

Indagación de la mutación Δ F508 en pacientes con fibrosis quística, atendidos en el Servicio de Neumonología Pediátrica de la Ciudad Hospitalaria “Dr. Enrique Tejera”

Emiberth Torres¹, José A. Martínez², Manuel Rolo³, María Fátima Baeta³, Sol Sánchez³, Jesús E. Meza¹, José B. Sánchez¹, Jacqueline Parra¹, Nancy Moreno⁴.

¹ Servicio de Neumonología Pediátrica. Ciudad Hospitalaria “Dr. Enrique Tejera” ² Departamento de Biología Universidad Pedagógica Experimental Libertador, Núcleo de Maracay. ³ Laboratorio de Genética Humana Unidad Proyecto Aragua Universidad de Carabobo Núcleo Aragua. ⁴ Laboratorio de Biología Molecular. Ciudadana Universidad de Carabobo Núcleo Aragua

Correspondencia: Nancy Moreno.
Laboratorio de Biología Molecular. CIADANA. Universidad de Carabobo, Núcleo Aragua
Correo electrónico: nanmorja@telcel.net.ve
Apartado Postal 237 Maracay, Estado Aragua, 2101

Recibido: junio 2004

Aprobado: octubre 2004

Los equipos utilizados en esta investigación fueron adquiridos por BID-CONICIT, CDCH de la Universidad de Carabobo y FUNDACITE ARAGUA (PAED-01). El financiamiento de los reactivos se realizó a través de: una Ayuda Menor otorgada al Dr. Manuel Rolo, por el CDCH de la Universidad de Carabobo según acta N° 281-34 y la colaboración de: La Fundación del Niño Grave de Valencia, la Unidad Proyecto Aragua y la Dirección de Administración de la Facultad de Ciencias de La Salud de la UC Núcleo Aragua.

RESUMEN

La causa de la Fibrosis Quística (FQ) radica en mutaciones en el gen que codifica para una proteína llamada reguladora de la conductancia de la membrana (CFTR: Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator) que está involucrada en el transporte de iones Cloro. La mutación más común de FQ es la Δ F508, la cual consiste en la delección de tres nucleótidos del exón 10 del gen CFTR y conduce a la pérdida de fenilalanina en la posición 508. En este trabajo se indaga dicha mutación, en seis familias que presentan al menos un Caso Índice de FQ y en cinco pacientes sin relación de parentesco; todos ellos atendidos en el Servicio de Neumonología Pediátrica de la Ciudad Hospitalaria “Dr. Enrique Tejera” en Valencia Estado Carabobo. El diagnóstico de FQ se basó en los hallazgos clínicos y en los resultados

de la prueba de electrolitos en sudor. Se extrajo ADN genómico a partir de los leucocitos aislados de una muestra de sangre y se analizó el polimorfismo de restricción *Mbo* I, presente en una secuencia de 88 pb. ubicada en el exón 10 del gen CFTR. Se identificaron cuatro pacientes homocigotos Δ F508/ Δ F508 (33,3%), dos pacientes heterocigotos compuestos Δ F508/OTRA (16,7 %) y seis casos OTRA/OTRA (50%). La mutación Δ F508 presentó una frecuencia de 41,6%. Los resultados son importantes para el asesoramiento genético de los pacientes y sus grupos familiares, igualmente para indagar la epidemiología molecular en pacientes de la Región Centro-Norte de Venezuela y además conducen a establecer las bases para determinar la presencia de otras mutaciones.

Palabras clave: Fibrosis Quística, mutación Δ F508, polimorfismo de ADN, Venezuela

ABSTRACT

The cause of cystic fibrosis (CF) resides in mutations in the gene that codes for a protein called conductance membrane regulator (CFTR: Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator) which is involved in the transport of chlorine ions. The most common causing mutation of CF is the one called Δ F508, which consists on the deletion of three nucleotides of the 10th exon from the CFTR gene, leading to the loss of phenylalanine in the 508 position. Such mutation is investigated in this paper in six families presenting at least an index case of CF, and in five unrelated patients; all of them attended in the Pediatric Pneumology Service at the "Dr. Enrique Tejera" Hospital in Valencia - Carabobo State. The diagnosis of CF was based on clinical records, and on the results of the perspiration electrolytes test. Genomic DNA was extracted from isolated leukocytes of a blood sample, and the restriction polymorphism *Mbo* I was analyzed, which is present in a sequence of 88 pb. located in the 10th exon of the CFTR gene. Four homozygote patients were identified Δ F508/ Δ F508 (33.3%), two compound heterozygote patients Δ F508/OTHER (16.7%), and six cases OTHER/OTHER (50%). The Δ F508 mutation had a frequency of 41.6%. The results obtained are important for genetic counseling of patients and their family groups; additionally, they will establish the bases for determining the presence of other mutations in patients from the Venezuelan North-Central region

Key words: Cystic fibrosis, Δ F508 mutation, DNA polymorphism, Venezuela.

