

4. Actualización en fisiopatología, diagnóstico y tratamiento de la fibrosis quística

UPDATE ON PATHOPHYSIOLOGY, DIAGNOSIS AND TREATMENT OF CYSTIC FIBROSIS

Marta Carolina García Rivera

Facultativa Especialista de Área en Análisis Clínicos en el Hospital Virgen de las Nieves de Granada.

David Núñez Jurado

Residente de Bioquímica Clínica en el Hospital Universitario Virgen del Rocío.

Jorge Montenegro Martínez

Residente en Bioquímica clínica en Hospital Universitario Virgen del Rocío de Sevilla.

RESUMEN

La *fibrosis quística* (FQ) es una enfermedad crónica y hereditaria que constituye un grave problema de salud. Es causada por una mutación en el gen CFTR, un gen en el cromosoma 7 que codifica la *proteína reguladora de la conductancia transmembrana* (CFTR). Esta proteína es responsable de una de las vías de transporte de iones de cloruro en las células epiteliales y también controla la actividad de otras proteínas de membrana, como los canales accesorios de cloruro y los canales de sodio. Como consecuencia de este cambio, el contenido de agua, sodio y cloro de la mucosidad se espesa y disminuye, lo que provoca las manifestaciones clínicas de esta patología: infecciones e inflamaciones que destruyen los pulmones, el páncreas, el hígado y el aparato reproductor, principalmente.

El diagnóstico de FQ se basa en los hallazgos clínicos, la evaluación de la función CFTR mediante iontoforesis cuantitativa con pilocarpina (prueba del sudor) y el análisis genético que detecta la presencia de mutaciones en el gen CFTR. Cabe señalar que existen varios protocolos de diagnóstico de recién nacidos basados en la medición de la concentración de *tripsina inmunorreactiva* (IRT) en sangre seca mediante análisis de inmunofluorescencia. A falta de un tratamiento específico y curativo para la FQ, el tratamiento de la enfermedad se basa en varios pilares fundamentales: uso de antibióticos y antiinflamatorios, nutrición adecuada, ejercicio físico y fisioterapia respiratoria. Las terapias rele-

vantes actuales y futuras se basan en corregir los cambios estructurales y funcionales de la proteína CFTR frente a la causa de la proteína CFTR, no solo combatiendo sus síntomas, sino deteniendo la progresión provocada por esta patología.

Palabras clave: Fibrosis quística, CFTR, técnicas diagnósticas, test del sudor, diagnóstico genético, tripsina inmunoreactiva.

ABSTRACT

Cystic fibrosis (CF) is a chronic and inherited disease that represents a serious health problem. It is caused by a mutation in the CFTR gene, a gene located on chromosome 7 that encodes a transmembrane conductance regulator protein (CFTR). This protein is responsible for one of the chloride ion transport pathways in epithelial cells and also controls the function of other membrane proteins such as auxiliary chloride channels and sodium channels. As a result of this alteration, there is a thickening and decrease in the content of water, sodium, and chlorine in the mucus, which is responsible for the clinical manifestations of this pathology: infection and inflammation that destroy areas of the lung, pancreas, liver, and respiratory system. *player mainly.*

The diagnosis of CF is based on clinical findings, evaluation of CFTR function by quantitative pilocarpine iontophoresis (sweat test), and genetic analysis that detects the existence of mutations in the CFTR gene. It is worth mentioning the existence of several neonatal diagnostic protocols based on the measurement of the concentration of immunoreactive trypsin (IRT) in dried blood by means of immunofluorescence analysis. As there is no specific and curative therapy for CF, the treatment of the disease is based on several fundamental pillars: the use of antibiotics and anti-inflammatory drugs, adequate nutrition, physical exercise, and respiratory physiotherapy. Current therapies and those that will be relevant in the future are based on correcting the structural and functional alterations of the CFTR protein, trying to attack the cause of CF and not just its symptoms, and slowing down the deterioration caused by this pathology.

Keywords: Cystic fibrosis, CFTR, diagnostic techniques, sweat test, genetic diagnosis, immunoreactive trypsin.

INTRODUCCIÓN

Epidemiología

Originariamente denominada "*fibrosis quística del páncreas*" y posteriormente "*mucoviscidosis*", la *fibrosis quística* (FQ) es una de las enfermedades con base genética de herencia autosómica recesiva que afecta con más frecuencia a la raza caucásica. Aunque también se ha descrito en otras razas, su incidencia es bastante menor (1).

Su incidencia, estimada clásicamente en 1/2.500 nacidos vivos en una población de ascendencia europea (1), ya no es apropiada en la actualidad. Hoy en día, la incidencia de

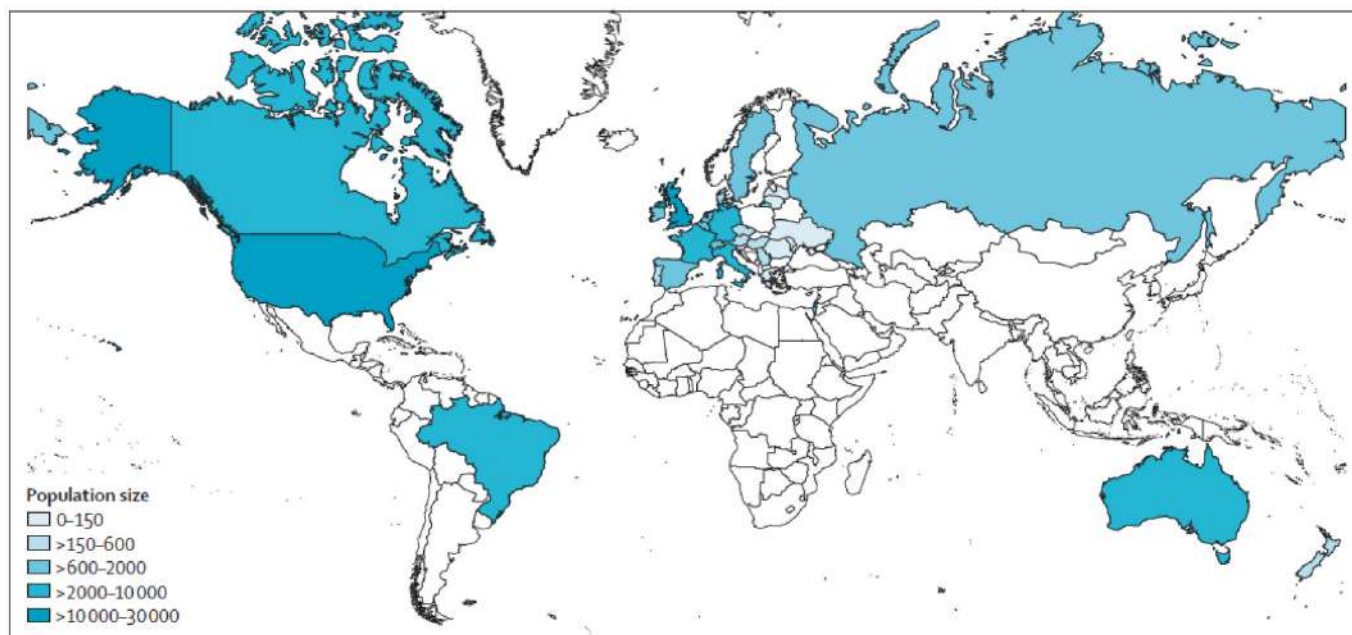


Figura 1. Países con registro de fibrosis quística. El mapa muestra los países con registro de fibrosis quística, sombreados según el tamaño del registro. Imagen adaptada de Bell SC et al. (2).

FQ se estima entre 1/3.000 y 1/6.000 en dichas poblaciones (2, 3), lo que corresponde a tasas de portadores de 1/28 y 1/40, respectivamente.

Los registros nacionales son recursos poderosos que permiten comprender la dinámica de la población, la progresión de la enfermedad y la efectividad de las intervenciones clínicas, y permiten la evaluación comparativa de los centros y los sistemas de salud a nivel nacional e internacional. La previsión de la comunidad de FQ impulsó el desarrollo del primer registro nacional de FQ en la década de 1960, que resumía los datos de ciudadanos canadienses y estadounidenses que vivían con fibrosis quística. Muchos países (Australia, Bélgica, Brasil, Francia, Alemania, Irlanda, Italia, los Países Bajos, Nueva Zelanda y el Reino Unido) ahora han establecido registros nacionales de fibrosis quística, recopilando colectivamente datos sobre más de 90.000 personas con la enfermedad (Figura 1). Sin embargo, el número de personas afectadas en todo el mundo probablemente esté subestimado, porque un número creciente de pacientes en regiones sin registros bien establecidos (p. ej., África, Asia, Medio Oriente y la mayor parte de América del Sur) no están incluidos en las estimaciones actuales (2).

Las tendencias temporales observadas en la incidencia resultan de la combinación de muchos factores entre los que nos encontramos cambios demográficos, la implementación de políticas de salud basadas en la genética que permiten la prevención dentro de las familias o poblaciones (como diagnóstico prenatal, diagnóstico genético previo a la implantación, pruebas familiares, detección prenatal, y detección de portadores en la población), de comportamientos culturales hacia el uso de pruebas genéticas, diagnóstico prenatal e interrupciones del embarazo. Por lo tanto, las causas de los cambios observados en la incidencia varían según la región y la población. Por ello, garantizar que una alta proporción de la población de una región determinada se incluya en un registro es crucial para mini-

mizar el sesgo de verificación y permitir que se extraigan conclusiones precisas (2).

Cuando la doctora Dorothy H. Anderson en 1938 describió por primera vez la FQ (4), los pacientes generalmente morían en su primer año de vida. Hoy en día, la proporción de pacientes adultos supera a la de niños en los países desarrollados y la mediana de edad estimada de supervivencia es cercana a los 50 años (5). De una enfermedad que sólo afectaba a los niños, la FQ se ha convertido en una enfermedad del adulto. El descubrimiento del gen responsable de la FQ, el gen CFTR, hace 3 décadas (6-8) ha tenido que ver mucho en este sentido. Este descubrimiento ha contribuido a los cambios epidemiológicos observados en la FQ, a través de la implementación de políticas de salud basadas en la genética que permitan el diagnóstico temprano o la prevención dentro de las familias y/o poblaciones, y la aparición de terapias moduladoras de CFTR (9). Se espera que la llegada de las terapias dirigidas mejore aún más la supervivencia de los pacientes en el futuro.

Aunque la estimación de la supervivencia ha mejorado mucho a nivel mundial, sigue viéndose afectada por varios factores individuales. Más allá del principal predictor de una peor supervivencia que es la función pulmonar, otros factores se han asociado con una supervivencia reducida, como el sexo femenino, una mayor edad en el momento del diagnóstico, un genotipo CFTR grave, antecedentes étnicos, un nivel socioeconómico más bajo, peor estado nutricional, insuficiencia pancreática, colonización temprana por *Pseudomonas aeruginosa* y presencia de diabetes (10). Otros dos factores con impacto importante en la supervivencia de la FQ son la implementación cada vez mayor del diagnóstico neonatal para la FQ y la aparición de las terapias dirigidas comentada anteriormente. Sin embargo, deben continuar los esfuerzos para encontrar otros medicamentos eficaces, optimizar la adherencia al tratamiento y promover el acceso equitativo a estas te-

rapias. No obstante, se espera que la mediana de edad estimada de supervivencia de los pacientes con FQ continúe mejorando en el futuro (11).

Fisiopatología

La FQ es causada por una mutación en el gen del brazo largo del cromosoma 7 que codifica la *proteína reguladora de la conductancia transmembrana* (CFTR). La expresión de una proteína disfuncional desencadena una cascada fisiopatológica que conduce a la lesión de muchos órganos y tejidos (12).

La proteína CFTR es una glicoproteína transportadora de membrana dependiente del *monofosfato de adenosina cíclico* (cAMP) que consta de dos dominios transmembrana, cada uno de los cuales consta de seis regiones hidrofóbicas unidas a la bicapa lipídica de la membrana celular. Tienen dos sitios de unión de *trifosfato de adenosina* (ATP) y un *dominio regulador* (dominio R) que contiene varios sitios de fosforilación de proteína quinasa A (13). Los sitios de unión de ATP son similares a otros dominios en una superfamilia de proteínas llamadas proteínas ABC, proteínas de transporte dependientes de ATP que se encuentran en organismos unicelulares y multicelulares que exportan macromoléculas usando energía de la bomba de ATP (13).

Las funciones clásicamente atribuidas a CFTR se relacionan con su función como canal de cloruro en las células epiteliales y también regula la función de otras proteínas de membrana, como los canales de cloruro accesorios y los canales de sodio (Figura 2). Esta proteína se encuentra en la membrana apical de varios tipos de células epiteliales: Tracto respiratorio, glándulas mucosas gastrointestinales, hígado, vesícula biliar, páncreas (14). La proteína CFTR baja o nula expresada en la membrana plasmática, o su disfunción,

impide que realice su función de transporte de iones, lo que hace que las secreciones de varios órganos se vuelvan anormalmente espesas y secas, lo que obstruye los conductos pancreáticos, las glándulas glandulares, el epidídimo, intestino y bronquios (15, 16). Este evento finalmente conduce a la acumulación de moco, colonización bacteriana, inflamación de neutrófilos, daño tisular progresivo y disfunción tisular.

Actualmente se acepta que las secreciones espesas son la causa de insuficiencia pancreática, infertilidad en el 90% de los hombres afectados, obstrucción bronquial e infecciones respiratorias crónicas (17, 18). La enfermedad pulmonar de la FQ afecta principalmente a las vías respiratorias, provocando una ventilación y una perfusión pulmonar y un volumen de aire inadecuados, mientras que los alvéolos y el intersticio pulmonar se ven afectados solo en una etapa muy tardía (18). La microbiología de las vías respiratorias de la FQ muestra que estos pacientes son propensos a infecciones crónicas causadas por varios patógenos característicos, el más importante de los cuales es *Pseudomonas aeruginosa*.

Además de su función como canal de cloruro/bicarbonato, el gen CFTR participa en muchos procesos celulares y tisulares, como el desarrollo fetal, la diferenciación/polarización epitelial, la regeneración, la formación de uniones estrechas y transición epitelial-mesenquimatosa (19). La presencia de CFTR mutado se asocia con la desregulación de la diferenciación y la reparación, lo que finalmente podría conducir al cáncer (20). Existe un aumento de la prevalencia de neoformaciones a nivel intestinal, pancreático y biliar (13, 21, 22). Este riesgo aumenta en aquellos pacientes con FQ que son sometidos a trasplante pulmonar o hepático, debido al tratamiento inmunosupresor.

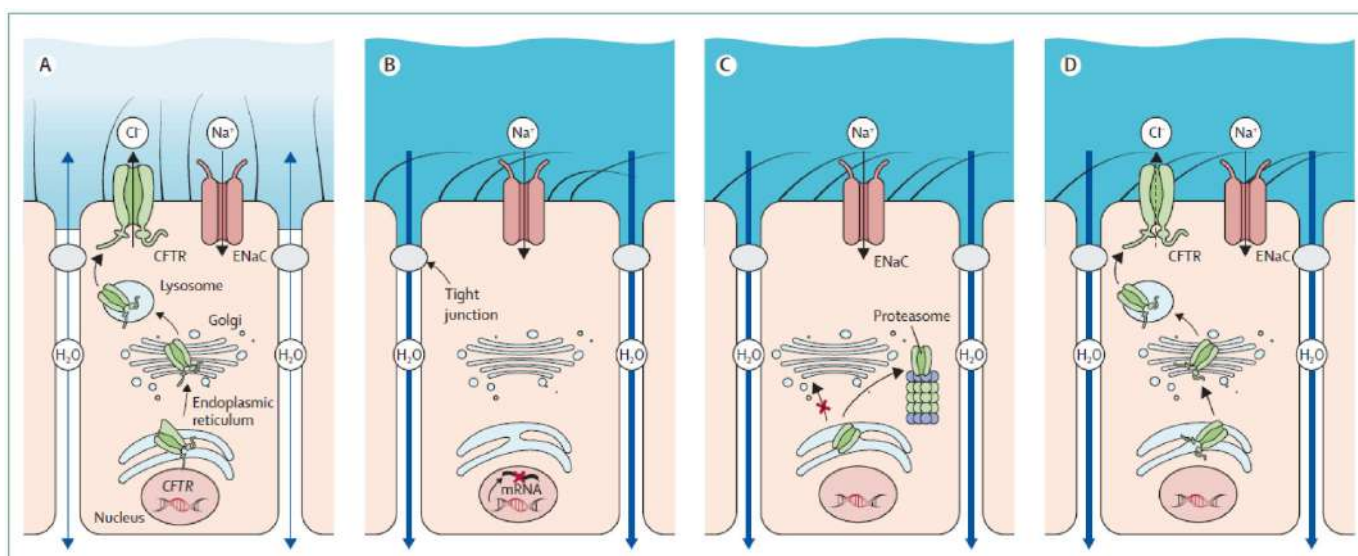


Figura 2. Papel de CFTR en vías respiratorias sanas y mecanismos moleculares subyacentes a la disfunción de CFTR en la fibrosis quística. (A) En vías respiratorias sanas, CFTR se expresa en la superficie apical de las células epiteliales de las vías respiratorias junto con un canal de sodio epitelial. La regulación coordinada de CFTR y el canal de sodio epitelial permite una hidratación adecuada de la superficie de las vías respiratorias y una limpieza mucociliar eficiente. (B–D) En la fibrosis quística, las mutaciones de CFTR conducen a la disfunción de CFTR a través de diferentes mecanismos moleculares. (B) Las mutaciones sin sentido o de empalme de CFTR suprimen la producción de CFTR. (C) Muchas mutaciones sin sentido, incluida la mutación Phe508del común, interrumpen el plegamiento adecuado de CFTR y provocan su retención en el retículo endoplásmico y la subsiguiente degradación proteasómica. (D) Algunas mutaciones sin sentido y de empalme producen canales de cloruro CFTR que alcanzan la superficie celular pero no son completamente funcionales. Imagen adaptada de Bell SC et al. (2).

