

ORIGINAL

## High-resolution dissociation analysis for the molecular diagnosis of cystic fibrosis in Cuba

### Análisis de disociación de alta resolución para el diagnóstico molecular de fibrosis quística en Cuba

Teresa Collazo Mesa<sup>1</sup>  , Ixchel López Reyes<sup>1</sup> , Mery Estévez Miere<sup>1</sup> , Alejandro Esperón Álvarez<sup>1</sup> , Fidel Rodríguez Cala<sup>2</sup> 

<sup>1</sup>Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, Cuba.

<sup>2</sup>Hospital Clínico Quirúrgico Calixto García, La Habana Cuba.

**Citar como:** Collazo Mesa T, López Reyes I, Estévez Miere M, Esperón Álvarez A, Rodríguez Cala F. High-resolution dissociation analysis for the molecular diagnosis of cystic fibrosis in Cuba. Salud, Ciencia y Tecnología - Serie de Conferencias. 2025; 4:1757. <https://doi.org/10.56294/sctconf20251757>

Enviado: 10-07-2025

Revisado: 15-09-2025

Aceptado: 27-11-2025

Publicado: 28-11-2025

Editor: Dr. William Castillo-González 

Autor para la correspondencia: Teresa Collazo Mesa 

#### ABSTRACT

Cystic fibrosis is a common recessive disease in the Caucasian population. Mutations in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene can cause damage to the protein it encodes. Seven mutations are directly analyzed in Cuba, representing 55,5 % of the pathogenic allelic variants in cystic fibrosis patients. The high allelic heterogeneity of this gene and its varied phenotypic expression make it vitally important to detect a greater number of genetic variants that cause the disease. With this data, patients can receive better genetic counseling and personalized treatment that would improve their quality of life. It is therefore necessary to search for new variants to complete the diagnosis. The objective of this work was to identify new genetic variants in the CFTR gene and confirm the clinical diagnosis of Cystic Fibrosis. Twenty-one patients clinically diagnosed as cystic fibrosis by the National Medical Genetics Network or identified as positive through the Neonatal Screening Program were analyzed. Eleven real-time polymerase chain reaction assays were performed on the isolated DNA, followed by high-resolution dissociation curve analysis. The amplification of these eleven fragments covered the five exons of the gene with the highest number of described mutations and the adjacent intronic regions. Subsequently, the samples that showed changes in the curve pattern were sequenced. Five mutations were detected: one pathogenic, two of uncertain significance, one benign, and one with conflicting clinical significance. Point genetic variants were identified in four of the five exons analyzed. The real-time polymerase chain reaction - high resolution melting curve technique proved useful for searching for point mutations along the CFTR gene sequence, which, in combination with Sanger sequencing, will allow for the identification of new variants in the Cuban population.

**Keywords:** CFTR; Cystic Fibrosis; HRM; Sequencing.

#### RESUMEN

La fibrosis quística es una enfermedad recesiva frecuente en la población caucásica. Las mutaciones en el gen regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR) pueden provocar daños en la proteína que este codifica. En Cuba se analizan directamente siete mutaciones, lo que representan el 55,5 % de las variantes alélicas patogénicas en los pacientes fibroquísticos. La alta heterogeneidad alélica de este gen y su variada expresión fenotípica hacen que resulte de vital importancia la detección de una mayor cantidad de variantes genéticas que causen la enfermedad. Con estos datos los pacientes pueden recibir un mejor asesoramiento genético y obtener un tratamiento personalizado que mejoraría su calidad de vida.

Resulta necesario, por tanto, la búsqueda de nuevas variantes para completar el diagnóstico. El objetivo de este trabajo fue identificar nuevas variantes genéticas en el gen CFTR y confirmar el diagnóstico clínico de Fibrosis Quística. Se analizaron 21 pacientes diagnosticados clínicamente como fibroquísticos por la Red Nacional de Genética Médica o identificados como positivos a través del Programa de pesquisa neonatal. A partir del ADN aislado se realizaron once ensayos de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real seguidos del análisis de curvas de disociación de alta resolución. La amplificación de estos once fragmentos abarcó los cinco exones del gen con mayor cantidad de mutaciones descritas y las regiones intrónicas adyacentes a ellos. Posteriormente, las muestras que presentaron cambios en el patrón de la curva se secuenciaron. Fueron detectadas cinco mutaciones, de ellas: una patogénica, dos de significado incierto, una benigna y una con conflicto en su significación clínica. Se identificaron variantes genéticas puntuales en cuatro de los cinco exones analizados. La técnica de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real - curva de disociación de alta resolución demostró su utilidad para la búsqueda de mutaciones puntuales a lo largo de la secuencia del gen CFTR, que en combinación con la secuenciación Sanger permitirá identificar nuevas variantes en la población cubana.

