



FACULTAD DE FARMACIA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

TRABAJO FIN DE GRADO

TÍTULO: Canalopatías: Fibrosis quística

Autor: Diego Gómez Rodríguez

Fecha: Junio 2019

Tutor: Prof. Dr. Luis Rivera de los Arcos

1 Resumen

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad de herencia autosómica recesiva causada por una mutación en el gen *CFTR*, localizado en el cromosoma 7, que codifica para la proteína CFTR (Regulador de la Conductancia Transmembrana de la Fibrosis Quística), un canal de cloro que se encuentra en mayor proporción en las membranas plasmáticas de las células epiteliales de glándulas exocrinas. Estas mutaciones del gen pueden afectar de distintas formas a la proteína CFTR, que compone en solitario el canal, y a la funcionalidad de la misma.

La clave biofísica de la FQ es la elevación de potencial transepitelial detectada en el epitelio de las vías respiratorias, que muestra tasas elevadas de transporte de Na^+ junto con la disminución de la permeabilidad al Cl^- . El resultado final de estas mutaciones es, por tanto, una deficiencia en la regulación electrolítica del Cl^- , lo que va a ser la base de las manifestaciones clínicas multiorgánicas, generando, en los distintos órganos y aparatos afectados, una producción de mucosa densa (la causa de los cuadros clínicos más severos, como la pancreatitis, la infección crónica de vías aéreas, etc.).

El diagnóstico de esta enfermedad se realiza fundamentalmente por la prueba del sudor, aunque ha de estar apoyada en criterios clínicos. El tratamiento de esta patología ha cambiado en los últimos años. El tratamiento que se seguía hasta ahora actuaba sobre las manifestaciones de la enfermedad y se basaba, fundamentalmente en antibioterapia y en uso de enzimas pancreáticas para paliar la falta de estas en la enfermedad. Actualmente los tratamientos que se investigan están dirigidos a actuar sobre la causa, cada uno de los distintos errores que tenga la proteína CFTR, con lo que se reducen los síntomas y manifestaciones sin necesidad, en principio, de recurrir a las terapias clásicas.

2 Abstract

Cystic Fibrosis (CF) is an autosomal recessive disease caused by a mutation in *CFTR* (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator) gene, located in chromosome 7. This gene encodes the protein CFTR, a chloride channel which is found in greater proportion in the epithelial cells of exocrine glands. Mutations in the gene could affect in different ways to the CFTR protein, which make up the channel, and its functionality.

The CF's biophysical clue is the increase found in the in the transepithelial potential difference in the lining of the airways, which shows high rates in Na^+ transport along with a drop in Cl^- permeability. The final result of these mutations is, thus, a deficiency in the electrolytic regulation of Cl^- , which is the base of multiorgan clinical manifestations. That can generate a dense mucosal production in the affected organs (this is the reason why there are several manifestations such as pancreatic insufficiency, excess of mucus in the lungs...).

The diagnosis is, fundamentally, based on the sweat test. However, this test must be supported by clinical criteria. The treatments of the CF have changed in the last few years. In the past, available treatments acted on clinical manifestations. This treatment is based on antibiotics and pancreatic enzymes, to palliate the lack of these enzymes. Currently, treatments under investigation act on the cause of the disease, different errors that the CFTR protein expresses, this can help to reduce clinical manifestations without the use of other therapies.

3 Introducción

3.1 Definición de canalopatía. Fibrosis Quística (FQ)

Los canales iónicos, formados por una o varias proteínas (según el tipo de canal), permiten el paso de iones o moléculas a través de la membrana plasmática, produciendo un gradiente electroquímico. Estos canales se clasifican según su selectividad -en función del ión que permite atravesar- y, por tanto, pueden ser más o menos selectivos, dependiendo de si permite el paso de un solo ión o de varios. También pueden clasificarse por el mecanismo de apertura que poseen.

Las **canalopatías** son un grupo muy variado de enfermedades que se producen como consecuencia de una mala funcionalidad de los distintos canales iónicos de las células. Estas se pueden producir en todos los sistemas biológicos humanos (nervioso, respiratorio, cardiovascular, etc). Las canalopatías pueden ser causadas por factores genéticos (si el gen que codifica para el canal, o una proteína relacionada con el mismo, está mutado) o por adquisición (por el consumo de distintas sustancias). (1)(2)(3)

El canal a estudiar en la fibrosis quística es el CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator o Regulador de la Conductancia Transmembrana de la Fibrosis Quística), es un canal de cloro (Cl⁻) independiente de voltaje que se encuentra en la membrana plasmática de las células epiteliales secretoras.(4)

3.2 Epidemiología de la FQ

La fibrosis quística es una canalopatía que afecta a uno de cada 2.000-2.500 nacidos vivos en Europa y Estados Unidos. Es una enfermedad genética autosómica recesiva que afecta al gen *CFTR*, lo que repercute en la actividad del canal CFTR. Aunque su prevalencia es elevada en las zonas geográficas ya comentadas, hay que tener en cuenta que solo los individuos homocigotos (que porten ambos genes mutados) serán los que muestren manifestaciones clínicas propias de la enfermedad. Así pues, los individuos heterocigotos (que se expresan como un 5% de la población en la zona estadounidense y europea) se mantendrán asintomáticos, aunque sean portadores de un alelo mutado del gen *CFTR*.(4)

En individuos de raza negra se presenta en 1 de cada 15.000 nacidos vivos y en el caso de individuos asiáticos, es casi inexistente. Aunque hay una variabilidad entre las distintas poblaciones, no la hay entre sexos, es decir hombres o mujeres pueden sufrirla por igual.

La esperanza de vida de los individuos con FQ ha ido aumentando conforme se han mejorado los tratamientos, la alimentación y las pruebas diagnósticas, pasando de unos pocos años en la década de los cincuenta (con un máximo de 4 años) a 39 años en la actualidad. (5)

3.3 Antecedentes de la Fibrosis Quística

La primera vez que fue utilizado el término fibrosis quística fue en el año 1936 por el médico sueco Guido Fanconi von Grebel, utilizando esta nomenclatura a un cuadro combinado de insuficiencia pancreática y enfermedad pulmonar crónica en niños.

Hasta ese momento esta enfermedad se creía debida a embrujos. Ejemplo de ello está la frase irlandesa del siglo XV **“Ay, de aquel niño que al ser besado en la frente sabe salado. Él está embrujado y pronto debe morir”**(6). Esta popular creencia duró varios siglos hasta que, a principios de siglo XX, Archibald Garrod empezó a estudiar los cuadros de lo que ahora sabemos que es la FQ, determinando que se debería a un tipo de herencia recesiva, basándose en familias de niños muertos por bronconeumonía. La fibrosis quística también fue llamada “mucoviscidosis” por el médico Sydney Farber, ya que lo consideraba como un problema en la producción de moco y no solamente localizada en el páncreas. (6,7)

En los años cincuenta se empezó a utilizar un método de detección, llamado **“examen o prueba del sudor”**, debido a que Paul di Sant' Agnese descubrió anomalías electrolíticas que se podían identificar en este fluido. Esta prueba fue mejorada por Gibson y Cooke en 1959, que empezaron a aplicar pilocarpina y mejoraron el método de iontoforesis.