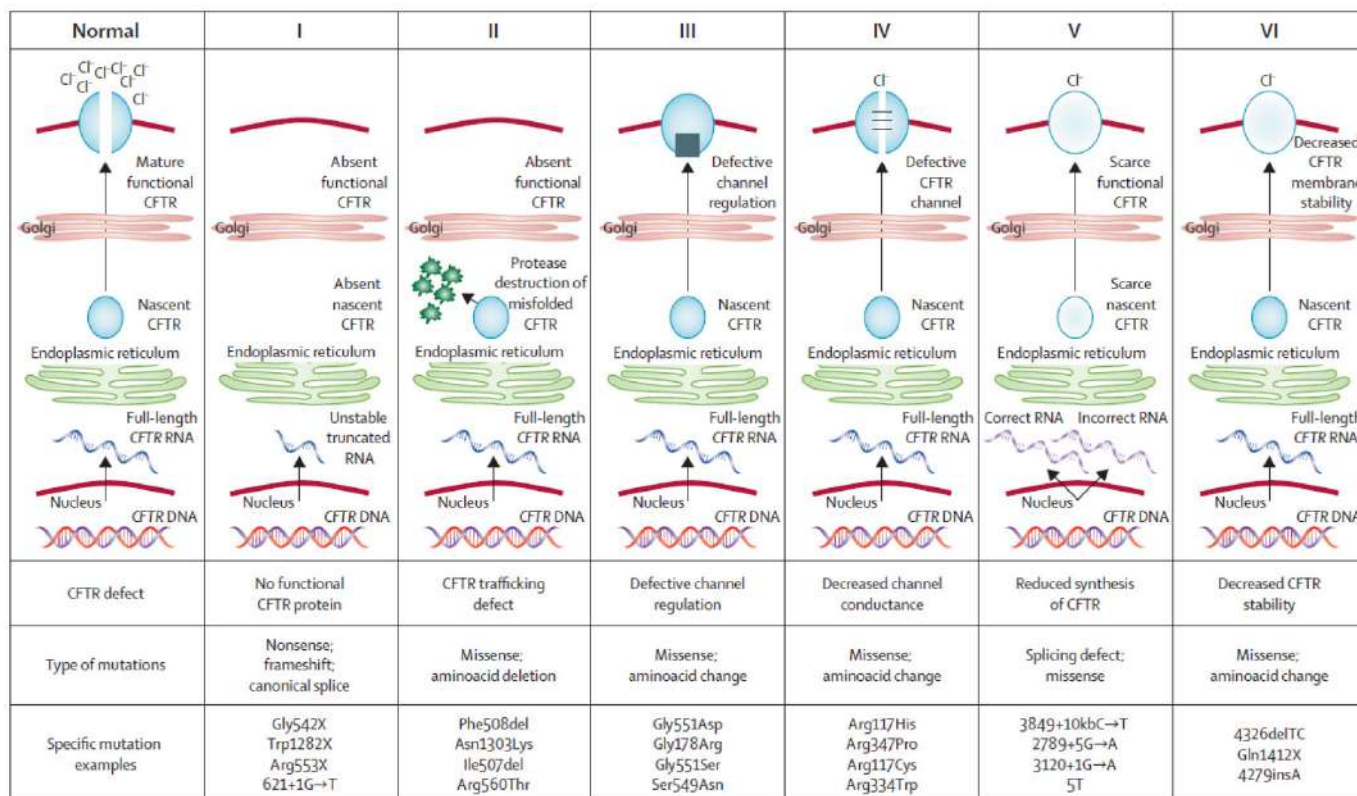


Figura 3. Clases de mutación CFTR. Las mutaciones en el gen CFTR se pueden dividir en seis clases. Las mutaciones de clase I no dan como resultado la producción de proteínas. Las mutaciones de clase II (incluida la más frecuente, Phe508del) provocan la retención de una proteína mal plegada en el retículo endoplásmico y la subsiguiente degradación en el proteasoma. Las mutaciones de clase III afectan la regulación del canal, afectando la apertura del canal (p. ej., Gly551Asp). Los mutantes de clase IV muestran una conducción reducida (disminución del flujo de iones; por ejemplo, Arg117His). Las mutaciones de clase V provocan una reducción sustancial del ARNm o de la proteína, o de ambos. Las mutaciones de clase VI causan una inestabilidad sustancial de la membrana plasmática e incluyen Phe508del cuando se recupera con la mayoría de los correctores terapéuticos (rPhe508del). Imagen adaptada de Dickinson K.M et al. 2021 (27).

Genética

La FQ es una enfermedad monogénica con herencia autosómica recesiva que resulta de la herencia de dos alelos mutados del gen CFTR (un alelo del padre y un alelo de la madre). Los individuos con una copia normal y una copia mutada son portadores sanos de la enfermedad. Si ambos padres son portadores sanos, existe una probabilidad estimada del 75 % de que los niños estén sanos y del 25 % de que contraigan la enfermedad (14).

La FQ es causada por mutaciones en el gen CFTR (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator*). Este gen está ubicado en el brazo largo del cromosoma 7 en q31.2 y contiene alrededor de 190 kb. El gen consta de 27 exones y se transcribe en ARNm de aproximadamente 6,5 kb. El gen CFTR codifica una proteína sintética llamada CFTR, que es una proteína de transporte transmembrana de 1.480 aminoácidos cuya función principal es actuar como canal de cloruro, y también afecta la función de otros canales y la regulación de otras proteínas en las células epiteliales (23).

Aunque se han descrito más de 2000 mutaciones del gen CFTR, no todas son patogénicas, por lo que estas mutaciones deben denominarse variantes genéticas (24). Las mutaciones o variantes genéticas del gen CFTR se pueden agrupar en seis grupos o clases, cada uno caracterizado por un defecto fisiopatológico que depende del destino y la función de la proteína CFTR (25) (Figura 3). De acuerdo con

una clasificación más nueva (26), las mutaciones de CFTR todavía se clasifican en seis clases, con la única excepción de que la clase I ahora comprende las de clase 1A (sin transcripción de ARNm) y clase 1B (mutaciones del codón de terminación), ambas con el mismo resultado, la ausencia de la proteína CFTR (en el caso de la clase IB debido a la degradación del ARNm truncado por descomposición mediada por sin sentido).

Las mutaciones de clase II incluyen aquellas que dan como resultado proteínas que no se pliegan correctamente, no maduran y se degradan sin llegar a la membrana plasmática. Esta es la mutación más común y conocida, la mutación p.Phe508del (*F508del*). Las mutaciones de clase III y IV son aquellas que alteran la activación o conductancia de los iones de cloruro y bicarbonato en el canal CFTR transportado correctamente a la membrana apical. Las mutaciones de clase V dan como resultado niveles reducidos de proteína CFTR funcional debido al corte y empalme alternativo. La clase VI incluye aquellas mutaciones que desestabilizan la proteína CFTR en la membrana apical (27).

Las mutaciones de clase I, II y III se asocian con un fenotipo más grave (manifestaciones clínicas) que conducen a insuficiencia pancreática, mientras que las clases IV, V y VI son fenotipos más leves, generalmente asociados con una función pulmonar mejor conservada, un estado nutricional más estable y insuficiencia pancreática. y posterior colonización por pseudomonas (28). Así, las mutaciones

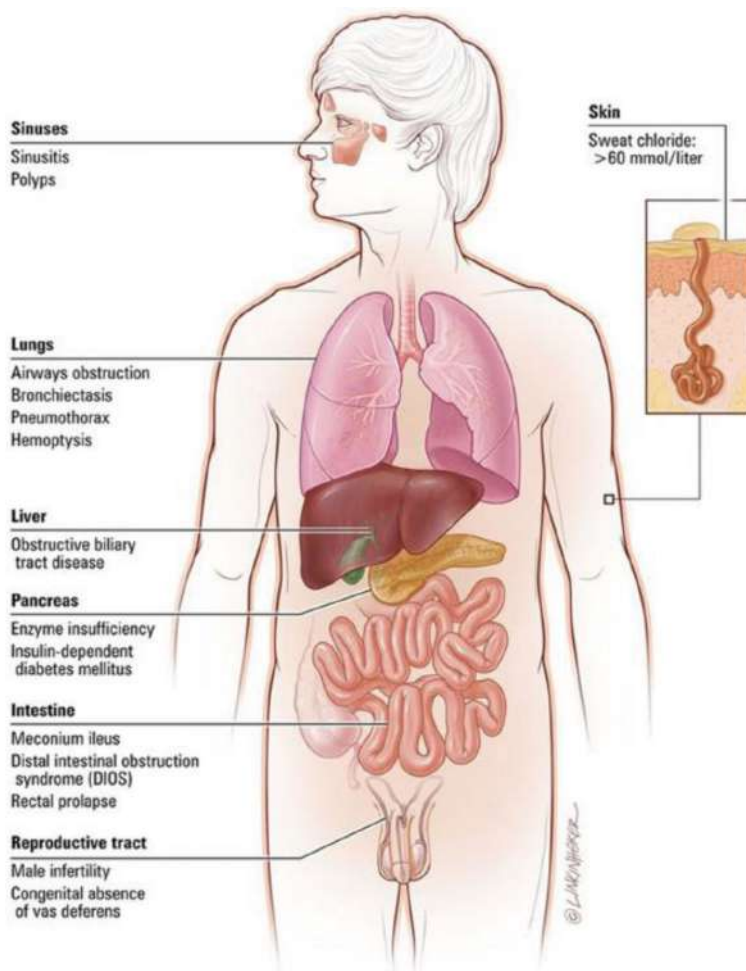


Figura 4. Manifestaciones clínicas comunes de la fibrosis quística. Imagen adaptada de Dickinson K.M et al. 2021 (27).

pueden ser "clásicas, típicas o severas" (clases I, II y III) o "no clásicas, atípicas o leves" (clases IV, V y VI) (Figura 3). El genotipo determina la mayor o menor actividad de la proteína CFTR, de manera que si la actividad es mayor, el fenotipo de la enfermedad es más leve o atípico; y si la actividad es menor, el fenotipo es más severo o clásico (28). Por lo tanto, el genotipo CFTR puede proporcionar información pronóstica sobre la mortalidad relacionada con la FQ.

Manifestaciones clínicas

La FQ es una enfermedad multisistémica que se presenta con una clínica muy variable. En 1938 la doctora Dorothy Andersen fue la primera en definir la enfermedad como "fibrosis quística del páncreas" (4). En los primeros años de conocimiento de la enfermedad, se asociaba con hallazgos como desnutrición, diarrea crónica, dilatación de los bronquios y bronquiolos, infecciones respiratorias y daño al páncreas. En las décadas de 1940 y 1950, esta patología se denominó "micocistosis", cuando se observaban secreciones anormalmente viscosas, que bloqueaban varios órganos (hígado, intestinos, páncreas, vías respiratorias, glándulas salivales) y eran responsables del cuadro clínico de la enfermedad (27). En la actualidad la FQ, en su forma clásica y más habitual, se manifiesta por enfermedad pulmonar obstructiva crónica, insuficiencia pancreática exocrina, elevación de cloro en sudor e infertilidad en varones por azoospermia obstructiva (Figura 4).

Presentaciones menos frecuentes incluyen pacientes con suficiencia pancreática y algunos casos raros, con niveles normales de electrolitos en sudor y con afectación pulmonar leve. Se pueden dar también de manera frecuente algunas complicaciones como el íleo meconial, el síndrome de obstrucción intestinal distal, la pancreatitis, la enfermedad hepática asociada, la diabetes y la poliposis nasal, entre otras (29, 30). Cabe destacar que la enfermedad pulmonar es el principal factor determinante de la mortalidad y morbilidad de las personas con FQ.

Las características del cuadro clínico también van a depender del tiempo de evolución, ya que existe una gran variabilidad en relación con la edad de inicio y el ritmo individual de progresión de la patología. Al nacimiento puede existir retraso en la evacuación meconial, ictericia o anemia, hipoproteinemia, edemas. En los primeros años de vida suelen aparecer problemas respiratorios, digestivos, retraso en el desarrollo. A medida que pasan los años aparece otras manifestaciones (pulmonares, gastrointestinales, genitourinarias) que configuran la historia natural de la enfermedad (22) (Figura 5).

Manifestaciones pulmonares

A pesar de la naturaleza multisistémica de esta enfermedad, la afectación pulmonar es la causa más importante de morbilidad y mortalidad (31).

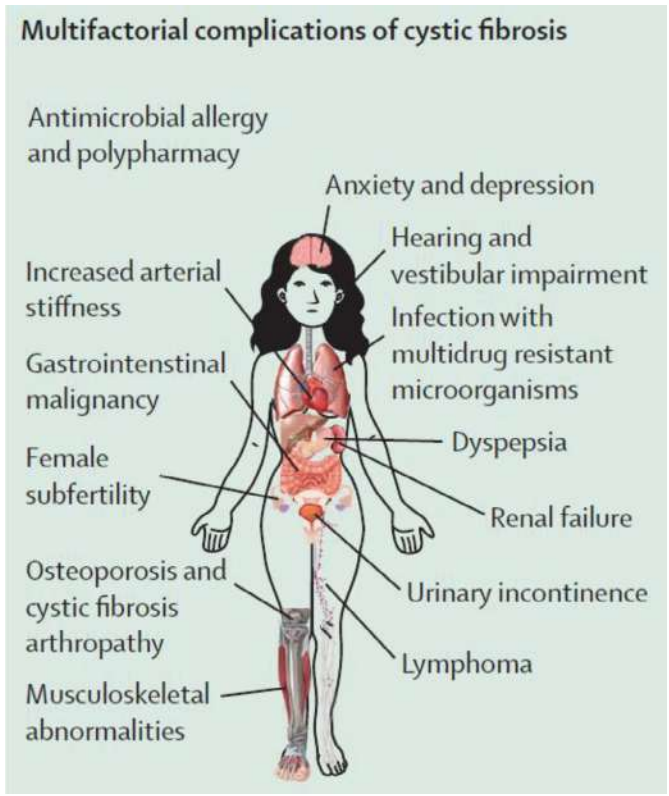


Figura 5. Consecuencias de la deficiencia de CFTR pueden surgir más adelante en la vida de las personas con fibrosis quística. Imagen adaptada de Shteinberg M. et al. 2021 (14).

A diferencia de los síntomas digestivos y la deshidratación, que suelen comenzar en los primeros meses o años de vida, la afectación respiratoria puede comenzar a edades muy variables, dependiendo en parte del genotipo del paciente. Las secreciones bronquiales de los pacientes con FQ son densas y deshidratadas, lo que hace que sean difícilmente eliminables por el sistema mucociliar. Al permanecer en la vía aérea, estas secreciones son colonizadas por gérmenes

que desencadenan un proceso inflamatorio en el que se liberan enzimas proteolíticas que desestructuran la pared bronquial (31). Este ciclo generará dilataciones bronquiales anómalas llamadas bronquiectasias, que dificultan aún más el aclaramiento de las secreciones (32). Se desarrolla de esta manera el círculo vicioso de las bronquiectasias, que son las lesiones fundamentales de la afectación pulmonar de la FQ (Figura 6).

La bronquiectasia se diagnostica en pacientes con tos y esputo crónicos y/o infecciones respiratorias recurrentes y, a menudo, se caracteriza por una infección bacteriana crónica con un cultivo de esputo bacteriano positivo. La bronquiectasia se diagnostica con una tomografía computarizada de alta resolución que muestra los bronquios dilatados. Aunque la bronquitis puede ser causada por varias causas (p. ej., post-infecciosa, cinesia cilial primaria, enfermedades del tejido conectivo, etc.), varios estudios han informado una mayor prevalencia de mutaciones únicas de CFTR en pacientes con enfermedad generalizada (que ocurre al menos dos veces) bronquiectásica (33).

Existe un consenso general para la búsqueda de FQ en niños con bronquiectasias difusas (34), y las guías suelen recomendar pruebas de FQ solo en adultos seleccionados. Las pautas de la Sociedad Respiratoria Europea de 2021 sugirieron que la prueba de FQ debe considerarse en adultos jóvenes o en adultos con características clínicas específicas, como predominio de bronquiectasias en el lóbulo superior, presencia de poliposis nasal/rinosinusitis crónica, pancreatitis recurrente, infertilidad masculina primaria y/o malabsorción (35). Sin embargo, el diagnóstico de FQ se puede lograr a cualquier edad, especialmente en pacientes que no se sometieron a cribado neonatal, y los pacientes diagnosticados en la edad adulta pueden tener una evolución tardía pero grave (36).

La progresión de la enfermedad pulmonar varía mucho. Pocos pacientes tienen daño pulmonar grave en la in-

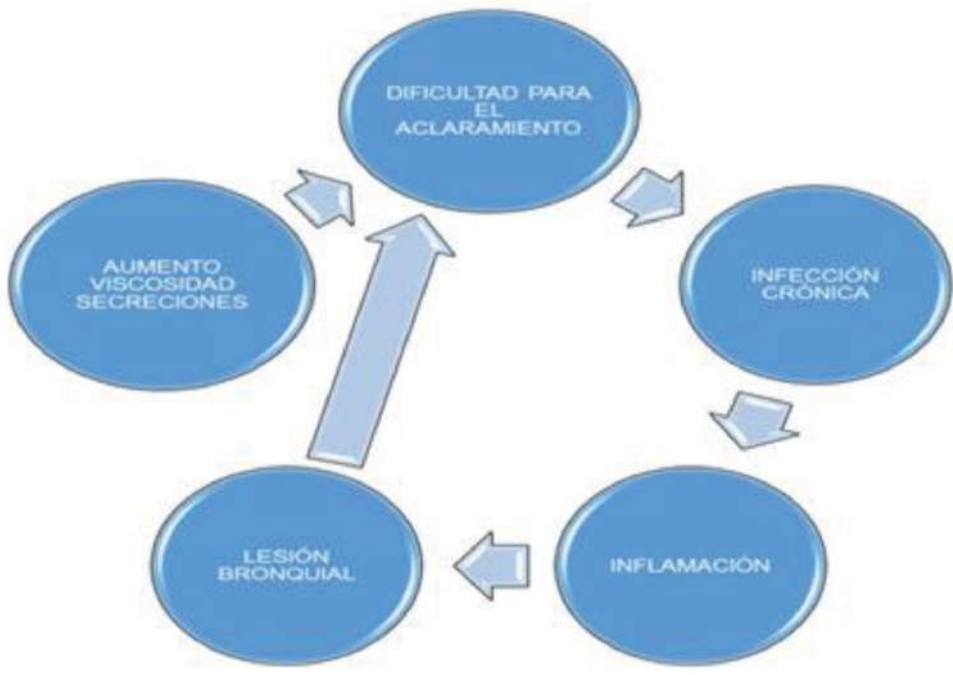


Figura 6. Círculo vicioso de la fibrosis quística a nivel respiratorio.

fancia y la mayoría llega a la edad adulta con una función pulmonar normal o casi normal. Con el tiempo, los efectos agudos y crónicos en el parénquima pulmonar conducen a daño tisular, fibrosis extensa y cambios en la mecánica pulmonar y de las vías respiratorias, que progresan a insuficiencia respiratoria y cor pulmonale, que, si no se tratan, provocan más muertes en pacientes con FQ (37).

Los cambios fisiopatológicos que se producen en las vías respiratorias de los pacientes con FQ se caracterizan por el taponamiento de moco de los bronquiolos de tamaño pequeño y mediano y el desarrollo de bronquiectasias, secundarias a la proteólisis y la condrólisis de los tejidos de soporte de las vías respiratorias (38). Las vías respiratorias dilatadas contribuyen a la disminución del aclaramiento mucociliar y la aparición de tos y a la persistencia de la secreción mucosa y la inflamación endobronquial. A partir de este punto se originan infecciones bacterianas, destacando la infección crónica por *Pseudomonas aeruginosa* y la respuesta hiperinflamatoria crónica generada como consecuencia (38).

Otro síntoma que puede producirse a nivel respiratorio es la afectación de las vías aéreas superiores en forma de sinusitis crónica o recidivante y poliposis nasal. Tanto la rinosinusitis como la poliposis nasal resultan de la obstrucción mucosa de los orificios sinusales. Las presentaciones clínicas pueden incluir dolor de cabeza crónico y presión facial. Los hallazgos a largo plazo pueden incluir ensanchamiento del puente nasal y deformación del tabique nasal por obstrucción nasal crónica (39).

Una de las complicaciones más comunes de la enfermedad pulmonar con FQ es el empeoramiento agudo episódico de los síntomas, denominado exacerbaciones pulmonares que se caracterizan por un aumento de los síntomas respiratorios, que incluyen tos, producción de esputo y/o sibilancias, una disminución en las medidas de la función pulmonar, fatiga, disminución del apetito y pérdida de peso. Su frecuencia varía entre los individuos, pero contribuye a la disminución de la función pulmonar a largo plazo de la mayoría de las personas con FQ (40).

Otra complicación es la hemoptisis que, aunque a menudo se observa con una enfermedad pulmonar grave, también puede ser una manifestación de una exacerbación pulmonar de la FQ (41). La patogenia de la hemoptisis en la FQ no se conoce por completo. Se ha atribuido a la inflamación e infección crónicas con erosión en las paredes arteriales o capilares, de modo que la presión dentro del vaso sanguíneo puede provocar un aumento de la sangre en las vías respiratorias (42). La hemoptisis leve puede deberse a la lesión de vasos pequeños como capilares o incluso arteriolas. Debido al gran gradiente de presión desde la circulación de la arteria bronquial sistémica a la circulación pulmonar, el sangrado de las arterias bronquiales más grandes y numerosas a menudo puede ser masivo (42).