**Palabras clave:** CFTR; Fibrosis Quística; HRM; Secuenciación; Variantes.

## INTRODUCCIÓN

La fibrosis quística (FQ) es una enfermedad autosómica recesiva frecuente en la población caucásica. Se presenta con una incidencia de aproximadamente 1/5 000 recién nacidos vivos y se estima que uno de cada 25 individuos es portador sano de una mutación.<sup>(1)</sup> En América Latina la incidencia de FQ sigue siendo difícil de estimar en la mayoría de los países. Lo cual se debe a la falta de registros y de programas de detección de FQ a recién nacidos, así como a la alta mezcla étnica de la población. Se plantea que la FQ afecta entre 1:1 600 y 1:14 000 RN en América Latina.<sup>(2)</sup> En Cuba al igual que en el resto de Latinoamérica se observa una gran heterogeneidad, como es de esperarse por el origen étnico de la población. Sin embargo, en 2015 se publicó un registro de todos los pacientes con diagnóstico conocido de FQ, con el cual ha podido estimarse una incidencia de aproximadamente 1 en 9 862.<sup>(3)</sup>

Es una enfermedad multisistémica y progresiva con expresividad muy variable. Este padecimiento es ocasionado por mutaciones en el gen regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR, por sus siglas en inglés), el cual codifica para una proteína transmembranal que participa en el transporte de cloro (Cl). La pérdida de su función causa un defecto en el transporte de electrólitos en la membrana apical de las células epiteliales alterando la función secretora en diferentes órganos y tejidos.<sup>(4)</sup> En Cuba se crea la Comisión Nacional de Fibrosis Quística (CCFQ), para entre otras funciones brindar la mejor atención al paciente y sus familiares.<sup>(5)</sup> A partir de los años 80 se inicia el diagnóstico molecular de la FQ en el laboratorio de biología molecular del Centro Nacional de Genética Médica (CNGM).<sup>(6)</sup>

Debido al gran número de mutaciones que existen de FQ y la variabilidad observada en la expresión fenotípica, los investigadores han intentado establecer relaciones genotipo-fenotipo. Ha sido posible predecir con alta fidelidad la gravedad del fenotipo a nivel de órganos a partir del genotipo con respecto al conducto sudoríparo, el páncreas y el sistema reproductivo. Lo anterior ha llevado a la noción de que tanto las interacciones ambientales-pulmonares como los antecedentes genéticos del individuo contribuyen sustancialmente a la gravedad de la enfermedad pulmonar con FQ.<sup>(7)</sup> Las manifestaciones clínicas de la FQ causadas por una combinación particular de mutaciones puede variar, quizás debido a los efectos de los modificadores genéticos.<sup>(8)</sup>

Esta enfermedad se diagnostica en muchos países mediante la pesquisa neonatal. Sin embargo, existen lugares en las que el diagnóstico se basa solamente en un grupo de manifestaciones clínicas, concentraciones elevadas de cloruro en el sudor o detección de mutaciones en el gen CFTR.<sup>(9)</sup>

En Cuba con el fin de detectar tempranamente la enfermedad se desarrolló la aplicación de la pesquisa neonatal a nivel nacional a partir del 2019, donde se mide la concentración de la enzima tripsina inmunoreactiva, en los recién nacidos. En la actualidad en el CNGM es posible detectar 7 mutaciones (F508del, G542X, R1162X, R553X, R334W, 3120+1G>A, G85E) mediante la realización de PCR alelo específico y PCR-RFLP (polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción). Estos estudios permiten detectar el 55,5 % de las variantes alélicas patogénicas en los pacientes fibroquísticos cubanos.<sup>(10)</sup> La alta heterogeneidad alélica de este gen y su variada expresión fenotípica hacen que resulte de vital importancia la detección de una mayor cantidad de variantes genéticas que causen la enfermedad. Con estos datos los pacientes pueden recibir un asesoramiento genético completo y obtener un tratamiento personalizado que mejoraría su calidad de vida. Es por ello, que en el laboratorio de biología molecular del CNGM, recientemente, se estandarizaron 11 ensayos de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real - curva de disociación de alta resolución (qPCR-HRM) para la búsqueda de mutaciones en las regiones codificantes del gen CFTR, así como en las regiones intrónicas adyacentes a

estas. Al disponer de estos ensayos se comenzó la búsqueda de variantes genéticas en el gen CFTR. El objetivo fue identificar nuevas variantes genéticas en el gen CFTR y confirmar el diagnóstico clínico de Fibrosis Quística.

## MÉTODO

El universo de estudio estuvo conformado por 21 pacientes cubanos atendidos por genetistas de la Red Nacional de Genética Médica y especialistas de la Comisión Nacional de Fibrosis Quística, durante el año 2019. La investigación fue aprobada por el Comité de ética del Centro Nacional de Genética Médica y el consentimiento informado fue obtenido de los pacientes y familiares que conformaron el estudio una vez explicado el objetivo del mismo y conociendo el carácter confidencial.

### Aislamiento de ADN, cuantificación y normalización

Para la extracción se partió de 2 ml de sangre periférica, a los que se le adicionó como anticoagulante, ácido etilendiaminotetracético (EDTA). El ADN genómico fue aislado y purificado por el método de perlas magnéticas en el equipo automatizado QIAAsymphony SP. Se eluyó en un volumen total de 200  $\mu$ L y se almacenó en el banco de ADN a -80 °C. Posteriormente, se cuantificaron las muestras utilizando un Nanodrop 1000 y se normalizaron a una concentración de 10 ng/ $\mu$ L.