En la década de los setenta (1976) fue cuando se obtuvieron en Londres los primeros registros de personas con fibrosis quística que habían alcanzado los 12 años, en parte gracias a las mejoras en la técnica de detección, a la aparición de antibióticos útiles y a una mejora en la dieta de estos individuos con FQ por parte del canadiense Douglas N. Crozyer, que empleó en estos pacientes una dieta rica en grasa y con isoenzimas pancreáticas. (6,7)

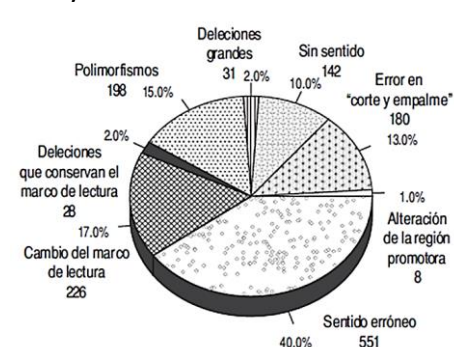
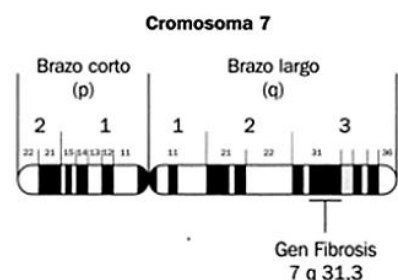
En 1983 Paul Quiton demostró que la impermeabilidad al cloro era la causa del aumento de los demás electrolitos en el sudor de un afectado de FQ y de la mayor viscosidad. También en esta época (1979) se desarrollaron técnicas de cribado neonatal por tripsina inmunorreactiva (por la investigadora Jeannette Crossley) y fue la época en la que el grupo de investigación de Lap-Chee Tsui identifica y clona el gen de la FQ, descubriendo que la mutación del gen más común es la $\Delta F508$ (o DF508) e identificando la proteína responsable de la enfermedad, la CFTR. (6,7)

Desde los años noventa y hasta la actualidad, las investigaciones han conseguido identificar más de 1.700 mutaciones responsables y se está haciendo hincapié en la búsqueda de un tratamiento más específico para esta enfermedad. (6,7)

3.4 Mutación del gen CFTR

El gen *CFTR* se ubica en el cromosoma 7, concretamente en la región q31. El gen consta de 250 kb, organizados en 27 exones. El mRNA que proviene de él y que, tras toda la ruta de traducción genera la proteína, consta de 6.5 kb.

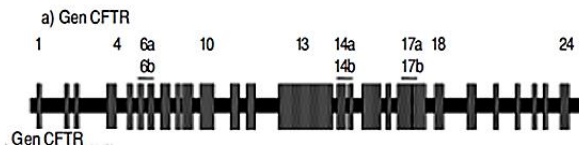
La expresión de este gen está influenciada por AMPc, PKA, PKC y ésteres de forbol.



Actualmente hay más de 1.700 mutaciones estudiadas y encontradas en el ser humano capaces de producir FQ.

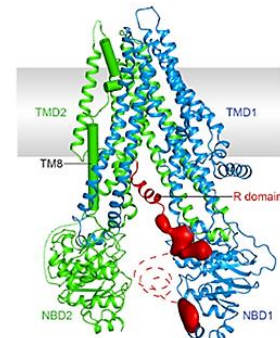
Las mutaciones son muy diversas y se generan de manera distinta. Cerca del 40 % se deben a un sentido erróneo de lectura, mientras que otras alteran, mediante diferentes formas, el marco de lectura.(8)

La mutación DF08, la más frecuente en la FQ en toda la población, es, por ejemplo, una deleción de tres pares de bases del décimo exón del gen CFTR. (8)(9)



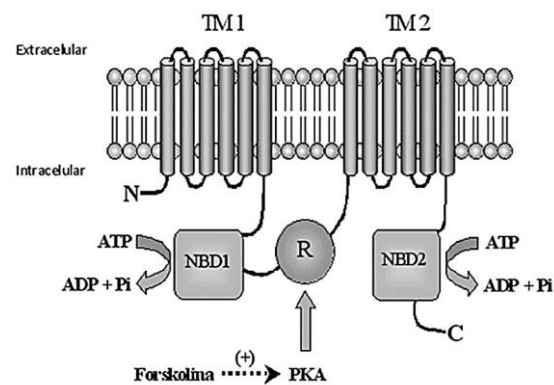
3.5 Estructura de la proteína CFTR

La proteína CFTR está compuesta de 1480 aminoácidos (aa). Es homóloga, estructuralmente a la familia ABC (ATP-binding-cassette). Sin embargo, al contrario que el resto de proteínas con esta estructura, funciona como un canal iónico.



La proteína consta de varios dominios semejantes a la familia ABC, pero a diferencia de esta familia, la CFTR consta de otro dominio, el dominio regulador (dominio R).(10)(11)

El dominio R es el encargado de regular la actividad del canal en

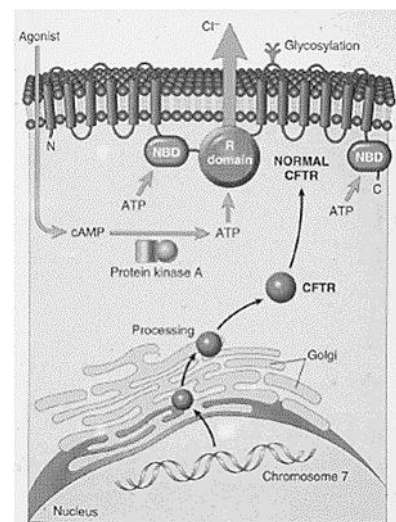


función de la fosforilación del dominio, mediante el AMPc, que es capaz de activar la PKA, que fosforilaría el dominio R. Si está fosforilado parcialmente el dominio R, se activa el dominio NBD1 (nucleotide-binding domines), donde se hidroliza el ATP), lo que conlleva finalmente a la apertura del canal. La fosforilación completa del dominio R, en cambio, activa el dominio NBD2, que se relaciona con el cierre del canal.

Hay dos dominios NBDs, que son secuencias conservadas de aminoácidos. Estos dominios son los responsables de la hidrólisis del ATP y, como se acaba de exponer, de la apertura o el cierre del canal. El canal CFTR, por tanto, para su correcto funcionamiento necesita tanto la fosforilación por PKA, como obligatoriamente, una exposición por la parte interna del canal al ATP.

Existen, por último, dos dominios transmembrana (dominios TMs), cuya función es la de anclar el canal CFTR a la membrana. Estos dominios se componen de 6 subunidades, que atraviesan la membrana formando lo que será el poro del canal CFTR. Las mutaciones en estas subunidades son las que pueden dar lugar a diferencias y disminuciones de la conductancia del canal.(12)(13)(14)

El procesamiento de la proteína transcurre por el retículo endoplásmico y por el aparato de Golgi (donde se glucosila), hasta ser insertada en la membrana plasmática de las células epiteliales de las glándulas.(8)(9)



3.6 Clasificación

Las mutaciones que se producen en el gen *CFTR* generan distintos problemas en la proteína canal. Así, hay 6 clases de mutaciones basadas en los defectos funcionales que causan en la proteína, y que se relacionan con su funcionalidad.

Clase I: las mutaciones que se encuentran en este grupo determinan, o bien que no se sintetice la proteína (generando codones de terminación, corrimiento del marco de lectura), o bien que se formen proteínas no funcionales. La mayoría de las mutaciones pertenecen a este grupo, de entre las cuales resalta la mutación G542X.

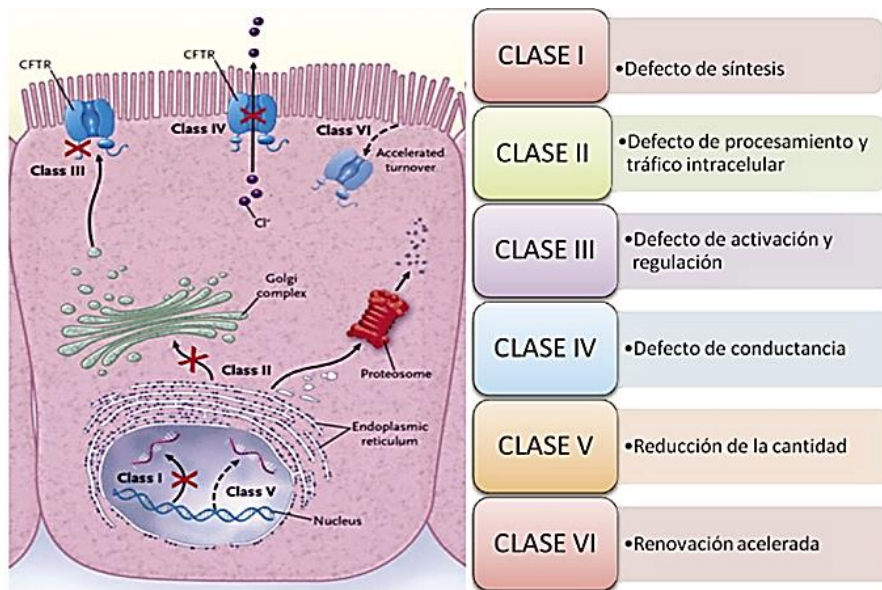
Clase II: en este grupo se encuentran las mutaciones que producen un procesamiento defectuoso de la proteína. Esto puede darse a distintos niveles de la cadena de maduración proteica: en el retículo endoplásmico (dejando los péptidos anormales para que sean degradados por el sistema ubiquitina-proteosoma) y en el aparato de Golgi (donde la proteína no se glucosila). En ambos casos la proteína traducida no puede acoplarse a la membrana plasmática. A este grupo pertenece la mutación más común, la DF508.

