

Fibrosis Quística: mutaciones más frecuentes en la población mundial

Cystic fibrosis: more frequent mutations in world population.

Teresa Collazo Mesa

Centro Nacional de Genética Médica. Ciudad de la Habana. Cuba

RESUMEN

La Fibrosis Quística (FQ) es la enfermedad autosómica recesiva más común en la población Caucásica, con una incidencia en un rango entre uno en 1700 y uno en 7700. Desde que fue clonado el gen regulador de transmembrana de la FQ (CFTR) e identificada la mutación principal F508del, más de 1300 mutaciones han sido reportadas. El número y la frecuencia de estas mutaciones varían de acuerdo al origen étnico y localización geográfica de la población.

Palabras clave: Fibrosis Quística, gen CFTR, proteína CFTR, mutaciones, polimorfismos.

ABSTRACT

Cystic fibrosis (FC) is the autosomal recessive disease commonest in Caucasian population; its incidence is in a rank between 1 in 1700, and 1 in 7700. Since its cloning, regulator gen of FQ (CFTR) transmembrane and the identification of main F508del mutation, more of 1 300 mutations have benn reported. Number and frequency of these mutations hange according to ethnic origin, and geographical localization of population.

Key words: Cystic fibrosis, CFTR gen, CFTR protein, mutations, polymorphs.

INTRODUCCIÓN

La Fibrosis Quística es la enfermedad autosómica recesiva más frecuente en poblaciones caucásicas, en Cuba uno de cada 5000 recién nacidos están afectados.

¹ El gen regulador de la conductancia transmembranal de la Fibrosis Quística (CFTR), fue clonado en 1989 y la mutación principal F508del fue identificada. ² Desde entonces más de 1300 mutaciones diferentes en el gen CFTR han sido descritas. ³

El gen se encuentra localizado en el brazo largo del cromosoma 7 como se observa en la [figura 1](#). La expresión heterogénea de la proteína CFTR evidencia que las diferentes mutaciones se manifiestan con una evolución clínica altamente variable. La combinación de los distintos tipos de mutación en un individuo y la evaluación de las características clínicas que presentan los pacientes permite establecer las correlaciones entre el genotipo y el fenotipo. Incluso antes de que se identificase el gen CFTR se sabía que parte de las diferencias clínicas de los pacientes FQ están determinadas genéticamente. Alrededor del 15 % de los pacientes FQ son pancreáticos suficientes (PS) comparado con la mayoría de los pacientes con FQ, los cuales precisan del tratamiento con enzimas pancreáticas (pancreático insuficientes, PI). ⁴

La mutación F508del es responsable del 60% de los enfermos FQ en el mundo. ⁵ La frecuencia de esta mutación en la población mundial es de 66 %.⁶ Esta mutación provoca una alteración en el proceso post-transcripcional de la proteína, con una disminución del tráfico de la proteína madura desde el aparato de Golgi a la superficie celular apical. ⁷ Se encuentra aproximadamente en el 70 % de los cromosomas fibroquísticos en Estados Unidos y Canadá, como se mencionó anteriormente, si bien varía su incidencia, dependiendo del grado de heterogeneidad genética en las distintas poblaciones, ^{8,9} está presente con un máximo en Dinamarca de 87,2 %, un mínimo en Turquía de 21,3 %, ¹⁰ y 50 % en Europa del sur. ¹¹ Pocas han sido las publicaciones de FQ en América Latina. ¹² América Latina es principalmente una combinación de tres poblaciones: Indios-americanos, africanos y Caucásicos. Su incidencia varía en los diferentes países: 45 % en México, ¹³ 50,8 en Brasil ^{14,15}, entre 57 % y 60,9 % en Argentina ¹⁶ y en Uruguay es de un 40 % ¹⁷. En Cuba reportamos el 34 % ¹⁸. Esta mutación es responsable de formas muy severas (aquellas acompañadas de insuficiencia pancreática). En la mayor parte de los pacientes aparecen los primeros síntomas durante la lactancia, es decir, con menos de 1 año de edad. ¹⁹