INTRODUCCIÓN

La Fibrosis Quística (FQ) es una enfermedad de origen genético con un patrón de herencia autosómico y recesivo; en consecuencia los enfermos tienen dos alelos anormales, cada uno de ellos heredados de cada progenitor. Esta enfermedad se presenta frecuentemente en poblaciones caucásicas del centro de Europa y sus descendientes americanos con una incidencia aproximada de 1/2500 en recién nacidos vivos. En Venezuela es mucho menor, con una prevalencia en la población general de 1/64.100 (No hay estudios de incidencia venezolanos) (1).

La causa de FQ radica en mutaciones en el gen que codifica para una proteína llamada reguladora de la conductancia de la membrana (CFTR: Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator) la cual está involucrada en el transporte de iones Cloro. En el gen de CFTR se han descrito más de 900 mutaciones causantes de FQ (2) sin embargo la mutación más común es la llamada $\Delta F508$, la cual consiste en una delección de tres nucleótidos en el exón 10 y conduce a la pérdida de la fenilalanina en la posición 508; la proporción de este alelo varía considerablemente en función de la composición étnica de las poblaciones, así encontramos que en España (3,4) se han publicado valores promedio de frecuencias de 48% y 50,6%, mientras que en Latinoamérica la frecuencia oscila entre valores relativamente bajos, como uno de los observados en Chile (29,1%) (5) y valores de 60,9 % encontrados en Argentina (6). Los datos publicados para Venezuela también son diferentes, en trabajos realizados en la Ciudad de Caracas (Latitud 10° 30' 00 Norte y Longitud 66° 55' 00 Oeste) ubicada en la Región norte, se determinaron frecuencias de 50% (7) en contraste con la ciudad de Maracaibo ubicada en el Occidente del país (Latitud 10° 37' 54 Norte y Longitud 71° 38' 26 Oeste) donde se encontró una frecuencia de 29,6% (8).

En este trabajo se indaga la presencia de la mutación $\Delta F508$ en seis familias que presentan al menos un Caso Índice de Fibrosis Quística y en cinco pacientes que no tienen relación de parentesco, todo esto con el fin de utilizar estos datos para el asesoramiento genético de los pacientes y sus grupos familiares, inquirir la epidemiología molecular en los pacientes de la Región Centro - Norte de Venezuela y establecer las bases para determinar la presencia de otras mutaciones.

PACIENTES, MATERIALES Y MÉTODOS

La muestra consistió en seis familias que tienen al menos un Caso Índice de FQ, en cuatro de las familias se logró la participación del padre, la madre y los hermanos (as) mientras que en las dos familias restantes, asistieron la madre y la hermana en un caso y sólo la madre en el otro caso. También se incluyeron cinco pacientes sin grado de parentesco. Los pacientes se dividieron en dos grupos: Grupo A, integrado por los Casos Índice cuyo núcleo familiar se incorporó al estudio y el Grupo B, constituido sólo por cinco casos, donde el grupo familiar no se integró al estudio.