Clase III: las mutaciones de este grupo se reflejan como una mala regulación del canal de cloro. De esta manera, se genera una proteína y se localiza en la membrana apical, pero no es funcional. Estas mutaciones afectan tanto a los dominios NBDs como al dominio R. A este grupo pertenece la mutación G551D.

Clase IV: son aquellas mutaciones que afectan a la conductancia. Es decir, se basa en un transporte erróneo de la corriente en el canal. Estas mutaciones afectan a los segmentos TMs, como puede ser la mutación R117H.

Clase V: son las mutaciones que generan una menor síntesis, de manera cuantitativa, de ARNm de la proteína CFTR. Pueden afectar al promotor o a la traducción del ARNm, dando lugar en ambos casos a un mal procesamiento o a sustituciones de aminoácidos. Se generan proteínas activas, pero con un procesamiento ineficiente.

Clase VI: en esta categoría se encuentran las mutaciones que producen una menor estabilidad del canal CFTR, generalmente debido a que la mutación genera un cambio en los aminoácidos del mismo. Esto también hace que no pueda ejercer su función de regular otros canales iónicos. A esta clase pertenecen mutaciones como la Gln1412X.



Estas clases de mutaciones a su vez se clasifican según su fenotipo en graves o leves: los fenotipos graves son aquellos que hacen tener una actividad nula de la proteína CFTR (dentro de estos están las clases I, II, III) y producen el mayor porcentaje de mutaciones. Los fenotipos benignos o leves son aquellos que producen un menor número de proteínas o una menor funcionabilidad (clases IV, V y VI). (4)(9)

En la FQ, al ser de herencia autosómica recesiva, se pueden encontrar individuos con un solo alelo mutado o los dos. Los heterocigotos, como ya se ha dicho, no tendrían manifestaciones clínicas. Los homocigotos, en cambio, pueden tener tres posibilidades en cuanto a su genotipo: es posible que tengan afectados ambos alelos con una mutación grave en cada uno (grave/grave), que se traduce como una inhibición total de la síntesis del CFTR. Si tienen en ambos alelos mutaciones leves (leve/leve), el individuo tiene actividad biológica del CFTR, aunque disminuida. Si tienen un alelo con mutación grave y otro con mutación leve, la actividad residual del alelo con mutación leve puede mejorar el pronóstico. (8)(15)

4 Objetivos

Ampliar la información sobre la fibrosis quística, tanto en sus causas como en sus manifestaciones y presentaciones. Mostrar de forma actualizada los tratamientos disponibles para esta enfermedad, ya sean los usados tradicionalmente, o también los que están siendo investigados y utilizados en la actualidad.

5 Material y métodos

Revisión bibliográfica de distintas fuentes, incluyendo webs oficiales, libros y artículos científicos de fuentes primarias y secundarias (PubMed).

6 Resultados y discusión

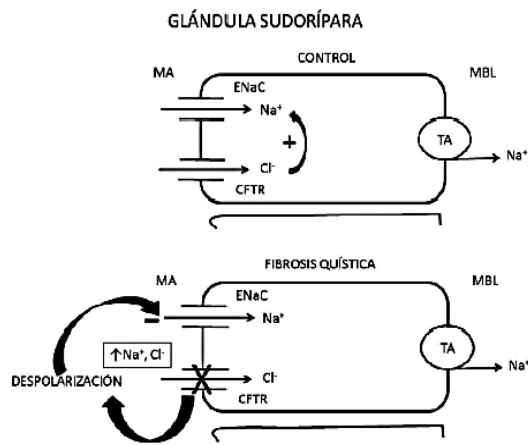
6.1 Fisiopatología de la FQ

La fibrosis quística tiene un amplio abanico de síntomas y signos, ya que afecta a múltiples órganos y aparatos.

Manifestaciones clínicas

Sudor

En la fibrosis quística la concentración de NaCl es muy elevada en el sudor (criterio base de la llamada "prueba del sudor").



En una situación normal de las glándulas sudoríparas (un individuo sano) la actividad de la bomba Na^+/K^+ -ATPasa (TA) de la membrana basolateral, que genera un gradiente electroquímico de Na^+ y repercute directamente en el movimiento del Cl^- . Este gradiente es usado por el CFTR para permitir el paso del Cl^- , que se reabsorbe.

Cuando el CFTR está defectuoso (o su actividad) no se puede reabsorber el Cl^- del lumen de los conductos, haciendo que se cargue la membrana apical negativamente.(5)(10)(16)

Esta despolarización de la membrana dificulta la reabsorción de Na^+ , provocando a su vez que el Cl^- y el Na^+ se acumulen en la luz de los conductos, causa por la cual el sudor de los pacientes con FQ tiene una concentración elevada de NaCl.

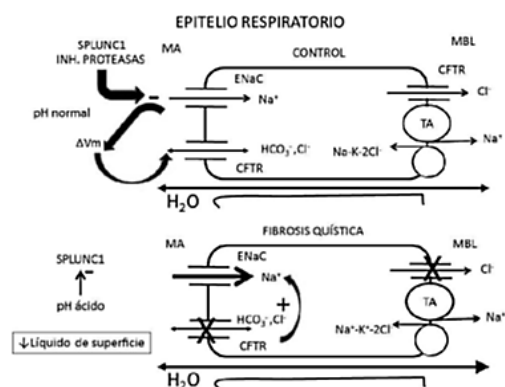
Aparato respiratorio

Las manifestaciones respiratorias están presentes en el 90% de los casos de FQ, por lo que es importante conocerlas con el fin de realizar un diagnóstico precoz y una atención inicial más rápida. Además son la causa mayor de mortalidad.

Las paredes de las vías respiratorias del tracto inferior están compuestas de una hilera de células epiteliales ciliadas interrumpida a intervalos por glándulas submucosas (aproximadamente una célula secretora por cada cinco ciliadas).(17)

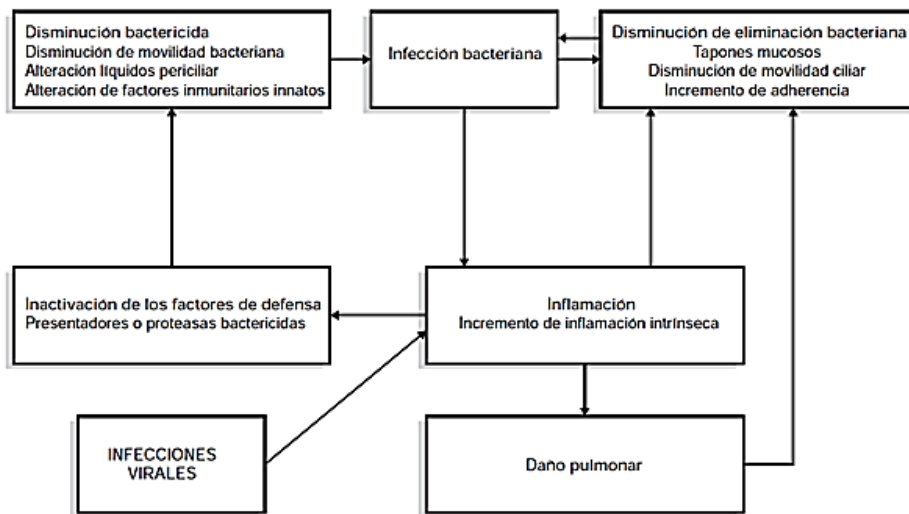
En las vías aéreas la concentración de Cl^- dentro de la célula es más elevada, debido a la existencia de cotransportadores en la membrana basolateral que, usando los gradientes electroquímicos que se generan pueden tanto secretar como absorber Cl^- en función del gradiente, al contrario que las glándulas sudoríparas. Esta capacidad de la célula se favorece también porque en estas células epiteliales hay canales CFTR en la membrana apical y en la basolateral.