Hay otras mutaciones poco frecuentes que están restringidas a determinadas regiones geográficas o grupos étnicos como la 3120+1 G®A, que con un cuadro clínico similar a la mutación F508del, se presenta en pacientes homocigóticos con una insuficiencia pancreática severa y síntomas respiratorios con un patrón clínico severo que conduce a la muerte precoz. ²⁰ Esta mutación ha sido caracterizada como una mutación relativamente común en las poblaciones sudafricanas y consiste en el rompimiento del sitio 5' de empalme en el intrón 16 del *CFTR*. La FQ es muy rara en poblaciones negras de África, quienes tienen una mezcla mínima con la raza blanca. Solo unos pocos casos han sido reportados y muy pocos han sido estudiados a escala molecular. El investigador Padoa ²¹ realizó un estudio en Sudáfrica con una muestra de 1360 sujetos aparentemente saludables no relacionados detectándose nueve portadores de la mutación y en un estudio de sujetos enfermos se concluyó que dos de cada cinco pacientes negros fibroquísticos dieron positivos a la prueba de electrolitos en sudor y son heterocigóticos para dicha mutación donde se obtuvo una frecuencia de portadores de 1/91 en

sudafricanos negros, hallándose la mutación entre el 15-65 % de los cromosomas fibroquísticos de esta población. También Padoa y otros investigadores encontraron un individuo de origen cameroniano con un cromosoma que contenía la mutación 3120+1G®A²¹.

En un estudio realizado en Baltimore, Estados Unidos de América, en un grupo de 82 afro americanos con cromosomas fibroquísticos se identificó la mutación 3120+1G®A con una frecuencia de 12,3 %.²² Una frecuencia similar de valor 12,5 % obtuvo el científico Bienvenu en estudio realizado en la Isla Reunión de nacionalidad francesa.²³ Existe la mutación 3120 G®A, frecuente en las poblaciones caucásicas, la cual no puede diferenciarse de la 3120+1G®A mediante el estudio molecular utilizando la enzima de restricción BstN I. Para lograr esto es necesario realizar la secuenciación del fragmento del gen donde aparecen dichas mutaciones.

Otras mutaciones (G542X, N1303K) tienen frecuencias menores, entre el 1 y 2 % de la población mundial. Las mutaciones G542X, R1162X N1303K pertenecen a la clase 1 dentro de la clasificación que está descrita para las mutaciones en el gen CFTR. La mutación G542X se produce en el exón 11 y consiste en una terminación precoz de la cadena, la R1162X es una mutación sin sentido que se encuentra en el exón 19 y la N1303K en el exón 22 y consiste en un corrimiento del marco de lectura. Dichas mutaciones son graves con insuficiencia pancreática y producen una clínica que permite un diagnóstico precoz.²⁴

La mutación G542X es común en los países del Mediterráneo, la frecuencia más alta se ha encontrado en Islas Baleares con un 16,7 %, ¹¹ la frecuencia en la población mundial es de 4,4 % (Francia 3,1 %, Italia 4,8 %, España 7,7 %, Cuba 6%). La mutación N1303K, está presente alrededor del mediterráneo, alcanzando su mayor frecuencia (17,2) en Tunisia. ¹¹

La especificidad de mutaciones en regiones geográficas definidas indica un origen común. La mutación CFTRdel2,3 se ha identificado en el Este y Centro de Europa con frecuencias del 2-6 %. El mismo haplotipo observado utilizando marcadores intragénicos fundamenta la hipótesis del origen común de esta mutación. ²⁵

Además otras 17 mutaciones tienen frecuencias entre 0,1 %- 0,9 % y el resto de las mutaciones son raras o confinadas a solo algunas poblaciones. ¹¹

Un caso interesante es la mutación R334W, para la cual un análisis de un amplio número de pacientes ha permitido definir claramente su asociación a IP de inicio tardío con variabilidad inter e intrafamiliar, ²⁶ mientras los datos clínicos iniciales (incluyendo los estudios funcionales) sugirieron que se trataba de una mutación SP. ²⁷ Esta mutación provoca un cambio de arginina por triptófano en el codón 334 del gen CFTR, ocurre en el primer dominio transmembranal. Ha sido reportada en diferentes poblaciones, la incidencia en la población mundial es de 0.1 %, en la población española la frecuencia es de 1 %, esta mutación se ha encontrado asociada con los haplotipos 17-46/47-13 de los microsátélites (IVS8CA- IVS17BTA). ²⁸

