



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



ESTUDIO DE LA FUNCIÓN DE LOS CILIOS MEDIANTE IMAGEN DIGITAL DE ALTA VELOCIDAD. COMPARACIÓN CON LA ULTRAESTRUCTURA CILIAR EN LA DISCINESIA CILIAR PRIMARIA

Tesis Doctoral
Sandra Rovira Amigo
2020

Director: Antonio Moreno Galdó
Programa de Doctorado en Pediatría, Obstetricia y Ginecología

DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA, DE OBSTETRICIA, GINECOLOGÍA, Y DE
MEDICINA PREVENTIVA Y SALUD PÚBLICA



FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE PEDIATRÍA, DE OBSTETRICIA, GINECOLOGÍA,
Y DE MEDICINA PREVENTIVA Y SALUD PÚBLICA

**ESTUDIO DE LA FUNCIÓN DE LOS CILIOS
MEDIANTE IMAGEN DIGITAL DE ALTA VELOCIDAD.
COMPARACIÓN CON LA ULTRAESTRUCTURA
CILAR EN LA DISINESIA CILIAR PRIMARIA**

Tesis doctoral

Sandra Rovira Amigo

Director de tesis

Antonio Moreno Galdó

Barcelona, Septiembre 2020

Facultad de Medicina

Departamento de Pediatría, de Obstetricia, Ginecología, y de Medicina

Preventiva y Salud Pública

Dr. Antonio Moreno Galdó, Profesor Agregado de Pediatría de la *Universitat Autònoma de Barcelona*. Jefe de Servicio de Pediatría y Jefe de Sección de la Unidad de Alergología, Neumología Pediátrica y Fibrosis Quística, *Hospital Universitari Vall d'Hebron*, Barcelona.

Certifica:

Que **Sandra Rovira Amigo** ha realizado bajo mi dirección la Tesis Doctoral titulada **“Estudio de la función de los cilios mediante imagen digital de alta velocidad. Comparación con la ultraestructura ciliar en la discinesia ciliar primaria”**, que reúne los requisitos para ser defendida ante el tribunal oportuno para la obtención del grado de Doctora por la *Universitat Autònoma de Barcelona*.

Y para que así conste, firmo el presente documento.

Barcelona, a 21 de Septiembre de 2020.



Antonio Moreno Galdó

Agradecimientos

A mis padres y mi hermana por animarme y darme la confianza para que intente sacar adelante todo aquello que me proponga. Gracias Marta por el fabuloso diseño de la portada.

A Jordi por estar siempre allí y comprender el esfuerzo y dedicación de lo que este trabajo ha implicado. Sin tu ayuda no hubiera sido posible.

A Arnau y Biel por aceptar mis ausencias durante todo este tiempo, y a pesar de ello regalarme sonrisas, abrazos y besos todos los días.

A mi director, Antonio, por confiar en mi y ofrecerme este estudio con todo lo positivo que ha conllevado luego en mi vida profesional. Por facilitarme de todas las maneras posibles su realización. Tu ayuda en su elaboración no tiene precio.

A todos mis compañeros de Neumología Pediátrica y del Grupo de Crecimiento y Desarrollo del VHIR por su comprensión y ánimos durante todo este tiempo.



ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

ATS: *American Thoracic Society*

CBF: *Ciliary beat frequency* (Frecuencia de batido ciliar)

DCP: Discinesia ciliar primaria

DS: Desviación estándar

ERS: *European Respiratory Society*

FEV₁: Volumen espiratorio forzado en el primer segundo

FQ: Fibrosis quística

FVC: Capacidad vital forzada

GC: Glucocorticoides

GLI: *Global Lung Function Initiative*

HSVA: *High-speed video microscopy analysis* (Microscopía óptica de alta velocidad)

Hz: Hercio

IC95%: Intervalo de confianza del 95%

IMC: Índice masa corporal

LCI: Índice de aclaramiento pulmonar

ME: Microscopía electrónica

MMEF: Flujo máximo espiratorio medio

nNO: *Nasal nitric oxide* (Óxido nítrico nasal)

OMA: Otitis media aguda

ONE: Óxido nítrico exhalado

ONN: Óxido nítrico nasal

ORL: Otorrinolaringología

PEP: Presión espiratoria positiva

ppb: Partes por billón

REF: Referencia

RM: Resonancia magnética

RN: Recién nacido

ROC: *Receiver Operating Characteristic*

TAC: Tomografía axial computarizada

TACAR: Tomografía axial computarizada de alta resolución

TEM: *Transmission electron microscopy* (Microscopía electrónica)

VPN: Valor predictivo negativo

VPP: Valor predictivo positivo

RESUMEN

Introducción

La discinesia ciliar primaria (DCP) es una enfermedad rara (1:15.000 recién nacidos) caracterizada por una alteración en la estructura y función ciliar que impide el correcto aclaramiento de las secreciones respiratorias. Sus manifestaciones clínicas incluyen tos productiva, rinitis crónica, otitis de repetición, bronquitis recurrentes, bronquiectasias, infertilidad masculina, subfertilidad femenina y *situs inversus* (50%) o heterotaxia (6-12%). El diagnóstico se basaba inicialmente en la detección de las alteraciones estructurales mediante la microscopía electrónica. Se han desarrollado nuevos métodos diagnósticos que contribuyen a facilitar su diagnóstico, aunque éste sigue siendo difícil de realizar.

Objetivos

Valorar la utilidad diagnóstica del estudio de motilidad ciliar comparado con el estudio de la ultraestructura ciliar con microscopía electrónica. Establecer valores de normalidad del estudio de motilidad ciliar. Describir las características de un grupo de pacientes afectados de discinesia ciliar primaria. Valorar la utilidad de las pruebas de despistaje de esta enfermedad: cuestionario de síntomas PICADAR y óxido nítrico nasal en este grupo de pacientes y en una muestra ampliada.

Métodos

Selección de una muestra de población normal para establecer valores de referencia del estudio de motilidad ciliar.

Realización del estudio de motilidad ciliar en una muestra de pacientes con sospecha de discinesia ciliar estudiados previamente mediante microscopía electrónica y comparación de ambas técnicas.

Valorar la utilidad como pruebas de despistaje del cuestionario de síntomas PICADAR y del óxido nítrico nasal en esta muestra de pacientes y en una muestra ampliada.

Resultados

Los valores de normalidad del estudio de motilidad ciliar fueron: frecuencia del batido 9,94 Hz (8,56-11,32), índice de discinesia 12,10% (2,54-21,66) e índice de inmovilidad 0,13% (0-1,51).

Las características clínicas más importantes que definieron al grupo de pacientes con discinesia ciliar primaria fueron: padecer distrés respiratorio neonatal y presentar tos y rinorrea desde el primer día de vida. La mayoría de los pacientes con *situs inversus* estaban en este grupo. También presentaban más frecuencia de tos continua productiva, rinorrea persistente, mayor porcentaje de sordera y de sensación de oídos tapados que el resto de los grupos.

En el grupo de pacientes estudiados con microscopía electrónica su sensibilidad y especificidad fue del 90,9% y 48,3% y la del estudio de motilidad ciliar del 100% y 80%. En este grupo, la sensibilidad y especificidad del cuestionario PICADAR fue del 90,9% y 86,7% (con un punto de corte > 4 puntos), y la del óxido nítrico nasal del 80% y 100% (con un punto de corte en ≤ 220 ppb o $\leq 72,5$ nL/min).

En la muestra ampliada de pacientes, la sensibilidad y especificidad del estudio de motilidad ciliar fue del 100% y 82,8%, la del cuestionario PICADAR del 92,9% y 71,7% (con un punto de corte > 3 puntos) y la de la medida del óxido nítrico nasal del 91,9% y 97,5% (con un punto de corte en ≤ 248 ppb o $\leq 87,9$ nL/min).

Conclusiones

El estudio de la motilidad ciliar (frecuencia y patrón de batido) mediante videomicroscopía óptica tuvo una mejor sensibilidad y sobretodo una mejor especificidad que el estudio de la ultraestructura con microscopía electrónica para el diagnóstico de discinesia ciliar primaria. La escala predictiva PICADAR y la determinación de óxido nítrico nasal son buenas pruebas de despistaje de la discinesia ciliar primaria, lo que se ha confirmado tanto en la muestra inicial como en la muestra ampliada de pacientes.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Marco histórico	1
1.2. Estructura ciliar.....	2
1.3. Epidemiología.....	5
1.4. Sintomatología	6
1.5. Diagnóstico.....	11
1.5.1. Prueba de sacarina.....	11
1.5.2. Prueba de aclaramiento mucociliar con radioaerosol.....	12
1.5.3. Óxido nítrico nasal	12
1.5.4. Videomicroscopía óptica de alta velocidad.....	13
1.5.5. Cultivo de células del epitelio respiratorio	17
1.5.6. Microscopía electrónica	18
1.5.7. Inmunofluorescencia.....	19
1.5.8. Estudio genético	19
1.5.9. Algoritmos diagnósticos.....	22
1.6. Tratamiento	25
1.6.1. Medidas generales	26
1.6.2. Fisioterapia respiratoria y ejercicio físico.....	27
1.6.3. Fármacos para mejorar el aclaramiento mucociliar	27
1.6.4. Otros tratamientos	28
1.6.5. Antibióticos	28
1.6.6. Tratamientos de soporte respiratorio y quirúrgico	30
1.6.7. Tratamiento de las complicaciones otorrinolaringológicas	30

1.6.8. Manejo de los aspectos reproductivos	31
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	35
2.1. Hipótesis.....	35
2.2. Objetivos	35
2.2.1. Objetivo principal	35
2.2.2. Objetivos secundarios	35
3. MÉTODOS	39
3.1. Tipo de estudio	39
3.2. Estudio 1. Valores de normalidad de motilidad ciliar con videomicroscopía óptica de alta velocidad (muestra 1)	39
3.2.1. Población	40
3.2.1.1. Criterios de inclusión y exclusión	40
3.2.1.2. Tamaño muestral y procedimiento del muestreo	41
3.2.2. Variables y recogida de datos	41
3.3. Estudio 2. Comparación de la utilidad diagnóstica del microscopio electrónico con el estudio de motilidad ciliar (muestra 2)	41
3.3.1. Criterios de inclusión y exclusión.....	42
3.3.2. Tamaño muestral.....	42
3.3.3. Diseño.....	43
3.3.4. Variables y recogida de datos	45
3.3.4.1. Historia clínica y exploración física	45
3.3.4.2. Datos radiológicos.....	45
3.3.4.3. Exploración funcional respiratoria	46
3.3.4.4. Determinación del óxido nítrico nasal y exhalado.....	46
3.3.4.5. Cultivo de esputo o frotis faríngeo	46

3.3.4.6. Estudio de microscopio electrónico.....	47
3.4. Estudio 3. Utilidad como pruebas de despistaje de las escalas de síntomas (cuestionario PICADAR) y óxido nítrico nasal (muestra 2)	47
3.5. Estudio 4. Comprobación de la utilidad diagnóstica de la motilidad ciliar, y de la utilidad como pruebas de despistaje de las escalas de síntomas (cuestionario PICADAR) y óxido nítrico nasal en una muestra ampliada de pacientes (muestra 3).....	47
3.6. Aspectos éticos	48
3.7. Realización de la biopsia por cepillado de la mucosa nasal	48
3.8. Estudio de la motilidad ciliar mediante videomicroscopía óptica de alta velocidad. Análisis de la frecuencia y patrón de batido ciliar	50
3.9. Análisis de los datos.....	54
4. RESULTADOS	59
4.1. Valores de normalidad de motilidad ciliar con videomicroscopía óptica de alta velocidad	59
4.2. Comparación de la utilidad diagnóstica del microscopio electrónico con el estudio de la motilidad ciliar	61
4.2.1. Descripción de la muestra. Características clínicas generales y antecedentes	62
4.2.2. Descripción de la muestra. Síntomas clínicos y escala PICADAR.....	62
4.2.3. Descripción de la muestra. Tratamientos recibidos.....	64
4.2.4. Descripción de la muestra. Exploración física	64
4.2.5. Descripción de la muestra. Pruebas analíticas y radiológicas.....	65
4.2.6. Descripción de la muestra. Estudios microbiológicos.....	66
4.2.7. Descripción de la muestra. Función pulmonar	66

4.2.8. Determinación de óxido nítrico exhalado y nasal	67
4.2.9. Estudio de motilidad ciliar	67
4.2.10. Catalogación diagnóstica de los pacientes.....	69
4.2.11. Características clínicas de los pacientes según la catalogación diagnóstica.....	70
4.2.11.1. Características demográficas y antropométricas	70
4.2.11.2. Características clínicas presentes al nacimiento	71
4.2.11.3. Características clínicas relacionadas con la discinesia ciliar primaria.....	72
4.2.11.4. Función pulmonar	73
4.2.11.5. Características radiológicas y microbiológicas	74
4.2.11.6. Pruebas de cribado de la discinesia ciliar primaria	75
4.2.11.7. Pruebas diagnósticas de discinesia ciliar primaria. Microscopio electrónico y estudio de motilidad	76
4.2.12. Análisis de la sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnósticas.....	78
4.2.12.1. Análisis de la sensibilidad y especificidad del estudio con microscopio electrónico.....	78
4.2.12.2. Análisis de la sensibilidad y especificidad del estudio de motilidad ciliar.....	79
4.3. Validación del estudio de motilidad ciliar en una muestra más amplia	80
4.4. Utilidad como pruebas de despistaje de las escalas de síntomas (cuestionario PICADAR) y el óxido nítrico nasal en la muestra original de pacientes y validación en una muestra más amplia	81

4.4.1. Utilidad de la escala PICADAR para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra original de pacientes	81
4.4.2. Utilidad de la escala PICADAR para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra ampliada de pacientes	83
4.4.3. Utilidad del óxido nítrico nasal para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra original de pacientes	85
4.4.4. Utilidad del óxido nítrico nasal para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra ampliada de pacientes	88
5. DISCUSIÓN	97
5.1. Técnica de estudio de la motilidad ciliar.....	97
5.2. Determinación de valores de normalidad del estudio de la motilidad ciliar con videomicroscopía óptica de alta velocidad.....	98
5.3. Características clínicas de la muestra global de estudio	100
5.4. Características diferenciales de los pacientes catalogados de discinesia ciliar... ..	102
5.4.1. Datos antropométricos.....	105
5.4.2. Función pulmonar	106
5.4.3. Resultados del estudio microbiológico	107
5.5. Valor como prueba de despistaje del cuestionario PICADAR.....	107
5.6. Valor como prueba de despistaje del óxido nítrico nasal	109
5.7. Utilidad diagnóstica del estudio con microscopio electrónico	113
5.8. Utilidad diagnóstica del estudio de motilidad ciliar	117
5.9. Valoración conjunta de los resultados obtenidos	120
6. CONCLUSIONES	125
7. BIBLIOGRAFÍA	129

8. ANEXOS	145
8.1. ANEXO 1: Formulario de recogida de datos (estudio pacientes sanos).....	147
8.2. ANEXO 2: Formulario de recogida de datos (estudio muestra original de pacientes).....	151
8.3. ANEXO 3: Informe del comité ético (estudio pacientes sanos).....	157
8.4. ANEXO 4: Informe del comité ético (estudio muestra original de pacientes).....	161
8.5. ANEXO 5: Informe del comité ético (estudio muestra ampliada de pacientes).....	165

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema de la estructura de un cilio motor.....	5
Figura 2. Porcentaje de cultivos positivos a <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Moraxella catarrhalis</i> y <i>Achromobacter xylosoxidans</i> en pacientes con DCP acorde a diferentes grupos de edad.....	9
Figura 3. Diferentes planos de visión del movimiento ciliar	15
Figura 4. Patrones de batido ciliar	17
Figura 5. Algoritmo diagnóstico ERS 2017	23
Figura 6. Algoritmo diagnóstico ATS 2018.....	23
Figura 7. Esquema del desarrollo del estudio 2.....	44
Figura 8. Cepillo de 2 mm de diámetro para cepillado mucosa nasal	49
Figura 9. Tubos de medio de cultivo para preservación de la muestra de epitelio respiratorio para su análisis de motilidad ciliar	50
Figura 10. Porta con 2 cubres en los extremos y muestra de medio con células ciliadas en la parte central para posteriormente cubrirlo con otro cubre de mayor longitud y analizar la motilidad ciliar	51
Figura 11. Microscopio óptico conectado a videocámara digital de alta velocidad a su vez conectada a ordenador para visualizar y grabar la motilidad ciliar. El microscopio óptico tiene una pletina con control de temperatura.....	52
Figura 12. Visión de epitelio respiratorio ciliado con visión lateral a través de videocámara digital de alta velocidad	53
Figura 13. Visión de epitelio respiratorio ciliado con visión desde arriba a través de videocámara digital de alta velocidad	53

Figura 14. Curva ROC de la utilidad de la escala PICADAR para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra original de pacientes	83
Figura 15. Curva ROC de la utilidad de la escala PICADAR para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra ampliada de pacientes	85
Figura 16. Curva ROC de la utilidad del óxido nítrico nasal expresado como concentración (ppb) para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra original de pacientes	87
Figura 17. Curva ROC de la utilidad del óxido nítrico nasal expresado como flujo (nL/min) para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra original de pacientes.....	88
Figura 18. Curva ROC de la utilidad del óxido nítrico nasal expresado como concentración (ppb) para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra ampliada de pacientes	91
Figura 19. Curva ROC de la utilidad del óxido nítrico nasal expresado como flujo (nL/min) para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra ampliada de pacientes.....	93

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Escala predictiva PICADAR	8
Tabla 2. Correlación entre la afectación genética y las alteraciones en la motilidad y microscopía electrónica	20
Tabla 3. Recomendaciones en el seguimiento de la discinesia ciliar primaria.....	26
Tabla 4. Valores de motilidad ciliar en la muestra de pacientes sanos.....	60
Tabla 5. Características demográficas y antropométricas en los diferentes grupos de pacientes.....	70
Tabla 6. Características clínicas presentes al nacimiento relacionadas con la discinesia ciliar primaria en los diferentes grupos de pacientes	71
Tabla 7. Características clínicas relacionadas con la discinesia ciliar primaria en los diferentes grupos de pacientes.....	73
Tabla 8. Función pulmonar en los diferentes grupos de pacientes	74
Tabla 9. Resultados de las pruebas de cribado relacionadas con la discinesia ciliar primaria en los diferentes grupos de pacientes	76
Tabla 10. Resultados de las pruebas diagnósticas relacionadas con la discinesia ciliar primaria en los diferentes grupos de pacientes.....	77
Tabla 11. Resultados del estudio de microscopía electrónica en relación con la catalogación diagnóstica de los pacientes.....	78
Tabla 12. Resultados del estudio de motilidad ciliar en relación con la catalogación diagnóstica de los pacientes.....	79
Tabla 13. Comparación de la sensibilidad y especificidad del estudio con microscopía electrónica y de la motilidad ciliar para el diagnóstico de discinesia ciliar primaria	80

Tabla 14. Resultados del estudio de motilidad ciliar en relación con la catalogación diagnóstica en la muestra ampliada de pacientes	81
Tabla 15. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de las diferentes puntuaciones de la escala PICADAR para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra original de pacientes	82
Tabla 16. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de las diferentes puntuaciones de la escala PICADAR para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra ampliada de pacientes	84
Tabla 17. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo del óxido nítrico nasal expresado como partes por billón (ppb) para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra original de pacientes	86
Tabla 18. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo del óxido nítrico nasal expresado como flujo (nL/min) para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra original de pacientes	87
Tabla 19. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo del óxido nítrico nasal expresado como partes por billón (ppb) para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra ampliada de pacientes	90
Tabla 20. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo del óxido nítrico nasal expresado como flujo (nL/min) para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra ampliada de pacientes	92

INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

La discinesia ciliar primaria (DCP) es una enfermedad respiratoria minoritaria caracterizada por la alteración del aclaramiento mucociliar causada por un defecto estructural ciliar que repercute en su función.

Se trata de una enfermedad genética con una herencia autosómica recesiva en la mayoría de los casos, aunque también se han descrito casos de transmisión ligada al cromosoma X (en el gen *RPGR* que es el gen responsable de la retinitis pigmentaria en el 20% de los casos, el gen *OFD1* asociado a varias ciliopatías como el síndrome orofaciodigital, síndrome de Joubert, síndrome de Simpson-Golabi-Behemel y el gen *PIH1D3*) (1). Genéticamente es una enfermedad heterogénea, ya que puede estar causada por mutaciones en diferentes genes.

1.1. Marco histórico

En 1933 Kartagener definió la tríada de *situs inversus*, sinusitis y bronquiectasias. Pero no fue hasta finales de los años 70, cuando Afzelius y Eliason describieron el “síndrome de cilios inmóviles” al observar defectos estructurales y del aclaramiento mucociliar en las células ciliadas de pacientes como los descritos previamente por Kartagener, los cuales presentaban infecciones sinusales y bronquiales recurrentes e infertilidad en el caso de los hombres (2,3). Posteriormente, en los años 80, las alteraciones ultraestructurales halladas se correlacionaron con la alteración de la frecuencia y patrón de movimiento de las células ciliadas, alteraciones genéticas y

clínicas, renombrándose este síndrome como “síndrome de discinesia ciliar” o “discinesia ciliar primaria” (4,5).

1.2. Estructura ciliar

Las células ciliadas son la evolución de unas organelas cuya estructura y función se han conservado a lo largo de los años en cuanto a su espectro filogenético. De acuerdo con su ultraestructura y su capacidad de movimiento, pueden clasificarse en cilios inmóviles o primarios y cilios móviles o motores.

Los primeros no tienen función motora, sino que son sensores de información. Se encuentran en los órganos de la visión, oído interno y olfato. También se han encontrado en células epiteliales tubulares renales. Los cilios motores se encuentran en las superficies epiteliales de las células del tracto respiratorio superior e inferior, en los plexos coroideos y en las células endoteliales de los ventrículos cerebrales, en la médula espinal y en los órganos reproductores tanto masculinos como femeninos (conductos eferentes, espermático y trompas de Falopio) (6).

En el epitelio pseudoestratificado respiratorio encontramos células ciliadas, caliciformes y en la submucosa, glándulas mucosas.

Los cilios móviles son proyecciones membranosas cilíndricas de la parte apical de las células epiteliales ciliadas, ancladas a un cuerpo basal. Cada cilio está compuesto por unas 250 proteínas. Tienen un diámetro de 0,2-0,3 μm y 5-7 μm de longitud. Una célula epitelial ciliada tiene en torno a 50-200 cilios en su superficie (7).

Su ultraestructura tiene diferentes regiones: cuerpo basal, zona de transición que une la base del cilio a la superficie celular, seguida de una zona de microtúbulos dispuestos en dobletes con forma de axonema 9+2 y finalmente una estructura de microtúbulos que no forman dobletes (Figura 1).

El axonema es la parte estructural más importante del cilio. Contiene 9 pares periféricos de dobletes de microtúbulos de tubulina y 2 centrales. Los dobletes periféricos se denominan microtúbulo-A (tienen una forma circular completa y están compuestos de 13 protofilamentos) y microtúbulo-B (no tienen una forma circular completa y están compuestos por 11 protofilamentos fusionados al microtúbulo-A). Los microtúbulos están formados a partir de heterodímeros de α y β tubulina. El par central está compuesto por los microtúbulos-C1 y -C2 y otras estructuras asociadas (quinasas, fosfatasas, complejos de calmodulina). Los brazos radiales son fundamentales para el control normal de la motilidad, unen el par central con los pares periféricos. Los brazos de dineína se ven como proyecciones del microtúbulo-A de los dobletes periféricos y según su localización se llaman brazos externos de dineína o brazos internos. Los brazos externos de dineína son homogéneos en cuanto a composición y estructura, mientras que los internos son más complejos y están formados por al menos siete isoformas diferentes de dineína. Los externos tienen su función en el control de la velocidad del batido y los internos contribuyen en la generación de la fuerza del batido junto a los brazos radiales y el complejo del par central, con lo que se controla la amplitud del batido, es decir el patrón de batido (8). Otra parte fundamental para regular la actividad motora del cilio es el complejo regulador de dineína, que recientemente se ha relacionado con los puentes de nexina, sugiriendo que estos últimos forman parte de dicho complejo (nexina-complejo regulador de dineína). Esta estructura está íntimamente relacionada con los brazos externos e internos de dineína, los brazos radiales y el par central, para dar pie al correcto movimiento del batido ciliar (9).

