- Se colocó al paciente en decúbito supino sobre una camilla
- Se tomó una torunda pequeña de algodón
- Se le aplicó alcohol a la torunda de algodón
- Se realizó asepsia con la torunda de forma circular, de adentro hacia afuera en el pliegue del codo o dorso de la mano del sujeto de estudio de acuerdo al área donde se realizó la punción
- Se esperó 30 segundos (s) para que el área de punción secase
- Se tomó una muestra de tres centímetros cúbicos (cc) de sangre periférica venosa del pliegue del codo o dorso de la mano del sujeto de estudio utilizando una jeringa descartable de 3cc con aguja No. 22, por parte de los investigadores
- Se procedió a rotular con un lapicero punto fino negro el tubo de EDTA K2 con el código correlativo correspondiente a cada sujeto de estudio, asignado por el investigador
- Se introdujo en el tubo de EDTA K2 la muestra obtenida durante la punción
- Se almacenó en una hielera de forma vertical y se transportó CIB de la Facultad de Ciencias Médicas USAC, ubicado en 9na avenida zona 11, Ciudad de Guatemala.
- Se procedió a extraer ADN de la muestra sanguínea por personal capacitado, dirigido por el Dr. Gabriel Silva, Genetista Pediatra.
- Una vez obtenido el ADN, fue enviado al Hospital Universitario INSELSPITAL de Berna, Suiza para el análisis e identificación de mutaciones genéticas.

#### 4.6.1.3 Obtención de ADN

- Se agitó suavemente el tubo de EDTA K2 que contenía la muestra sanguínea hasta que esté bien mezclado<sup>50</sup>
- Se colocó un volumen de muestra sanguínea de 1 mililitros (ML) a un tubo estéril de 15 ml marca Falcon®, se agregó 3 ml de solución de lisis celular<sup>50</sup>
- Se procedió a incubar la mezcla durante 10 min a temperatura ambiente invirtiendo de 2 a 3 veces durante la incubación para lisar los glóbulos rojos<sup>50</sup>
- Se centrifugó a 5000 revoluciones por minuto (R.P.M) durante 10 min a temperatura ambiente<sup>50</sup>
- Se decantó tanto sobrenadante cómo fue posible sin perturbar el sedimento blanco visible aproximadamente 50-100 microlitros (µL) de líquido residual permanecieron en el tubo de Falcon®<sup>50</sup>
- Se agitó vigorosamente el tubo en un vortex por 10-15s hasta que los glóbulos blancos se volvieron a suspender<sup>50</sup>
- Se agregó 2 ml de solución de lisis nuclear al tubo que contenía las células suspendidas<sup>50</sup>
- Se agitó en un vortex durante 10s para lisar los glóbulos blancos<sup>50</sup>
- La mezcla se incubó a 37°C durante 15 min, y se enfrió a temperatura ambiente<sup>50</sup>
- Se agregaron 500 µL de solución de precipitación de proteínas al lisado nuclear, y se mezcló en vortex durante 10-20s.<sup>50</sup>
- La muestra se centrifugó a 5000 RPM durante 10 min a temperatura ambiente<sup>50</sup>
- Se transfirió el sobrenadante a un tubo de centrífuga de 2 ml marca Eppendorf® que contenía 600 µL de isopropanol a temperatura ambiente<sup>50</sup>
- Se mezcló suavemente la solución por inversión hasta que se observaron las hebras blancas de ADN, luego se centrifugó esta solución a 12 000 × gravedades (G) durante 3 min a temperatura ambiente<sup>50</sup>
- Se decantó el sobrenadante y se agregó un volumen de 800 µL de etanol al 70% a temperatura ambiente al ADN, invirtiendo suavemente el tubo varias veces para lavar el sedimento de ADN y los lados del tubo de microcentrífuga<sup>50</sup>
- Se centrifugó la solución a temperatura ambiente a 12 000 × g por 2 min<sup>50</sup>
- Se decantó con cuidado el etanol y se invirtió el tubo sobre papel absorbente limpio y se dejó secar al aire durante 10-15 min<sup>50</sup>

- Por último, se añadieron 85 µl de solución de rehidratación de ADN al tubo, incubándolos a 60°C durante 15 min, y se almacenó el ADN a 2-8°C, en tubos Eppendorf®<sup>50</sup>

#### 4.6.1.4 Cuantificación de concentración ADN

- En un tubo de Eppendorf® de 2ml se preparó la solución de trabajo, se agregó 199 µl de *buffer* y 1 µl de dimetilsulfóxido para cuantificar cada muestra<sup>51</sup>
- En otro tubo Eppendorf® de 0.5ml se agregó 190 µl de la solución de trabajo y 10 µl del estándar no.1 que contiene el Kit<sup>51</sup>
- En otro tubo Eppendorf® de 0.5ml se agregó 190 µl de la solución de trabajo y 10 µl del estándar no.2 que contiene el Kit<sup>51</sup>
- Se prepararon tubos de Eppendorf® de 0.5ml donde se colocaron 197 µl de la solución de trabajo y 3 µl del ADN extraído de cada una de las muestras<sup>51</sup>
- Se agitó el tubo en vortex por 3 seg<sup>51</sup>
- Se calibró el Qubit 3.0 con ambas soluciones estándar<sup>51</sup>
- Se procedió a la cuantificación de concentración de ADN de las muestras<sup>51</sup>

#### 4.6.1.5 Comprobación de ADN por Beta-globina (β-GLOBINA)

##### A. PCR

- Se colocó en un tubo Eppendorf® de 2 ml 480 µl de solución Gotaq green Master Mix, 256 µl de agua grado molecular, 1 µl de cebado A PCO4 y 1 µl de cebador B GH2O
- Se rotuló 1 tubo Eppendorf® de 0.2 ml para cada una de las 32 muestras de ADN
- Se procedió a colocar 23 µl de la solución previamente realizada y 2 µl de cada muestra de ADN
- Se procedió a colocar las muestras en el Termociclador para llevar a cabo PCR programado con un precalentamiento de 5 min a 94°C, desnaturalización por 50s a 94°C, alineamiento por 55s a 56°C, extensión por 55s a 72°C y elongación final por 7 min a 72°C, todos estos procesos fueron llevados a cabo por 35 ciclos.

##### B. Preparación del gel de agarosa

- En un vaso de precipitado se agregaron 2 gramos de agarosa en polvo y 75 ml de *buffer* Tris Base (TBE) 1x
- El vaso de precipitado se calentó durante 1 min y 13s en el horno microondas

- Luego se agregó 9 µl de bromuro de etidio como agente intercalante para teñir las bandas
- La mezcla se colocó en el molde que contenía un peine para marcar diez pocillos
- Se introdujo a refrigeración durante 3 min

#### C. Electroforesis

- Se procedió a colocar un marcador de peso molecular en el pocillo no.1
- En el pocillo no.2 se colocó el control positivo
- En el pocillo no.3 se colocó el control negativo
- En cada uno los pocillos del no.4 al 10 se colocó una muestra
- Los amplicones fueron sometidos a electroforesis durante 35 min a 135 voltios y 400 MA
- Por último, se colocó el gel de agarosa bajo luz ultravioleta (ver anexo 4, figuras 2 a 6)

#### 4.6.2 Procesos

- Se informó al jefe de pediatría de cada uno de los hospitales: General San Juan de Dios, Roosevelt y General de Enfermedades –IGSS- y Liga del Pulmón Guatemala sobre el tema de investigación que se llevó a cabo
- Cada uno de los jefes de departamento asignó a un asesor institucional interno quien nos acompañó durante la recolección de datos
- Se habló con el director de cada hospital solicitando el apoyo para realizar la recolección de datos y se les solicitó cartas de autorización para dicho proceso
- Se asistió a la consulta externa de neumología de los hospitales General San Juan de Dios, Roosevelt, General de Enfermedades -IGSS- y Liga del Pulmón Guatemala donde se les informó a los padres/tutores y pacientes sobre la investigación
- Si los padres/tutor o paciente mostraron interés en participar en el estudio, se les brindó un consentimiento y asentimiento informado a cada uno de ellos
- Al contar con el consentimiento y asentimiento informado, se procedió a realizar la entrevista por medio de una boleta de recolección de datos, toma de medidas antropométricas, revisión de expediente clínico y extracción de muestra sanguínea

- La muestra se transportó al CIB de la Facultad de Ciencias Médicas USAC, donde se llevó a cabo la extracción de ADN bajo supervisión del Dr. Gabriel Silva, Genetista Pediatra
- Se envió el ADN extraído al hospital INSELSPITAL, Hospital Universitario de Berna, Suiza para la identificación de la mutación genotípica.
- Al contar con la interpretación del resultado, se llevó a cabo una reunión en la consulta externa de neumología de cada uno de los hospitales para que, en conjunto con el asesor interno se brindara de manera escrita, al padre/tutor o paciente el resultado de la prueba.

#### 4.6.3 Instrumentos

Boleta de recolección de datos elaborada por los investigadores, en la cual se les asignó a los hospitales un código: General San Juan de Dios “HGSJDD”, Roosevelt “HR”, General de Enfermedades -IGSS- “IGSS” y Liga del Pulmón Guatemala “LP” seguido de un número correlativo.

La boleta de recolección de datos se diseñó de la siguiente manera:

##### Sección I: Características epidemiológicas:

- Nombre completo
- Sexo
- Edad
- Lugar de origen.

##### Sección II: Características genéticas:

- Mutación genotípica
- Clasificación de mutaciones del gen CFTR según función proteica

##### Sección III: Características clínicas:

- Edad de diagnóstico
- Peso
- Talla
- IMC
- Estado nutricional

- Colonización bacteriana
- Edad de colonización
- Daño pulmonar
- Insuficiencia pancreática
- Prueba de Cl<sup>-</sup> en sudor.

#### 4.7 Procesamiento y análisis de los datos

##### 4.7.1 Procesamiento de datos

- Se ordenaron las boletas de recolección de datos de cada uno de los hospitales
- Se verificó que cada una de las boletas de recolección de datos estuvieran debidamente identificadas y llenas en su totalidad
- Los datos obtenidos fueron tabulados de manera manual unificando los datos de las cuatro instituciones
- Se ingresaron a una base de datos digital utilizando el programa Microsoft Excel versión 2010, en el cual se codificó cada una de las variables incluidas en la boleta de recolección de datos.

##### 4.7.2 Análisis de datos

Se realizó un análisis descriptivo univariado, utilizando características epidemiológicas, genéticas y clínicas, para la representación de variables de naturaleza numérica se utilizaron medidas de tendencia central y desviación estándar y para las categóricas frecuencias y porcentajes por medio del programa estadístico SPSS versión 21 bajo licencia (ver anexo 6).

#### 4.8 Alcances y límites

##### 4.8.1 Obstáculos

La presente investigación tenía contemplado lo siguiente: que no se obtuviera el permiso de los hospitales para realizar la investigación, que el sujeto de estudio o padres/tutores del mismo decidieran no participar en la investigación al no firmar el consentimiento informado o se negaran a la extracción de la muestra sanguínea. Otro problema que se tenía contemplado es que al momento de procesar las muestras tanto el ADN como el equipo sufrieran daños y/o desperfectos y no se pudiera llevar a cabo el análisis de las mismas. Las mutaciones genéticas en FQ son diversas y representan altos costos, por lo que otro obstáculo fue el no poder realizar todos los tipos de mutaciones

existentes y poder llevar a cabo la secuenciación completa del gen CFTR en los pacientes en quienes no se logró identificar ninguna de las 50 mutaciones del kit utilizado.

Si se llegará a examinar a la misma población en otro momento, la muestra podría cambiar al diagnosticarse nuevos casos de FQ, así mismo pueden variar las manifestaciones clínicas relacionándolas con las características genéticas. De igual forma no se puede llegar a realizar inferencias de causalidad por el corto tiempo del estudio.

#### 4.8.2 Alcances

Con el presente estudio se logró conocer la mutación genotípica más frecuente de los pacientes con diagnóstico de fibrosis quística en Guatemala. Se tomó como base cincuenta alteraciones genéticas frecuentes a nivel mundial para poder tipificar a la población de estudio. Dicho estudio se llevó a cabo en los meses de mayo a julio del presente año en los hospitales: General San Juan de Dios, Roosevelt, General de enfermedades -IGSS- y Liga del Pulmón Guatemala.

El estudio transversal permitió obtener resultados a corto plazo, fue muy útil debido a que pudo aplicarse para realizar intervenciones a nivel de salud pública.

### 4.9 Aspectos éticos de la investigación

#### 4.9.1 Principios éticos generales

Al momento de llevar a cabo esta investigación no se realizó ninguna acción que atentara con la integridad del paciente. Se proporcionó al responsable legal un consentimiento informado y asentimiento informado respetando de esta manera el derecho de autonomía a participar libremente en este estudio. El anonimato del paciente y de su identidad fue respetado.

#### 4.9.2 Categoría ética

La presente investigación fue evaluada por el comité de Bioética de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala y se clasificó como Categoría II (riesgo mínimo) ya que se realizó extracción sanguínea únicamente.

## 5. RESULTADOS

Se presentan los datos de pacientes pediátricos y adolescentes con diagnóstico de fibrosis quística atendidos en la consulta externa de neumología de los hospitales de referencia nacional: General San Juan de Dios (9), Roosevelt (3), General de Enfermedades -IGSS- (20) y Liga del Pulmón Guatemala (6) durante los meses de mayo a septiembre de 2018.

**Tabla 5.1** Características epidemiológicas de pacientes pediátricos y adolescentes con fibrosis quística. **N=38**

| Características                  | f  | %     |
|----------------------------------|----|-------|
| <b>Edad (x̄; DE ) 8.5 ± 5.03</b> |    |       |
| menor a 1 año                    | 1  | 2.63  |
| 1 a 4                            | 9  | 23.68 |
| 5 a 9                            | 10 | 26.31 |
| 10 a 14                          | 12 | 31.57 |
| 15 a 18                          | 6  | 15.79 |
| <b>Sexo</b>                      |    |       |
| Femenino                         | 24 | 63.16 |
| Masculino                        | 14 | 36.84 |
| <b>Lugar de origen*</b>          |    |       |
| Región 1                         | 20 | 52.63 |
| Región 2                         | 1  | 2.63  |
| Región 3                         | 8  | 21.05 |
| Región 4                         | 2  | 5.26  |
| Región 5                         | 4  | 10.53 |
| Región 6                         | 2  | 5.26  |
| Región 7                         | 1  | 2.63  |
| Región 8                         | -  | -     |

\* Región 1: metropolitana, 2: Norte, 3: Nororiente, 4: Suroriente, 5: Central, 6: Suroccidente, 7: Noroccidente, 8: Petén.

**Tabla 5.2** Características genéticas de pacientes pediátricos y adolescentes con fibrosis quística. **N=38**

| <b>Características</b>   | <b>f</b> | <b>%</b> |
|--------------------------|----------|----------|
| <b>Mutación genética</b> |          |          |
| F508                     | 8        | 21.05    |
| S549N                    | 4        | 10.52    |
| G542X                    | 1        | 2.63     |
| 3120+1G>A                | 1        | 2.63     |
| R1162X                   | 1        | 2.63     |
| F508/S549N               | 5        | 13.15    |
| No identificada*         | 18       | 47.36    |
| <b>Clase</b>             |          |          |
| Clase I-III              | 20       | 52.63    |
| Clase IV-VI              | -        | -        |
| No identificada*         | 18       | 47.36    |

\* 4 no detectadas en el kit Elucigene® CF-EU2v1

**Tabla 5.3** Características clínicas de pacientes pediátricos y adolescentes con de fibrosis quística. **N=38**

| <b>Características</b>                           | <b>f</b> | <b>%</b> |
|--------------------------------------------------|----------|----------|
| <b>Edad de diagnóstico (x̄; DE ) 2.21 ± 3.12</b> |          |          |
| menor a 1 año                                    | 21       | 55.26    |
| 1 a 4                                            | 12       | 31.58    |
| 5 a 9                                            | 3        | 7.89     |
| 10 a 14                                          | 2        | 5.26     |
| 15 a 18                                          | -        | -        |
| <b>Estado nutricional</b>                        |          |          |
| Adecuado                                         | 16       | 42.11    |
| En riesgo potencial                              | 7        | 18.42    |
| Desnutrición                                     | 15       | 39.47    |
| <b>Colonización Bacteriana</b>                   |          |          |
| Si                                               | 34       | 89.47    |
| No                                               | 4        | 10.52    |

Continuación tabla 5.3

| <b>Edad de colonización (x̄; DE ) 2.19 años ± 2.90</b> |    |       |
|--------------------------------------------------------|----|-------|
| menor a 1 año                                          | 17 | 45.95 |
| 1 a 4                                                  | 15 | 40.54 |
| 5 a 9                                                  | 3  | 8.11  |
| 10 a 14                                                | 2  | 5.41  |
| 15 a 18                                                | -  | -     |
| <b>Microorganismo</b>                                  |    |       |
| <i>P. aeruginosa</i>                                   | 22 | 57.89 |
| <i>S. aureus</i>                                       | 6  | 15.79 |
| Mixto                                                  | 6  | 15.79 |
| No infectado                                           | 4  | 10.53 |
| <b>Daño pulmonar</b>                                   |    |       |
| Si                                                     | 34 | 89.47 |
| No                                                     | 4  | 10.52 |
| <b>Brasfield</b>                                       |    |       |
| Leve                                                   | 13 | 37.14 |
| Moderado                                               | 19 | 54.28 |
| Severo                                                 | 2  | 5.71  |
| <b>Insuficiencia pancreática</b>                       |    |       |
| Si                                                     | 32 | 84.21 |
| No                                                     | 6  | 15.78 |

**Tabla 5.4** Grupo etario en relación al sexo de pacientes pediátricos y adolescentes con FQ. **N=38**

| Edad del paciente | Sexo     |       |           |       |
|-------------------|----------|-------|-----------|-------|
|                   | Femenino |       | Masculino |       |
|                   | f        | %     | f         | %     |
| menor a 1 año     | -        | -     | 1         | 2.63  |
| 1 a 4             | 7        | 18.42 | 2         | 5.26  |
| 5 a 9             | 8        | 21.05 | 2         | 5.26  |
| 10 a 14           | 7        | 18.42 | 5         | 13.16 |
| 15 a 18           | 2        | 5.26  | 4         | 10.53 |

**Tabla 5.5** Descripción del estudio genético obtenido a través del uso del kit de Elucigene® CF-EU2v1 y secuenciación.**N=12**

| Código   | Nombre Clásico | P.HGVS    | C.HGVS            | #Exón/Intrón | Tipo de mutación              | Alelo* | Clase | Causante de enfermedad |
|----------|----------------|-----------|-------------------|--------------|-------------------------------|--------|-------|------------------------|
| LP1      | ΔF508          | Phe508del | c.1521_1523delCTT | E11          | Delección                     | HET    | II    | SI                     |
|          | S549N          | Ser549Asn | c.1646G>A         | E12          | Sin sentido                   | HET    | III   | SI                     |
|          | M470V          | Met470Val | c.1408A>G         | E11          | Polimorfismo                  | HET    | -     | NO                     |
| HR3      | ΔF508          | Phe508del | c.1521_1523delCTT | E11          | Delección                     | HET    | II    | SI                     |
|          | M470V          | Met470Val | c.1408A>G         | E11          | Polimorfismo                  | HET    | -     | NO                     |
| HR2      | S549N          | Ser549Asn | c.1646G>A         | E12          | Sin sentido                   | HOM    | III   | SI                     |
| HR1      | S549N          | Ser549Asn | c.1646G>A         | E12          | Sin sentido                   | HOM    | III   | SI                     |
| H6GSJDD9 | ΔF508          | Phe508del | c.1521_1523delCTT | E11          | Delección                     | HET    | II    | SI                     |
|          | S549N          | Ser549Asn | c.1646G>A         | E12          | Sin sentido                   | HET    | III   | SI                     |
|          | M470V          | Met470Val | c.1408A>G         | E11          | Polimorfismo                  | HET    | -     | NO                     |
| HGSJDD8  | 3120+1G>A      | -         | c.2988+1G>A       | I18          | Polimorfismo en un nucleótido | HET    | -     | SI                     |
|          | 3041-92G/A     | -         | c.2909-92G>A      | I17          | Polimorfismo en un nucleótido | HET    | -     | NO                     |
| HGSJDD6  | ΔF508          | Phe508del | c.1521_1523delCTT | E11          | Delección                     | HET    | II    | SI                     |
|          | S549N          | Ser549Asn | c.1646G>A         | E12          | Sin sentido                   | HET    | III   | SI                     |
| HGSJDD4  | G542X          | Gly542    | c.1624G>T         | E12          | Sin sentido                   | HET    | I     | SI                     |
| HGSJDD1  | ΔF508          | Phe508del | c.1521_1523delCTT | E11          | Delección                     | HET    | II    | SI                     |
|          | S549N          | Ser549Asn | c.1646G>A         | E12          | Sin sentido                   | HET    | -III  | SI                     |
|          | M470V          | Met470Val | c.1408A>G         | E11          | Polimorfismo                  | HET    | -     | NO                     |
| IGSS9    | ΔF508          | Phe508del | c.1521_1523delCTT | E11          | Delección                     | HET    | II    | SI                     |
|          | M470V          | Met470Val | c.1408A>G         | E11          | Polimorfismo                  | HET    | -     | NO                     |
| IGSS5    | ΔF508          | Phe508del | c.1521_1523delCTT | E11          | Delección                     | HET    | II    | SI                     |
|          | M470V          | Met470Val | c.1408A>G         | E11          | Polimorfismo                  | HET    | -     | NO                     |
| IGSS2    | ΔF508          | Phe508del | c.1521_1523delCTT | E11          | Delección                     | HET    | II    | SI                     |
|          | S549N          | Ser549Asn | c.1646G>A         | E12          | Sin sentido                   | HET    | III   | SI                     |
|          | M470V          | Met470Val | c.1408A>G         | E11          | Polimorfismo                  | HET    | -     | NO                     |

HET, heterocigoto; HOM, homocigoto. (ver anexo 5)

| <b>Tabla 5.6</b> Frecuencias genotípicas de pacientes con FQ. <b>N=24</b> |          |          |
|---------------------------------------------------------------------------|----------|----------|
| <b>Características</b>                                                    | <b>f</b> | <b>%</b> |
| <b>Mutación genotípica</b>                                                |          |          |
| F508/F508                                                                 | 1        | 4.14     |
| F508/OTRO                                                                 | 7        | 29.16    |
| F508/S549N                                                                | 5        | 20.83    |
| S549N/S549N                                                               | 2        | 8.83     |
| S549N/OTRO                                                                | 2        | 8.83     |
| G542X/OTRO                                                                | 1        | 4.17     |
| 3120+1G>A/OTRO                                                            | 1        | 4.17     |
| R1162X/OTRO                                                               | 1        | 4.17     |
| OTRO/OTRO*                                                                | 4        | 16.67    |

\*No identificado por el kit Elucigene® CF-EU2v1

| Tabla 5.7 Frecuencia de mutación genética y heterogeneidad del alelo en pacientes con FQ. |            |       |              |       |       | N=48  |
|-------------------------------------------------------------------------------------------|------------|-------|--------------|-------|-------|-------|
| Mutación genética                                                                         | Alelo      |       |              |       | Total | %     |
|                                                                                           | Homocigoto |       | Heterocigoto |       |       |       |
|                                                                                           | f          | %     | f            | %     |       |       |
| F508                                                                                      | 2          | 7.15  | 12           | 42.85 | 14    | 29.17 |
| S549N                                                                                     | 4          | 14.28 | 7            | 25    | 11    | 22.92 |
| G542X                                                                                     | -          | -     | 1            | 3.57  | 1     | 2.08  |
| 3120+1G>A                                                                                 | -          | -     | 1            | 3.57  | 1     | 2.08  |
| R1162X                                                                                    | -          | -     | 1            | 3.57  | 1     | 2.08  |
| No identificadas                                                                          | -          | -     | -            | -     | 20    | 41.66 |

**Tabla 5.8** Edad de colonización y daño pulmonar en pacientes pediátricos y adolescentes con de FQ. **N=37**

| <b>Edad de colonización</b> | <b>Daño pulmonar*</b> |          |           |          |
|-----------------------------|-----------------------|----------|-----------|----------|
|                             | <b>Si</b>             |          | <b>No</b> |          |
|                             | <b>f</b>              | <b>%</b> | <b>f</b>  | <b>%</b> |
| menor a 1 año               | 15                    | 40.54    | 2         | 5.2      |
| 1 a 4                       | 13                    | 35.13    | 2         | 5.2      |
| 5 a 9                       | 3                     | 8.10     | -         | -        |
| 10 a 14                     | 2                     | 5.4      | -         | -        |
| 15 a 19                     | -                     | -        | -         | -        |

\*1 con daño pulmonar sin registro de colonización bacteriana.

**Tabla 5.9** Clase de mutación relacionada con el daño pulmonar en pacientes pediátricos y adolescentes con FQ

**N=34**

| Clase de Mutación | Daño pulmonar* |       |          |       |        |      | Total | %     |
|-------------------|----------------|-------|----------|-------|--------|------|-------|-------|
|                   | Leve           |       | Moderado |       | Severo |      |       |       |
|                   | f              | %     | f        | %     | f      | %    |       |       |
| I-III             | 9              | 26.47 | 8        | 23.53 | 1      | 2.94 | 18    | 52.94 |
| IV-VI             | -              | -     | -        | -     | -      | -    | -     | -     |
| No Identificada   | 4              | 11.76 | 11       | 32.35 | 1      | 2.94 | 16    | 47.05 |

\*4 pacientes sin daño pulmonar

**Tabla 5.10** Heterogeneidad alélica relacionada con el daño pulmonar en pacientes pediátricos y adolescentes con FQ

**N=20**

| Alelo        | Daño pulmonar* |    |          |    |        |   |       |    |
|--------------|----------------|----|----------|----|--------|---|-------|----|
|              | Leve           |    | Moderado |    | Severo |   |       |    |
|              | f              | %  | f        | %  | f      | % | Total | %  |
| Homocigoto   | -              | -  | 2        | 10 | -      | - | 2     | 10 |
| Heterocigoto | 9              | 45 | 6        | 30 | 1      | 5 | 16    | 80 |

\*2 pacientes sin daño pulmonar

**Tabla 5.11** Clase de mutación relacionada con el daño pancreático en pacientes pediátricos y adolescentes con FQ.

**N=38**

| Clase de Mutación | Daño Pancreático |      |    |      | Total | %     |
|-------------------|------------------|------|----|------|-------|-------|
|                   | Si               |      | No |      |       |       |
|                   | f                | %    | f  | %    |       |       |
| I-III             | 16               | 42.1 | 4  | 10.5 | 20    | 52.63 |
| IV-VI             | -                | -    | -  | -    | -     | -     |
| No Identificada   | 16               | 42.1 | 2  | 5.26 | 18    | 47.36 |

## 6. DISCUSIÓN

Se estudiaron a 38 pacientes pediátricos y adolescentes con fibrosis quística quienes presentan una edad media de  $8.59 \pm 5.03$  años, dentro de los cuales se encuentra un único paciente con 18 años de edad; estudios refieren que la esperanza de vida en países en vías de desarrollo es cercana a la segunda década;<sup>52</sup> en la población hubo predominio del sexo femenino, 63.16% (24); así mismo, el 52.63% (20) fueron originarios de la región metropolitana.

