

**PATOLOGIA MOLECULAR DEL GEN *CFTR*:  
FIBROSI QUÍSTICA I FENOTIPS RELACIONATS**

**TESI DOCTORAL**

**Teresa Casals Senent**

**Desembre de 2003**

**PATOLOGIA MOLECULAR DEL GEN *CFTR*:  
FIBROSI QUÍSTICA I FENOTIPS RELACIONATS**

Memòria presentada per

**Teresa Casals Senent**

per optar al grau de

**Doctora per la Universitat de Barcelona**

Tesi realitzada sota la direcció del Dr. Xavier Estivill Pallejà  
al Centre de Genètica Mèdica i Molecular de l'Institut de Recerca Oncològica  
Hospital Duran i Reynals, Barcelona

Tesi adscrita al Departament de Biologia Cel·lular i Anatomia Patològica,  
Facultat de Medicina, Universitat de Barcelona  
Programa de Neurociències (Bienni 2000-2002)  
Tutor: Dr. Carles Solsona Sancho

Xavier Estivill

Carles Solsona

Teresa Casals

Barcelona, Desembre de 2003

# ÍNDIX

---

<b>Abreviatures</b>	1
<b>Glossari</b>	3
<b>1. Introducció</b>	5
• Breu història	7
• Prevalença de la fibrosi quística	9
• Mecanismes patològics de la fibrosi quística	12
Malaltia pulmonar	12
Insuficiència pancreàtica i afectació gastrointestinal	16
Infertilitat masculina i fibrosi quística	18
Afectació de glàndules sudorípares	19
• Identificació i estructura del gen <i>CFTR</i>	21
Mutacions al gen <i>CFTR</i>	23
• La proteïna CFTR	26
Classes de mutacions al gen <i>CFTR</i>	29
Funcions del canal CFTR	30
• Diagnòstic molecular de la fibrosi quística	32
Detecció de portadors	33
Diagnòstic prenatal	34
• Correlació genotip-fenotip	35
• Altres fenotips relacionats amb el gen <i>CFTR</i>	39
<b>2. Objectius</b>	43
<b>3. Resultats</b>	47
• Caracterització molecular de la fibrosi quística a la població espanyola	51
Cystic fibrosis in the basque country: high frequency of mutation $\Delta F508$ in patients of basque origin	53
Cystic fibrosis in Spain: high frequency of mutation G542X	

in the mediterranean coastal area	61
Prenatal diagnosis of cystic fibrosis in a highly heterogeneous Population	67
High heterogeneity for cystic fibrosis in Spanish families: 75 mutations account for 90% of chromosomes	75
Paternal origin of a <i>de novo</i> novel <i>CFTR</i> mutation (L1065R) causing cystic fibrosis	81
• Estudi de la correlació genotip-fenotip	85
Missense Mutation R1066C in the Second Transmembrane Domain of <i>CFTR</i> Causes a Severe Cystic Fibrosis Phenotype: Study of 19 Heterozygous and 2 Homozygous Patients	87
• Anàlisi mutacional del gen <i>CFTR</i> en agenèsia bilateral de conductes deferents, bronquiectàsies i pancreatitis crònica	93
Heterogeneity for mutations in the <i>CFTR</i> gene and clinical correlations in patients with congenital absence of vas deferens	95
Different <i>CFTR</i> mutational spectrum in alcoholic and idiopathic chronic pancreatitis?	103
Bronchiectasis in adult patients: an expression of heterozygosity for <i>CFTR</i> gene mutations?	125
• Addenda	143
<b>4. Discussió</b>	153
<b>5. Conclusions</b>	171
<b>6. Apèndix: Pacients i metodologia</b>	175
<b>7. Bibliografia</b>	183

## ABREVIATURES

---

ABCD	Agenèsia bilateral de conductes deferents
ABPA	Aspergil·losi broncopulmonar al·lèrgica
AMPc	Monofosfat d'adenosina cíclic
BQ	Bronquiectàsies
CaCC	Canal de calci dependent de clorur
CpG	Veure illes HTF
DGGE	Electroforesi en gels de gradient desnaturalitzant
ENaC	Canal epitelial de sodi sensible a l'amiloride
IVS	Intró, regió del gen que es transcriu, però és eliminada en el procés de maduració del RNAm
Mb, kb, pb	Megabase, kilobase, parell de bases
MS	Domini de la proteïna CFTR localitzat a la membrana cel·lular
NB	Domini de la proteïna CFTR que s'uneix a l'ATP
ORCC	Canal de clorur regulat per CFTR
PC	Pancreatitis crònica
PCR	Reacció en cadena de la polimerasa
PKA/PKC	Proteïna quinasa dependent d'AMPc
R	Domini de la proteïna CFTR amb els punts de fosforilació
RSC	Rinosinusitis crònica
SSCP/HD	Anàlisi de la conformació polimòrfica de la cadena senzilla i heteroduplex