En el cuerpo basal están anclados los microtúbulos conectándolos así a la célula. Éste está compuesto por tres triplete de microtúbulos A, B y C. En la zona de

transición se convierten estos tripletes microtubulares del cuerpo basal a la estructura de dobletes 9+2 del axonema (8).

La parte más distal del cilio está formada por microtúbulos-A y el par central, desapareciendo los microtúbulos-B. Esta zona es más o menos larga según el tipo de célula (8).

La función de los cilios en el aparato respiratorio es realizar un batido coordinado con una frecuencia y patrón correctos para el aclaramiento de las secreciones y eliminación de los detritus de la vía aérea.

Los cilios móviles con estructura "9+2" tienen un batido sincrónico ondulatorio hacia delante con una recuperación hacia atrás posterior. La dirección del batido depende de la orientación de los microtúbulos. Los cilios baten en el líquido periciliar que está en contacto directo con la superficie epitelial, con una frecuencia aproximada entre 8 y 20 Hz en condiciones normales, desplazando la mucosidad de la vía aérea. El batido ciliar se origina cuando la adenosina trifosfatasa (ATPasa) actúa sobre las cadenas pesadas de dineína generándose un desplazamiento longitudinal del microtúbulo que produce la ola ciliar. La regulación del batido ciliar es muy compleja y no del todo comprendida pero también se han descrito algunos mecanismos reguladores como el calcio intracelular, la adenosina monofosfato ciclasa y el óxido nítrico (10).

Las causas descritas de disfunción ciliar son básicamente genéticas (DCP) o adquiridas (infecciones víricas o bacterianas del tracto respiratorio, procesos inflamatorios como poliposis o alergia, irritantes como el humo del tabaco) (11).

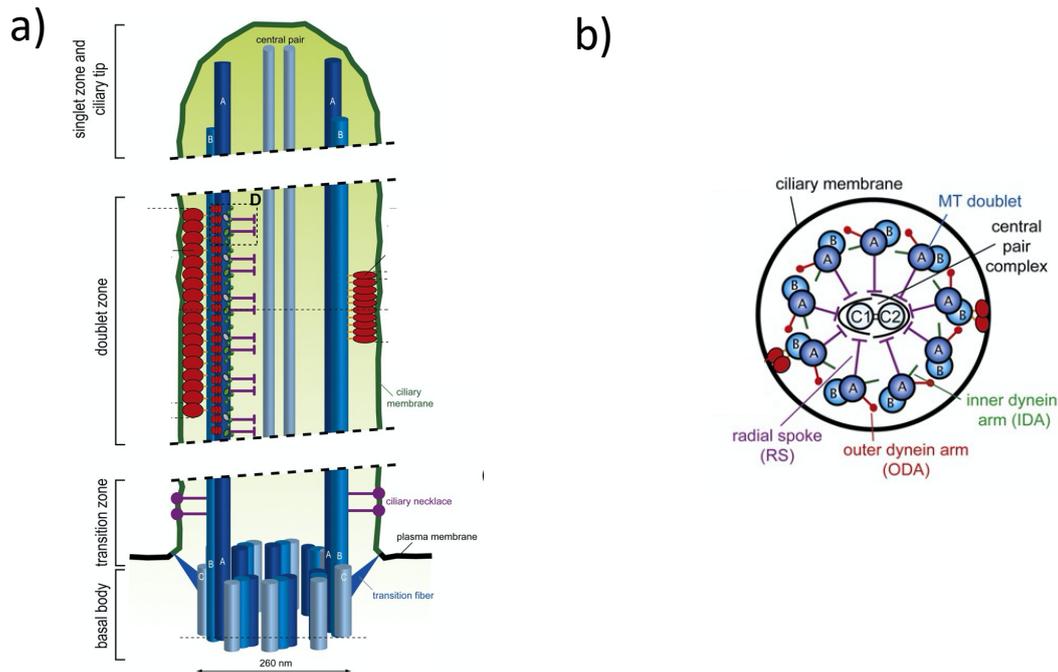


Figura 1. Esquema de la estructura de un cilio motor (8). **a)** Corte longitudinal: representación de las diferentes regiones y estructura (cuerpo basal, zona de transición, axonema central y zona distal). **b)** Corte transversal de la parte del axonema con estructura “9+2”: representación de los diferentes componentes (membrana cilial, doblete de microtúbulos periféricos, complejo de dobletes del par central, brazo radial, brazo externo e interno de dineína)

1.3. Epidemiología

En el año 2010, Kuehni et al., estimaron que la prevalencia de DCP en Europa se encuentra entre 1:10.000-20.000 recién nacidos a través de un estudio realizado mediante cuestionarios repartidos en los diferentes centros donde se realiza el diagnóstico de esta enfermedad (12). Además, en este estudio se estableció que la media de edad al diagnóstico era de 5,3 años (5 años en el oeste de Europa, 4,8 años en las Islas Británicas, 5,5 años en el norte de Europa, 6,5 años en Europa del Este y 6,5 años en el sur de Europa), siendo menor con una edad de 3,5 años en caso de que se asociara a *situs inversus*. El 51% de las personas afectas de discinesia ciliar primaria tienen *situs inversus* y el 25% cardiopatía congénita y/o otros defectos de lateralidad (13).

1.4. Sintomatología

Aunque el diagnóstico suele realizarse durante la primera infancia, los síntomas pueden estar ya presentes durante el periodo neonatal en forma de distrés respiratorio y atelectasias. En un estudio realizado en recién nacidos a término con DCP y distrés neonatal, se encontró que los pacientes afectados de esta enfermedad requerían más días de oxigenoterapia (15,2 días *versus* 0,80 días en los pacientes control), el distrés respiratorio aparecía de manera más tardía (12 horas *versus* 1 hora) y había mayor frecuencia de colapso lobar y *situs inversus* (70% *versus* 0% y 48% *versus* 0%). De esta manera el estudio estableció que el hecho de tener *situs inversus*, colapso lobar o necesidades de oxígeno sin causa explicable más allá de 2 días, tiene una sensibilidad del 87% y una especificidad del 96% para la DCP (14). Otros hallazgos que pueden asociarse y detectarse durante el periodo prenatal o neonatal son la ventriculomegalia cerebral (1 de cada 40 casos de DCP) y cardiopatías congénitas asociadas en muchas ocasiones a defectos de lateralidad o heterotaxia (6% de los casos) (15).

Durante los primeros días de vida puede aparecer rinorrea que será ya persistente. Durante la infancia son frecuentes los síntomas de tos crónica productiva asociada o no a neumonías y/o atelectasias, clínica similar a asma con mala respuesta al tratamiento, hallazgo de bronquiectasias de causa no filiada, rinosinusitis crónica a pesar de recibir múltiples tratamientos y otitis medias supuradas prolongadas. Los adultos presentan los mismos síntomas que los niños y además suelen mostrar mayor incidencia de pólipos nasales, infertilidad masculina (90%) por inmovilidad de los espermatozoides y subfertilidad femenina con mayor riesgo de embarazo ectópico (15,16). En una revisión sistemática y metaanálisis realizado en población pediátrica y adulta, se encontró una heterogenicidad considerable al valorar la

prevalencia de los síntomas clásicos de DCP (rango I² 68-93,8%) (17), teniendo la tos crónica una prevalencia media de 88%, la expectoración habitual 89%, padecer neumonía/s 72%, bronquiectasias 56%, rinorrea/congestión nasal crónica 75%, otitis media supurada o no supurada 74%, sinusitis crónica 69%, hipoacusia 36%, antecedentes de colocación de drenajes transtimpánicos 55%, pólipos nasales 19%, infertilidad masculina 100% y femenina 58%, 5% de defectos cardíacos congénitos y *situs inversus* 49%.

Se han descrito casos con asociación a ciliopatías sensitivas como la retinitis pigmentaria y el síndrome orofaciocdigital, entre otros. La superposición entre ciliopatías motoras y no motoras es actualmente poco conocida y sólo se limita a publicaciones aisladas de casos, pero es importante descartar la DCP en estos casos de ciliopatías sensitivas donde haya una clínica respiratoria compatible (15,18).

En 2016, Behan et al, publicaron un cuestionario clínico predictivo para evaluar a los pacientes con tos crónica antes de realizar estudios más específicos para DCP (PICADAR) (19). Se trata de un cuestionario de 7 preguntas, con un rango de puntos de 0 a 14, siendo la sensibilidad y especificidad para un punto de corte de > 5 puntos de 0,90 y 0,75 respectivamente (Tabla 1).

Tabla 1. Escala predictiva PICADAR

PICADAR		
¿El paciente tiene tos húmeda de inicio en la primera infancia?		Sí - Completar PICADAR
		No - Parar. PICADAR no está diseñado para pacientes sin tos húmeda
1. ¿El paciente fue nacido a término o prematuro?	A término	2
2. ¿El paciente tuvo problemas respiratorios en el periodo neonatal (ej.: taquipnea, tos, neumonía...)?	Sí	2
3. ¿El paciente ingresó en una unidad neonatal?	Sí	2
4. ¿El paciente tiene <i>situs inversus</i> o heterotaxia?	Sí	4
5. ¿El paciente tiene una cardiopatía congénita?	Sí	2
6. ¿El paciente tiene rinitis persistente perenne?	Sí	1
7. ¿El paciente tiene patología crónica ótica o hipoacusia (ej.: otitis media serosa, pérdida de audición, perforación timpánica)?	Sí	1
		Puntuación total:

El defecto de aclaramiento de las secreciones da lugar a la clínica descrita y a una mayor susceptibilidad de colonización e infección bacteriana repetida. Los estudios microbiológicos realizados en esta enfermedad muestran en general una colonización que se modifica con la edad. De esta manera, el microorganismo más comúnmente aislado es el *Haemophilus influenzae* (sobretudo en los primeros 12 años de vida). Otras bacterias aisladas con frecuencia son la *Moraxella catarrhalis*, el *Staphylococcus aureus* y el *Streptococcus pneumoniae* (20). El *Staphylococcus aureus* es el microorganismo más frecuentemente aislado en adultos en el estudio de Roden et al (21). La *Pseudomonas aeruginosa* es más frecuente en adolescentes y adultos. Se ha estimado una prevalencia en niños y adolescentes del 20-36% con el fenotipo no mucoide y del 5-7% con el mucoide. En adultos la prevalencia se sitúa en el 27% tanto para el fenotipo no mucoide como mucoide. Otros microorganismos aislados de manera más ocasional son el *Achromobacter xylosoxidans*, *Aspergillus*

fumigatus y las micobacterias no tuberculosas. Así como en la fibrosis quística (FQ) está demostrado que existe una correlación entre el deterioro de la función pulmonar y alguna de las bacterias colonizadoras, no pasa lo mismo con la DCP, donde esta correlación no está por el momento confirmada (20,22) (Figura 2).

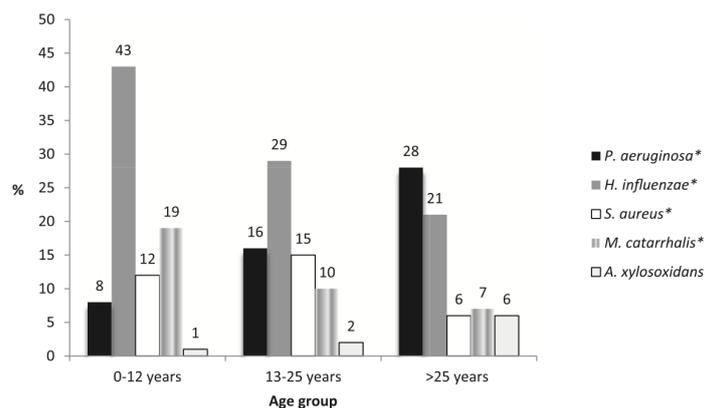


Figura 2. Porcentaje de cultivos positivos a *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Moraxella catarrhalis* y *Achromobacter xylosoxidans* en pacientes con DCP acorde a diferentes grupos de edad (estudio realizado en Dinamarca, 2015) (20)

Los estudios sobre función pulmonar en pacientes con DCP son contradictorios, ya que tanto se observa en algunos que la función pulmonar es normal como en otros que disminuye con la edad. Una revisión sistemática y metaanálisis reciente (23) muestra esta heterogeneidad entre los resultados de los estudios que analiza ($I^2=94-95\%$), incluso si se clasifican por edad de los pacientes los resultados de la espirometría. El volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁) es más bajo en adultos que niños (media de 63% en >18 años *versus* 81% en menores). Esta heterogeneidad puede estar causada por varios factores, entre los cuales el diferente genotipo de los pacientes de las muestras puede ser uno de los más importantes. Se ha descrito que los pacientes que tienen ausencia de los brazos

internos de dineína junto con defectos en el complejo regulador de dineína y desorganización microtubular, tienen el FEV₁ significativamente menor que en el resto de las alteraciones estructurales (media 71,5% *versus* 88,3% en defectos del brazo externo de dineína y del 85,5% en defectos de brazo externo e interno); al igual que el peso y talla que están significativamente disminuidos en estos pacientes. En general, sin tener en cuenta el genotipo, en este estudio se ve una caída del 0,57% por año en el FEV₁ (24). Los estudios que miden el índice de aclaramiento pulmonar (LCI), muestran que éste está alterado en los pacientes con DCP. Boon et al, vieron que el LCI realizado mediante lavado de N₂ estaba alterado en el 73% de los casos de su muestra, coincidiendo con los casos que tienen más afectación del FEV₁ y de las pruebas de imagen torácica (tomografía axial computarizada, TAC). En el 26% de los casos el LCI estuvo alterado en cambio sin que lo estuviera el FEV₁. Sin embargo, observaron una mayor correlación entre las alteraciones detectadas en el LCI y los hallazgos del TAC de tórax. El valor medio de LCI encontrado fue de 9,48 (z-score 3,58) (25).

Kennedy et al, realizaron una revisión de los hallazgos encontrados en el TAC de tórax en una cohorte de pacientes pediátricos y adultos y encontraron una alta prevalencia de *pectus excavatum* (9%), *situs inversus* o *ambigus* en un 56% y bronquiectasias en todos los pacientes adultos y en el 56% de los niños (edad media 8 ± 4 años). El lóbulo más comúnmente afectado fue el lóbulo medio, seguido de los lóbulos inferiores y la língula. La gravedad de las bronquiectasias se asoció a mayor edad y a tener peor función pulmonar (26).

1.5. Diagnóstico

Debido a que los síntomas relacionados con la DCP pueden presentarse también en otras enfermedades, deben descartarse inicialmente los procesos alérgicos, inmunodeficiencias o la fibrosis quística, sobretodo en los casos de pacientes con bronquiectasias de causa desconocida.

El diagnóstico de discinesia ciliar primaria es complejo, por lo que deben derivarse los pacientes a un centro especializado. Actualmente los métodos diagnósticos incluyen (27,28): óxido nítrico nasal (ONN) (como prueba de cribado), estudio de la frecuencia del batido ciliar, estudio del patrón del batido ciliar, microscopía electrónica, cultivo celular, inmunofluorescencia y estudios genéticos.

Como pruebas iniciales de cribado para el diagnóstico de la discinesia ciliar se utiliza el ONN. El test de sacarina y el test de aclaramiento mucociliar con radioaerosol también se han utilizado pero las guías recomiendan actualmente la medida del óxido nítrico nasal (27), debido a sus ventajas y a los inconvenientes de las otras dos técnicas.

1.5.1. Prueba de sacarina

La prueba de sacarina consiste en la colocación de una partícula de sacarina de 1-2 mm a nivel del cornete nasal inferior a 1 cm del anterior, con control posterior del tiempo que el paciente tarda en percibir su sabor (lo normal es una hora, aproximadamente). Durante la prueba no se puede olfatear, toser, comer ni beber. Requiere una gran colaboración del paciente, por lo que es poco utilizada en niños, y su resultado es muy subjetivo (29). Tampoco permite distinguir entre discinesia ciliar primaria y secundaria, que es transitoria y debida a una infección, alergia o inflamación de la vía aérea.

1.5.2. Prueba de aclaramiento mucociliar con radioaerosol

La prueba de aclaramiento mucociliar con radioaerosol consiste en la nebulización de coloide de albúmina marcada con tecnecio 99-m y medidas posteriores hasta los 120 minutos para realizar un cálculo del aclaramiento mucociliar. Es una prueba muy sensible pero poco específica, por lo que puede excluir la enfermedad, pero no confirmarla. Entre sus limitaciones se encuentra la radiación que produce en el paciente, el hecho de que la tos puede invalidar los resultados y que el paciente debe volver a las 24 horas de realizar la nebulización para continuar con la medición (30).

1.5.3. Óxido nítrico nasal

El óxido nítrico nasal y el exhalado están disminuidos en la DCP por razones todavía no del todo aclaradas. Se postulan como posibles causas: 1) reducción de la biosíntesis de óxido nítrico por disminución de la actividad de la óxido nítrico sintetasa o 2) incremento de la derivación de óxido nítrico a sus metabolitos (31). El óxido nítrico nasal es más discriminativo que el exhalado, y es una buena prueba de cribado, aunque difícil de realizar en niños muy pequeños menores de 5 años. La técnica validada en las guías diagnósticas es la realizada con analizadores estacionarios por quimioluminiscencia y mediante la maniobra de cierre del velo del paladar (32). No hay un acuerdo universal sobre los valores considerados normales, pero en estudios europeos se considera disminuido si es menor de 30 nL/min (27) y en estudios americanos si es menor de 77 nL/min (33). En otras enfermedades también puede encontrarse disminuido aunque normalmente no es tan bajo como en la DCP (FQ, bronquiectasias de causa desconocida, sinusitis crónica, síndrome de Young) (29). Estudios recientes también ponen en alerta que puede encontrarse una

cifra de ONN bajo en caso de infecciones respiratorias y en pacientes con hipertrofia de adenoides, siendo las cifras determinadas similares a las encontradas en pacientes con DCP, por lo que aconsejan repetir la medida en fases asintomáticas (34,35). La determinación de niveles altos de óxido nítrico nasal hasta hace poco se consideraba que podía descartar la DCP, aunque no es concluyente si clínicamente existen datos muy sugestivos de la enfermedad, ya que en alguna publicación se han comunicado casos de pacientes y niveles elevados de óxido nítrico nasal (32). La sensibilidad del ONN para el diagnóstico de DCP es de 0,91 y la especificidad de 0,96 (27).

Por este motivo las guías europeas, ante una alta sospecha clínica de discinesia ciliar primaria, apoyada o no por la alteración de las pruebas anteriormente citadas, aconsejan realizar un estudio funcional de la motilidad del cilio (frecuencia y patrón de batido ciliar) y posterior visualización de la ultraestructura ciliar con microscopio electrónico; así como el estudio de la inmunofluorescencia y la genética si se disponen de ellos.

1.5.4. Videomicroscopía óptica de alta velocidad

Recientemente se ha publicado una guía para estandarizar el estudio de motilidad ciliar con videomicroscopía óptica de alta velocidad (36).

El estudio de la frecuencia y patrón del batido ciliar se realiza con el análisis de una muestra de epitelio respiratorio ciliado que se obtiene mediante el cepillado de la mucosa nasal a nivel del cornete nasal inferior o el septo con un cepillo de pequeño diámetro. El cepillado se realiza en 2-3 segundos. Una infección en el tracto respiratorio superior puede producir un daño en el epitelio respiratorio (discinesia ciliar secundaria), por este motivo se recomienda posponer la prueba entre 4-6

semanas después del proceso agudo. Esta técnica no precisa anestesia y únicamente produce un reflejo en la glándula lagrimal correspondiente; en ocasiones puede producirse un pequeño sangrado. La muestra obtenida debe analizarse en poco tiempo. En un estudio se comprobó que el batido ciliar se acelera durante las 3 primeras horas tras la realización de la prueba con una meseta entre las 3 y 9 horas y posteriormente cae la velocidad a la mitad de la inicial a partir de las 12 horas, por lo que se aconseja realizar la medida dentro de las primeras 9 horas (37). No hay datos sobre la afectación del tiempo de análisis en el patrón de batido o el índice de discinesia. Además, esta muestra debe analizarse a 37°C de temperatura con un microscopio óptico con óptica de x100 y aceite de inmersión. Se recomienda apoyar el microscopio en una mesa antivibración. El movimiento de los cilios se graba con una cámara de alta velocidad a 400-500 imágenes por segundo para después poderlas reproducir a menor velocidad (30 imágenes por segundo) y así poder analizar la frecuencia de batido y el patrón en diferentes planos como el lateral, hacia el observador y visión desde arriba (38,39) (Figura 3). Deben valorarse en cada muestra al menos 10 bordes epiteliales ciliados con 10 células en cada uno de ellos, además de observar el patrón de movimiento en cada una de estas células. Es tan importante el análisis de la frecuencia de batido ciliar como el de su patrón, porque un 10% de los pacientes con discinesia ciliar primaria tienen una frecuencia normal y un patrón de motilidad alterado (40). El margen de referencia para la frecuencia de batido ciliar es diferente según los estudios (entre 8,7–18,8 Hz) (6,39), por lo que es aconsejable que cada centro tenga sus propios valores de referencia. No está claramente establecido el valor normal del índice de discinesia ciliar pero en un trabajo reciente en población sana donde se analiza la frecuencia de batido ciliar, el índice de discinesia y el índice de inmovilidad en los diferentes ejes de visión, se

determina un índice de discinesia medio entre 2,8-25,2% (según el eje observado) y de inmovilidad de 0-5,3% (41).

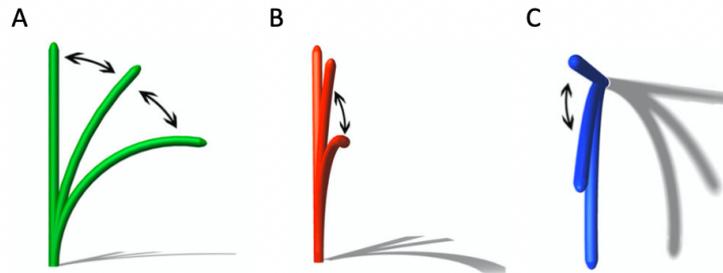


Figura 3. Diferentes planos de visión del movimiento ciliar (36). **A)** Lateral. **B)** Hacia el observador. **C)** Desde arriba.

En caso de observar una frecuencia de batido menor a la establecida como normal, un patrón discinético de batido o una alta sospecha clínica de discinesia ciliar primaria se analizará la muestra con microscopio electrónico para observar si existe alguna alteración en la ultraestructura ciliar, ya que dicho examen junto con el estudio de la motilidad y una clínica sugestiva, son los pilares del diagnóstico para la discinesia ciliar primaria (42,43). Un estudio reciente de Rubbo et al (44), demuestra que el estudio de videomicroscopía tiene una elevada sensibilidad (1) y especificidad (0,93) para el diagnóstico de DCP.

Ante una frecuencia y patrón de batido ciliar normales con baja sospecha clínica de discinesia ciliar, no será necesario realizar más pruebas complementarias.

El estudio de motilidad ciliar presenta como limitaciones principales que la infección o inflamación pueden alterar los resultados, que no es una técnica bien estandarizada en todos los centros que la realizan y que puede ser poco objetiva y existir alteraciones muy sutiles que pueden pasar desapercibidas según la experiencia del investigador.

Se han relacionado patrones de batido específicos con alteraciones en la ultraestructura concretas y defectos genéticos (45). En los defectos en el brazo externo de dineína (mutaciones en *DNAH5*, *DNAI1*, *DNAI2*, *ARMC4*, *CCDC103*) el patrón es inmóvil con un cierto movimiento residual. Cuando se afecta el brazo externo e interno de dineína (mutaciones *KTU/DNAAF2*, *LRRC50/DNAAF1*, *LRRC6*, *ZMYND10*, *DYX1C1*) el patrón es completamente inmóvil. En la alteración a nivel de la zona cercana al complejo regulador de dineína - nexina (mutaciones *CCDC39*, *CCDC40*) el patrón es extremadamente rígido. En otras mutaciones que afectan a diferentes partes del cilio (*CCDC164*, *HYDIN*) en el patrón puede observarse una onda incompleta. Si la alteración está en los brazos radiales (*RSPH4A*, *RSPH1*) puede encontrarse un patrón rígido o bien rotatorio en algunas zonas. Un patrón anormal hipercinético se ha relacionado con una ultraestructura normal causada por mutaciones en el gen *DNAH11* (46). En la figura 4 se muestran representados diferentes patrones de batido ciliar.