Según el consorcio de análisis genético de fibrosis quística, la mutación F508 es la más frecuente a nivel mundial;<sup>2</sup> en Latinoamérica, el metaanálisis publicado en el JCF indica que en Argentina, Brasil y Chile la incidencia fue de 59.15%, 43.06% y 39.28% respectivamente.<sup>53</sup> Al equiparar estos datos con los encontrados en la presente investigación se detectó F508 en un 29.17% (14) de las 48 mutaciones encontradas, siendo ésta la mutación más frecuente en los sujetos de estudio, de ese porcentaje un 7.15% (2) fue homocigoto y 42.85% (12) fueron heterocigotos. Esto se puede atribuir a que en los últimos 500 años Latinoamérica se ha visto involucrada en mezclas de diferentes etnias, en muchos países se observan herencias europeas predominantemente españolas o portuguesas, lo cual ha ocasionado la aparición de esta enfermedad;<sup>53</sup> Guatemala no ha sido la excepción a esta mezcla, lo que explicaría la presencia de esta patología en la población.

Como es citado anteriormente, el JCF indica que en Latinoamérica la mutación G542X es la segunda en frecuencia<sup>53</sup>, lo cual contrasta con este estudio ya que la segunda mutación mayormente identificada fue S549N 22.92% (11), evidenciando que 14.28% (4) fueron homocigotos y 22.92% (11) fueron heterocigotos. La mutación S549N ha sido encontrada predominantemente en hispanos, afroamericanos y asiáticos<sup>55</sup> lo cual es similar a las características raciales de la población guatemalteca.

En una investigación realizada en Costa Rica se encontraron 19 genotipos del gen CFTR de los cuales, el 68.4% presentaron dos mutaciones conocidas y 26.3% con al menos una mutación determinada; únicamente estuvo presente un genotipo homocigoto G542X/G542X en dos individuos representando 3.92%.<sup>3</sup> En comparación con este estudio en donde se encontraron 9 genotipos, de ellos el 33.33% (3) manifestaron dos mutaciones conocidas y 55.55% (5) al menos una mutación conocida. La condición homocigota apareció

en 12.97% de los genotipos, F508/F508 y S549N/S549N con 1 y 2 sujetos respectivamente. Es importante mencionar que el genotipo OTRO/OTRO no hace alusión a una condición homocigota, sino que indica un genotipo no identificado en este estudio.

Un hallazgo relevante en esta investigación fue la identificación de las mutaciones M470V y 3041-92G/A, ambas no causantes de enfermedad, estas fueron localizadas en el exón 11 e intrón 17 respectivamente. Evidenciando un comportamiento inusual de las mutaciones genéticas en la población guatemalteca en contraste con lo publicado en el JCF en donde ambas mutaciones no fueron identificadas en la población latinoamericana.<sup>53</sup>

Se sabe que la toma de muestras para el tamizaje neonatal es de suma importancia para la identificación de fibrosis quística; la Asociación de Fibrosis Quística de México señala que contar con centros de atención especializados es útil para un diagnóstico y tratamiento temprano lo que proporciona un seguimiento oportuno a estos casos.<sup>52</sup> Un dato relevante en el actual estudio, es que la media de la edad de diagnóstico fue  $2.21 \pm 3.12$  años haciendo evidente el resultado positivo que ha generado la implementación de toma de muestras para tamizaje neonatal en Guatemala.

La Sociedad Argentina de Pediatría en el consenso nacional de fibrosis quística expone que proporcionar un seguimiento constante y eficaz por parte de especialistas en nutrición aunado a un tratamiento multidisciplinario en paciente con FQ mejora la calidad de vida de estos individuos.<sup>54</sup> Según el estado nutricional del paciente, en este estudio el 42.11% (16) fue adecuado a pesar de que, esta patología por su carácter crónico y limitante predispone a los afectados a un desgaste nutricional complejo. Sin embargo, el 39.47% (15) presenta desnutrición a pesar de los esfuerzos realizados por mantener al paciente en un estado óptimo.

En el registro latinoamericano de fibrosis quística reporta que, *P. aeruginosa* es el microorganismo más prevalente en la primera década de la vida y el causante de la mayoría de infecciones del tracto respiratorio en pacientes con fibrosis quística;<sup>53</sup> en el presente análisis el 80% (34) de los participantes se encontraban colonizados crónicamente, reportándose *P. aeruginosa* en el 57.89% (22) de los cultivos, estos datos que concuerdan con lo publicado por el registro.

Dentro de las afecciones clásicas de esta patología podemos encontrar: daño pulmonar e insuficiencia pancreática tal y como lo menciona el consenso nacional de fibrosis quística.<sup>11</sup> Se evidenció daño pulmonar en 89.47% (34) de los pacientes, correspondiendo el 54.28% (19) a daño moderado según la escala de Brasfield, e insuficiencia pancreática en un 84.21% (32).

González en su publicación de infecciones respiratorias en fibrosis quística hace referencia que al existir una colonización temprana, las bacterias se adhieren más ávidamente al mucus y a las células dañadas y por medio de proteasas dañan el epitelio pulmonar, causando deterioro progresivo de la FEV1.<sup>12</sup> En el análisis que se llevó a cabo con la información recabada, la edad de colonización presentó una media de  $2.19 \pm 2.90$  años y al relacionarla con el daño pulmonar este estudio demostró que quienes se colonizaron antes de cumplir un año de edad fueron propensos a desarrollar mayor daño pulmonar 40.54% (15).

El tratado de fibrosis quística menciona que la presencia de mutaciones de las clases I, II y III son consideradas como mutaciones severas que se asocian a un peor pronóstico en cuanto a la progresión de la patología respiratoria, sin embargo, el presentar una mutación heterocigota es un factor protector en la conservación de la función pulmonar a pesar de ser considerada como una mutación severa; estas mismas clases de mutaciones producen igualmente insuficiencia pancreática desde el nacimiento o de aparición temprana;<sup>56</sup> esto se logró corroborar al relacionar las clases de mutación del gen CFTR según su función proteica con el daño pulmonar, observándose predominio del daño pulmonar leve 26.47% (9) y así como también predominó esta clase de daño en pacientes que presentaban una mutación heterocigota 45% (9); en las clases I a III también se observó insuficiencia pancreática en el 42.1% (16).

En este estudio 8 de los pacientes contaban con un diagnóstico genético realizado previamente en el –IGSS–, se decidió incluirlos en esta investigación con motivo de tener un mejor panorama de la situación actual de la enfermedad en Guatemala; para el resto de muestras se utilizó el kit comercial Elucigene CF-EU2v1 el cual identifica 50 mutaciones genéticas a nivel mundial. En 16 muestras se llevó a cabo el análisis genético logrando identificar: 2 resultados homocigotos única mutación, 5 heterocigotos para 2 mutaciones, 5 heterocigotos única mutación y en 4 muestras no se logró identificar ninguna de las 50 mutaciones que detecta el kit. Se hace la aclaración que en 14 muestras no se detectó

mutación genotípica, probablemente debido a almacenamiento de la muestra sanguínea, extracción del ADN, transporte y/o manejo posterior del material genético, causando fragmentación del mismo, lo que impidió su análisis.

Entre las fortalezas del estudio podemos mencionar que se logró la aprobación del mismo a través del comité de ética del Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos, siendo éste un estudio categoría II, así mismo, se logró realizar un vínculo con la Universidad de Berna con el cual se pudo realizar la detección de 50 mutaciones genéticas en lugar de tres mutaciones como se había propuesto al inicio del estudio. Se obtuvo una población mayor en comparación con otros estudios de fibrosis quística reportados anteriormente. Debido a que los padres reconocen la importancia de un diagnóstico genético accedieron a participar en el estudio. Se generó mayor conocimiento acerca del factor genético de esta patología en el país y se recalcó la importancia de continuar con estudios de esta índole.

Entre las debilidades se encuentra el alto costo del estudio y el difícil acceso a los diversos métodos para llevar a cabo el análisis genético, además en la Facultad de Ciencias Médicas aún existe un déficit de equipo para poder llevar a cabo todos los procedimientos de este tipo de investigación, por lo que no se contaba con lo necesario para realizar la secuenciación completa del gen CFTR. Así mismo debido al costo que representa en los hospitales de referencia nacional la realización de espirometría no fue posible evaluar el daño pulmonar mediante este estudio. No se tomó en cuenta a la población adulta por lo que no se abarco a la totalidad de los pacientes con FQ en el país.

## 7. CONCLUSIONES

- 7.1 Los pacientes pediátricos y adolescentes con diagnóstico de fibrosis quística presentan una media de edad de 8.5 años, en su mayoría de sexo femenino y originarios de la región metropolitana.
- 7.2 Se identificaron 5 tipos de mutaciones, la más frecuente corresponde a F508 y en la clasificación de mutaciones del gen CFTR según función proteica, la más destacada es la clase II. Englobando a la población de estudio en mutaciones genéticas de fenotipo severo.
- 7.3 Los heterocigotos compuestos fueron los genotipos más comunes en nuestra población; el genotipo F508/S549N fue la combinación más común entre los pacientes.
- 7.4 Un 25% de las muestras analizadas, no se encuentran dentro de las 50 mutaciones más frecuentes a nivel mundial, además se encontró dos mutaciones no causantes de enfermedad.
- 7.5 La media de la edad de diagnóstico es de 2.21 años, en cuanto al estado nutricional 42.11% es adecuado y 39.47% está en desnutrición.
- 7.6 Desde el primer año de vida los pacientes se encuentran colonizados crónicamente, siendo *P. aeruginosa* el principal microorganismo; la mayoría presentó afección pulmonar en grado moderado e insuficiencia pancreática.



## **8. RECOMENDACIONES**

### **A la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de San Carlos de Guatemala:**

- 8.1 Adquirir equipo, mobiliario e insumos para la realización de diagnóstico genético de Fibrosis Quística en el Centro de Investigaciones Biomédicas.
- 8.2 Difundir información acerca del programa de ayuda becaria para tesis de grado.
- 8.3 Continuar apoyando la investigación científica a través de las becas otorgadas por la Dirección General de Investigación.

### **A la Coordinación de Trabajo de Gradación y futuros investigadores:**

- 8.4 Fomentar en los estudiantes el interés por estudios científicos en enfermedades raras, poco frecuentes.
- 8.5 Promover en los estudiantes estudios de seguimiento.
- 8.6 Incentivar a la comunidad estudiantil para la divulgación de resultados.
- 8.7 Brindar mayor información acerca del financiamiento en trabajos de grado desde el primer año de la carrera universitaria.
- 8.8 Continuar con el análisis de las muestras no identificadas y además realizar secuenciación del gen para determinar otros genotipos.
- 8.9 Impulsar la realización de estudio genético a los padres de los pacientes con la finalidad de determinar el origen de la herencia genética.
- 8.10 Investigar árbol genealógico de pacientes con fibrosis quística y realizar marcadores ancestrales para descubrir la mezcla que originó la mutación.

### **A los Hospitales: General San Juan de Dios, Roosevelt, General de Enfermedades y Liga del Pulmón Guatemala y personal sanitario:**

- 8.11 La creación de una unidad específica para el diagnóstico y seguimiento de pacientes con enfermedades raras con énfasis en FQ, en la cual se pueda llevar un registro sistematizado de los pacientes, para brindar un diagnóstico temprano y certero y ofrecerles un manejo multidisciplinario, además de brindar consejo genético a las padres y tomar de modelo la escuela para padres de pacientes con fibrosis quística del Hospital General de Enfermedades y en las otras instituciones iniciar dicha escuela para fomentar en los padres el cuidado que deben de tener con sus hijos

fuera de las paredes de las instituciones en mención y de esta manera puedan llevar una vida plena.

- 8.12 Promover la importancia de realizar tamizaje neonatal para lograr la detección temprana de esta patología y disminuir las complicaciones a largo plazo.
- 8.13 Concientizar a los médicos que la fibrosis quística es una enfermedad existente en nuestra población por lo que es necesario considerarla al momento de realizar un diagnóstico.

**A los padres de pacientes con diagnóstico de fibrosis quística:**

- 8.14 Continuar con el interés y apoyo en pro del bienestar de sus hijos.
- 8.15 Sensibilizar sobre la importancia del tamizaje neonatal y buscar consejo genético.
- 8.16 Avocarse a la Asociación de Fibrosis Quística de Guatemala para crear una red de apoyo.
- 8.17 Continuar en la disponibilidad de participar en futuras investigaciones para aportar a la comunidad científica.

## **9. APORTES**

Se logró generar conocimiento científico para el desarrollo integral de la ciencia médica en Guatemala ya que previo a este estudio no se contaba con diagnóstico genético ni clasificación de mutaciones del gen CFTR según función proteica de la mayoría de los pacientes, proporcionando así mayor detalle sobre la situación de esta enfermedad en nuestro país, además de brindar la oportunidad de recibir un tratamiento específico en el futuro para cada uno de los pacientes.

Se consiguió iniciar con un banco genético con controles positivos de las diferentes mutaciones encontradas en el estudio; con el fin de lograr identificar dichas mutaciones en investigaciones posteriores realizadas en el país.

Se logró crear un vínculo de colaboración con el laboratorio de genética humana del Hospital Universitario de Berna para fomentar el intercambio de conocimiento entre la Universidad de San Carlos de Guatemala y la Universidad de Berna, Suiza. Esto con el objetivo de poder colaborar en el futuro con más investigaciones que beneficien a la población en general.

Se brindó la oportunidad a los pacientes de poder optar en un futuro a una terapia genética personalizada según la mutación que presenten.



## 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Egan M. Fibrosis quística. En: Kliegman R, Stanton B, Schor N, Geme J, Behrman R, editores. Nelson tratado de pediatría. 19 ed. Barcelona: Elsevier; 2013: vol. 2 p. 1540 – 1556.
2. Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium, cystic fibrosis mutation database [en línea]. Canadá: Cystic Fibrosis Centre at the Hospital for Sick Children in Toronto; 1989 [actualizado 25 Abr 2011; citado 28 Feb 2018]. Disponible en: <https://bit.ly/2J9HGzy>
3. Sandi M. Análisis de las mutaciones del gene CFTR y de los marcadores polimórficos asociados en familias con fibrosis quística en Costa Rica. [tesis Maestría Académica en Ciencias Biomédicas con Énfasis en Fisiología en línea]. Costa Rica: Ciudad Universitaria Rodrigo Facio, Ciencias Biomédicas; 2005. [citado 28 Feb 2018]. Disponible en: <https://bit.ly/2HeXiVI>
4. News Medical Life Sciences [en línea]. Londres: AZO NETWORK; 2017 [citado 22 Mar 2018]; Health A-Z; [aprox. 4 pant.]. Disponible en: <https://bit.ly/2HRGT73>
5. Brice P, James J, Mugford M. Genetic screening for cystic fibrosis: An overview of the science and the economics. J Cyst Fibros [en línea]. 2007 [citado 15 Mar 2018]; 6 (2007): 255-261 Disponible en: <https://bit.ly/2N8OkaO>
6. Lay-Son G, Repetto G. Genética y fibrosis quística: desde el gen CFTR a los factores modificadores. Neumología Pediátrica (Chile) [en línea]. 2010 [citado 01 Mar 2018]; 5 (1): 4-9. Disponible en: <https://bit.ly/2J6shje>
7. Mehta G, Milan M, Mehta A. Cystic fibrosis across Europe: EuroCareCF analysis of demographic data from 35 countries. J Cyst Fibros [en línea]. 2010 [citado 15 Mar 2018]; (9): 5-21 Disponible en: <https://bit.ly/2QaeOui>
8. Barrios W, Altamar H, Jiménez O, Stand I, Willamil W. Caracterización de los pacientes con fibrosis quística, en la Costa Caribe Colombiana en el período comprendido entre 2005 – 2012. Rev. Méd. Evidencias [en línea]. 2014. [citado 06 Mar 2018]; 3(1):29-34. Disponible en: <https://bit.ly/2K1Ohxl>
9. Molina G, González F, Cave R, Cornejo M, Navarro S et al. Estudio clínico – genético molecular de la fibrosis quística en la V región. Rev. Med. Chile [en línea]. 2002 [citado 06 Mar 2018]; 130(8): 850-858. Disponible en: <https://bit.ly/2HM6XjR>
10. Valle E. Determinación de las mutaciones más frecuentes en pacientes con fibrosis quística, Ecuador. Medicina (Guayaquil) [en línea]. 2005 [citado 06 Mar 2018]; 11 (1): 18-24. Disponible en: <https://bit.ly/2xR8pN5>

11. Gale S, Sabillón M, Ortega J. Caracterización de los pacientes con fibrosis quística diagnosticados por cloruros en sudor. *Acta Pediátrica Hondureña* [en línea]. 2016 [citado 15 Mar 2018]; 6 (2): 486-492 Disponible en: <https://bit.ly/2ImofEc>
12. López R. Análisis del tratamiento y pronóstico de pacientes menores de 12 años diagnosticados con fibrosis quística atendidos en el Departamento de Pediatría del Hospital Roosevelt en el período de enero de 1987 a diciembre de 1997 [tesis Médico y Cirujano]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas; 1998.
13. García M. Caracterización clínica y epidemiológica de los pacientes pediátricos con fibrosis quística [tesis Médico y Cirujano]. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Médicas; 2016.
14. Fanen P, Hasnain A. Atlas genetics and cytogenetics in oncology and hematology [en línea]. Francia: Créteil; 2001 [citado 15 Mar 2018]; Disponible en: <https://bit.ly/2R2vVQc>
15. Mata F. Fibrosis quística del adulto. Correlación genotipo–fenotipo pulmonar [tesis Doctoral en línea]. Barcelona: Universidad Autónoma de Barcelona, Departamento de Medicina; 2006 [citado 15 Mar 2018] Disponible en: <https://bit.ly/2vwOjKI>
16. Yokoyama E, Lezana J, Vigueras R, Rojas J, Saldaña Y, Orozco L, et al. Correlación genotipo – fenotipo en una muestra de pacientes mexicanos con fibrosis quística. *Rev Invest Clín* [en línea]. 2013 [citado 15 Mar 2018]; 65(6): 491 -499 Disponible en: <https://bit.ly/2HekFPp>
17. García C, Pérez J. Fibrosis quística del ayer al hoy. En: Salcedo A, Gartner S, Girón R, García M, editores. *Tratado de fibrosis quística*. Madrid: Justim S.L.; 2012: p.17-27.
18. Universidad del Rosario. Fibrosis quística afectaría a uno de cada cinco mil recién nacidos. *Revista Ciencias de la Salud (Colombia)* [en línea]. 2010 [citado 28 Feb 2018]; 5 (11): 1-8. Disponible en: <https://bit.ly/2prCXkT>
19. Molano J, Barreiro T. El canal de iones cloruro CFTR. En: Salcedo A, Gartner S, Girón R, García M, editores. *Tratado de fibrosis quística*. Madrid: Justim S.L.; 2012: p.41-42.
20. Sánchez I, Pérez M, Lina M, Lezana V, Vila M, Repetto G, et al. Consenso nacional de fibrosis quística. *Rev. Chil. pediatr* [en línea]. 2001 [citado 15 Mar 2018]; 72 (4): [aprox. 26 pant.]. Disponible en: <https://bit.ly/2qOnYld>

21. González J, Abreu G. Infecciones respiratorias en la fibrosis quística. Rev. Acta médica [en línea]. 2000 [citado 16 Mar 2018]; 9 (1-2): 39-43 Disponible en: <https://bit.ly/2F1NNmV>
22. Castaños C, Pereyro S, Renteria F. Guía de diagnóstico y tratamiento de pacientes con fibrosis quística. Arch. Argent. Pediatr [en línea]. 2014 [citado 20 Jun 2018]; 112 (3): 42-43 Disponible en: <https://bit.ly/2xuxM5Q>
23. Pereyro S. Compromiso pulmonar en fibrosis quística [en línea]. Argentina: FCM; 2004 [citado 16 Mar 2018] Disponible en: <https://bit.ly/2w4Apxc>
24. Visco F. Understanding your ABG results. Advance for respiratory care & sleep medicine [en línea]. 2009 [citado 16 Mar 2018]; 18 (5): 18 Disponible en: <https://bit.ly/2l6n4bU>
25. Oliver A, Alarcón T, Caballero E, Cantón R. Diagnóstico microbiológico de la colonización–infección broncopulmonar en el paciente con fibrosis quística. Enferm Infecc Microbiol Clín [en línea]. 2009 [citado 16 Mar 2018]; 27 (2): 89-104 Disponible en: <https://bit.ly/2vwfhBC>
26. Oliveira G, Oliveira C. Nutrición, fibrosis quística y aparato digestivo. Nutr. Hosp. [en línea]. 2008 [citado 16 Mar 2018]; 23 suppl 2: 71-86. Disponible en: <https://bit.ly/2J8v4lO>
27. Escobar H, Agrimbau J. Alteraciones digestivas y nutricionales de la fibrosis quística. Rev. Gastrohup [en línea]. 2007 [citado 16 Mar 2018]; 9 (1): 41-47. Disponible en: <https://bit.ly/2qQzNIH>
28. Gastrolab [en línea]. Lima: Laboratorio de Investigación de Enfermedades Gastrointestinales; 2011 [citado 16 Mar 2018]; Lista de exámenes por nombre; [aprox. 3 pant.]. Disponible en: <https://bit.ly/2xCXqqA>
29. Sojo A, Gonzáles F. Insuficiencia pancreática exocrina: fisiología, clínica y tratamiento. En: Salcedo A, Gartner S, Girón R, García M, editores. Tratado de fibrosis quística. Madrid: Justim S.L.; 2012: p.325 – 337.
30. López P, Martínez J. Nutrición en el enfermo con fibrosis quística. Rev. Nutr. Clín. Diet. Hosp [en línea]. 2010 [citado 16 Mar 2018]; 30 (2): 13-19 Disponible en: <https://bit.ly/2xh2MWr>
31. Dueñas S, García P. Técnicas diagnósticas en malabsorción y maldigestión de macronutrientes. Rev. Nutr Clín Med [en línea]. 2016 [citado 16 Mar 2018]; 10 (1): 40-53 Disponible en: <https://bit.ly/2HiY3cg>

32. Infogen [en línea]. México: Comité editorial de Infogen; 2013 [actualizado Ene 2018; citado 16 Mar 2018]; Fibrosis quística/ mucoviscidosis; [aprox. 20 pant.]. Disponible en: <https://bit.ly/2K03vTI>
33. Fielbaum O. Manejo actual de la fibrosis quística. Rev. Méd. Clín. Condes [en línea]. 2017. [citado 16 Mar 2018]; 28 (1): 60-71. Disponible en: <https://bit.ly/2qJHVdO>
34. Stanford Children's Health [en línea]. Stanford: Stanford Children's Health; 2018 [citado 16 Mar 2018]; Fibrosis quística y el aparato reproductor; [aprox. 2 pant.]. Disponible en: <https://bit.ly/2qLsj9I>
35. Benítez A. Test del sudor. An Pediatr Contin (Madrid) [en línea]. 2013 [citado 16 Mar 2018]; 11 (5): 291-294. Disponible en: <https://bit.ly/2Hy7NCX>
36. Gartner S, Cobos N. Cribado neonatal para la fibrosis quística. An Pediatr Contin (Madrid) [en línea]. 2009 [citado 16 Mar 2018]; 71 (6): 481-482. Disponible en: <https://bit.ly/2F213YS>
37. Domingo C, Bosque M. Prueba de la diferencia de potencial nasal para el diagnóstico de la fibrosis quística. Rev. Arch Bronconeumol [en línea]. 2006 [citado 16 Mar 2018]; 42 (1): 33 - 38. Disponible en: <https://bit.ly/2F2dNhZ>
38. Cuppens H. Mutaciones en la fibrosis quística. En: Salcedo A, Gartner S, Girón R, García M, editores. Tratado de fibrosis quística. Madrid: Justim S.L.; 2012: p.49-62.
39. Vankeerberghen A, Cuppens H, Cassiman J. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator: an intriguing protein with pleiotropic functions. J CystFibros [en línea]. 2002 [citado 28 Feb 2018]; 1 (1):13–29. Disponible en: <https://bit.ly/2Dn4PAp>
40. Cystic Fibrosis Mutation Database [en línea]. Canadá: Cystic Fibrosis Centre at the Hospital for Sick Children in Toronto; 1989 [actualizado Abr 2011; citado 28 Feb 2018]. Basic Text Search F508; [aprox. 1 pant.]. Disponible en: <https://bit.ly/2O2XFp2>
41. Cystic Fibrosis Mutation Database [en línea]. Canadá: Cystic Fibrosis Centre at the Hospital for Sick Children in Toronto; 1989 [actualizado Abr 2011; citado 28 Feb 2018]. Basic Text Search G542X; [aprox. 1 pant.]. Disponible en: <https://bit.ly/2MSjB1B>
42. Cystic Fibrosis Mutation Database [en línea]. Canadá: Cystic Fibrosis Centre at the Hospital for Sick Children in Toronto; 1989 [actualizado Abr 2011; citado 28 Feb 2018]. Basic Text Search G551D; [aprox. 1 pant.]. Disponible en: <https://bit.ly/2NsPqmO>
43. Oraá J. Farmacogenética en Fibrosis Quística. [tesis Grado en Medicina en línea]. España: Universidad de Valladolid, Facultad de Medicina; 2017 [citado 15 Mar 2018]. Disponible en: <https://bit.ly/2HOje7s>

44. Tamay de Dios L, Ibarra C, Velasquillo C. Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. Rev. Investigación en Discapacidad [en línea]. 2013 [citado 19 Abr 2018]; 2 (2): 70-78. Disponible en: <https://bit.ly/1Ke8r00>
45. Zenteno G. Detección de la mutación T315I de [en línea]. España: Editorial Medica Española; 2011 [citado 19 Jun 2018]. Disponible en: <https://bit.ly/2zmPn32>
46. Diccionario Dorland Enciclopédico Ilustrado de Medicina. 30 ed. Madrid: Elsevier; 2005.
47. Guatemala. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Epidemiología de Guatemala [en línea]. Guatemala: MSPAS; 2018 [citado 06 Mar 2018]. Disponible en: <https://bit.ly/2qHH38L>
48. Guatemala. Ministerio de Cultura y Deportes. Corazón del mundo Maya [en línea]. Guatemala: Ministerio de Cultura y Deportes; 2018 [citado 06 Mar 2018]. Disponible en: <https://bit.ly/2tQhoKT>
49. Diccionario de la lengua española [en línea]. 23 ed. Madrid: Espasa Libros; 2014 [citado 15 de Mar 2018]. Disponible en: <https://bit.ly/1XmNOUI>
50. Promega Corporation. Wizard Genomic DNA purification kit [en línea]. Madison, WI: Promega Corporation; 2017 [citado 15 Mar 2018]. Disponible en: <https://bit.ly/2DtU3rY>
51. Thermo Fisher Scientific. Qubit® dsDNA BR Assay Kit [en línea]. California: Thermo Fisher Scientific; 2015 [citado 15 Mar 2018]. Disponible en: <https://bit.ly/2NYTBX4>
52. Dos millones de personas en México son portadores de fibrosis quística; enfermedad hereditaria, incurable y potencialmente mortal. Roche Prensa [en línea]. 8 Sep 2017 [citado 24 Sep 2018]; Noticias: [aprox. 3 pant.]. Disponible en: <https://bit.ly/2zrl22e>
53. European Cystic Fibrosis Society. CFTR gene analysis in Latin American CF patients: Heterogeneous origin and distribution of mutations across the continent. J. Cyst. Fibros [en línea]. 2002 [citado 24 Sep 2018]; 6 (3): 194–208. Disponible en: <https://bit.ly/2NAcUqi>.
54. Castaños C, Rentería F. Consenso Nacional de Fibrosis Quística. Arch. Argent. Pediatr [en línea]. 2008 [citado 20 Jun 2018]; 106 (5): e01-52 Disponible en: <https://bit.ly/2pxw7KB>
55. Yarlagadda S, Zhang W. A Young hispanic with c.1646G>A mutation exhibits severe Cystic fibrosis lung disease: Is Ivacaftor an option for therapy?. Arch. Am J respir Crit Care Med [en línea]. 2012 [citado 24 Sep 2018]; 187 (7): 694-696 Disponible en: <https://bit.ly/2DvsT4e>.