Cuando una persona tiene FQ, se desregula el transporte de HCO_3^- , lo que hace que se acidifique el medio extracelular, se active el canal ENaC, se reabsorba mucho más Na^+ y se produzca una deshidratación del fluido que recubre las paredes del epitelio. Esta hiperabsorción de Na^+ también se ve aumentada por la falta de inhibidores de proteasas en el fluido superficial, que favorecen la inhibición del canal ENaC (en condiciones normales sin FQ). Esta deshidratación hace que el Cl^- en principio se pueda secretar, pero en la FQ, al no tener el CFTR



funcional se imposibilita, dando lugar a un moco mucho más viscoso. Todo esto trae también consigo un menor funcionamiento ciliar (que es responsable de la limpieza de la vía), tanto por la mayor reabsorción de Na^+ como por la viscosidad del medio. (16)(4)

Este moco viscoso puede taponar las vías aéreas, pero tiene además otro riesgo, pues facilita la adhesión y proliferación de bacterias, que utilizarán el moco como medio en el que desarrollarse. Entre las bacterias más importantes que causan infecciones en estos pacientes encontramos *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia* y *Haemophilus influenzae*. Estas infecciones pueden atraer a células de defensa que desencadenan un proceso inflamatorio que agrava aún más la situación, y pueden producir, además, bronquiectasias y, un cuadro obstructivo que puede llegar al *cor-pulmonale*.(15)

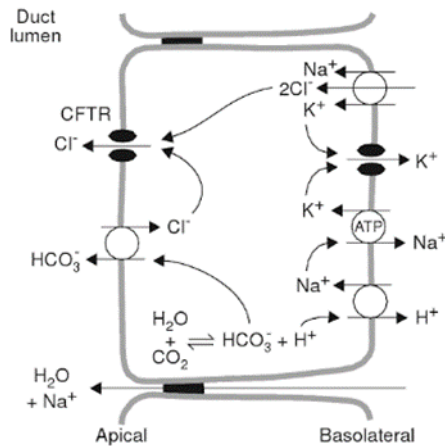


La obstrucción respiratoria se puede manifestar con tos, sibilancias, dedos de tambor y piel azulada por la falta de oxígeno. Todo ello causa algunas de las complicaciones más importantes, como son el neumotórax y la insuficiencia cardíaca.

Como se ha mencionado anteriormente, la enfermedad pulmonar por la FQ (bronquitis y neumonías recurrentes por infecciones) es la causa principal de muerte junto con la insuficiencia cardíaca, que también se relaciona con la respiratoria. (15)

Aparato digestivo y glándulas anejas

En la FQ también se ve comprometida la integridad del tracto gastrointestinal. Dentro este grupo, la manifestación más frecuente (alrededor del 85% de los afectados con FQ) y una de las más graves es la insuficiencia pancreática. Las células pancreáticas, en una persona sana, expulsan HCO_3^- por intercambio con Cl^- . Este Cl^- es expulsado después nuevamente al conducto pancreático por el canal CFTR. El transporte de aniones que tiene lugar en la célula permite al Na^+ atravesar los espacios intercelulares desde la zona basolateral hasta la luz del conducto pancreático. Esto genera el arrastre osmótico de agua y es el responsable de que la secreción pancreática sea fluida.



En la FQ, la falta o baja actividad del canal CFTR repercute también en la secreción del HCO_3^- , lo que evita que el Na^+ pueda pasar a la zona apical de las células y por tanto no pueda haber arrastre osmótico de agua, generando una mucosidad viscosa que puede taponar la luz del conducto pancreático. Así, aunque las células acinares puedan secretar las enzimas pancreáticas, estas no llegan al duodeno por el taponamiento del conducto. Esto va a repercutir tanto en el estado nutricional del enfermo, ya que las enzimas pancreáticas son fundamentales para la digestión y absorción de alimentos, como también va a repercutir en el propio páncreas. Al estar obstruido el conducto pancreático las enzimas digestivas se van a

retener en el páncreas, lo que finalmente acabará en la digestión del propio páncreas por parte de éstas, produciendo la digestión de todo el tejido exocrino pancreático y con ello, dando lugar a la pancreatitis. (9)(10)

Además de la pancreatitis hay distintos cuadros clínicos que se explican basados en el mismo funcionamiento mencionado.

El íleo meconial, que se suele dar en casi el 20% de los recién nacidos con FQ, es una obstrucción intestinal de los neonatos. El meconio (que es una sustancia verdosa que se expulsa con las primeras heces) es más espeso de lo debido, lo que puede causar la obstrucción intestinal. Esto además puede causar la perforación intestinal o a la formación de una hernia. Cuando ocurre una situación similar al íleo meconial, pero en la infancia o tras ella, el cuadro toma el nombre de "síndrome obstructivo intestinal distal". Al igual que en el anterior caso, se puede producir una obstrucción parcial o total del intestino por el acúmulo de moco intestinal (que recubre las paredes de esta parte del tubo digestivo), lo que puede llevar a perforación intestinal.

Los pacientes con FQ pueden desarrollar también afectación hepática (aunque en un porcentaje mucho menor), por una acumulación de mucosidad en los conductos biliares y que, en algunos casos lleva a cirrosis hepática o cirrosis biliar, pues también pueden verse afectadas las vías biliares.

Durante la juventud, los pacientes con FQ pueden desarrollar diabetes (diabetes relacionada con la fibrosis quística o DRFQ), ya que la digestión del páncreas no solo afecta al tejido exocrino (lo más común), sino que en algunos casos puede afectar al tejido endocrino, responsable de la secreción de insulina. Aunque este es un cuadro menos frecuente, puede desarrollarse en individuos de edades más avanzadas.(5)(18)(19)

Aparato reproductor

Tanto en hombres como en mujeres, la FQ suele cursar con problemas de fertilidad.

Los hombres con FQ pueden no producir esperma o, si lo hacen, en muy poca cantidad. Esto es debido a un bloqueo o desarrollo anormal de los conductos deferentes y del epidídimo, que evita la salida de los espermatozoides durante la eyaculación, incluso si la espermatogénesis es correcta y normal. En las mujeres, aunque menos frecuente, también puede darse la infertilidad. Se podría dar por un moco cervical y vaginal más espeso o por la

malnutrición que trae consigo la propia enfermedad (debido a los problemas digestivos ya explicados).(5,19)

Resumen de las manifestaciones clínicas más destacables con utilidad diagnóstica (OMS1995)(8)(20)

1. Recién nacidos y lactantes menores

- Ileo meconial
- Ictericia neonatal prolongada (colestásica)
- Síndrome de edema, anemia, desnutrición
- Esteatorrea, síndrome de malabsorción
- Incremento ponderal inadecuado
- Vómitos recurrentes

2. Lactantes

- Tos y/o sibilancias recurrentes o crónicas que no mejora con tratamiento
- Neumonía recurrente o crónica
- Retardo del crecimiento
- Diarrea crónica
- Prolapso rectal
- Sabor salado de la piel
- Hiponatremia e hipocloremia crónicas
- Historia familiar de FQ, o muerte en lactantes o hermanos vivos con síntomas sugerentes