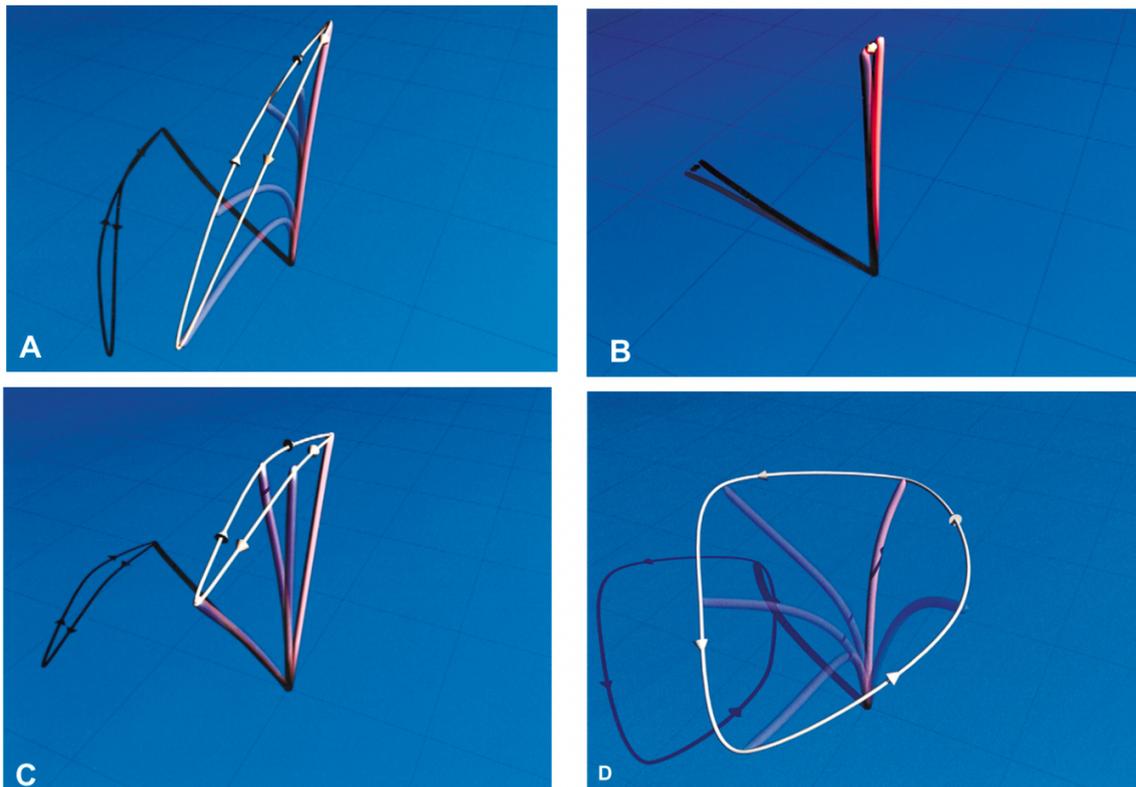


Figura 4. Patrones de batido ciliar (42). **A)** Diagrama de patrón de batido normal. **B)** Diagrama de patrón de batido inmóvil o con parpadeo. **C)** Diagrama de patrón de batido rígido. **D)** Diagrama de patrón de batido rotatorio.

1.5.5. Cultivo de células del epitelio respiratorio

En la discinesia ciliar secundaria pueden observarse alteraciones en la motilidad y ultraestructura ciliar que ya no se observarán al reexaminar la muestra después de realizar un cultivo celular. El cultivo celular se estableció como método de ayuda para el diagnóstico de la discinesia ciliar en el año 2000 por Jorrisen et al (38). El cultivo puede realizarse según varias técnicas: cultivo en suspensión monocapa secuencial (38), cultivo simplificado con migración y rotación (47) y cultivo aire-líquido (48), siendo éste último el que permite la obtención de muestra suficiente para una posterior reevaluación de la motilidad y también de la ultraestructura ciliar. Son procedimientos muy laboriosos y complejos, con un índice no muy elevado de éxito, que sólo se realizan en centros muy especializados.

1.5.6. Microscopía electrónica

La preparación de la muestra para su posterior visualización con microscopía electrónica (ME) es un proceso complejo que incluye fijaciones, lavados e inclusión de la muestra y debe realizarse en un centro especializado. Se evalúan al menos 50 secciones transversales de cilios en un mínimo de diez células, analizando de manera individual cada parte estructural ciliar y la orientación ciliar.

Para una correcta interpretación de los resultados, al igual que para el estudio de la motilidad ciliar, es necesario que no se haya padecido ninguna infección respiratoria aguda en las últimas 4-6 semanas, para evitar así el descenso de células ciliadas que produce y el aumento de alteraciones secundarias debidas a la infección e inflamación epitelial.

Recientemente se ha publicado un consenso europeo (49) sobre la interpretación de los hallazgos encontrados en la ME, donde se concluye que encontrar ausencia de brazos externos de dineína, ausencia de brazos externos e internos de dineína y desorganización microtubular con ausencia de los brazos internos de dineína, son hallazgos diagnósticos de DCP. En caso de encontrar defectos en el par central, desorganización del cuerpo basal con pocos cilios o sin cilios, ausencia de brazos externos (con o sin ausencia de los internos) en 25-50% de las secciones, pueden sugerir DCP si se acompaña de otros estudios que apoyen el diagnóstico. No se han observado casos de alteración del complejo central en pacientes con *situs inversus* (50).

En un 30% de los pacientes con discinesia ciliar primaria se observa una alteración en la motilidad ciliar sin encontrarse ningún defecto en la ultraestructura ciliar (49), y en todos los pacientes con discinesia ciliar se ha encontrado un estudio de la motilidad ciliar alterado (42).

Se ha encontrado una relación entre la alteración de la frecuencia o patrón de batido ciliar y algunos defectos de la ultraestructura ciliar (6,42), entre la gravedad de la sintomatología y los defectos ultraestructurales (más síntomas de vías altas y bajas respiratorias en pacientes con defectos o desorganización del par central) (51), con defectos genéticos (24), pero no con los niveles de óxido nítrico nasal (52).

El desarrollo de nuevas técnicas del ME (crio-electromicroscopía, electro-tomografía) abren un nuevo campo para mejorar la resolución de ésta y mejorar el diagnóstico de la DCP sobretodo en aquellos casos donde el ME es normal (53).

La sensibilidad de la microscopía electrónica en el estudio de DCP es de 0,79 y la especificidad de 1 (27).

1.5.7. Inmunofluorescencia

La inmunofluorescencia es una técnica de reciente desarrollo que permite tener una visión indirecta mediante fluorescencia y usando unos anticuerpos específicos, de las proteínas ciliares y así detectar si hay ausencia de alguna de ellas. Cada vez se están desarrollando más anticuerpos diferentes con lo que se pueden detectar mayor número de déficits proteicos. Por este motivo, en algunos estudios se postula como una técnica complementaria al ME o bien substituta de éste cuando no está disponible (54).

1.5.8. Estudio genético

El diagnóstico definitivo de la DCP se realiza mediante el estudio genético. Actualmente se conocen más de 40 genes, de los cuales > 70% de los individuos afectados de DCP tienen una mutación bialélica en alguno de ellos. Los defectos

genéticos se han relacionado con las proteínas específicas de los cilios, y en la mayoría de ocasiones también con las alteraciones en el ME y la inmunofluorescencia (24,55). En la tabla 2 se muestra la correlación entre la afectación en los diferentes genes descritos y los hallazgos encontrados en el estudio de motilidad y microscopía electrónica.

Tabla 2. Correlación entre la afectación genética y las alteraciones en la motilidad y microscopía electrónica

DEFECTO FUNCIONAL	GEN	MOTILIDAD	MICROSCOPIO ELECTRÓNICO	REF.
Defecto brazo externo dineína	<i>DNAH5</i>	Movimiento residual	Ausencia brazos externos dineína	(56,57)
	<i>DNAH9</i>	Disminución amplitud parte distal del cilio	Normal / Ausencia brazos externos dineína intermitente	(56,58)
	<i>DNAH11</i>	Rígido, hipercinético o estático	Normal	(56,57)
	<i>DNAI1</i>	Movimiento residual	Ausencia brazos externos dineína	(56,57)
	<i>DNAI2</i>	Movimiento residual	Ausencia brazos externos dineína	(56,57)
	<i>DNAL1</i>	Movimiento residual	Ausencia brazos externos dineína	(56,59)
	<i>NME8 (TXNDC3)</i>	Movimiento residual en unas zonas y normal en otras	Ausencia brazos externos dineína	(56,60)
	<i>CCDC103</i>	Movimiento residual	Ausencia brazos externos dineína	(56,57)
	<i>LRRC56</i>	Movimiento muy discinético	Normal	(56,61)
Defecto ensamblaje brazos externos dineína	<i>CCDC114</i>	Movimiento residual	Ausencia brazos externos dineína	(56,62)
	<i>ARMC4</i>	Movimiento residual	Ausencia brazos externos dineína	(56,57)
	<i>CCDC151</i>	Movimiento residual	Ausencia brazos externos dineína	(56,63)
	<i>TTC25</i>	Movimiento residual	Ausencia brazos externos dineína	(56,64)
	<i>MNS1</i>	Disminución amplitud	Ausencia parcial brazos externos dineína	(65,66)
Defecto en proteínas relacionadas con el pre-ensamblaje brazos dineína	<i>LRRC6</i>	Estático	Ausencia b. externos e internos dineína	(56,57)
	<i>DNAAF1 (LRRC50)</i>	Estático	Ausencia b. externos e internos dineína	(56,57)
	<i>DNAAF2 (KTU)</i>	Estático	Ausencia b. externos e internos dineína	(56,57)
	<i>DNAAF3 (PF22)</i>	Estático	Ausencia b. externos e internos dineína	(56,67)

Tabla 2. Correlación entre la afectación genética y las alteraciones en la motilidad y microscopía electrónica (*Continuación*)

DEFECTO FUNCIONAL	GEN	MOTILIDAD	MICROSCOPIO ELECTRÓNICO	REF.
Defecto en proteínas relacionadas con el pre-ensamblaje brazos dineína	<i>DYX1C1</i>	Estático o disminución amplitud	Ausencia b.externos e internos dineína	(56,57)
	<i>HEATR2</i>	Estático	Ausencia b.externos e internos dineína	(56,68)
	<i>PIH1D3</i>	Estático	Ausencia b.externos e internos dineína	(56,69)
	<i>SPAG1</i>	Estático	Ausencia b.externos e internos dineína	(56,70)
	<i>ZMYND10</i>	Estático	Ausencia b.externos e internos dineína	(56,57)
	<i>CFAP298</i> (<i>c21orf59</i>)	Estático	Ausencia b.externos e internos dineína	(56,71)
	<i>CFAP300</i> (<i>c11orf70</i>)	Estático	Ausencia b.externos e internos dineína	(56,72)
Defecto en 96 nm axonal ruler	<i>CCDC39</i>	Rígido con disminución amplitud	Desorganización microtúbulos y ausencia b.internos dineína	(56,57)
	<i>CCDC40</i>	Rígido con disminución amplitud	Desorganización microtúbulos y ausencia b.internos dineína	(56,57)
Brazos radiales	<i>RSPH1</i>	Rígido y algunos cilios patrón rotatorio	Defecto par central / Transposición intermitente	(56,57)
	<i>RSPH3</i>	Rígido y/o estático	Defecto par central intermitente / Ausencia brazos radiales	(56,73)
	<i>RSPH4A</i>	Rígido	Defecto par central / Transposición intermitente	(56,57)
	<i>RSPH9</i>	Patrón rotatorio	Defecto par central / Transposición intermitente	(56,57)
	<i>DNAJB13</i>	Rígido	Defecto par central / Transposición	(56,74)
Par central	<i>HYDIN</i>	Algunos cilios patrón rotatorio y otros estáticos	Normal / Incremento de frecuencia de transposición	(56,57)
	<i>STK36</i>	Rígido y algunos cilios patrón rotatorio	Normal / Incremento de frecuencia de transposición	(56,75)
	<i>SPEF2</i>	Rígido y algunos cilios patrón rotatorio	Normal / Incremento de frecuencia de transposición	(76)
Nexina-Complejo regulador de dineína	<i>CCDC164</i> (<i>DRC1</i>)	Disminución amplitud leve	Normal / Desorganización microtúbulos ocasional	(56,57)
	<i>CCDC65</i> (<i>DRC2</i>)	Discinético / Hipercinético	Normal / Desorganización microtúbulos ocasional	(56,71)
	<i>GAS8</i> (<i>DRC4</i>)	Disminución amplitud leve	Normal / Incremento mala alineación microtúbulos	(56,77)
Disminución cilios (alteración replicación centriolos)	<i>MCIDAS</i>	Disminución número cilios	Normal / Disminución número cilios	(56,57)
	<i>CCNO</i>	Disminución número cilios	Normal / Disminución número cilios	(56,57)

Tabla 2. Correlación entre la afectación genética y las alteraciones en la motilidad y microscopía electrónica (*Continuación*)

DEFECTO FUNCIONAL	GEN	MOTILIDAD	MICROSCOPIO ELECTRÓNICO	REF.
Asociado a retinitis pigmentaria	<i>RPGR</i>	Variable	Variable	(56,57)
Asociado a varias ciliopatías	<i>OFD1</i>	Discinético / Disminución número cilios	Normal / Desorganización cuerpo basal	(56,78)
Otros	<i>GAS2L2</i>	Discreta discinesia / Hipercinético	Normal	(56,79)
	<i>DYNC2H1</i>	Discreta discinesia	Normal	(80)
	<i>ENKUR</i>	Discreta discinesia	Normal	(65,81)
	<i>CCDC11 (CFAP53)</i>	Discreta disminución amplitud	Normal	(65,82,83)
	<i>FOXJ1</i>	Disminución número cilios	Normal / Desorganización cuerpo basal	(84)

1.5.9. Algoritmos diagnósticos

El diagnóstico precoz favorece la mejor evolución de la enfermedad retrasando la aparición de bronquiectasias y reduciendo la caída de la función pulmonar, además de mejorar el manejo de los síntomas de rinosinusitis y otitis (85). Sin embargo, en ocasiones el diagnóstico se realiza en la edad adulta. Tanto la *European Respiratory Society* (ERS) como la *American Thoracic Society* (ATS), han desarrollado recientemente unas guías y recomendaciones diagnósticas (Figura 5 y 6). Por la dificultad de realizar las pruebas diagnósticas previamente descritas y por el alto coste económico de ellas, el diagnóstico de la DCP se realiza en centros especializados.

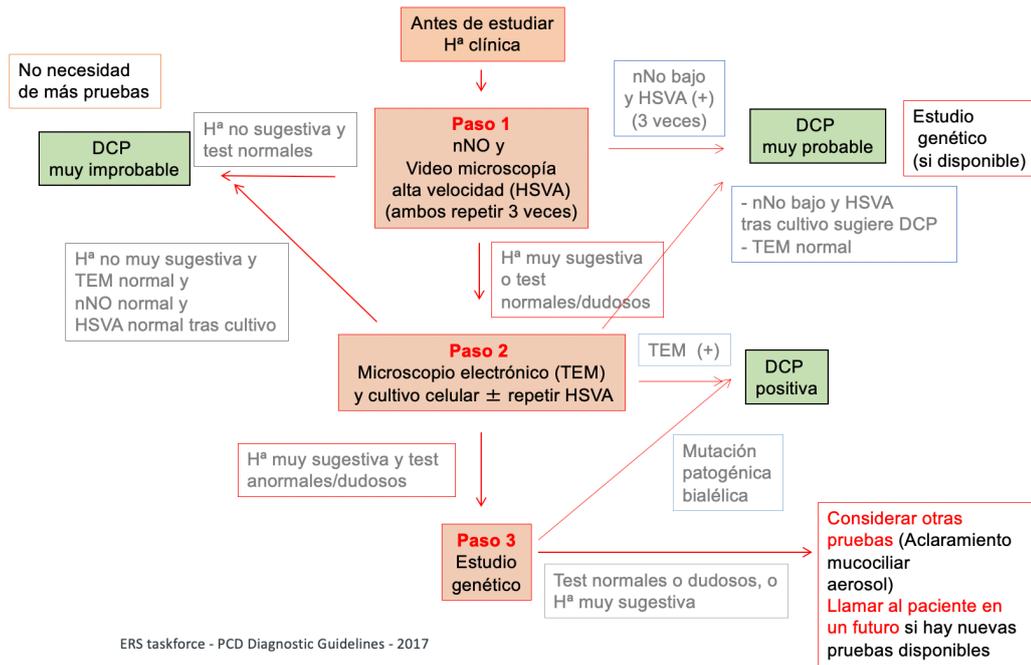


Figura 5. Algoritmo diagnóstico ERS 2017 (27). DCP (discinesia ciliar primaria). nNO (óxido nítrico nasal). TEM (microscopio electrónico de transmisión). HSVA (microscopía óptica de alta velocidad). Hª (historia)

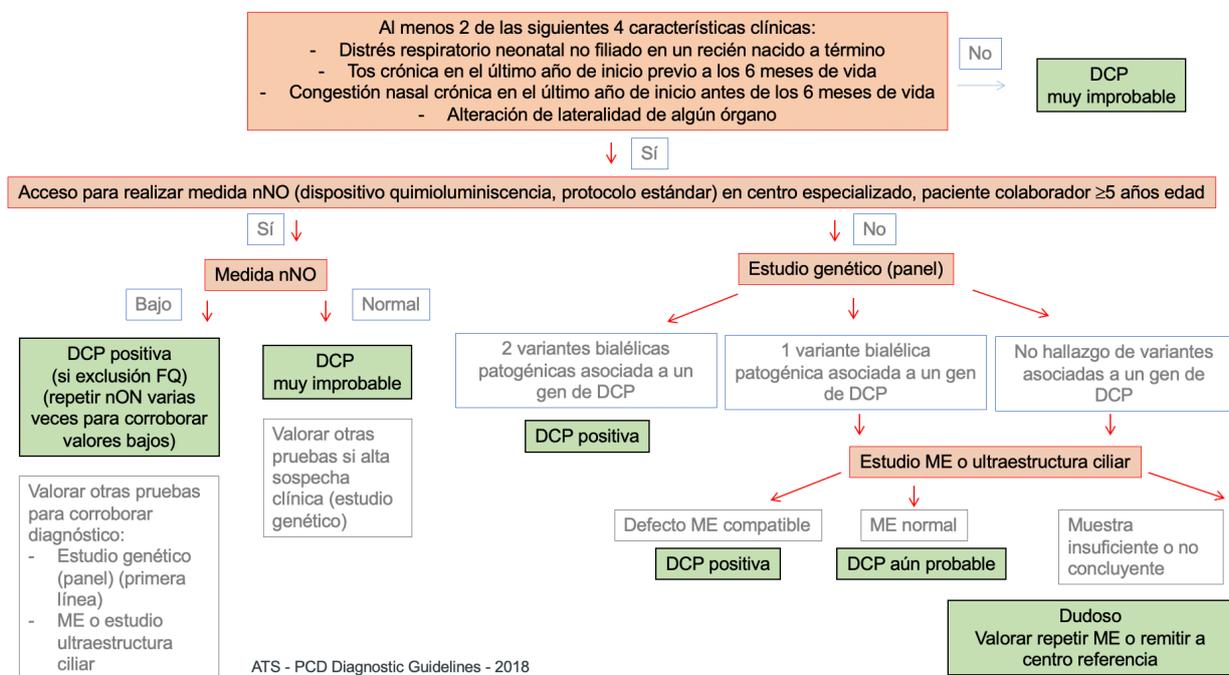


Figura 6. Algoritmo diagnóstico ATS 2018 (86). DCP (discinesia ciliar primaria). FQ (fibrosis quística). nON (óxido nítrico nasal). ME (microscopía electrónica)

La decisión para corroborar que un paciente padece DCP o no, no siempre es clara y fácil, y ambas guías proponen una combinación de varias pruebas para aproximar el diagnóstico y en múltiples ocasiones no se puede excluir o confirmar el diagnóstico con certeza si la clínica es altamente sugestiva a pesar de los resultados de las pruebas realizadas. Por ello la guía de la ERS (a diferencia de la de la ATS) clasifica a los pacientes como “positivo”, “muy probable” o “muy improbable”. En cuanto a la clínica, la guía de la ATS tiene unos criterios muy estrictos para proceder a las pruebas diagnósticas, hecho que no es tan evidente en la guía europea. La otra diferencia importante entre ambos protocolos es el papel del ONN que es determinante en las guías americanas y sólo complementario en las europeas. Además, en la guía europea se establece la cifra de ONN disminuido cuando es < 30 nL/min, en cambio en la americana cuando es < 77 nL/min. El estudio de motilidad ciliar (con o sin los cultivos celulares) no se contempla para la ATS como una prueba de rutina (sólo se realiza en centros especializados en casos dudosos) y el estudio genético forma también una parte principal del algoritmo americano a diferencia del europeo dónde sólo se indica en casos dudosos o en casos positivos si se dispone de él. También cabe destacar, que en ninguna de las guías la inmunofluorescencia forma parte de los estudios recomendados.

Un trabajo reciente (87) propone como posibles causas de estas diferencias entre ambas guías, los diferentes sistemas sanitarios y la accesibilidad de la población a los centros de referencia para el estudio de esta enfermedad. A su vez, estos autores sugieren la realización de una guía internacional.

1.6. Tratamiento

Los pilares básicos de tratamiento de la DCP son: favorecer el aclaramiento mucociliar, tratar las infecciones respiratorias de vía aérea superior e inferior con el antibiótico más adecuado (realización frecuente de cultivos de secreciones respiratorias), detectar y tratar precozmente las complicaciones y optimizar el tratamiento para las otitis y la patología rinosinusal (88).

Se recomienda que el seguimiento de estos pacientes sea realizado por un equipo multidisciplinar que incluya, a parte del especialista en neumología, otros como el fisioterapeuta, el otorrinolaringólogo, el nutricionista y la enfermera especializada.

La pauta recomendable de seguimiento basada en las guías europeas y el servicio nacional de salud del Reino Unido incluye los datos que se muestran en la tabla 3 (89).

Tabla 3. Recomendaciones en el seguimiento de la discinesia ciliar primaria

	Diagnóstico	Cada 3 meses	Anual	Si precisa
Cuidados generales				
Peso, talla	X	X	X	X
Vitamina D				X
Cuestionarios calidad vida			X	
Soporte psicológico				X
Revisión nutricional				X
Vía aérea inferior				
Control neumólogo	X	X	X	X
Control fisioterapeuta	X	X	X	
Muestra microbiológica (bacterias)	X	X	X	X
Cultivo hongos, micobacterias			X	X
Radiografía tórax	X		X	X
Espirometría	X	X	X	X
Pletismografía				X
TAC tórax (o RM)				X
Broncoscopia				X
Vía aérea superior				
Control fisioterapeuta		X		X
Control otorrinolaringólogo	X		X	X
Audiometría	X		X	X
Otros				
Ecocardiografía	X			X
Ecografía abdominal	X			
Fertilidad				X

DGP (discinesia ciliar primaria); TAC (tomografía computarizada); RM (resonancia magnética).

1.6.1. Medidas generales

Como medidas generales debe evitarse el tabaquismo activo y pasivo, los irritantes de la vía aérea, la polución y los antitusígenos. Deben administrarse las vacunas sistemáticas además de la vacuna de la gripe y la neumocócica. El control de peso y talla es necesario debido a que se ha relacionado el tener un mejor índice de masa

corporal con una mejor función pulmonar, por lo que el soporte nutricional podría estar indicado en algún caso (90). La guía británica recomienda el estudio de vitamina D según criterio médico ya que han visto que en su población de pacientes con DCP es frecuente encontrar unos niveles bajos y esto puede relacionarse con mayor riesgo de colonización crónica y severidad en las bronquiectasias (89).

1.6.2. Fisioterapia respiratoria y ejercicio físico

Los principales tratamientos para favorecer el aclaramiento de las secreciones son la fisioterapia respiratoria y el ejercicio físico. La fisioterapia debe realizarse diariamente (2 veces al día), en particular durante las exacerbaciones respiratorias, aunque puede reducirse su frecuencia a semanal en aquellos pacientes que son físicamente muy activos. Su principal objetivo es disminuir las infecciones, las atelectasias, la aparición de bronquiectasias y progresión del deterioro respiratorio. Incluye una serie de técnicas como las manuales, posturales, con dispositivos de PEP y PEP oscilatorio. No hay estudios que demuestren que una técnica es superior a otra, en todos los casos debe individualizarse según la edad, grado de afectación y preferencias personales (91). El ejercicio físico ha demostrado ser mejor broncodilatador que los beta-adrenérgicos en los pacientes con DCP, por lo que se recomienda su práctica habitual con realización de fisioterapia respiratoria posterior (29,92).