A todas las muestras se les realizó un estudio previo de siete mutaciones del gen CFTR (F508del, G542X, R1162X, R553X, R334W, 3120+1G>A, G85E), por el método de amplificación refractaria de mutaciones específicas<sup>(11)</sup> y Reacción en cadena de la polimerasa y digestión enzimática.<sup>(12,13,14)</sup> Se seleccionaron para el análisis por PCR-HRM los exones: 4, 8, 11, 14 y 20 del gen CFTR, por ser los de mayor número de mutaciones descritas. El exón 14, de mayor tamaño, fue dividido en cuatro fragmentos. Los exones 4, 8 y 20 se fraccionaron en dos amplicones. Mientras que el exón 11 no fue dividido.

### qPCR-HRM

En la realización de los once ensayos de qPCR-HRM fueron utilizados los reactivos del estuche comercial Type-it HRM PCR. La mezcla de reacción se preparó en un volumen final de 25  $\mu$ L que contenía: 5  $\mu$ L de ADN molde, 12,5  $\mu$ L de Master Mix 2x HRM PCR, 0,5  $\mu$ L de cada iniciador a concentración final de 0,4 mM y agua libre de nucleasa para completar el volumen de la reacción. Se utilizó el termociclador en tiempo real Rotor- Gene Q con las condiciones de corrida siguientes: cinco minutos de desnaturación a 95 °C, posteriormente 40 ciclos a 95 °C por 10 segundos, 30 segundos a 58 °C y 10 segundos a 72 °C con adquisición en este paso de la señal fluorescente en el canal verde. Concluidos los ciclos se continúa con: 30 segundos a 95 °C, 30 segundos a 50 °C y por último una rampa desde 65 °C hasta 95 °C, con incrementos de temperatura de 0,1 °C y adquisición de la señal fluorescente en el canal HRM.

En el análisis de HRM se utilizó el programa informático del equipo, donde se establecieron las regiones de normalización para los once fragmentos amplificados. Las muestras que presentaron cambios en la Tm y/o en el patrón de la curva fueron seleccionadas para su posterior secuenciación.

### Secuenciación de ADN

El producto de PCR fue purificado con el estuche comercial QIAquick PCR Purification (Qiagen), para eliminar los oligonucleótidos y los desoxinucleótidos trifosfato (dNTPs) libres que interfieren en la técnica. En la secuenciación bidireccional por el método de Sanger se empleó el estuche comercial GenomeLab Dye Terminator Cycle Sequencing - Quick Start (BeckmanCoulter). La reacción de secuenciación de ADN se realizó en un volumen final de 20  $\mu$ L que contenían: 5  $\mu$ L del producto de PCR purificado, 8  $\mu$ L de DTCS - Quick Start Master Mix y 1  $\mu$ L del oligonucleótido (directo o reverso) a concentración final de 0,2 mM. El programa de amplificación utilizado fue el general recomendado por el fabricante: 30 ciclos de desnaturación a 96 °C por 20 segundos, hibridación a 50 °C por 20 segundos y polimerización a 60 °C por 4 minutos, con incubación final sostenida a 4 °C. El producto de la reacción de secuenciación fue purificado mediante precipitación con alcohol, de acuerdo con lo sugerido por el fabricante. La electroforesis de la reacción de secuenciación se ejecutó en el sistema de análisis genético GenomeLab GeXP (BeckmanCoulter).

### Análisis de las secuencias de ADN obtenidas

Los datos obtenidos fueron procesados con el módulo de Análisis de Secuencia del programa informático del equipo, Sistema de Análisis Genético GenomeLab (versión 11.0.24). Las secuencias fueron comparadas con la secuencia de referencia del gen CFTR humano (GenBank: NG\_016465.4). Se utilizaron las bases de datos: ClinVar (Genomic variation as it relates to human health), dbSNP (Short Genetic Variations), CFTR1, CFTR2 (The Clinical and Functional TRanslation of CFTR), CFTR-France Database y CYSMA (Cystic Fibrosis Missense Analysis Website).

## RESULTADOS

Los pacientes pertenecían a varias provincias, existe una representación del occidente, centro y oriente