3. Preescolares

- Tos crónica con o sin expectoración purulenta, sin respuesta a tratamiento
- Sibilancias crónicas recurrentes inexplicadas sin respuesta a tratamiento
- Incremento deficiente de peso y talla
- Dolor abdominal recurrente
- Prolapso rectal
- Invaginación intestinal
- Diarrea crónica
- Hipocratismo digital
- Hiponatremia e hipocloremia crónicas
- Hepatomegalia o enfermedad hepática inexplicada
- Pólipos nasales

4. Escolares

- Síntomas respiratorios crónicos inexplicados
- Pseudomona aeruginosa en secreción bronquial
- Sinusitis crónica, poliposis nasal
- Bronquiectasias
- Diarrea crónica
- Síndrome de obstrucción intestinal distal
- Pancreatitis
- Prolapso rectal, hepatomegalia

5. Adolescentes y adultos

- Enfermedad pulmonar supurativa crónica e inexplicada
- Hipocratismo digital

- Dolor abdominal recurrente
- Pancreatitis
- Síndrome de obstrucción intestinal distal
- Cirrosis hepática e hipertensión portal
- Retardo del crecimiento
- Esterilidad masculina con azoospermia
- Disminución de la fertilidad en mujeres

6.2 Diagnóstico de FQ

El diagnóstico de la FQ se establece si se manifiesta un cuadro clínico indicativo de la enfermedad y además si se evidencia con alguna otra técnica, como la prueba del sudor, el diagnóstico molecular de alelos mutados o la diferencia de potencial nasal.

Prueba del sudor o estudio del sudor: es una determinación cuantitativa que mide la cantidad de Na^+ que hay en el sudor. Esta es la prueba base para el diagnóstico de la FQ, de tal manera que, si esta prueba es positiva dos veces y en días alternos, sería significativo como resultado de enfermedad. Este test se realiza tal y como describieron Gibson y Cooke, es decir por el método QPIT (quantitative pilocarpine iontophoretic test), el procedimiento de iontoforesis de pilocarpina. Para esta prueba, y como parte de su fundamento, se usa la pilocarpina, alcaloide parasimpaticomimético que, aplicado localmente, favorece la sudoración para la toma de la muestra. La prueba del sudor consta de tres etapas: la de estimulación, la de colección del sudor y la del análisis.(4,7)

- *La etapa de estimulación* se realiza por la iontoforesis de pilocarpina. Con un generador galvánico se hace circular por la zona de sudoración una corriente de 3 mA durante 5 minutos, teniendo en cuenta que en el cátodo hay una solución de pilocarpina, que será la causante de la mayor sudoración, y en el ánodo una solución de ácido sulfúrico. Normalmente se realiza en el antebrazo, para mayor comodidad del paciente.
- *La etapa de recogida del sudor* se lleva a cabo con papel de filtro, una gasa o un capilar, aunque se han desarrollado variantes de esta técnica que utilizan materiales plásticos para la recogida de la muestra, como el sistema Westor Macorduct (en el cual se recoge el sudor en un disco cóncavo de plástico, unido a un sistema cerrado que evita diversos problemas que podrían afectar al análisis, como la evaporación o la condensación) o simplemente usando una cubeta de plástico. En esta etapa se ha de tener en cuenta la influencia de distintas variables como pueden ser el tiempo de la iontoforesis, el área estimulada, la intensidad aplicada y el tamaño del electrodo. Se ha estandarizado que el tiempo sea de 5 minutos, la intensidad de corriente de 3mA, el tamaño del electrodo de 4cm^2 (respecto a su área) y el área estimulada sea de 25cm^2 . Para esta estandarización del método se calcula que se debería recoger 75 mg de sudor en 30 minutos, pudiéndose llevar hasta 60 minutos máximo (que serían unos 150 mg de sudor). Superado ese tiempo, el riesgo de obtener un falso positivo sería elevado. Para conocer la cantidad de sudor en el material, se realiza una resta del peso inicial del algodón antes de la recogida y el peso tras el tiempo de recogida.
- *La etapa de análisis* puede hacerse por conductimetría (útil para hacer screening) si hemos utilizado la recolección por el sistema Macorduct; por titulación coulombiométrica, usando un cloridómetro; o por valoración mediante el método de

titulación de Schales y Schales con nitrato de mercurio (el método más usado). Se considera un resultado positivo si la concentración de cloruro en el sudor es mayor o igual a 60 meq/L de Cl^- y negativo, si es menor de 40 meq/L de Cl^- . Los resultados comprendidos entre estos márgenes son dudosos, por lo que se habría de repetir. En niños menores de 6 meses el valor inferior es de 30 meq/L, aunque el umbral superior se mantiene en 60 meq/L. Si el resultado es positivo, se realiza de nuevo la prueba para confirmar el diagnóstico. De ser negativo, se puede descartar la FQ y si es dudoso, se repite nuevamente.

Los resultados pueden ser aplicables en bebés de 24 horas, aunque es complicado realizarla, por el volumen de sudor que sería necesario para considerarse válida.

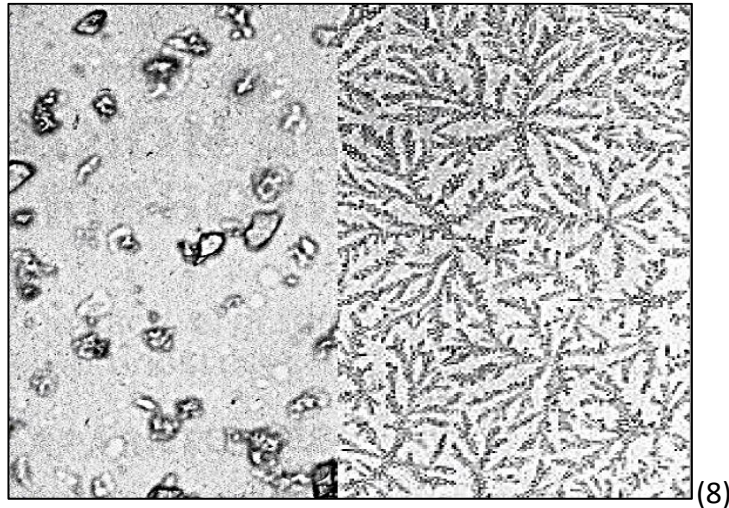
Hay algunas situaciones en las que esta prueba puede verse afectada y dar lugar a falsos positivos y negativos. Los falsos negativos suelen ser causados por situaciones de edema, deshidratación, malnutrición severa, tratamientos con diuréticos y esteroides o con algunos antibióticos, todo ello junto con errores por parte del laboratorio (cantidad de sudor insuficiente, mala calibración, etc.). Los falsos positivos pueden darse también por errores por parte del laboratorio (evaporación del sudor que eleva la concentración de la muestra) y por otras enfermedades que también cursan con una mayor concentración de electrolitos en sudor como la infección por el VIH, insuficiencia adrenal, fucosidosis, colestasis familiar, hipotiroidismo o la diabetes insípida nefrogénica.