56. Alonso M, Tellería J. Relación genotipo fenotipo genes modificadores. En: Salcedo A, Gartner S, Girón R, García M, editores. Tratado de fibrosis quística. Madrid: Justim S.L.; 2012: p.63 - 71.

## 11. ANEXOS

### Anexo 1: Consentimiento informado



Universidad San Carlos de Guatemala  
Facultad de Ciencias Médicas



#### **CONSENTIMIENTO INFORMADO CARACTERIZACIÓN GENÉTICA, EPIDEMIOLÓGICA Y CLÍNICA DE PACIENTES PEDIÁTRICOS Y ADOLESCENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA**

Código de boleta \_\_\_\_\_

#### Parte I: Hoja de Información al paciente

Nosotros somos estudiantes de Séptimo año de la carrera de Médico y Cirujano de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad San Carlos de Guatemala. Actualmente nos encontramos investigando sobre la enfermedad de fibrosis quística, la cual es una enfermedad hereditaria en la que los pacientes presentan infecciones pulmonares a repetición y problemas gastrointestinales, por lo que estaremos brindando información respecto a esta afección y deseamos invitarlo a participar en el estudio que se está llevando a cabo. Antes de decidir participar en el estudio, puede preguntar con toda la confianza a cualquiera de los investigadores las dudas que surjan.

El propósito de dicha investigación es tener conocimiento sobre la mutación que se presenta mayormente en nuestra población debido a que actualmente no se cuenta con información propiamente guatemalteca y los estudios en los que nos basamos son principalmente de raza blanca.

Para el siguiente estudio estamos invitando a pacientes pediátricos y adolescentes con diagnóstico de fibrosis quística, que acuden a la consulta externa de neumología en los hospitales: General San Juan de Dios, Roosevelt y General de Enfermedades – IGSS – y Liga del Pulmón Guatemala. La finalidad del estudio es ampliar el conocimiento sobre la enfermedad en nuestro país y de esta forma ayudar a brindar un tratamiento mejor dirigido a cada paciente.

Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria y sin ningún costo. En caso que decida o no participar, los hospitales continuarán brindando todos los servicios que recibe actualmente y nada variará. Este estudio es propio de los investigadores, por lo que los hospitales en las que se está llevando a cabo la recolección de datos y toma de muestra sanguínea son ajenas al mismo.

El procedimiento que se llevará a cabo en sus hijos es el siguiente:

- Se colocará al paciente en decúbito supino sobre una camilla.
- Se tomará una torunda pequeña de algodón.
- Se le aplicará alcohol a la torunda de algodón.
- Se realizará asepsia con la torunda con alcohol en el pliegue del codo o dorso de la mano del paciente de acuerdo al área donde se le realizará la punción.
- Se esperará 30 segundos para que el área de punción seque.
- Se tomará una muestra de 3 cc de sangre periférica venosa del pliegue del codo o dorso de la mano del paciente utilizando una jeringa descartable de 3 cc con aguja No. 22, por parte de los investigadores.
- Se procederá a rotular con un lapicero punto fino negro el tubo de edta K2 con el código correlativo correspondiente a cada sujeto de estudio, asignado por el investigador.
- Se introducirá en el tubo de EDTA K2 la muestra obtenida durante la punción.
- Se almacenará en una hielera de forma vertical y se transportará al Centro de investigación Biomédicas de la facultad de Ciencias Médicas, ubicada en 9na avenida zona 11, Guatemala, USAC.
- Se procede a analizar la muestra sanguínea por personal capacitado, el Dr. Gabriel Silva Genetista Pediatra.

#### Parte II: Formulario de Consentimiento

Mi hijo(a) ha sido invitado(a) a participar en la investigación “CARACTERIZACIÓN GENÉTICA, EPIDEMIOLÓGICA Y CLÍNICA DE PACIENTES PEDIÁTRICOS Y ADOLESCENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA”, la cual es gratuita. Entiendo que se le extraerán 2-3 centímetros cúbicos de sangre en una única ocasión. He sido informado(a) que no presenta ningún riesgo ni efectos secundarios aparte de presentar un leve dolor en el lugar de la punción. Entiendo que es de beneficio para dirigir de una manera integral el diagnóstico con el que cuenta mi hijo(a) y que posteriormente, los investigadores en conjunto con el asesor

interno de la institución me proporcionarán de manera escrita el resultado de las pruebas. No se afectará de ninguna manera el seguimiento que se le proporciona a mi hijo(a) en estas instituciones.

Yo como padre/tutor, eximo de toda responsabilidad civil, penal o de cualquier otra índole a los hospitales, General San Juan de Dios, Roosevelt y General de enfermedades del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social –IGSS-, respecto a los estudios y gestiones que se realicen en dicha investigación, en virtud de que la misma es para efectos únicamente académicos.

He leído y comprendido la información proporcionada. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se han contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento voluntariamente que mi hijo(a) participe en esta investigación.

Nombre del padre/tutor: \_\_\_\_\_

Firma o huella del padre/tutor: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Nombre del investigador: \_\_\_\_\_

Firma del investigador: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Ha sido proporcionada al padre/tutor del paciente una copia de este documento.

## Anexo 2: Asentimiento informado



Universidad San Carlos de Guatemala  
Facultad de Ciencias Médicas



### **ASENTIMIENTO INFORMADO** **CARACTERIZACIÓN GENÉTICA, EPIDEMIOLOGICA Y CLÍNICA DE PACIENTES** **PEDIÁTRICOS Y ADOLESCENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA**

Código de boleta \_\_\_\_\_

Nosotros somos estudiantes de Séptimo año de la carrera de Médico y Cirujano de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad San Carlos de Guatemala. Actualmente nos encontramos investigando sobre la enfermedad que tú tienes que es fibrosis quística, la cual es la que causa que a veces tengas mucha tos, tengas que tomar medicamentos y no logres subir de peso, sabemos que este problema es causado por algo que hay en tu sangre que es heredado por papi y mami y esta investigación nos ayudará a entender bien que es lo que está mal.

Te vamos a dar información acerca de nuestro estudio y la importancia que este tiene para ti. Tú tienes la libertad de decidir si quieres participar o no, sin que esto afecte tus próximas citas con tú doctor o doctora, ya le hemos pedido la autorización a tus padres o tutores quienes han autorizado tu participación y saben que ahora te estamos preguntando si quieres participar o no, pero si tu deseas puedes hablar con ellos antes de aceptar.

Si aceptas participar, tus padres o tutores no tienen que pagar nada, y si tienes una duda puedes hacerla sin pena.

Estamos realizando este estudio en niños como tu porque esto ayudara a los doctores que te tratan a entender mejor tu enfermedad y poder brindarte en ocasiones un tratamiento más adecuado.

Si participas en nuestra investigación, los pasos que vamos a realizar son los siguientes:

- Se colocará al paciente en decúbito supino sobre una camilla.
- Se tomará una torunda pequeña de algodón.

- Se le aplicara alcohol a la torunda de algodón.
- Se realizará asepsia con la torunda con alcohol en el pliegue del codo o dorso de la mano del paciente de acuerdo al área donde se le realizará la punción.
- Se esperará 30 segundos para que el área de punción seque.
- Se tomará una muestra de 3 cc de sangre periférica venosa del pliegue del codo o dorso de la mano del paciente utilizando una jeringa descartable de 3 cc con aguja No. 22, por parte de los investigadores.
- Se procederá a rotular con un lapicero punto fino negro el tubo de edta K2 con el código correlativo correspondiente a cada sujeto de estudio, asignado por el investigador.
- Se introducirá en el tubo de EDTA K2 la muestra obtenida durante la punción.
- Se almacenará en una hielera de forma vertical y se transportará al Centro de investigación Biomédicas de la facultad de Ciencias Médicas, ubicada en 9na avenida zona 11, Guatemala, USAC.
- Se procede a analizar la muestra sanguínea por personal capacitado, el Dr. Gabriel Silva Genetista Pediatra.

Yo entiendo que me han invitado a participar en esta investigación donde estudiarán la mutación que presento, entiendo que les harán preguntas a mis padres o tutores y que me tomarán una muestra de sangre de mi brazo. Sé que puedo elegir participar o no; he leído o me han leído esta información y la entiendo, han respondido mis preguntas y sé que puedo preguntar si tengo dudas en el futuro.

Acepto participar en la investigación:

Nombre: \_\_\_\_\_

Firma o huella: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

### Anexo 3: Boleta de recolección de datos



Universidad San Carlos de Guatemala  
Facultad de Ciencias Médicas



#### BOLETA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Código de boleta: \_\_\_\_\_

#### **“CARACTERIZACIÓN GENÉTICA, EPIDEMIOLÓGICA Y CLÍNICA DE PACIENTES PEDIÁTRICOS Y ADOLESCENTES CON FIBROSIS QUÍSTICA”**

Estudio descriptivo transversal prospectivo en pacientes pediátricos y adolescentes con diagnóstico de fibrosis quística de los hospitales: General San Juan de Dios, Roosevelt y General de Enfermedades del Instituto Guatemalteco de Seguridad Social –IGSS-, Liga del Pulmón Guatemala

#### **Datos Generales:**

Nombre completo \_\_\_\_\_

Fecha \_\_\_\_\_

#### **Sección I: Características epidemiológicas:**

1. Sexo

☐ M

☐ F

2. Edad: \_\_\_\_\_

3. Lugar de origen \_\_\_\_\_

#### **Sección II: Características genéticas:**

1. Mutación genotípica: \_\_\_\_\_

2. Clasificación del gen CFTR según función proteica: \_\_\_\_\_

### **Sección III: Características clínicas:**

6. Edad de diagnóstico: \_\_\_\_\_

7. Peso: \_\_\_\_\_

8. Talla: \_\_\_\_\_

9. IMC: \_\_\_\_\_

10. Estado nutricional:

Adecuado ☐

En riesgo potencia ☐

Desnutrición ☐

11. Colonización bacteriana:

☐ Si

☐ No

12. Edad de colonización: \_\_\_\_\_

13. Microorganismo: \_\_\_\_\_

14. Daño pulmonar

☐ Si

☐ No

- Severidad según escala de Brasfield:

Leve ☐

Moderado ☐

Severo ☐

15. Insuficiencia pancreática:

☐ SI

☐ NO

16. Prueba de Cl<sup>-</sup> en sudor: \_\_\_\_\_

#### Anexo 4: Figuras



Figura 1: Primer equipo de test de sudor por iontoforesis de Gibson y Cooke traído por el Dr. Luis Rosal Palomo, donado por el Dr. Abbas Mahmoodian del Children's Hospital of Pediatrics Harvard Medical School Boston Massachusetts, 1987.

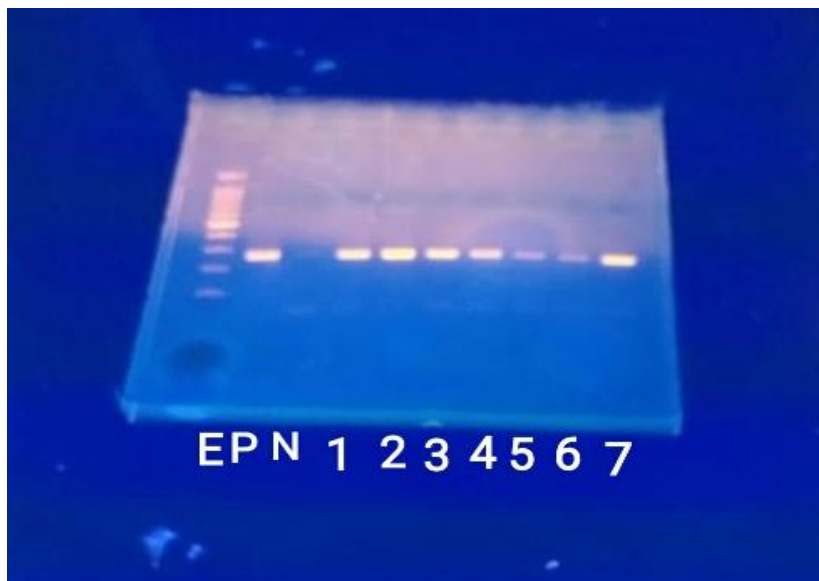


Figura 2: E: escalera de peso molecular; P: control positivo; N: control negativo; 1: IGSS1; 2: IGSS2; 3: IGSS3; 4: IGSS4; 5: IGSS 5; 6: IGSS6; 7: IGSS7

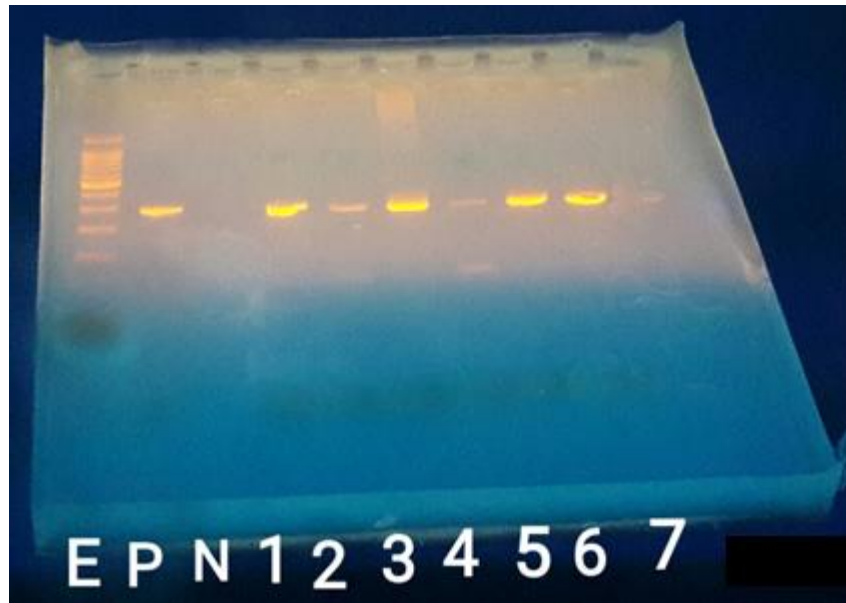


Figura 3: E: escalera de peso molecular; P: control positivo; N: control negativo; 1: IGSS9; 2: IGSS10; 3: IGSS11; 4: IGSS12; 5: IGSS13; 6: IGSS14; 7: HGSJDD1



Figura 4: E: escalera de peso molecular; P: control positivo; N: control negativo; 1: HGSJDD2; 2: HGSJDD3; 3: HGSJDD4; 4: HGSJDD5; 5: HGSJDD6; 6: HGSJDD7; 7: HGSJDD8

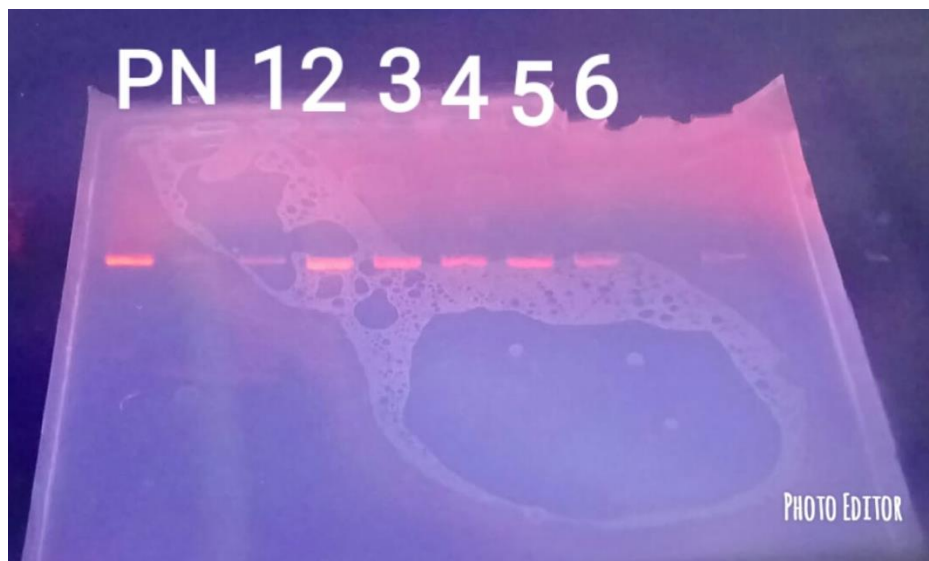


Figura 5: P: control positivo; N: control negativo; 1: HGSJDD9; 2: HR1; 3: HR2; 4: HR3; 5: LP1; 6: LP2

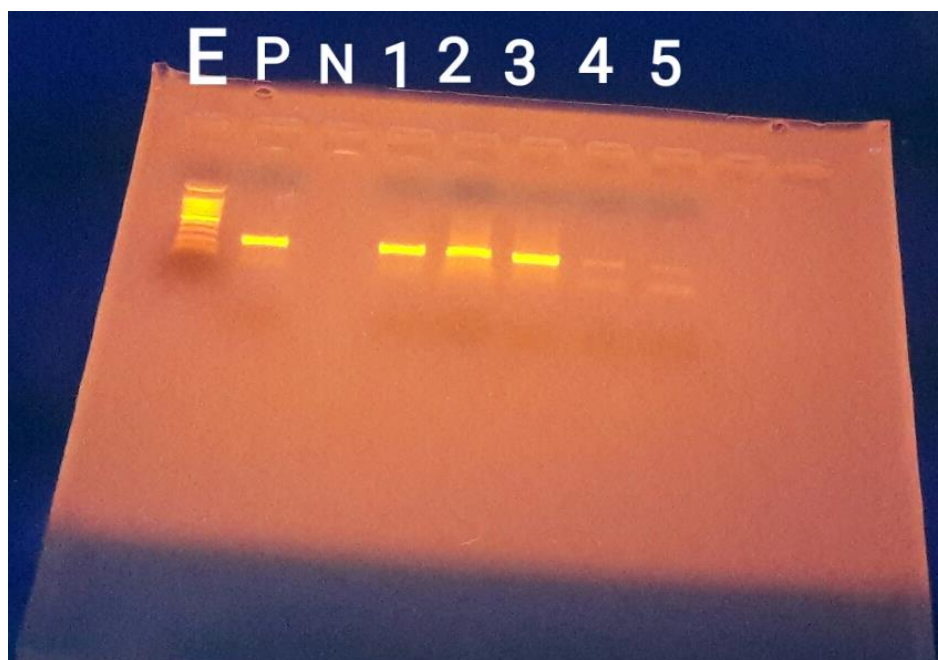


Figura 6: E: escalera de peso molecular; P: control positivo; N: control negativo; 1: LP3; 2: LP4; 3: LP5; 4: IGSS6; 5: IGSS8

Anexo 5: Resultados de electroforesis capilar y secuenciación para identificación de mutación del gen CFTR.

Código de paciente: LP 1

ARMS/Comparative Analysis Report - SoftGenetics

Sample: 6\_B\_A09\_2018-08-22-15-44-55.fsa/6\_A\_G04\_2018-08-22-15-44-55.fsa

Software: GeneMarker V2.6.3

Project: Untitled

Operator:

Exp Time: 08/22/2018 - 16:20:44 -> 08/22/2018 - 16:55:54

Analysis Type: ARMS/Comparative Analysis

Panel: CF\_EU2\_POPT7

Others: Chemistry: Lot #:

Report Time: 08/23/2018 - 07:48:27

STR1 PolyT

Blue=Mutant, Green=Wildtyp

STR2

508del (11)

549N (12)

6,000

4,000

2,000

0

100

150

200

250

300

350

400

450

500

STR1 PolyT

Blue=Mutant, Green=Wildtyp

STR2

15,000

10,000

5,000

0

100

150

200

250

300

350

400

450

500

STR1 PolyT

Blue=Mutant, Green=Wildtyp

STR2

1

0

-1

100

150

200

250

300

350

400

450

500

Conclusion

Comments:

Authorization 1

Authorization 2

IVS 8

Marker

Allele

PolyT

7-12

PolyT

9-10

7508del/549N

Date

Initial

20.9.18

JS



## SEQUENCING REPORT

Patient: P-CF-Guatemala-6

Pat.-ID: CF-Guatemala-6 Family ID:

Order No: 182630002 (DNA No: CF-Guatemala-6) Sample Src:

Project:

Assigned by:

Date of assignment:

**GENE:** CFTR

MV: 20.9.2018

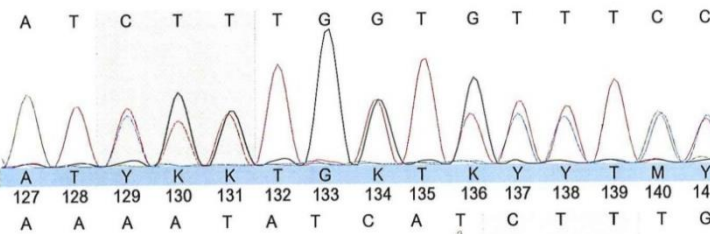
Gene-ID: ENSG0000001626

Transcript-ID: ENST0000003084

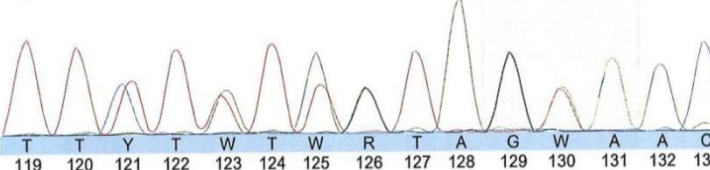
### Result:

| Index | Location | HGVS c.           | Nuc Change    | AA Name     | Web Ref                 | Mut Effect |
|-------|----------|-------------------|---------------|-------------|-------------------------|------------|
| 1     | E11      | c.1408G>A         | G -> A (homo) | p.Val470Met | rs213950 (Gene file)    | benign     |
| 2     | E11      | c.1521_1523delCTT | CTT (het)     | p.Phe508del | rs113993960 (Gene file) |            |
| 3     | E12      | c.1646G>A         | G -> A (het)  | p.Ser549Asn | rs121908755 (Gene file) |            |

2) c.1521\_1523delCTT, CTT (het), p.Phe508del, rs113993960 (Gene file)

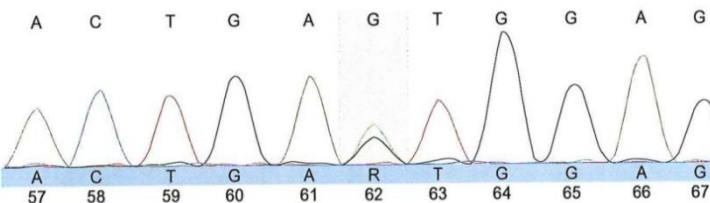


CF6\_CF\_ex11F\_A07\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E11  
Direction: forward  
Abs: 276