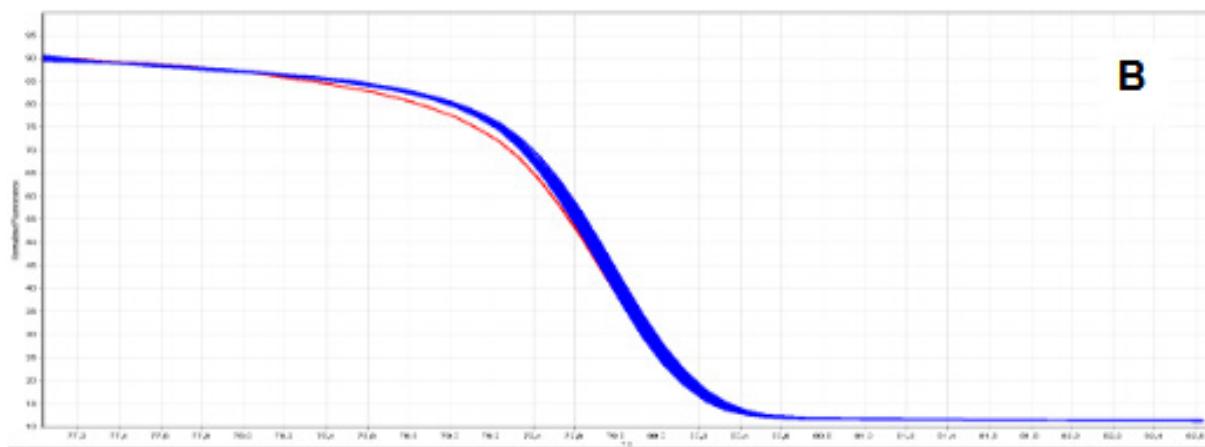
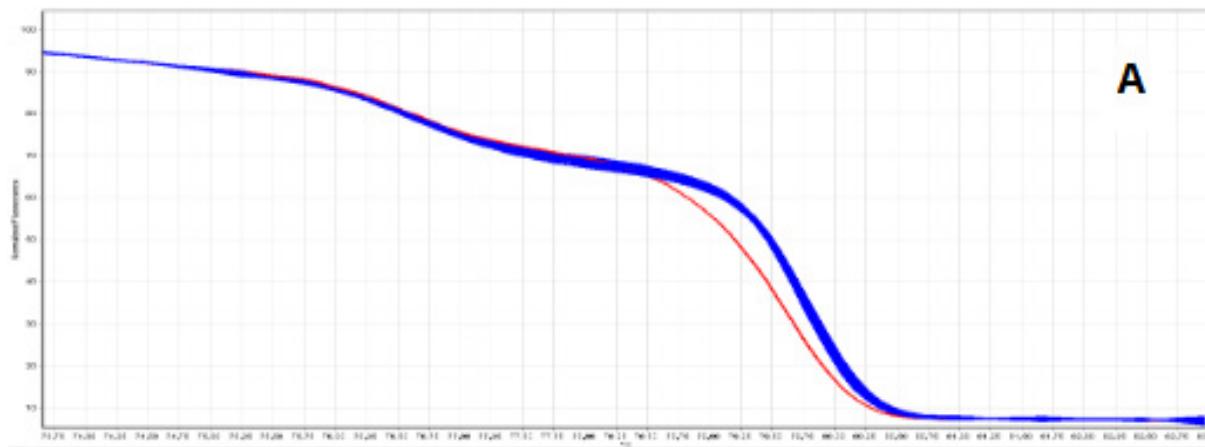
de la Isla. De ellos doce presentaron diagnóstico clínico de la enfermedad y nueve fueron positivos al cribado neonatal.

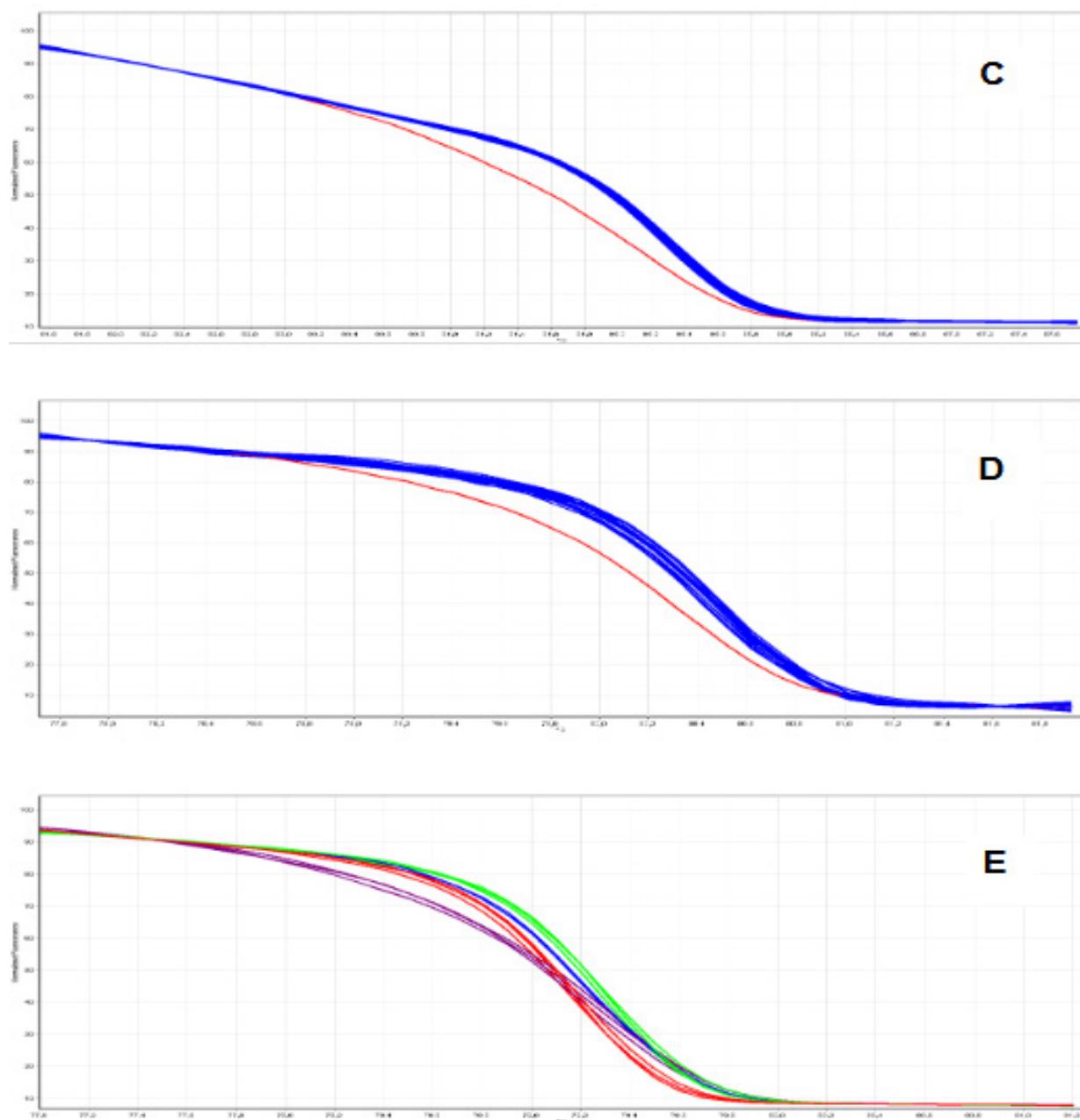
**Tabla 1. Cantidad de pacientes estudiados por provincia**