En total hubo 12 Casos Índice, lo cual representa 24 cromosomas en el grupo de los enfermos y 16 individuos (32 cromosomas) integrantes de los grupos familiares quienes no presentan manifestaciones de Fibrosis Quística. El 75 % de los pacientes fueron diagnosticados con Fibrosis Quística en las etapas de recién nacido y lactante. La edad de los pacientes estuvo comprendida en un rango entre 1 y 18 años, siete son de sexo femenino y cinco de sexo masculino. Todos los pacientes fueron atendidos en el Servicio de Neumonología Pediátrica de la Ciudad Hospitalaria "Dr. Enrique Tejera" de la ciudad de Valencia (Latitud 10° 13' 00 Norte y Longitud 68° 01' 07 Oeste) Estado Carabobo, perteneciente a la Región Centro - Norte de Venezuela. Se solicitó consentimiento a los padres de los pacientes para su inclusión en este estudio. El 83,33% de los Casos Índice son autóctonos y la procedencia geográfica de la mayoría de los abuelos paternos y maternos de 7 pacientes, se concentra en una zona localizada en una Latitud entre 9° 42' 11 y 10° 47' 52 Norte y una Longitud entre 67° 55' 11 y 68° 53' 39 Oeste; con puntos delimitantes en la ciudad de Valencia (Estado Carabobo) y las poblaciones de Tacarigua (Estado Carabobo), Tinaco (Estado Cojedes), Aroa (Estado Yaracuy), y Tucacas (Estado Falcón). El diagnóstico de FQ se basó en los hallazgos clínicos: la presencia o no de enfermedad pulmonar, manifestaciones gastrointestinales y en los resultados de la prueba de electrolitos en sudor por iontoforesis con pilocarpina (9), para la cual se toman como valores patológicos aquellos mayores de 60 mEq de Cloro/L. El ADN genómico se obtuvo a partir de los leucocitos aislados de una muestra de 300 μ L de sangre, utilizando un método de extracción salina de acuerdo a los lineamientos presentados por Kirby (10), los detalles de verificación de calidad y cantidad se realizaron de acuerdo al procedimiento descrito previamente por Martínez y col. (11).

El análisis de ADN se realizó de acuerdo al método de Friedman y col. (12) y para ello se amplificó una secuencia de 88 pb. ubicada en el exón 10 del gen CFTR, en la cual ocurre la delección de tres pares de

bases en los pacientes que presentan la mutación $\Delta F508$, para estos casos la secuencia que se amplifica tiene un tamaño de 85 pb. Uno de los oligonucleótidos utilizados está diseñado para crear un sitio de restricción reconocido por la enzima *Mbo* I, tanto en los individuos sanos como en aquellos pacientes donde la FQ es causada por una mutación diferente a la $\Delta F508$. Se incubaron 40 ng. de ADN en presencia de: Buffer Tris-HCl 10 mM pH 8,3; KCl 50 mM, dNTPs 200 μ M, MgCl₂ 2 mM, oligonucleótidos cebadores 0,4 μ M y 1,25 Unidades de Taq ADN Polimerasa en un volumen final de 50 μ L. La reacción de amplificación se llevó a cabo en un termociclador Perkin Elmer modelo 2400, durante 34 ciclos y cada uno de ellos comprendió 1 min. de desnaturalización a 94° C, 1 min. para la hibridación de los oligonucleótidos cebadores a 55° C, 1 min. de extensión a 72° C y una etapa de extensión final durante 3 min. a 72° C. El producto amplificado de 88/85 pb. fue incubado con la enzima *Mbo* I, de acuerdo a las instrucciones del fabricante y al final de la digestión se realizó una electroforesis en un gel de poliacrilamida al 8% , se reveló con tinción por nitrato de plata y luego se tomó la fotografía de los patrones de restricción observados.

RESULTADOS

En la figura 1 se muestra un ejemplo de los resultados relativos a los patrones de restricción observados en gel de poliacrilamida 8%, para un grupo integrado por dos sujetos controles y cinco pacientes. Cuando el sitio de restricción *Mbo* I está ausente, se observa un fragmento de 85 pb., esto ocurre en los pacientes que presentan la mutación $\Delta F508$ (Líneas 2, 4 y 8). La presencia del sitio de restricción en ambos cromosomas (+/+), produce dos fragmentos, el mayor tiene 65 pb. y el otro 23 pb. (Líneas 3 y 7), esta situación se presenta en los individuos sanos y en aquellos pacientes que aún padeciendo de FQ, no tienen la mutación $\Delta F508$; en los individuos heterocigotos para este sitio (+/-) se observan cuatro fragmentos: 88, 65, 23 pb. y otro que tiene un tamaño alrededor de 120 pb., el cual es un heteroduplex formado luego de la amplificación mediante PCR, entre un fragmento del ADN que tiene la mutación y el fragmento de ADN normal (Líneas 5 y 6).