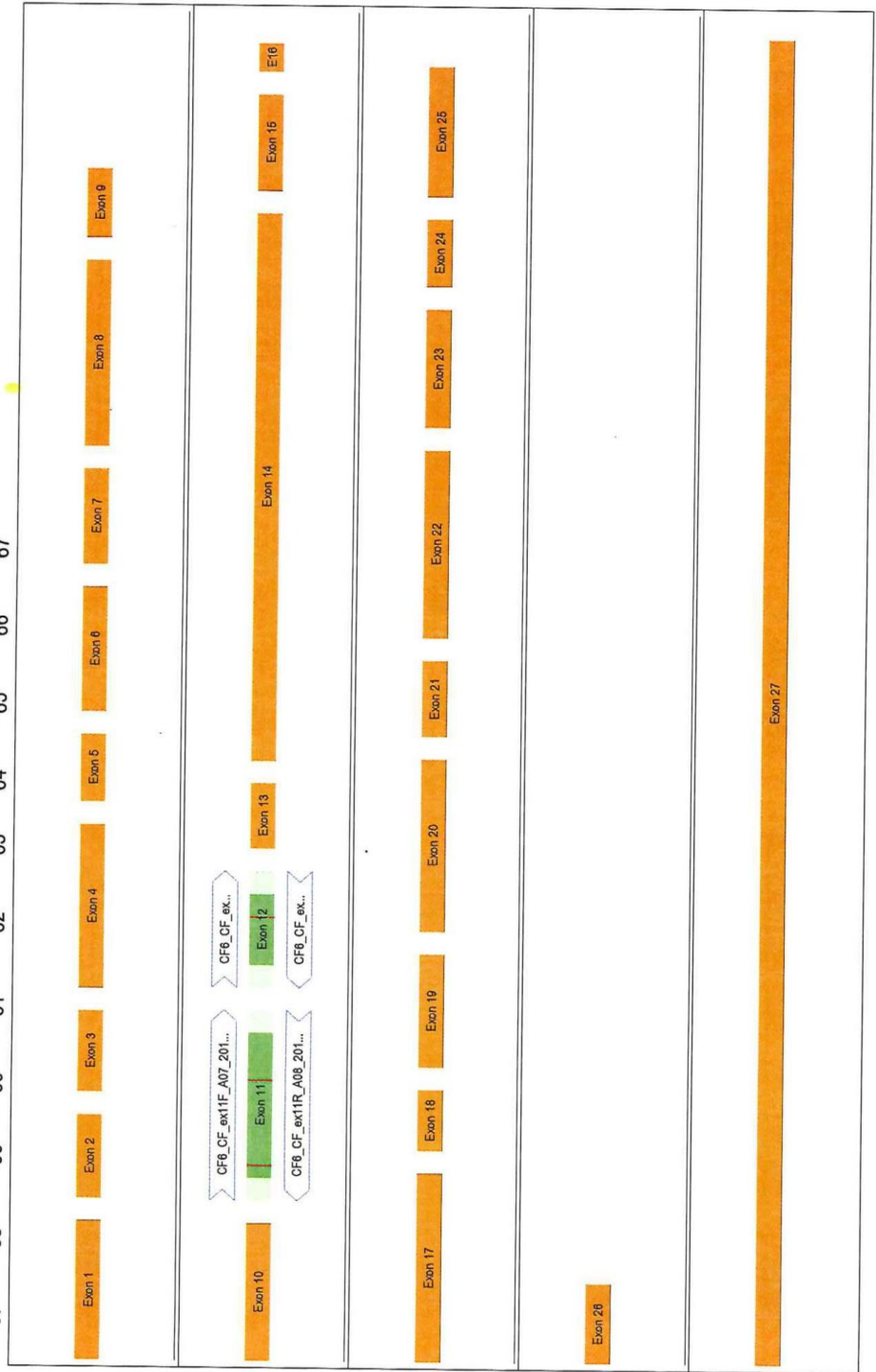
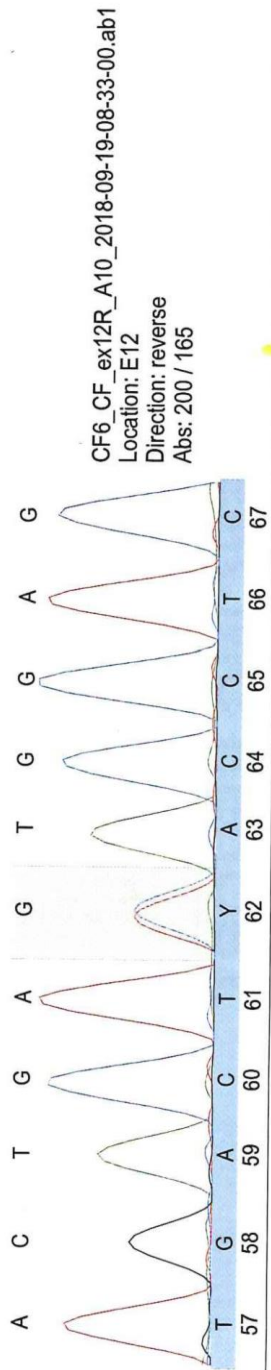


CF6\_CF\_ex11R\_A08\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E11  
Direction: reverse  
Abs: 315 / 182

3) c.1646G>A, G -> A (het), p.Ser549Asn, rs121908755 (Gene file)

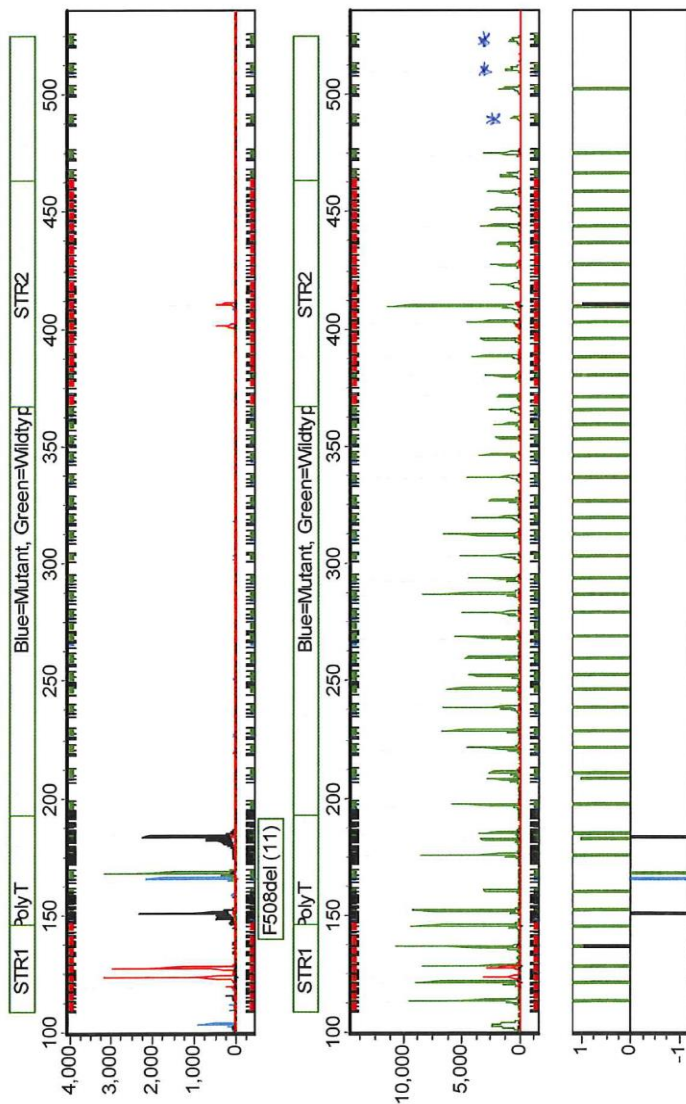


CF6\_CF\_ex12F\_A09\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E12  
Direction: forward  
Abs: 170



Código de paciente: HR 3

| ARMS/Comparative Analysis Report - SoftGenetics                             |  |  |  |
|-----------------------------------------------------------------------------|--|--|--|
| Sample: CF7_B_C04_2018-09-14-14-57-07.fsa/CF7_A_G01_2018-09-14-14-57-07.fsa |  |  |  |
| Software: GeneMarker V2.6.3                                                 |  |  |  |
| Project: Untitled                                                           |  |  |  |
| Operator:                                                                   |  |  |  |
| Exp Time: 09/14/2018 - 15:32:52 -> 09/14/2018 - 16:07:42                    |  |  |  |
| Report Time: 09/14/2018 - 17:24:29                                          |  |  |  |
| Panel: CF_EU2_POP7                                                          |  |  |  |
| Others: Chemistry: Lot #:                                                   |  |  |  |



|                 |                   |         |  |
|-----------------|-------------------|---------|--|
| Conclusion      | F508 del hetero2. |         |  |
| Comments:       |                   |         |  |
|                 | Date              | Initial |  |
| Authorization 1 | 20.9.18           |         |  |
| Authorization 2 |                   |         |  |

| IVS 8  |        |
|--------|--------|
| Marker | Allele |
| PolyT  | 7-12   |
| PolyT  | 9-10   |

| No. | Mutation         | Wildtype | Mutant |
|-----|------------------|----------|--------|
| 1   | R347H (8)        | 1        | 0      |
| 2   | R347P (8)        | 1        | 0      |
| 3   | 2789+5G>A (16)   | 1        | 0      |
| 4   | 3120+1G>A (18)   | 1        | 0      |
| 5   | 711+1G>T (6)     | 1        | 0      |
| 6   | R334W (8)        | 1        | 0      |
| 7   | F507del (11)     | 1        | 0      |
| 8   | F508del (11)     | 1        | 1      |
| 9   | 3849+10kbC>T     | 1        | 0      |
| 10  | 1677delTA (11)   | 1        | 0      |
| 11  | 1078delT (8)     | 1        | 0      |
| 12  | V520F (11)       | 1        | 0      |
| 13  | L206W (6)        | 1        | 0      |
| 14  | W1282X (23)      | 1        | 0      |
| 15  | R560T (12)       | 1        | 0      |
| 16  | 2347delG (14)    | 1        | 0      |
| 17  | R890X (17)       | 1        | 0      |
| 18  | R553X (12)       | 1        | 0      |
| 19  | G551D (12)       | 1        | 0      |
| 20  | S549R(T>G) (12)  | 0        | 0      |
| 21  | S549N (12)       | 1        | 0      |
| 22  | M1101K (20)      | 1        | 0      |
| 23  | G542X (12)       | 1        | 0      |
| 24  | 3905insT (23)    | 1        | 0      |
| 25  | Y1092X(C>A) (20) | 1        | 0      |
| 26  | S1251N (23)      | 1        | 0      |
| 27  | 444delA (4)      | 1        | 0      |
| 28  | 1811+1.6kbA>G    | 1        | 0      |
| 29  | 1717-1G>A (12)   | 1        | 0      |
| 30  | R117H (4)        | 1        | 0      |
| 31  | R117C (4)        | 1        | 0      |
| 32  | N1303K (24)      | 1        | 0      |
| 33  | Y122X (4)        | 1        | 0      |
| 34  | 394delT (3)      | 1        | 0      |
| 35  | G85E (3)         | 1        | 0      |
| 36  | R1066C (20)      | 1        | 0      |
| 37  | 1898+1G>A (13)   | 1        | 0      |
| 38  | W846X (15)       | 1        | 0      |
| 39  | 2184delA (14-1)  | 1        | 0      |
| 40  | D1182H (21)      | 1        | 0      |
| 41  | CFTRdel2.3       | 1        | 0      |
| 42  | P671 (3)         | 1        | 0      |
| 43  | 2143delT (14-1)  | 1        | 0      |
| 44  | E60X (3)         | 1        | 0      |
| 45  | 3659delC (22)    | 1        | 0      |
| 46  | 3272-26A>G (20)  | 1        | 0      |
| 47  | 621+1G>T (4)     | 0        | *      |
| 48  | A455E (10)       | 0        | *      |
| 49  | R1162X (22)      | 0        | *      |
| 50  | R1158X (22)      | 0        | *      |

\* peak present but weak!



## SEQUENCING REPORT

Patient: P-CF-Guatemala-7

Pat.-ID: CF-Guatemala-7 Family ID:

Order No: 182630003 (DNA No: CF-Guatemala-7)

Sample Src:

Project:

Assigned by:

Date of assignment:

**GENE:** CFTR

MV: 20.9.2018

Gene-ID:

ENSG00000001626

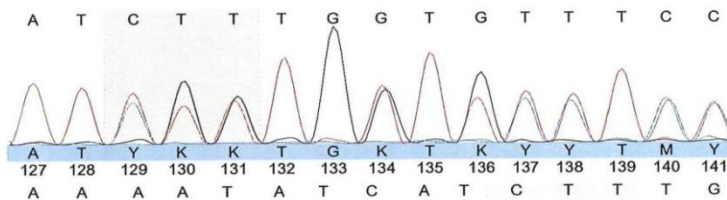
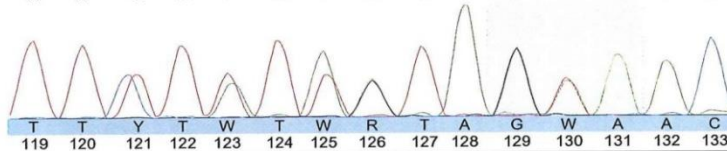
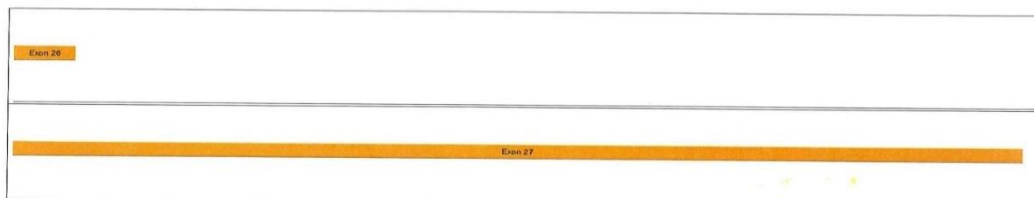
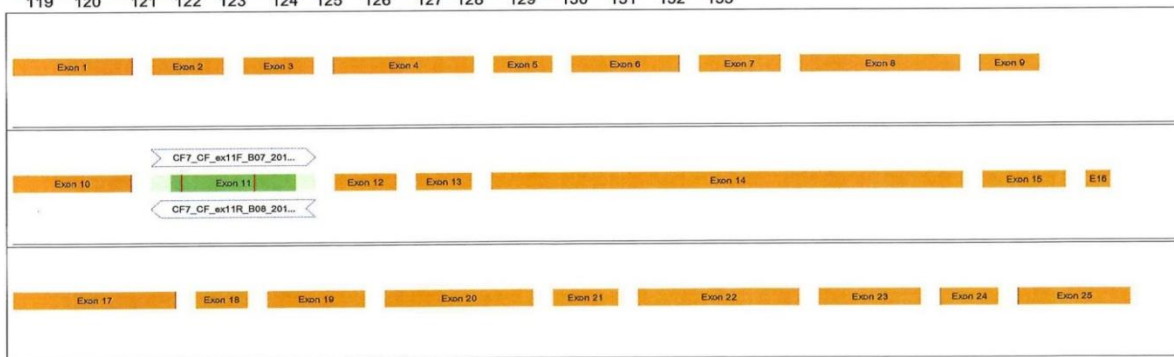
Transcript-ID:

ENST00000003084

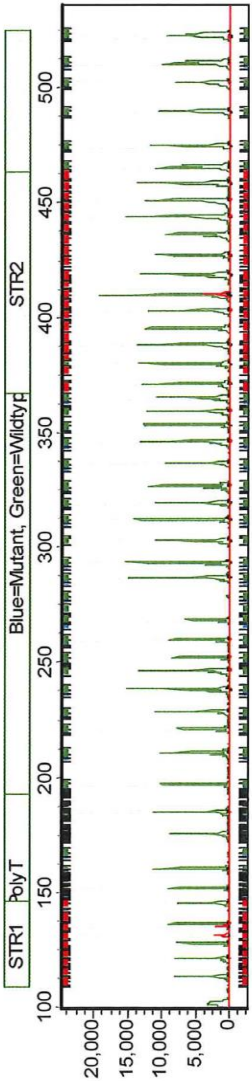
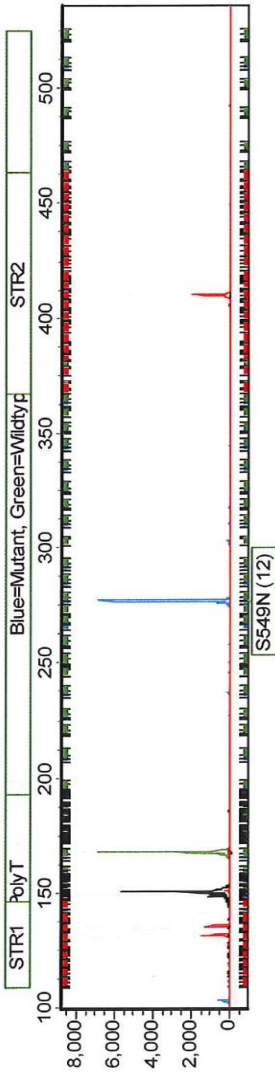
**Result:**

| Index | Location | HGVS c.           | Nuc Change    | AA Name     | Web Ref                 | Mut Effect |
|-------|----------|-------------------|---------------|-------------|-------------------------|------------|
| 1     | E11      | c.1408G>A         | G -> A (homo) | p.Val470Met | rs213950 (Gene file)    | benign     |
| 2     | E11      | c.1521_1523delCTT | CTT (het)     | p.Phe508del | rs113993960 (Gene file) |            |

2) c.1521\_1523delCTT, CTT (het), p.Phe508del, rs113993960 (Gene file)

CF7\_CF\_ex11F\_B07\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E11  
Direction: forward  
Abs: 278CF7\_CF\_ex11R\_B08\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E11  
Direction: reverse  
Abs: 314 / 183

|                                                                         |  |  |  |
|-------------------------------------------------------------------------|--|--|--|
| ARMS/Comparative Analysis Report - SoftGenetics                         |  |  |  |
| Sample: 8_B_C09_2018-08-22-15-44-55.fsa/8_A_A05_2018-08-22-15-44-55.fsa |  |  |  |
| Software: GeneMarker V2.6.3                                             |  |  |  |
| Project: Untitled                                                       |  |  |  |
| Operator:                                                               |  |  |  |
| Exp Time: 08/22/2018 - 16:20:44 -> 08/22/2018 - 16:55:54                |  |  |  |
| Report Time: 08/23/2018 - 07:48:28                                      |  |  |  |
| Analysis Type: ARMS/Comparative Analysis                                |  |  |  |
| Panel: CF_EU2_POPT                                                      |  |  |  |
| Others: Chemistry: Lot #:                                               |  |  |  |



|                 |              |         |  |
|-----------------|--------------|---------|--|
| Conclusion      | S549N homo2. |         |  |
| Comments:       |              |         |  |
| Authorization 1 | Date         | Initial |  |
| Authorization 2 | 20.9.18      |         |  |

|        |        |
|--------|--------|
| IVS 8  |        |
| Marker | Allele |
| PolyT  | 7-12   |
| PolyT  | 7-12   |

| No. | Mutation          | Wildtype | Mutant |
|-----|-------------------|----------|--------|
| 1   | R347H (8)         | 1        | 0      |
| 2   | R347P (8)         | 1        | 0      |
| 3   | 2789+5G>A (16)    | 1        | 0      |
| 4   | 3120+1G>A (18)    | 1        | 0      |
| 5   | 711+1G>T (6)      | 1        | 0      |
| 6   | R334W (8)         | 1        | 0      |
| 7   | 507del (11)       | 1        | 0      |
| 8   | F508del (11)      | 1        | 0      |
| 9   | 3849+10kbC>T      | 1        | 0      |
| 10  | 1677delTA (11)    | 1        | 0      |
| 11  | 1078delT (8)      | 1        | 0      |
| 12  | V520F (11)        | 1        | 0      |
| 13  | L206W (6)         | 1        | 0      |
| 14  | W1282X (23)       | 1        | 0      |
| 15  | R560T (12)        | 1        | 0      |
| 16  | 2347delG (14)     | 1        | 0      |
| 17  | Q890X (17)        | 1        | 0      |
| 18  | R553X (12)        | 1        | 0      |
| 19  | G551D (12)        | 1        | 0      |
| 20  | S549R (12)        | 1        | 0      |
| 21  | S549N (12)        | 0        | 1      |
| 22  | W1101K (20)       | 1        | 0      |
| 23  | G542X (12)        | 1        | 0      |
| 24  | 3905insT (23)     | 1        | 0      |
| 25  | Y1092X (C>A) (20) | 1        | 0      |
| 26  | S1251N (23)       | 1        | 0      |
| 27  | 444delA (4)       | 1        | 0      |
| 28  | 181+1 6kba>G      | 1        | 0      |
| 29  | 1717-1G>A (12)    | 1        | 0      |
| 30  | R117H (4)         | 1        | 0      |
| 31  | R117C (4)         | 1        | 0      |
| 32  | N1303K (24)       | 1        | 0      |
| 33  | Y122X (4)         | 1        | 0      |
| 34  | 394delT (3)       | 1        | 0      |
| 35  | G85E (3)          | 1        | 0      |
| 36  | R1066C (20)       | 1        | 0      |
| 37  | 1898+1G>A (13)    | 1        | 0      |
| 38  | W846X (15)        | 1        | 0      |
| 39  | 2184delA (14-1)   | 1        | 0      |
| 40  | DT152H (21)       | 1        | 0      |
| 41  | CFTRdele2 3       | 1        | 0      |
| 42  | E67L (3)          | 1        | 0      |
| 43  | 2143delT (14-1)   | 1        | 0      |
| 44  | E60X (3)          | 1        | 0      |
| 45  | 3659delC (22)     | 1        | 0      |
| 46  | 3272-26A>G (20)   | 1        | 0      |
| 47  | 621+1G>T (4)      | 1        | 0      |
| 48  | A455E (10)        | 1        | 0      |
| 49  | R1162X (22)       | 1        | 0      |
| 50  | R1158X (22)       | 1        | 0      |



# SEQUENCING REPORT

Patient: P-CF-Guatemala-8

Pat.-ID: CF-Guatemala-8 Family ID:

Order No: 182630004 (DNA No: CF-Guatemala-8)

Sample Src:

Project:

Assigned by:

Date of assignment:

**GENE:** CFTR

MV: 20.9.2018

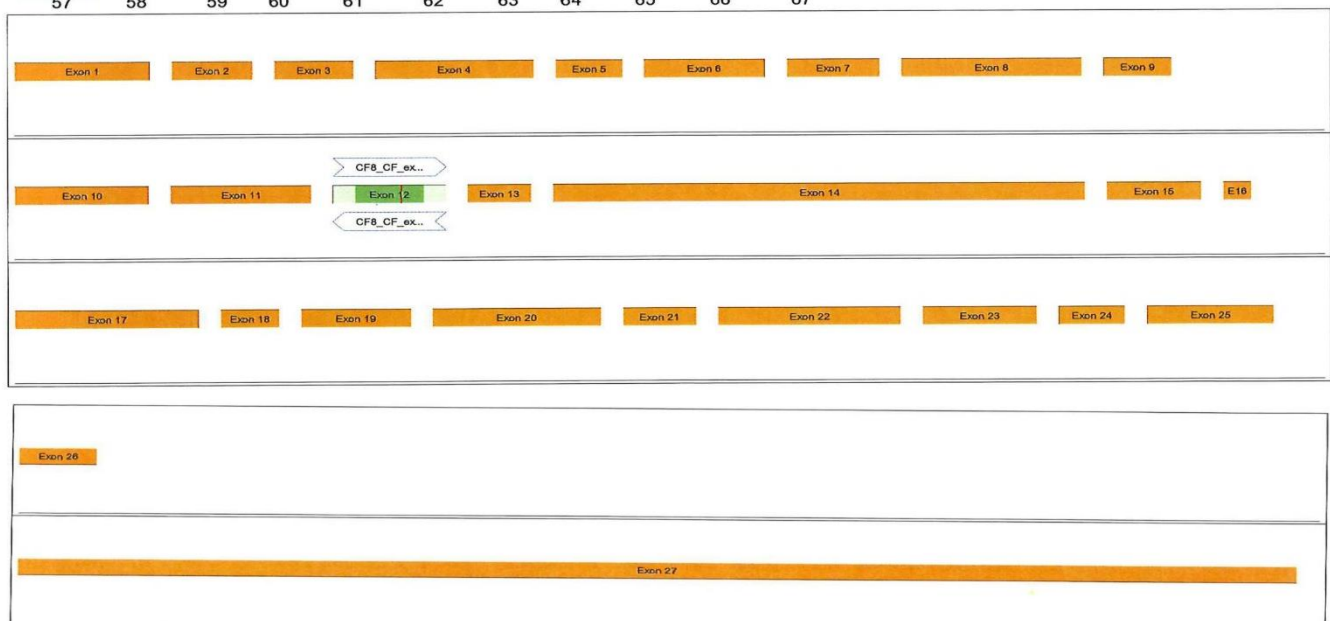
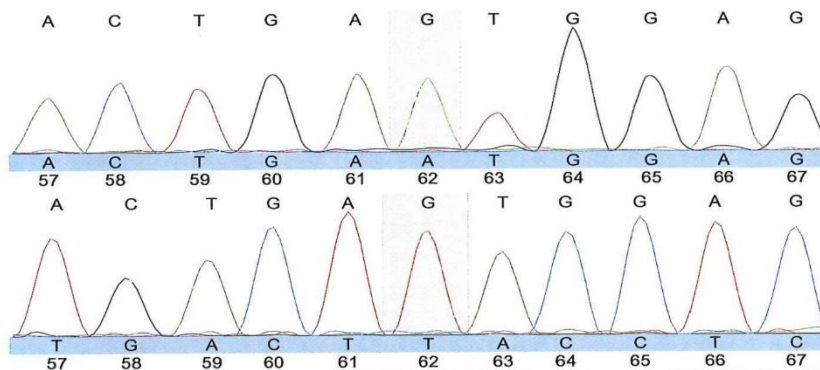
Gene-ID: ENSG00000001626