Aproximadamente el 3-4 % de las personas con FQ experimentarán un neumotórax durante su vida. Esta complicación ocurre más comúnmente en pacientes con enfermedad avanzada y se presenta con dolor torácico y dificultad para respirar (43). Existen algunos factores de riesgo anatómicos y funcionales. Se identifican quistes, ampollas (de

1 a 2 cm de diámetro) y ampollas (de 2 cm de diámetro) en los pulmones de los pacientes con FQ. Estas áreas son susceptibles a la distensión como resultado del atrapamiento de aire secundario a la obstrucción de las vías respiratorias pequeñas y volúmenes residuales elevados. Otros factores de riesgo son la obstrucción grave del flujo de aire y la aspergilosis broncopulmonar alérgica. El riesgo de recurrencia del neumotórax en pacientes con FQ es alto (estimado entre 50 y 90 %) y es probable que permanezca alto durante un período de 12 meses después de la resolución (42).

Manifestaciones gastrointestinales

Las manifestaciones gastrointestinales en pacientes con FQ son extremadamente comunes. El CFTR defectuoso conduce a una amplia gama de efectos clínicos en la luz gastrointestinal, como íleo meconial, síndrome de obstrucción intestinal distal y estreñimiento crónico. El mecanismo exacto para desarrollar manifestaciones lumbales gastrointestinales postnatales relacionadas con la FQ es poco conocido con una variedad de teorías que implican un pH intestinal anormal, sobrecrecimiento bacteriano en el intestino delgado, microbiota colónica alterada y dismotilidad, entre otros (24).

La afectación del páncreas comienza desde la vida fetal y sus manifestaciones clínicas se deben a la pérdida de los acinos, los conductillos, los lóbulos e islotes pancreáticos, que son sustituidos por zonas atróficas. La insuficiencia pancreática provoca malabsorción de grasas y proteínas y desnutrición y crecimiento deficiente en niños con retraso en el peso y la talla (44). Por lo general, aparece temprano en la vida y puede ser progresivo. La esteatorrea (contenido excesivo de grasa en las heces) es la principal manifestación clínica, que afecta el estado nutricional, el desarrollo y la absorción de oligoelementos y vitaminas liposolubles. Se manifiesta como heces espesas, malolientes y de aspecto aceitoso. La pancreatitis es una complicación relativamente frecuente de esta enfermedad (44).

El síndrome de obstrucción intestinal distal es otra complicación gastrointestinal común de la FQ. Se presenta como obstrucción parcial o completa del intestino delgado secundaria a obstrucción del intestino distal con heces viscosas. Los síntomas clínicos incluyen dolor y distensión abdominal y vómitos (45).

Los trastornos del hígado y la vesícula biliar son los más comunes en los pacientes adultos y, entre ellos, solo son superados por las enfermedades pulmonares. Puede ocurrir colestasis, enfermedad de cálculos biliares, fibrosis, cirrosis, hipertensión portal. Algunos pacientes incluso requieren un trasplante de hígado debido a una enfermedad hepática en etapa terminal (46).

Manifestaciones genitourinarias

Los hombres con FQ suelen ser infértiles debido tanto a la ausencia congénita como a la atrofia de los conductos bilaterales, lo que explica la azoospermia y la reducción del volumen de eyaculación (47). La falta de fertilidad en la mujer se ve afectada por la presencia de mucosidad espe-

sa en la zona genital. Algunas niñas pueden experimentar amenorrea e infertilidad. Las mujeres con FQ aún pueden quedar embarazadas y dar a luz a bebés sanos, pero los riesgos para la madre y el feto dependen de la gravedad de la enfermedad pulmonar y sus complicaciones (48).

Tratamiento

La naturaleza multiorgánica de la FQ requiere un abordaje complejo y multidisciplinario. Para recomendar un tratamiento adecuado, se deben considerar las diferentes etapas de la enfermedad. Una combinación de diferentes tratamientos aplicados a lo largo de los años es la responsable de mejorar la supervivencia de los pacientes. A día de hoy, no existe una terapia específica y curativa para la FQ, por lo que el tratamiento de esta enfermedad se basa en varios pilares fundamentales: Una alimentación adecuada, el uso de fármacos que combatan las infecciones e inflamaciones que acompañan a esta patología, fisioterapia respiratoria para fortalecer los músculos pectorales, prevenir deformidades y practicar ejercicios físicos (49). No obstante, las nuevas terapias que se están desarrollando están enfocadas en la causa que origina esta patología, no exclusivamente en los síntomas que produce.

Terapia respiratoria

Las terapias respiratorias deben ir encaminadas a disminuir los síntomas diarios, prevenir las exacerbaciones y disminuir la pérdida de función pulmonar. Se debe considerar tanto el tratamiento de la fase estable como el tratamiento de las complicaciones (exacerbaciones agudas, neumotórax, hemoptisis).

El tratamiento consta fundamentalmente de dos partes: No farmacológico y farmacológico (50). El tratamiento no farmacológico está basado en la rehabilitación respiratoria y el aclaramiento de secreciones y el tratamiento farmacológico

está orientado a disminuir la obstrucción bronquial, reducir la inflamación, favorecer la eliminación de secreciones y disminuir la carga bacteriana. La progresión de las lesiones pulmonares conduce a una destrucción del parénquima pulmonar que producirá, en una fase terminal, insuficiencia respiratoria. Por este motivo, el tratamiento se basará en el uso de oxigenoterapia, ventilación mecánica no invasiva, trasplante pulmonar y, en caso de fracaso de todos los tratamientos, cuidados paliativos. En la Figura 7 se resumen los lugares de acción de los diferentes tratamientos en relación con la fisiopatología de la enfermedad.

Entre las medidas no farmacológicas nos encontramos la rehabilitación respiratoria, que tiene entre sus objetivos: Proporcionar al paciente el mayor grado de funcionalidad e independencia, movilizar y drenar las secreciones bronquiales, fortalecer la musculatura respiratoria reduciendo así la disnea y evitar deformaciones torácicas tales como la cifosis. Tanto la realización de actividad física-deportiva, como la fisioterapia respiratoria son muy importantes en la rehabilitación respiratoria (51).

Los pacientes deben ser educados desde la infancia en la necesidad de realizar actividad física. El ejercicio aeróbico facilita el aclaramiento de secreciones, además de proporcionar los beneficios ya conocidos (52). No existe ninguna evidencia sobre qué clase de ejercicio es más recomendable que otro. En pacientes con afectación pulmonar moderada o grave, el ejercicio físico debe ser supervisado por una unidad de rehabilitación para optimizar su beneficio y evitar riesgos (52).

Se deben fomentar los movimientos que faciliten la eliminación de secreciones junto con la fisioterapia respiratoria (53-55). Existen varios ejercicios que se complementan entre sí: Técnicas de drenaje postural, percusión torácica y vibraciones, técnica de ciclo activo (ejercicios de control de la respiración, ejercicios de expansión torácica y téc-

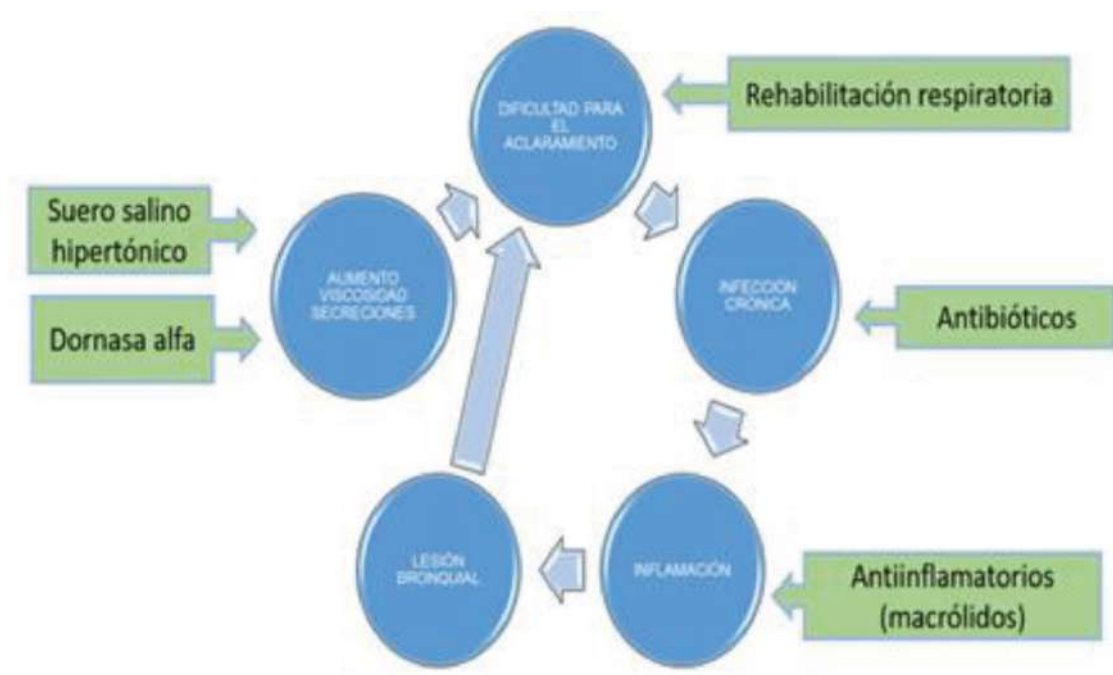


Figura 7. Lugar de acción de los diferentes tratamientos.

nicas de respiración forzada), drenaje autógeno. Además, existen diferentes dispositivos que, de forma activa o pasiva, complementan a estos ejercicios y potencian su acción. A pesar de la amplia evidencia sobre sus beneficios (56), la adhesión sigue siendo el problema fundamental de la fisioterapia respiratoria, especialmente en pacientes con enfermedad leve debido al gran consumo de tiempo que supone su realización de forma óptima, para que no supongan un obstáculo deben plantearse objetivos realistas e intentar utilizar las técnicas más eficientes posibles en cada caso.

La terapia de limpieza de las vías respiratorias también es importante para mantener la salud de los pulmones, ya que eliminar la mucosidad de las vías respiratorias ayuda a reducir la cantidad de bacterias en las vías respiratorias junto con los irritantes, lo que mejora el intercambio de gases y reduce la obstrucción de las vías respiratorias (38). Se recomienda realizar la limpieza dos veces al día, independientemente de los síntomas o la gravedad de la enfermedad, y se aumenta en frecuencia durante las exacerbaciones pulmonares agudas de la FQ (55). La terapia de limpieza puede realizarse con diferentes modalidades como la percusión manual, dispositivos de presión espiratoria positiva y oscilación de la pared torácica de alta frecuencia. El ejercicio debe fomentarse como terapia complementaria, pero no debe utilizarse como sustituto de la limpieza de las vías respiratorias. Los agentes nebulizados que diluyen el moco viscoso de la FQ se usan comúnmente e incluyen DNAasa humana recombinante (dornasa alfa) y solución salina hipertónica.

Además de la educación del paciente y las medidas de control de infecciones, se ha demostrado que el manejo agresivo de las infecciones crónicas de las vías respiratorias previene el deterioro de la función pulmonar. El manejo incluye cultivos orofaríngeos o de esputo frecuentes, incluida la vigilancia de *Staphylococcus aureus* (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina especialmente) y *Pseudomonas aeruginosa* (38). Los laboratorios de microbiología deben conocer el diagnóstico de FQ del paciente para evaluar los patógenos respiratorios comúnmente observados en la FQ. La adquisición inicial de *Pseudomonas aeruginosa* generalmente se trata con antibióticos como la tobramicina nebulizada (57). Los antibióticos nebulizados como la tobramicina o el aztreonam también se pueden usar como terapia de supresión para personas con infección crónica o colonización con *Pseudomonas aeruginosa* y/u otros organismos gram-negativos. Esta terapia de supresión se administra cada dos meses para disminuir el riesgo de resistencia a los antibióticos. Otros organismos, incluido el complejo *Burkholderia/cepacia*, micobacterias no tuberculosas y patógenos fúngicos (*Aspergillus fumigatus*) también se controlan, ya que pueden tener un impacto significativo en la enfermedad pulmonar de la FQ (58, 59). Cabe señalar que las personas con FQ también son propensas a desarrollar una reacción de hipersensibilidad a *Aspergillus*, conocida como aspergilosis broncopulmonar alérgica, que puede afectar la función pulmonar y requiere tratamiento con corticosteroides (60).

La enfermedad pulmonar por FQ es causada por una combinación de infección e inflamación (61). El uso de corticosteroides orales o inhalados en la FQ no está indicado a menos que se usen conjuntamente para tratar el asma. A pesar

de que existe un beneficio con el uso de glucocorticoides sistémicos de forma crónica, sus numerosos efectos adversos hacen que no estén recomendados a largo plazo, especialmente en pacientes más jóvenes. Su uso durante las reagudizaciones tampoco está avalado por ninguna evidencia, por lo que se reservan sólo para aquellos casos en los que predomine la obstrucción bronquial reversible. La inflamación crónica de las vías respiratorias se trata con dosis altas de ibuprofeno o azitromicina (62). Aunque el ibuprofeno tiene beneficios comprobados en la FQ, el riesgo de sangrado gastrointestinal y la necesidad de monitorear los niveles séricos ha limitado su uso (63). Se ha demostrado que la azitromicina mejora la función pulmonar. Sin embargo, existe la preocupación de que las personas con infecciones micobacterianas no reconocidas que reciben azitromicina a largo plazo puedan desarrollar resistencia, por ello se recomienda la detección mediante cultivos de micobacterias antes de iniciar el tratamiento (64).

Otro grupo de fármacos, los macrólidos, poseen propiedades antiinflamatorias e inmunomoduladoras que hacen que sean una herramienta útil para la FQ. Su uso ha demostrado reducir el número de exacerbaciones y la utilización de antibióticos orales o endovenosos, así como mejorar la función pulmonar y la ganancia de peso e índice de masa corporal (65). Además de su efecto antiinflamatorio, los macrólidos reducen la capacidad de *Pseudomonas spp.* de producir biopelículas, haciendo que las bacterias sean más susceptibles a la acción de otros antibióticos. A pesar de su demostrado beneficio clínico, se deben tener en cuenta los potenciales efectos adversos, como las molestias gastrointestinales y la ototoxicidad. Además, debe excluirse la infección por micobacterias no tuberculosas, ya que los macrólidos son parte fundamental de su tratamiento y su uso crónico podría dar lugar a resistencias (65).

Con respecto al tratamiento de las complicaciones, en el caso de las exacerbaciones, el tratamiento generalmente incluye antibióticos y una mayor frecuencia de limpieza de las vías respiratorias para ayudar a eliminar las secreciones. La terapia con antibióticos y el modo de administración (enteral, inhalado y/o intravenoso) estará indicado por la gravedad de la exacerbación y los resultados de cultivos respiratorios (66). En el caso de la hemoptisis, si esta es de escasa a moderada es probable la terapia con antibióticos y si es masiva se considera potencialmente mortal y el tratamiento incluye la estabilización adecuada y la interrupción de las medidas antiinflamatorias y de limpieza de las vías respiratorias. El tratamiento para la hemoptisis masiva o la hemoptisis recurrente significativa es la embolización de la arteria bronquial, si se puede identificar el sitio de la hemorragia (66). Con respecto a otra complicación, los neumotórax, si estos son pequeños pueden tratarse con aspiración con aguja, pero los neumotórax grandes requieren la colocación de un tubo torácico y hospitalización. El procedimiento de la pleurodesis (fusión pleural) es una opción para los neumotórax recurrentes, pero puede complicar el trasplante de pulmón posterior en el caso que se precisara (66).

A pesar de los grandes avances realizados en las terapias respiratorias en los últimos años, muchos de los pacien-

tes acaban desarrollando insuficiencia respiratoria hasta el punto de precisar un trasplante de pulmón, y la FQ es una de las principales causas de trasplante pulmonar. Los Criterios de derivación de un paciente con FQ a una Unidad de trasplante y criterios de inclusión en lista de espera están claramente definidos (67).

Además del tratamiento respiratorio que afronte la clínica que el paciente esté desarrollando en un momento determinado, son fundamentales los programas de seguimiento durante toda la vida del paciente con FQ. El seguimiento de los pacientes con esta enfermedad se lleva a cabo mediante su exploración física y mediante la realización de una serie de pruebas complementarias entre las que encontramos: Pruebas de espirometría, pruebas radiológicas y análisis microbiológico (68).

En cuanto a las pruebas de función pulmonar, los cambios en la espirometría forzada, especialmente el *volumen espiratorio forzado en el primer segundo* (FEV1), permiten evaluar los cambios agudos, el seguimiento a largo plazo y la respuesta a los diferentes tratamientos utilizados (69). Aunque la espirometría suele ser normal en los primeros años, con el tiempo se desarrolla un patrón obstructivo progresivo que se correlaciona bien con el número de exacerbaciones de la enfermedad pulmonar y la mortalidad. El *índice de depuración pulmonar* (LCI), calculado mediante lavado pulmonar con múltiples respiraciones, es una prueba más sensible que la espirometría en lactantes y niños en edad preescolar (70).

En cuanto a las radiografías, una radiografía de tórax es una prueba de imagen simple y fácilmente disponible, pero no muy sensible para evaluar cambios. Aunque hace años se realizaba de forma sistemática cada 1-2 años, cada vez es menos frecuente su uso para el seguimiento de enfermedades pulmonares. La radiografía de tórax sigue siendo muy útil en el diagnóstico de complicaciones agudas como atelectasias o neumotórax (71). La TC de tórax es mucho más sensible que la radiografía para detectar anomalías pulmonares y permite visualizarlas antes. Los cortes de exhalación permiten detectar la presencia de aire residual a edades muy tempranas. Tiene como desventajas una prueba más difícil de realizar y una mayor dosis de radiación, aunque protocolos de baja intensidad y pocas cirugías pueden reducirla significativamente (71).

En cuanto al análisis microbiológico, se deben realizar cultivos de esputo o aspiración nasofaríngea profunda de forma regular, al menos 4 veces al año, en pacientes más jóvenes. Son útiles para la detección temprana de bacterias que requieren una terapia específica incluso en ausencia de síntomas y para dirigir la terapia con antibióticos durante las exacerbaciones pulmonares. Las muestras de aliento con FQ se tratan de manera especial y, por lo tanto, es importante enviarlas a laboratorios con experiencia en FQ y protocolos específicos (72).

Terapia nutricional

El retraso en el crecimiento es una de las primeras manifestaciones de la FQ. Los efectos combinados de la disminución de la ingesta, la malabsorción y el aumento de las deman-

das metabólicas contribuyen al crecimiento deficiente que se observa desde la infancia. La desnutrición se ha asociado con una mayor morbilidad y mortalidad en la FQ. Es por ello que hay que hacer especial énfasis en la educación nutricional, el consejo dietético y la suplementación adecuada de enzimas pancreáticas y vitaminas liposolubles en los pacientes con insuficiencia pancreática (73).

Se recomienda una buena hidratación oral continua para evitar secreciones secas, especialmente en casos de diarrea e inflamación intestinal. Se debe agregar un suplemento de sal durante el período de fiebre cuando aumenta la sudoración. Si se sospecha deshidratación, se debe iniciar inmediatamente la hidratación intravenosa. La terapia de dieta consiste en calorías y proteínas adecuadas para mantener un crecimiento normal (73).

La terapia de reemplazo de enzimas pancreáticas debe iniciarse en pacientes con elastasa fecal diagnóstica o dos variantes de CFTR asociadas con insuficiencia pancreática y signos o síntomas inequívocos de malabsorción (74).