Otra de las mutaciones detectadas en la población mundial es la R553X, que consiste en un cambio de C por T en el nucleótido 1789 en el exón 11 y es responsable de una mutación de parada en el aminoácido 553. ²⁹ La frecuencia reportada en el consorcio de Fibrosis Quística es de 1,5%, en la población española es de 0,34 %, ³⁰ en Chile es de 4,2 %, la más alta encontrada en todo el mundo, ellos explican las diferencias encontradas en la población chilena por una posible prevalencia de genes Indios-americanos a la población chilena. ³¹

La mutación G85E esta localizada en el primer dominio transmembranal del gen *CFTR*, ocurre aproximadamente en el 1 % de los cromosomas fibroquísticos españoles, dicha mutación es un cambio de nucleótido G®A en la posición 386 en el exón 3, la cual provoca cambio de glutámico por glicina en el codón 85 en el primer dominio MSD en el *CFTR*,³² provocando una degradación rápida de la proteína, antes del tránsito a través del complejo de Golgi. La prevalencia mundial es de 0,2 %, ³³ y las frecuencias más altas han sido reportadas en EU (0,7 %) ,³⁴ Italia (1,7 %) ³⁵ y España (1 %).³⁶ Esta mutación ocurre en el 70 % con suficiencia pancreática y también presenta variabilidad intrafamiliar y hay la influencia de otros factores en el genotipo, tales como el medio ambiente los cuales están involucrados en la severidad de la enfermedad.³⁷

La mutación 2183AA®G es una mutación del corrimiento del marco de lectura, la cual provoca una terminación prematura de codón 38 en exón 13. Fue descrita por primera vez en tres pacientes canadienses y después se presentó que tiene una frecuencia significativa en el centro y sur de Europa. En el nor-este de Italia la frecuencia es de 9.3 %, 2.1 % en Bélgica, 1.8 en Grecia, 1 % en Bulgaria y Francia, 0.4 % en el centro y norte de Alemania, 2.5 % en Turquía, 0.8 % en Bulgaria y 0.5 % en España. ³⁸ Esta mutación ha sido descrita asociada a un fenotipo severo, con insuficiencia pancreática, variables complicaciones pulmonares, en ocasiones complicaciones con bacterias patógenas y otras complicaciones tales como problemas hepáticos y bronquiectasias. ³⁸ En los pacientes de España y Turquía esta mutación se encontraba asociada al alelo 7T del polimorfismo IVS8-6(T) ³⁹ y al haplotipo de los microsatélites IVS8CA, IVS17bTA y IVS17bCA, en España al (16-30-13) y en Turquía a los haplotipos (16-31-13) y (16-32-13). ^{40,32}

Otra de las mutaciones descritas, 3272-26A>G, la cual conduce a la creación de un sitio de empalme alternativo, compitiendo con el normal durante el procesamiento del ARN, resultando un ARN de empalme alternativo con un nucleótido extra en el exón 17a, lo que provoca un codón de parada prematuro. Esta mutación ha sido encontrada en España, Grecia, Alemania, Portugal y Bélgica, el 73 % de los paciente portadores de la misma resultaron heterocigóticos compuestos con F508del, además se ha encontrado con las mutaciones R1162X, E822X, G542X, N1303K, 2869insG, L206W, entre otras. Por lo general los pacientes que resultan heterocigóticos para esta mutación, la cual se describe como moderada y otra mutación grave, se comportan como pacientes con un cuadro clínico moderado, sin embargo en estos pacientes se encuentra aumentado el porcentaje de ellos que presentan pólipos nasales (37 %). ⁴¹

Además de las mutaciones en el gen *CFTR*, polimorfismos genéticos en regiones no codificantes pueden tener un impacto en los niveles de *CFTR* funcional y en el fenotipo FQ. ⁴² Otras mutaciones de *CFTR* en regiones no codificantes han sido asociados con fenotipos FQ atípicos. El análisis mutacional evidencia la especificidad entre este fenotipo y la variante 5T[IVS8-6(5T)]. ^{43, 44} El alelo 5T en la secuencia del intrón 8 resulta en la delección del ARNm del exón 9 del gen *CFTR*, conduciendo a la reducción de los niveles de la proteína *CFTR* normal, no generando las cantidades para apoyar las funciones fisiológicas requeridas.