Para evitar estos tipos de errores, en la medida de lo posible, se aconseja tanto tener una buena historia clínica del paciente (para valorar si hay alguna de las enfermedades descritas), buen estado nutricional y de hidratación, piel en estado óptimo, así como evitar el uso de los fármacos que interaccionan. (15)(21)

Diferencia de potencial nasal: esta es una técnica de alta fiabilidad, pero que por su alto coste y su elevada dificultad a nivel técnico, no suele ser usada por los laboratorios. Con esta prueba se mide la diferencia de potencial transepitelial que se genera por el transporte iónico que hay en el epitelio nasal (que es responsable de la regulación de los fluidos). Para llevarla a cabo se usa un electrodo en la parte de la mucosa nasal y otro, el de referencia, en cualquier parte con tejido subcutáneo, como puede ser el antebrazo (por comodidad). De esta manera se puede medir el movimiento de sodio a través de las membranas. En los pacientes con FQ este potencial va a obtener un valor más negativo que en los sanos, ya que hay un mayor movimiento de sodio a través de la membrana, que en principio es impermeable al cloro.(8)(5)

Diagnóstico molecular: esta técnica es muy importante sobre todo en el diagnóstico prenatal y en aquellas familias con antecedentes de FQ, puesto que se podría determinar si hay alguna mutación en los alelos de cada progenitor. Es importante señalar que si ambos progenitores tienen alelos mutados sería posible que el descendiente tuviese la patología sintomática. También se puede usar para caracterizar las mutaciones más relevantes en cada población. Las técnicas más usadas en este tipo de diagnóstico de mutaciones en el gen *CFTR* son: la PCR (reacción en cadena de la polimerasa) asociada a la hibridación específica para las mutaciones más frecuentes, el análisis de polimorfismos conformacionales de cadena sencilla (SSCP), y la cromatografía de alta resolución (D-HPLC).(4,5,8,9)

Prueba de desecación: (también llamada prueba de cristalización del sudor) es una técnica que, aunque no sirva como prueba validadora indicativa de la FQ, puede servir para ayudar y apoyar el diagnóstico, por ejemplo, si la determinación con la prueba del sudor es dudosa. Esta prueba se basa en que, en los pacientes enfermos de FQ, las formas de desecación del sudor adquieren una forma de “helecho” en vez de la forma cúbica que adoptaría en un individuo sano.(8)



6.3 Tratamiento

6.3.1 Tradicional

El tratamiento tradicional de la FQ consiste en el manejo de la sintomatología derivada de la alteración de la proteína CFTR, haciendo hincapié en los síntomas gástricos y pulmonares, que como se ha visto, son de máxima importancia.

Para el tratamiento de síntomas o déficits relacionados con la fisiopatología digestiva y nutricional encontramos diversas formas de actuación: el tratamiento ha de comprender también medidas nutricionales. Como las enzimas pancreáticas están disminuidas, el paciente ha de tomar suplementos vitamínicos para intentar mejorar su absorción. Estas medidas también tienen que asegurar una buena proporción de proteínas y calorías, además de aumentar la proporción de grasas un poco para que, al igual que las vitaminas, se puedan absorber mejor y así asegurar el crecimiento correcto en jóvenes. La dieta, por tanto, ha de ser hiperproteica e hipercalórica, con la parte grasa en forma de triglicéridos de cadena media preferentemente.(5,22,23)

En los momentos de ejercicio, fiebre u otras situaciones que propicien la sudoración hay que suplementar al paciente con sales. En el día a día del paciente se debe incorporar enzimas pancreáticas, en forma de polvos o microesferas con cubierta entérica, como terapia de apoyo a esa baja secreción orgánica. Pueden ser de utilidad fármacos que aumentan las secreciones intestinales para intentar impedir la obstrucción de la luz del tracto gastrointestinal.

Con respecto al tratamiento de los síntomas relacionados con el aparato respiratorio hay multitud de enfoques:

En cuanto la persona con FQ muestra síntomas relacionados con la función respiratoria hay que empezar con la llamada “terapia respiratoria”, que consiste en un drenaje postural con el objetivo de despejar las vías aéreas de la mucosidad viscosa y evitar obstrucción, facilitando la expulsión de las mismas mucosidades. También con el objetivo de mejorar la expulsión de estos mocos, se pueden utilizar mucolíticos, en especial se suele usar la DNasa recombinante (dornasa α recombinante humana), que rompe las cadenas de DNA de los neutrófilos degradados, produciendo la licuefacción del moco.(5)

Son utilizados broncodilatadores para prevenir la constricción de las vías respiratorias y los corticosteroides (inhales u orales) para los momentos de inflamación bronquial aguda, aunque con su uso repetido puede favorecer la proliferación microbiana. En caso de inflamación bronquial aguda también se pueden utilizar algunos AINEs, como el ibuprofeno, y otros fármacos antiproteasas. Cuando la lesión pulmonar es muy grave (si hay neumotórax grave o infección crónica en alguna zona pulmonar) se puede recurrir al trasplante pulmonar. También se pueden llevar a cabo trasplantes cardíacos o hepáticos en casos de enfermedad cardíaca y hepática grave, respectivamente.(15)

Por último, hay que tener especial cuidado en los casos de infecciones respiratorias, que son complicaciones bastante frecuentes. Para tratar estas infecciones se usan distintos antibióticos por vía oral o nebulizados y, en casos muy graves, por vía endovenosa. Para determinar el patógeno causante hay que tomar una muestra de esputo. El tratamiento antibacteriano no suele erradicar por completo la infección, pero reduce considerablemente la carga bacteriana en el tracto respiratorio bajo. Por ello lo normal en pacientes con FQ es que haya exacerbaciones periódicas de la infección cronicada. Es en estas exacerbaciones graves cuando se suele aplicar la antibioterapia intravenosa.

En el cuadro siguiente se muestran los antibióticos más usados por vía oral en relación con el patógeno causante.

Fármaco	Germen	Dosis (mg/kg/día)	Administración (horas)
Amoxicilina	<i>H. influenzae</i>	50	8
Amoxicilina/clavulanato	<i>H. influenzae</i> <i>S. aureus</i>	50 a 100	8
Cefalexina	<i>S. aureus</i>	100	8
Cefuroxima	<i>H. influenzae</i> <i>S. aureus</i>	50	8 a 12
Ciprofloxacina (aprobado por FDA en 1995) >5 años	<i>P. aeruginosa</i> <i>H. influenzae</i>	30	12
Levofloxacina	<i>P. aeruginosa</i> <i>H. influenzae</i>	15	12
Eritromicina	<i>S. aureus</i>	50	6 a 8
Trimetoprim/sulfametoxazol	<i>H. influenzae</i> <i>S. aureus</i>	10/20	12
Cloranfenicol	<i>H. influenzae</i>	75 a 100	6

(15)

El *H. influenzae* es el patógeno más común que coloniza el tracto respiratorio de los niños con FQ.

La infección por *P. aeruginosa* es una de las más comunes, sobre todo en edades a partir de los 12 años (suponiendo un 60-80 % de las colonizaciones en pacientes con FQ). Para las exacerbaciones de esta bacteria Gram negativa se suelen utilizar los antibióticos vía intravenosa expuestos a continuación:

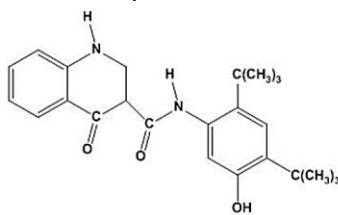
Fármaco	Dosis (mg/kg/día)	Administración (horas)
Ticarcilina	400	6
Piperacilina	400	6
Ceftazidima	200 a 300	8 a 12
Cefpiroma	100	12
Imipenem	100	12
Aztreonam	150	6
Ciprofloxacina	30	8 a 12
Meropenem	100 a 150	6 a 8
Gentamicina	10	8 a 12
Tobramicina	10 a 20	8 a 12
Amikacina	15 a 30	8 a 12

6.3.2 Nuevos tratamientos

Actualmente existen dos medicamentos comercializados que no se actúan sobre los síntomas de la enfermedad, sino que actúan sobre el propio canal CFTR, lo que evita las complicaciones relacionadas. Son medicamentos novedosos, Kalydeco® y Orkambi®, aprobados en 2013 y 2015, respectivamente, por la AEMPS. Estos nuevos tratamientos funcionan para algunas mutaciones, pero no para otras, por lo que es fundamental llevar a cabo un genotipado para saber si el tratamiento puede ser efectivo o no.