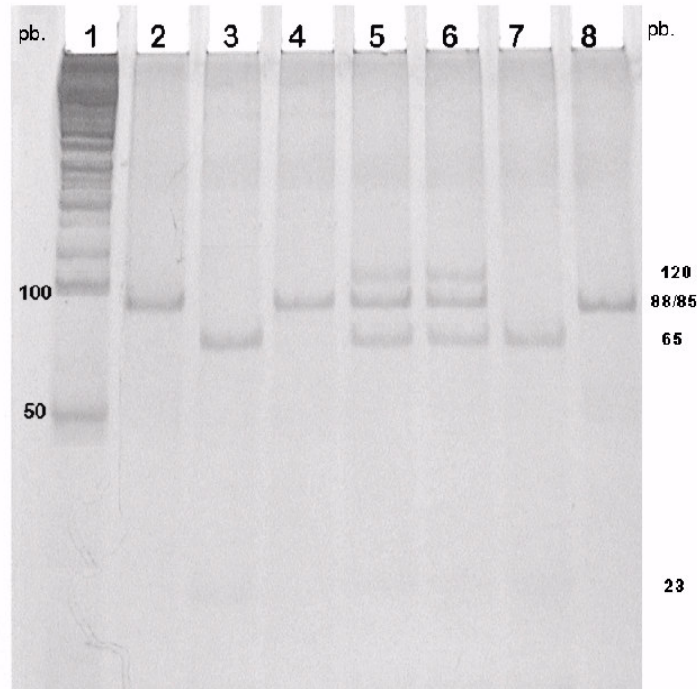


Figura 1. Electroforesis en gel de poliacrilamida 8%, donde se detecta la mutación $\Delta F508$ en un grupo de pacientes con diagnóstico clínico de FQ. Línea 1: Ladder de 50 pb; Línea 2: Sujeto control para la presencia de la mutación $\Delta F508$; Línea 3: Sujeto control para la ausencia de la mutación $\Delta F508$; Línea 4: Paciente homocigoto para la mutación $\Delta F508$ ($\Delta F508/\Delta F508$); Línea 5: Paciente heterocigoto compuesto ($\Delta F508/OTRA$); Línea 6: Paciente heterocigoto compuesto ($\Delta F508/OTRA$); Línea 7: Paciente homocigoto para otra mutación ($OTRA/OTRA$); Línea 8: Paciente homocigoto para la mutación $\Delta F508$ ($\Delta F508/\Delta F508$)

En la Tabla I se muestra un resumen del genotipo observado en cada uno de los Casos Índice. En el grupo A se incluyen aquellos, cuyos grupos familiares fueron analizados en este estudio y en el grupo B aún no se ha indagado la mutación $\Delta F508$ en las familias. Del total de pacientes analizados se identificaron cuatro homocigotos $\Delta F508/\Delta F508$ (33,3%), dos heterocigotos compuestos $\Delta F508/OTRA$ (16,7 %) y el grupo $OTRA/OTRA$ lo conforman seis casos (50%).

Tabla I. Genotipos de los Casos Índice con Fibrosis Quística

Casos Índice	Genotipos
Grupo A	
G. A	$\Delta F508/ \Delta F508$
M. Re.	$\Delta F508/ \Delta F508$
M. B.	$\Delta F508/ OTRA$
M.Ri.	$\Delta F508/ OTRA$
J. H.	OTRA/OTRA
W. H.	OTRA/OTRA
A.P.	OTRA/OTRA
Grupo B	
J.U.	$\Delta F508/ \Delta F508$
M.M.	$\Delta F508/ \Delta F508$
C.M.	OTRA/OTRA
B.V.	OTRA/OTRA
A.Z	OTRA/OTRA

En la Tabla II se presentan las manifestaciones clínicas generales de acuerdo al genotipo de los pacientes y se observa que aquellos con el genotipo $\Delta F508/\Delta F508$, presentaron insuficiencia pancreática sola o combinada con lesión pulmonar y en el grupo de pacientes con el genotipo OTRA/OTRA predomina la insuficiencia pancreática sola. La poliposis nasal estuvo ausente en los homocigotos $\Delta F508/\Delta F508$, al igual que la lesión pulmonar.

Tabla II. Manifestaciones clínicas generales según el genotipo de los Casos Índice

Genotipo / n	Manifestaciones Clínicas							
	Insuficiencia Pancreática		Lesión Pulmonar		Insuficiencia Pancreática + Lesión Pulmonar		Poliposis Nasal	
	(N)	%	(N)	%	(N)	%	(N)	%
$\Delta F508/\Delta F508$ (n= 04)	01	8,33	-	-	03	25,00	-	-
$\Delta F508/OTRA$ (n= 02)	-		-		01	8,33	01	8,33
$OTRA/OTRA$ (n= 06)	03	25,00	01	8,33	01	8,33	01	8,33
Total	12		04	33,33	05	41,67	02	16,67

En la Tabla III se muestra el genotipo de cada uno de los miembros de las cuatro familias en cuyos Casos Índice se detectó la mutación $\Delta F508$. Un total de doce individuos forman parte de los diferentes grupos familiares y siete de ellos son portadores de $\Delta F508$, esto constituye una frecuencia de 58,3 % para los portadores sanos.