Provincia	Cantidad de pacientes
La Habana	2
Matanzas	3
Cienfuegos	1
Villa Clara	1
Las Tunas	4
Camagüey	3
Holguín	3
Santiago de Cuba	3
Guantánamo	1

El análisis de las mutaciones F508del, G542X, R1162X, R553X, R334W, 3120+1G>A, G85E) resultó que cinco de los casos estudiados resultaron heterocigóticos para la mutación F508del y uno presenta 3120+1G>A.

Se realizaron los once ensayos de qPCR-HRM para cada muestra. No se detectaron cambios en el patrón de las curvas en seis de los once fragmentos (4-1, 4-2, 8-2, 14-1, 14-4 y 20-2). En el análisis de los fragmentos: 8-1 (figura 1A), 14-2, 14-3 (figura 1 B y C) y 20-1 (figura 1D) se detectó, en cada caso, una muestra donde la forma de la curva y la Tm variaban con respecto al grupo analizado. En el fragmento correspondiente al exón 11 se encontraron las muestras agrupadas en cuatro patrones de curva diferentes (figura 1E). Uno de estos patrones coincidió con las cinco muestras heterocigóticas para F508del. De los otros tres patrones se seleccionó una muestra, de cada uno, para secuenciar e identificar la variante presente.





**Figura 1.** Curvas normalizadas. A: fragmento 8-1. B: fragmento 14-2. C: fragmento 14-3. D: fragmento 20-1. E: fragmento 11.

El análisis de la secuenciación de las siete muestras seleccionadas, a partir de los resultados obtenidos de los ensayos de qPCR-HRM, permitió identificar cinco variantes genéticas (tabla 2). Todas las variantes se encontraron en estado heterocigótico, con excepción de p.Val470Met donde se hallaron los tres genotipos posibles.

**Tabla 2.** Variantes genéticas encontradas

Variante genética	Cambio a nivel de proteína	Ubicación	Clasificación Clínica*
c.890G>A	p.Arg297Gln	Exón 8	Significado incierto
c.1408G>A	p.Val470Met	Exón 11	Benigna
c.2057C>A	p.Ser686Tyr	Exón 14	Significado incierto
c.2260A>G	p.Val754Met	Exón 14	Significado incierto / Probablemente benigna / Benigna
c.3197G>A	p.Arg1066His	Exón 20	Patogénica

**Nota:** \* Según la base de datos ClinVar

## DISCUSIÓN

La variante c.890G>A (p.Arg297Gln) se encuentra en el exón 8, provoca un cambio de guanina por una adenina. Esto ocasiona un cambio de arginina por ácido glutámico. Según la base de datos CYSMA, el residuo p.Arg297 pertenece al dominio 1 que atraviesa la membrana (MSD1), compuesto por seis hélices transmembrana (TM1- TM6). Esta no es una región muy conservada dentro del ADN, lo que puede ser indicativo de que no sea imprescindible para la correcta funcionalidad de la proteína. La sustitución de Q297 pudiera no cambiar la estructura tridimensional de la proteína ya que las estructuras 3D predicen que tanto R297 como Q297 conforman una hélice  $\alpha$ .<sup>(15)</sup> Los datos de CFTR1 afirman que esta variante no ocasiona la enfermedad. Se presenta en la población global, según datos de dbSNP, con una frecuencia de 0,1 %.<sup>(16)</sup> En el caso del paciente que presenta esta variante fue remitido por ser positivo a la pesquisa neonatal.