## GLOSSARI

---

Al·lel	Diferents formes d'un gen o <i>locus</i> que es segreguen a la meiosi
<i>Cis</i>	Indica dos <i>loci</i> localitzats al mateix gen
Haplotip	Combinació d'al·lels en <i>loci</i> propers que es transmeten en bloc
Illes HTF	Seqüències riques en dinucleòtids CpG que es troben en posició 5' dels gens
<i>Locus</i>	Posició d'un gen o una seqüència en el cromosoma
Microsatèl·lits	Repeticions de 2-3 nucleòtids en tàndem
PDZ	Domini PSD-95/Discs-large/ZO-1. Proteïnes amb dominis PDZ interaccionen amb l'extrem COOH- de CFTR
Recombinació	Intercanvi de material genètic entre cromosomes homòlegs
<i>Splicing</i>	Procés de maduració del RNAm en el qual s'eliminen els introns
<i>Trans</i>	Indica dos <i>loci</i> localitzats en diferents gens
Walker A i B	Seqüències molt conservades que es troben a proteïnes amb dominis d'unió a ATP i GTP. La lisina del Walker A interacciona amb l'ATP durant la seva hidròlisi. L'aspartat del Walker B interacciona amb Mg <sup>2+</sup> necessari per l'hidròlisi de l'ATP
Xaperona	Proteïna que intervé en la biosíntesi d'altre, necessària per adquirir la conformació funcional

## AGRAÏMENTS

---

Quan una tesi es presenta després d'un llarg recorregut, hi ha el perill de que els agraïments tot i ser extensos deixin algun oblit al descobert. No voldria ferir ningú, però crec que el que ha perdurat en el temps es el que ha valgut la pena.

Començaré pel meu director, Xavier Estivill, al que vaig conèixer quan érem més joves. Ell em va explicar la fibrosi quística amb l'entusiasme que sempre posa en tot allò que fa. Li agraeixo que sempre hagi confiat en el meu treball i també el seu suport i temps des del CRG.

Gràcies a Carles Solsona, company de biologia, al que recordo sempre per rebel·lar-se contra la injustícia i al que he retrobat tan oportunament per assumir la tasca de tutor i fer-me fàcil l'etapa prèvia. Del Departament també gràcies a Jordi Alberch pel seu suport.

Del CGMM gràcies a Javier Giménez i Loli Ramos. per la seva tasca al grup FQ. Tots tres hem treballat colze a colze molts anys i les hem passat de tot color. Destriable el seu interès, dedicació i l'ordre imprescindible del que han fet senyera, una contribució bàsica per la formació d'un sòlid grup de diagnòstic. També gràcies als primers becaris, Núria Morral, Miguel Chillón i Ana Palacio per deixar-nos les eines bàsiques.

Gràcies als companys, Josep Arán per les petites hores d'aquest llarg estiu, per ser reflex de les coses importants de la vida. I gràcies a Eva, Nerea i Bego pel temps compartit i el reforç mutu.

Des que vam iniciar l'estudi genètic de la FQ vam comptar amb el suport de les famílies. D'aleshores ençà, sempre han estat al nostre costat, recolzant la nostra feina. Els hi agraeixo la seva força i ajut permanent.

Als amics per les bones estones que hem passat plegats, per fer-me costat en aquesta decisió a deshora i per ajudar-me a relativitzar les coses. Molt especialment, a

Conxi Lázaro, per animar-me a donar aquest pas i per fer curt el trajecte Boston - BCN. A Maite i Enri, les amigues de tota la vida, sempre a prop malgrat la distància. A Ana Ravella per tenir cura de la meva salut física i psíquica i a Conxi i Agustín per la seva paciència. A Montse i Oscar del Taulí per fer-me una més del grup. A Lluís Bassas pel seu bon humor i disposició i a Consol per trobar sempre un forat en l'agenda de Xavier. També a Emma i Guillermo que m'han ajudat amb la il·lustració de la portada.

Al pares, gràcies per haver-me donat, en el seu moment, l'oportunitat de sortir i estudiar. En altres circumstàncies, ben segur, hagués estat diferent. A Lluís i Mini, els germans que van passar de la sorpresa a l'entusiasme, que hem van sapiguer entendre i animar. I a Judit i Gabi per creure que era possible.

A Joan, el company de llarg recorregut, a ell i als nostres fills, Ignasi i Lluís, per haver entès que aquest era un pas ineludible i per posar al mal temps bona cara.



*Tota la meva vida es lliga a tu,  
com en la nit les flames a la fosca.*

*B. Rosselló-Pòrcel*

*Als meus homes,  
**Joan, Ignasi i Lluís***

*Quan érem innocents,  
vivíem en una casa encimbellada de merlets,  
una casa màgica,*

*... ..*

*Quan érem innocents,  
tot teixint i desteixint somnis,  
trenàrem el destí amb brins de seda*

*M. Carol*

***Als meus Pares***