Tabla III. Genotipos en los grupos familiares de los Casos Índice con la mutación $\Delta F508$

Familia	Genotipo
<u>N° 1</u> Padre Madre <u>Caso Índice</u> (Masculino 9 años) Hermana	$\Delta F508$ /Alelo normal $\Delta F508$ /Alelo normal $\Delta F508/\Delta F508$ Alelo normal /Alelo normal
<u>N° 2</u> Madre <u>Caso Índice</u> (Femenino 4 años) Hermana	$\Delta F508$ /Alelo normal $\Delta F508/\Delta F508$ $\Delta F508$ /Alelo normal
<u>N° 3</u> Padre Madre <u>Caso Índice</u> (Masculino 3 años) Hermana	Otra/Alelo normal $\Delta F508$ /Alelo normal $\Delta F508$ / OTRA Ambos cromosomas no presentan $\Delta F508$
<u>N° 4</u> Padre Madre <u>Caso Índice</u> (Femenino 11 años) Hermana Hermano	OTRA/Alelo normal $\Delta F508$ /Alelo normal $\Delta F508$ /OTRA $\Delta F508$ / Alelo normal Ambos cromosomas no presentan $\Delta F508$

De los 24 cromosomas analizados en los pacientes con FQ, 10 tienen la mutación $\Delta F508$, lo cual representa una frecuencia de 41,6%.

En la Tabla IV se compara la frecuencia de la mutación $\Delta F508$ determinada en este estudio, con otras reportadas previamente en Venezuela y en países de Latinoamérica.

Tabla IV. Frecuencia de la mutación $\Delta F508$ detectada en estudios llevados a cabo en Latinoamérica

Población	Número de cromosomas	Cromosomas $\Delta F508$	Frecuencia $\Delta F508$ (%)
Venezuela (Presente Estudio)	24	10	41,6
Venezuela (7)	82	41	50,0
Venezuela (8)	54	16	29,6
Argentina (6)	158	96	60,8
Argentina (13)	440	258	58,6
Brasil (14)	88	27	30,7
Colombia (8)	48	17	35,4
Chile (5)	72	21	29,2
Chile (15)	100	45	45,0
México (16)	194	79	40,7
México (8)	90	43	47,8
Uruguay (17)	104	42	40,3

DISCUSIÓN

En el presente estudio se determinó una frecuencia de 41,6% para la mutación $\Delta F508$, este valor es intermedio entre el encontrado en pacientes de Maracaibo Estado Zulia (29,6%) (8), y los publicados para los pacientes de Caracas, atendidos en el Hospital J. M. de los Ríos (50%) (7). La diferencia entre nuestros resultados y los datos publicados previamente para Venezuela, puede reflejar diferencias entre los focos de distribución de genes de FQ existentes en el país. Se ha planteado que la FQ tiene una distribución en focos en las regiones siguientes: 1. El Estado Sucre y Nueva Esparta; 2. Valencia y sus alrededores; 3. Boconó en Trujillo; 4. Guáchara, El Yagual y Atamaica en Apure; 5. Duaca, Cabudare y Barquisimeto en Lara; 6. La Grita en Táchira; 7. Tumeremo en Bolívar; 8. Los Teques y El Hatillo en Miranda;

9. El Sombrero en Guárico 10. Urumaco y El Pedregal en Falcón y 11. Villa de Cura en Aragua (18). Aunque la población venezolana es producto de un mestizaje entre españoles, africanos y amerindios; de una región a otra existen variaciones en relación al componente étnico que predomina en cada zona y esto también se puede expresar en diferencias en los focos de distribución de genes de FQ.

La procedencia geográfica de la mayoría de los abuelos en ambas ramas parentales de 7 de los pacientes incluidos en el presente trabajo, sugiere la existencia de un foco de distribución de genes de FQ, localizado entre la ciudad de Valencia (Estado Carabobo) y las poblaciones de Tacarigua (Estado Carabobo), Tinaco (Estado Cojedes), Aroa (Estado Yaracuy), y Tucacas (Estado Falcón), este planteamiento está de acuerdo con lo expresado por Rolo (18), al incluir a Valencia y sus alrededores como el segundo foco de distribución de genes de FQ en el país.