Según CFTR1,<sup>(16)</sup> Val470Met es una variante muy común presente en aproximadamente el 50 % de la población. Muchos individuos sanos de la población tienen dos copias de Val470Met. Estos hallazgos han permitido que esta variante sea clasificada como polimorfismo. Esta variante se encuentra en el exón 11, provoca un cambio de adenina por guanina. Esto ocasiona que se sustituya la valina por una metionina. Según la base de datos CYSMA, el residuo p.Val470 pertenece al dominio NBD1.<sup>(15)</sup> Esta región no se encuentra muy conservada en el ADN (CYSMA). Al combinar los resultados de la secuenciación con los del qPCR-HRM concluimos que nueve muestras de las analizadas son heterocigóticas y tres homocigóticas para este polimorfismo.

La variante c.2057C>A (p.Ser686Tyr) está ubicada en el exón 14, es provocada por un cambio de citosina por una adenina, lo que trae como consecuencia un cambio de serina por treonina. Según la base de datos CYSMA, esta alteración genética afecta el dominio regulador de la proteína CFTR. El residuo de serina (p.S686) es fosforilado por la proteína cinasa C (PKC) y juega un rol importante en la actividad de los canales cloruro. Es una región altamente conservada en la secuencia del ADN (CYSMA).<sup>(15)</sup> Esta variante está clasificada en ClinVar como de significado incierto. El alelo mutado presenta una frecuencia global de aproximadamente 0,01 %, según dbSNP. Según la base de datos CFTR1 se describió por primera vez en un hombre italiano con astenospermia.<sup>(16)</sup> En el presente estudio se encontró en una muestra de un paciente del género masculino de 10 meses de edad remitido por ser positivo a la pesquisa neonatal. En el futuro se deberían realizar estudios de fertilidad en este paciente cubano pues pudiera presentar la misma manifestación clínica y así, brindar un asesoramiento genético adecuado.

En el exón 14 se detectó la variante c.2260G>A (p.Val754Met), provocando un cambio de guanina por una adenina, lo que ocasiona un cambio de valina por metionina. Los estudios funcionales *in vivo*/*vitro* mostraron que la conductancia de Cl no se altera en los canales formados por la proteína CFTR- Val754Met, lo que sugiere que la variante no afecta la función del canal.<sup>(17)</sup> A pesar de ello, existen conflictos en la clasificación de su patogenicidad. En ClinVar, distintos investigadores la han registrado como: de significado incierto, probablemente benigna o benigna. Este conflicto puede deberse a que en el 20 % de los pacientes Val754Met forma un alelo complejo con otra variante patogénica. Su frecuencia mundial es de 0,02 %.<sup>(18)</sup> En México esta variante tiene una frecuencia de 0,5 %,<sup>(19)</sup> mientras que en Argelia es de 1,4 %.<sup>(20)</sup> En Cuba, según la investigación de Martínez en 2017, su frecuencia es de 1,9 %.<sup>(21)</sup> Esta mutación se encontró en una muestra correspondiente a un paciente del sexo femenino de 4 años de edad con diagnóstico clínico que además presenta la variante patogénica F508del. Es necesario realizar análisis de grandes reordenamientos en el gen CFTR para poder determinar si la paciente cubana presenta el alelo complejo que pudiera ser el causante de la sintomatología que posee.

La variante c.3197G>A (p.Arg1066His) se encuentra ubicada en el exón 20, provoca un cambio de guanina por adenina lo que ocasiona una variación en el aminoácido codificado, arginina por histidina. La base de datos CFTR1 plantea que esta mutación provoca la enfermedad, esto pudiera deberse a que la región afectada está 100 % conservada en los ortólogos del gen.<sup>(22)</sup> Según la base de datos CYSMA, el residuo p.Arg1066 pertenece al dominio MSD2 y forma un puente salino con E474 (MSD1), al encontrarse afectado, este puente no va a poderse establecer.<sup>(15)</sup> Según dbSNP presenta una frecuencia a nivel global de 0,006 %. Se ha determinado según CFTR2, que las combinaciones de medicamentos tezacaftor e ivacaftor (Symdeko o Symkevi) y elexacaftor, tezacaftor e ivacaftor (Trikafta o Kaftrio) son efectivas en el tratamiento de los pacientes con esta variante.<sup>(18)</sup> En el caso del paciente que presenta esta variante fue remitido por ser positivo a la pesquisa neonatal.

Se identificaron variantes genéticas puntuales en cuatro de los cinco exones analizados, de ellas una patogénica. La técnica de qPCR-HRM demostró su utilidad para la búsqueda de mutaciones puntuales a lo largo de la secuencia del gen CFTR. En combinación con la secuenciación Sanger permitirá identificar nuevas variantes en la población cubana. Es necesario que se continúe el análisis de los exones restantes para concluir el estudio de los pacientes e incorporar el análisis de grandes reordenamientos del gen CFTR mediante otras técnicas de Biología Molecular.