1.6.3. Fármacos para mejorar el aclaramiento mucociliar

El *suero salino hipertónico* incrementa la osmolaridad de la vía aérea y así mejora el aclaramiento mucociliar. Este efecto está ampliamente probado en pacientes con

FQ, pero sólo recientemente se ha realizado un estudio aleatorizado en pacientes con DCP, donde no se observa mejora significativa de las puntuaciones en calidad de vida pero sí mejoría en las escalas de percepción de salud (93).

La *DNasa recombinante humana* es una enzima que destruye el DNA de los neutrófilos degradados que se encuentran en las secreciones respiratorias, mejorando así su viscosidad y su aclaramiento. En los estudios aleatorizados realizados en pacientes adultos con bronquiectasias no-FQ no se ve ningún beneficio en la calidad de vida, características del esputo o función pulmonar, a diferencia de los pacientes con fibrosis quística (94). Incluso en un estudio se relaciona con un empeoramiento del FEV₁ e incremento de las exacerbaciones pulmonares (95). Por este motivo no se utiliza en la práctica habitual, pero puede considerarse su uso en casos individualizados.

1.6.4. Otros tratamientos

No hay estudios que den soporte al uso rutinario de otros tratamientos como broncodilatadores y corticoides inhalados o de acetilcisteína nebulizada. Hay una prevalencia de 8-10% de asma bronquial asociada a esta enfermedad, y en estos casos puede ser beneficioso su uso. Tampoco existen estudios aleatorizados en pacientes con discinesia ciliar primaria y uso de tratamientos antiinflamatorios orales como los corticoides (85,96).

1.6.5. Antibióticos

Recientemente se ha publicado un estudio en el cual se analizan los efectos de la azitromicina (pauta de tres días a la semana durante 6 meses) que encuentra

mejoría en el número de exacerbaciones y de la ratio de bacterias patogénicas en el esputo, aunque no muestra diferencias estadísticamente significativas en la función pulmonar ni en las escalas de calidad de vida. Tampoco hay diferencias significativas entre los grupos en cuanto a la pérdida de audición (97).

Para el manejo de la infección respiratoria deben utilizarse antibióticos de manera precoz y adecuados según los resultados del cultivo de esputo o frotis faríngeos realizados al paciente. No existe ninguna duda en el tratamiento en caso de exacerbación respiratoria aguda, pero sí en los casos donde no haya síntomas y se trate sólo del aislamiento de un germen en un cultivo, donde la pauta a seguir no está clara.

En adolescentes y adultos es frecuente aislar *Pseudomonas aeruginosa* y micobacterias atípicas. El tratamiento para la *Pseudomonas aeruginosa* es similar al establecido para los pacientes con fibrosis quística. Un estudio reciente (98) pone en evidencia la falta de consenso en este aspecto en los centros europeos, donde el 89% no tienen una pauta escrita para el tratamiento erradicador de la *Pseudomonas aeruginosa* en pacientes con DCP, el 87% centros tratan el primer aislamiento con antibiótico oral (ciprofloxacino) y junto con colistimetato sódico nebulizado en el 43% de los casos. Para la infección crónica, el fármaco nebulizado mayoritariamente utilizado es también el colistimetato en un 51% de los casos.

Es frecuente que en la población infantil se precisen antibióticos orales ocasionales para tratar las infecciones respiratorias y a medida que pasan los años, se va incrementando la necesidad de antibioterapia endovenosa (89).

1.6.6. Tratamientos de soporte respiratorio y quirúrgico

Con la progresión de la enfermedad, los pacientes pueden precisar oxigenoterapia, ventilación mecánica no invasiva o incluso un trasplante pulmonar.

Ocasionalmente, el tratamiento quirúrgico también puede indicarse para la resección de bronquiectasias. En la DCP las indicaciones son similares a las bronquiectasias no-FQ (bronquiectasias graves localizadas con procesos febriles recurrentes o hemoptisis grave a pesar de un tratamiento médico agresivo). Un estudio retrospectivo reciente (99) compara una cohorte de pacientes con DCP a los cuales se les ha realizado una lobectomía previamente con los que no se han intervenido, mostrando únicamente que los lobectomizados presentaban un menor FVC (capacidad vital forzada) (z-score -5,43 *versus* -1,91) y FEV₁ (-4,90 *versus* -1,80).

1.6.7. Tratamiento de las complicaciones otorrinolaringológicas

Más del 85% de los pacientes refieren otitis medias agudas y serosas de repetición, en ocasiones con disminución de la audición, que suelen mejorar progresivamente en la adolescencia y edad adulta. Para estos casos se aconseja el tratamiento precoz con antibióticos y evitar la intervención con drenajes transtimpánicos, ya que se asocia a un riesgo aumentado de padecer perforación timpánica y otorrea crónica (100). No obstante, las guías americanas sí aconsejan la colocación de estos en casos de hipoacusia severa ya que las posibles complicaciones son tratables y se disminuye el riesgo de presentar un colesteatoma secundario a la erosión de la cadena osicular (85,101). Otra opción en caso de disminución acentuada de la audición es el uso transitorio de audífonos.

Para el tratamiento de la rinosinusitis crónica se aconsejan lavados nasales diarios y pueden usarse anticolinérgicos y corticoides nasales, aunque no suele haber mucha respuesta porque al igual que en la FQ, la inflamación es de predominio neutrofilico (85,102). El tratamiento de la sinusitis y la poliposis nasal también consiste en el uso precoz de antibióticos y en casos recurrentes puede valorarse la intervención quirúrgica.

1.6.8. Manejo de los aspectos reproductivos

Los pacientes adultos pueden precisar técnicas de fecundación in vitro y las mujeres embarazadas deben realizar unos controles más exhaustivos del embarazo por el riesgo inicial de embarazo ectópico y para control pulmonar sobretudo al final del embarazo (89).

Como en la mayoría de las enfermedades genéticas, el futuro en el tratamiento va encaminado sobretudo a terapias proteicas y génicas.

Los pacientes con DCP tienen un índice de supervivencia normal con una función pulmonar variable y es importante realizar un diagnóstico precoz para disminuir su morbilidad y para no realizar tratamientos innecesarios.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Hipótesis

El estudio mediante videomicroscopía óptica de alta velocidad de la frecuencia y patrón de motilidad ciliar en muestras en fresco de cepillado nasal, nos permitirá mejorar el diagnóstico de los pacientes con sospecha clínica de discinesia ciliar primaria.

2.2. Objetivos

2.2.1. Objetivo principal

Valorar la utilidad diagnóstica de las alteraciones funcionales de la motilidad ciliar en niños con síntomas respiratorios crónicos sugestivos de discinesia ciliar primaria, comparada con el estudio de la ultraestructura ciliar con microscopía electrónica realizado previamente.

2.2.2. Objetivos secundarios

1. Establecer valores de normalidad del estudio de motilidad ciliar con videomicroscopía óptica de alta velocidad.
2. Describir las características clínicas, funcionales, radiológicas y microbiológicas de los pacientes afectados de discinesia ciliar primaria.

3. Valorar la utilidad como pruebas de despistaje de las escalas de síntomas (cuestionario PICADAR) y el óxido nítrico nasal en la muestra de pacientes estudiados previamente con microscopía electrónica.
4. Comprobar la utilidad diagnóstica de la motilidad ciliar, y la utilidad como pruebas de despistaje de las escalas de síntomas (cuestionario PICADAR) y óxido nítrico nasal en una muestra ampliada de pacientes.

MÉTODOS

3. MÉTODOS

3.1. Tipo de estudio

Estudio descriptivo observacional de serie de casos en el que se plantean cuatro estudios:

1. Estudio 1. Valores de normalidad de motilidad ciliar con videomicroscopía óptica de alta velocidad (muestra 1)
2. Estudio 2. Comparación de la utilidad diagnóstica del microscopio electrónico con el estudio de motilidad ciliar (muestra 2)
3. Estudio 3. Utilidad como pruebas de despistaje de las escalas de síntomas (cuestionario PICADAR) y el óxido nítrico nasal en la muestra de pacientes (muestra 2)
4. Estudio 4. Comprobación de la utilidad diagnóstica de la motilidad ciliar, y de la utilidad como pruebas de despistaje de las escalas de síntomas (cuestionario PICADAR) y óxido nítrico nasal en una muestra ampliada de pacientes (muestra 3)

3.2. Estudio 1. Valores de normalidad de motilidad ciliar con videomicroscopía óptica de alta velocidad (muestra 1)

Con la finalidad de establecer unos valores propios de referencia de frecuencia de batido ciliar e índice de discinesia en nuestro laboratorio con la metodología que empleamos, se decidió realizar un estudio con individuos sanos.

3.2.1. Población

Se reclutaron individuos sanos sin síntomas sugestivos de discinesia ciliar primaria ni patología crónica respiratoria de vías bajas ni altas. Los individuos adultos sanos, no fumadores fueron voluntarios. Los individuos pediátricos fueron recogidos a partir del listado de pacientes quirúrgicos diarios de nuestro centro, que iban a ser sometidos a anestesia general por cirugía menor no respiratoria (aparato genitourinario, ocular, etc.), aprovechando el momento tras la anestesia para recoger la muestra de cepillado de la mucosa nasal, siempre habiendo informado a los padres de ello.

3.2.1.1. Criterios de inclusión y exclusión

1. Criterios de inclusión:

- Individuos sin datos clínicos sugestivos de discinesia ciliar primaria ni patología crónica respiratoria de vías altas o bajas.
- Individuos en los que se obtiene la autorización de los padres o tutores legales, y de los niños y niñas mayores de 12 años, mediante consentimiento informado; o del propio individuo si es mayor de 18 años.

2. Criterios de exclusión:

- Síntomas sugestivos de discinesia ciliar primaria o de enfermedad crónica respiratoria de vías altas o bajas.
- Fumadores activos o pasivos.
- Ausencia de consentimiento informado de los padres, tutores legales o de los pacientes mayores de 12 años o del propio individuo si es mayor de 18 años.

3.2.1.2. Tamaño muestral y procedimiento del muestreo

Se valoró que un tamaño muestral de 30 casos permitiría obtener una muestra de distribución normal y calcular el intervalo de normalidad a partir de la media y dos desviaciones estándar.

3.2.2. Variables y recogida de datos

Se realizó un cuestionario (Anexo 1) en el que se recogieron datos para asegurar que los pacientes no habían padecido episodios de bronquitis de repetición, patología rinosinusal crónica, otitis repetidas o alteraciones inmunológicas. También se recogían los datos referentes a la exposición de tabaco activo o pasivo. Para hacer la prueba era indispensable no haber padecido ninguna infección de vías altas ni bajas en las últimas 6 semanas.

La realización de la biopsia por cepillado de la mucosa nasal y su posterior análisis de motilidad (frecuencia y batido ciliar) se realizaba con la misma técnica y procesamiento que en los casos patológicos del estudio principal que se describe en el apartado siguiente.

3.3. Estudio 2. Comparación de la utilidad diagnóstica del microscopio electrónico con el estudio de motilidad ciliar (muestra 2)

El estudio parte de una muestra de pacientes menores de 18 años estudiados entre los años 2000 y 2008 por síntomas sugestivos de discinesia ciliar primaria en los que se había realizado un cepillado previo de la mucosa nasal para estudio ultraestructural mediante microscopía electrónica para su diagnóstico (única prueba diagnóstica disponible en ese momento).

3.3.1. Criterios de inclusión y exclusión

1. Criterios de inclusión. Para entrar en el estudio los pacientes debían cumplir los tres criterios siguientes:

- Pacientes con estudio previo de una muestra de la mucosa nasal mediante microscopio electrónico.
- Pacientes con datos clínicos sugestivos de discinesia ciliar primaria en el momento de la realización del estudio de microscopía electrónica (rinorrea desde los primeros días de vida, tos crónica, síntomas compatibles con asma con mala respuesta al tratamiento, hallazgo de bronquiectasias sin causa definida, rinosinusitis crónica y/o patología crónica ótica) en los que se descartaron otras causas.
- Pacientes en los que se obtiene la autorización de los padres o tutores legales, y de los niños y niñas mayores de 12 años, mediante consentimiento informado

2. Criterios de exclusión:

- Ausencia de consentimiento informado de los padres, tutores legales o de los pacientes mayores de 12 años.

3.3.2. Tamaño muestral

Se realizó un muestreo de conveniencia, incluyendo los niños de nuestra Unidad de Neumología Pediátrica (Hospital Vall d'Hebron de Barcelona) en los que se disponía de un estudio previo de la ultraestructura ciliar con microscopio electrónico.

Se realizó una revisión del conjunto de niños a los cuales se les había realizado un cepillado de la mucosa nasal para estudio con microscopía electrónica por sospecha clínica de discinesia ciliar entre los años 2000 y 2008. Se contactó con todo este

grupo de pacientes para reclutarlos para este proyecto, tanto los casos cuyo resultado de la microscopía electrónica era compatible con discinesia ciliar primaria como en los casos que no lo era o bien era no concluyente.

3.3.3. Diseño

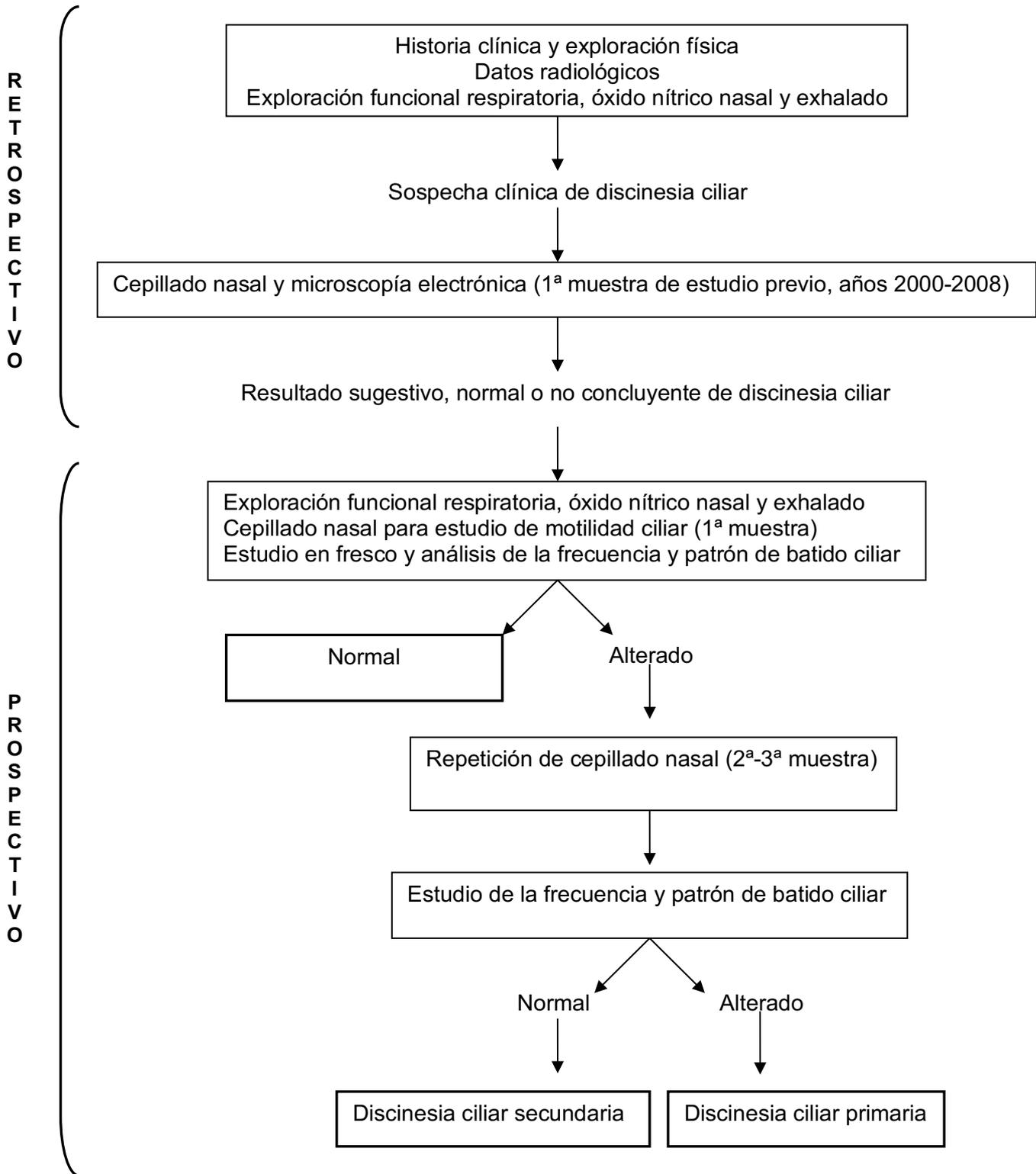
El diseño del estudio 2 se resume en la figura 7.

Una vez seleccionados aquellos pacientes con clínica sugestiva de discinesia ciliar en los que se realizó durante los años 2000 – 2008 un cepillado de la mucosa nasal para el análisis con microscopía electrónica de la ultraestructura ciliar se solicitó el consentimiento informado para su inclusión en el estudio.

Los pacientes se clasificaron en función del resultado del estudio previo con microscopio electrónico en sugestivos de esta enfermedad (observación de un porcentaje mayor o igual de 60% de algún defecto en la ultraestructura ciliar en el microscopio electrónico) normales (porcentaje inferior al 60%) o no concluyentes.

Se realizó un nuevo cepillado de la mucosa nasal para su estudio en fresco y determinación de la frecuencia y patrón de batido ciliar en todos los casos. En el caso de no observarse alteraciones de la motilidad ciliar sin haber una clínica altamente sugestiva, se excluía el diagnóstico de discinesia ciliar. En los casos donde se encontró un resultado alterado, se repitió el cepillado y el estudio de motilidad hasta un máximo de 3 ocasiones para confirmar el diagnóstico en caso de persistencia de la alteración de la frecuencia o del patrón de batido ciliar o bien para descartar discinesia ciliar secundaria.

Figura 7. Esquema del desarrollo del estudio 2



3.3.4. Variables y recogida de datos (Anexo 2)

3.3.4.1. Historia clínica y exploración física

En todos los pacientes se revisó la historia clínica recogiendo sus antecedentes personales y familiares, síntomas habituales, número de exacerbaciones, existencia de otras patologías asociadas y tratamiento actual. Dentro de la anamnesis se recogieron los datos clínicos y antecedentes personales para calcular el cuestionario clínico predictivo PICADAR. Estos datos incluyen básicamente los antecedentes perinatólogicos (edad gestacional, distrés respiratorio al nacer, necesidad de ingreso o de cuidados intensivos, *situs inversus*, cardiopatía) y la clínica otorrinolaringológica (rinitis perenne, patología ótica crónica).

En la exploración física se recogieron datos sobre la antropometría, auscultación pulmonar, la existencia de acropaquias y la saturación basal de oxígeno.

Se calcularon los percentiles y z-scores de peso, talla e índice de masa corporal en todos los pacientes a partir de los valores de referencia del estudio Millennials' Growth (Carrascosa et al (103)).

Se recogió la información y fecha del cepillado de la mucosa nasal del estudio ultraestructural previamente realizado.

3.3.4.2. Datos radiológicos

Se recogieron los datos sobre los hallazgos radiológicos de la última radiografía de tórax realizada y de la tomografía axial computarizada pulmonar en caso de que la hubiera.

3.3.4.3. Exploración funcional respiratoria

El mismo día de la visita, en aquellos pacientes capaces de colaborar, se realizó una espirometría con un equipo de espirometría *Jaeger MasterScope* (*Carefusion*, Hoechberg, Alemania). Se recogieron los datos de capacidad vital forzada (FVC), volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV₁) y el flujo máximo espiratorio medio (MMEF).

La espirometría se realizó siguiendo las recomendaciones y los estándares de la *American Thoracic Society* (ATS) y la *European Respiratory Society* (ERS) (104,105).

A parte de la medida en valores absolutos, se calcularon los índices de z-score según las ecuaciones de la *Global Lung Function Initiative* (GLI) (106).

3.3.4.4. Determinación del óxido nítrico nasal y exhalado

En aquellos pacientes colaboradores, se realizó la medida de la fracción de óxido nítrico exhalado y nasal con el equipo *CLD 88sp NO-analyzer* (*ECO MEDICS*, AG, Duerten, Switzerland).

La determinación de óxido nítrico se realizó siguiendo las recomendaciones y los estándares de la guía conjunta de la ATS y la ERS (107).

3.3.4.5. Cultivo de esputo o frotis faríngeo

Se realizó un cultivo de esputo o de frotis faríngeo, en aquellos pacientes en los que no se pudiera obtener una muestra de esputo, para realizar un cultivo microbiológico bacteriano, de acuerdo con la práctica clínica habitual.

3.3.4.6. Estudio de microscopio electrónico

Para la realización del estudio de microscopio electrónico se habían remitido a los pacientes del Hospital Vall d'Hebron al Hospital del Mar de Barcelona. La Dra. Rosa Busquets del Servicio de Pediatría realizaba la extracción de la muestra y el Dr. Lloreta del Servicio de Anatomía Patológica realizaba el análisis.

3.4. Estudio 3. Utilidad como pruebas de despistaje de las escalas de síntomas (cuestionario PICADAR) y óxido nítrico nasal (muestra 2)

En la muestra estudiada de pacientes se valoró la utilidad como pruebas de despistaje del cuestionario de síntomas PICADAR (tabla 1) y del óxido nítrico nasal.

3.5. Estudio 4. Comprobación de la utilidad diagnóstica de la motilidad ciliar, y de la utilidad como pruebas de despistaje de las escalas de síntomas (cuestionario PICADAR) y óxido nítrico nasal en una muestra ampliada de pacientes (muestra 3)

Posteriormente se valoró la utilidad de la motilidad ciliar, del cuestionario PICADAR y del óxido nítrico nasal en una muestra más amplia de pacientes estudiada de forma consecutiva durante los años 2010 - 2020. Se solicitó la aprobación del Comité de Ética del Hospital Vall d'Hebron y se solicitó el consentimiento informado de los pacientes o sus padres para la inclusión en el estudio.

3.6. Aspectos éticos

Todos los participantes fueron informados de las características y objetivos de los estudios y se garantizó en todo momento la confidencialidad de la información y el anonimato de estos, guardando su identidad de forma estrictamente confidencial. Los estudios se llevaron a cabo con la aprobación del Comité de Ética e Investigación Clínica del Hospital Vall d'Hebron (Anexos 3, 4 y 5).

Las pruebas que se realizaron no fueron invasivas, y no se han descrito complicaciones graves en la toma de la muestra por cepillado nasal. Ocasionalmente puede producirse un pequeño sangrado que se autolimita en unos minutos. Es habitual el lagrimeo del ojo por reflejo de la glándula lagrimal ipsilateral. Además, en el estudio con individuos sanos, los menores a los que se tomaba la muestra estaban anestesiados porque iban a someterse a un proceso quirúrgico, por lo que no notaron ninguna molestia.

3.7. Realización de la biopsia por cepillado de la mucosa nasal

Los pacientes no tenían que referir ninguna infección de vías aéreas superiores ni inferiores en las 6 semanas previas. A ser posible, tendrían que haber suspendido su medicación habitual (inhaladores, aerosoles nasales) durante las últimas 24 horas antes de realizar la prueba.

Con el paciente sentado y sujetado por los padres en los casos que fuera necesario, se procedió a la recogida de la muestra mediante cepillado en el cornete nasal inferior con un escobillón para citología de 2 mm sin anestesia local. Para ello, se introducía el cepillo por la narina y se frotaba contra la mucosa del epitelio respiratorio en el lugar indicado durante tres segundos.