La insuficiencia pancreática produce malabsorción de grasas y vitaminas liposolubles asociadas A, D, E y K. La deficiencia de vitamina A puede asociarse con ceguera nocturna y xerosis ocular, así como con manifestaciones dermatológicas, como hiperqueratosis folicular. La deficiencia de vitamina D puede provocar raquitismo, osteopenia y osteoporosis, que pueden provocar fracturas. La deficiencia de vitamina E puede provocar neuropatía periférica, miopatía y hemólisis, mientras que la deficiencia de vitamina K se asocia con coagulopatía y también puede contribuir a la enfermedad ósea (75). La terapia vitamínica suplementaria debe comenzar después del diagnóstico y se recomienda el control anual de los niveles séricos de las mismas. El uso de un suplemento enteral se evalúa en función de si, a pesar de las medidas adecuadas, es imposible la ingesta de calorías y proteínas necesarias para lograr los objetivos de crecimiento (76).

Terapias moduladoras de CFTR

En los últimos años se ha experimentado un cambio en el paradigma del tratamiento de la FQ. Los moduladores de CFTR son las primeras terapias dirigidas al defecto básico de la FQ al actuar directamente sobre la proteína CFTR, tanto sobre sus alteraciones estructurales y funcionales. Se trata de actuar sobre un nivel mucho más inicial de la enfermedad, frente a la causa que origina esta patología y no sólo sobre el cuadro clínico que producen (77). Sin embargo, cabe señalar que ninguno de estos tratamientos es lo suficientemente eficaz como para ser utilizado como terapia única. Los tratamientos sintomáticos tradicionales (p. ej., antibióticos, mucolíticos, soporte nutricional) con los que un gran número de pacientes alcanzan la edad adulta son muy importantes y deben continuarse.

Existe gran cantidad de mutaciones que generan el defecto del CFTR a diferentes niveles (27). Pueden afectar tanto a la cantidad de proteína disponible como a la capacidad de dicha proteína para transportar agua e iones. Los moduladores de CFTR se clasifican en 3 tipos: Potenciadores, correctores y amplificadores (Figura 8) (78).

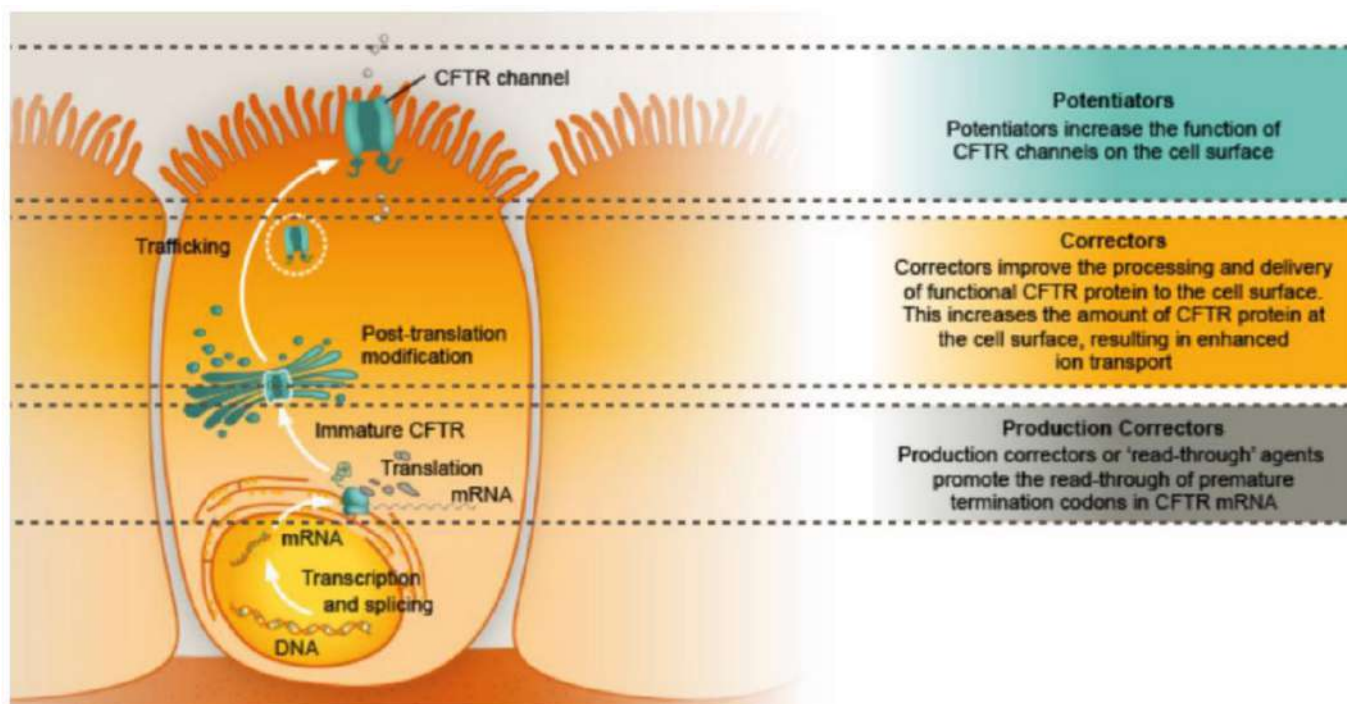


Figura 8. Sitio y mecanismo de acción de diferentes fármacos moduladores de CFTR. Imagen adaptada de De Boeck K. 2019 (79).

La primera terapia moduladora aprobada fue el fármaco Ivacaftor, que pertenece al grupo de los potenciadores. La función de este fármaco consiste en ayudar a mejorar el flujo de cloruro a través de la proteína CFTR en la superficie celular para pacientes con mutaciones de Clase III-V (80). Los moduladores correctores, como Lumacaftor y Tezacaftor, ayudan a que la proteína CFTR se forme correctamente para permitir que la proteína se mueva o se traslade a la superficie celular. Cuando los moduladores correctores se agregan a los potenciadores (Lumacaftor/Ivacaftor o Tezacaftor/Ivacaftor), se consigue mejorar la cantidad de proteína que llega a la superficie celular en pacientes con mutaciones de Clase II (81). Ivacaftor está actualmente aprobado por la Administración Federal de Medicamentos (FDA) para personas de ≥ 6 meses, la combinación de Lumacaftor/Ivacaftor para personas de ≥ 2 años con variantes homocigóticas *F508del* y la combinación de Tezacaftor/Ivacaftor para personas ≥ 6 años con variantes homocigóticas de *F508del* y de otras variantes específicas de la FQ (82). En 2019, la FDA aprobó el uso de una terapia de combinación triple, Elexacaftor/Tezacaftor/Ivacaftor, para personas mayores de 12 años con al menos una variante *F508del* (83).

Se ha demostrado en ensayos clínicos que esta combinación muestra una mejora espectacular en las medidas clave de la enfermedad, incluido el aumento de la función pulmonar, la reducción de las exacerbaciones, la disminución de los valores de cloruro en el sudor, la mejora de la calidad de vida informada por los pacientes. Los moduladores amplificadores están en desarrollo y no están disponibles en la actualidad, pero se espera aumenten la cantidad de proteína CFTR que produce una célula, pero están en desarrollo y actualmente no están disponibles clínicamente (84).

Actualmente, sin embargo, aproximadamente el 10% de los pacientes no pueden ser tratados con moduladores porque no tienen mutaciones que respondan a estos fármacos. Los

tratamientos futuros para estos pacientes pueden incluir agentes para tratar otras clases de mutaciones, tratamiento con tecnología de ARNm o tecnología de edición de genes CRISPR, que puede corregir el defecto genético y proporcionar una cura definitiva para la enfermedad (85).

Nuevas terapias y proyectos de ensayos clínicos

Agentes de lectura

Las mutaciones de parada prematuras, que posee aproximadamente el 10% de la población mundial de FQ, conducen a ARNm inestable truncado y a la falta de proteínas CFTR de longitud completa. Por lo tanto, estas mutaciones no son susceptibles a las terapias moduladoras de CFTR actuales. Los agentes de lectura son moléculas con unión ribosómica que permiten la traducción de proteínas de longitud completa (86). Ataluren fue el primero de estos agentes en ensayos clínicos de fase tardía, pero no produjo resultados efectivos (87). Actualmente, los programas académicos y comerciales están desarrollando nuevos agentes. Varios estudios han investigado el desarrollo de aminoglucósidos modificados químicamente para proporcionar mayor actividad y menor toxicidad que los antibióticos aminoglucósidos en uso clínico (88).

Terapias basadas en genes y ARNm

Desde el descubrimiento de CFTR hace poco más de 30 años, la terapia génica para la FQ ha sido un objetivo tentador, aunque algo difícil de alcanzar. Se han realizado más de 20 ensayos clínicos con un vector viral modificado o un vector sintético para llevar el ADN a las células que recubren las vías respiratorias (89). Los vectores virales han sido difíciles de administrar repetidamente debido a su inmunogenicidad. Se están explorando otros enfoques

en ensayos preclínicos y de fase inicial, incluida la terapia mediada por oligonucleótidos antisentido, la administración de ARNm, la terapia con células madre y la reparación y edición de genes (85). Para aproximadamente el 10-15 % de las personas en todo el mundo que podrían no tener mutaciones genéticas adecuadas para los moduladores de moléculas pequeñas, se necesitará un enfoque diferente para estas personas. Sin embargo, la expresión duradera sin la necesidad de una dosificación regular, si es posible, haría que este enfoque fuera potencialmente útil para todos los pacientes.

Nuevos enfoques antiinfecciosos

La amenaza emergente de la resistencia antimicrobiana tiene implicaciones pronunciadas en la FQ. La resistencia se puede adquirir a través de mutaciones cromosómicas, transferencia horizontal de genes de resistencia de otras bacterias, alteraciones en la expresión de genes o proteínas en respuesta a estímulos ambientales y tolerancia a los antibióticos en infecciones crónicas (90). Se están desarrollando nuevos antibióticos, pero los nuevos antimicrobianos no antibióticos podrían ayudar a superar los mecanismos de resistencia. Muchos de estos antimicrobianos se encuentran en las primeras fases de desarrollo e incluyen la detección de quórum y la formación de biopelículas de *P. aeruginosa*, la virulencia bacteriana y el daño epitelial (57).

Ensayos de terapias antiinflamatorias

La inflamación desregulada es una característica distintiva de la FQ con factores que contribuyen al desequilibrio de los lípidos de la membrana, el estrés oxidativo y las respuestas exageradas de citocinas en el contexto de una infección crónica. A pesar de los avances en las terapias con moduladores de CFTR, los estudios de personas con FQ que reciben estos medicamentos han demostrado que la inflamación de las vías respiratorias persiste (91). Se están realizando ensayos clínicos para probar nuevos agentes que atenúen la inflamación o promuevan su resolución sin bloquear la respuesta antiinflamatoria crítica. Acebilustat (Celtaxsys, Atlanta, GA, EUA) es un inhibidor de leucotrienos que inhibe la acumulación de neutrófilos sin prevenir la activación de la trans migración en respuesta al estímulo inflamatorio (92). La fenretinida (LAU-7B; Laurent Pharmaceuticals, Montreal, QC, Canadá) promueve el ácido docosahexaenoico antiinflamatorio para resolver la inflamación (93). El lenabasum (Corbus Pharmaceuticals Holdings, MA, EE. UU.) es un agonista del receptor 2 de cannabinoides con propiedades anti fibróticas y antiinflamatorias (94).

Fármacos hidratantes y mucoactivos de las vías respiratorias

Los ensayos de fase 2 de OligoG (AlgiPharma, Sandvika, Noruega), un oligosacárido derivado de algas marinas que posee propiedades tanto mucolíticas como disruptoras de biopelículas, están en curso. Varias empresas están desarrollando inhibidores de los canales de sodio epiteliales, tanto como fármacos convencionales como enfoques dirigidos al ARNm (95).

TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS

La FQ es, en esencia, un diagnóstico clínico complementado con pruebas de disfunción del CFTR. Pero el cuadro clínico, que abarca una amplia gama de síntomas y la disfunción de CFTR que varía desde una ligera disminución hasta la ausencia total de función, exige una mayor precisión en los criterios de diagnóstico. Además, la mayoría de los bebés identificados a través del cribado neonatal son asintomáticos en el momento del diagnóstico. Las observaciones clínicas compatibles con la enfermedad FQ se remontan al siglo XVI, ya sea a través de poesía sobre niños con sabor salado, o informes sobre esteatorrea severa o malabsorción por parte de médicos astutos (1).

A pesar de estas descripciones anteriores, el informe sobre la "enfermedad fibroquística del páncreas" en muestras de patología realizado por Dorothy Anderson de la Universidad de Columbia en Nueva York generalmente se considera como el descubrimiento "oficial" del trastorno (4). Otro gran avance fue el reconocimiento del aumento del contenido de sal en el sudor de las personas con FQ por parte de Paul di Sant'Agnese en 1953 (96). Este descubrimiento condujo a la primera prueba de diagnóstico para la FQ. En pacientes con enfermedad pulmonar crónica y/o malabsorción, el diagnóstico de FQ podría confirmarse midiendo una concentración de cloruro en el sudor superior a 60 mmol/L. Sin embargo, fue principalmente a partir de 1985, tras el descubrimiento del gen CFTR, cuando se hizo evidente la extrema variabilidad en el fenotipo asociado con las mutaciones en este gen CFTR. Eso trajo consigo la necesidad de un consenso diagnóstico sobre la FQ (6).

El primer informe de consenso sobre los criterios diagnósticos de la FQ data de 1998 (97). El panel, convocado por la Fundación de Fibrosis Quística de América del Norte, concluyó que el diagnóstico de FQ requiere la presencia de síntomas específicos de FQ o un resultado positivo en la prueba de detección del recién nacido o antecedentes de FQ en un hermano más dos valores elevados de cloruro en el sudor (> 60 mmol/L) en días separados o identificación de 2 mutaciones de FQ (de un panel de 23 mutaciones de FQ) o (rara vez, en ausencia de las dos pruebas previas de disfunción de CFTR) resultados anormales de la prueba de *diferencia de potencial nasal* (NPD) en 2 días.

En 2006, el Grupo de Trabajo de la Red Europea de Diagnóstico de FQ acordó la terminología a utilizar y los algoritmos propuestos para el proceso de diagnóstico de FQ (98). Los pacientes diagnosticados con FQ clásica o típica tienen al menos una característica fenotípica de FQ más un cloruro en el sudor superior a 60 mmol/L. Por el contrario, los pacientes con FQ no clásica o atípica tienen características fenotípicas en al menos un órgano y un valor de cloruro en el sudor en el rango intermedio (30–60 mmol/L) pero prueba de disfunción de CFTR a través de la identificación de 2 enfermedades que causan mutaciones de CFTR y/o una medición de NPD anormal. La distinción entre FQ clásica o típica y no clásica o atípica estuvo motivada además por un fenotipo menos grave en promedio en el último grupo.

En 2008 se informó un consenso estadounidense renovado (99) que difería ligeramente del consenso europeo: No

se aceptaba la distinción entre FQ típica y atípica; el límite inferior de cloruro de sudor intermedio fue de 40 mmol/L a partir de los 6 meses de edad; y la NPD no fue aceptada como prueba diagnóstica. Una comparación de ambos algoritmos para 208 pacientes consecutivos con enfermedad de un solo órgano que ingresaron al proceso de diagnóstico encontró una concordancia del 85% entre el consenso europeo y el estadounidense (100). El límite superior de sudor en el consenso estadounidense fue responsable de buena parte de la discordancia. Al agregar NPD, los datos permitieron que un 17% adicional de sujetos ingresara en una categoría de diagnóstico, mientras que el genotipado extendido no lo hizo.

Con el impacto cada vez mayor de la detección de FQ en el cribado neonatal en el proceso de diagnóstico, y con el creciente reconocimiento de que algunos bebés con pruebas de detección positivas no cumplen con los criterios de diagnóstico de la FQ, en 2017 se publicaron nuevas pautas estadounidenses para el diagnóstico de la FQ. La concordancia con el consenso diagnóstico europeo aumenta: El límite inferior para un valor intermedio de cloruro en el sudor será de 30 mmol/L; la definición americana y europea de recién nacidos con cribado positivo que no cumplen los criterios diagnósticos de FQ será similar; pero el consenso estadounidense aún no acepta el término FQ atípico (101).

A pesar de las pequeñas diferencias entre el consenso americano y el europeo, debemos destacar que establecer el diagnóstico de FQ es sencillo en la gran mayoría de los pacientes que presentan un cuadro clínico claro y valores elevados de cloruro en el sudor (> 60 mmol/L). Solo en menos del 5% de los sujetos, principalmente aquellos con un fenotipo más leve o limitado, el proceso de diagnóstico es más complejo, porque los resultados de las pruebas diagnósticas iniciales no son concluyentes: Concentración de cloruro en el sudor en el rango intermedio, menos de 2 mutaciones causantes de FQ identificadas o ambas. Si es posible, estos pacientes deben derivarse a centros expertos donde se pueden realizar más pruebas de diagnóstico por NPD o mediciones de corriente intestinal (ICM) (101).

Aun así, en algunos pacientes, a pesar de los síntomas compatibles con FQ y alguna indicación de disfunción de CFTR (p. ej., solo un valor intermedio de cloruro en sudor), no se cumplen los criterios diagnósticos (p. ej., solo se identifica 1 mutación de CFTR). Para estos sujetos, se utiliza el término *trastorno relacionado con CFTR* (CFTR-RD) (102). Los pacientes con bronquiectasias diseminadas, ausencia bilateral congénita de los conductos deferentes y pancreatitis aguda o recurrente pueden entrar en esta categoría. Por supuesto, se deben haber explorado diagnósticos alternativos antes de concluir con CFTR-RD; p.ej. en pacientes con bronquiectasias deben excluirse enfermedades como discinesia ciliar primaria, inmunodeficiencia, malformaciones pulmonares, enfermedad por reflujo gastroesofágico, etc.

Síntomas y edad al diagnóstico

En los países donde se ha implementado el cribado neonatal de FQ, el número de pacientes en los que el diagnóstico se realiza por motivos clínicos está disminuyendo lentamente. Sin embargo, todos los programas de cribado

neonatal tendrán fallos. Los médicos deben permanecer atentos al diagnóstico de FQ en niños o adultos que presentan infección crónica o recurrente del tracto respiratorio, especialmente cuando se asocia con signos de malabsorción. Estos síntomas, aislados o combinados, siguen siendo la presentación más común en países donde no se ha implementado. Sin embargo, la lista de síntomas que conducen al diagnóstico de FQ es mucho más larga y también incluye: Síndromes de pérdida de sal (deshidratación y desequilibrio electrolítico agudo en los días calurosos o progresivamente debido al bajo contenido de sal en la leche materna y fórmula infantil); infertilidad masculina por azoospermia y ausencia de los conductos deferentes; obstrucción intestinal; enfermedad del hígado; pancreatitis; consecuencias de malabsorción de proteínas, vitaminas liposolubles o minerales; pólipos nasales, etc. (27). Por ello, todos los médicos, incluidos los especialistas en pulmón, gastroenteritis, hígado o infertilidad de adultos, deben estar familiarizados con el amplio espectro de las manifestaciones iniciales de la enfermedad FQ. A pesar del cribado neonatal de FQ, esta patología debe seguir siendo parte del diagnóstico diferencial en muchos niños y adultos con síntomas crónicos o recurrentes. La FQ abarca un amplio espectro de gravedad de la enfermedad y al menos el 10% de los pacientes solo se diagnostican durante la vida adulta.