La variabilidad regional en cuanto a la frecuencia de la mutación $\Delta F508$ observada en Venezuela, también se ha encontrado en otros países suramericanos, como en Brasil, donde se reporta una frecuencia de 36,4% en Santa Catarina y 60% en Sao Paulo (19) y en el caso de Chile, en un trabajo realizado por Repetto y col.(15) en pacientes atendidos en varios Hospitales de Santiago de Chile, se observa una frecuencia de 45% para la mutación $\Delta F508$, mientras que en Valparaíso, esta mutación se presenta con una frecuencia de 32,4% (20). Evidentemente que la variabilidad observada debe estar en relación estrecha con la heterogeneidad étnica y la distribución focal de los genes de FQ.

De las seis familias estudiadas en este trabajo, en cuatro de ellas se encontró la mutación $\Delta F508$; los Casos Índice de la Familia N° 1 y la N° 2 han heredado el alelo mutado de cada uno de los progenitores en consecuencia tienen esta mutación en forma homocigota ($\Delta F508/\Delta F508$) (Tabla III). En las familias N° 3 y N° 4 los Casos Índice son heterocigotos compuestos ($\Delta F508/OTRA$) (Tabla III), donde el alelo $\Delta F508$ es heredado de la madre. Estos resultados a nivel de los familiares son importantes, porque permiten ofrecer un diagnóstico prenatal en eventuales embarazos, en aquellos casos donde ambos progenitores son portadores de $\Delta F508$; además se puede documentar el diagnóstico genotípico a los pacientes por ambas ramas en la familia extendida, a las cuales se les daría el asesoramiento genético, bien para disipar la angustia por la incertidumbre o completar la investigación en las parejas de los familiares que resulten portadores sanos de la $\Delta F508$. El mismo beneficio se puede describir para la rama parental de los Casos Índice portadores de la $\Delta F508$, cuando el afectado tiene el genotipo $\Delta F508/OTRA$. Únicamente en los familiares

de los pacientes con genotipo OTRA/OTRA no se puede dar el beneficio inmediato de esta investigación, hasta indagar otras mutaciones que también producen FQ y la eventual precisión de algunas de ellas.

En 3 pacientes del grupo B (Tabla I) y en los Casos Índice de las familias N° 5 y N° 6 no se encontró la mutación $\Delta F508$, no obstante la prueba de electrolitos en sudor tiene en todos ellos valores mayores de 60 mEq de Cloro/L y muestran una clínica inequívoca de FQ, esto indica que la enfermedad es debida a una mutación diferente a $\Delta F508$. Es posible que en el grupo de mutaciones diferentes a $\Delta F508$ se encuentre la mutación G542X, ya que ella es de origen español, además es la segunda más frecuente en España, donde se presenta con frecuencias variables de acuerdo a la localidad geográfica, por ejemplo en Aragón 4,6%, en Andalucía 9% y en Canarias 25% (3) y ya fue evidenciada en Venezuela, en un estudio llevado a cabo por Restrepo y col. (8) en 27 pacientes de Maracaibo; los autores utilizaron un kit que les permitió indagar 16 mutaciones y sólo determinaron la presencia de $\Delta F508$ (29,6%) y G542X, (3,7%). En otros países latinoamericanos, como México (16), Uruguay (17), Chile (19) y Argentina (13) también se ha detectado la mutación G542X, aunque en todos los casos está presente con frecuencias inferiores a 9%. Se debe pensar en una probabilidad alta de la existencia de mutaciones autóctonas, hecho que ya se ha evidenciado en otras poblaciones latinoamericanas, como es el caso de Argentina, donde se estudiaron 220 pacientes e identificaron cinco mutaciones nuevas: L6V, Y362X, 1353insT, 2594delG y 2686insT (13), por otra parte en México también se identificaron cinco mutaciones autóctonas: W1098C, 846delT, P750L, 4160insGGGG y 297-1G→A (16), ambos hallazgos indican la presencia de alelos no reportados para otras poblaciones, en las muestras analizadas. Actualmente estamos planificando estudios que posiblemente nos conducirán a la identificación de mutaciones autóctonas de FQ, presentes en pacientes de la Región Centro - Norte de Venezuela.

La muestra estudiada en este trabajo es pequeña y por ello los datos obtenidos no conducen a establecer una relación fenotipo-genotipo, no obstante resalta el hecho que aquellos pacientes con genotipo $\Delta F508/\Delta F508$, presentaron insuficiencia pancreática sola o combinada con lesión pulmonar y en el grupo de pacientes con el genotipo OTRA/OTRA predomina la insuficiencia pancreática sola (Tabla II), este hecho puede sugerir que en este grupo se encuentren mutaciones asociadas con expresiones fenotípicas de menor severidad.