El polimorfismo de timidinas en el final del intrón 8 de el gen *CFTR*, 3 alelos diferentes han sido encontrados dependiendo de el número de timidinas (5, 7 o 9), presentes en este sitio. ⁴⁵ El número de timidinas determina la eficiencia del intrón 8 como aceptor. La eficiencia disminuye cuando es más pequeño el número de timinas encontradas ^{45, 39} debido a la alta frecuencia de la variante cinco timidina (5T) en pacientes con ausencia congénita bilateral de los vasos deferentes (CBAVD) con respecto a la población general (21 contra 5 %), la variante 5T fue clasificada como una mutación CBAVD con penetrancia incompleta ³⁷.

El alelo 5T en el intrón 8 del gen *CFTR* conduce a baja proporción de ARNm transcrito faltando el exón 9. Consecuentemente, la variante 5T produce bajos niveles anormales de la proteína *CFTR*. La variante 5T es la causa más frecuente asociada a la CBAVD.³⁷

Mutaciones FQ han sido encontradas en el 65 % de individuos con CBAVD, sugiriendo que pacientes CBAVD con mutaciones en el gen *CFTR* tienen una forma ante todo genital de FQ.⁴⁶

La presencia de una mutación *CFTR* en un alelo y la variante 5T en el otro puede conducir a un déficit de transcrito normal.^{47, 48}

En resumen el alelo 5T en el intrón 8 del gen *CFTR* es encontrado en aproximadamente el 10 % de los individuos. El número de repeticiones CG adyacentes a 5T influye en la penetrancia de la enfermedad. Groman en el 2004, determinando el número de repeticiones TG en 98 pacientes (hombres infértiles debido a la ausencia congénita de los vasos deferentes), se encontraron 9 pacientes con FQ no clásica y 27 individuos no afectados. Cada uno de los individuos de este estudio tiene una mutación severa *CFTR* y en el otro 5T. De los individuos no afectados, 78 % (21 de 27) tiene adyacente a 5T 11 repeticiones TG, comparado con el 9 % (10 de 107) de los individuos afectados. Inversamente, 91 % (97 de 107) de los individuos afectados tienen 12 o 13 repeticiones TG, contra solo 22 % (6 de 27) de los individuos no afectados. Estos individuos con 5T adyacente a 12 o 13 repeticiones TG fueron sustancialmente más probable a tener un fenotipo anormal que estos con el alelo 5T adyacente a 11 repeticiones TG. Entonces determinaron que el número de repeticiones TG puede predecir si el alelo 5T es benigno o patológico.⁴⁹

En Francia, el alelo 5T estuvo presente en 7 de 36 pacientes, la frecuencia del alelo fue de 9,7 %, mientras que en la población general es de 5 %.⁵⁰

La mutación F508del tiene una fuerte asociación con el alelo 9T. Esto se puede inferir debido a que los diez casos homocigóticos F508del tienen el alelo 9T/9T y 37 de 38 heterocigóticos tienen al menos un alelo 9T.⁵¹ Esta asociación ha sido observada antes.⁵²

Un porcentaje de mutaciones *CFTR* son deleciones / inserciones de gran tamaño que no pueden ser detectadas mediante las técnicas de *cribaje*. Para su caracterización se necesitan técnicas más complejas como *Southern Blot*, la electroforesis en campos pulsantes, RCP múltiple cuantitativa de pequeños fragmentos fluorescentes.⁵³

Probablemente el continuo avance de la tecnología será un factor decisivo en la implantación de nuevos métodos de análisis más eficaces, algunos ya disponibles, como los secuenciadores multicanales, el análisis en cromatografía líquida de alto rendimiento desnaturizante (DHPLC)⁵⁴ y otros, todavía en fase experimental (*microchips*).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Guerra D. Estudio Genético de Fibrosis Quística. Tesis de Doctor en Ciencias Médicas 1984.

2. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, . Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 1989; 245: 1066-73.
3. CF Mutation Data Base <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr>.
4. Wilschanski M, Zielenski J, Markiewicz D, tsui LT, Corey M, Levison H, Durie P. Correlation of sweat chloride concentration with classes of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mutations. *J Pediatric* 1995; 127: 705-710.
5. Mateu E, Calafell F, Ramos MD, Casals T, and Bertranpetit J. Can a Place of Origin of the Main Cystic Fibrosis Mutations Be Identified ? *Am J Hum Genet* 2002; 70(1): 257-264.
6. Araújo FG, Novaes FC, Dos Santos NP, Martins VC, de Souza SM, dos Santos SEB and Ribeiro-dos-Santos AKC. Prevalence of DF508, G551D, G542X, and R553X mutations among cystic fibrosis patients in the North of Brazil. *Braz J Med Biol Res* 2005; 38 (1): 11-15.
7. Loo MA, Jensen TJ, Cui L, Hou Y, Chang XB, Riordan JR. Perturbation of Hsp90 interaction with nascent CFTR prevents its maturation and accelerates its degradation by the proteasome. *EMBO Journal* 1998; 17: 6879- 6887.
8. Murray J, Cuckle H, Taylor G, Li Titlewood J, Hewison J. Screening for Cystic Fibrosis. *Technol Assess* 1999; 3(8): 1-104.
9. García N MD. Avances en Fibrosis Quística. *Rev. Esp. Pediat.* 1999; 55(328): 299-310.
10. Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. Worldwide survey of the DF508 mutation. Report from the Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium. *Am J Hum Genet* 1990; 47: 354- 9. 18. EWGGCF Gradient of distribution in European of the major CF mutation and of its associated haplotype. European Working Group on CF Genetics. *Human Genet* 1990; 85: 436-445.
11. Estivill X, Bancells C, Ramos C. For the BIOMED CF Mutation Analysis Consortium. Geographic distribution and regional origin of 272 cystic fibrosis mutations in European populations. *Hum Mutat* 1997; 10: 135-54.
12. Chertkoff, L., Visich, A., Bienvenu, T, Grenoville, M, Segal, E., Carniglia, L, Kaplan, J.C. and Barreiro C. Spectrum of CFTR mutations in Argentine cystic fibrosis patients. *Clin. Genet* 1997; 51: 43-47.
13. Villalobos C, Rojas A, Villareal E, Cantú JM, Sánchez FJ, Saiki RK, Barrera HA. Análisis of 16 cystic fibrosis mutations in Mexican patients. *Am J Med Genet* 1997; 69: 4380-4382.
14. Maróstica PJ, Raskin S, Abreu FA. Analysis of DF508 mutation in a Brazilian cystic fibrosis populations: comparison of pulmonary status of homozygotes with other patients. *Braz J Med Biol Res* 1998; 3(4): 529-532.
15. Bernardino AL, Ferri A, Passos-Bueno MR, Kim CE, Nakaie CM, Gomes C, Damaceno N, y Zatz, M. Molecular analysis on Brazilian cystic fibrosis patients reveals five novel mutations. *Genet Test* 2000; 4: 69-74.