En países sin un programa nacional de NBS, la mediana de edad en el momento del diagnóstico varía de 4 meses a casi 2 años. Para obtener el máximo beneficio del cribado neonatal, la edad en el momento del diagnóstico debe ser lo más joven posible y, sin duda, por debajo de los 2 meses. Este objetivo se está logrando en la mayoría de los países europeos con cribado neonatal de FQ. Pero incluso a la edad de 1 a 2 meses, algunos bebés ya presentan síntomas (103).

Pruebas de diagnóstico de FQ

Métodos para mostrar la disfunción de la proteína CFTR en el sudor

La prueba más confiable y ampliamente disponible para el diagnóstico de FQ es el test de sudor. Además, en lactantes con una prueba NBS positiva, el diagnóstico de FQ debe confirmarse mediante una prueba del sudor (56). El sudor isotónico se produce principalmente por una estimulación independiente de CFTR (a través de la inervación colinérgica), pero también por una estimulación dependiente de CFTR (a través de la inervación beta (β)-adrenérgica), en la espiral secretora de la glándula. En el conducto sudorífero, los iones cloruro se reabsorben a través de los canales CFTR, lo que conduce a un sudor hipotónico. La disfunción de CFTR conduce a la producción de sudor con una concentración elevada de cloruro porque el transporte de cloruro de absorción es deficiente (12).

La prueba del sudor se realiza en 3 pasos: Inducción del sudor mediante iontoforesis con pilocarpina (que es una estimulación colinérgica), recolección del sudor y medición de la concentración de cloruro en el sudor y/o conductividad del sudor que mide todos los electrolitos en

el sudor (104). Los puntos principales se enumeran a continuación:

- **Condiciones preanalíticas:** El método de elección es la inducción del sudor mediante iontoforesis con pilocarpina, seguida de la recolección del sudor con una gasa, papel de filtro (ambos requieren alrededor de 75 mg de sudor) o espiral de macroducto (que requiere 50 ml) (Figura 9). Se requiere una tasa de sudoración mínima de 1 g/m² de superficie corporal por minuto, por lo que el tiempo de recolección suele ser de unos 30 minutos. La prueba de sudor se puede realizar a partir de las 2 semanas de edad en recién nacidos de más de 2 Kg de peso, normalmente hidratados y sin enfermedad sistémica. Debe posponerse en sujetos edematosos o con tratamiento corticoide sistémico. No debe realizarse en sujetos que reciben oxígeno por sistema de suministro abierto. La prueba de sudor debe ser realizada por operadores experimentados y cualificados.
- **Condiciones analíticas:** Deben seguirse las recomendaciones internacionales, dependiendo del equipo disponible. Los iones cloruro se pueden medir en el sudor mediante métodos coulombimétricos o potenciométricos directos y el resultado de la concentración de cloruro se expresa en mmol/L. Los iones totales en el sudor se pueden evaluar mediante la conductividad del sudor y el resultado se expresa en equivalentes de mmol/L de cloruro sódico.
- **Condiciones post-analíticas:** En 2009 se llevó a cabo la armonización entre las recomendaciones estadounidenses y europeas para la interpretación del test de sudor: ahora, para todas las edades, los valores normales de concentraciones de cloruro en el sudor son <30 mmol/L. Un valor superior a 60 mmol/l de cloruro respalda el diagnóstico de FQ con una sensibilidad del 98%, una especificidad del 83% y un valor predictivo positivo del 99,5 %. Los valores elevados de cloruro en el sudor que no se deben a la FQ son infrecuentes e incluyen enfermedades endocrinas y algunos trastornos raros que, por lo general, pueden diferenciarse fácilmente de la FQ (Tabla 1) (106). La

medición de la concentración de cloruro en el sudor se considera más precisa que la medición de la conductividad del sudor (que refleja el contenido total de iones) con el nanoducto, que solo necesita 3 mL. No siempre es posible obtener suficiente sudor (incluso utilizando el sistema de recolección de macroductos) en los recién nacidos. Las comparaciones recientes de la conductividad del sudor en muestras obtenidas por nanoducto y la concentración de cloruro en sudor en muestras del macroducto arrojaron resultados altamente concordantes (107). Además, el nanoducto tuvo una tasa de éxito mucho mayor.

Tabla 1. Concentraciones elevadas de cloruro en el sudor notificadas en condiciones sin fibrosis quística. Tabla adaptada de Bienvenu. T. 2020 (106).

Errores metodológicos	Contaminación por sudor, evaporación parcial del sudor
Causas iatrogénicas	Tratamiento con corticoides sistémicos, prostaglandinas, N-acetilcisteína, perfusión de cloruro sódico
Causas metabólicas	<ul style="list-style-type: none"> • Hipotiroidismo no tratado, pseudohipoaldosteronismo • Diabetes insípida resistente a la vasopresina • insuficiencia suprarrenal • Fucosidosis, mucopolisacaridosis, enfermedades por almacenamiento de glucógeno • Desnutrición
Enfermedad de la piel y de las glándulas sudoríparas	<ul style="list-style-type: none"> • Dermatitis atópica • Displasia ectodérmica

En los últimos años, se ha estudiado mejor la variabilidad intra e interindividual en el valor de cloruro en sudor en pacientes con FQ. La mayor parte de la variabilidad en el cloruro del sudor (56%) está determinada por el genoti-



Figura 9. Test de sudor. Se induce la sudoración por iontoforesis con pilocarpina durante 10 minutos. El sudor se recolecta con una gasa o, como se ve en esta figura, utilizando una bobina Macroduct®, que permite una fácil visualización de la progresión de la recolección del sudor por el tinte azul. Imagen adaptada de De Boeck K 2017 (105).

po específico de CFTR. Otras causas de variabilidad son: Variación en el tiempo (14%), factores ambientales (13%), factores residuales como la variabilidad de la prueba (10%) y factores individuales únicos (7%). La variabilidad de la prueba de sudor en la vida real también se calculó a partir de mediciones repetidas durante el brazo de placebo en ensayos clínicos. La desviación estándar intrapaciente en pacientes con G551D asciende a 8,1 mmol/L. Como tal, especialmente en sujetos con un valor intermedio de cloruro en el sudor, repetir la medición del cloruro en el sudor a veces puede incluso cambiar la conclusión del diagnóstico, lo que señala la importancia de otras medidas de la función CFTR (106).

Métodos para detectar variantes patogénicas en el gen CFTR

Dado que las terapias específicas de mutación están disponibles, es muy importante identificar las mutaciones responsables de la FQ en el paciente individual. Esto se hace ejecutando primero un panel estándar de mutaciones de CFTR que contiene las mutaciones causantes de enfermedades más comunes en la población estudiada (que cubre alrededor del 80% al 85% de todas las mutaciones en la población). Cuando no se identifican 2 mutaciones de CFTR y el diagnóstico de FQ es casi seguro (concentración de cloruro en el sudor superior a 60 mmol/L) o muy probable (p. ej., cuadro clínico sugestivo), el segundo paso es la secuenciación exhaustiva de todo el gen CFTR más la evaluación de grandes deleciones o inserciones. Los laboratorios certificados son obligatorios para estos últimos análisis más complejos. Incluso entonces, el análisis de mutaciones de CFTR no es la respuesta a todos los dilemas, ya que el potencial patogénico de muchas mutaciones de CFTR no está claro (106).

El gen CFTR fue descubierto hace más de 30 años. Solo una mutación, *F508del*, es frecuente y ocurre en alrededor del 70% de los alelos de FQ; en comparación, todas las demás mutaciones son raras. En la mayoría de los países, solo entre 6 y 8 mutaciones tienen una frecuencia superior al 1%. Por lo tanto, en total, muchos pacientes tienen mutaciones que son raras o ultra raras, es decir, que solo ocurren en unos pocos o incluso en un solo individuo. En la actualidad, se han informado más de 2.000 mutaciones diferentes en el gen CFTR en pacientes con FQ o síntomas similares a los de la FQ (105).

Las mutaciones se etiquetan como causantes de enfermedad, no causantes de enfermedad, de importancia clínica variable o de importancia clínica desconocida. Una mutación se considera causante de enfermedad según criterios clínicos si la concentración media de cloruro en el sudor derivada de al menos 3 pacientes portadores de la variante es de 60 mmol/L (105). Las características clínicas asociadas con una mutación de CFTR se derivaron de pacientes que portaban la mutación de interés en trans con una mutación que causaba FQ, es decir, que previamente habían demostrado tener una función residual mínima. Se ha evaluado la gravedad clínica y las consecuencias funcionales de las mutaciones. Si es necesario, se evalúa la penetrancia de la enfermedad en los padres de pacientes con FQ, ya que la infertilidad es una característica clínica con una penetrancia muy alta (106).

Métodos para mostrar la disfunción epitelial de la proteína CFTR

La principal característica de las células epiteliales es su polaridad: Están rodeadas por dos membranas distintas delimitadas por uniones estrechas; una membrana apical que da a la luz del órgano y una basolateral al lado de la sangre. Las membranas difieren por su composición en proteínas involucradas en gradientes electroquímicos que determinan los flujos de iones transepiteliales. CFTR es un canal de aniones (principalmente cloruro y bicarbonato) en la membrana apical, que es activado por AMPc y controlado por la unión/hidrólisis de ATP. CFTR también controla negativamente la absorción apical de sodio a través del canal de sodio sensible a la amilorida. En algunos tejidos que expresan CFTR, como las vías respiratorias o el epitelio rectal, la alta concentración intracelular de cloruro conduce a un gradiente electroquímico a favor de la secreción de cloruro a través de CFTR en la membrana apical. La secreción activa de cloruro crea la fuerza motriz para la salida de agua. En ausencia de CFTR funcional, la ausencia de inhibición del canal de sodio epitelial en la membrana apical conduce a la hiperabsorción de sodio, en gran parte responsable de la hiperviscosidad de la secreción (106). La absorción de sodio y la secreción de cloruro se exploran en los epitelios accesibles, principalmente el epitelio nasal y el tejido rectal.

Epitelio nasal: Mediciones de la diferencia de potencial nasal (NPD)

La NPD es una prueba in vivo que mide la divergencia de potencial eléctrico entre un electrodo de referencia subcutáneo y un electrodo de cloruro conectado a un catéter nasal (108). La sonda se coloca debajo del cornete inferior donde se registra el voltaje negativo máximo y se mantiene en esta posición durante del examen. Los registros se realizan durante el flujo continuo de soluciones salinas a una velocidad de 5 mL/min. Después de un período de referencia, se perfunden soluciones para investigar la función de CFTR: (1) Amilorida en solución salina, para bloquear el canal de sodio epitelial; (2) solución salina libre de cloruro en presencia de amilorida para impulsar la secreción de cloruro y (3) isoproterenol (10 μ M) en una solución salina libre de cloruro que contiene amilorida para activar CFTR. Por lo tanto, la medición de NPD proporciona información tanto sobre la absorción de sodio como sobre la secreción de cloruro. En el epitelio de la FQ hay una mayor absorción de sodio mediada por el canal de sodio epitelial debido a la ausencia o disfunción de CFTR y la diferencia de potencial inicial resultante es más negativa. El mayor cambio en la diferencia de potencial se observa con la aplicación de amilorida, mientras que hay un cambio mínimo o nulo con la estimulación de la secreción de cloruro a través de las vías dependientes de CFTR (Figura 10) (108).

La mayor debilidad de NPD es la variabilidad intrasujeto relativamente grande de prueba a prueba. Esto se puede disminuir promediando los valores de medición en ambas fosas nasales o aumentando la superficie de muestreo modificando el catéter nasal. Además, el hecho de que no se hayan aceptado valores de referencia universales es un

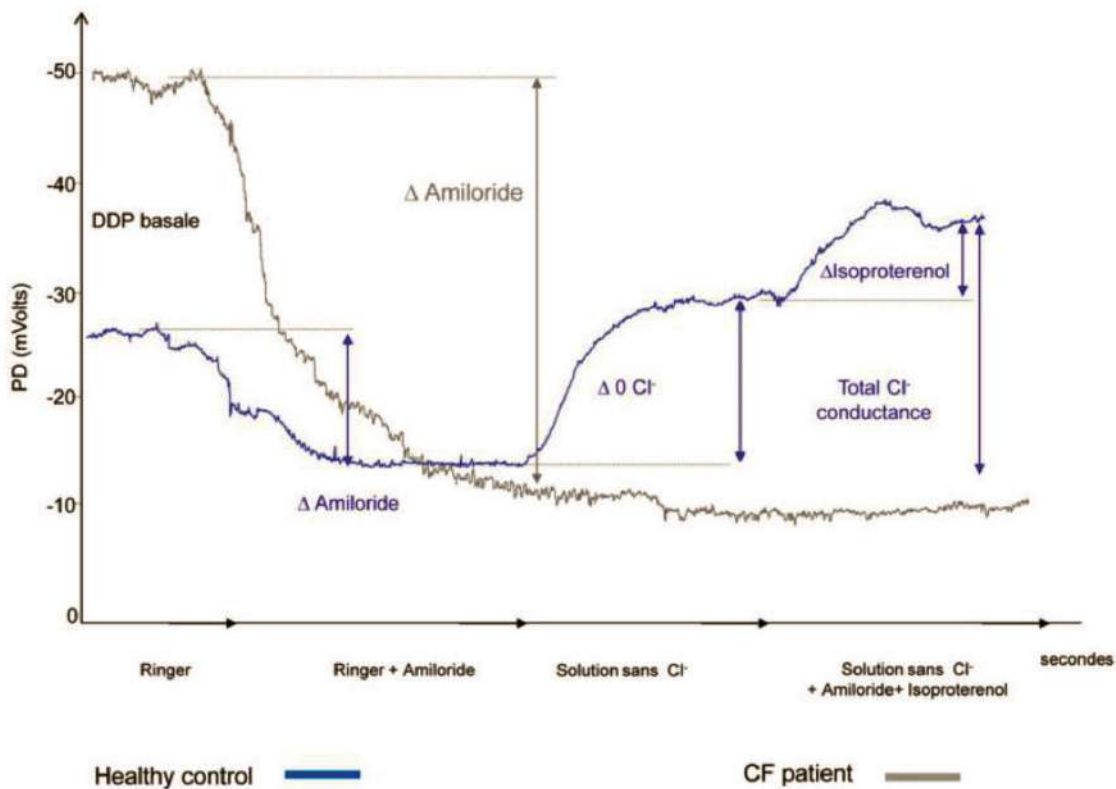


Figura 10. Trazado de la diferencia de potencial nasal (NPD) en sujetos con fibrosis quística (gris) y en control sano (azul). El NPD de referencia es más negativo en la FQ en comparación con los sanos; al bloquear el canal de sodio, el cambio de potencial es mayor en FQ que en sanos; cuando se estimula el canal de cloruro de CFTR con una solución de cloruro cero e isoproterenol, hay poco o ningún cambio en el potencial en la FQ, pero un gran cambio hacia un potencial más negativo en los sanos; al estimular los canales de cloruro alternativos por ATP tanto en FQ como en sanos muestran un cambio a un potencial más negativo. Imagen adaptada de Castellani et. al. 2019 (36).

inconveniente; en la actualidad, cada laboratorio utiliza sus propios valores de corte para distinguir la FQ, la no FQ y la FQ atípica. A pesar de estas deficiencias, existe amplia evidencia de que el NPD puede ayudar a confirmar o descartar el diagnóstico de FQ. Aunque la prueba se puede realizar en bebés mediante un protocolo abreviado, realizar una medición de NPD se vuelve mucho más factible a partir de los 6 años (36).

La prueba requiere epitelio nasal no inflamado, ausencia de pólipos, infección, etc., y la colaboración del paciente para permanecer con la cabeza inmóvil durante los 30 min. de prueba. La prueba NPD es realizada por laboratorios especializados (106).

Epitelio rectal: Mediciones de corriente de cortocircuito transepitelial (ICM)

La ICM se ha utilizado para estudiar la función CFTR en el epitelio del colon humano y se puede emplear en casos de NPD no concluyentes (36). Las biopsias rectales humanas recién obtenidas se colocan en una cámara de micro-Ussing para la medición de la corriente de cortocircuito transepitelial (Isc) *ex vivo*, que indica los flujos de iones netos a través del tejido y sus cambios una vez expuestos a una serie de secretagogos de cloruro (p. ej., el agonista AMPc forskolina y el agonista de calcio carbacol). Las muestras de biopsia se montan inmediatamente entre las dos medias celdas de la cámara de Ussing. Luego se llena con el tampón de Meyler y se agregan secretagogos de acuerdo con un protocolo estandarizado. En FQ, la respuesta de Isc a la forskolina está

ausente o reducida. La respuesta al carbacol se invierte debido a la salida de potasio apical en ausencia de una salida de cloruro o bifásica debido a la salida de cloruro residual mediada por CFTR en formas más leves de FQ (Figura 11) (36).

Teniendo en cuenta que la calidad del epitelio nasal a menudo se altera en pacientes con FQ y que el tejido rectal expresa niveles relativamente altos de CFTR, se ha desarrollado la ICM para estudiar la función de CFTR (106). Al igual que NPD, ICM es especialmente útil para diagnosticar o descartar FQ en pacientes con un cloruro de sudor intermedio, con menos de 2 mutaciones de CFTR identificadas o con mutaciones de CFTR de significado clínico desconocido. Esto puede ser particularmente útil en regiones con una prevalencia baja de la mutación *F508del* y una gran diversidad de mutaciones CFTR, como por ejemplo Brasil o Israel (106).

Las ventajas de la ICM son que es mínimamente invasiva y aplicable a todas las edades. Las biopsias por succión no son dolorosas y se realizan en 5 minutos. ICM es más robusto que NPD porque las mediciones *ex vivo* son más reproducibles y permiten el uso de agentes específicos de CFTR. Se han identificado valores claros de referencia/umbral entre la FQ-suficiencia pancreática y los sujetos de control, lo que respalda el papel de la ICM en el diagnóstico de la FQ y pacientes con trastornos relacionados con CFTR. Sin embargo, la presencia de defecto de hemostasia o antecedentes de hemorroides es una limitación (36). Como NPD, ICM es realizado por laboratorios especializa-

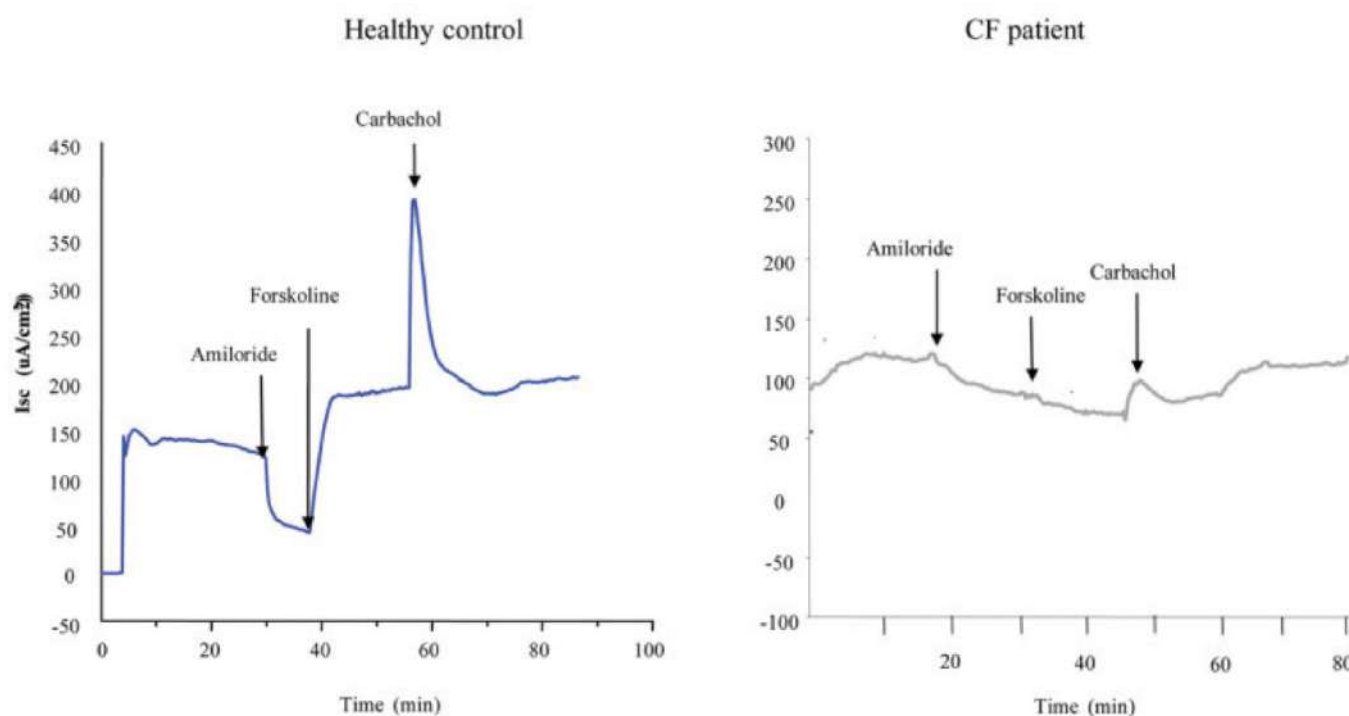


Figura 11. Trazado de la medición de corriente intestinal (ICM) en sujetos con fibrosis quística (derecha) y en control sano (izquierda). Imagen adaptada de Castellani et. al. 2019 (36).

dos. En el tejido normal, la activación dependiente de AMPc con forskolina induce grandes respuestas secretoras de cloruro que están ausentes en los tejidos con FQ. Los niveles de transporte mejorado de sodio sensible a amilorida y la secreción colinérgica (carbachol) reducida de cloruro se utilizan para determinar el grado de función residual de CFTR (106).