Kalydeco® (ivacaftor)

El ivacaftor es un potenciador de la proteína CFTR, por lo que aumenta la apertura del canal



IVACAFTOR (KALYDECO®)
N-(2,4-di-terbutil-5-hidroxifenil)-4-oxo-1,2,3,4-tetrahidroquinolin-3-caboxamida

CFTR una vez establecido en la membrana celular. Sirve en monoterapia solamente para las mutaciones de clase III (G551D, G1244E, etc) en las que la proteína se inserta en la membrana, pero no es funcional. También está indicado en la mutación R117H (clase IV) como caso excepcional, ya que se ha demostrado que en esta mutación, que disminuye la conductancia

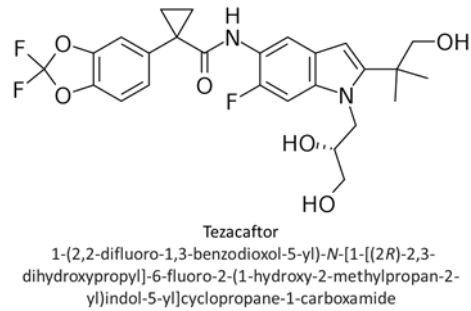
del canal, el R117H potencia la probabilidad de apertura del canal CFTR surtiendo efecto. Potencia la probabilidad de apertura, surtiendo efecto. Ivacaftor se puede combinar con tezacaftor (no comercializado en España, pero sí en por la EMA como Symkevi®).(24–31)(32,44)

Symkevi® (tezacaftor/ivacaftor)

Este medicamento, de combinación de los principios activos tezacaftor e ivacaftor, fue aprobado para su comercialización en Europa por la EMA en octubre de 2018. Este medicamento se usa para tratar la mutación de clase II más importante (por la gran

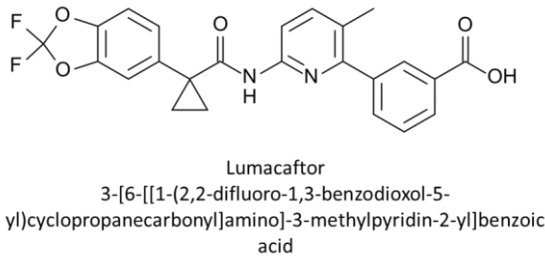
repercusión en la población de FQ), la DF508, tanto en heterocigotos como en homocigotos. También se puede utilizar en otras mutaciones como P67L, R117C...

El tezacaftor es un corrector selectivo de CFTR que se une al dominio MBD-1 de la proteína, favoreciendo el procesamiento y el transporte celular de la proteína CFTR mutada o normal. Esto aumenta la cantidad de estos canales en la superficie de la membrana plasmática y permite la actuación de ivacaftor, que potencia este canal CFTR anómalo, haciendo que sea funcional.(25)(34,44)



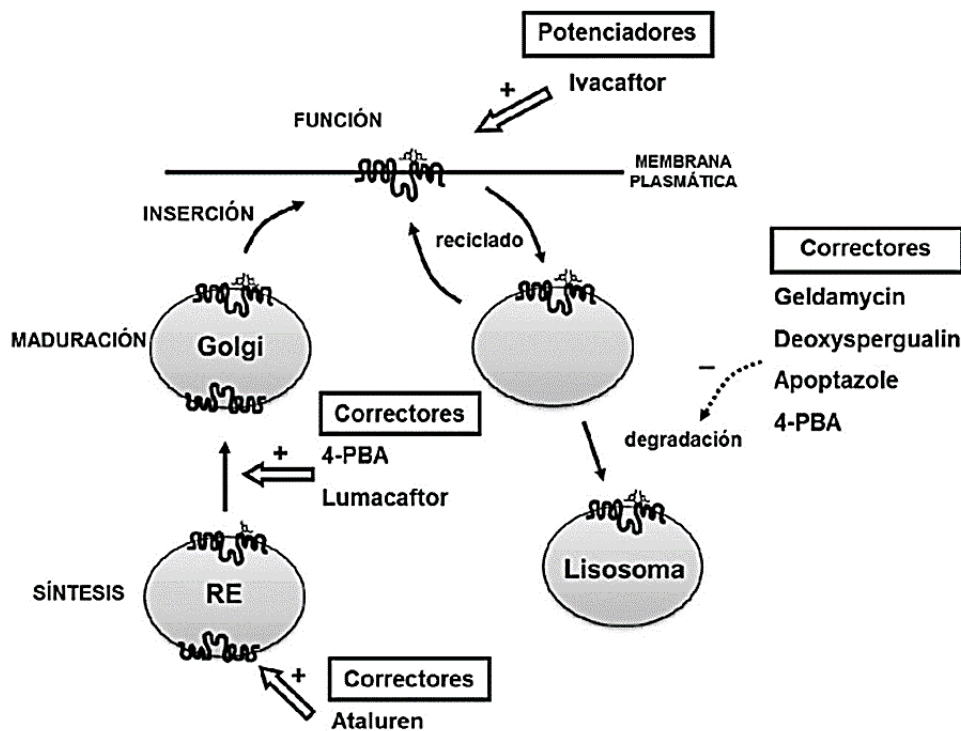
Orkambi® (lumacaftor/ivacaftor)

Este medicamento de combinación de lumacaftor e ivacaftor se utiliza para tratar la mutación DF508 en individuos homocigotos con FQ. La mutación DF508 en el gen hace que haya un menor procesamiento y transporte de la proteína CFTR, haciendo que se sintetice la llamada DF508-CFTR (proteína con la mutación). La poca cantidad de proteína que consigue llegar de esta proteína a la membrana tiene además la dificultad de apertura. El lumacaftor es un corrector de CFTR que actúa directamente sobre la proteína mutada, la DF508-CFTR. Al igual que el tezacaftor, favorece el procesamiento y el transporte celular de la



proteína para que aumente la cantidad de canales CFTR expresados en la membrana. En esa situación, y al igual que en la anterior combinación, el ivacaftor actúa aumentando la actividad del canal, haciendo que pueda ser funcional y permita el paso de los iones cloruro.(24-30)(33,44)

proteína para que aumente la cantidad de canales CFTR expresados en la membrana. En esa situación, y al igual que en la anterior combinación, el ivacaftor actúa aumentando la actividad del canal, haciendo que pueda ser funcional y permita el paso de los iones cloruro.(24-30)(33,44)



7 Conclusiones

- La FQ puede manifestarse de múltiples maneras y en diversos órganos y sistemas, por lo que sería necesario prestar atención en la clínica a los aspectos diagnósticos para conseguir una detección precoz y disminuir las complicaciones derivadas de la enfermedad, que acaban resultando letales en muchos casos.
- La diferencia terapéutica entre la medicación tradicional y la actual, en desarrollo, está permitiendo que aumente la esperanza de vida de las personas que padecen la FQ.
- El desarrollo de los nuevos medicamentos, que actúan sobre la causa de la enfermedad -y no sobre las manifestaciones de la misma-, permite disminuir la cantidad de fármacos administrados para paliar los síntomas (con sus respectivas interacciones y/o efectos adversos).
- La investigación de nuevos fármacos es fundamental a la hora de conseguir un tratamiento para todas las mutaciones de FQ importantes, lo que conllevaría a una mejoría en la calidad de vida del paciente.

8 Bibliografía

1. Kim J-B. Channelopathies. Korean J Pediatr [Internet]. 2014 Jan [cited 2019 May 13];57(1):1–18. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24578711>
2. Jarzembowski JA. Channelopathies. Pathobiol Hum Dis A Dyn Encycl Dis Mech. 2014;57(1):194–194.
3. Edelman A, Saussereau E. La mucoviscidose et autres canalopathies. Arch Pediatr [Internet]. 2012;19(SUPPL.1):S13–6. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0929-693X\(12\)71101-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0929-693X(12)71101-6)
4. Ashcroft F. Ion channels and disease: channelopathies. In: Nature Cell Biology. 1st ed. 2000.
5. MSD. Manual Merck de información médica general. First. Berkow R, Beers M, Fletcher A, editors. Barcelona: Oceano; 2000. 208–211 p.
6. Espinós Pérez J. Gastroenterología y hepatología. Gastroenterol Hepatol [Internet]. 1999;22(8):408–14. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista-gastroenterologia-hepatologia-14-articulo-gastrostomia-endoscopica-percutanea-gep-indicaciones-9102>
7. Astudillo P. Historia de la fibrosis quística [Internet]. Neumología pediátrica. 2017 [cited 2019 May 9]. Available from: <http://www.neumologia-pediatria.cl/wp-content/uploads/2017/06/historia.pdf>
8. Ortigoza L. Fibrosis quística. Aspectos diagnósticos. Colomb Med. 2007;38(1):41–9.