16. Luna MC, Granados PA, Olek K, Pivetta OH. Cystic Fibrosis in Argentina: The frequency of the DF508 mutation. *Human Genetic* 1997; 97: 314.
17. Luzardo G, Aznarez I, Crispino B, Mimbacas A, Martínez L, Poggio R, Zielenski J, Tsui L-C and Cardoso H. Cystic fibrosis in Uruguay. *Genet Mol Res* 2002; 1 (1): 32-38.
18. Collazo T, Magariño C, Chavez R, Suardiáz B, Gispert S, Gómez M, et al. Frequency of "F508 Mutation and XV2C/KM19 Haplotypes in Cuba Cystic Fibrosis Families. *Hum Hered* 1995; 45: 55-7.
19. Dyce E, Fernández A. Aspectos clínicos y genéticos de la Fibrosis Quística. *AMC* 2000.
20. Carles S, Desgeorges M, Goldman A, Thiart R, Guittard C, Kitazos CA, Ravel TJ, Westwood AT, Claustres M, Ramsay M. First report of CFTR mutations in black cystic fibrosis patients of southern African origin. *J Med Genet* 1996; 33(9): 802-804.
21. Padoa C, Goldman A, Jenkins T, Ramsay M. Cystic fibrosis carrier frequencies in populations of African origin. *Journal of Medical Genetics* 1999; 36: 41-44.
22. Macek M Jr, Mackova A, Hamoosh A, Hilman BC, Selden RF 40, Luccote G, et al. Identification of common cystic fibrosis mutations in African-Americans with cystic fibrosis increases the detection rate to 75 %. *Am J Hum Genet* 1997b; 60: 1122-1127.
23. Bienvenu T. A splicing mutation in intron 16 of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene, associated with severe disease, is common on Reunion Island. *Hum Hered* 1996; 46: 168-177.
24. García N MD. Avances en Fibrosis Quística. *Rev. Esp. Pediat.* 1999; 55(328): 299-310.
25. Dörk T, Macek M Jr, Mekus F, Tümmler B, Tzountzouris J, Casals T, et al. Characterization of a novel 21-kb deletion, CFTRdele2,3(21kb), in the CFTR gene: a cystic fibrosis mutation of Slavic origin common in Central and East Europe. *Hum Genet* 2000; 106: 259-68.
26. Estivill X, Ortigosa L, Pérez-Frías J, Dapena J, Ferrer J, Peña J. Clinical characteristics of 16 cystic fibrosis patients with the missense mutation R334W, a pancreatic insufficiency mutation with variable age of onset and interfamilial clinical differences. *Human Genet* 1995; 95: 331-6.
27. Gasparini P, Nunes, V., Savoia, A., Dognini, M., Morral, N., Gaona, A., Bonizzato, A., Chillon, M., Sangiuolo, F., Novelli, G., Dallapiccola, B., Pignatti, P.F. and Estivill, X. The search for south European cystic fibrosis mutations: identification of two new mutations, four variants, and intronic sequences. *Genomics* 1991; 10: 193- 200.
28. Morral N, Bertranpetit J, Estivill X, Nunes V, Casals T, Giménez J, et al. The origin of the major cystic fibrosis mutation (delta F508) in European populations. *Nat Genet* 1994; 7: 169-75.

29. Cutting GR, Kash LM, Rosenstein BJ, Zielenski J, Tsui LC, Antonarakis SE & Kazazian HH. A cluster of cystic fibrosis mutations in the first nucleotide-binding fold of the cystic fibrosis conductance regulator protein. *Nature* 1990; 346: 366-369.
30. Casals T, Pacheco P, Barreto C, Gimenez J, Ramos MD, Pereira S, et al. Missense mutation R1066C in the second transmembrane domain of *CFTR* causes a severe cystic fibrosis phenotype: study of 19 heterozygous and 2 homozygous patients. *Hum Mutat* 1997; 10(5): 387-92.
31. Ríos J, Orellana O, Aspillaga M, Avedano I, Largo I y Riveros N. *CFTR* mutations in Chilean cystic fibrosis patients. *Hum Genet* 1994; 94: 291-294.
32. Zielenski J, Rozmahel R, Bozon D, Kerem B, Grzelczak Z, Riordan JR et al. Genomic DNA sequence of the Cystic Fibrosis transmembrane conductance regulator (*CFTR*) gene. *Genomics* 1991; 10: 214- 28.
33. The Cystic Fibrosis Genetic Analysis Consortium (CFGAC). Population variation of common CF mutations. *Hum Mutat* 1994; 4: 167-77.
34. Friedman, KJ, Heim, RA, Knowles, MR. Rapid characterization of the variable length polythymidine tract in the cystic fibrosis (*CFTR*) gene: association of the 5T allele with selected *CFTR* mutations and its incidence in atypical sinopulmonary disease. *Hum Mutat* 1997; 10: 108-11.
35. Bonizzato A, Bisceglia L, Marigo C. Análisis of the complete coding region of the *CFTR* gene in a cohort of CF patients from north -eastern italy: identification of 90 % of the mutations. *Hum Genet* 1995; 95: 399-402.
36. Comunicación personal. Dra Teresa Casals. Instituto de la Reserca Oncológica. Barcelona, 2001.
37. Chillón M, Casals T, Mercier B, Bassas LI, Lissens W, Silber S, et al. Cystic fibrosis mutacions in congenital absence of the vas deferens. *N Engl J Med* 1995; 332: 1475-80.
38. Kilinc MO, Ninis VN, Tolun A, Estivill X, Casals T, Savov A, et al. Genotype-phenotype correlation in three homozygotes for the cystic fibrosis mutation 2183AA—>G shows a severe phenotype. *J Med Genet* 2000; 37: 307-9.
39. Chu CS, Trapnell BC, Curristin S, Cutting GR, Crystal RG. Genetic basis of variable exon 9 skipping in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mRNA. *Nat Genet* 1993; 3: 151156.
40. Morral N, Nunes V, Casals T, Chillón M, Giménez J, Bertranpetit J, Estivill X. Microsatellite haplotypes for cystic fibrosis: mutation frameworks and evolutionary tracers. *Hum Mol Genet* 1993; 2:10151022
41. Amaral D, Pacheco P, Beck S, Farinha CM, Penque D, Nogueira P et al. Cystic fibrosis patients with the 3272-26A>G splicing mutation have milder disease than F508del homozygotes: a large European study. *Journal of Medical Genetics* 2001; 38 (11): 777-782.
42. Kiesewetter S, Macek M Jr, Davis C, Curristin SM, Chu CS, Graham C, Shrimpton AE, Cahsman SM, Tsui LC, Mickle J, Amos J, Highsmith WE, Shuber A,