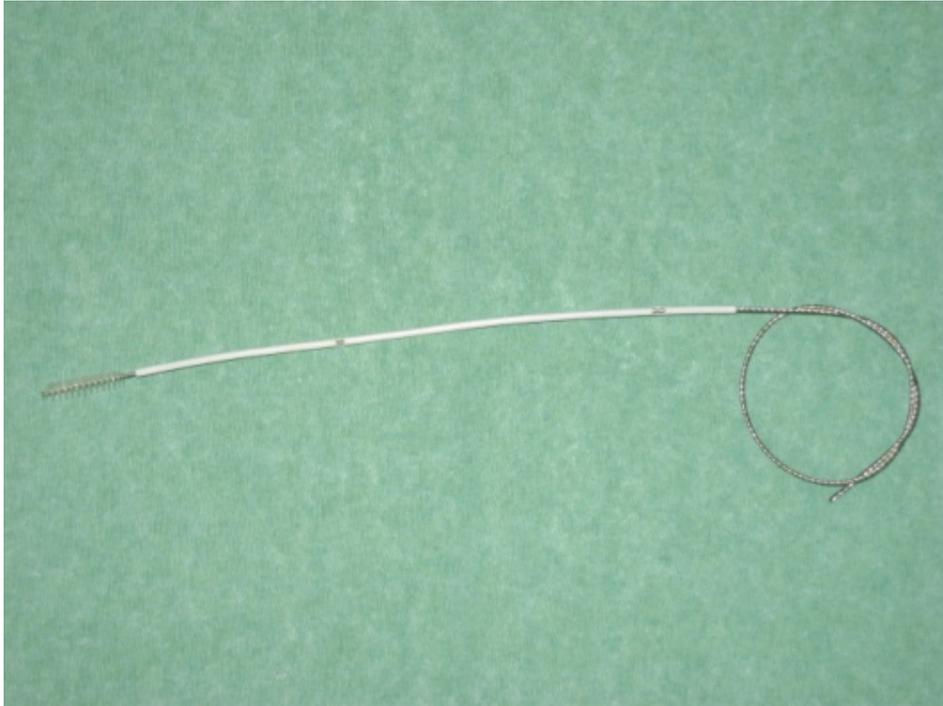


Figura 8. Cepillo de 2 mm de diámetro para cepillado mucosa nasal

La muestra se colocó en un tubo con 2,5 ml de medio de cultivo 199® con 20nM de HEPES® tamponado a pH 7,4 y antibióticos (estreptomicina 100 µg/ml, penicilina 100 µg/ml y anfotericina B 2,5 µg/ml). Tras colocar el cepillo inmediatamente en este medio, se procedió a agitarlo vigorosamente durante 10 segundos para que las células adheridas al cepillo se desprendieran y se dispersaran por el medio de cultivo.



Figura 9. Tubos de medio de cultivo para preservación de la muestra de epitelio respiratorio para su análisis de motilidad ciliar

3.8. Estudio de la motilidad ciliar mediante videomicroscopía óptica de alta velocidad. Análisis de la frecuencia y patrón de batido ciliar

A los 20-30 minutos de la recogida de la muestra, se colocaban una o dos gotas en un porta con unos cubres pequeños pegados en los laterales para que un cubre más largo que se colocaba encima, se sustentara por los de los laterales creando así un pequeño espacio que impedía que las células ciliadas de la muestra se comprimieran y no se pudiera ver el batido ciliar con normalidad.

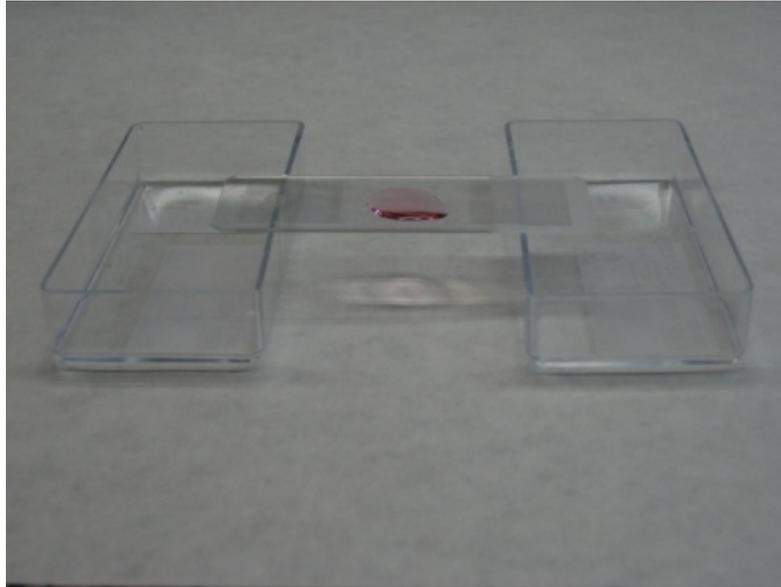


Figura 10. Porta con 2 cubres en los extremos y muestra de medio con células ciliadas en la parte central para posteriormente cubrirlo con otro cubre de mayor longitud y analizar la motilidad ciliar

El porta con la muestra de epitelio de células ciliadas se colocó en una placa caliente (37°C) de un microscopio *Olympus BX41* con contraste de fases y se dejó durante 20-30 minutos para que la muestra homogenizara la temperatura. La muestra se examinó usando una interfase de x20-40 para la localización de los ejes ciliados y x100 con inmersión de aceite para la grabación.

El batido ciliar se grabó con una videocámara digital de alta velocidad (*MotionPro® X4, IDT, CA, USA*) conectada a un microscopio óptico, a la frecuencia de 500 fotogramas por segundo. La cámara permite la reproducción de cada fotograma a velocidad reducida o fotograma a fotograma. El análisis de las imágenes se realizó con el programa *MotionPro® X4*.



Figura 11. Microscopio óptico conectado a videocámara digital de alta velocidad a su vez conectada a ordenador para visualizar y grabar la motilidad ciliar. El microscopio óptico tiene una pletina con control de temperatura.

Se registraron, proyectados en un monitor de alta resolución, 10 bordes de epitelio ciliado de perfil lateral (donde se intentaba tener un mínimo de 10 células ciliadas en cada uno) y 2 ejes de visión desde arriba. Se analizaron fotograma a fotograma para observar el patrón de batido ciliar. Se calcularon tres parámetros:

- *Frecuencia de batido ciliar.* Se midió directamente a partir de la grabación de 5 ciclos de batido de cada grupo de cilios, calculándola en un mínimo de 3 y máximo de 10 células ciliadas y 2 veces en cada una de éstas, en los 10 bordes epiteliales registrados. A partir de la grabación de estos 5 ciclos de cada grupo de cilios, se convirtió éste en la frecuencia de batido ciliar usando la fórmula $500 / (n^{\circ} \text{ de fotogramas cada diez batidos}) \times 5$.

- *Índice de discinesia.* Porcentaje medio de células que tienen patrón discinético en la muestra tras analizar por separado y célula a célula, los 10 bordes de epitelio ciliado.
- *Índice de inmovilidad ciliar* observado (frecuencia de batido de 0 Hz), mediante la fórmula (nº de registros de inmovilidad / total de registros en la muestra) x 100.

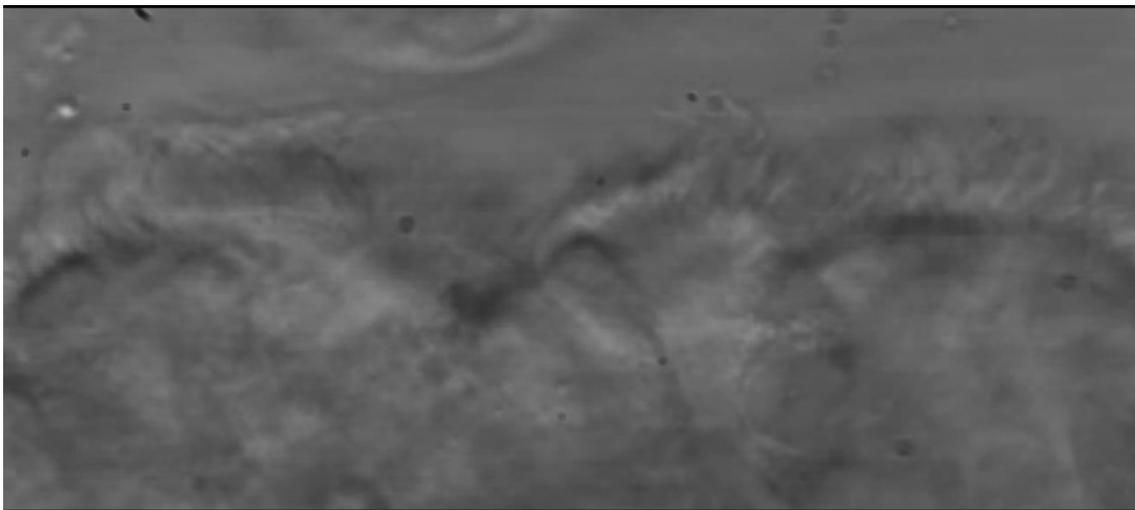


Figura 12. Visión de epitelio respiratorio ciliado con visión lateral a través de videocámara digital de alta velocidad

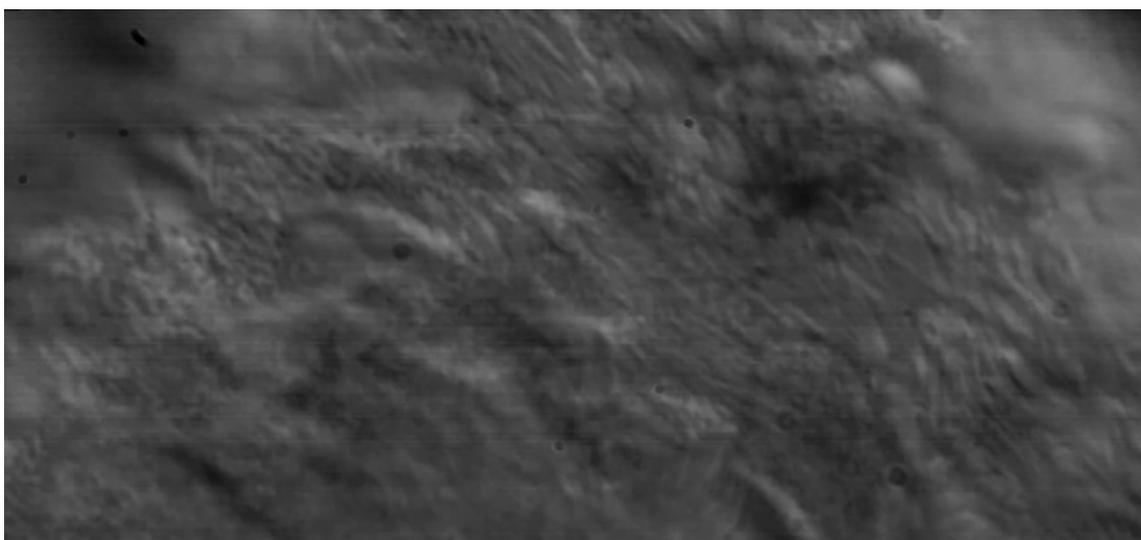


Figura 13. Visión de epitelio respiratorio ciliado con visión desde arriba a través de videocámara digital de alta velocidad

3.9. Análisis de los datos

Se realizó un análisis descriptivo de frecuencias de las variables cualitativas y cuantitativas y se calcularon los estadísticos de tendencia central (media o mediana) y dispersión para las variables cuantitativas [desviación estándar (DS), intervalo de confianza al 95%, rango].

Para realizar las comparaciones entre las diferentes variables cuantitativas o cualitativas se aplicaron técnicas de análisis paramétricas o no paramétricas en función de su normalidad. Para la comparación de las variables cualitativas se utilizó la prueba de Chi-cuadrado. Para la comparación de las variables cuantitativas se utilizó la prueba de Kruskal Wallis en caso de distribución no paramétrica y la prueba t de Student o el análisis de la varianza de una vía en caso de distribución normal.

Para el análisis de las pruebas diagnósticas se calcularon los siguientes parámetros: sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo y análisis de las curvas ROC.

Para realizar estos cálculos se consideró un caso como diagnóstico cierto de discinesia ciliar tras la valoración conjunta de los siguientes requisitos: clínica compatible con ausencia de otra enfermedad, valor de óxido nítrico nasal, alteraciones diagnósticas en el microscopio electrónico, resultado patológico del estudio de motilidad repetido en 2-3 ocasiones, estudio de inmunofluorescencia y estudio genético de mutaciones relacionadas con la enfermedad positivo. Todos estos criterios se valoraron de manera retrospectiva tras la incorporación de nuevas técnicas diagnósticas en nuestro laboratorio en los años 2010 – 2020.

- *Sensibilidad*: Probabilidad de que el resultado de una prueba sea positivo cuando la enfermedad está presente (tasa de verdaderos positivos).

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{Verdaderos positivos}}{\text{Verdaderos positivos} + \text{Falsos negativos}}$$

- *Especificidad*: Probabilidad de que el resultado de una prueba sea negativo en un sujeto sano (tasa de verdaderos negativos).

Especificidad = verdaderos negativos / verdaderos negativos + falsos positivos

- *Valor predictivo positivo (VPP)*: probabilidad de que la enfermedad esté presente cuando la prueba es positiva.

VPP = Sensibilidad * prevalencia / sensibilidad * prevalencia + (1-especificidad) * (1 – prevalencia)

- *Valor predictivo negativo (VPN)*: probabilidad de que la enfermedad no esté presente cuando la prueba es negativa.

VPN = Especificidad * (1 – prevalencia) / (1 – sensibilidad) * prevalencia + especificidad * (1 – prevalencia)

Para el cálculo de los valores predictivos positivos y negativos se asumió que el número de casos positivos y negativos en la muestra reflejaba la prevalencia de la enfermedad en esa población.

Los intervalos de confianza que se calcularon para la sensibilidad y especificidad son los intervalos de confianza “exactos” de Clopper – Pearson.

- *Curvas ROC (Receiver Operating Characteristic)*. En la curva ROC se recoge de forma gráfica la tasa de verdaderos positivos (sensibilidad) en función de la tasa de falsos positivos (100 – especificidad) para diferentes puntos de corte de un parámetro. Cada punto de la curva ROC representa una pareja de sensibilidad / especificidad correspondiente a un umbral de decisión. Se calculó también el *área bajo la curva ROC*, que es una medida de cómo puede un parámetro distinguir entre dos grupos diagnósticos (enfermo / normal).

Se consideraron significativos valores de p inferiores a 0,05.

Los análisis se han realizado con el paquete estadístico *MedCalc Statistical Software version 19.1.3* (*MedCalc Software bvba, Ostend, Bélgica*).

RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1. Valores de normalidad de motilidad ciliar con videomicroscopía óptica de alta velocidad

Realizamos un análisis de motilidad en adultos voluntarios sanos y en niños que iban a someterse a un acto quirúrgico programado. Ninguno de ellos tenía antecedentes de patología otorrinolaringológica recurrente, bronquitis de repetición, inmunodeficiencias, patología de base importante ni eran fumadores; así que la escala predictiva PICADAR fue igual a 0 en todos los casos. Todos habían estado libres de síntomas respiratorios durante las 6 semanas previas a realizar el procedimiento. Todos los participantes firmaron el consentimiento informado.

Se incluyeron un total de 30 casos, 18 (60%) varones y 12 (40%) mujeres. La edad media de las personas sanas incluidas en el estudio fue de 17,82 años (mediana 11,72 años). El individuo de menor edad tenía 1,14 años y el mayor 50,71 años. Diecisiete eran menores de 18 años y el resto eran adultos. Todos eran de origen caucásico excepto un niño en que ambos progenitores eran latinoamericanos.

En nuestro grupo de población sana y con nuestra metodología para el estudio de la motilidad ciliar, encontramos una frecuencia de batido media de 9,94 Hz con una desviación estándar (DS) de 0,69, con lo que establecimos los valores de normalidad para la frecuencia de batido entre 8,56 y 11,32 Hz.

El índice de discinesia medio fue de 12,10% con una DS de 4,78, con lo que establecimos el valor de normalidad del índice de discinesia ciliar entre 2,54 y 21,66%.

El índice de inmovilidad medio fue de 0,13% con una DS de 0,69, con lo que establecimos el valor de normalidad del índice de inmovilidad ciliar entre 0 y 1,51%.

De esta manera, establecimos unos valores de referencia normales para poderlo aplicar en la valoración de nuestros pacientes (Tabla 4).

Debido a que la muestra de personas sanas incluía adultos y niños, se compararon los valores del estudio de motilidad calculados en ambos grupos. En el grupo de menores de 18 años, la frecuencia media de batido fue de 10,16 Hz y en adultos de 9,65 Hz. En el grupo de adultos el valor medio la frecuencia media fue menor, aunque no significativamente diferente ($p=0,054$). El índice de discinesia medio fue de 10,74% en el grupo de niños *versus* 13,88% en el de adultos. La media del índice de inmovilidad fue de 0,22% en los niños y 0% en los adultos. Ambos índices no tuvieron diferencias significativas entre los dos grupos ($p= 0,075$ y $p=0,38$).

Tabla 4. Valores de motilidad ciliar en la muestra de pacientes sanos

	Muestra total	Pacientes pediátricos (n=17)	Pacientes adultos (n=13)	p
Frecuencia de batido (Hz), media (DS) Rango de normalidad	9,94 (0,69) 8,56 - 11,32	10,16 (0,63)	9,65 (0,67)	0,054
Índice de discinesia (%), media (DS) Rango de normalidad	12,10 (4,78) 2,54 - 21,66	10,74 (4,20)	13,88 (5,06)	0,075
Índice de inmovilidad (%), media (DS) Rango de normalidad	0,13 (0,69) 0 - 1,51	0,22 (0,92)	0	0,380

4.2. Comparación de la utilidad diagnóstica del microscopio electrónico con el estudio de la motilidad ciliar

En la revisión del conjunto de niños a los cuales se les había realizado un cepillado de la mucosa nasal para estudio con microscopía electrónica por sospecha clínica de discinesia ciliar entre los 2000 y 2008, el número de pacientes que cumplían los criterios de inclusión fue de 68 (40 niños y 28 niñas). La edad media en la que se realizó el estudio de microscopía electrónica fue de 7,8 años. Se realizó un diagnóstico de presunción de discinesia ciliar primaria por tener un porcentaje mayor o igual de 60% de algún defecto en la ultraestructura ciliar en 32 casos, 26 casos no cumplían el porcentaje de lesión detectada para ser diagnosticados de discinesia ciliar primaria y en 10 los resultados eran inconcluyentes.

De los 68 pacientes, participaron en el estudio 47. Las causas de no incluirse los pacientes restantes fueron por no localización o por no dar el consentimiento para participar en el estudio. La edad media de este grupo cuando se realizó el estudio de microscopía electrónica fue de 6,62 años (rango 4,8 meses – 14,4 años). La edad media de los pacientes en el momento de inclusión en el estudio fue de 11 años. El paciente de menor edad tenía 2,38 años y el mayor 18,95 años. Dos pacientes ya habían cumplido los 18 años, el resto eran menores de edad.

Se incluyeron 29 niños (61,7%) y 18 niñas (38,3%) (Tabla 5). Todos los pacientes eran de origen caucásico excepto un niño que uno de sus progenitores era latinoamericano.

4.2.1. Descripción de la muestra. Características clínicas generales y antecedentes

De los 47 pacientes incluidos en el estudio, sólo en un caso había antecedentes de consanguinidad.

El 14,9% fueron prematuros y el 23,4% precisaron oxígeno al nacimiento (8,5% junto con ventilación mecánica durante una media de 4,25 días). El 19,5% fueron diagnosticados de taquipnea transitoria del recién nacido durante los primeros días de vida (Tabla 6).

De las otras patologías que podemos encontrar asociadas a la discinesia ciliar primaria, el 10,6% de casos tenían *situs inversus* asociado, ninguno tenía heterotaxia. Dos pacientes (4,3%) tenían una cardiopatía congénita. No hubo ningún caso con hidrocefalia asociada. El 34% de los niños padecían al menos una alergia a neuroalergenos y el 2,1% tenían pólipos nasales. El reflujo gastroesofágico estaba presente en un 17% en nuestros pacientes.

El 10,6% tenían antecedentes familiares de primer o segundo grado de bronquiectasias y 4,3% de discinesia ciliar primaria (2 hermanas afectas de DCP). En el 29,8% de los casos había antecedentes de asma en la familia y en el 21,3% de otitis de repetición.

4.2.2. Descripción de la muestra. Síntomas clínicos y escala PICADAR

En cuanto a la presentación de los síntomas típicos de esta enfermedad, los padres referían que su hijo/a presentó tos desde el nacimiento en el 27,7% de los casos y rinorrea en el 29,8% (Tabla 6).

La tos apareció a una media de edad de 15 meses (mediana 4,5 meses), siendo en el momento de la inclusión en el estudio productiva en la mayoría de los casos

(63,8%), pero se mantenía durante todos los meses del año sólo en 21,3% de los pacientes. En la mayoría de los casos (42,6%) la tos estaba presente durante todo el día. El 66% de los niños refería expectorar diariamente o de manera ocasional siendo ésta purulenta (amarillo-verdosa) en el 27,6% de los casos (Tabla 7).

La rinorrea apareció a una media de edad de 16,5 meses de edad (mediana 4,5 meses) y era persistente sólo en el 25,5% y purulenta de manera habitual (amarillo-verdosa) en el 27,7% de los casos (Tabla 7).

El 48,9% tenían episodios de sibilantes ocasionales. La media de cuadros de bronquitis en el último año fue de 2,2 episodios al año, aunque con un rango amplio que iba de ningún episodio a 2 episodios mensuales. Sólo 2 pacientes presentaron una neumonía en el último año (Tabla 7).

La media de exacerbaciones respiratorias referidas (entendiéndose como infecciones respiratorias de vías altas o bajas) fue de 3,68 episodios en el año previo a la visita de inclusión. Cuatro pacientes precisaron ingreso por este motivo (Tabla 7).

El ejercicio físico era bien tolerado en la mayoría de los casos (78,7%).

El 21,3% de los pacientes refería tener sensación de oídos tapados de manera habitual y el 14,9% de sordera. El número de episodios anuales de otitis fue de 0,34 episodios con un rango de ninguno a 4 episodios. Cinco pacientes tenían antecedentes de intervención de drenajes transtimpánicos (3 de ellos en 2 ocasiones) siendo la edad media de la primera intervención a los 4,8 años. Sólo un paciente había padecido una sinusitis aguda en el último año (Tabla 7).

Teniendo en cuenta todos estos síntomas sugestivos de discinesia ciliar primaria, se calculó la escala PICADAR en cada uno de los pacientes, siendo la media del grupo igual a 3,98 con un rango de 0 a 10 (Tabla 9).

4.2.3. Descripción de la muestra. Tratamientos recibidos

El 46,9% recibían algún tratamiento inhalado diario (corticoide o corticoide combinado con beta-2 adrenérgico de larga duración asociado) y el 29,8% azitromicina oral en tandas de tres días semanales como tratamiento antiinflamatorio. Ocho pacientes recibían montelukast oral y 2 inmunoterapia subcutánea. Únicamente 3 pacientes recibían antibiótico nebulizado como tratamiento habitual (tobramicina, colimicina o ambos alternos). Para el tratamiento de las exacerbaciones respiratorias, la mayoría (85,1%) recibían azitromicina o un antibiótico beta-lactámico vía oral. El 29,8% referían realizar fisioterapia respiratoria de manera habitual con una media de 3,27 días a la semana. En cuanto al tratamiento por problemas otorrinolaringológicos, el 21,3% recibía tratamiento de corticoides nasales en tandas, el resto no recibía ningún tratamiento por este motivo.

4.2.4. Descripción de la muestra. Exploración física

En el día de la visita de inclusión y de la realización del primer estudio de motilidad ciliar, los pacientes referían estabilidad clínica en las últimas 6 semanas. Se realizó una exploración física previo a la toma de la muestra.

En la antropometría, el peso medio calculado estaba en el z-score 0,35 (DS 1,91) y la talla en el z-score en -0,32 (DS 1,30). El índice de masa corporal medio fue de 20,06 (DS 4,90) y se situaba en el z-score 0,50 (DS 1,99) (Tabla 5).

La auscultación respiratoria fue normal en el 66% de los casos, aunque también se auscultaron subcrepitantes localizados (23,4%), roncus generalizados (4,3%), sibilantes generalizados/localizados (2,1%) e hipoventilación localizada (2,1%). Ningún paciente presentaba tiraje ni acropaquias.

La saturación de oxígeno media fue de 98,9% (mínima 82% en un paciente con cardiopatía cianósante, siendo para el resto de los casos sin este antecedente del 95%)

En el examen otorrinolaringológico, un 19,1% de los pacientes tenían tímpanos deslustrados por otitis serosa bilateral y se observó rinorrea purulenta en 7 casos (14,9%).