Los resultados obtenidos en este trabajo son importantes porque corroboran mediante análisis de ADN, el diagnóstico de FQ en los pacientes que tienen la mutación $\Delta F508$ y también se identifica a los portadores de cada grupo familiar, ambos hallazgos permiten mejorar la calidad del asesoramiento genético que se da a los pacientes y a sus familias. Esta investigación aporta conocimiento acerca de la frecuencia de la mutación $\Delta F508$ en la zona Centro – Norte del país. Por otra parte, también se establecen las bases para la identificación de otras mutaciones causantes de FQ y para incorporar un mayor número de familias a este tipo de estudio, lo cual nos permitirá tener mayor información sobre la relación fenotipo–genotipo en esta enfermedad y su epidemiología molecular.

CONCLUSIONES

La indagación de la mutación $\Delta F508$ en seis familias que presentan al menos un Caso Índice de FQ y en cinco pacientes sin relación de parentesco, condujo a identificar cuatro pacientes homocigotos $\Delta F508/\Delta F508$ (33,3%), dos pacientes heterocigotos compuestos $\Delta F508/OTRA$ (16,7 %) y seis casos $OTRA/OTRA$ (50%). La mutación $\Delta F508$ presentó una frecuencia de 41,6% en los enfermos, mientras que en las familias de los Casos Índice que tienen la mutación $\Delta F508$ es de 58,3 %. La muestra analizada es muy pequeña para establecer una relación fenotipo-genotipo, no obstante se observa que los pacientes con genotipo $\Delta F508/\Delta F508$, padecen de insuficiencia pancreática sola o combinada con lesión pulmonar y en el grupo de pacientes con el genotipo $OTRA/OTRA$ predomina la insuficiencia pancreática sola.

Con base a la procedencia geográfica de la mayoría de los abuelos de 7 pacientes que participaron en esta investigación, se sugiere la existencia de un foco de distribución de genes de FQ, localizado entre la ciudad de Valencia (Estado Carabobo) y las poblaciones de Tacarigua (Estado Carabobo), Tinaco (Estado Cojedes), Aroa (Estado Yaracuy), y Tucacas (Estado Falcón).

Los resultados obtenidos son importantes para el asesoramiento genético de los pacientes y sus grupos familiares, además este trabajo constituye un punto de partida para determinar la presencia de otras mutaciones causantes de FQ.

Agradecimientos: Agradecemos a los pacientes y grupos familiares cuya participación hizo posible la realización del trabajo. Damos las gracias a la Br. Narviz Pulido por ayudarnos en la esterilización del material y al personal de Enfermería del Servicio de Neumonología Pediátrica de la Ciudad Hospitalaria "Dr. Enrique Tejera", por su participación en el proceso de toma de las muestras. A la

señora Miriam Hernández y a la Lic. Maruja Coriat por su colaboración en algunos aspectos administrativos del trabajo. Al Departamento de Idiomas de la Facultad de Ciencias de La Salud del Núcleo Aragua, por su colaboración en la preparación del abstract.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rolo, M. Arias, S. Importancia de la mucoviscidosis en la etiopatogenia de la diarrea y procesos respiratorios agudos a repetición y/o crónicos y desnutrición en niños venezolanos. Acta Científica Venezolana 1982; Vol **33** Suplemento 1: 209
2. Cystic Fibrosis Mutation Data Base Statistics. Disponible en: <http://www.genet.sickkids.on.ca/cftr/> (Gratis). This web site was last updated at June 15, 2004.
3. Casals, T. Nunes, V. Palacio, A. Giménez, J. Gaona, A. Ibáñez, N. Morral, N. Estivill, X. Cystic fibrosis in Spain: high frequency of mutation G542X in the Mediterranean coastal area. Hum. Genet. 1993; **91**: 66-70.
4. Chillon, M. Casals, T. Giménez, J. Ramos, D. Palacio, A. Morral, N. Estivill, X. Nunes, V. Analysis of the CFTR gene confirms the high genetic heterogeneity of the Spanish population: 43 mutations account for only 78% of CF chromosomes. Hum. Genet. 1994; **93**: 447-451.
5. Rios, J. Orellana, O. Aspillaga, M. Avendano, I. Largo, I. Riveros N. CFTR mutations in Chilean cystic fibrosis patients. Hum.Genet. 1994; **94**: 291-294.
6. Luna, M. Granados, P. Olek, K. Pivetta, O. Cystic fibrosis in Argentina: the frequency of the Δ F508 mutation. Hum .Genet. 1996; **97**: 314.
7. Alvarado, J. Acosta, L. Carrasquel, B. Lugo, Z. Fibrosis quística: Estudio de 41 pacientes. Hospital de Niños J.M. de los Ríos. Acta Otorrinolaringológica. 2000; Vol **12**. No 1.
8. Restrepo, C. Pineda, L. Rojas-Martínez, A. Gutiérrez, C. Morales, A. Gómez, Y. Villalobos, M. Borjas, L. Delgado, W. Myers, A. Barrera-Saldaña, H. CFTR Mutations in three latin american countries. Am. J. Med. Genet. 2000; **91**: 277-279.
9. Gibson, L.E. Cooke, R.E. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. Pediatrics. 1959; **23**: 545-549.
10. Kirby, L.(1992). **DNA Fingerprinting: an introduction**. W. H. Freeman and Company, New York. 51-74.
11. Martínez, J. Blanco, Z. Hakshaw, P. Moreno, N. Aplicación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en el diagnóstico de la anemia falciforme en Venezuela. Sangre. 1998; **43**: 63-66.