Transcript-ID: ENST00000003084

## Result:

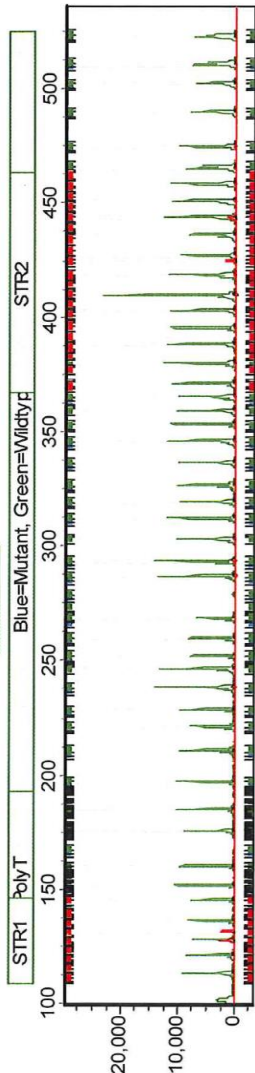
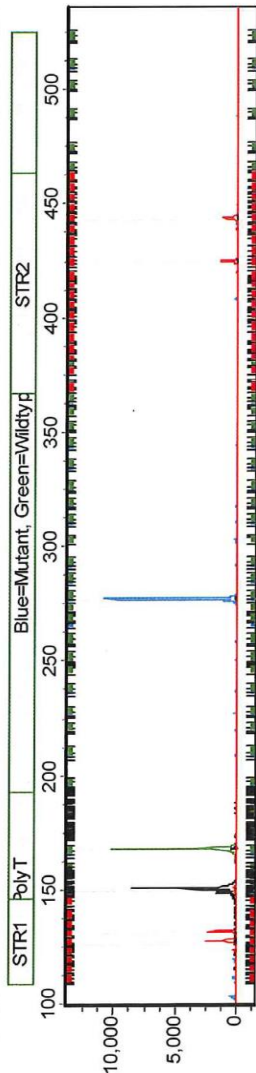
| Index | Location | HGVS c.   | Nuc Change    | AA Name     | Web Ref           | Mut Effect |
|-------|----------|-----------|---------------|-------------|-------------------|------------|
| 1     | E12      | c.1646G>A | G -> A (homo) | p.Ser549Asn | rs121908755 (Gene |            |

1) c.1646G>A, G -> A (homo), p.Ser549Asn, rs121908755 (Gene file)



Código de paciente: HR 1

|                                                                         |                                          |
|-------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|
| ARMS/Comparative Analysis Report - SoftGenetics                         |                                          |
| Sample: 9_B_D09_2018-08-22-15-44-55.fsa/9_A_B05_2018-08-22-15-44-55.fsa |                                          |
| Software: GeneMarker V2.6.3                                             | Analysis Type: ARMS/Comparative Analysis |
| Project: Untitled                                                       | Panel: CF_EU2_POPT                       |
| Operator:                                                               | Others: Chemistry: Lot #:                |
| Exp Time: 08/22/2018 - 16:20:44 -> 08/22/2018 - 16:55:54                | Report Time: 08/23/2018 - 07:48:28       |



|                 |             |         |
|-----------------|-------------|---------|
| Conclusion      | S549N homo2 |         |
| Comments:       |             |         |
| Authorization 1 | Date        | Initial |
| Authorization 2 | 20.9.18     | JS      |

| IVS 8  |        |
|--------|--------|
| Marker | Allele |
| PolyT  | 7-12   |
| PolyT  | 7-12   |

| No. | Mutation         | Wildtype | Mutant |
|-----|------------------|----------|--------|
| 1   | R347H (8)        | 1        | 0      |
| 2   | R347P (8)        | 1        | 0      |
| 3   | 2789+5G>A (16)   | 1        | 0      |
| 4   | 3120+1G>A (18)   | 1        | 0      |
| 5   | 711+1G>T (6)     | 1        | 0      |
| 6   | R334W (8)        | 1        | 0      |
| 7   | F507del (11)     | 1        | 0      |
| 8   | F508del (11)     | 1        | 0      |
| 9   | 3849+10kbC>T     | 1        | 0      |
| 10  | 1677delTA (11)   | 1        | 0      |
| 11  | 1078delT (8)     | 1        | 0      |
| 12  | V520F (11)       | 1        | 0      |
| 13  | L206W (6)        | 1        | 0      |
| 14  | W1282X (23)      | 1        | 0      |
| 15  | R560T (12)       | 1        | 0      |
| 16  | 2347delG (14)    | 1        | 0      |
| 17  | G890X (17)       | 1        | 0      |
| 18  | R553X (12)       | 1        | 0      |
| 19  | G551D (12)       | 1        | 0      |
| 20  | S549R(T>G) (12)  | 0        | 1      |
| 21  | S549N (12)       | 0        | 1      |
| 22  | M1101K (20)      | 1        | 0      |
| 23  | G542X (12)       | 1        | 0      |
| 24  | 3905insT (23)    | 1        | 0      |
| 25  | Y1092X(C>A) (20) | 1        | 0      |
| 26  | S1251N (23)      | 1        | 0      |
| 27  | 444delA (4)      | 1        | 0      |
| 28  | 1811+1.6kbA>G    | 1        | 0      |
| 29  | 1717-1G>A (12)   | 1        | 0      |
| 30  | R117H (4)        | 1        | 0      |
| 31  | R117C (4)        | 1        | 0      |
| 32  | N1303K (24)      | 1        | 0      |
| 33  | Y122X (4)        | 1        | 0      |
| 34  | 394delTT (3)     | 1        | 0      |
| 35  | G85E (3)         | 1        | 0      |
| 36  | R1066C (20)      | 1        | 0      |
| 37  | 1898+1G>A (13)   | 1        | 0      |
| 38  | W846X (15)       | 1        | 0      |
| 39  | 2184delA (14-1)  | 1        | 0      |
| 40  | D1152H (21)      | 1        | 0      |
| 41  | CF-TRdel2.3      | 1        | 0      |
| 42  | P671 (3)         | 1        | 0      |
| 43  | 2143delT (14-1)  | 1        | 0      |
| 44  | E60X (3)         | 1        | 0      |
| 45  | 3659delC (22)    | 1        | 0      |
| 46  | 3272-26A>G (20)  | 1        | 0      |
| 47  | 621+1G>T (4)     | 1        | 0      |
| 48  | A455E (10)       | 1        | 0      |
| 49  | R1162X (22)      | 1        | 0      |
| 50  | R1158X (22)      | 1        | 0      |



## SEQUENCING REPORT

Patient: P-CF-Guatemala-9

Pat.-ID: CF-Guatemala-9 Family ID:

Order No: 182630005 (DNA No: CF-Guatemala-9)

Sample Src:

Project:

Assigned by:

Date of assignment:

**GENE:** CFTR

MV: 20.9.2018

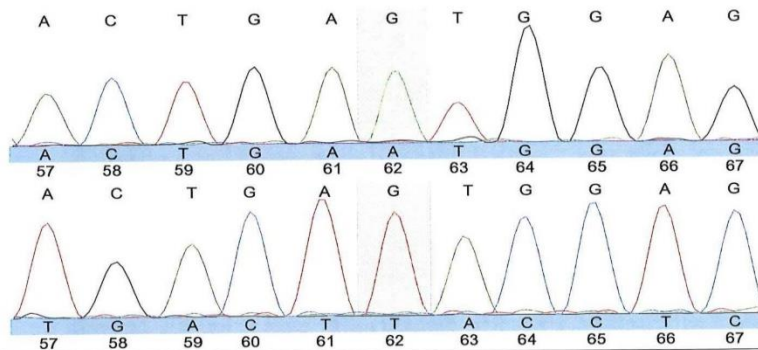
Gene-ID: ENSG00000001626

Transcript-ID: ENST00000003084

### Result:

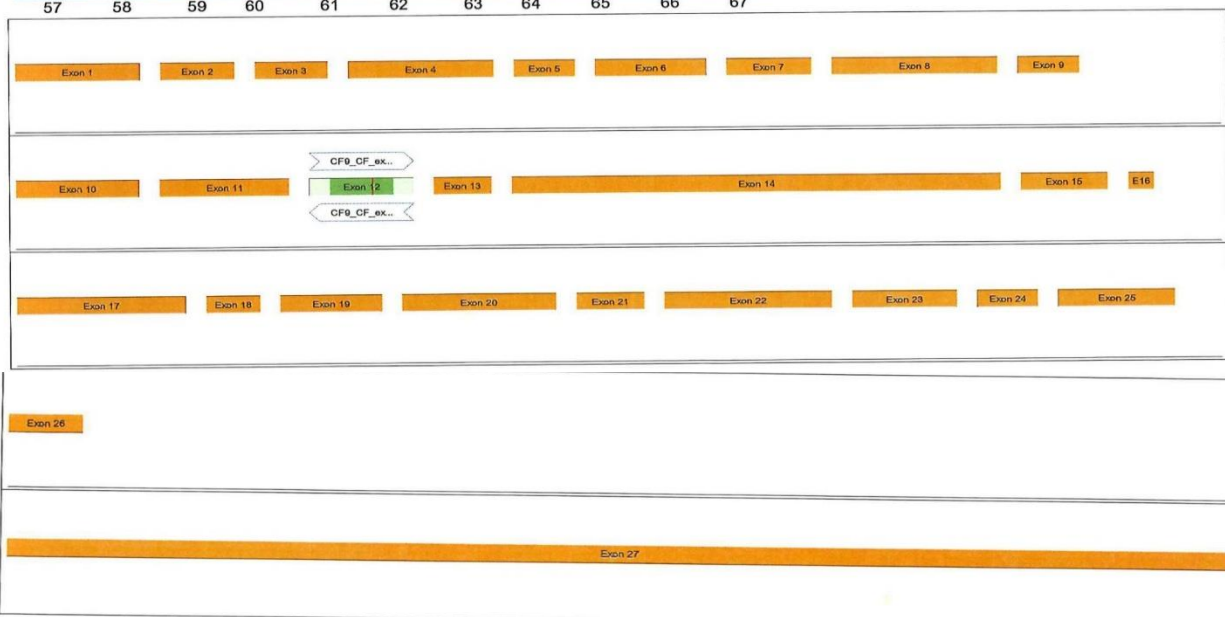
| Index | Location | HGVS c.   | Nuc Change    | AA Name     | Web Ref            | Mut Effect |
|-------|----------|-----------|---------------|-------------|--------------------|------------|
| 1     | E12      | c.1646G>A | G -> A (homo) | p.Ser549Asn | rs121908755 (Gene) |            |

1) c.1646G>A, G -> A (homo), p.Ser549Asn, rs121908755 (Gene file)

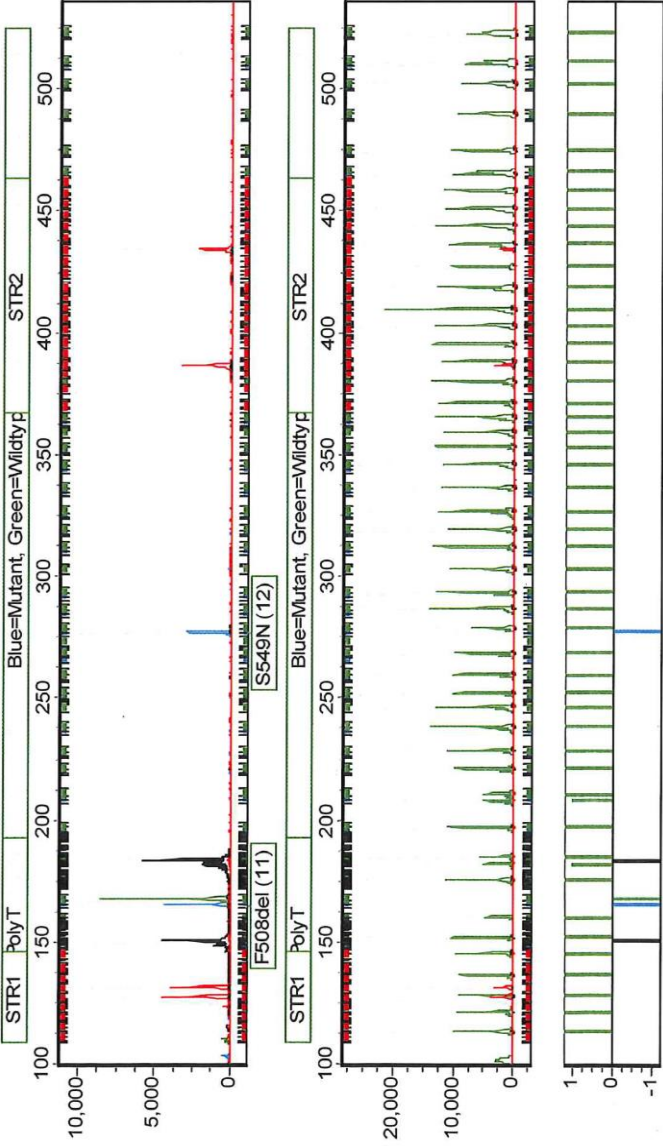


CF9\_CF\_ex12F\_C09\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E12  
Direction: forward  
Abs: 168

CF9\_CF\_ex12R\_C10\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E12  
Direction: reverse  
Abs: 200 / 163



|                                                 |                                                                   |
|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| ARMS/Comparative Analysis Report - SoftGenetics |                                                                   |
| Sample:                                         | 10_B_E09_2018-08-22-15-44-55.fsa/10_A_C05_2018-08-22-15-44-55.fsa |
| Software:                                       | GeneMarker V2.6.3                                                 |
| Project:                                        | Untitled                                                          |
| Operator:                                       |                                                                   |
| Exp Time:                                       | 08/22/2018 - 16:20:44 -> 08/22/2018 - 16:55:54                    |
| Report Time:                                    | 08/23/2018 - 07:48:22                                             |
| Analysis Type:                                  | ARMS/Comparative Analysis                                         |
| Panel:                                          | CF EU2 POP7                                                       |
| Others:                                         | Chemistry: Lot #:                                                 |



|                 |               |         |
|-----------------|---------------|---------|
| Conclusion      | F508del/S549N |         |
| Comments:       |               |         |
| Authorization 1 | Date          | Initial |
| Authorization 2 | 20.9.18       | fs      |

| IVS 8  |        |
|--------|--------|
| Marker | Allele |
| PolyT  | 7-12   |
| PolyT  | 9-10   |

| No. | Mutation         | Wildtype | Mutant |
|-----|------------------|----------|--------|
| 1   | R347H (8)        | 1        | 0      |
| 2   | R347P (8)        | 1        | 0      |
| 3   | 2789+5G>A (16)   | 1        | 0      |
| 4   | 3120+1G>A (18)   | 1        | 0      |
| 5   | 711+1G>T (6)     | 1        | 0      |
| 6   | R334W (8)        | 1        | 0      |
| 7   | 507del (11)      | 1        | 0      |
| 8   | F508del (11)     | 1        | 1      |
| 9   | 3849+10kbC>T     | 1        | 0      |
| 10  | 1677delTA (11)   | 1        | 0      |
| 11  | 1078delT (8)     | 1        | 0      |
| 12  | V520F (11)       | 1        | 0      |
| 13  | L206W (6)        | 1        | 0      |
| 14  | W1282X (23)      | 1        | 0      |
| 15  | R560T (12)       | 1        | 0      |
| 16  | 2347delG (14)    | 1        | 0      |
| 17  | Q890X (17)       | 1        | 0      |
| 18  | R553X (12)       | 1        | 0      |
| 19  | G551D (12)       | 1        | 0      |
| 20  | S549R(T>G) (12)  | 0        | 1      |
| 21  | S549N (12)       | 1        | 1      |
| 22  | M1101K (20)      | 1        | 0      |
| 23  | G542X (12)       | 1        | 0      |
| 24  | 3905insI (23)    | 1        | 0      |
| 25  | Y1092X(C>A) (20) | 1        | 0      |
| 26  | S1251N (23)      | 1        | 0      |
| 27  | 444delA (4)      | 1        | 0      |
| 28  | 1811+1.6kbA>G    | 1        | 0      |
| 29  | 1717-1G>A (12)   | 1        | 0      |
| 30  | R117H (4)        | 1        | 0      |
| 31  | R117C (4)        | 1        | 0      |
| 32  | N1303K (24)      | 1        | 0      |
| 33  | Y122X (4)        | 1        | 0      |
| 34  | 394delTT (3)     | 1        | 0      |
| 35  | G85E (3)         | 1        | 0      |
| 36  | R1066C (20)      | 1        | 0      |
| 37  | 1898+1G>A (13)   | 1        | 0      |
| 38  | W846X (15)       | 1        | 0      |
| 39  | 2184delA (14-1)  | 1        | 0      |
| 40  | D1152H (21)      | 1        | 0      |
| 41  | CFTRdele2.3      | 1        | 0      |
| 42  | P67L (3)         | 1        | 0      |
| 43  | 2143delTT (14-1) | 1        | 0      |
| 44  | F50X (3)         | 1        | 0      |
| 45  | 3659delC (22)    | 1        | 0      |
| 46  | 3272-26A>G (20)  | 1        | 0      |
| 47  | 621+1G>T (4)     | 1        | 0      |
| 48  | A455E (10)       | 1        | 0      |
| 49  | R1162X (22)      | 1        | 0      |
| 50  | R1158X (22)      | 1        | 0      |



# SEQUENCING REPORT

Patient: P-CF-Guatemala-10

Pat.-ID: CF-Guatemala-10 Family ID:

Order No: 182630001 (DNA No: CF-Guatemala-10) Sample Src:

Project:

Assigned by:

Date of assignment:

**GENE:** CFTR

MV: 20.9.2018

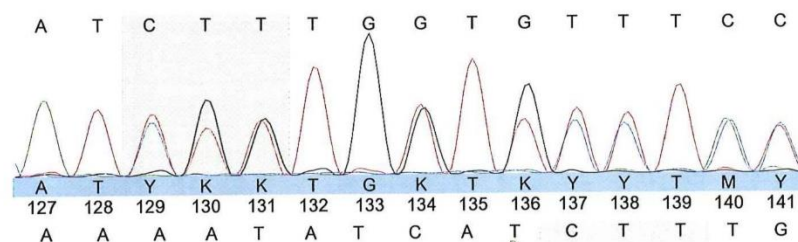
Gene-ID: ENSG00000001626

Transcript-ID: ENST00000003084

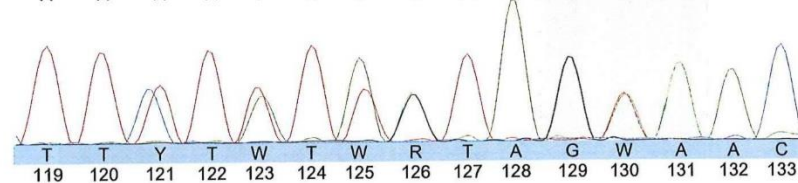
## Result:

| Index | Location | HGVS c.           | Nuc Change    | AA Name     | Web Ref                 | Mut Effect |
|-------|----------|-------------------|---------------|-------------|-------------------------|------------|
| 1     | E11      | c.1408G>A         | G -> A (homo) | p.Val470Met | rs213950 (Gene file)    | benign     |
| 2     | E11      | c.1521_1523delCTT | CTT (het)     | p.Phe508del | rs113993960 (Gene file) |            |
| 3     | E12      | c.1646G>A         | G -> A (het)  | p.Ser549Asn | rs121908755 (Gene file) |            |

2) c.1521\_1523delCTT, CTT (het), p.Phe508del, rs113993960 (Gene file)

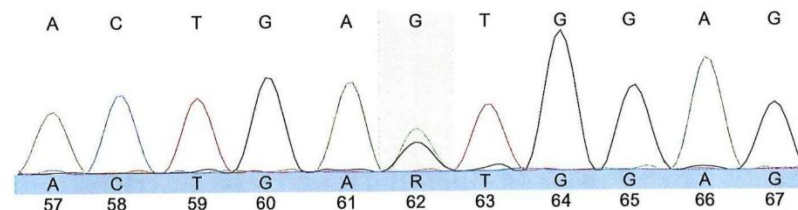


CF10\_CF\_ex11F\_C07\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E11  
Direction: forward  
Abs: 275



CF10\_CF\_ex11R\_C08\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E11  
Direction: reverse  
Abs: 316 / 183

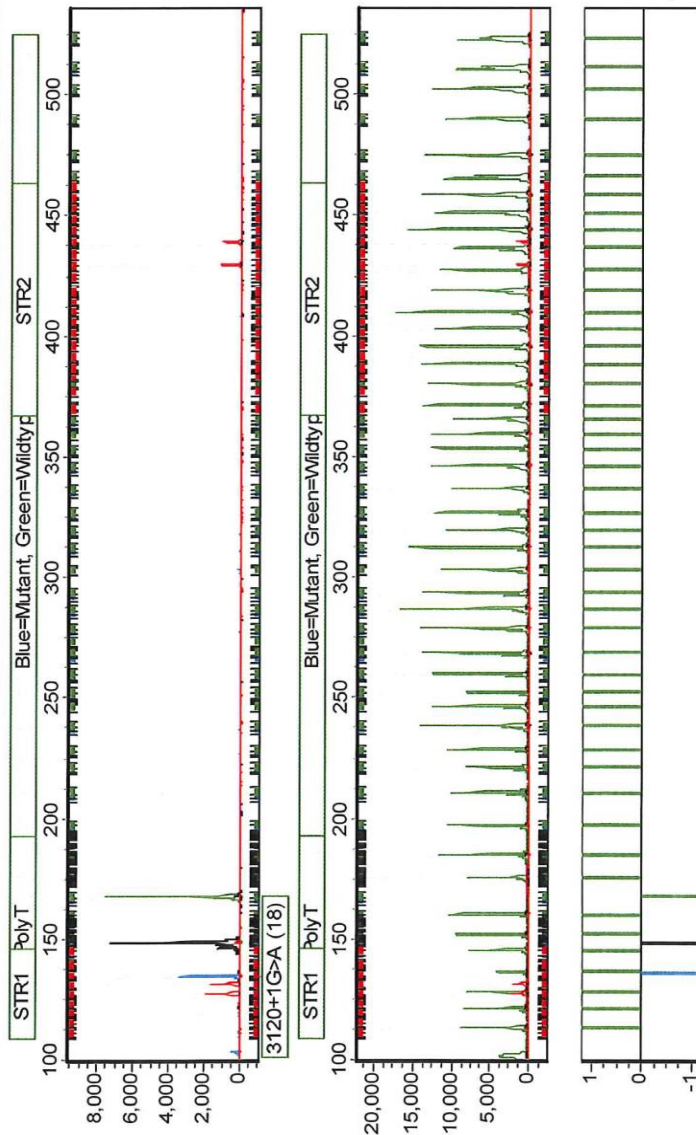
3) c.1646G>A, G -> A (het), p.Ser549Asn, rs121908755 (Gene file)



CF10\_CF\_ex12F\_D09\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E12  
Direction: forward  
Abs: 168



|                                                 |                                                                   |                                          |  |
|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|--|
| ARMS/Comparative Analysis Report - SoftGenetics |                                                                   |                                          |  |
| Sample:                                         | 11_B_F09_2018-08-22-15-44-55.fsa/11_A_D05_2018-08-22-15-44-55.fsa |                                          |  |
| Software:                                       | GeneMarker V2.6.3                                                 | Analysis Type: ARMS/Comparative Analysis |  |
| Project:                                        | Untitled                                                          | Panel: CF_EU2_POF7                       |  |
| Operator:                                       |                                                                   | Others: Chemistry: Lot #:                |  |
| Exp Time:                                       | 08/22/2018 - 16:20:44 -> 08/22/2018 - 16:55:54                    | Report Time: 08/23/2018 - 07:48:23       |  |



|                 |                    |         |  |
|-----------------|--------------------|---------|--|
| Conclusion      | 3120+1G>A hetero2. |         |  |
| Comments:       |                    |         |  |
| Authorization 1 | Date               | Initial |  |
| Authorization 2 | 20.9.18            |         |  |

| IVS 8  |        |
|--------|--------|
| Marker | Allele |
| PolyT  | 7-11   |
| PolyT  | 7-11   |

| No. | Mutation        | Wildtype | Mutant |
|-----|-----------------|----------|--------|
| 1   | R347H (8)       | 1        | 0      |
| 2   | R347P (8)       | 1        | 0      |
| 3   | 2789+5G>A (16)  | 1        | 0      |
| 4   | 3120+1G>A (18)  | 1        | 1      |
| 5   | 711+1G>T (6)    | 1        | 0      |
| 6   | R334W (8)       | 1        | 0      |
| 7   | 507del (11)     | 1        | 0      |
| 8   | F508del (11)    | 1        | 0      |
| 9   | 3849+10kbC>T    | 1        | 0      |
| 10  | 1677delTA (11)  | 1        | 0      |
| 11  | 1078delTT (8)   | 1        | 0      |
| 12  | V520F (11)      | 1        | 0      |
| 13  | L206W (6)       | 1        | 0      |
| 14  | W1282X (23)     | 1        | 0      |
| 15  | R560T (12)      | 1        | 0      |
| 16  | 2347delG (14)   | 1        | 0      |
| 17  | G890X (17)      | 1        | 0      |
| 18  | R553X (12)      | 1        | 0      |
| 19  | G551D (12)      | 1        | 0      |
| 20  | S549R (12)      | 1        | 0      |
| 21  | S549N (12)      | 1        | 0      |
| 22  | M1101K (20)     | 1        | 0      |
| 23  | G542X (12)      | 1        | 0      |
| 24  | 3905insT (23)   | 1        | 0      |
| 25  | Y1092X (20)     | 1        | 0      |
| 26  | S1251N (23)     | 1        | 0      |
| 27  | 444delA (4)     | 1        | 0      |
| 28  | 1811+1.6kbA>G   | 1        | 0      |
| 29  | 1717-1G>A (12)  | 1        | 0      |
| 30  | R117H (4)       | 1        | 0      |
| 31  | R117C (4)       | 1        | 0      |
| 32  | N1303K (24)     | 1        | 0      |
| 33  | Y122X (4)       | 1        | 0      |
| 34  | 394delTT (3)    | 1        | 0      |
| 35  | G85E (3)        | 1        | 0      |
| 36  | R1066C (20)     | 1        | 0      |
| 37  | 1898+1G>A (13)  | 1        | 0      |
| 38  | W846X (15)      | 1        | 0      |
| 39  | 2184delA (14-1) | 1        | 0      |
| 40  | D1152H (21)     | 1        | 0      |
| 41  | CFTRdel2.3      | 1        | 0      |
| 42  | P67L (3)        | 1        | 0      |
| 43  | 2143delT (14-1) | 1        | 0      |
| 44  | E60X (3)        | 1        | 0      |
| 45  | 3659delC (22)   | 1        | 0      |
| 46  | 3272-26A>G (20) | 1        | 0      |
| 47  | 621+1G>T (4)    | 1        | 0      |
| 48  | A455E (10)      | 1        | 0      |
| 49  | R1162X (22)     | 1        | 0      |
| 50  | R1158X (22)     | 1        | 0      |