Los datos moleculares de Latinoamérica señalan, por un lado, una menor incidencia de FQ en estas poblaciones y por otro, una alta heterogeneidad como resultado de la mezcla de etnias muy diversas.

A la fuente de variabilidad genética que es el gen CFTR, se añadirá también la acción de genes modificadores, principalmente genes moduladores de la respuesta inmune por su importancia a nivel de

infecciones y respuesta inflamatoria en las vías respiratorias, la principal afección que compromete la vida de estos pacientes,<sup>(15)</sup> los factores medioambientales y la efectividad de los tratamientos médicos. La interacción entre este grupo de factores, dificulta aún más el diagnóstico y pronóstico de la FQ, es importante en este punto señalar, que el criterio médico es la razón de peso determinante ante la decisión de diagnosticar y tratar a un paciente.

Los estudios realizados en los pacientes fibroquísticos cubanos demuestran la alta heterogeneidad de nuestra población. La población argentina, al igual que las del sur de Europa, mostró ser altamente heterogénea para las mutaciones del gen *CFTR*. El estudio de F508del y 9 de las mutaciones reportadas como las más frecuentes, permitió detectar el 67 % de los alelos mutado,<sup>(23)</sup> en consecuencia, en sólo el 51 % de los pacientes se identificaron ambos alelos mutados (genotipo completo). En resumen, los reportes copilados de diferentes poblaciones demuestran que hay fuertes diferencias en la distribución de las mutaciones *CFTR* en las diferentes poblaciones, la detección de las 24 mutaciones más comunes varía desde 50 % a 97 %.<sup>(24)</sup>

## CONCLUSIONES

Se identificaron variantes genéticas puntuales en cuatro de los cinco exones analizados, de ellas una patogénica. La técnica de qPCR-HRM demostró su utilidad para la búsqueda de mutaciones puntuales a lo largo de la secuencia del gen *CFTR*. En combinación con la secuenciación Sanger permitirá identificar nuevas variantes en la población cubana.

## Limitaciones de esta investigación

Fueron estudiados solo los cinco exones del gen con mayor cantidad de mutaciones descritas y las regiones intrónicas adyacentes a ellos.

## REFERENCIAS

1. Cystic Fibrosis; CF. Baltimore (MD): Johns Hopkins University; 1995 [actualizado 2004 Aug 23]. Disponible en: <http://omim.org/entry/219700>
2. Silva Filho LVR, Castaños C, Ruiz HH. Cystic fibrosis in Latin America—Improving the awareness. *J Cyst Fibros.* 2016;15(6):791-3. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2016.05.007> (PubMed)
3. Sánchez Infante C, Razón Behar R, Ramos Carpenter LT, Barreiro Paredes B, Reyes López C, Cantillo Gámez H, et al. Fibrosis quística en niños y su seguimiento durante 40 años (1977-2017). *Rev Cubana Pediatr.* 2019;91(3):e882. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75312019000300005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75312019000300005) (SciELO)
4. Bell SC, Mall MA, Gutierrez H, Macek M Jr, Madge S, Davies JC, et al. The future of cystic fibrosis care: a global perspective. *Lancet Respir Med.* 2020;8(1):65-124. [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(19\)30337-6](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(19)30337-6) (journal.chestnet.org)
5. Santana Hernández EE, Tamayo Chang VJ, Collazo Mesa T, López Reyes I, Feria Estrada F, Cala F. Caracterización clínica y genética de la fibrosis quística en la provincia de Holguín. *Rev Cubana Pediatr.* 2017;89(2):136-44.
6. Collazo T, López I, Clark Y, Piloto Y, González L, Gómez M, et al. Antenatal testing for cystic fibrosis in Cuba, 1988-2011. *MEDICC Rev.* 2014;16(3-4):18-21. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.37757/MR2014.V16.N3-4.5> (SciELO)
7. Rueda-Nieto S, Mondejar-Lopez P, Mira-Escolano MP, Cutillas-Tolín A, Maceda-Roldán LA, Arense-Gonzalo JJ, et al. Analysis of the genotypic profile and its relationship with the clinical manifestations in people with cystic fibrosis: study from a rare disease registry. *Orphanet J Rare Dis.* 2022;17(1):222. <http://dx.doi.org/10.1186/s13023-022-02373-y>
8. Farinha CM, Gentzsch M. Revisiting CFTR interactions: old partners and new players. *Int J Mol Sci.* 2021;22(24):13196. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms222413196>
9. Heching M, Shtenberg M, Golan-Tripto I, Livnat-Levanon G, Yaacoby-Bianu K, Boehm Cohen L, et al. Treatment effects of elexacaftor/tezacaftor/ivacaftor on people with cystic fibrosis heterozygous for 3849+10kbC>T and a class I variant. *J Cyst Fibros.* 2025;24(3):548-51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcf.2024.11.010>
10. Collazo Mesa T. Fibrosis quística: mutaciones más frecuentes en la población mundial. *Rev*