Pruebas de diagnóstico en el horizonte

La prueba del sudor beta adrenérgico

La secreción de sudor tiene un componente independiente de CFTR y otro dependiente de CFTR que pueden estimularse y medirse individualmente mediante la inyección intradérmica secuencial de metacolina (secreción independiente de CFTR) seguida de un cóctel β -adrenérgico (secreción dependiente de CFTR) (105). La proporción de sudor dependiente de CFTR e independiente de CFTR se mide ópticamente glándula por glándula o por evaporimetría. Las tasas de sudoración estimuladas β -adrenérgicamente parecen tener una lectura casi lineal en todo el rango de función de CFTR y diferenciar FQ, portadores de FQ y controles sanos. La medición óptica parece ser más sensible que la evaporimetría. Esta prueba puede tener potencial como prueba de diagnóstico y posiblemente incluso más como biomarcador de la función CFTR en ensayos clínicos (106).

Organoides

Usando condiciones de cultivo muy específicas, las células madre contenidas en el tejido intestinal de una biopsia por succión del recto pueden multiplicarse, diferenciarse y ensamblarse espontáneamente en estructuras tridimensionales huecas llamadas "organoides" (105). Esto requiere un delicado equilibrio de varios factores de crecimiento como

Wnt, R-spondin y Noggin más una matriz de membrana basal específica. Estos "organoides" o "mini tripas" contienen todos los tipos de células intestinales. Son genética y fenotípicamente extremadamente estables. Se pueden expandir durante largos períodos de tiempo mediante la ruptura mecánica y resembrado de las células madre que aún están contenidas en el organoide. Los organoides se pueden almacenar en biobancos, descongelar, volver a expandir y volver a analizar si es necesario (109).

Cuando crecen en matriz extracelular, las células se orientan con su membrana basal hacia el exterior. En el contexto de la FQ, los organoides se pueden usar para probar la función CFTR de un individuo (110). De hecho, los organoides intestinales tienen una alta expresión de la proteína CFTR. Cuando los organoides intestinales derivados de controles sanos se estimulan con forskoline para aumentar el AMPc intracelular y activar los canales CFTR, se producirá la secreción de cloruro y agua en la luz del organoide. Durante este proceso, los organoides se hincharán y esta hinchazón se cuantifica mediante microscopía, de ahí el nombre del ensayo: Ensayo de hinchazón inducida por forskoline o ensayo FIS (105). La hinchazón se puede expresar como el aumento máximo del área de superficie en comparación con la línea de base después de 60 minutos bajo una condición de estimulación particular o como área bajo la curva, teniendo en cuenta la estimulación con concentraciones crecientes de forskoline. Este ensayo es específico de CFTR ya que no se observa hinchazón cuando se agrega un inhibidor de CFTR al ensayo. Por el contrario, dependiendo de las mutaciones presentes en CFTR y de las concentraciones de forskoline utilizadas, los organoides derivados de sujetos con FQ no se hincharán (p. ej., sujeto homocigoto *G542X*), se hincharán solo mínimamente (*F508del* homocigoto) o tendrán algún grado

residual de hinchazón (R117H/F508del). Como tal, el ensayo FIS tiene el potencial de establecer el diagnóstico de FQ al medir la función de CFTR en sujetos con mutaciones raras de CFTR de significado clínico desconocido (105, 111).

Diagnóstico neonatal

Justificación del cribado neonatal de FQ

Las pruebas de detección de FQ en recién nacidos han cambiado la forma en que la enfermedad se diagnostica de forma rutinaria y están ayudando a mejorar la calidad de vida de las personas con esta enfermedad potencialmente mortal a través de la detección temprana. Un número cada vez mayor de países está implementando la detección de FQ en recién nacidos en sus programas de salud (112).

El objetivo de implementar un programa de tamizaje neonatal es hacer un diagnóstico temprano de una enfermedad específica, incluso antes de que aparezcan los primeros síntomas clínicos. De esta forma, se evitan diagnósticos tardíos o incorrectos, se fortalece la confianza de los padres, se inicia a tiempo el tratamiento adecuado y se brinda asesoramiento genético a la familia (113).

Para que el cribado neonatal esté indicado para una determinada enfermedad se deben cumplir una serie de criterios (114): Que la incidencia sea importante, que exista un método simple y fácil de realizar, que el método tenga un alto grado de sensibilidad y especificidad, que la relación coste-beneficio sea buena y que la instauración de un tratamiento precoz modifique de forma favorable el curso de la enfermedad.

Todos estos criterios se cumplen en la FQ. Por lo tanto, los programas de tamizaje neonatal se implementaron en algunos países a fines de la década de 1970. Francia fue el primer país en introducir el cribado a nivel nacional en 2002. Al año siguiente, Australia lanzó el programa a nivel nacional. En Estados Unidos se fue introduciendo paulatinamente en diferentes estados y en 2010 se lanzó en todos los estados (112).

En el caso de España, el cribado de la FQ en recién nacidos se inició a finales de la década de los noventa. Las primeras comunidades autónomas que lo completaron fueron Cataluña y Castilla y León. Actualmente, el cribado de FQ forma parte del programa de cribado neonatal de enfermedades metabólicas hormonales en los servicios de atención comunes del Sistema Nacional de Salud y se ofrece a todos los recién nacidos en España (115).

Como resultado de la implementación de estos programas, se publicaron varios estudios que reflejan los resultados del seguimiento de estos pacientes y fueron muy interesantes. Primero, fue posible obtener cifras reales de la prevalencia de la enfermedad en cada país, ya que se encontró que varía mucho entre los diferentes grupos de población. El cribado neonatal permitió comprender mejor el trasfondo natural de la enfermedad. Por ejemplo, se pudo comprobar que es posible detectar anomalías en las pruebas de función respiratoria ya en los primeros meses de vida, como aumento del volumen residual funcional, aumento del aclaramiento pulmonar y disminución de los flujos respiratorios

(116). Otros autores detectaron la presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en el 15% de los niños mediante análisis microbiológicos de lavado broncoalveolar, correlacionando su presencia con aumento de neutrófilos e IL-8 (117). La tomografía computarizada torácica también confirmó anomalías radiológicas en el 80% de los casos (118). Otros estudios encontraron bronquitis en el 27% de los niños de un año y atrapamiento de aire en el 49% de los bebés (119).

En conjunto, muchos artículos publicados muestran que la progresión clínica es mejor en pacientes con FQ diagnosticada mediante cribado. La detección temprana de la enfermedad hace que estos niños alcancen un mejor estado nutricional que los niños diagnosticados en la clínica. Además, se encontró que estos pacientes tenían tasas más bajas de colonización por *Pseudomonas aeruginosa* y una mejor función pulmonar. Por todas estas razones, no es de extrañar que los niños con FQ diagnosticados a través del cribado tengan una mejor supervivencia, incluso con costes sanitarios más bajos, que los niños diagnosticados más tarde (120). Por todo ello, actualmente, el cribado neonatal de FQ está plenamente justificado.

Técnicas y protocolos

En la década de 1960, las primeras pruebas para la detección temprana de FQ se basaron en la detección de un mayor contenido de albúmina en el meconio de los recién nacidos, pero eran poco sensibles y muy bajas. A fines de la década de 1970, se descubrió que los recién nacidos con FQ tenían niveles sanguíneos más altos de IRT que los que no estaban afectados por la enfermedad (121).

El método analítico más utilizado para su cuantificación en sangre seca es un ensayo de inmunofluorescencia utilizando dos anticuerpos de ratón que reconocen dos "locus antigénicos" separados de la molécula TIR. Por ser una técnica fácil de utilizar, fiable y muy sensible, el cribado de la enfermedad en los recién nacidos se realizó mediante la determinación de la misma a partir de una muestra de sangre extraída del talón del recién nacido. Cabe señalar que los pacientes con FQ e íleo meconial pueden tener niveles normales de IRR, y factores como la prematuridad o la impureza pueden aumentar los niveles de IRR en recién nacidos sanos (122). Lo mismo sucede en portadores de alguna mutación de FQ (123).

Cuando en 1989 se descubrió el gen CFTR, el gen que causa la FQ, hubo un antes y un después en el diagnóstico de la enfermedad. El estudio de las mutaciones relacionadas con la enfermedad es una excelente herramienta para el diagnóstico, pero es un procedimiento mucho más costoso y complicado que determinar la TIR. Por lo tanto, las pruebas genéticas que incluyen las mutaciones más frecuentes en la población estudiada (124), se recomiendan solo cuando el análisis de TIR es elevado para reducir los falsos negativos y los falsos positivos por aumento de la TIR.

Para evitar las pruebas genéticas, se recomendó determinar la proteína relacionada con la pancreatitis, también a partir de una gota de sangre del talón, junto con el análisis TIR. Pero esta decisión es mucho menos común. Esto

reduciría el costo de la detección, incluso si redujera la especificidad (125, 126).

Se han desarrollado diferentes programas de cribado neonatal en función de la variabilidad genética de la población y de su capacidad económica. En todos los casos, la determinación de la TIR se basa en una muestra de sangre obtenida entre el tercer y quinto día de vida del recién nacido con un talón que satura la tarjeta correspondiente. Se recomienda realizar pruebas seriadas en la población de estudio para determinar el punto de corte para minimizar el riesgo de resultados falsos negativos. Si esta primera determinación de la TIR es normal, el resultado es negativo y se notifica a la familia. De lo contrario, proceda con uno de estos protocolos (127):

- Tripsina inmunorreactiva/Tripsina inmunorreactiva (TIR/TIR).
- Tripsina inmunorreactiva/ADN (TIR/ADN).

El protocolo TIR/TIR consiste en una segunda prueba TIR entre los días 25 y 40, si la primera prueba fue positiva (128). Si el resultado está dentro del rango normal, el resultado de la prueba se considera negativo, pero si el IRR aún está elevado, el niño se remite al departamento de derivación para una evaluación y una prueba del sudor. Esta estrategia es menos costosa y no identifica portadores, aunque en teoría se podrían perder sujetos que no participaron en la segunda prueba. En la Figura 12 se representa este protocolo.

El protocolo TIR/DNA consiste en pruebas genéticas para mutaciones de FQ en niños con una TIR inicial alta. Esta estrategia aumenta la sensibilidad y especificidad del diagnóstico.

Si se detectan mutaciones en el test genético, se remite al niño al servicio de derivación. Si la prueba es negativa, se realiza una segunda determinación de la TIR, y si continúa elevada, también se envía a la unidad de referencia (128).

La decisión de aceptar uno u otro protocolo queda en manos de las autoridades sanitarias de cada comunidad. La ventaja del protocolo TIR/ADN es que el diagnóstico se hace más rápido, causa menos estrés a la familia y en muchos casos no requiere una segunda muestra de sangre. Sin embargo, tiene como principal inconveniente que resulta más caro que el protocolo TIR/TIR (129) y se detectan muchos portadores de una mutación genética.

La unidad de referencia debe ser una unidad multidisciplinar con personal especializado en el diagnóstico y seguimiento de la FQ. En este, el diagnóstico final se realiza para los niños derivados por el programa de tamizaje neonatal. Para ello se realiza una prueba de sudor, que se considera positiva si la concentración de cloro es de 60 mmol/l o superior. Dos pruebas positivas confirman el diagnóstico de FQ. Valores de 30-59 mmol/l se consideran sospechosos, por lo que es necesario realizar otras pruebas complementarias y comprobar el cuadro clínico (130). Hay que tener en cuenta que la producción y recogida del sudor puede resultar difícil para los bebés más pequeños, así como para los bebés prematuros. Por ello, se recomienda realizar la prueba a partir de la segunda/tercera semana de vida y si el niño pesa más de 3 kg.

Con los resultados obtenidos del test del sudor y el estudio genético, se plantean las siguientes situaciones (Figura 13) (18):

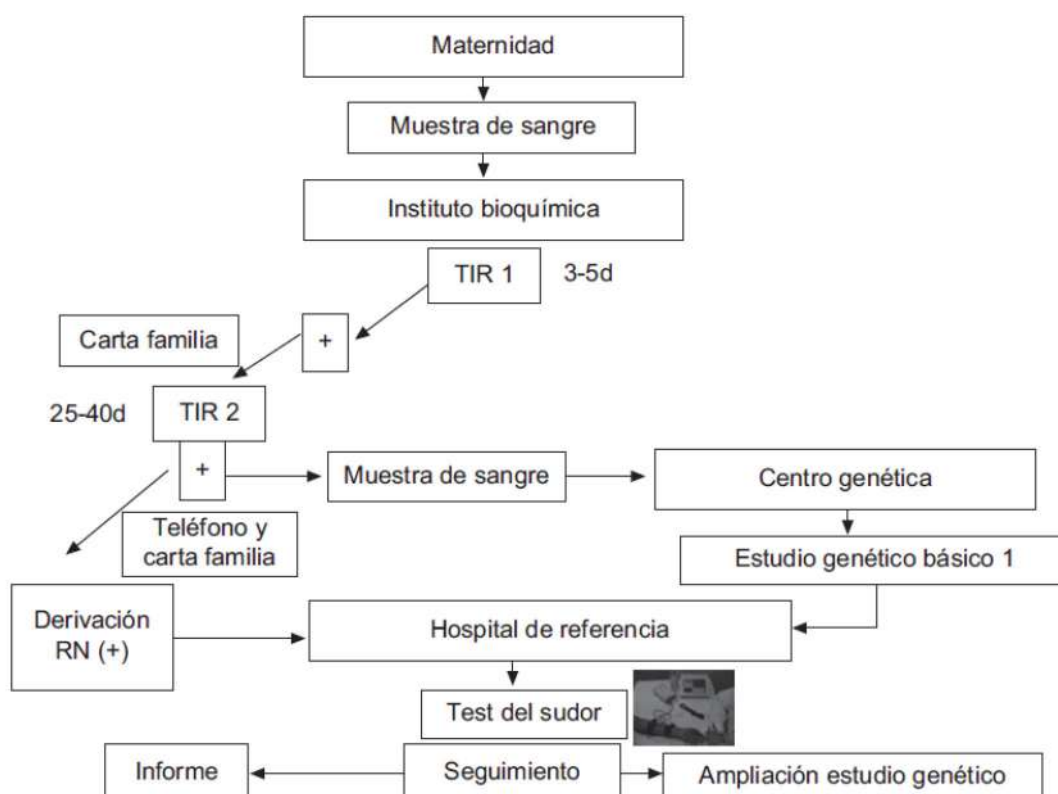


Figura 12. Algoritmo para el protocolo de criba neonatal de fibrosis quística TIR/TIR. Imagen adaptada de Barrio Gómez de Agüero et. al. 2009 (128).

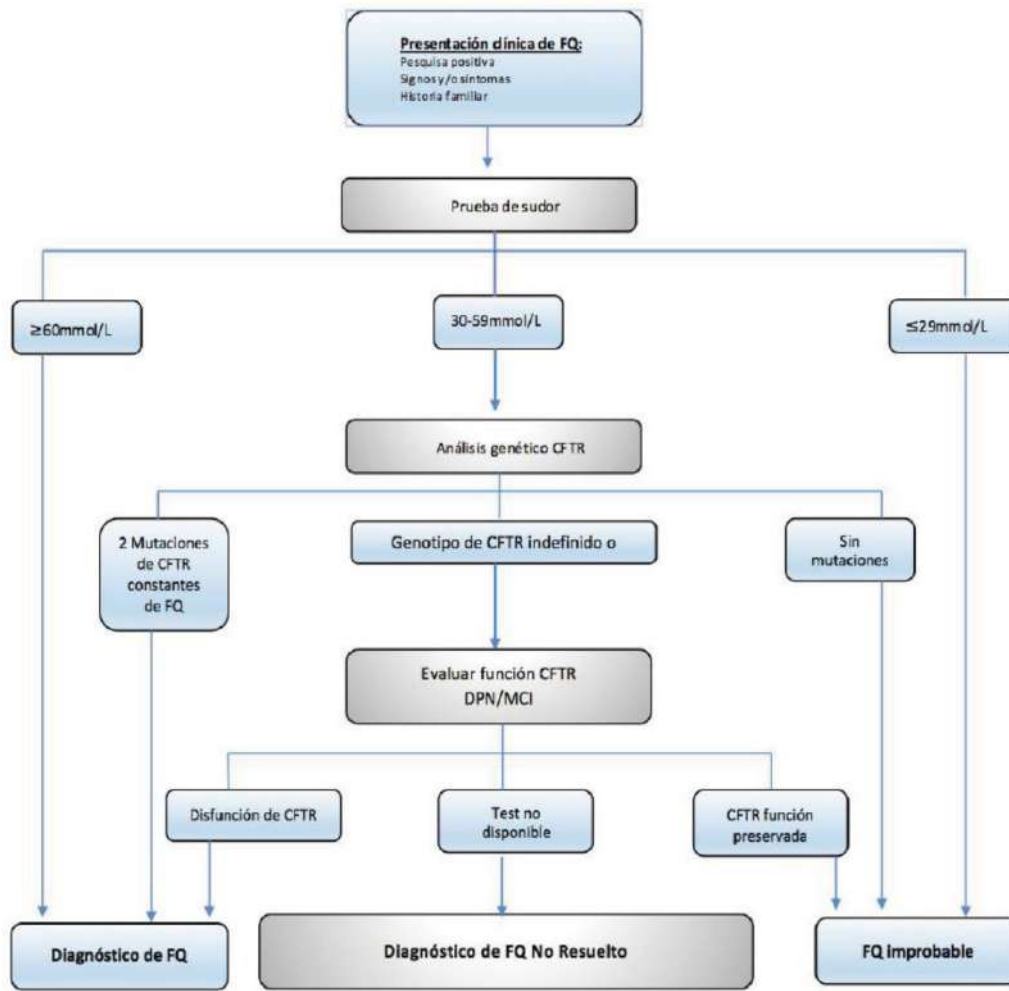


Figura 13. Algoritmo diagnóstico de fibrosis quística. Imagen adaptada de Farrell P.M. et. al. 2008 (99).