# SEQUENCING REPORT

Patient: P-CF-Guatemala-11

Pat.-ID: CF-Guatemala-11 Family ID:

Order No: 182630006 (DNA No: CF-Guatemala-11) Sample Src:

Project:

Assigned by:

Date of assignment:

**GENE:** CFTR

MV: 20.9.2018

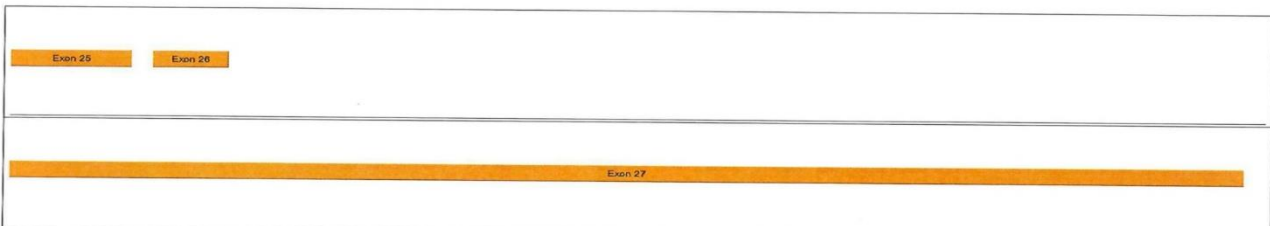
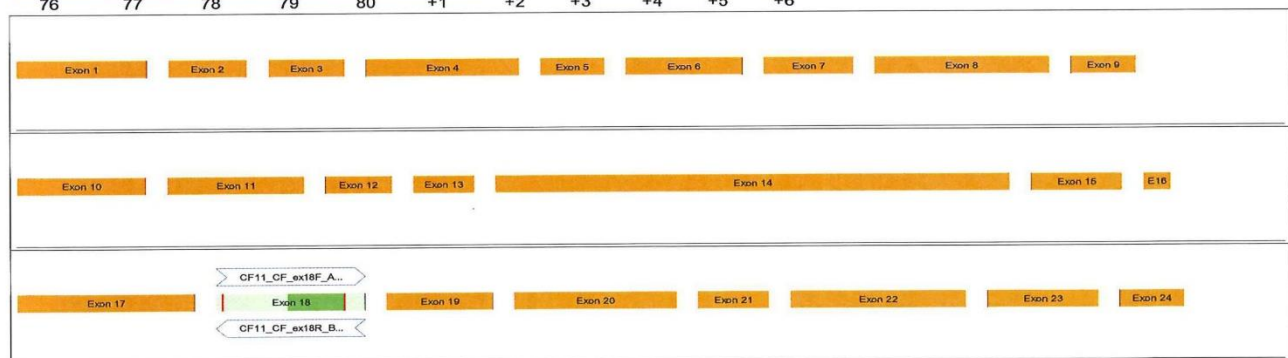
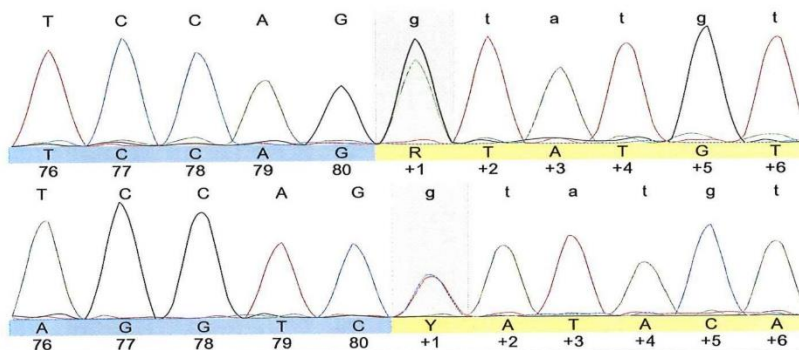
Gene-ID: ENSG00000001626

Transcript-ID: ENST00000003084

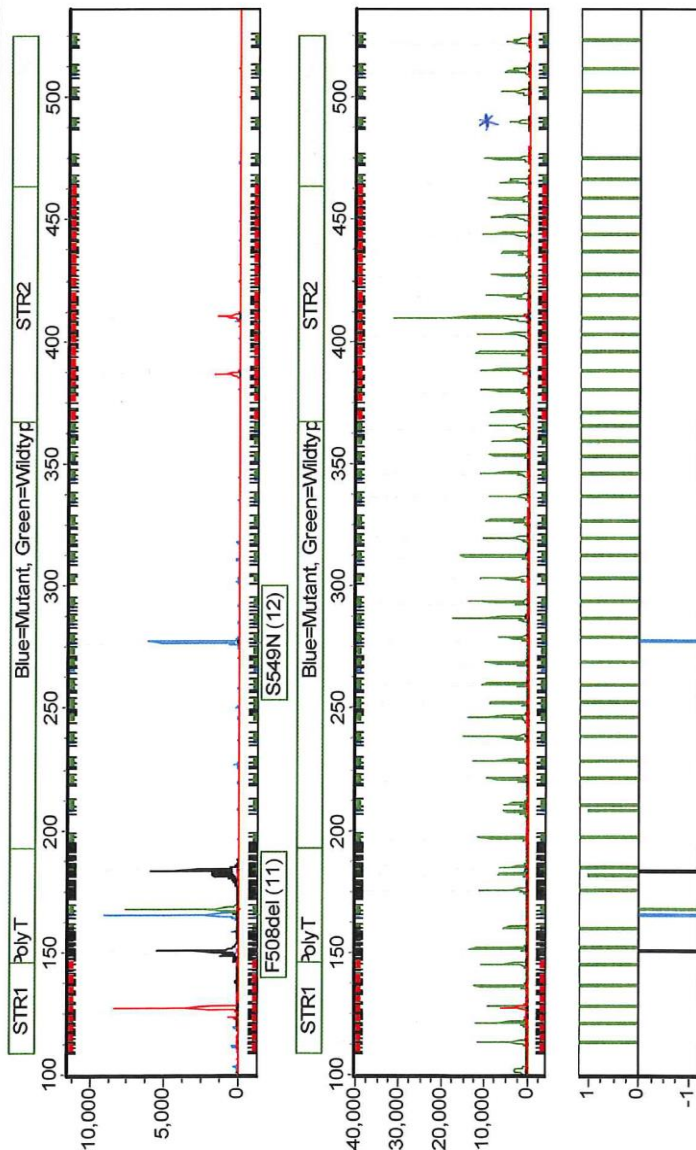
## Result:

| Index | Location | HGVS c.      | Nuc Change   | AA Name | Web Ref           | Mut Effect |
|-------|----------|--------------|--------------|---------|-------------------|------------|
| 1     | E18      | c.2909-92G>A | G -> A (het) |         | rs35050470 (Gene1 | benign     |
| 2     | E18      | c.2988+1G>A  | G -> A (het) |         | rs75096551 (Gene1 |            |

2) c.2988+1G>A, G -> A (het), , rs75096551 (Gene file)



|                                                                           |  |
|---------------------------------------------------------------------------|--|
| ARMS/Comparative Analysis Report - SoftGenetics                           |  |
| Sample: 13_B_H09_2018-08-22-15-44-55.fsa/13_A_F05_2018-08-22-15-44-55.fsa |  |
| Software: GeneMarker V2.6.3                                               |  |
| Project: Untitled                                                         |  |
| Operator:                                                                 |  |
| Exp Time: 08/22/2018 - 16:20:44 -> 08/22/2018 - 16:55:54                  |  |
| Report Time: 08/23/2018 - 07:48:23                                        |  |
| Analysis Type: ARMS/Comparative Analysis                                  |  |
| Panel: CF_EU2_POF7                                                        |  |
| Others: Chemistry: Lot#:                                                  |  |



|                 |               |         |  |
|-----------------|---------------|---------|--|
| Conclusion      | F508del/S549N |         |  |
| Comments:       |               |         |  |
| Authorization 1 | Date          | Initial |  |
| Authorization 2 | 20.9.18       | JS      |  |

| IVS 8  |        |  |
|--------|--------|--|
| Marker | Allele |  |
| PolyT  | 7-12   |  |
| PolyT  | 9-10   |  |

| No. | Mutation          | Wildtype | Mutant |
|-----|-------------------|----------|--------|
| 1   | R347H (8)         | 1        | 0      |
| 2   | R347P (8)         | 1        | 0      |
| 3   | 2789+5G>A (16)    | 1        | 0      |
| 4   | 3120+1G>A (18)    | 1        | 0      |
| 5   | 711+1G>T (6)      | 1        | 0      |
| 6   | R334W (8)         | 1        | 0      |
| 7   | F507del (11)      | 1        | 0      |
| 8   | F508del (11)      | 1        | 1      |
| 9   | 3849+10kC>T       | 1        | 0      |
| 10  | 1677delTA (11)    | 1        | 0      |
| 11  | 1078delT (8)      | 1        | 0      |
| 12  | V520F (11)        | 1        | 0      |
| 13  | L206W (6)         | 1        | 0      |
| 14  | W1282X (23)       | 1        | 0      |
| 15  | R560I (12)        | 1        | 0      |
| 16  | 2347delG (14)     | 1        | 0      |
| 17  | Q890X (17)        | 1        | 0      |
| 18  | R353X (12)        | 1        | 0      |
| 19  | G551D (12)        | 1        | 0      |
| 20  | S549R (T>G) (12)  | 0        | 0      |
| 21  | S549N (12)        | 1        | 1      |
| 22  | M1101K (20)       | 1        | 0      |
| 23  | G542X (12)        | 1        | 0      |
| 24  | 3905insT (23)     | 1        | 0      |
| 25  | Y1092X (C>A) (20) | 1        | 0      |
| 26  | S1251N (23)       | 1        | 0      |
| 27  | 444delA (4)       | 1        | 0      |
| 28  | 1811+1.6kA>G      | 1        | 0      |
| 29  | 1717-1G>A (12)    | 1        | 0      |
| 30  | R117H (4)         | 1        | 0      |
| 31  | R117C (4)         | 1        | 0      |
| 32  | N1303K (24)       | 1        | 0      |
| 33  | Y122X (4)         | 1        | 0      |
| 34  | 394delTT (3)      | 1        | 0      |
| 35  | G85E (3)          | 1        | 0      |
| 36  | R1066C (20)       | 1        | 0      |
| 37  | 1898+1G>A (13)    | 1        | 0      |
| 38  | W846X (15)        | 1        | 0      |
| 39  | 2184delA (14-1)   | 1        | 0      |
| 40  | D1152H (21)       | 1        | 0      |
| 41  | CF-TRdel2.3       | 1        | 0      |
| 42  | P671 (3)          | 1        | 0      |
| 43  | 2143delT (14-1)   | 1        | 0      |
| 44  | E60X (3)          | 1        | 0      |
| 45  | 3659delC (22)     | 1        | 0      |
| 46  | 3272-26A>G (20)   | 1        | 0      |
| 47  | 821+1G>T (4)      | 0        | 1      |
| 48  | A455E (10)        | 1        | 0      |
| 49  | R1162X (22)       | 1        | 0      |
| 50  | R1158X (22)       | 1        | 0      |

\* peak present but weak!



## SEQUENCING REPORT

Patient: P-CF-Guatemala-13

Pat.-ID: CF-Guatemala-13 Family ID:

Order No: 182630007 (DNA No: CF-Guatemala-13) Sample Src:

Project:

Assigned by:

Date of assignment:

**GENE:** CFTR

MV: 20.9.2018 *fs*

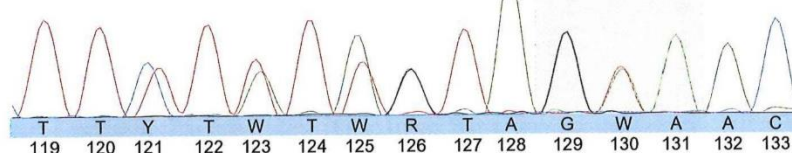
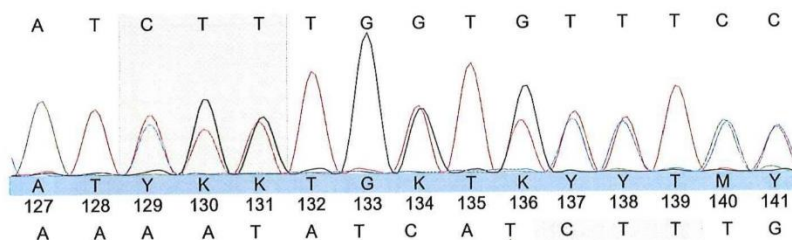
Gene-ID: ENSG00000001626

Transcript-ID: ENST00000003084

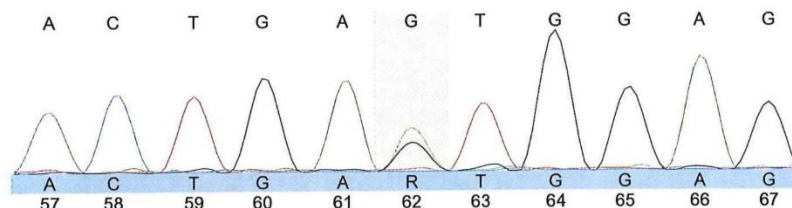
### Result:

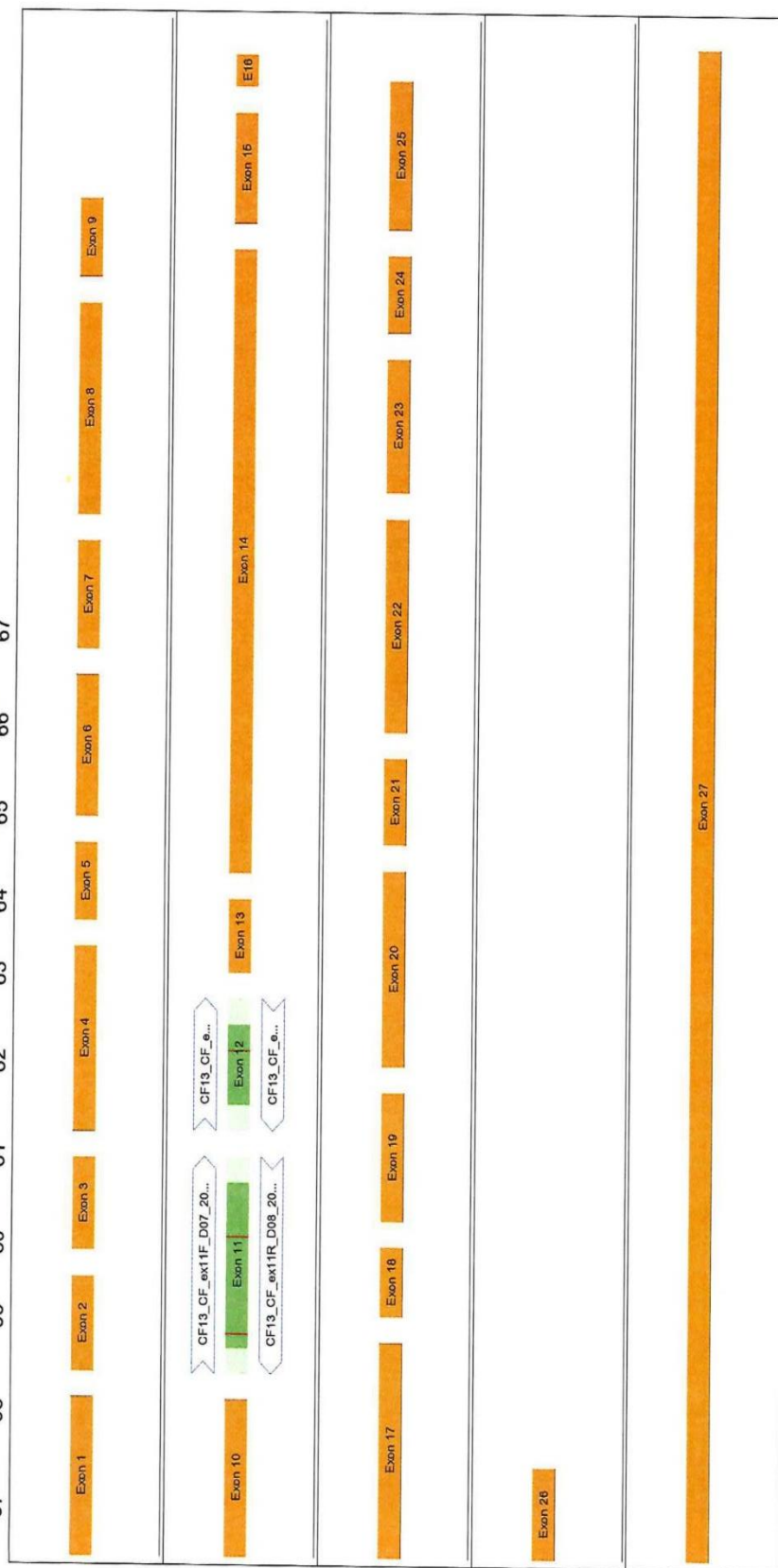
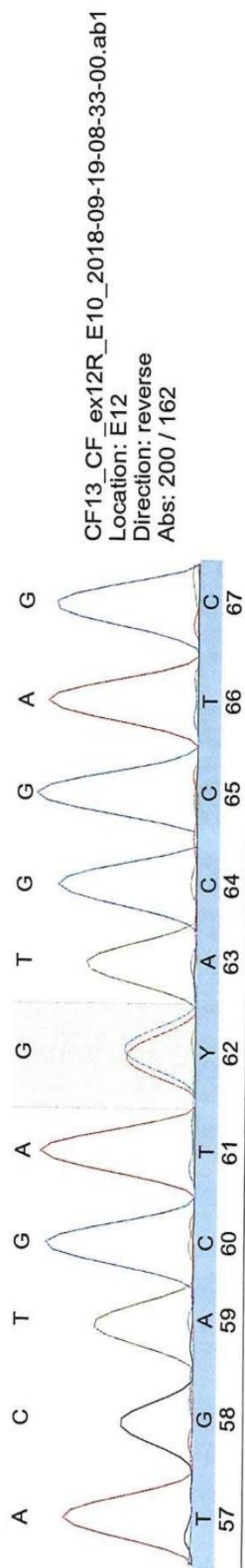
| Index | Location | HGVS c.           | Nuc Change   | AA Name     | Web Ref           | Mut Effect |
|-------|----------|-------------------|--------------|-------------|-------------------|------------|
| 1     | E11      | c.1521_1523delCTT | CTT (het)    | p.Phe508del | rs113993960 (Gene |            |
| 2     | E12      | c.1646G>A         | G -> A (het) | p.Ser549Asn | rs121908755 (Gene |            |

1) c.1521\_1523delCTT, CTT (het), p.Phe508del, rs113993960 (Gene file)

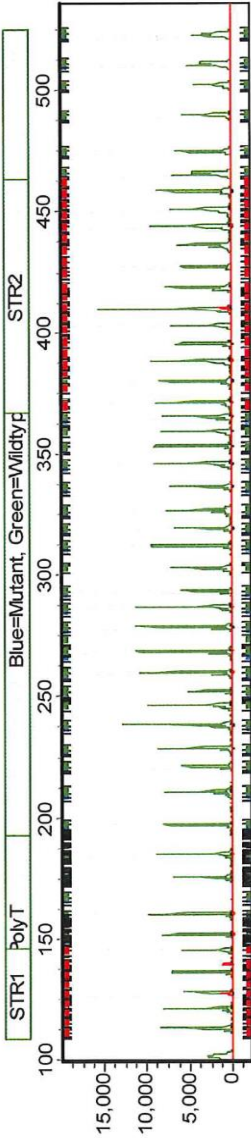
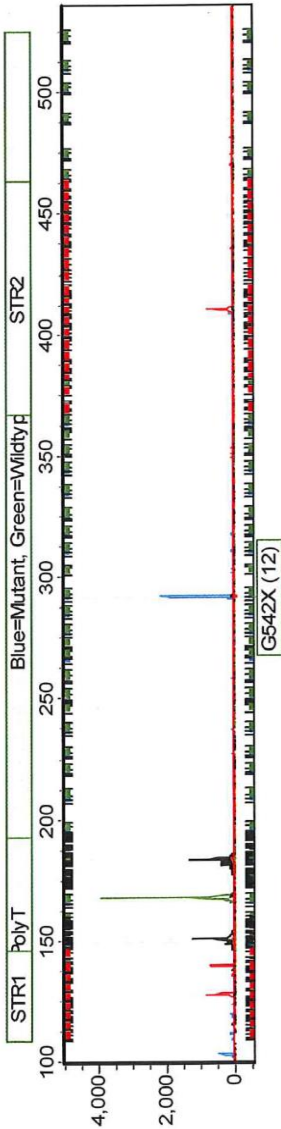


2) c.1646G>A, G -> A (het), p.Ser549Asn, rs121908755 (Gene file)





| ARMS/Comparative Analysis Report - SoftGenetics |                                                                   |                                          |                       |
|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------|
| Sample:                                         | 15_B_B10_2018-08-22-15-44-55.fsa/15_A_H05_2018-08-22-15-44-55.fsa |                                          |                       |
| Software:                                       | GeneMarker V2.6.3                                                 | Analysis Type: ARMS/Comparative Analysis |                       |
| Project:                                        | Untitled                                                          | Panel:                                   | CF_EU2_POP7           |
| Operator:                                       |                                                                   | Others:                                  | Chemistry: Lot#:      |
| Exp Time:                                       | 08/22/2018 - 16:57:13 -> 08/22/2018 - 17:32:19                    | Report Time:                             | 08/23/2018 - 07:48:23 |



|                 |                |         |  |
|-----------------|----------------|---------|--|
| Conclusion      | G542X hetero2. |         |  |
| Comments:       |                |         |  |
| Authorization 1 | Date           | Initial |  |
| Authorization 2 | 20.9.18        |         |  |

| IVS 8  |        |
|--------|--------|
| Marker | Allele |
| PolyT  | 7-12   |
| PolyT  | 9-10   |

| No. | Mutation          | Wildtype | Mutant |
|-----|-------------------|----------|--------|
| 1   | R347H (8)         | 1        | 0      |
| 2   | R347P (8)         | 1        | 0      |
| 3   | 2789+5G>A (16)    | 1        | 0      |
| 4   | 3120+1G>A (18)    | 1        | 0      |
| 5   | 711+1G>T (6)      | 1        | 0      |
| 6   | R334W (8)         | 1        | 0      |
| 7   | F507del (11)      | 1        | 0      |
| 8   | F508del (11)      | 1        | 0      |
| 9   | 3849+10kb>T       | 1        | 0      |
| 10  | 1677delTA (11)    | 1        | 0      |
| 11  | 1078delT (8)      | 1        | 0      |
| 12  | V520F (11)        | 1        | 0      |
| 13  | L206W (6)         | 1        | 0      |
| 14  | W1282X (23)       | 1        | 0      |
| 15  | R560T (12)        | 1        | 0      |
| 16  | 2347delG (14)     | 1        | 0      |
| 17  | O890X (17)        | 1        | 0      |
| 18  | R553X (12)        | 1        | 0      |
| 19  | G551D (12)        | 1        | 0      |
| 20  | S549R (1>G) (12)  | 0        | 0      |
| 21  | S549N (12)        | 1        | 0      |
| 22  | M1101K (20)       | 1        | 0      |
| 23  | G542X (12)        | 1        | 1      |
| 24  | 3905insT (23)     | 1        | 0      |
| 25  | Y1092X (C>A) (20) | 1        | 0      |
| 26  | S1251N (23)       | 1        | 0      |
| 27  | 444delA (4)       | 1        | 0      |
| 28  | 1811+1.6kbpA>G    | 1        | 0      |
| 29  | 1717+1G>A (12)    | 1        | 0      |
| 30  | R117H (4)         | 1        | 0      |
| 31  | R117C (4)         | 1        | 0      |
| 32  | N1303K (24)       | 1        | 0      |
| 33  | Y122X (4)         | 1        | 0      |
| 34  | 394delT (3)       | 1        | 0      |
| 35  | G85E (3)          | 1        | 0      |
| 36  | R1066C (20)       | 1        | 0      |
| 37  | 1898+1G>A (13)    | 1        | 0      |
| 38  | W846X (15)        | 1        | 0      |
| 39  | 2184delA (14-1)   | 1        | 0      |
| 40  | D1152H (21)       | 1        | 0      |
| 41  | CFTRdel2.3        | 1        | 0      |
| 42  | P67L (3)          | 1        | 0      |
| 43  | 2143delT (14-1)   | 1        | 0      |
| 44  | E60X (3)          | 1        | 0      |
| 45  | 3659delC (22)     | 1        | 0      |
| 46  | 3272-26A>G (20)   | 1        | 0      |
| 47  | 621+1G>T (4)      | 1        | 0      |
| 48  | A455E (10)        | 1        | 0      |
| 49  | R1162X (22)       | 1        | 0      |
| 50  | R1158X (22)       | 1        | 0      |



## SEQUENCING REPORT

Patient: P-CF-Guatemala-15

Pat-ID: CF-Guatemala-15 Family ID:

Order No: 182630008 (DNA No: CF-Guatemala-15) Sample Src:

Project:

Assigned by:

Date of assignment:

**GENE:** CFTR

MV: 20.9.2018

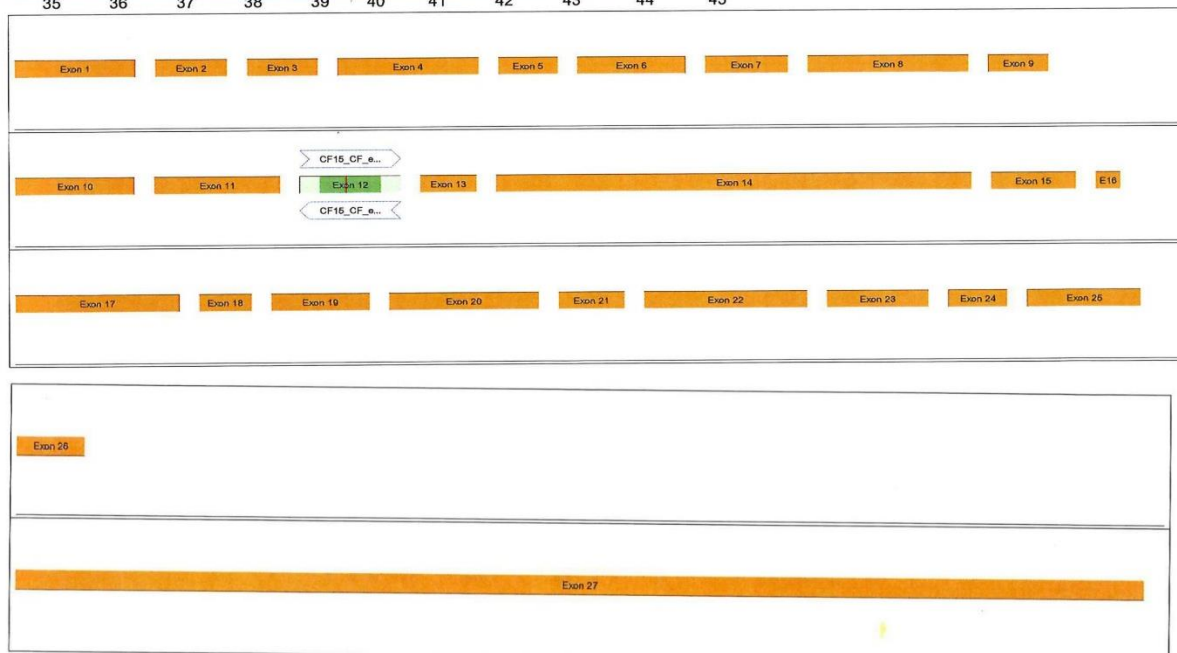
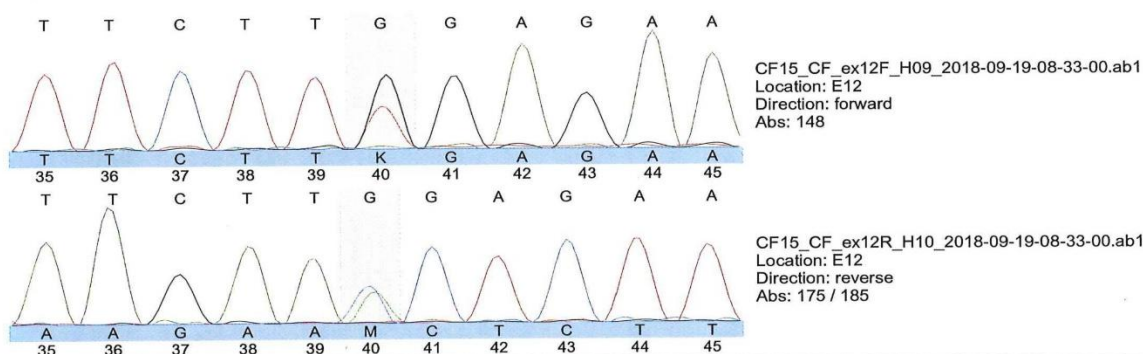
Gene-ID: ENSG00000001626

Transcript-ID: ENST00000003084

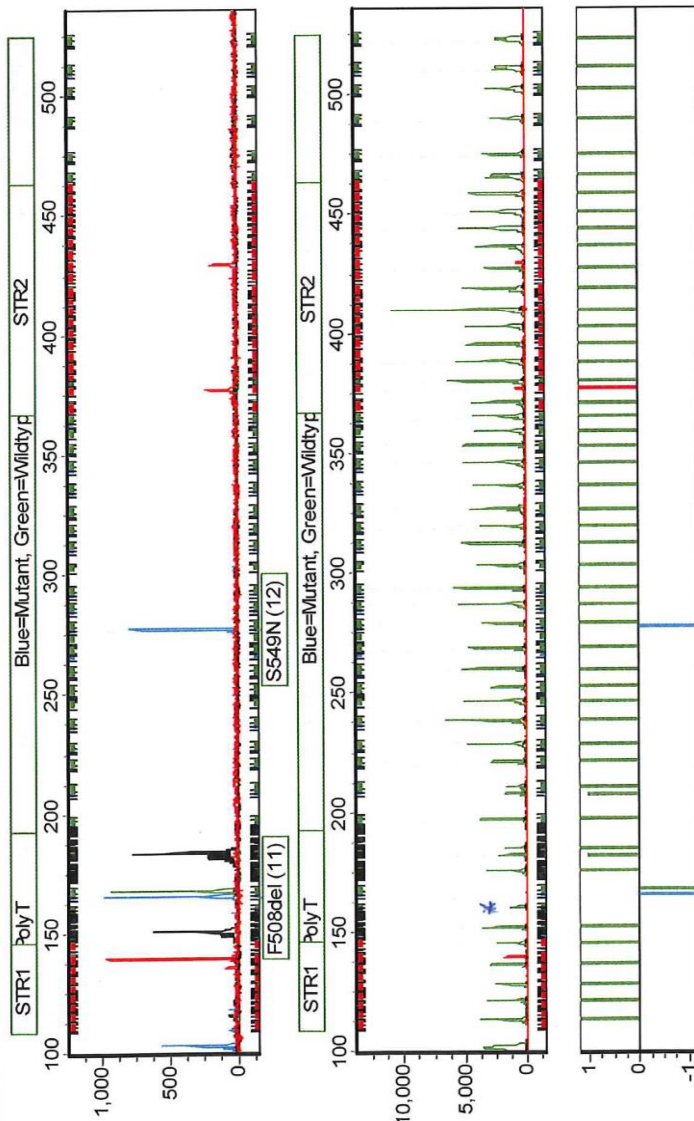
### Result:

| Index | Location | HGVS c.   | Nuc Change   | AA Name     | Web Ref            | Mut Effect |
|-------|----------|-----------|--------------|-------------|--------------------|------------|
| 1     | E12      | c.1624G>T | G -> T (het) | p.Gly542Ter | rs113993959 (Gene) |            |

1) c.1624G>T, G -> T (het), p.Gly542Ter, rs113993959 (Gene file)



|                                                                           |  |
|---------------------------------------------------------------------------|--|
| ARMS/Comparative Analysis Report - SoftGenetics                           |  |
| Sample: 18_B_E10_2018-08-22-15-44-55.fsa/18_A_C06_2018-08-22-15-44-55.fsa |  |
| Software: GeneMarker V2.6.3                                               |  |
| Project: Untitled                                                         |  |
| Operator:                                                                 |  |
| Exp Time: 08/22/2018 - 16:57:13 -> 08/22/2018 - 17:32:19                  |  |
| Report Time: 08/23/2018 - 07:48:24                                        |  |
| Analysis Type: ARMS/Comparative Analysis                                  |  |
| Panel: CF_EU2_POP7                                                        |  |
| Others: Chemistry: Lot #:                                                 |  |



|                 |                 |         |
|-----------------|-----------------|---------|
| Conclusion      | F508del / S549N |         |
| Comments:       |                 |         |
| Authorization 1 | Date            | Initial |
| Authorization 2 | 20.9.18         | JS      |

| IVS 8  |        |
|--------|--------|
| Marker | Allele |

| No. | Mutation         | Wildtype | Mutant |
|-----|------------------|----------|--------|
| 1   | R347H (8)        | 1        | 0      |
| 2   | R347P (8)        | 1        | 0      |
| 3   | 2789+5G>A (16)   | 1        | 0      |
| 4   | 3120+1G>A (18)   | 1        | 0      |
| 5   | 711+1G>T (6)     | 1        | 0      |
| 6   | R334W (8)        | 1        | 0      |
| 7   | F507del (11)     | 0        | 1      |
| 8   | F508del (11)     | 1        | 1      |
| 9   | 3849+10kb>T      | 1        | 0      |
| 10  | 1677delTA (11)   | 1        | 0      |
| 11  | 1078delT (8)     | 1        | 0      |
| 12  | V520F (11)       | 1        | 0      |
| 13  | L206W (6)        | 1        | 0      |
| 14  | W1282X (23)      | 1        | 0      |
| 15  | R560T (12)       | 1        | 0      |
| 16  | 2347delG (14)    | 1        | 0      |
| 17  | Q890X (17)       | 1        | 0      |
| 18  | R553X (12)       | 1        | 0      |
| 19  | G551D (12)       | 1        | 0      |
| 20  | S549R/T>G (12)   | 0        | 0      |
| 21  | S549N (12)       | 1        | 1      |
| 22  | W1101K (20)      | 1        | 0      |
| 23  | G542X (12)       | 1        | 0      |
| 24  | 3905insT (23)    | 1        | 0      |
| 25  | Y1092X(C>A) (20) | 1        | 0      |
| 26  | S1251N (23)      | 1        | 0      |
| 27  | 444delA (4)      | 1        | 0      |
| 28  | 1811+1.6kbA>G    | 1        | 0      |
| 29  | 1717-1G>A (12)   | 1        | 0      |
| 30  | R117H (4)        | 1        | 0      |
| 31  | R117C (4)        | 1        | 0      |
| 32  | N1303K (24)      | 1        | 0      |
| 33  | Y122X (4)        | 1        | 0      |
| 34  | 394delTT (3)     | 1        | 0      |
| 35  | G85E (3)         | 1        | 0      |
| 36  | R1066G (20)      | 1        | 0      |
| 37  | 1898+1G>A (13)   | 1        | 0      |
| 38  | W846X (15)       | 1        | 0      |
| 39  | 2184delA (14-1)  | 1        | 0      |
| 40  | D1152H (21)      | 1        | 0      |
| 41  | CFTRdel2.3       | 1        | 0      |
| 42  | P67L (3)         | 1        | 0      |
| 43  | 2143delT (14-1)  | 1        | 0      |
| 44  | F50X (3)         | 1        | 0      |
| 45  | 3659delC (22)    | 1        | 0      |
| 46  | 3272-26A>G (20)  | 1        | 0      |
| 47  | 621+1G>T (4)     | 1        | 0      |
| 48  | A455E (10)       | 1        | 0      |
| 49  | R1162X (22)      | 1        | 0      |
| 50  | R1158X (22)      | 1        | 0      |

\* peak present but weak!



# SEQUENCING REPORT

Patient: P-CF-Guatemala-18

Pat.-ID: CF-Guatemala-18 Family ID:

Order No: 182630009 (DNA No: CF-Guatemala-18) Sample Src:

Project:

Assigned by:

Date of assignment:

**GENE:** CFTR

MV: 20.9.2018

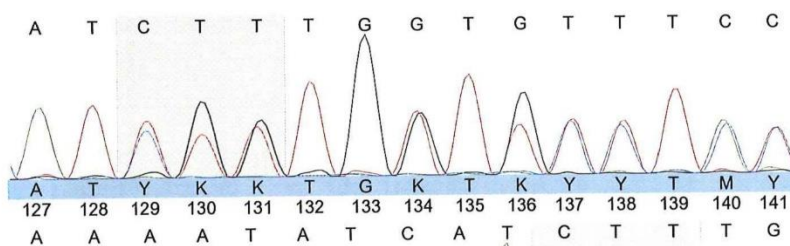
Gene-ID: ENSG00000001626

Transcript-ID: ENST00000003084

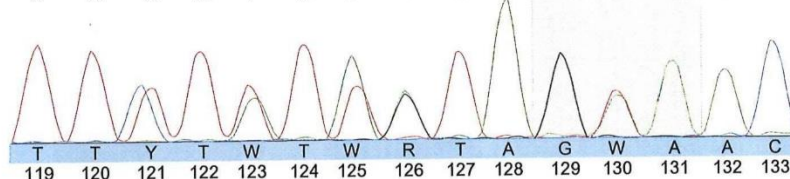
## Result:

| Index | Location | HGVS c.               | Nuc Change    | AA Name     | Web Ref                 | Mut Effect |
|-------|----------|-----------------------|---------------|-------------|-------------------------|------------|
| 1     | E11      | c.1408G>A             | G -> A (homo) | p.Val470Met | rs213950 (Gene file)    | benign     |
| 2     | E11      | c.1521_1523delC<br>TT | CTT (het)     | p.Phe508del | rs113993960 (Gene file) |            |
| 3     | E12      | c.1646G>A             | G -> A (het)  | p.Ser549Asn | rs121908755 (Gene file) |            |

2) c.1521\_1523delCTT, CTT (het), p.Phe508del, rs113993960 (Gene file)

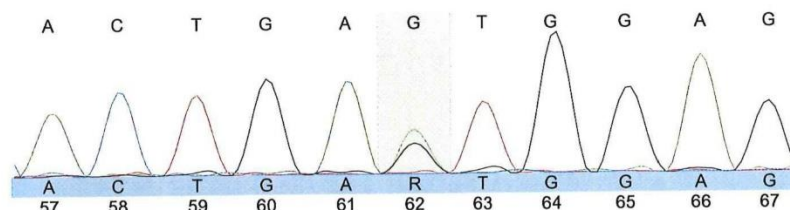


CF18\_CF\_ex11F\_E07\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E11  
Direction: forward  
Abs: 280

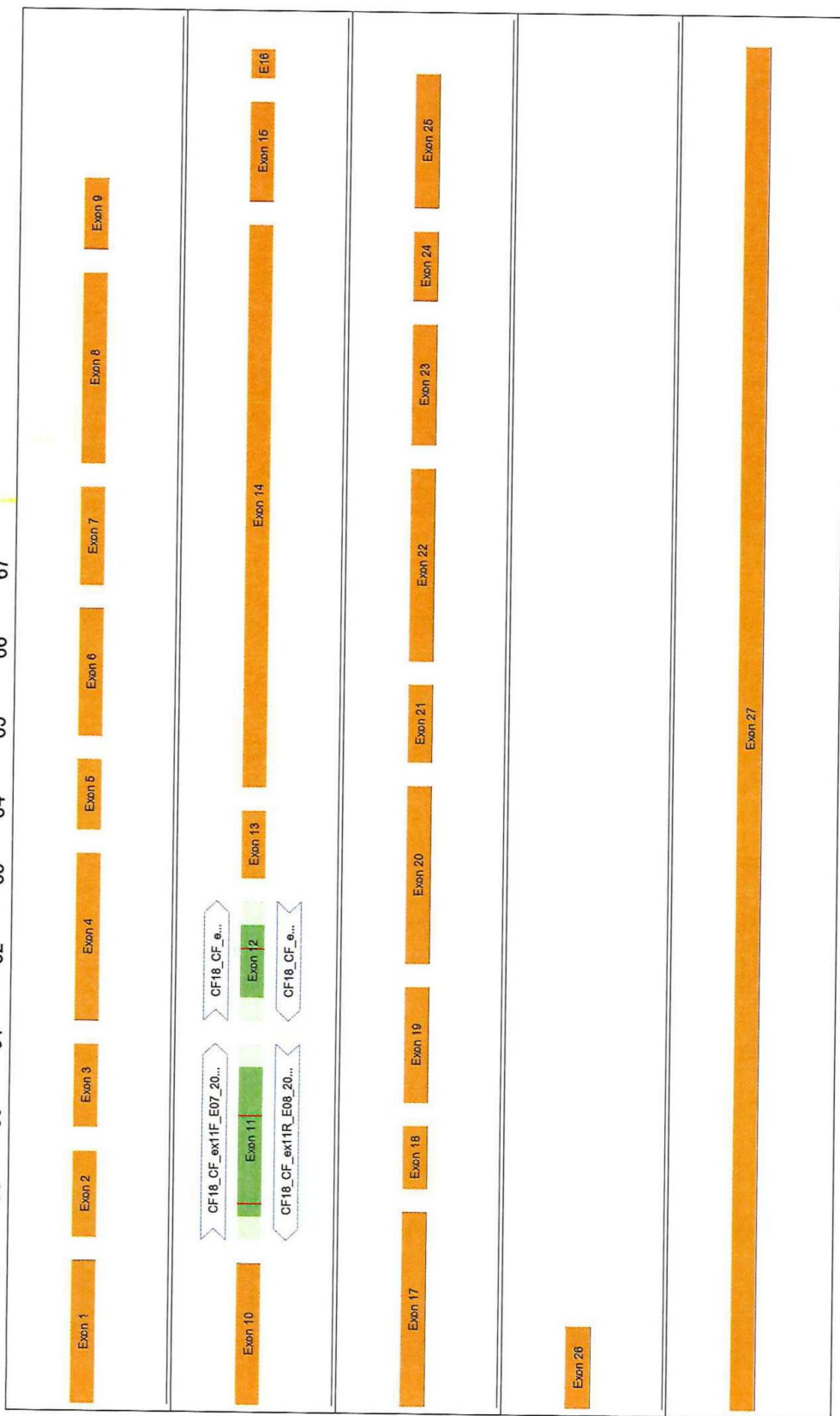
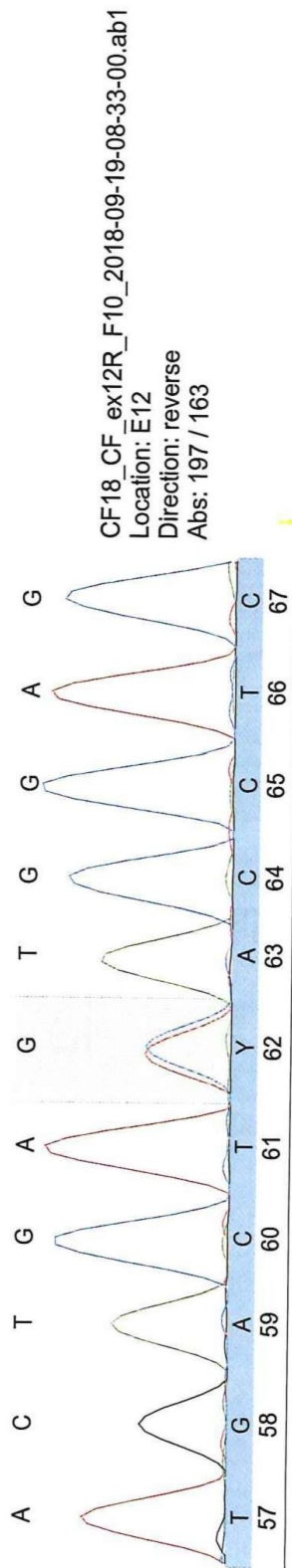


CF18\_CF\_ex11R\_E08\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E11  
Direction: reverse  
Abs: 314 / 184

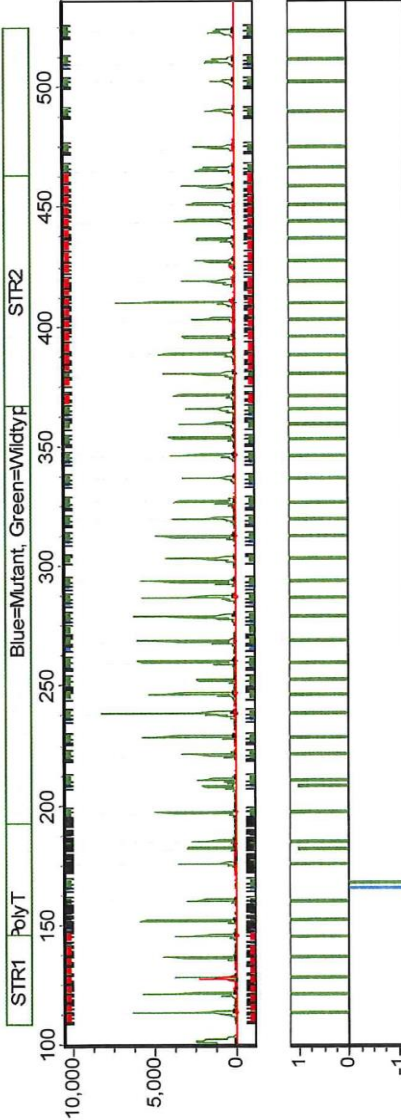
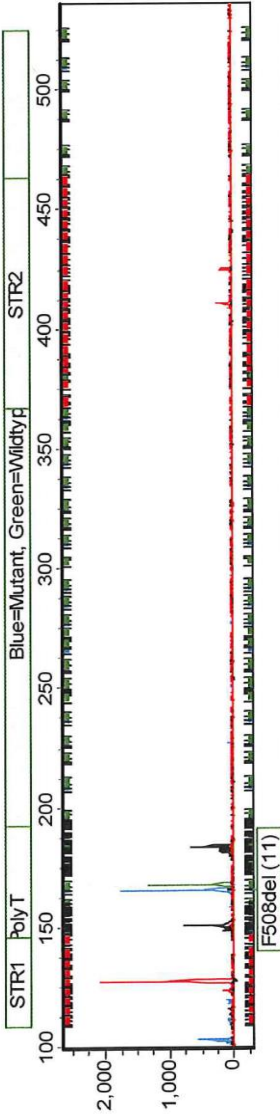
3) c.1646G>A, G -> A (het), p.Ser549Asn, rs121908755 (Gene file)



CF18\_CF\_ex12F\_F09\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E12  
Direction: forward  
Abs: 167



|                                                                           |  |  |  |
|---------------------------------------------------------------------------|--|--|--|
| ARMS/Comparative Analysis Report - SoftGenetics                           |  |  |  |
| Sample: 24_B_C11_2018-08-22-15-44-55.fsa/24_A_A07_2018-08-22-15-44-55.fsa |  |  |  |
| Software: GeneMarker V2.6.3                                               |  |  |  |
| Project: Untitled                                                         |  |  |  |
| Operator:                                                                 |  |  |  |
| Exp Time: 08/22/2018 - 16:57:13 -> 08/22/2018 - 17:32:19                  |  |  |  |
| Report Time: 08/23/2018 - 07:48:25                                        |  |  |  |
| Panel: CF_EU2_POP7                                                        |  |  |  |
| Others: Chemistry: Lot #:                                                 |  |  |  |



|        |        |
|--------|--------|
| IVS 8  |        |
| Marker | Allele |

|                 |                  |         |  |
|-----------------|------------------|---------|--|
| Conclusion      | F508del heteroz. |         |  |
| Comments:       |                  |         |  |
| Authorization 1 | Date             | Initial |  |
| Authorization 2 | 20.9.18          |         |  |

| No | Mutation          | Wildtype | Mutant |
|----|-------------------|----------|--------|
| 1  | R347H (8)         | 1        | 0      |
| 2  | R347P (8)         | 1        | 0      |
| 3  | 2789+5G>A (16)    | 1        | 0      |
| 4  | 3120+1G>A (18)    | 1        | 0      |
| 5  | 711+1G>T (6)      | 1        | 0      |
| 6  | R334W (8)         | 1        | 0      |
| 7  | I507del (11)      | 1        | 0      |
| 8  | F508del (11)      | 1        | 1      |
| 9  | 3849+10kbC>T      | 1        | 0      |
| 10 | 1677delTA (11)    | 1        | 0      |
| 11 | 1078delT (8)      | 1        | 0      |
| 12 | V520F (11)        | 1        | 0      |
| 13 | I206W (6)         | 1        | 0      |
| 14 | W1282X (23)       | 1        | 0      |
| 15 | R560T (12)        | 1        | 0      |
| 16 | 2347delG (14)     | 1        | 0      |
| 17 | Q890X (17)        | 1        | 0      |
| 18 | R553X (12)        | 1        | 0      |
| 19 | G551D (12)        | 1        | 0      |
| 20 | S549R (12)        | 1        | 0      |
| 21 | S549N (12)        | 1        | 0      |
| 22 | M1101K (20)       | 1        | 0      |
| 23 | G542X (12)        | 1        | 0      |
| 24 | 3905insT (23)     | 1        | 0      |
| 25 | Y1092X (C>A) (20) | 1        | 0      |
| 26 | S1251N (23)       | 1        | 0      |
| 27 | 4444delA (4)      | 1        | 0      |
| 28 | 1811+1.6kbA>G     | 1        | 0      |
| 29 | 1717-1G>A (12)    | 1        | 0      |
| 30 | R117H (4)         | 1        | 0      |
| 31 | R117C (4)         | 1        | 0      |
| 32 | N1303K (24)       | 1        | 0      |
| 33 | Y122X (4)         | 1        | 0      |
| 34 | 3944delTT (3)     | 1        | 0      |
| 35 | G85E (3)          | 1        | 0      |
| 36 | R1066C (20)       | 1        | 0      |
| 37 | 1898+1G>A (13)    | 1        | 0      |
| 38 | W846X (15)        | 1        | 0      |
| 39 | 2184delA (14-1)   | 1        | 0      |
| 40 | D1152H (21)       | 1        | 0      |
| 41 | CFTRdele2.3       | 1        | 0      |
| 42 | P67L (3)          | 1        | 0      |
| 43 | 2143delTT (14-1)  | 1        | 0      |
| 44 | F60X (3)          | 1        | 0      |
| 45 | 3659delC (22)     | 1        | 0      |
| 46 | 3272-26A>G (20)   | 1        | 0      |
| 47 | 621+1G>T (4)      | 1        | 0      |
| 48 | A455E (10)        | 1        | 0      |
| 49 | R1162X (22)       | 1        | 0      |
| 50 | R1158X (22)       | 1        | 0      |



## SEQUENCING REPORT

Patient: P-CF-Guatemala-24

Pat.-ID: CF-Guatemala-24 Family ID:

Order No: 182630010 (DNA No: CF-Guatemala-24) Sample Src:

Project:

Assigned by:

Date of assignment:

**GENE:** CFTRMV: 20.9.2018 *JS*

Gene-ID:

ENSG00000001626

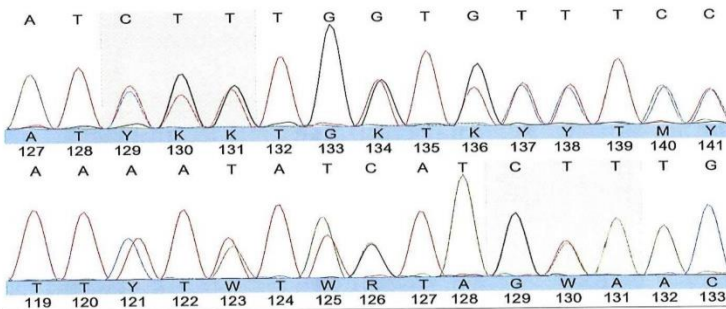
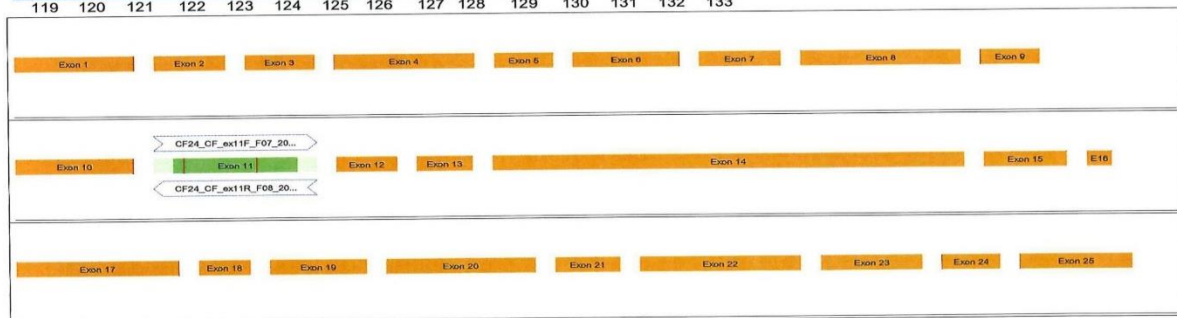
Transcript-ID:

ENST00000003084

**Result:**

| Index | Location | HGVS c.               | Nuc Change    | AA Name     | Web Ref              | Mut Effect |
|-------|----------|-----------------------|---------------|-------------|----------------------|------------|
| 1     | E11      | c.1408G>A             | G -> A (homo) | p.Val470Met | rs213950 (Gene file) | benign     |
| 2     | E11      | c.1521_1523delC<br>TT | CTT (het)     | p.Phe508del | rs113993960 (Gene    |            |

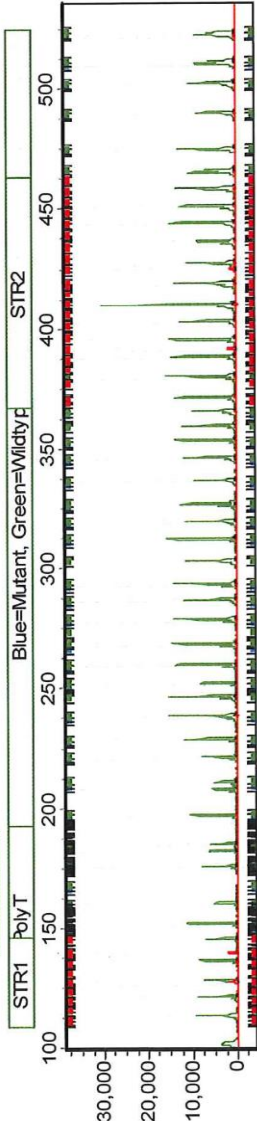
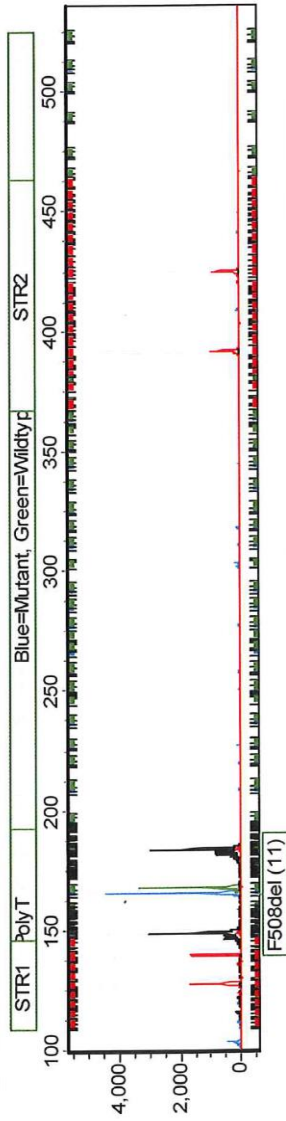
2) c.1521\_1523delCTT, CTT (het), p.Phe508del, rs113993960 (Gene file)

CF24\_CF\_ex11F\_F07\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E11  
Direction: forward  
Abs: 278CF24\_CF\_ex11R\_F08\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E11  
Direction: reverse  
Abs: 314 / 185

Exon 26

Exon 27

|                                                 |                                                                   |                                          |  |
|-------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|--|
| ARMS/Comparative Analysis Report - SoftGenetics |                                                                   |                                          |  |
| Sample:                                         | 28_B_G11_2018-08-22-15-44-55.fsa/28_A_E07_2018-08-22-15-44-55.fsa |                                          |  |
| Software:                                       | GeneMarker V2.6.3                                                 | Analysis Type: ARMS/Comparative Analysis |  |
| Project:                                        | Untitled                                                          | Panel: CF_EU2_POP7                       |  |
| Operator:                                       |                                                                   | Others: Chemistry: Lot #:                |  |
| Exp Time:                                       | 08/22/2018 - 16:57:13 -> 08/22/2018 - 17:32:19                    | Report Time: 08/23/2018 - 07:48:26       |  |



|                 |                  |         |  |
|-----------------|------------------|---------|--|
| Conclusion      | F508del hetero2. |         |  |
| Comments:       |                  |         |  |
| Authorization 1 | Date             | Initial |  |
| Authorization 2 | 20.9.18          |         |  |

|        |        |
|--------|--------|
| IVS 8  |        |
| Marker | Allele |
| PolyT  | 7-11   |
| PolyT  | 9-10   |

| No. | Mutation          | Wildtype | Mutant |
|-----|-------------------|----------|--------|
| 1   | R347H (8)         | 1        | 0      |
| 2   | R347P (8)         | 1        | 0      |
| 3   | 2789+5G>A (16)    | 1        | 0      |
| 4   | 3120+1G>A (18)    | 1        | 0      |
| 5   | 711+1G>T (6)      | 1        | 0      |
| 6   | R334W (8)         | 1        | 0      |
| 7   | I507del (11)      | 1        | 0      |
| 8   | F508del (11)      | 1        | 1      |
| 9   | 3849+10kbC>T      | 1        | 0      |
| 10  | 1677delTA (11)    | 1        | 0      |
| 11  | 1078delT (8)      | 1        | 0      |
| 12  | V520F (11)        | 1        | 0      |
| 13  | I206W (6)         | 1        | 0      |
| 14  | W1282X (23)       | 1        | 0      |
| 15  | R560T (12)        | 1        | 0      |
| 16  | 2347delG (14)     | 1        | 0      |
| 17  | Q890X (17)        | 1        | 0      |
| 18  | R553X (12)        | 1        | 0      |
| 19  | G551D (12)        | 1        | 0      |
| 20  | S549R (T>G) (12)  | 0        | 0      |
| 21  | S549N (12)        | 1        | 0      |
| 22  | M1101K (20)       | 1        | 0      |
| 23  | G542X (12)        | 1        | 0      |
| 24  | 3905insT (23)     | 1        | 0      |
| 25  | Y1092X (C>A) (20) | 1        | 0      |
| 26  | S1251N (23)       | 1        | 0      |
| 27  | 444delA (4)       | 1        | 0      |
| 28  | 1811+1.6kbA>G     | 1        | 0      |
| 29  | 1717-1G>A (12)    | 1        | 0      |
| 30  | R117H (4)         | 1        | 0      |
| 31  | R117C (4)         | 1        | 0      |
| 32  | N1303K (24)       | 1        | 0      |
| 33  | Y122X (4)         | 1        | 0      |
| 34  | 394delTT (3)      | 1        | 0      |
| 35  | G85E (3)          | 1        | 0      |
| 36  | R1066C (20)       | 1        | 0      |
| 37  | 1898+1G>A (13)    | 1        | 0      |
| 38  | W846X (15)        | 1        | 0      |
| 39  | 2184delA (14-1)   | 1        | 0      |
| 40  | D1152H (21)       | 1        | 0      |
| 41  | CFTRdele2-3       | 1        | 0      |
| 42  | P67L (3)          | 1        | 0      |
| 43  | 2143delT (14-1)   | 1        | 0      |
| 44  | E60X (3)          | 1        | 0      |
| 45  | 3659delC (22)     | 1        | 0      |
| 46  | 3272-26A>G (20)   | 1        | 0      |
| 47  | 621+1G>T (4)      | 1        | 0      |
| 48  | A455E (10)        | 1        | 0      |
| 49  | R1162X (22)       | 1        | 0      |
| 50  | R1158X (22)       | 1        | 0      |



# SEQUENCING REPORT

Patient: P-CF-Guatemala-28

Pat.-ID: CF-Guatemala-28 Family ID:

Order No: 182630011 (DNA No: CF-Guatemala-28) Sample Src:

Project:

Assigned by:

Date of assignment:

**GENE:****CFTR**

MV: 20.9.2018 / s

Gene-ID:

ENSG00000001626

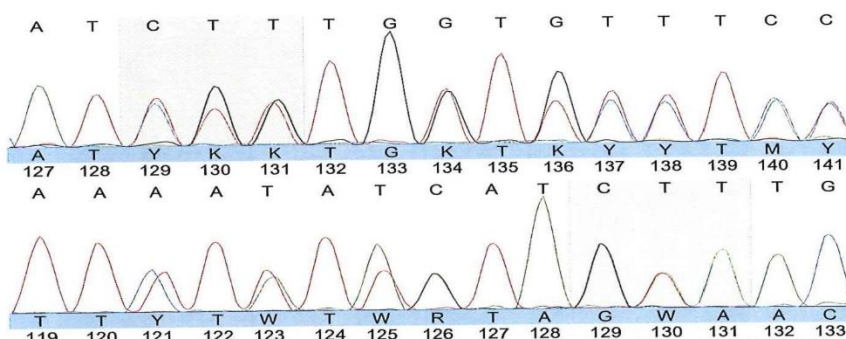
Transcript-ID:

ENST00000003084

**Result:**

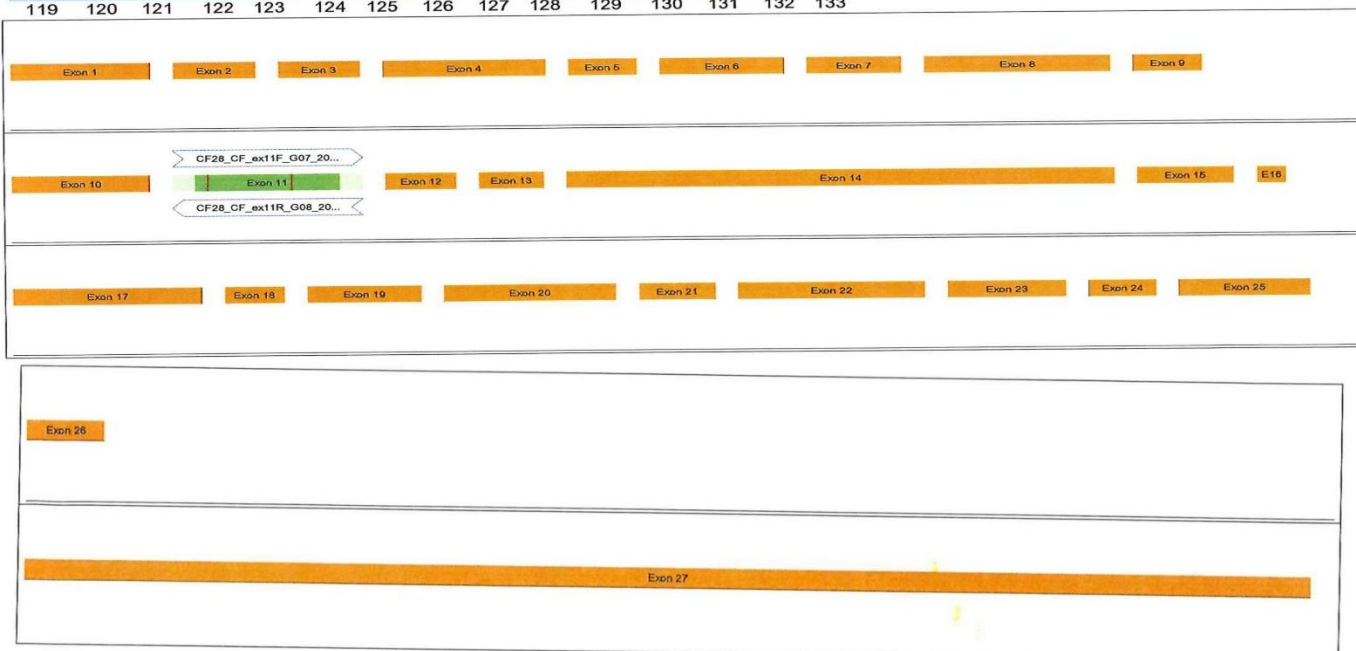
| Index | Location | HGVS c.               | Nuc Change   | AA Name     | Web Ref              | Mut Effect |
|-------|----------|-----------------------|--------------|-------------|----------------------|------------|
| 1     | E11      | c.1408G>A             | G -> A (het) | p.Val470Met | rs213950 (Gene file) | benign     |
| 2     | E11      | c.1521_1523delC<br>TT | CTT (het)    | p.Phe508del | rs113993960 (Gene)   |            |

2) c.1521\_1523delCTT, CTT (het), p.Phe508del, rs113993960 (Gene file)



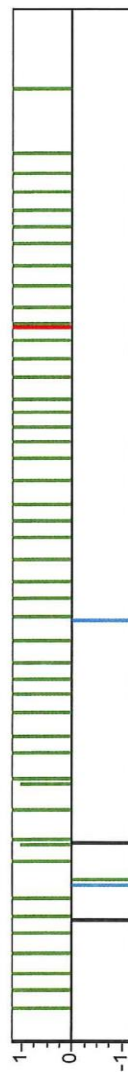
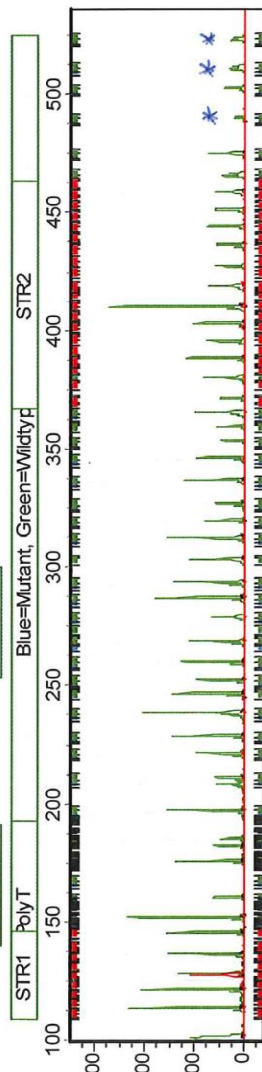
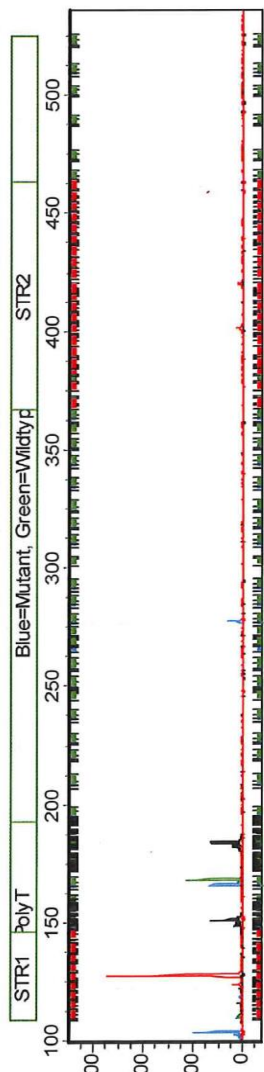
CF28\_CF\_ex11F\_G07\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E11  
Direction: forward  
Abs: 276

CF28\_CF\_ex11R\_G08\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E11  
Direction: reverse  
Abs: 315 / 183



Código de paciente: IGSS 2

|                                                                               |  |  |  |
|-------------------------------------------------------------------------------|--|--|--|
| ARMS/Comparative Analysis Report - SoftGenetics                               |  |  |  |
| Sample: CF31_B_G05_2018-09-14-14-57-07.fsa/CF31_A_C03_2018-09-14-14-57-07.fsa |  |  |  |
| Software: GeneMarker V2.6.3                                                   |  |  |  |
| Project: Untitled                                                             |  |  |  |
| Operator:                                                                     |  |  |  |
| Exp Time: 09/14/2018 - 15:32:52 -> 09/14/2018 - 16:07:42                      |  |  |  |
| Report Time: 09/14/2018 - 17:23:14                                            |  |  |  |
| Analysis Type: ARMS/Comparative Analysis                                      |  |  |  |
| Panel: CF_EU2_POP7                                                            |  |  |  |
| Others: Chemistry: Lot#:                                                      |  |  |  |



|                 |               |         |  |
|-----------------|---------------|---------|--|
| Conclusion      | F508del/S549N |         |  |
| Comments:       |               |         |  |
|                 | Date          | Initial |  |
| Authorization 1 | 20.9.18       | A       |  |
| Authorization 2 |               |         |  |

|        |        |
|--------|--------|
| IVS 8  |        |
| Marker | Allele |
| PolyT  | 7-12   |
| PolyT  | 9-10   |

| No. | Mutation         | Wildtype | Mutant |
|-----|------------------|----------|--------|
| 1   | R347H (8)        | 1        | 0      |
| 2   | R347P (8)        | 1        | 0      |
| 3   | 2789+5G>A (16)   | 1        | 0      |
| 4   | 3120+1G>A (18)   | 1        | 0      |
| 5   | 711+1G>T (6)     | 1        | 0      |
| 6   | R334W (8)        | 1        | 0      |
| 7   | F507del (11)     | 1        | 0      |
| 8   | F508del (11)     | 1        | 1      |
| 9   | 3849+10kbC>T     | 1        | 0      |
| 10  | 1677delTA (11)   | 1        | 0      |
| 11  | 1078delT (8)     | 1        | 0      |
| 12  | V520F (11)       | 1        | 0      |
| 13  | L206W (6)        | 1        | 0      |
| 14  | W1282X (23)      | 1        | 0      |
| 15  | R560T (12)       | 1        | 0      |
| 16  | 2347delG (14)    | 1        | 0      |
| 17  | Q890X (17)       | 1        | 0      |
| 18  | R553X (12)       | 1        | 0      |
| 19  | G551D (12)       | 1        | 0      |
| 20  | S549R(T>G) (12)  | 0        | 0      |
| 21  | S549N (12)       | 1        | 1      |
| 22  | M1101K (20)      | 1        | 0      |
| 23  | G542X (12)       | 1        | 0      |
| 24  | 3905insT (23)    | 1        | 0      |
| 25  | Y1092X(C>A) (20) | 1        | 0      |
| 26  | S125T (23)       | 1        | 0      |
| 27  | 444delA (4)      | 1        | 0      |
| 28  | 1811+1.6kba>G    | 1        | 0      |
| 29  | 1717-1G>A (12)   | 1        | 0      |
| 30  | R117H (4)        | 1        | 0      |
| 31  | R117C (4)        | 1        | 0      |
| 32  | N1303K (24)      | 1        | 0      |
| 33  | Y122X (4)        | 1        | 0      |
| 34  | 394delTT (3)     | 1        | 0      |
| 35  | G85E (3)         | 1        | 0      |
| 36  | R1066C (20)      | 1        | 0      |
| 37  | 1898+1G>A (13)   | 1        | 0      |
| 38  | W846X (15)       | 1        | 0      |
| 39  | 2184delA (14-1)  | 1        | 0      |
| 40  | D1152H (21)      | 1        | 0      |
| 41  | CFTRdel2.3       | 1        | 0      |
| 42  | P67L (3)         | 1        | 0      |
| 43  | 2143delT (14-1)  | 1        | 0      |
| 44  | E60X (3)         | 1        | 0      |
| 45  | 3659delC (22)    | 1        | 0      |
| 46  | 3272-26A>G (20)  | 1        | 0      |
| 47  | 621+1G>T (4)     | 0        | 0      |
| 48  | A455E (10)       | 1        | 0      |
| 49  | R1162X (22)      | 0        | 0      |
| 50  | R1158X (22)      | 0        | 0      |

\* peak present but weak!



# SEQUENCING REPORT

Patient: P-CF-Guatemala-31

Pat.-ID: CF-Guatemala-31 Family ID:

Order No: 182630012 (DNA No: CF-Guatemala-31) Sample Src:

Project:

Assigned by:

Date of assignment:

**GENE:** CFTR

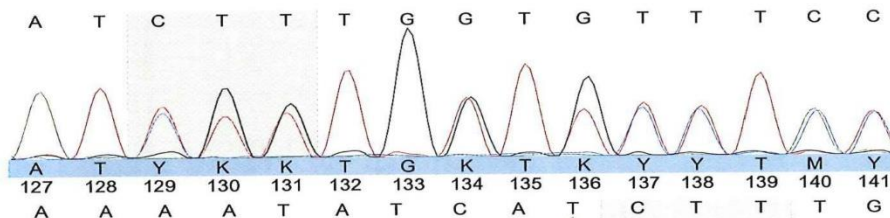
MV: 20.9.2018

Gene-ID: ENSG00000001626  
Transcript-ID: ENST00000003084

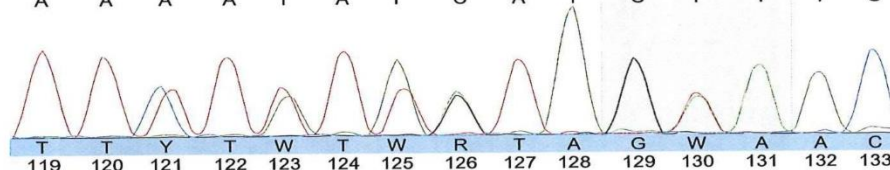
## Result:

| Index | Location | HGVS c.           | Nuc Change    | AA Name     | Web Ref                 | Mut Effect |
|-------|----------|-------------------|---------------|-------------|-------------------------|------------|
| 1     | E11      | c.1408G>A         | G -> A (homo) | p.Val470Met | rs213950 (Gene file)    | benign     |
| 2     | E11      | c.1521_1523delCTT | CTT (het)     | p.Phe508del | rs113993960 (Gene file) |            |
| 3     | E12      | c.1646G>A         | G -> A (het)  | p.Ser549Asn | rs121908755 (Gene file) |            |

2) c.1521\_1523delCTT, CTT (het), p.Phe508del, rs113993960 (Gene file)

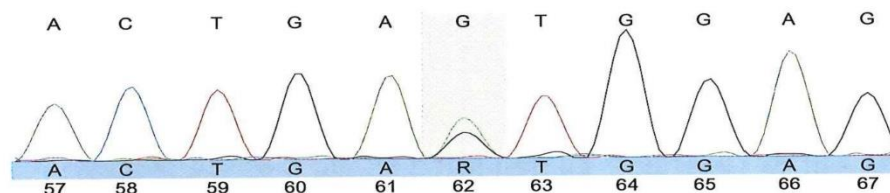


CF31\_CF\_ex11F\_H07\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E11  
Direction: forward  
Abs: 278

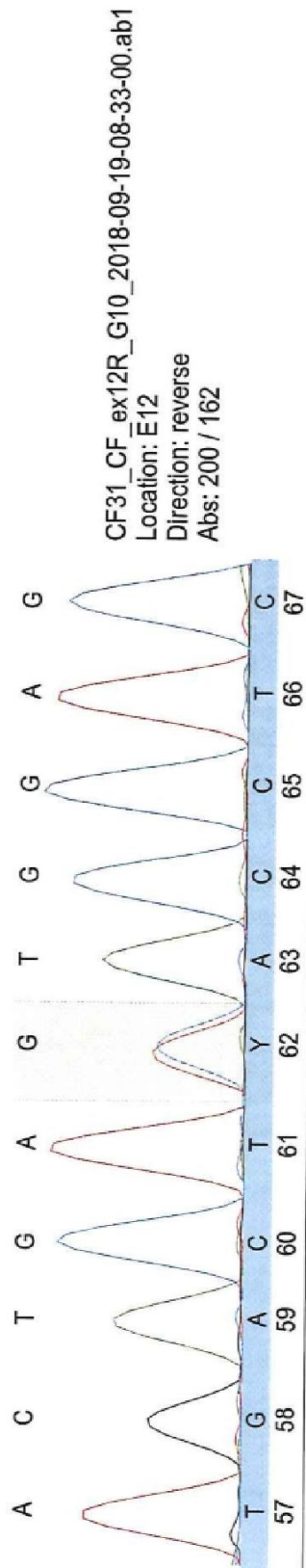


CF31\_CF\_ex11R\_H08\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E11  
Direction: reverse  
Abs: 314 / 184

3) c.1646G>A, G -> A (het), p.Ser549Asn, rs121908755 (Gene file)



CF31\_CF\_ex12F\_G09\_2018-09-19-08-33-00.ab1  
Location: E12  
Direction: forward  
Abs: 168



**Tabla 11.6.1** medidas de tendencia central  
para edad de pacientes **N=38**

| <b>Medidas de tendencia central</b> |      |
|-------------------------------------|------|
| Media                               | 8.59 |
| Mediana                             | 8    |
| Moda                                | 2.30 |
| DE                                  | 5.03 |

**Tabla 11.6.2** Clase de mutación del gen CFTR según función proteica **N=38**

| <b>Clase</b> | <b>f</b> | <b>%</b> | <b>% válido</b> | <b>%<br/>acumulado</b> |
|--------------|----------|----------|-----------------|------------------------|
| II           | 8        | 21.1     | 21.1            | 28.9                   |
| II/III       | 5        | 13.2     | 13.2            | 42.1                   |
| III          | 4        | 10.5     | 10.5            | 52.6                   |
| no detectado | 18       | 47.4     | 47.4            | 100.0                  |
| Total        | 38       | 100.0    | 100.0           |                        |

**Tabla 11.6.3** medidas de tendencia central  
para edad de diagnóstico de pacientes **N=38**

| <b>Medidas de tendencia central</b> |      |
|-------------------------------------|------|
| Media                               | 2.21 |
| Mediana                             | 0.70 |
| Moda                                | 0.20 |
| DE                                  | 3.12 |

**Tabla 11.6.4** medidas de tendencia central  
para edad de colonización de pacientes N=38

| <b>Medidas de tendencia central</b> |      |
|-------------------------------------|------|
| Media                               | 2.21 |
| Mediana                             | 1    |
| Moda                                | 1    |
| DE                                  | 2.90 |

**Tabla 11.6.5** resultado de las muestras procesadas por  
el kit Elucigene® CF-EU2v1 N=16

| <b>Condición de las muestras</b> | <b>f</b> | <b>%</b> |
|----------------------------------|----------|----------|
| Identificadas                    | 12       | 75       |
| No identificadas                 | 4        | 25       |