4.2.5. Descripción de la muestra. Pruebas analíticas y radiológicas

Treinta y tres (70,2%) de los pacientes tenían realizada una prueba del sudor y un estudio inmunológico básico en 44 casos (93,6%). Sólo un paciente tenía una hipogammaglobulinemia leve con disminución de IgG no tributaria de tratamiento específico. El resto de los pacientes tenían dichas pruebas normales.

El hallazgo radiológico más comúnmente encontrado en la radiología simple de tórax realizada previamente fue la presencia de una atelectasia o condensación (38,3%) seguido de bronquiectasias (19,1%) y dextrocardia (10,6%). Cuarenta y cuatro pacientes tenían también realizada una tomografía axial computarizada de alta resolución (TACAR) previa. La alteración más frecuente encontrada en el último estudio (en el caso que tuvieran más de uno) fue la presencia de bronquiectasias en el 57,4% de los pacientes, siendo normal en 11,4% de los casos (Tabla 6). Las otras alteraciones más frecuentes encontradas fueron el patrón heterogéneo de ventilación (20%), el hallazgo de una atelectasia/condensación segmentaria o subsegmentaria (15,7%) y el engrosamiento peribronquial (12,8%). Los lóbulos pulmonares más afectados fueron el lóbulo medio e inferior izquierdo (28,3% cada uno), inferior derecho (21%) y língula (18%).

Únicamente 6 pacientes tenían realizado un estudio radiológico de senos que era anormal (mostraba signos de sinusitis) en el 50% de los casos.

4.2.6. Descripción de la muestra. Estudios microbiológicos

Se recogió una muestra de esputo (o frotis faríngeo en el caso de que el paciente no fuera capaz de expectorar) previo al estudio de motilidad ciliar inicial en aquellos pacientes que accedieron a realizarlo (14 muestras de esputo y 31 de frotis). Se aisló más frecuentemente el *Streptococcus pneumoniae* (12,5%) seguido de *Haemophilus influenzae* (8,3%), *Staphylococcus aureus* (4,2%) y *Pseudomonas aeruginosa* (2%). En 35 cultivos (73%) el resultado fue negativo. Se revisaron los cultivos de esputo y frotis previos, y se encontró que, entre los casos positivos, los gérmenes más frecuentemente aislados fueron: *Haemophilus influenzae* (41,1%), *Streptococcus pneumoniae* (29,5%), *Staphylococcus aureus* (14,7%) y *Pseudomonas aeruginosa* (14,7%).

4.2.7. Descripción de la muestra. Función pulmonar

El mismo día de la visita inicial para el estudio de motilidad, se realizó una espirometría forzada. Colaboraron 45 pacientes. Se midieron los parámetros en valores absolutos y se calcularon los índices de z-score según las ecuaciones de la *Global Lung Function Initiative* (GLI). Los pacientes de nuestro estudio tenían una función pulmonar con valores medios expresados en porcentajes y z-score para FVC 93,5% (-0,43), FEV₁ 89,6% (-0,95), FEV₁/FVC 80,5% (-0,92) y MMEF 74,2% (-1,23) (Tabla 8).

4.2.8. Determinación de óxido nítrico exhalado y nasal

La medida del óxido nítrico exhalado y nasal se realizó en todos aquellos pacientes que por edad y/o colaboración técnica fueran capaces de realizarla (44 y 34 respectivamente). La media del óxido nítrico exhalado fue de 16,4 ppb (rango 5-59 ppb). La media del óxido nítrico nasal fue de 608,7 ppb (rango 3,5-1875 ppb) y expresado como flujo fue de 195,9 nL/min de media con un rango de 0,9 a 618,7 nL/min (Tabla 9).

4.2.9. Estudio de motilidad ciliar

Se realizó el cepillado de mucosa nasal en los 47 pacientes, siendo valorable la muestra para el estudio de motilidad en todos los casos. En caso de obtener un resultado dudoso, se repitió el estudio (estando de nuevo el paciente libre de síntomas respiratorios en las últimas 6 semanas) una segunda vez en 23 pacientes y una tercera vez por el mismo motivo y con las mismas condiciones en 4 pacientes. En todos los casos se obtuvieron ejes laterales y ejes con visión desde arriba (que permiten una mejor valoración del patrón de motilidad).

- *Primer estudio de motilidad:* Se realizó el mismo día que los pacientes se incluían en el estudio. La media de frecuencia de batido ciliar de la mucosa nasal fue de 8,07 Hz (DS 3,25) con un índice de discinesia medio del 46,6% y de inmovilidad del 11,8%. El patrón fue normal en el 44,7% de los casos, discinético en el 44,7%, estático en el 8,5% y rotatorio en 1 caso (2,1%). De esta manera, teniendo de referencia los valores obtenidos en el estudio con población sana, se concluyó que el estudio de motilidad (frecuencia y patrón de batido) fue normal en 14 casos (29,8%) y anormal en 33 (70,2%) (Tabla 10).

- *Segundo estudio de motilidad:* Se realizó en aquellos casos que se consideró que el tipo de patrón de motilidad era sugestivo de discinesia ciliar secundaria. Se realizó en 20 pacientes. La media de frecuencia de batido ciliar de la mucosa nasal fue de 7,78 Hz (DS 3,02) con un índice de discinesia medio del 45,3% y de inmovilidad del 15%. El patrón fue normal en el 21,4% de los casos, discinético en 10,6%, estático 6,4% y rotatorio 2,1% (1 caso). De esta manera, teniendo de referencia los valores obtenidos en el estudio con población sana, se concluyó que el estudio de motilidad (frecuencia y patrón de batido) fue normal en 10 casos (21,3%) y anormal también en 10 (21,3%); el 57,4% restantes ya estaban catalogados como estudio normal o alterado por el primer estudio (Tabla 10).
- *Tercer estudio de motilidad:* Se realizó en aquellos casos que se consideró que el tipo de patrón de motilidad era sugestivo de discinesia ciliar secundaria. Se realizó en 4 pacientes. La media de frecuencia de batido ciliar de la mucosa nasal fue de 7,42 Hz (DS 2,26) con un índice de discinesia medio del 71% y de inmovilidad del 39,2%. El patrón fue discinético en todos los casos. De esta manera, teniendo de referencia los valores obtenidos en el estudio con población sana, se concluyó que el estudio de motilidad (frecuencia y patrón de batido) fue anormal en 4 casos (8,5%); el 91,5% restantes ya estaban catalogados como estudio normal o alterado por el primer o segundo estudio (Tabla 10).

De forma global, tras completar y analizar los tres estudios, se concluyó que el estudio de motilidad (frecuencia y patrón de batido) fue normal en 25 casos (53,2%) y anormal en 22 (46,8%) (Tabla 10).

4.2.10. Catalogación diagnóstica de los pacientes

Inicialmente, con el estudio realizado mediante microscopía electrónica (única prueba diagnóstica disponible en ese momento), nuestro grupo de pacientes tenía un diagnóstico sugestivo de discinesia ciliar ($\geq 60\%$ de defectos en la ultraestructura) en 29 casos (61,7%) siendo el defecto más frecuente el déficit de brazo interno de dineína junto o no con el del brazo externo. Un caso tenía un resultado no concluyente (Tabla 10).

Como hemos mencionado, nuestro estudio de motilidad concluyó que el estudio de motilidad (frecuencia y patrón de batido) fue normal en 25 casos (53,2%) y anormal en 22 (46,8%).

Para llegar a un diagnóstico de certeza de discinesia ciliar primaria se analizaron conjuntamente los síntomas clínicos, las cifras de óxido nítrico nasal, los resultados del estudio de motilidad ciliar y los resultados del estudio genético para detectar mutaciones relacionadas con esta enfermedad. Todo ello, permitió catalogar a cada paciente en “paciente sin discinesia ciliar primaria” (30 casos, 63,8%), “paciente afecto de discinesia ciliar primaria” (11 casos, 12,8%) y “paciente con estudio no concluyente” (6 casos, 12,8%)

El estudio genético que se ha mencionado previamente se realizó en un total de 12 pacientes de los cuales 11 están catalogados de “paciente afecto de discinesia ciliar primaria” y 1 de “paciente con estudio no concluyente” en el cual este estudio fue negativo. Se obtuvo un resultado positivo (dos mutaciones compatibles con el diagnóstico de discinesia ciliar primaria) en 9 de los 11 pacientes catalogados como “afectos de discinesia ciliar primaria”. Los otros dos casos están pendientes de estudio de exoma. Los genes en los cuales se encontraron las mutaciones fueron:

ARMC4, CCDC39 (2 pacientes), CCDC40, CFAP300, DNAH5 (2 pacientes) y RSPH1 (2 pacientes).

4.2.11. Características clínicas de los pacientes según la catalogación diagnóstica

Se analizaron las diferentes características clínicas y los datos obtenidos en las pruebas diagnósticas según la catalogación final otorgada en cada grupo de pacientes.

4.2.11.1. Características demográficas y antropométricas

Los tres grupos fueron similares en cuanto a edad y proporción de varones y mujeres (Tabla 5).

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en el peso e índice de masa corporal, siendo menor en los afectados de discinesia ciliar primaria. En cuanto a la talla, no hubo diferencias entre los tres grupos (Tabla 5).

Tabla 5. Características demográficas y antropométricas en los diferentes grupos de pacientes

	Muestra total	Paciente sin discinesia ciliar primaria (n=30)	Paciente afecto de discinesia ciliar primaria (n=11)	Paciente con estudio no concluyente (n=6)	p
Edad, años	11,00 (3,80)	10,73 (2,70)	10,55 (5,60)	13,21 (4,56)	0,316
Sexo, V:M	29:18	18:12	6:5	5:1	0,481
Peso, z-score	0,35 (1,91)	0,63 (1,58)	-0,97 (1,28) §	1,34 (3,21)	0,019
Talla, z-score	-0,32 (1,30)	-0,08 (1,28)	-1,01 (1,15)	-0,27 (1,46)	0,125
IMC, z-score	0,50 (1,99)	0,68 (1,33)	-0,77 (1,17) †	1,93 (4,16)	0,017

V: varones; M: mujeres; IMC: índice masa corporal

§ p<0,05 entre paciente afecto de DCP y paciente sin DCP o no concluyente
 † p<0,05 entre paciente afecto de DCP y paciente no concluyente

4.2.11.2. Características clínicas presentes al nacimiento

La mayoría de los pacientes fueron recién nacidos a término en los tres grupos. El hecho de padecer taquipnea transitoria del recién nacido fue más frecuente en el grupo de discinesia ciliar primaria, aunque no el hecho de precisar oxigenoterapia al nacimiento o requerir ventilación mecánica (Tabla 6).

Los padres del grupo de los pacientes afectados de DCP, referían el inicio de la tos y rinorrea desde el nacimiento con mayor frecuencia que en el resto de los grupos (Tabla 6).

No hubo diferencias entre los grupos con el hecho de tener *situs inversus* o no, aunque en el grupo de discinesia ciliar primaria era donde había más casos (Tabla 6).

Tabla 6. Características clínicas presentes al nacimiento relacionadas con la discinesia ciliar primaria en los diferentes grupos de pacientes

	Muestra total	Paciente sin discinesia ciliar primaria (n=30)	Paciente afecto de discinesia ciliar primaria (n=11)	Paciente con estudio no concluyente (n=6)	p
RN a término	40 (85,1%)	24 (80%)	10 (90,9%)	6 (100%)	0,375
Oxigenoterapia	11 (23,4%)	5 (16,7%)	5 (45,4%)	1 (16,7%)	0,143
Ventilación mecánica	4 (8,5%)	2 (6,7%)	1 (9,1%)	1 (16,7%)	0,723
Taquipnea transitoria	9 (19,1%)	3 (10%)	6 (54,5%)	0	0,003
Tos al nacimiento	13 (27,7%)	5 (16,7%)	7 (63,6%)	1 (16,7%)	0,010
Rinorrea al nacimiento	14 (29,8%)	6 (20%)	7 (63,6%)	1 (16,7%)	0,019
<i>Situs inversus</i>	5 (10,6%)	2 (6,7%)	3 (27,3%)	0	0,110

RN: recién nacido
%: se indica el porcentaje respecto al número de pacientes total del grupo

4.2.11.3. Características clínicas relacionadas con la discinesia ciliar primaria

Las características clínicas de los distintos grupos de pacientes en cuanto a síntomas respiratorios y otorrinolaringológicos se recogen en la tabla 7.

La tos productiva estaba presente en todos los pacientes con discinesia ciliar primaria y era más frecuente que en los otros grupos, aunque la tos persistente no fue más frecuente en ningún grupo en concreto.

La rinorrea persistente era más frecuente en el grupo de pacientes con discinesia ciliar primaria, aunque el hecho de ser purulenta o no era similar en todos los grupos.

No hubo diferencias entre los grupos con el hecho de tener más o menos episodios de sibilantes, expectorar de manera diaria o tener bronquiectasias.

Los pacientes con discinesia ciliar primaria y los no concluyentes referían tener más problemas de sensación de oídos tapados y sordera que los del grupo de no afectados.

En cambio, el número de episodios anuales de otitis media aguda fue similar en los tres grupos.

El único caso que tenía pólipos nasales se encontró en el grupo de afectados.

El número de exacerbaciones respiratorias anuales e ingresos hospitalarios fue similar en los diferentes grupos.

Tabla 7. Características clínicas relacionadas con la discinesia ciliar primaria en los diferentes grupos de pacientes

	Muestra total	Paciente sin discinesia ciliar primaria (n=30)	Paciente afecto de discinesia ciliar primaria (n=11)	Paciente con estudio no concluyente (n=6)	p
Tos continua	10 (21,3%)	4 (13,8%)	5 (45,5%)	1 (16,7%)	0,091
Tos productiva	30 (63,8%)	16 (55,2%)	11 (100%)	3 (50%)	0,021
Rinorrea persistente	12 (25,5%)	2 (6,9%)	9 (81,9%)	1 (16,7%)	0,001
Rinorrea purulenta	13 (27,7%)	7 (24,1%)	3 (27,3%)	3 (50%)	0,395
Episodios de sibilantes	23 (48,9%)	14 (48,3%)	5 (45,4%)	4 (66,7%)	0,673
Bronquiectasias (TACAR tórax)	27 (57,4%)	13 (46,4%)	8 (80%)	6 (100%)	0,275
Expectoración habitual	31 (66%)	17 (58,6%)	9 (81,8%)	5 (83,3%)	0,253
OMA último año	0,34 (0,81)	0,17 (0,38)	0,82 (1,47)	0,33 (0,52)	0,074
Sensación oídos tapados	10 (21,3%)	1 (3,6%)	6 (54,5%)	3 (50%)	0,001
Sordera	7 (14,9%)	1 (3,6%)	4 (36,4%)	2 (33,3%)	0,015
Pólipos nasales	1 (2,1%)	0	1 (0,1%)	0	0,188
Exacerbaciones último año	3,68 (3,99)	3,40 (4,60)	4,18 (3,09)	4,17 (1,83)	0,821
Ingresos último año	0,17 (0,67)	0,03 (0,183)	0,27 (0,65)	0,67 (1,63)	0,088

TACAR: tomografía axial computarizada de alta resolución; OMA: otitis media aguda
 %: se indica el porcentaje respecto al número de pacientes total del grupo

4.2.11.4. Función pulmonar

En los datos sobre la función pulmonar, se encontró diferencia estadísticamente significativa del FVC en pacientes sin DCP en los que fue menor que en pacientes con diagnóstico no concluyente. El FEV₁ fue significativamente menor en el grupo de afectados de discinesia ciliar primaria respecto al grupo de no afectados, al igual que el MMEF. La relación FEV₁/FVC fue menor de manera significativa en el grupo de

afectos respecto los otros dos (Tabla 8).

Tabla 8. Función pulmonar en los diferentes grupos de pacientes

	Muestra total	Paciente sin discinesia ciliar primaria (n=30)	Paciente afecto de discinesia ciliar primaria (n=11)	Paciente con estudio no concluyente (n=6)	p
FVC, z-score	-0,43 (1,32)	-0,08 (1,18) ‡	-0,76 (0,97)	-1,57 (1,83)	0,025
FEV₁, z-score	-0,95 (19,14)	-0,43 (1,36)	-2,07 (1,13) #	-1,55 (2,21)	0,008
FEV₁/FVC, z-score	-0,92 (1,36)	-0,68 (1,05)	-2,01 (1,37) §	-0,26 (1,86)	0,009
MMEF, z-score	-1,23 (1,67)	-0,83 (1,31)	-2,50 (1,61) #	-1,04 (2,50)	0,020

FVC: capacidad vital forzada; FEV₁: volumen espiratorio forzado en el primer segundo; MMEF: flujo máximo espiratorio medio

p<0,05 entre paciente afecto de DCP y paciente sin DCP

§ p<0,05 entre paciente afecto de DCP y paciente sin DCP o no concluyente

‡ p<0,05 entre paciente sin DCP y no concluyente

4.2.11.5. Características radiológicas y microbiológicas

Cuarenta y cuatro pacientes tenían realizada una tomografía axial computarizada de alta resolución previa. Se hallaron bronquiectasias en 57,4% de los pacientes (en 46,4% en el grupo de no afectados, 80% en el grupo de afectados y 100% en el grupo de no concluyentes) (Tabla 7). Los lóbulos pulmonares más afectados en el grupo de discinesia ciliar primaria fueron los inferiores (10), el lóbulo medio (9) y la llingula (4). En el resto de los grupos la distribución de la afectación fue similar.

En la muestra de esputo (o frotis faríngeo en el caso de que el paciente no fuera capaz de expectorar) recogida previo al estudio de motilidad ciliar inicial, no se encontraron diferencias entre los grupos. Únicamente cabe destacar, que la única *Pseudomonas aeruginosa* aislada estaba en el grupo de discinesia ciliar primaria. En los cultivos de esputo y frotis previos, se encontró que, entre los casos positivos, los

gérmenes más frecuentemente aislados en el grupo de no afectados fueron *Haemophilus influenzae* (6), *Streptococcus pneumoniae* (7), *Staphylococcus aureus* (5) y *Pseudomonas aeruginosa* (2). En el grupo de afectados de discinesia ciliar primaria fueron *Haemophilus influenzae* (8), *Streptococcus pneumoniae* (6), *Staphylococcus aureus* (2) y *Pseudomonas aeruginosa* (1). Y en el grupo de no concluyentes, *Haemophilus influenzae* (0), *Streptococcus pneumoniae* (1), *Staphylococcus aureus* (0) y *Pseudomonas aeruginosa* (2).

4.2.11.6. Pruebas de cribado de la discinesia ciliar primaria

El valor medio de puntuación en la escala predictiva PICADAR fue significativamente mayor en el grupo de pacientes con discinesia ciliar primaria respecto al resto (Tabla 9).

La medida del óxido nítrico nasal fue significativamente menor en el grupo de discinesia ciliar primaria respecto a los no afectados y los no concluyentes, tanto en sus valores expresados en ppb como en flujo (nL/min). El óxido nítrico exhalado también fue significativamente menor en este grupo, aunque sólo respecto al grupo de no afectados (Tabla 9).

Tabla 9. Resultados de las pruebas de cribado relacionadas con la discinesia ciliar primaria en los diferentes grupos de pacientes

	Muestra total	Paciente sin discinesia ciliar primaria (n=30)	Paciente afecto de discinesia ciliar primaria (n=11)	Paciente con estudio no concluyente (n=6)	p
PICADAR	3,98 (2,30)	2,97 (1,52)	6,91 (1,70) §	3,67 (2,07)	0,001
ONN (ppb)	608,73 (476,94)	806,45 (360,68)	131,19 (144,31) §	813,95 (734,08)	0,001
ONN (nL/min)	195,93 (161,20)	262,10 (115,76)	40,32 (44,56) §	254,12 (248,67)	0,001
ONE (ppb)	16,44 (12,46)	19,91 (13,78)	7,11 (2,09) #	13,67 (5,28)	0,019

ONN: óxido nítrico nasal; ONE: óxido nítrico exhalado; ppb: partes por billón
%: se indica el porcentaje respecto al número de pacientes total del grupo

§ p<0,05 entre paciente afecto de DCP y paciente sin DCP o no concluyente
p<0,05 entre paciente afecto de DCP y paciente sin DCP

4.2.11.7. Pruebas diagnósticas de discinesia ciliar primaria. Microscopio electrónico y estudio de motilidad

El estudio con microscopio electrónico fue normal o estuvo alterado en una proporción similar dentro del grupo de pacientes no afectados. La mayoría de los casos de pacientes afectados tenían un estudio patológico. Aunque cabe destacar que un paciente con discinesia ciliar primaria tenía el estudio de microscopía electrónica normal (Tabla 10).

El estudio de motilidad ciliar estuvo alterado en todos los pacientes afectados de discinesia ciliar primaria y fue normal en la mayoría de los no afectados. El valor de la frecuencia de batido ciliar fue significativamente menor en el grupo de discinesia ciliar primaria respecto al grupo de no afectados en el primer estudio y respecto a los dos otros grupos en el segundo estudio. El porcentaje de discinesia fue mayor en el grupo de discinesia ciliar primaria respecto a los otros grupos en el primer estudio; en cambio, en el segundo estudio la diferencia fue significativa entre los tres grupos,

aunque seguía siendo más elevado en el grupo de afectos. El índice de inmovilidad se mostró significativamente más elevado en el grupo de discinesia ciliar primaria que en los otros grupos en todos los estudios (Tabla 10).

Tabla 10. Resultados de las pruebas diagnósticas relacionadas con la discinesia ciliar primaria en los diferentes grupos de pacientes

	Muestra total	Paciente sin discinesia ciliar primaria (n=30)	Paciente afecto de discinesia ciliar primaria (n=11)	Paciente con estudio no concluyente (n=6)	p
Microscopio electrónico alterado	29 (61,7%)	15 (51,7%)	10 (90,9%)	4 (66,7%)	0,071
Motilidad ciliar alterada	22 (46,8%)	6 (20%)	11 (100%)	5 (83,3%)	0,001
Frecuencia de batido (Hz)					
1r estudio	8,07 (3,25)	9,09 (1,54)	5,13 (5,31) #	8,37 (3,25)	0,001
2º estudio	7,78 (3,02)	9,44 (0,71)	3,74 (3,22) §	8,65 (1,56)	0,001
3r estudio	7,42 (2,26)	-	5,73 (0,99)	9,10 (1,99)	0,139
Índice de discinesia (%)					
1r estudio	46,63 (32,38)	30,06 (20,48)	90,81 (15,87) §	48,48 (27,59)	0,001
2º estudio	45,35 (39,0)	18,35 (13,47) ¶¶	97,48 (5,04) ¶¶	47,60 (39,55) ¶¶	0,001
3r estudio	71 (33,58)	-	100,00 †	42,00 (4,24)	0,003
Índice de inmovilidad (%)					
1r estudio	11,81 (28,65)	0,86 (1,57)	46,21 (45,39) §	3,55 (3,82)	0,001
2º estudio	15,02 (32,26)	0	55,08 (41,52) §	0	0,001
3r estudio	39,20 (46,38)	-	78,40 (17,54) †	0	0,024

‰: se indica el porcentaje respecto al número de pacientes total del grupo

§ p<0,05 entre paciente afecto de DCP y paciente sin DCP o no concluyente

p<0,05 entre paciente afecto de DCP y paciente sin DCP

¶¶ p<0,05 entre paciente afecto de DCP, paciente sin DCP y no concluyente

† p<0,05 entre paciente afecto de DCP y paciente no concluyente

4.2.12. Análisis de la sensibilidad y especificidad de las pruebas diagnósticas

El principal objetivo del trabajo fue estudiar el espectro de alteraciones funcionales de la motilidad ciliar y compararlo con el estudio de la ultraestructura ciliar realizado con anterioridad para determinar la sensibilidad y especificidad de cada una de estas pruebas en el diagnóstico de la discinesia ciliar primaria.

4.2.12.1. Análisis de la sensibilidad y especificidad del estudio con microscopio electrónico

Para su cálculo se descartaron los casos con diagnóstico no concluyente o dudoso (n=6) y también el caso con resultado de microscopía electrónica no válido.

Como se aprecia en la tabla 11, en 25 casos el resultado del microscopio electrónico era patológico, de los cuales 10 se correspondieron a pacientes afectados de discinesia ciliar primaria. En 15 casos fue normal y se correspondía a 14 pacientes no catalogados de discinesia.