- Diagnóstico de FQ: Test del sudor positivo y/o estudio genético con 2 mutaciones.
- Portador: Test del sudor normal y estudio genético con una mutación.
- Falso positivo: Test del sudor normal y estudio genético negativo.
- No concluyente: Test del sudor con valores dudosos y detección de una o ninguna mutación en el estudio genético.

En el grupo poco claro, se recomiendan pruebas genéticas extendidas y monitoreo del paciente con análisis de sudor repetidos regularmente (131). Se ofrece asesoramiento genético a los padres de niños enfermos, así como a sus portadores. Esto ha contribuido a una reducción de los casos de FQ en países donde la detección se ha llevado a cabo durante algún tiempo.

Comunicar el diagnóstico de FQ

Los padres recordarán durante toda su vida cuándo, cómo y quién les comunicó el diagnóstico de FQ (132). Como es de esperar, escuchar el diagnóstico de FQ puede evocar emociones fuertes en los padres. Por lo tanto, anunciar el diagnóstico es un hito muy importante y puede influir en el afrontamiento futuro. El diagnóstico debe ser comunicado

en un ambiente tranquilo, sin prisas, compasivo y por una persona, preferiblemente el médico, que sea experto en la enfermedad y pueda responder con precisión a las preguntas de los padres. Deben comunicarse los principales hechos sobre la enfermedad: Acortamiento de la vida, necesidad de un tratamiento complejo de por vida, riesgo de una alta carga de enfermedad y varias complicaciones, riesgo de recurrencia de la FQ en futuros embarazos, infertilidad masculina. El estilo de comunicación debe adaptarse a las necesidades de los padres: algunos están tan conmocionados que cualquier información adicional no se asimilará; algunos querrán tanta información como sea posible. Los encuentros repetidos en el transcurso de unos pocos días generalmente funcionarán mejor que un solo encuentro largo (132). La información escrita reforzará y consolidará la información oral dada. Hacer frente a la situación por parte de los padres puede ser difícil y requerirá tiempo, especialmente si sus hijos están gravemente enfermos en el momento del diagnóstico. Pero también, los padres de un recién nacido asintomático que reciben el diagnóstico después del cribado neonatal necesitarán tiempo para aceptar este hecho completamente nuevo. Algunos pueden negarlo y les resulta difícil creer que su "niño de aspecto saludable" tiene una enfermedad grave y necesita este tratamiento complejo. A veces, existe el sentimiento de culpa, especialmente cuando nace un segundo hijo con FQ y no se realizaron pruebas prenatales (132).

Así como anunciar el diagnóstico de FQ es una mala noticia, también hay que dar esperanza. La esperanza de vida de los niños con FQ nacidos hoy se estima en 50 años. Está disponible una terapia específica de mutación muy eficaz para el 3% de los pacientes con una mutación de clase III y un tratamiento con una eficacia modesta para los pacientes homocigotos *F508del*. La investigación intensiva para encontrar un tratamiento para el defecto básico de la enfermedad genética más común que acorta la vida conducirá casi con seguridad a mejores resultados (49).

Anunciar el diagnóstico de FQ en adultos es diferente (133). Por supuesto, la información va directamente al paciente, no a través de sus padres. Para muchos pacientes y familias, anunciar el diagnóstico levantará una nube de polvo: Por qué no se consideró antes la FQ; qué con otros miembros de la familia; cuál será mi esperanza de vida; no tengo tiempo para un tratamiento tan complejo; no quiero compartir esa información con mi entorno. El altísimo riesgo de infertilidad masculina puede preocupar seriamente a los jóvenes. Cuando el diagnóstico se anuncia después de la tercera o cuarta década, los pacientes pueden sorprenderse mucho, pero pueden ver más fácilmente las ventajas: Comprender el motivo de sus quejas anteriores; iniciando finalmente una terapia específica y más efectiva. Pero la conclusión es que los pacientes y los padres difieren; no existe una forma uniforme ni mejor de anunciar el diagnóstico de FQ (133).

Protocolo de seguimiento

Cuando un recién nacido es diagnosticado de FQ mediante el programa de cribado neonatal, debe seguir un protocolo de seguimiento que será llevado a cabo por la unidad multidisciplinaria de FQ que le corresponda. En primer lugar, como se ha comentado anteriormente, se debe informar a los padres sobre la enfermedad, el tratamiento y el pronóstico, brindar apoyo psicológico y resolver dudas (132). Si el niño tiene hermanos, se debe hacer una prueba de sudor para descartar la enfermedad. Además, el seguimiento incluye visitas periódicas y pruebas adicionales. En cada visita, se evalúa clínicamente al niño en cuanto a nutrición y síntomas gastrointestinales o respiratorios tempranos de la enfermedad.

Los exámenes adicionales dependen de la condición del niño y del curso de la enfermedad. Por lo general, se realizan un análisis de sangre y una prueba de elastasa en heces en la primera visita para descartar insuficiencia pancreática. Las visitas posteriores siguen un protocolo estándar para pacientes con FQ (134), adaptado a las necesidades de cada niño.

No hay consenso sobre cuándo se debe realizar la primera radiografía de tórax y/o tomografía computarizada en un niño asintomático, y esto varía desde el momento del diagnóstico hasta los 12-24 meses de edad, pero generalmente se realiza cuando el paciente tiene exacerbación respiratoria (135). Se recomiendan dosis bajas de radiación, sedación y movimientos inspiratorios y espiratorios para la TC de tórax para evaluar las vías respiratorias del niño (136).

Las pruebas de función respiratoria generalmente no se realizan en bebés, excepto con fines de investigación, ya que requieren un equipo muy costoso y personal capacita-

Tabla 2. Pruebas de función respiratoria en niños pequeños. Técnicas disponibles para bebés (*cursiva*), niños en edad preescolar (*regular*) y ambos (*negrita*). Tabla adaptada de Hernández. 2014 (138).

Aspecto de la función pulmonar	Técnicas disponibles
Capacidad residual funcional	<ul style="list-style-type: none"> • Pletismografía • Dilución de helio • Lavado de nitrógeno
Volúmenes pulmonares	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Compresión torácica a volumen corriente</i> • <i>Compresión torácica con insuflación previa</i> • Espirometría (adaptada)
Distensibilidad	<ul style="list-style-type: none"> • Pletismografía • Oscilometría • Técnicas de oclusión
Otros	<ul style="list-style-type: none"> • Análisis del volumen corriente • Técnica de lavado en múltiples respiraciones • Índice de aclaramiento pulmonar

do. Es a partir de los 3-4 años, cuando el niño ya sí suele colaborar para realizar espirometrías y se empiezan a realizar estas pruebas de manera establecida (137). La Tabla 2 enumera las técnicas disponibles para las pruebas de función respiratoria en niños pequeños, tanto lactantes como preescolares.

El lavado broncoalveolar tampoco se realiza de forma rutinaria, aunque puede ser adecuado para establecer un diagnóstico microbiológico e iniciar la terapia adecuada en exacerbaciones respiratorias graves y mala respuesta a la terapia (137). En caso de insuficiencia pancreática, se prescribe un tratamiento con enzimas pancreáticas. Se recomiendan vitaminas liposolubles y sal adicional, especialmente en climas cálidos (73).

En cuanto a la dieta, se recomienda la lactancia materna, la nutrición complementaria adecuada a la edad y la regulación regular de enzimas y vitaminas para garantizar un buen valor nutricional (73).

En cuanto a la respiración, se recomienda comenzar con fisioterapia respiratoria y administrar las vacunas correspondientes según el esquema vacunal. También se recomienda la vacunación contra la influenza para padres, familiares y bebés a partir de los 6 meses de edad. La administración de fármacos inhalados (broncodilatadores, corticoides) suele prescribirse en bebés con respiración frecuente. En cuanto a los fármacos que mejoran el aclaramiento mucociliar, tanto el suero hipertónico como la dornasa alfa (139) son bien tolerados en niños más pequeños, aunque no se ha demostrado su eficacia a esta edad. Se toma un frotis de garganta en cada visita para verificar si hay una infección respiratoria. En la fase de empeoramiento se inicia tratamiento antibiótico según la bacteria aislada en el último cultivo. Inicialmente, los niños suelen estar colonizados por *Staphylococcus aureus* y la administración de antibióticos está indicada durante las exacerbaciones respiratorias. La Sociedad Española de

Neumología Pediátrica recomienda ciprofloxacino oral durante 3 semanas y colistina o tobramicina inhalada continua. Si el cultivo sigue siendo positivo después de un mes de tratamiento, se continúa con la terapia de inhalación y se prescribe un nuevo ciclo de ciprofloxacino oral. Si el cultivo no es negativo, se puede administrar un nuevo curso de antibióticos anti-*Pseudomonas* por vía intravenosa y la terapia de inhalación se puede continuar durante 6-12 meses hasta obtener tres cultivos negativos, con muestras tomadas cada 1-2 meses de intervalo (140). Si el cultivo no se ha vuelto negativo después de este tiempo, la colonización se considera crónica. Algunos autores consiguieron buenas tasas de erradicación utilizando únicamente tobramicina inhalada durante 28 días (141). Con esta política de erradicación se aumenta la edad de colonización final y se reduce la prevalencia de infecciones crónicas. Se han realizado ensayos clínicos sobre la administración profiláctica de antibióticos contra *Pseudomonas*, pero aún no se ha demostrado su eficacia (142).

Por otro lado, el papel del pediatra de atención primaria de la FQ en el seguimiento es limitado porque los pacientes suelen ser atendidos en unidades multidisciplinarias que abordan casi todos sus problemas de salud.

En pacientes no diagnosticados, el pediatra debe mantener un alto índice de sospecha ante los siguientes síntomas: Tos húmeda crónica, malabsorción, progresión y episodios de deshidratación severa. Atención Primaria debe ofrecer las vacunas según el calendario vigente así como la vacuna antigripal anual a los pacientes que ya han sido diagnosticados. Además, en áreas sin unidades de referencia, el pediatra de atención primaria debe evaluar primero al paciente sintomático, prescribir el tratamiento inicial y contactar con la unidad de referencia de fibrosis quística.

BIBLIOGRAFÍA

- Goetz D, Ren CL. Review of Cystic Fibrosis. *Pediatric annals*. 2019;48(4):e154-e61.
- Bell SC, Mall MA, Gutierrez H, Macek M, Madge S, Davies JC, et al. The future of cystic fibrosis care: A global perspective. *The Lancet Respiratory medicine*. 2020;8(1):65-124.
- Corriveau S, Sykes J, Stephenson AL. Cystic fibrosis survival: The changing epidemiology. *Current opinion in pulmonary medicine*. 2018;24(6):574-8.
- Navarro S. [Historical compilation of cystic fibrosis]. *Gastroenterología y hepatología*. 2016;39(1):36-42.
- Balfour-Lynn IM, King JA. CFTR modulator therapies - Effect on life expectancy in people with cystic fibrosis. *Paediatric respiratory reviews*. 2022;42:3-8.
- Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean M, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: Chromosome walking and jumping. *Science*. 1989;245(4922):1059-65.
- Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: Cloning and characterization of complementary DNA. *Science*. 1989;245(4922):1066-73.
- Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: Genetic analysis. *Science*. 1989;245(4922):1073-80.
- Férec C, Scotet V. Genetics of cystic fibrosis: Basics. *Archives de pediatrie : organe officiel de la Societe francaise de pediatrie*. 2020;27 Suppl 1:eS4-eS7.
- Keogh RH, Szczesniak R, Taylor-Robinson D, Bilton D. Up-to-date and projected estimates of survival for people with cystic fibrosis using baseline characteristics: A longitudinal study using UK patient registry data. *Journal of cystic fibrosis : Official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2018;17(2):218-27.
- Tridello G, Castellani C, Meneghelli I, Tamanini A, Assael BM. Early diagnosis from newborn screening maximises survival in severe cystic fibrosis. *ERJ open research*. 2018;4(2).
- Boucher RC. New concepts of the pathogenesis of cystic fibrosis lung disease. *The European respiratory journal*. 2004;23(1):146-58.
- Gentzsch M, Mall MA. Ion Channel Modulators in Cystic Fibrosis. *Chest*. 2018;154(2):383-93.
- Shteinberg M, Haq IJ, Polineni D, Davies JC. Cystic fibrosis. *Lancet (London, England)*. 2021; 397(10290): 2195-211.
- Pallagi P, Hegyi P, Rakonczay Z, Jr. The Physiology and Pathophysiology of Pancreatic Ductal Secretion: The Background for Clinicians. *Pancreas*. 2015;44(8):1211-33.
- Simonin J, Bille E, Crambert G, Noel S, Dreano E, Edwards A, et al. Airway surface liquid acidification initiates host defense abnormalities in Cystic Fibrosis. *Scientific reports*. 2019;9(1):6516.
- López-Valdez JA, Aguilar-Alonso LA, Gándara-Quezada V, Ruiz-Rico GE, Ávila-Soledad JM, Reyes AA, et al. Cystic fibrosis: Current concepts. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*. 2021;78(6):584-96.
- Turcios NL. Cystic Fibrosis Lung Disease: An Overview. *Respiratory care*. 2020;65(2):233-51.
- Pankonien I, Quresma MC, Rodrigues CS, Amaral MD. CFTR, Cell Junctions and the Cytoskeleton. *International journal of molecular sciences*. 2022;23(5).
- Zhang JT, Jiang XH, Xie C, Cheng H, Da Dong J, Wang Y, et al. Downregulation of CFTR promotes epithelial-to-mesenchymal transition and is associated with poor prognosis of breast cancer. *Biochimica et biophysica acta*. 2013;1833(12):2961-9.
- Rout-Pitt N, Farrow N, Parsons D, Donnelley M. Epithelial mesenchymal transition (EMT): A universal process in lung diseases with implications for cystic fibrosis.

- tic fibrosis pathophysiology. *Respiratory research*. 2018;19(1):136.
22. Amaral MD, Quaresma MC, Pankonien I. What Role Does CFTR Play in Development, Differentiation, Regeneration and Cancer? *International journal of molecular sciences*. 2020;21(9).
 23. Buckle VJ, Scambler PJ, Wainwright BJ. Localisation of a sequence, 7C22, showing close linkage to the cystic fibrosis locus. *Cytogenetics and cell genetics*. 1987;44(1):41-2.
 24. Pagin A, Sermet-Gaudelus I, Burgel PR. Genetic diagnosis in practice: From cystic fibrosis to CFTR-related disorders. *Archives de pediatrie : Organe officiel de la Societe francaise de pediatrie*. 2020;27 Suppl 1:eS25-eS9.
 25. Amaral MD. Novel personalized therapies for cystic fibrosis: Treating the basic defect in all patients. *Journal of internal medicine*. 2015;277(2):155-66.
 26. Marson FAL, Bertuzzo CS, Ribeiro JD. Classification of CFTR mutation classes. *The Lancet Respiratory medicine*. 2016;4(8):e37-e8.
 27. Dickinson KM, Collaco JM. Cystic Fibrosis. *Pediatrics in review*. 2021;42(2):55-67.
 28. McCague AF, Raraigh KS, Pellicore MJ, Davis-Marcisak EF, Evans TA, Han ST, et al. Correlating Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Function with Clinical Features to Inform Precision Treatment of Cystic Fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2019;199(9):1116-26.
 29. Toledano MB, Mukherjee SK, Howell J, Westaby D, Khan SA, Bilton D, et al. The emerging burden of liver disease in cystic fibrosis patients: A UK nationwide study. *PLoS one*. 2019;14(4):e0212779.
 30. Sathe M, Houwen R. Is meconium ileus associated with worse outcomes in cystic fibrosis? *Journal of cystic fibrosis : Official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2019;18(6):746.
 31. Bergeron C, Cantin AM. Cystic Fibrosis: Pathophysiology of Lung Disease. *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2019;40(6):715-26.
 32. Chalmers JD. Cystic fibrosis lung disease and bronchiectasis. *The Lancet Respiratory medicine*. 2020;8(1):12-4.
 33. Hubert D, Fajac I, Bienvenu T, Desmazes-Dufeu N, El-laffi M, Dall'Ava-Santucci J, et al. Diagnosis of cystic fibrosis in adults with diffuse bronchiectasis. *Journal of cystic fibrosis : Official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2004;3(3):203.
 34. Pasteur MC, Bilton D, Hill AT. British Thoracic Society guideline for non-CF bronchiectasis. *Thorax*. 2010;65 Suppl 1:i1-58.
 35. Chang AB, Fortescue R, Grimwood K, Alexopoulou E, Bell L, Boyd J, et al. European Respiratory Society guidelines for the management of children and adolescents with bronchiectasis. *The European respiratory journal*. 2021;58(2).
 36. Castellani C, Linnane B, Pranke I, Cresta F, Sermet-Gaudelus I, Peckham D. Cystic Fibrosis Diagnosis in Newborns, Children, and Adults. *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2019;40(6):701-14.
 37. Moslehi MA. Cystic fibrosis complicated by cor pulmonale: The first case report in Taiwan. *Pediatrics and neonatology*. 2019;60(3):351.
 38. Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2003;168(8):918-51.
 39. Paranjape SM, Mogayzel PJ, Jr. Cystic fibrosis in the era of precision medicine. *Paediatric respiratory reviews*. 2018;25:64-72.
 40. Goss CH. Acute Pulmonary Exacerbations in Cystic Fibrosis. *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2019;40(6):792-803.
 41. Garcia B, Flume PA. Pulmonary Complications of Cystic Fibrosis. *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2019;40(6):804-9.
 42. Monroe EJ, Pierce DB, Ingraham CR, Johnson GE, Shivaram GM, Valji K. An Interventionalist's Guide to Hemoptysis in Cystic Fibrosis. *Radiographics : A review publication of the Radiological Society of North America, Inc*. 2018;38(2):624-41.
 43. Romàn CM, Loughlin HC, Aliaj E, Fay RJ, Tran QT, Borowitz D. Hemoptysis from the perspective of people with cystic fibrosis. *The clinical respiratory journal*. 2020;14(3):299-303.
 44. Madácsy T, Pallagi P, Maleth J. Cystic Fibrosis of the Pancreas: The Role of CFTR Channel in the Regulation of Intracellular Ca(2+) Signaling and Mitochondrial Function in the Exocrine Pancreas. *Frontiers in physiology*. 2018;9:1585.
 45. Tobias J, Tillotson M, Maloney L, Fialkowski E. Meconium Ileus, Distal Intestinal Obstruction Syndrome, and Other Gastrointestinal Pathology in the Cystic Fibrosis Patient. *The Surgical clinics of North America*. 2022;102(5):873-82.
 46. Kamal N, Surana P, Koh C. Liver disease in patients with cystic fibrosis. *Current opinion in gastroenterology*. 2018;34(3):146-51.
 47. Yefimova M, Bourmeyster N, Becq F, Burel A, Lavault MT, Jouve G, et al. Update on the cellular and molecular aspects of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) and male fertility. *Morphologie : Bulletin de l'Association des anatomistes*. 2019;103(341):4-10.
 48. Jain R, Kazmerski TM, Aitken ML, West N, Wilson A, Bozkanat KM, et al. Challenges Faced by Wo-