12. Friedman, K.J. Highsmith W. E. Prior, T.W. Perry, T.R. Silverman, L. M. Cystic fibrosis deletion mutation detected by PCR-mediated site-directed mutagenesis. *Clin. Chem.* 1990; **36**: 695-696.
13. Visich, A. Zielenski, J. Castaños, C. Diez, G. Grenoville, M. Segal, E. Barreiro, C. Tsui, L-C. Chertkoff, L. Complete screening of the CFTR gene in Argentine cystic fibrosis patients. *Clin. Genet.* 2002; **61**: 207-213.
14. Cabello, G. Moreira, A. Horovitz, D. Correia, P. Santa Rosa, A. Llerena, J. Greg, J. Grody W. Degrave, W. Fernandes, O. Cabello, P. Cystic fibrosis: low frequency of Δ F508 mutation in 2 population samples from Rio de Janeiro, Brazil. *Hum. Biol.* 1999; **71**: 189-196.
15. Repetto, G. Poggi, H. Harris, P. Navarro, H. Sánchez, I. Guiraldes, E. Pérez, A. Boza, L. Hunter, B. Wevar, E. Mediavilla, M. Foradori, A. Identificación de mutaciones en el gen CFTR en pacientes chilenos con Fibrosis Quística. *Rev. Med. Chil.* 2001; **129**: 841-847.
16. Orozco, L. Velásquez, R. Zielenski, J. Tsui, L-C. Chávez, M. Lezana, J. Saldaña, Y. Hernández, E. Carnevale, E. Spectrum of CFTR mutations in Mexican cystic fibrosis patients: identification of five novel mutations (W1098C, 846delT, P750L, 4160insGGGG and 297-1G→A). *Hum. Genet.* 2000; **106**: 360-365.
17. Luzardo, G. Aznarez, I. Crispino, B. Mimbacas, A. Martínez, L. Poggio, R. Zielenski, J. Tsui, L-C. Cardoso, H. Cystic fibrosis in Uruguay. *Genet. Mol. Res.* 2002; **1**: 32-38.
18. Rolo, M. Experiencia diagnóstica con electrolitos del sudor en homocigotos y heterocigotos de Fibrosis Quística, frecuencia y distribución de la enfermedad. *Avances en Genética.*, V Congreso Venezolano de Genética. 1994; 109-113
19. Raskin, S. Phillips, J. A. Krishnamani, M. R. S. Vnencak-Jones, C. Parker, R. A. Rozov, T. Cardieri, J. M. Marostica, P. Abreu, F. Giugliani, R. Reis, F. Rosario, N. A. Ludwig, N. Culpí, L. C. Cystic Fibrosis in the Brazilian population: Δ F508 mutation and KM-19/XV-2C haplotype distribution. *Hum. Biol.* 1997; **69**: 499-508.
20. Molina, G. González, F. Cave, R. Cornejo, M. Navarro, S. Deglin, M. Milinarsky, A. Carvalho, P. Estudio clínico-genético molecular de la fibrosis quística en la V Región, Chile. *Rev. Med. Chil.* 2002; **130**: 850-858.