Tabla 11. Resultados del estudio de microscopía electrónica en relación con la catalogación diagnóstica de los pacientes

MICROSCOPIO ELECTRÓNICO	CATALOGACIÓN DIAGNÓSTICA		
	Afecto DCP	No DCP	
Anormal	10	15	25 (62,5%)
Normal	1	14	15 (37,5%)
	11 (27,5%)	29 (72,5%)	40

Con estos resultados se calculó una sensibilidad de la microscopía electrónica para diagnosticar los pacientes de discinesia ciliar primaria de 90,9% (IC95% 58,7-99,8) y una especificidad de 48,3% (IC95% 29,5-67,5). Asumiendo la prevalencia de la enfermedad en nuestra población de estudio (pacientes remitidos al hospital para completar estudio debido a sintomatología crónica respiratoria) de 27,5%, se estimó

un valor predictivo positivo de 40% (IC95% 30,9-49,8) y un valor predictivo negativo de 93,3% (IC95% 67,5-98,9).

4.2.12.2. Análisis de la sensibilidad y especificidad del estudio de motilidad ciliar

Para su cálculo se descartaron los casos dudosos (n=6). Como se aprecia en la tabla 12, en 17 casos el resultado del estudio de motilidad ciliar era patológico, de los cuales 11 correspondían a pacientes afectados de discinesia ciliar primaria. En 24 casos fue normal y en todos se trataba de pacientes no catalogados de discinesia.

Tabla 12. Resultados del estudio de motilidad ciliar en relación con la catalogación diagnóstica de los pacientes

ESTUDIO DE MOTILIDAD	CATALOGACIÓN DIAGNÓSTICA		
	Afecto DCP	No DCP	
Anormal	11	6	17 (41,5%)
Normal	0	24	24 (58,5%)
	11 (26,8%)	30 (73,2%)	41

Con estos resultados se calculó una sensibilidad del estudio de motilidad ciliar para diagnosticar los pacientes de discinesia ciliar primaria de 100% (IC95% 71,5-100) y una especificidad de 80% (IC95% 61,4-92,3). Asumiendo la prevalencia de la enfermedad en nuestra población de estudio (pacientes remitidos al hospital para completar estudio debido a sintomatología crónica respiratoria) de 26,8%, se estimó un valor predictivo positivo de 64,7% (IC95% 47,3-78,9) y un valor predictivo negativo de 100%.

Como resumen, en la tabla 13 se muestra la comparación de estos resultados en las dos pruebas diagnósticas:

Tabla 13. Comparación de la sensibilidad y especificidad del estudio con microscopía electrónica y de la motilidad ciliar para el diagnóstico de discinesia ciliar primaria

	Sensibilidad (IC95%)	Especificidad (IC95%)	Valor predictivo positivo (IC95%)	Valor predictivo negativo (IC95%)
Microscopio electrónico	90,9% (58,7-99,8)	48,3% (29,5-67,5)	40% (30,9-49,8%)	93,3% (67,5-98,9)
Motilidad ciliar	100% (71,5-100)	80% (61,4-92,3)	64,7% (47,3-78,9)	100%

4.3. Validación del estudio de motilidad ciliar en una muestra más amplia

Posteriormente al estudio de esta muestra de pacientes en los que se disponía del estudio previo con microscopio electrónico, se han realizado más estudios en la población remitida a nuestro centro con sospecha de discinesia ciliar por presentar síntomas de patología respiratoria crónica. Se ha realizado el estudio de motilidad ciliar en 200 pacientes más, de los cuales se ha conseguido una catalogación de diagnóstico de discinesia ciliar o de no afecto de discinesia ciliar en 168 casos mientras que el resto (32 casos) son dudosos (ya sea porque tienen criterios clínicos no concordantes con el resultado de los estudios realizados o bien porque están pendientes de repetir el estudio de motilidad por sospecha de discinesia ciliar secundaria). Esta muestra no dispone de resultados de microscopía electrónica.

Tal y como se refleja en la tabla 14, excluyendo los casos no concluyentes, en 67 casos el resultado del estudio de motilidad ciliar era patológico, de los cuales 46 se correspondieron a pacientes afectados de discinesia ciliar primaria. En 101 casos fue normal y todos se correspondían a pacientes no catalogados de discinesia.

Tabla 14. Resultados del estudio de motilidad ciliar en relación con la catalogación diagnóstica en la muestra ampliada de pacientes

ESTUDIO MOTILIDAD	CATALOGACIÓN DIAGNÓSTICA		
	Afecto DCP	No DCP	
Anormal	46	21	67 (39,9%)
Normal	0	101	101 (60,1%)
	46 (27,4%)	122 (72,6%)	168

Con estos resultados se calculó una sensibilidad del estudio de motilidad ciliar para diagnosticar los pacientes de discinesia ciliar primaria de 100% (IC95% 92,3-100) y una especificidad de 82,8% (IC95% 74,9-89). Asumiendo una prevalencia de la enfermedad en nuestra población de estudio (pacientes remitidos al hospital para completar estudio debido a sintomatología crónica respiratoria) de 27,4%, se estimó un valor predictivo positivo de 68,7% (IC95% 59,7-76,4%) y un valor predictivo negativo de 100%.

4.4. Utilidad como pruebas de despistaje de las escalas de síntomas (cuestionario PICADAR) y el óxido nítrico nasal en la muestra original de pacientes y validación en una muestra más amplia

4.4.1. Utilidad de la escala PICADAR para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra original de pacientes

Se analizó la sensibilidad y especificidad del valor obtenido en la escala clínica predictiva PICADAR comparada con padecer o no discinesia ciliar primaria.

El mejor punto de corte correspondió a un valor de > 4 puntos (Tabla 15, Figura 14). Con este punto de corte la sensibilidad fue del 90,9% (IC95% 58,7-99,8), la especificidad del 86,7% (IC95% 69,3-96,2) y el área bajo la curva ROC 0,95 (IC95% 0,83-0,99); $p < 0,001$. Asumiendo una prevalencia de la enfermedad en nuestra

población de estudio (pacientes remitidos al hospital para completar estudio debido a sintomatología crónica respiratoria) de 26,8%, se estimó un valor predictivo positivo de 71,4% (IC95% 49,6-86,4) y un valor predictivo negativo de 96,3% (IC95% 80,0-99,4).

Tabla 15. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de las diferentes puntuaciones de la escala PICADAR para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra original de pacientes

Punto de corte	Sensibilidad (IC95%)	Especificidad (IC95%)	Valor predictivo positivo (IC95%)	Valor predictivo negativo (IC95%)
≥ 0	100 (71,5-100)	0,00 (0,0-11,6)	26,8 (26,8-26,8)	
> 3	100 (71,5-100)	70,00 (50,6-85,3)	55,0 (41,4-67,9)	100,0
> 4	90,91 (58,7-99,8)	86,67 (69,3-96,2)	71,4 (46,9-86,4)	96,3 (80,0-99,4)
> 5	81,82 (48,2-97,7)	90,00 (73,5-97,9)	75,0 (49,7-90,1)	93,1 (79,3-97,9)
> 6	63,64 (30,8-89,1)	96,67 (82,8-99,9)	87,5 (49,2-98,1)	87,9 (76,8-94,1)
> 7	27,27 (6,0-61,0)	100,00 (88,4-100,0)	100,0	78,9 (72,3-84,3)
> 10	0,00 (0,0-28,5)	100,00 (88,4-100,0)		73,2 (73,2-73,2)

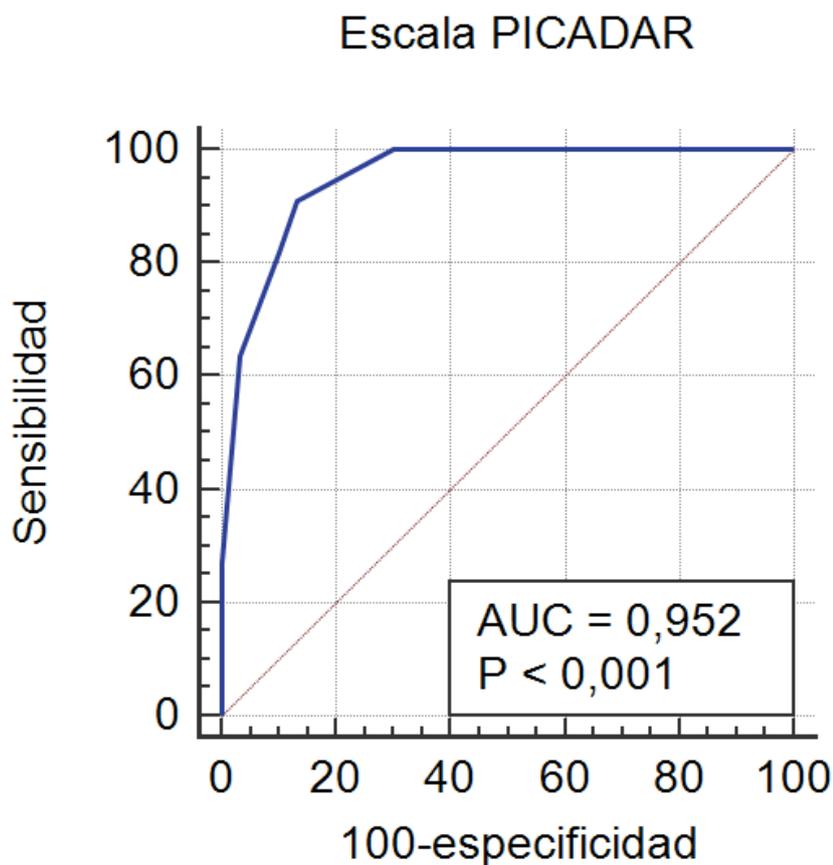


Figura 14. Curva ROC de la utilidad de la escala PICADAR para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra original de pacientes

4.4.2. Utilidad de la escala PICADAR para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra ampliada de pacientes

Se analizó la sensibilidad y especificidad del valor obtenido en la escala clínica predictiva PICADAR comparada con padecer o no discinesia ciliar primaria de la muestra de mayor tamaño comentada anteriormente, formada a partir de la población remitida a nuestro centro para el diagnóstico de discinesia ciliar primaria. De los 168 pacientes con catalogación diagnóstica se pudo calcular la escala PICADAR en 155 pacientes (92,3%).

El mejor punto de corte correspondió a un valor de > 3 puntos (Tabla 16, Figura 15). Con este punto de corte la sensibilidad fue del 92,9% (IC95% 80,5-98,5), la especificidad del 71,7% (IC95% 62,4-79,8) y el área bajo la curva ROC 0,90 (IC95%

0,84-0,94); $p < 0,001$. Asumiendo una prevalencia de la enfermedad en nuestra población de estudio (pacientes remitidos al hospital para completar estudio debido a sintomatología crónica respiratoria) de 27,1%, se estimó un valor predictivo positivo de 54,9% (IC95% 47,3-62,3) y un valor predictivo negativo de 96,4% (IC95% 90,0-98,8).

Tabla 16. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de las diferentes puntuaciones de la escala PICADAR para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra ampliada de pacientes

Punto de corte	Sensibilidad (IC95%)	Especificidad (IC95%)	Valor predictivo positivo (IC95%)	Valor predictivo negativo (IC95%)
≥ 0	100 (91,6-100)	0,00 (0,0-3,2)	27,1 (27,1-27,1)	
> 2	100 (71,5-100)	48,67 (39,2-58,3)	42 (37,7-46,4)	100,0
> 3	92,86 (80,5-98,5)	71,68 (62,4-79,8)	54,9 (47,3-62,3)	96,4 (90,0-98,8)
> 4	64,29 (48,0-78,4)	86,73 (79,1-92,4)	64,3 (51,6-75,2)	86,7 (81,2-90,8)
> 5	61,90 (45,6-76,4)	89,38 (82,2-94,4)	68,4 (54,7-79,5)	86,3 (81,0-90,3)
> 6	47,62 (32,0-63,6)	97,35 (92,4-99,4)	87,0 (67,6-95,5)	83,3 (78,9-87,0)
> 7	40,48 (25,6-56,7)	98,23 (93,8-99,8)	89,5 (67,2-97,2)	81,6 (77,6-85,1)
> 8	11,90 (4,0-25,6)	100,0 (96,8-100,0)	100,0	75,3 (73,2-77,3)
> 11	0,00 (0,0-8,4)	100,0 (96,8-100,0)		72,9 (72,9-72,9)

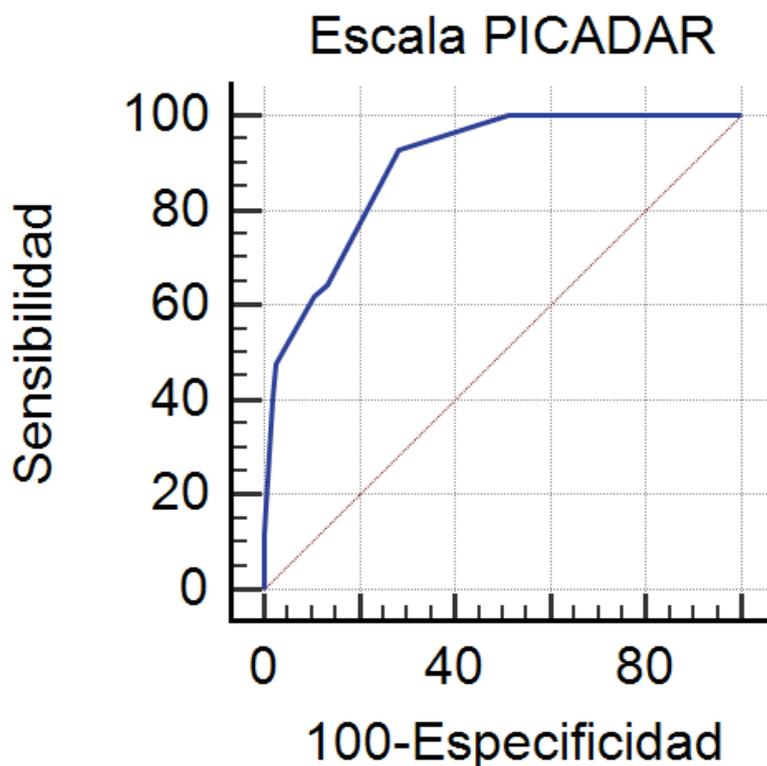


Figura 15. Curva ROC de la utilidad de la escala PICADAR para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra ampliada de pacientes

4.4.3. Utilidad del óxido nítrico nasal para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra original de pacientes

Se analizó la sensibilidad y especificidad del óxido nítrico nasal como prueba de cribado de discinesia ciliar primaria.

Del total de pacientes del estudio, se realizó en 30 de ellos (63,8%). En esta muestra el mejor punto de corte correspondió a un valor de óxido nítrico nasal ≤ 220 ppb (Tabla 17, Figura 16) o su equivalente $\leq 72,5$ nL/min de flujo (Tabla 18, Figura 17). Con estos puntos de corte la sensibilidad fue del 80% (IC95% 44,4-97,5), la especificidad del 100% (IC95% 83,2-100) y el área bajo la curva ROC 0,97 (IC95% 0,83-0,99); $p < 0,001$. Asumiendo una prevalencia de la enfermedad en nuestra población de estudio (pacientes remitidos al hospital para completar estudio debido a

sintomatología crónica respiratoria) de 33,3%, se estimó un valor predictivo positivo de 100% y un valor predictivo negativo de 90,9% (IC95% 74,3-97,2).

Tabla 17. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo del óxido nítrico nasal expresado como partes por billón (ppb) para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra original de pacientes

Punto de corte	Sensibilidad (IC95%)	Especificidad (IC95%)	Valor predictivo positivo (IC95%)	Valor predictivo negativo (IC95%)
< 3,5	0,00 (0,0-30,8)	100,00 (83,2-100)		66,7 (66,7-66,7)
≤ 220	80,00 (44,4-97,5)	100,00 (83,2-100)	100,0	90,9 (74,3-97,2)
≤ 290	80,00 (44,4-97,5)	90,00 (68,3-98,8)	80,0 (50,9-93,9)	90,0 (72,1-96,9)
≤ 305	90,00 (55,5-99,7)	90,00 (68,3-98,8)	81,8 (54,3-94,5)	94,7 (73,6-99,1)
≤ 386	90,00 (55,5-99,7)	80,00 (56,3-94,3)	69,2 (47,8-84,7)	94,1 (71,1-99,0)
≤ 437,2	100,00 (69,2-100,0)	80,00 (56,3-94,3)	71,4 (51,0-85,7)	100,0
≤ 1443	100,00 (69,2-100,0)	0,00 (0,0-16,8)	33,3 (33,3-33,3)	

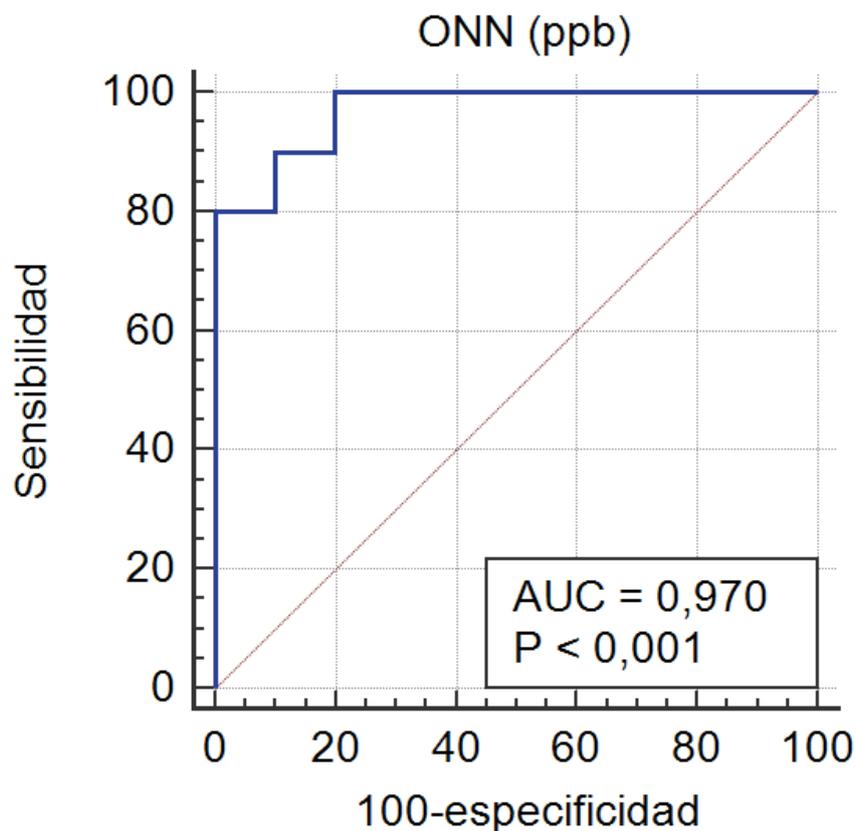


Figura 16. Curva ROC de la utilidad del óxido nítrico nasal expresado como concentración (ppb) para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra original de pacientes

Tabla 18. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo del óxido nítrico nasal expresado como flujo (nL/min) para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra original de pacientes

Punto de corte	Sensibilidad (IC95%)	Especificidad (IC95%)	Valor predictivo positivo (IC95%)	Valor predictivo negativo (IC95%)
< 0,9	0,00 (0,0-30,8)	100,00 (83,2-100)		66,7 (66,7-66,7)
≤ 72,5	80,00 (44,4-97,5)	100,00 (83,2-100)	100,0	90,9 (74,3-97,2)
≤ 95,7	80,00 (44,4-97,5)	90,00 (68,3-98,8)	80,0 (50,9-93,9)	90,0 (72,1-96,9)
≤ 100,6	90,00 (55,5-99,7)	90,00 (68,3-98,8)	81,8 (54,3-94,5)	94,7 (73,6-99,1)
≤ 127,3	90,00 (55,5-99,7)	80,00 (56,3-94,3)	69,2 (47,8-84,7)	94,1 (71,1-99,0)
≤ 128,7	100,00 (69,2-100,0)	80,00 (56,3-94,3)	71,4 (51,0-85,7)	100,0
≤ 475	100,00 (69,2-100,0)	0,00 (0,0-16,8)	33,3 (33,3-33,3)	

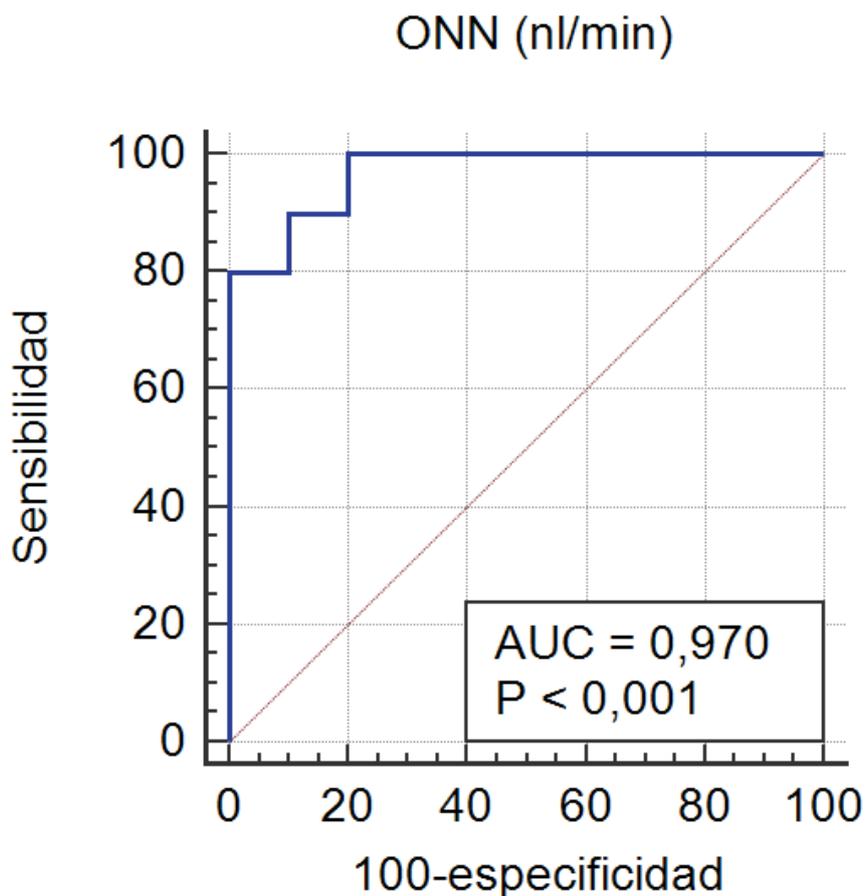


Figura 17. Curva ROC de la utilidad del óxido nítrico nasal expresado como flujo (nL/min) para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra original de pacientes

4.4.4. Utilidad del óxido nítrico nasal para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra ampliada de pacientes

Se han analizado los resultados del valor de óxido nítrico nasal de la muestra de mayor tamaño comentada anteriormente, formada a partir de la población remitida a nuestro centro para el diagnóstico de discinesia ciliar primaria. De los 168 pacientes con catalogación diagnóstica se realizó la prueba de medida del óxido nítrico nasal en 122 pacientes que fueron capaces de colaborar (72,6% de los pacientes). El mejor punto de corte correspondió a un valor de óxido nítrico nasal de ≤ 248 ppb (Tabla 19, Figura 18) o $\leq 87,9$ nL/min de flujo (Tabla 20, Figura 19). Con estos

puntos de corte la sensibilidad fue del 91,9% (IC95% 78,1-98,3) para la medida expresada como ppb y flujo, la especificidad del 97,5% (IC95% 91,8-99,7) para la medida con ppb y 95,3% (IC95% 88,4-98,7) para la medida con flujo y el área bajo la curva ROC 0,99 (IC95% 0,95-1,00); $p < 0,001$ y 0,98 (IC95% 0,93-0,99); $p < 0,001$, respectivamente para la medida con ppb y con flujo. Asumiendo una prevalencia de la enfermedad en nuestra población de estudio (pacientes remitidos al hospital para completar estudio debido a sintomatología crónica respiratoria) de 30,3%, se estimó un valor predictivo positivo de 93,9% (IC95% 79,6-98,4) y 89,5% (IC95% 76,5-95,7) y un valor predictivo negativo de 93,3% (IC95% 86,9-96,6) y 96,4% (IC95% 90,1-98,8), respectivamente para la medida expresada como ppb y como flujo.