Witt DR, Crystal RG, Cutting GR. A mutation in CFTR produces different phenotypes depending on chromosomal background. *Nat Genet* 1993 ;5 :274- 278.

43. Haardt M, Benharouga M, Lechardeur D, Kartner N, Lukacs GL. C-terminal truncations destabilize the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator without impairing its biogenesis. A novel class of mutation. *J Biol Chem* 1999; 274: 21873-7.

44. Larriba S, Bassas LI, Giménez J, Ramos MD, Segura A, Nunes V, et al. Testicular CFTR splice variants in patients with congenital absence of vas deferens patients. *Human Molecular Genetics* 1998; 7: 1739-44.

45. Chu C, Trapnell B, Murtagh J. Variable deletion of exon 9 coding sequences in cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene mRNA transcripts in normal bronchial epithelium. *EMBO J* 1991; 10: 1355-1363.

46. Anguiano A, Oates RD, Amos JA, Dean M, Guerrad B, Steward C, Maher TA, White MB, Milunski A. *Jama*. 1992; 267(13): 1794-1797.

47. Teng H, Jorrisen M, Poppel H, Legius E, Cassiman JJ and Cuppens H. Increased proportion of exon 9 alternatively spliced CFTR transcripts in vas deferens compared with nasal epithelial cells. *Hum Mol Genet*. 1997; 6: 85-90.

48. Mak V, Jarve KA, Zielenski J, Durie P and Stui LC. Higher proportion of intact exon 9 mRNA in nasal epithelium compared with was deferens. *Hum Mol Genet* 1997; 6: 2099-2107.

49. Groman JD, Hefferon TW, Casals T, Bassas L, Estivill X, Des Georges M, et al. Variation in a repeat sequence determines whether a common variant of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene is pathogenic or benign. *Am J Hum Genet* 2004; 74(1): 176-9.

50. Audrezet MP, Chen JM, Le Marechal C. Determination of the relative contribution of three genes-the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene, the cationic trypsinogen gene, and the pancreatic secretory trypsin inhibitor gene-to the etiology of idiopathic chronic pancreatitis. *Eur J Hum Genet* 2002; 10: 1006.

51. Roland K, Mirkovik B, Nersesian R, Myers A, Saiki R and Bauer K. Survey of CF mutations in the clinical laboratory 2002.

52. Friedman, KJ, Heim, RA, Knowles, MR. Rapid characterization of the variable length polythymidine tract in the cystic fibrosis (CFTR) gene: association of the 5T allele with selected CFTR mutations and its incidence in atypical sinopulmonary disease. *Hum Mutat* 1997; 10: 108-11.

53. Audrézet MP, Chen JM, Raguénès O, Chuzhanova N, Giteau K, Le Maréchal C. Genomic rearrangements in the CFTR gene: extensive allelic heterogeneity and diverse mutational mechanisms. *Hum Mutat* 2004; 23: 343-57.

54. Ravnik-Glavac M, Atkinson A, Glavac D, Dean M. DHPLC screening of cystic fibrosis gene mutations. *Hum Mutat* 2002; 19: 374-83.

Recibido: Abril 2008
Aprobado: Mayo 2008

Lic. Teresa Collazo Mesa. Dra. en Ciencias de la Salud. Investigadora
Auxiliar. Telefono: 208-99-91 ext 1049 Email. tcollazo@infomed.sld.cu