- men with Cystic Fibrosis. *Clinics in chest medicine*. 2021;42(3):517-30.
49. De Boeck K, Amaral MD. Progress in therapies for cystic fibrosis. *The Lancet Respiratory medicine*. 2016;4(8):662-74.
 50. Ringshausen FC, Hellmuth T, Dittrich AM. [Evidence-based treatment of cystic fibrosis]. *Der Internist*. 2020;61(12):1212-29.
 51. Hilton N, Solis-Moya A. Respiratory muscle training for cystic fibrosis. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2018;5(5):Cd006112.
 52. García-Pérez-de-Sevilla G, Yvert T, Blanco Á, Sosa Pedreschi AI, Thuissard IJ, Pérez-Ruiz M. Effectiveness of Physical Exercise Interventions on Pulmonary Function and Physical Fitness in Children and Adults with Cystic Fibrosis: A Systematic Review with Meta-Analysis. *Healthcare (Basel, Switzerland)*. 2022;10(11).
 53. Stanford G, Ryan H, Solis-Moya A. Respiratory muscle training for cystic fibrosis. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2020;12(12):Cd006112.
 54. Burnham P, Stanford G, Stewart R. Autogenic drainage for airway clearance in cystic fibrosis. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2021;12(12):Cd009595.
 55. Wilson LM, Morrison L, Robinson KA. Airway clearance techniques for cystic fibrosis: an overview of Cochrane systematic reviews. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2019;1(1):Cd011231.
 56. Castellani C, Duff AJA, Bell SC, Heijerman HGM, Munck A, Ratjen F, et al. ECFS best practice guidelines: The 2018 revision. *Journal of cystic fibrosis : Official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2018;17(2):153-78.
 57. Pang Z, Raudonis R, Glick BR, Lin TJ, Cheng Z. Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology advances*. 2019;37(1):177-92.
 58. Keown K, Reid A, Moore JE, Taggart CC, Downey DG. Coinfection with *Pseudomonas aeruginosa* and *Aspergillus fumigatus* in cystic fibrosis. *European respiratory review : An official journal of the European Respiratory Society*. 2020;29(158).
 59. Lord R, Jones AM, Horsley A. Antibiotic treatment for *Burkholderia cepacia* complex in people with cystic fibrosis experiencing a pulmonary exacerbation. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2020;4(4):Cd009529.
 60. Lattanzi C, Messina G, Fainardi V, Tripodi MC, Pisi G, Esposito S. Allergic Bronchopulmonary Aspergillosis in Children with Cystic Fibrosis: An Update on the Newest Diagnostic Tools and Therapeutic Approaches. *Pathogens (Basel, Switzerland)*. 2020;9(9).
 61. Roesch EA, Nichols DP, Chmiel JF. Inflammation in cystic fibrosis: An update. *Pediatric pulmonology*. 2018;53(S3):S30-s50.
 62. Dinwiddie R. Anti-inflammatory therapy in cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : Official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2005;4 Suppl 2:45-8.
 63. Lands LC, Stanojevic S. Oral non-steroidal anti-inflammatory drug therapy for lung disease in cystic fibrosis. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2019;9(9):Cd001505.
 64. Cogen JD, Faino AV, Onchiri F, Gibson RL, Hoffman LR, Kronman MP, et al. Effect of Concomitant Azithromycin and Tobramycin Use on Cystic Fibrosis Pulmonary Exacerbation Treatment. *Annals of the American Thoracic Society*. 2021;18(2):266-72.
 65. Lee E, Sol IS, Kim JD, Yang HJ, Min TK, Jang GC, et al. Long-term macrolide treatment for non-cystic fibrosis bronchiectasis in children: A meta-analysis. *Scientific reports*. 2021;11(1):24287.
 66. Mingora CM, Flume PA. Pulmonary Complications in Cystic Fibrosis: Past, Present, and Future: Adult Cystic Fibrosis Series. *Chest*. 2021;160(4):1232-40.
 67. Ramos KJ, Smith PJ, McKone EF, Pilewski JM, Lucy A, Hempstead SE, et al. Lung transplant referral for individuals with cystic fibrosis: Cystic Fibrosis Foundation consensus guidelines. *Journal of cystic fibrosis : Official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2019;18(3):321-33.
 68. Bayfield KJ, Douglas TA, Rosenow T, Davies JC, Elborn SJ, Mall M, et al. Time to get serious about the detection and monitoring of early lung disease in cystic fibrosis. *Thorax*. 2021;76(12):1255-65.
 69. Loukou I, Moustaki M, Deligianni A, Sardeli O, Douros K. Forced Oscillation Technique for Monitoring the Respiratory Status of Children with Cystic Fibrosis: A Systematic Review. *Children (Basel, Switzerland)*. 2021;8(10).
 70. Hardaker KM, Panda H, Hulme K, Wong A, Coward E, Cooper P, et al. Abnormal preschool Lung Clearance Index (LCI) reflects clinical status and predicts lower spirometry later in childhood in cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : Official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2019;18(5):721-7.
 71. Hota P, Madan R. Cystic Fibrosis from Childhood to Adulthood: What Is New in Imaging Assessment? *Radiologic clinics of North America*. 2020;58(3):475-86.
 72. Blanchard AC, Waters VJ. Microbiology of Cystic Fibrosis Airway Disease. *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2019;40(6):727-36.
 73. Brownell JN, Bashaw H, Stallings VA. Growth and Nutrition in Cystic Fibrosis. *Seminars in respiratory and critical care medicine*. 2019;40(6):775-91.
 74. Ng C, Major G, Smyth AR. Timing of pancreatic enzyme replacement therapy (PERT) in cystic fibrosis. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2021;8(8):Cd013488.

75. Hatziparasides G, Loukou I, Moustaki M, Douros K. Vitamin K and cystic fibrosis: A gordian knot that deserves our attention. *Respiratory medicine*. 2019;155:36-42.
76. Altman K, McDonald CM, Michel SH, Maguiness K. Nutrition in cystic fibrosis: From the past to the present and into the future. *Pediatric pulmonology*. 2019;54 Suppl 3:S56-s73.
77. Lopes-Pacheco M. CFTR Modulators: The Changing Face of Cystic Fibrosis in the Era of Precision Medicine. *Frontiers in pharmacology*. 2019;10:1662.
78. Grasemann H. CFTR Modulator Therapy for Cystic Fibrosis. *The New England journal of medicine*. 2017;377(21):2085-8.
79. De Boeck K. Cystic fibrosis in the year 2020: A disease with a new face. *Acta paediatrica (Oslo, Norway: 1992)*. 2020;109(5):893-9.
80. Aoyama BC, Mogayzel PJ. Ivacaftor for the treatment of cystic fibrosis in children under six years of age. *Expert review of respiratory medicine*. 2020;14(6):547-57.
81. Lumacaftor/ivacaftor for cystic fibrosis. *Australian prescriber*. 2019;42(5):170-1.
82. Tezacaftor/ivacaftor for cystic fibrosis. *Australian prescriber*. 2019;42(5):174-5.
83. Elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor for cystic fibrosis. *Australian prescriber*. 2021;44(4):137-8.
84. Middleton PG, Mall MA, Dřevínek P, Lands LC, McKone EF, Polineni D, et al. Elexacaftor-Tezacaftor-Ivacaftor for Cystic Fibrosis with a Single Phe508del Allele. *The New England journal of medicine*. 2019;381(19):1809-19.
85. Pranke I, Golec A, Hinzpeter A, Edelman A, Sermet-Gaudelus I. Emerging Therapeutic Approaches for Cystic Fibrosis. From Gene Editing to Personalized Medicine. *Frontiers in pharmacology*. 2019;10:121.
86. Rowe SM, Clancy JP. Pharmaceuticals targeting nonsense mutations in genetic diseases: Progress in development. *BioDrugs : Clinical immunotherapeutics, biopharmaceuticals and gene therapy*. 2009;23(3):165-74.
87. Aslam AA, Higgins C, Sinha IP, Southern KW. Ataluren and similar compounds (specific therapies for premature termination codon class I mutations) for cystic fibrosis. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2017;1(1):Cd012040.
88. Xue X, Mutyam V, Tang L, Biswas S, Du M, Jackson LA, et al. Synthetic aminoglycosides efficiently suppress cystic fibrosis transmembrane conductance regulator nonsense mutations and are enhanced by ivacaftor. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2014;50(4):805-16.
89. Alton EW, Boyd AC, Davies JC, Gill DR, Griesenbach U, Harrison PT, et al. Genetic medicines for CF: Hype versus reality. *Pediatric pulmonology*. 2016;51(S44):S5-s17.
90. Kidd TJ, Canton R, Ekkelenkamp M, Johansen HK, Gilligan P, LiPuma JJ, et al. Defining antimicrobial resistance in cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : Official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2018;17(6):696-704.
91. Hisert KB, Heltshe SL, Pope C, Jorth P, Wu X, Edwards RM, et al. Restoring Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Function Reduces Airway Bacteria and Inflammation in People with Cystic Fibrosis and Chronic Lung Infections. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2017;195(12):1617-28.
92. Elborn JS, Horsley A, MacGregor G, Bilton D, Grosswald R, Ahuja S, et al. Phase I Studies of Acetilustat: Biomarker Response and Safety in Patients with Cystic Fibrosis. *Clinical and translational science*. 2017;10(1):28-34.
93. Garić D, De Sanctis JB, Wojewodka G, Houle D, Cupri S, Abu-Arish A, et al. Fenretinide differentially modulates the levels of long- and very long-chain ceramides by downregulating Cers5 enzyme: Evidence from bench to bedside. *Journal of molecular medicine (Berlin, Germany)*. 2017;95(10):1053-64.
94. Burstein SH. Ajulemic acid: Potential treatment for chronic inflammation. *Pharmacology research & perspectives*. 2018;6(2):e00394.
95. Mall MA. ENaC inhibition in cystic fibrosis: Potential role in the new era of CFTR modulator therapies. *The European respiratory journal*. 2020;56(6).
96. Di Sant'Agnese PA, Darling RC, Perera GA, Shea E. Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas; clinical significance and relationship to the disease. *Pediatrics*. 1953;12(5):549-63.
97. Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: A consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. *The Journal of pediatrics*. 1998;132(4):589-95.
98. De Boeck K, Wilschanski M, Castellani C, Taylor C, Cuppens H, Dodge J, et al. Cystic fibrosis: Terminology and diagnostic algorithms. *Thorax*. 2006;61(7):627-35.
99. Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, et al. Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report. *The Journal of pediatrics*. 2008;153(2):S4-s14.
100. Ooi CY, Dupuis A, Ellis L, Jarvi K, Martin S, Gonska T, et al. Comparing the American and European diagnostic guidelines for cystic fibrosis: Same disease, different language? *Thorax*. 2012;67(7):618-24.
101. Tridello G, Menin L, Pintani E, Bergamini G, Assael BM, Melotti P. Nasal potential difference outcomes support diagnostic decisions in cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : Official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2016;15(5):579-82.

102. Bombieri C, Claustres M, De Boeck K, Derichs N, Dodge J, Girodon E, et al. Recommendations for the classification of diseases as CFTR-related disorders. *Journal of cystic fibrosis : Official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2011;10 Suppl 2:S86-102.
103. Zybert K, Mierzejewska E, Sands D. Clinical status and somatic development of patients with or without meconium ileus diagnosed through neonatal screening for cystic fibrosis. *Developmental period medicine*. 2015;19(1):41-9.
104. Leniček Krleža J, Aralica M, Tješić-Drinković D, Crneković K, Culej J, Fressl Juroš G, et al. National Guidelines for the Performance of the Sweat Test in Diagnosis of Cystic Fibrosis on behalf of the Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine and the Cystic Fibrosis Centre - Paediatrics and adults, University Hospital Centre Zagreb. *Biochemia medica*. 2022;32(1):010501.
105. De Boeck K, Vermeulen F, Dupont L. The diagnosis of cystic fibrosis. *Presse medicale (Paris, France : 1983)*. 2017;46(6 Pt 2):e97-e108.
106. Bienvenu T, Nguyen-Khoa T. Current and future diagnosis of cystic fibrosis: Performance and limitations. *Archives de pediatrie : Organe officiel de la Societe francaise de pediatrie*. 2020;27 Suppl 1:eS19-eS24.
107. Vernooij-van Langen A, Dompeling E, Yntema JB, Arets B, Tiddens H, Loeber G, et al. Clinical evaluation of the Nanoduct sweat test system in the diagnosis of cystic fibrosis after newborn screening. *European journal of pediatrics*. 2015;174(8):1025-34.
108. Solomon GM, Bronsveld I, Hayes K, Wilschanski M, Melotti P, Rowe SM, et al. Standardized Measurement of Nasal Membrane Transepithelial Potential Difference (NPD). *Journal of visualized experiments : JoVE*. 2018(139).
109. van Mourik P, Beekman JM, van der Ent CK. Intestinal organoids to model cystic fibrosis. *The European respiratory journal*. 2019;54(1).
110. Berkers G, van Mourik P, Vonk AM, Kruisselbrink E, Dekkers JF, de Winter-de Groot KM, et al. Rectal Organoids Enable Personalized Treatment of Cystic Fibrosis. *Cell reports*. 2019;26(7):1701-8.e3.
111. de Poel E, Lefferts JW, Beekman JM. Intestinal organoids for Cystic Fibrosis research. *Journal of cystic fibrosis : Official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2020;19 Suppl 1:S60-s4.
112. Schmidt M, Werbrouck A, Verhaeghe N, De Wachter E, Simoens S, Annemans L, et al. Strategies for newborn screening for cystic fibrosis: A systematic review of health economic evaluations. *Journal of cystic fibrosis : Official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2018;17(3):306-15.
113. Elizaga NA, editor *Cribado: Para qué y cómo*. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*; 2015: SciELO Espana.
114. Wilson JMGJ, Gunnar; World Health Organization. Principles and practice of screening for disease. 1968.
115. Grupo de trabajo de la Ponencia de Cribado de la Comisión de Salud Pública. Documento marco sobre cribado poblacional. Madrid: Ministerio de Sanidad y Política Social 2010.
116. Hoo AF, Thia LP, Nguyen TT, Bush A, Chudleigh J, Lum S, et al. Lung function is abnormal in 3-month-old infants with cystic fibrosis diagnosed by newborn screening. *Thorax*. 2012;67(10):874-81.
117. Belessis Y, Dixon B, Hawkins G, Pereira J, Peat J, MacDonald R, et al. Early cystic fibrosis lung disease detected by bronchoalveolar lavage and lung clearance index. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2012;185(8):862-73.
118. Sly PD, Brennan S, Gangell C, de Klerk N, Murray C, Mott L, et al. Lung disease at diagnosis in infants with cystic fibrosis detected by newborn screening. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2009;180(2):146-52.
119. Hall GL, Logie KM, Parsons F, Schulzke SM, Nolan G, Murray C, et al. Air trapping on chest CT is associated with worse ventilation distribution in infants with cystic fibrosis diagnosed following newborn screening. *PloS one*. 2011;6(8):e23932.
120. Naehrlich L. The Changing Face of Cystic Fibrosis and Its Implications for Screening. *International journal of neonatal screening*. 2020;6(3):54.
121. Travert G, Heeley M, Heeley A. History of Newborn Screening for Cystic Fibrosis-The Early Years. *International journal of neonatal screening*. 2020;6(1):8.
122. Kloosterboer M, Hoffman G, Rock M, Gershan W, Laxova A, Li Z, et al. Clarification of laboratory and clinical variables that influence cystic fibrosis newborn screening with initial analysis of immunoreactive trypsinogen. *Pediatrics*. 2009;123(2):e338-46.
123. Castellani C, Picci L, Scarpa M, Dechecchi MC, Zanolla L, Assael BM, et al. Cystic fibrosis carriers have higher neonatal immunoreactive trypsinogen values than non-carriers. *American journal of medical genetics Part A*. 2005;135(2):142-4.
124. Dequeker E, Stuhmann M, Morris MA, Casals T, Castellani C, Claustres M, et al. Best practice guidelines for molecular genetic diagnosis of cystic fibrosis and CFTR-related disorders--updated European recommendations. *European journal of human genetics : EJHG*. 2009;17(1):51-65.
125. Sommerburg O, Lindner M, Muckenthaler M, Kohlmüller D, Leible S, Feneberg R, et al. Initial evaluation of a biochemical cystic fibrosis newborn screening by sequential analysis of immunoreactive trypsinogen and pancreatitis-associated protein (IRT/PAP) as a strategy that does not involve DNA

- testing in a Northern European population. *Journal of inherited metabolic disease*. 2010;33(Suppl 2):S263-71.
126. Vernooij-van Langen AM, Loeber JG, Elvers B, Triepels RH, Gille JJ, Van der Ploeg CP, et al. Novel strategies in newborn screening for cystic fibrosis: A prospective controlled study. *Thorax*. 2012;67(4):289-95.
 127. Southern KW, Munck A, Pollitt R, Travert G, Zanolla L, Dankert-Roelse J, et al. A survey of newborn screening for cystic fibrosis in Europe. *Journal of cystic fibrosis : Official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2007;6(1):57-65.
 128. Barrio Gómez de Agüero M, García Hernández G, Gartner S, Prats MJAp. Protocolo de diagnóstico y seguimiento de los pacientes con fibrosis quística. 2009:250-64.
 129. Wells J, Rosenberg M, Hoffman G, Anstead M, Farrell PM. A decision-tree approach to cost comparison of newborn screening strategies for cystic fibrosis. *Pediatrics*. 2012;129(2):e339-47.
 130. Mayell SJ, Munck A, Craig JV, Sermet I, Brownlee KG, Schwarz MJ, et al. A European consensus for the evaluation and management of infants with an equivocal diagnosis following newborn screening for cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : Official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2009;8(1):71-8.
 131. Castellani C, Southern KW, Brownlee K, Dankert Roelse J, Duff A, Farrell M, et al. European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening. *Journal of cystic fibrosis : Official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2009;8(3):153-73.
 132. Havermans T, Tack J, Vertommen A, Proesmans M, de Boeck K. Breaking bad news, the diagnosis of cystic fibrosis in childhood. *Journal of cystic fibrosis : Official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2015;14(4):540-6.
 133. Widerman E. Communicating a diagnosis of cystic fibrosis to an adult: What physicians need to know. *Behavioral medicine (Washington, DC)*. 2002;28(2):45-52.
 134. García Hernández G, Martínez Martínez MJTdfQMEJ. Protocolo de control y seguimiento. 2012:139-47.
 135. Thia LP, Calder A, Stocks J, Bush A, Owens CM, Wallis C, et al. Is chest CT useful in newborn screened infants with cystic fibrosis at 1 year of age? *Thorax*. 2014;69(4):320-7.
 136. Sanders DB, Li Z, Rock MJ, Brody AS, Farrell PM. The sensitivity of lung disease surrogates in detecting chest CT abnormalities in children with cystic fibrosis. *Pediatric pulmonology*. 2012;47(6):567-73.
 137. Ring AM, Carlens J, Bush A, Castillo-Corullón S, Fasola S, Gaboli MP, et al. Pulmonary function testing in children's interstitial lung disease. *European respiratory review : An official journal of the European Respiratory Society*. 2020;29(157).
 138. Hernández GG. Cribado neonatal de fibrosis quística. *Anales de Pediatría Continuada* 2014;12(1):34-8.
 139. Rosenfeld M, Davis S, Brumback L, Daniel S, Rowbotham R, Johnson R, et al. Inhaled hypertonic saline in infants and toddlers with cystic fibrosis: Short-term tolerability, adherence, and safety. *Pediatric pulmonology*. 2011;46(7):666-71.
 140. Barrio Gómez de Agüero MI, García Hernández G, Gartner S. [Protocol for the diagnosis and follow up of patients with cystic fibrosis]. *Anales de pediatría (Barcelona, Spain : 2003)*. 2009;71(3):250-64.
 141. Ratjen F, Munck A, Kho P, Angyalosi G. Treatment of early *Pseudomonas aeruginosa* infection in patients with cystic fibrosis: The ELITE trial. *Thorax*. 2010;65(4):286-91.
 142. Tramper-Stranders GA, Wolfs TF, van Haren Noman S, van Aalderen WM, Nagelkerke AF, Nuijsink M, et al. Controlled trial of cycled antibiotic prophylaxis to prevent initial *Pseudomonas aeruginosa* infection in children with cystic fibrosis. *Thorax*. 2010;65(10):915-20.