Cubana Invest Bioméd. 2008;27(2):1-10. Disponible en: [https://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002008000200004](https://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002008000200004) (SciELO)

11. Newton CR, Graham A, Heptinstall LE, Powell SJ, Summers C, Kalsheker N, et al. Analysis of any point mutation in DNA: the amplification refractory mutation system (ARMS). *Nucleic Acids Res.* 1989;17(7):2503-16. <https://doi.org/10.1093/nar/17.7.2503> (PubMed)
12. Gasparini P, Borgo G, Mastella G, Bonizzato A, Dognini M, Pignatti PF. Nine cystic fibrosis patients homozygous for the CFTR nonsense mutation R1162X have mild or moderate lung disease. *J Med Genet.* 1992;29(8):558-62. <https://doi.org/10.1136/jmg.29.8.558> (PMC)
13. Cutting GR, Kasch LM, Rosenstein BJ, Zielenski J, Tsui LC, Antonarakis SE, et al. A cluster of cystic fibrosis mutations in the first nucleotide-binding fold of the cystic fibrosis conductance regulator protein. *Nature.* 1990;346(6282):366-9. <https://doi.org/10.1038/346366a0> (PubMed)
14. 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(1):214-28. [http://dx.doi.org/10.1016/0888-7543\(91\)90503-7](http://dx.doi.org/10.1016/0888-7543(91)90503-7) (ScienceDirect)
15. Cystic Fibrosis Missense Analysis Website (CYSMA). Montpellier: Molecular Genetics Laboratory, University Hospital; [s. f.]. Disponible en: <https://cysma.chu-montpellier.fr/cysma/>
16. Phan L, Zhang H, Wang Q, Villamarín R, Hefferon T, Ramanathan A, et al. The evolution of dbSNP: 25 years of impact in genomic research. *Nucleic Acids Res.* 2025;53(D1):D925-31. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae977> (PubMed)
17. Sosnay PR, Siklosi KR, Van Goor F, Kaniecki K, Yu H, Sharma N, et al. Defining the disease liability of variants in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Nat Genet.* 2013;45(10):1160-7. <http://dx.doi.org/10.1038/ng.2745>
18. The Clinical and Functional TRanslation of CFTR (CFTR2). Bethesda (MD): US Cystic Fibrosis Foundation; 2011-. Disponible en: <https://cftr2.org/> (PMC)
19. Bobadilla JL, Macek M Jr, Fine JP, Farrell PM. Cystic fibrosis: a worldwide analysis of CFTR mutations—correlation with incidence data and application to screening. *Hum Mutat.* 2002;19(6):575-606. <https://doi.org/10.1002/humu.10041> (Wiley Online Library)
20. Loumi O, Ferec C, Mercier B, Creff J, Fercot B, Denine R, et al. CFTR mutations in the Algerian population. *J Cyst Fibros.* 2008;7(1):54-9. <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2007.04.004> (PubMed)
21. Martínez J. Detección de las mutaciones G85E y V754M en pacientes cubanos con diagnóstico clínico de fibrosis quística [tesis]. La Habana: Universidad de La Habana; 2017.
22. Cystic Fibrosis Mutation Database (CFTR1). Toronto: Cystic Fibrosis Centre, Hospital for Sick Children; 1989-. Disponible en: <https://www.genet.sickkids.on.ca/> (genet.sickkids.on.ca)
23. Orozco L, Chávez M, Saldaña Y, Velázquez R, Carnevale A, González-del Ángel A, et al. Cystic fibrosis: molecular update and clinical implications. *Rev Invest Clin.* 2006;58(2):139-52. (Medigraphic)
24. Sánchez KY, de Mendonca E. Diagnóstico molecular de fibrosis quística en Venezuela. *Med Interna (Caracas).* 2017;33(1):35-41. Disponible en: [https://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev\\_svmi/article/view/19048](https://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_svmi/article/view/19048) (saber.ucv.ve)

## FINANCIACIÓN

Ninguna.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

### CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

*Conceptualización:* Teresa Collazo Mesa, Ixchel López Reyes.

*Curación de datos:* Teresa Collazo Mesa; Ixchel López Reyes.

*Ánalisis formal:* Teresa Collazo Mesa, Ixchel López Reyes.

*Investigación:* Teresa Collazo Mesa, Ixchel López Reyes, Mercy Estévez Miere, Alejandro Esperón Álvarez, Fidel Rodríguez Cala.

*Metodología:* Teresa Collazo Mesa; Ixchel López Reyes, Mercy Estévez Miere, Alejandro Esperón Álvarez.

*Administración del proyecto:* Teresa Collazo Mesa.

*Supervisión:* Teresa Collazo Mesa, Ixchel López Reyes.

*Validación:* Teresa Collazo Mesa, Ixchel López Reyes, Mercy Estévez Miere y Alejandro Esperón Álvarez.

*Visualización:* Teresa Collazo Mesa, Ixchel López Reyes y Mercy Estévez Miere.

*Redacción del borrador original:* Teresa Collazo Mesa.

*Redacción revisión y edición:* Teresa Collazo Mesa, Ixchel López Reyes.