9. Orozco L, Chávez M, Saldaña Y, Velazquez R, Carnevale A, González-del Ángel A, et al. Fibrosis quística: La frontera del conocimiento molecular y sus aplicaciones clínicas. *Rev Investig Clin*. 2006;58(2):139–52.
10. Vega-Briceó L. CFTR: Más que un canal de cloro [Internet]. *Neumología pediátrica*. 2017 [cited 2019 May 13]. p. 1–5. Available from: <http://www.neumologia-pediatria.cl/wp-content/uploads/2017/06/CFTR.pdf>
11. Callebaut I, Chong PA, Forman-Kay JD. CFTR structure. *J Cyst Fibros* [Internet]. 2018;17(2):S5–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2017.08.008>
12. Liu F, Zhang Z, Csanády L, Gadsby DC, Chen J. Molecular Structure of the Human CFTR Ion Channel. *Cell*. 2017;169(1):85-95.e8.
13. Linsdell P. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR): Making an ion channel out of an active transporter structure. *Channels* [Internet]. 2018;12(1):284–90. Available from: <https://doi.org/10.1080/19336950.2018.1502585>
14. Meng X, Clews J, Cuitaa AD, Martin ER, Ford RC. CFTR structure, stability, function and regulation. *Biol Chem*. 2019;0(0).
15. Lezana DV, Arancibia JC, Broncopulmonar P, Fricke HG. Fibrosis quística y bronquiectasias no asociadas a fibrosis quística. *Neumol Pediatría* [Internet]. 2008;3(1):192–9. Available from: <http://www.neumologia-pediatria.cl/wp-content/uploads/2017/06/Bronquiectasias.pdf>
16. Palma AG, Kotsias BA, Marino GI. Funciones de los canales iónicos CFTR y ENaC en la fibrosis quística. *Med*. 2014;74(2):133–9.
17. Koeppen BM, Stanton BA. *Berne y Levy Fisiología*. Elsevier. 2009.
18. Cano Megías M, González Albarrán O. Diabetes en la fibrosis quística: una entidad diferente. *Endocrinol y Nutr* [Internet]. 2015 Jan 1 [cited 2019 May 10];62(1):38–44. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1575092214002010>
19. Cunningham JC, Lynn D, Taussig M. Definición y diagnóstico de la FQ. Una Introd a la Fibros quística para los pacientes y sus Fam [Internet]. 2017;7–23. Available from: <https://www.cff.org/PDF-Archive/En-Español/Una-Introduccion-A-La-Fibrosis-Quistica-Para-Los-Pacientes-Y-Sus-Familias/>
20. Sánchez D. I, Pérez H. MA, Boza C. ML, Lezana S. V, Vila I. MA, Repetto L. G, et al. Consenso nacional de fibrosis quística. *Rev Chil pediatría* [Internet]. 2001 Jul [cited 2019 May 13];72(4):356–80. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062001000400013&lng=en&nrm=iso&tlng=en
21. Fielbaum OD. TEST DEL SUDOR, TÉCNICA Y ERRORES ARTÍCULOS ORIGINALES / ORIGINAL ARTICLES [Internet]. Vol. 11, *Neumol Pediatr*. 2016 [cited 2019 May 13]. Available from: <http://www.neumologia-pediatria.cl/wp-content/uploads/2017/07/test-sudor-tecnica.pdf>
22. Escobar H, Sojo A. Fibrosis quística [Internet]. [cited 2019 May 13]. Available from: <https://www.aeped.es/sites/default/files/documentos/10-FQ.pdf>
23. Sánchez D. I, Pérez H. MA, Boza C. ML, Lezana S. V, Vila I. MA, Repetto L. G, et al. Consenso nacional de fibrosis quística. *Rev Chil pediatría* [Internet]. 2001 Jul [cited 2019 May 5];72(4):356–80. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0370-41062001000400013&lng=en&nrm=iso&tlng=en
24. Masson A, Schneider-Futschik EK, Baatallah N, Nguyen-Khoa T, Girodon E, Hatton A, et al. Predictive factors for lumacaftor/ivacaftor clinical response. *J Cyst Fibros* [Internet]. 2018; Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2018.12.011>
25. Holguin F. Triple CFTR Modulator Therapy for Cystic Fibrosis. *Te NEW Engl J Med*. 2018;1671–2.
26. Quintana-Gallego E, Delgado-Pecellín I, Calero Acuña C. Tratamientos reparadores de la proteína CFTR en la fibrosis quística. *Arch Bronconeumol*. 2013;50(4):146–50.
27. Diab-Cáceres L, Girón-Moreno RM, Pastor-Sanz MT, Quintana-Gallego E, Delgado-Pecellín I,

- Blanco-Aparicio M, et al. Compassionate Use of Lumacaftor/Ivacaftor in Cystic Fibrosis: Spanish Experience. *Arch Bronconeumol* [Internet]. 2018;54(12):614–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.arbres.2018.05.004>
28. Vadagam P, Kamal KM, Covvey JR, Giannetti V, Mukherjee K. Cost-Effectiveness and Budget Impact of Lumacaftor/Ivacaftor in the Treatment of Cystic Fibrosis. *J Manag Care Spec Pharm*. 2018;24(10):987–97.
 29. Pettit R, Arends A. Profile of lumacaftor/ivacaftor combination: potential in the treatment of cystic fibrosis. *Orphan Drugs Res Rev*. 2015;
 30. McColley SA. Combination lumacaftor and ivacaftor therapy for cystic fibrosis. *Expert Opin Orphan Drugs*. 2015;
 31. Feng LB, Grosse SD, Green RF, Fink AK, Sawicki GS. Precision Medicine In Action: The Impact Of Ivacaftor On Cystic Fibrosis–Related Hospitalizations. *Health Aff* [Internet]. 2018 May [cited 2019 May 13];37(5):773–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29733727>
 32. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Ivacaftor, CID=16220172, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/16220172> (accessed on May 7, 2019)
 33. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Lumacaftor, CID=16678941, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/16678941> (accessed on May 7, 2019)
 34. National Center for Biotechnology Information. PubChem Database. Tezacaftor, CID=46199646, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/46199646> (accessed on May 7, 2019)
 35. Ministerio de Sanidad y Política Social. CIMA: Centro de Información Online de Medicamentos de la AEMPS [Internet]. [Consultado en Abril 2019]. Disponible en: <https://cima.aemps.es/cima/publico/lista.html>
 36. Berical A, Lee RE, Randell SH, Hawkins F, Wagner DE. Challenges Facing Airway Epithelial Cell-Based Therapy for Cystic Fibrosis. 2019;10(February):1–12.
 37. Billet A, Froux L, Hanrahan JW, Becq F. Development of automated patch clamp technique to investigate CFTR chloride channel function. *Front Pharmacol*. 2017;8(APR):1–10.
 38. Cant N, Pollock N, Ford RC. CFTR structure and cystic fibrosis. *Int J Biochem Cell Biol* [Internet]. 2014;52:15–25. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biocel.2014.02.004>
 39. Cant N, Pollock N, Ford RC. CFTR structure and cystic fibrosis. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology*. 2014.
 40. Castro HE, Aguirre AS, Ortega DG, María J, Ortega N. Fibrosis quística.
 41. El Hiani Y, Lindsell P. Conformational changes opening and closing the CFTR chloride channel: Insights from cysteine scanning mutagenesis. *Biochem Cell Biol*. 2014;92(6):481–8.
 42. Fiore M, Cossu C, Capurro V, Picco C, Ludovico A, Mielczarek M, et al. Small molecule-facilitated anion transporters in cells for a novel cystic fibrosis therapeutic approach. *Br J Pharmacol*. 2019;0–3.
 43. Xie L-H, Ashcroft FM. Ion Channels and Channelopathies review series. *J Clin Invest* [Internet]. 2005;115(8). Available from: http://njms.rutgers.edu/departments/cell_biology_and_molecular_medicine/documents/Xie-ChannelsandChannelopathies-slides-150511.pdf