Tabla 19. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo del óxido nítrico nasal expresado como partes por billón (ppb) para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra ampliada de pacientes

Punto de corte	Sensibilidad (IC95%)	Especificidad (IC95%)	Valor predictivo positivo (IC95%)	Valor predictivo negativo (IC95%)
< 6,4	0,00 (0,0-9,5)	100,00 (95,8-100,0)		69,7 (69,7-69,7)
≤ 62,1	56,76 (39,5-72,9)	100,00 (95,8-100,0)	100,0	84,2 (78,6-88,5)
≤ 62,8	56,76 (39,5-72,9)	98,82 (93,6-100,0)	95,5 (74,6-99,3)	84,0 (78,4-88,4)
≤ 218,6	83,78 (68,0-93,8)	98,82 (93,6-100,0)	96,9 (81,5-99,5)	93,3 (87,1-96,7)
≤ 221	83,78 (68,0-93,8)	97,65 (91,8-99,7)	93,9 (79,6-98,4)	93,3 (87,1-96,7)
≤ 248	91,89 (78,1-98,3)	97,65 (91,8-99,7)	94,4 (81,2-98,5)	96,5 (90,3-98,8)
≤ 270	91,89 (78,1-98,3)	96,47 (90,0-99,3)	91,9 (78,8-97,2)	96,5 (90,2-98,8)
≤ 301,9	94,59 (81,8-99,3)	96,47 (90,0-99,3)	92,1 (79,3-97,3)	97,6 (91,4-99,4)
≤ 326,6	94,59 (81,8-99,3)	95,29 (88,4-98,7)	89,7 (77,0-95,8)	97,6 (91,3-99,4)
≤ 335,1	97,30 (85,8-99,9)	95,29 (88,4-98,7)	90,0 (77,5-95,9)	98,8 (92,1-99,8)
≤ 389	97,30 (85,8-99,9)	89,41 (80,8-95,0)	80,0 (68,3-88,1)	98,7 (91,7-99,8)
≤ 398,5	100,00 (90,5-100,0)	89,41 (80,8-95,0)	80,4 (68,9-88,4)	100,0
≤ 2344,1	100,00 (90,5-100,0)	0,00 (0,0-4,2)	30,3 (30,3-30,3)	

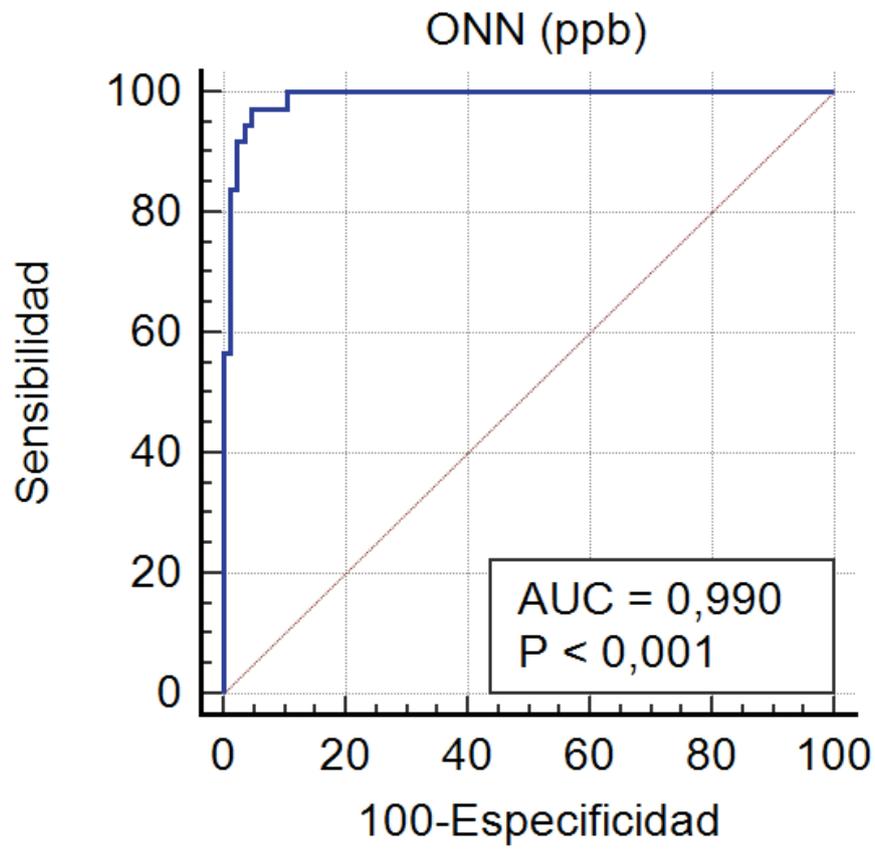


Figura 18. Curva ROC de la utilidad del óxido nítrico nasal expresado como concentración (ppb) para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra ampliada de pacientes

Tabla 20. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo del óxido nítrico nasal expresado como flujo (nL/min) para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra ampliada de pacientes

Punto de corte	Sensibilidad (IC95%)	Especificidad (IC95%)	Valor predictivo positivo (IC95%)	Valor predictivo negativo (IC95%)
< 2,3	0,00 (0,0-9,5)	100,00 (95,8-100,0)		69,7 (69,7-69,7)
≤ 15,9	59,46 (42,1-75,2)	100,00 (95,8-100,0)	100,0	85,0 (79,3-89,3)
≤ 18	59,46 (42,1-75,2)	98,82 (93,6-100,0)	95,7 (75,5-99,4)	84,8 (79,1-89,2)
≤ 67,7	86,49 (71,2-95,5)	98,82 (93,6-100,0)	97,0 (82,0-99,6)	94,4 (88,1-97,4)
≤ 73	86,49 (71,2-95,5)	96,47 (90,0-99,3)	91,4 (77,7-97,0)	94,3 (87,9-97,4)
≤ 78,5	89,19 (74,6-97,0)	96,47 (90,0-99,3)	91,7 (78,3-97,1)	95,3 (89,0-98,1)
≤ 87,4	89,19 (74,6-97,0)	95,29 (88,4-98,7)	89,2 (75,9-95,6)	95,3 (88,9-98,1)
≤ 87,9	91,89 (78,1-98,3)	95,29 (88,4-98,7)	89,5 (76,5-95,7)	96,4 (90,1-98,8)
≤ 109,1	91,89 (78,1-98,3)	89,41 (80,8-95,0)	79,1 (66,9-87,6)	96,2 (89,5-98,7)
≤ 110,6	94,59 (81,8-99,3)	89,41 (80,8-95,0)	79,5 (67,6-87,9)	97,4 (90,8-99,3)
≤ 112,6	94,59 (81,8-99,3)	87,06 (78,0-93,4)	76,1 (64,6-84,7)	97,4 (90,6-99,3)
≤ 112,8	97,30 (85,8-99,9)	87,06 (78,0-93,4)	76,6 (65,3-85,1)	98,7 (91,4-99,8)
≤ 159,7	97,30 (85,8-99,9)	67,06 (56,0-76,9)	56,2 (48,6-63,6)	98,3 (89,1-99,7)
≤ 164,9	100,00 (90,5-100,0)	67,06 (56,0-76,9)	56,9 (49,4-64,2)	100,0
≤ 773,5	100,00 (90,5-100,0)	0,00 (0,0-4,2)	30,3 (30,3-30,3)	

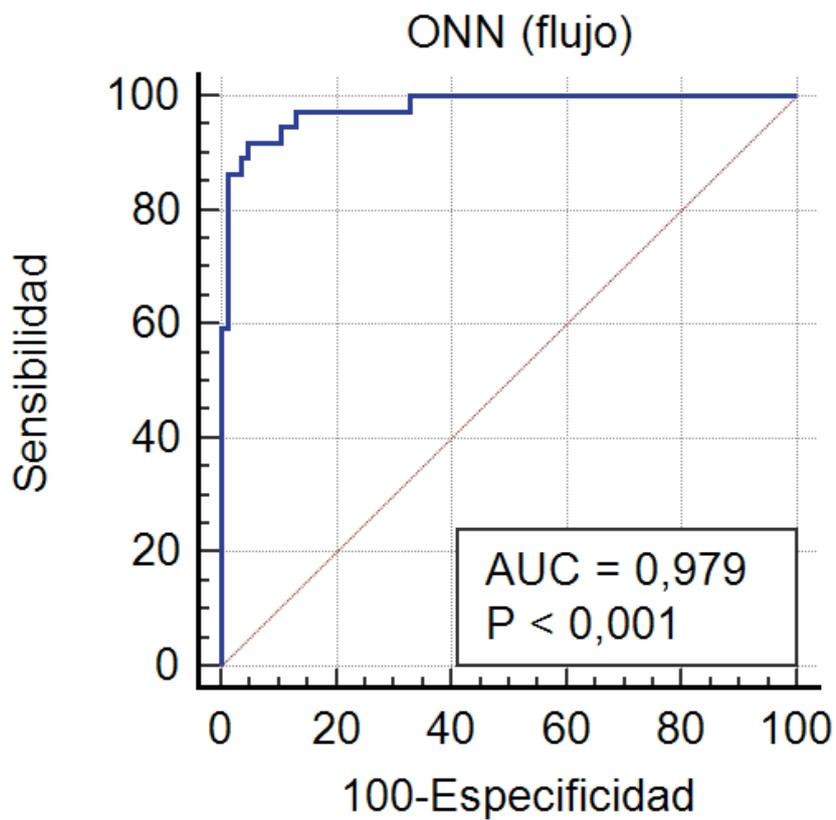


Figura 19. Curva ROC de la utilidad del óxido nítrico nasal expresado como flujo (nL/min) para el despistaje de discinesia ciliar primaria en la muestra ampliada de pacientes

DISCUSIÓN

5. DISCUSIÓN

Hace unos años la única técnica disponible para el diagnóstico de la discinesia ciliar primaria era el estudio de la ultraestructura ciliar con el microscopio electrónico que se consideraba en ese momento el patrón oro para su diagnóstico. Con la aparición de nuevas técnicas diagnósticas, se diseñó un estudio donde a partir de los pacientes que se habían estudiado mediante microscopía electrónica, se les realizaba un estudio de la función ciliar (frecuencia y patrón de batido ciliar) en una muestra de biopsia de la mucosa nasal obtenida mediante un cepillado.

El hecho de que eran pacientes reevaluados pasados varios años (entre uno y nueve) nos permitió conocer la evolución clínica de los pacientes, realizar la actual escala predictiva PICADAR, determinar el óxido nítrico nasal e incluso realizar algún estudio más como el estudio genético y la inmunofluorescencia, para así poder catalogar a los pacientes como afectados de discinesia ciliar primaria, no afectados de discinesia ciliar primaria o no concluyentes. De esta manera, se pudo calcular la sensibilidad y especificidad de las dos técnicas diagnósticas que son el motivo de este estudio.

5.1. Técnica de estudio de la motilidad ciliar

Recientemente se ha publicado un artículo que propone una guía de estandarización de la valoración de la motilidad ciliar (36). En nuestro caso, se siguió la guía británica publicada en ese momento y que se había aprendido de manera presencial durante una estancia en el Royal Infirmary Hospital en Leicester, Inglaterra, uno de los tres

centros de diagnóstico de DCP británico. Tal y como se describe en el apartado de métodos, se tuvieron en cuenta todos los parámetros que esta nueva guía propone:

- Evitar realizar la prueba en las 4-6 semanas siguientes a padecer una infección respiratoria.
- Tener una pletina en el microscopio para el control de temperatura de la muestra.
- Mantener la muestra en un medio con una osmolaridad y pH adecuados.
- Analizar la muestra en las primeras horas tras su obtención.
- Utilizar un microscopio óptico conectado a una cámara de alta velocidad capaz de grabar a 500 imágenes por segundo y posteriormente evaluar la muestra a 30 imágenes por segundo.

Además, al igual como se recomienda en esta guía de estandarización, se obtuvieron ejes con visión lateral, hacia el observador y desde arriba en todos los pacientes, intentando llegar al número de 10 de visión lateral o hacia el observador y 2 con visión desde arriba. Se intentó grabar aquellos que tuvieran una longitud de 50 μ m y con las menores protrusiones posibles.

En nuestro caso, el microscopio óptico no se apoyaba en una mesa antivibración, pero no había interferencias que pudieran alterar la grabación mientras se realizaba. Además, tal y como se describe en dicho artículo, no es un elemento indispensable para poder realizar un estudio correcto.

5.2. Determinación de valores de normalidad del estudio de la motilidad ciliar con videomicroscopía óptica de alta velocidad

Ya que la nueva prueba diagnóstica, el estudio de motilidad ciliar, no se había realizado nunca en nuestra población y en nuestro laboratorio, fue necesario establecer los valores de normalidad de nuestra técnica, por lo que se realizó

también en un grupo de individuos sanos que eran sometidos a una intervención quirúrgica menor no relacionada con patología pulmonar u otorrinolaringológica o bien voluntarios sanos adultos no fumadores. Así se pudieron establecer nuestros propios valores de referencia para estudiar posteriormente a la población de casos.

Los valores que se determinaron como normales en nuestra población sana fueron una frecuencia de batido media de 9,94 Hz (8,56-11,32), un índice de discinesia medio de 12,10% (2,54-21,66) y un índice de inmovilidad medio de 0,13% (0-1,51).

La frecuencia media de batido se encuentra dentro del rango que refieren los estudios en individuos sanos (6,39,41), aunque en la zona baja de los mismos (media 8,7-18,8 Hz). Ya que en el protocolo que hemos utilizado se tiene un control del pH y osmolaridad del medio donde se deja la muestra del epitelio y un control de temperatura durante su análisis en el microscopio igual al que recomiendan las guías, una de las causas podría ser que haya cierta compresión de la muestra en el momento de realizar la grabación. Aún así, como hemos establecido nuestros valores de normalidad como marca la guía de estandarización de diagnóstico de la ERS (27), podemos valorar las muestras del resto de pacientes que se remiten como normales o con alteración de la motilidad. El índice de discinesia y de inmovilidad también fue similar al que recogen en el estudio de Kempeneers et al (41), 2,8-25,2% y 0-5,3%, respectivamente.

El estudio en individuos sanos recogía pacientes adultos y pediátricos. Aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos de edad, el grupo pediátrico tenía una frecuencia media de batido algo mayor que el grupo de adultos (10,16 Hz *versus* 9,65 Hz), un índice medio de discinesia de 10,74% *versus* 13,88% y un índice medio de inmovilidad de 0,22% *versus* 0%. Hay algunos estudios que analizan estos datos en población adulta y pediátrica por separado. En el

estudio de Chilvers et al (39), se comparan los datos entre los dos grupos y también encuentran que el grupo de niños tiene una mayor frecuencia de batido respecto a los adultos (12,8 Hz *versus* 11,5 Hz) siendo en este caso estadísticamente significativa. El índice de discinesia medio fue del 10%, siendo mayor en el grupo de 13 a 18 años de edad, aunque no estadísticamente significativo.

5.3. Características clínicas de la muestra global de estudio

La población del estudio se recogió a partir de datos de la historia clínica de nuestro centro. Se seleccionaron pacientes con patología crónica pulmonar en los cuales se había realizado un estudio para diagnóstico de discinesia ciliar primaria mediante microscopía electrónica durante los años previos. Con el resultado de la prueba, se había realizado un diagnóstico de presunción de discinesia ciliar primaria según el porcentaje de alteración de la ultraestructura ciliar que se había encontrado (< 60% se consideraba normal y \geq 60% se consideraba patológico). A lo largo de los años, la valoración e interpretación de la microscopía ha ido cambiando y recientemente se ha publicado un consenso europeo al respecto (49). Pero para este trabajo se ha mantenido el criterio establecido previamente ya que a consecuencia de este criterio los pacientes estaban presuntamente catalogados como afectados o no de discinesia ciliar primaria.

Se recogieron datos clínicos, antropométricos y funcionales de esta población.

Las características clínicas más importantes que habían motivado a sus médicos a solicitar un estudio de ultraestructura ciliar a estos niños era la patología respiratoria crónica que padecían (tos productiva, con/sin bronquiectasias, acompañada o no de patología de vía aérea superior). En el momento del estudio de motilidad ciliar, habían pasado de 1 a 9 años y en ocasiones la sintomatología inicial había

cambiado. En el momento de la inclusión en nuestro estudio, el 63,8% presentaban tos productiva (aunque no fuera continua durante todos los meses del año más que en un 21,3% de los casos) y en el 25,5% de los casos se asociaba a rinorrea persistente.

El 21,3% de los pacientes tenía sensación de oídos tapados de manera habitual debido a mucosidad persistente además de otitis medias agudas ocasionales.

Casi el 50% tenían episodios de sibilantes ocasionales y un 88,6% tenían una alteración en la tomografía computarizada de tórax (57,4% bronquiectasias, 15,7% atelectasia persistente y el resto otras alteraciones). Un 10,6% tenían *situs inversus* asociado.

Los datos antropométricos mostraron que se trataba de una población con unos percentiles de peso, talla e índice de masa corporal dentro de la normalidad. En la mayoría de los casos se había estudiado al paciente con una prueba del sudor y un estudio inmunológico básico previamente, tal y como indican las guías. La medida de función pulmonar era normal en la media total del grupo el día en que se hacía el cepillado nasal para el estudio de motilidad ciliar. En ese mismo momento, el 46,9% recibían tratamiento inhalado diario con corticoides inhalados asociados o no a un beta-2 adrenérgico de larga duración, 29,8% azitromicina oral en tandas semanales y 29,8% realizaban fisioterapia respiratoria regular.

El estudio de función ciliar en el grupo de pacientes se realizó con la misma metodología que el realizado en individuos sanos, así que se siguieron los procedimientos propuestos en las guías como se ha comentado previamente. El estudio se tuvo que repetir una segunda vez en 23 pacientes y una tercera en 4 pacientes. No hay estudios en la bibliografía que describan las veces que se precisa repetir este estudio por paciente, pero sí se hace referencia que debe repetirse en

caso de que éste sea dudoso o bien que la historia clínica sea muy sugestiva y el estudio sea normal (27).

5.4. Características diferenciales de los pacientes catalogados de discinesia ciliar

Una vez catalogados los pacientes en los diferentes grupos “paciente sin discinesia ciliar primaria”, “paciente afecto de discinesia ciliar primaria” y “paciente con estudio no concluyente”, se analizaron los datos clínicos, antropométricos y funcionales en cada grupo de manera independiente.

Las características clínicas más importantes al nacimiento en nuestra población con DCP fueron el padecer distrés respiratorio catalogado como taquipnea transitoria del recién nacido y presentar tos y rinorrea desde el primer día de vida. En la literatura (15) se describe que los pacientes con DCP padecen distrés neonatal hasta en un 85% de los casos, no estando clara su causa y postulándose que el motivo sea que el epitelio ciliado es incapaz de eliminar de manera efectiva el líquido amniótico de los pulmones y la vía aérea. Este distrés se cataloga como taquipnea transitoria del recién nacido o neumonía neonatal. En un estudio centrado en la clínica neonatal de los recién nacidos a término diagnosticados de DCP *versus* pacientes sin DCP (14), se encontró una relación estadísticamente significativa con estar afecto de DCP y la necesidad de oxigenoterapia durante más de 2 días, tener un colapso lobar, la aparición del distrés respiratorio más allá de las 12 horas de vida o tener *situs inversus* asociado.

Davis et al (108), también describe en su estudio que la edad media referida como de aparición de la tos crónica en los pacientes es en torno al mes de vida.

En la población con DCP de nuestro trabajo, el 27,3% de los pacientes tenía *situs inversus* y en la población sin DCP el 6,7%. En un estudio (13) retrospectivo de 389 pacientes con DCP se encontró que el 51% de los pacientes tenía *situs inversus* asociado y el 25% una cardiopatía congénita y/o defecto de lateralidad. Esta asociación se explica embriológicamente debido a la alteración de la función del cilio nodal embrionario que normalmente distribuye los órganos izquierda-derecha y al estar alterado el porcentaje es aleatorio en torno al 50%. Otro estudio (109) parecido que analiza 337 pacientes, encuentra una prevalencia similar de *situs inversus* (47,7%) y 6,3% de pacientes con heterotaxia (y muchos de estos padecen a la vez una cardiopatía congénita).

Nuestra población de pacientes con DCP refería más frecuentemente tener tos continua productiva y rinorrea persistente que los no afectados. A nivel de síntomas otorrinolaringológicos, el grupo de afectados de DCP presentaba mayor porcentaje de sordera y de sensación de oídos tapados que el resto de los grupos. Sólo había un caso de pólipos nasales y era un paciente con DCP. La literatura en general (15,16), apoya estos hallazgos ya que los síntomas frecuentes en esta patología son las otitis medias agudas supuradas, otitis serosas persistentes con pérdida de audición, la tos crónica húmeda persistente, “asma” de difícil control, la rinosinusitis crónica con rinorrea perenne purulenta, la poliposis nasal, o las bronquiectasias de causa desconocida, a parte de los problemas de infertilidad en varones o subfertilidad en mujeres.

En el metaanálisis realizado por Goutaki et al (17), refieren que la tos se encuentra entre un 14-100% de los pacientes, la expectoración en el 15-100%, la rinorrea en el 9-100%, las otitis medias repetidas en el 23-100%, la sordera en el 8-100% y la presencia de pólipos nasales en el 3-60%. De hecho, la guía diagnóstica de la ERS

(27) recomienda, basándose en una evidencia moderada, que los pacientes que deben remitirse para el estudio diagnóstico de DCP deberían tener varios de los siguientes síntomas: tos crónica productiva, rinitis persistente, patología crónica auditiva con pérdida de audición, historia neonatal en un recién nacido a término de síntomas respiratorios o que precisen cuidados intensivos por este motivo, anomalías de lateralización de órganos o cardiopatía congénita.

En el estudio de Behan et al (19) donde describen la escala predictiva PICADAR, observan que el hecho de tener tos húmeda, no discrimina bien los pacientes con DCP de los no DCP (sensibilidad 0,93 y especificidad 0,15), debido a que éste suele ser el motivo de remisión de los pacientes para el estudio diagnóstico específico de esta patología.

Sin embargo, en nuestro estudio, los pacientes con DCP tenían más frecuencia de tos continua y productiva que el resto y esto puede ser debido a que la anamnesis se realizaba tras unos años de haberse remitido el paciente para realizar el estudio de la ultraestructura ciliar, y con el paso de los años quizás se había acabado de definir mejor la sintomatología y se hacía más evidente en el grupo de DCP que en el resto. Este estudio de Behan et al (19), coincide con nuestro estudio en que los otros parámetros más significativos fueron la clínica respiratoria neonatal citada previamente, la rinorrea persistente y los síntomas otorrinolaringológicos, que tuvieron mayor sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de DCP; no siendo así el caso de tener *situs inversus*, que en el estudio de Behan tuvo una elevada especificidad y moderada sensibilidad, pero no fue relevante en nuestros pacientes con DCP, aunque en este grupo fue donde había mayor número de casos.

En el estudio de Behan, la sensibilidad y especificidad de padecer episodios de sibilantes, neumonías previas o bronquiectasias fue baja, al igual que en el nuestro donde no hemos visto diferencias entre los tres grupos.

El hecho de que tener o no bronquiectasias no fuera significativo, puede ser debido a que nuestra población de estudio ya estaba previamente seleccionada por un médico que remitía a su paciente a realizar una prueba por la patología crónica pulmonar que muchas veces incluía el tener bronquiectasias. De todas maneras, la bibliografía al respecto (25,26,110), muestra que todos los pacientes adultos con DCP tienen bronquiectasias y en los niños es menos frecuente (56% en un grupo de pacientes con una edad media de 8 años), por lo que éstas van apareciendo con el paso de los años y se correlacionan con una peor función pulmonar sobretodo determinada por un índice de aclaramiento pulmonar anormal y en algunos casos también con un FEV₁ más bajo. En nuestro estudio al igual como está descrito en la literatura (26), los lóbulos más afectados en el grupo de DCP fueron el medio y los inferiores.

5.4.1. Datos antropométricos

El grupo de pacientes afectados, tenían un z-score de peso de -0,97 (percentil 26,50) que era significativamente menor que el grupo de no afectados. La talla fue similar en todos los grupos. El z-score del índice de masa corporal fue de -0,77 (percentil 24,83) en el grupo de afectados, significativamente menor que en el resto de los grupos. Con estos datos se pone de manifiesto que la población de nuestro estudio que está afectada de discinesia ciliar primaria tiene un menor índice de masa corporal y peso que el resto de la población. No hay estudios donde se analicen a la vez estos datos entre un grupo de pacientes que tienen DCP y otro grupo con patología

pulmonar crónica no DCP. En el estudio de Goutaki et al (90), un estudio internacional donde se mira la relación entre el crecimiento, el estado nutricional y la función pulmonar en pacientes con DCP, observan que la población de menor edad (<9 años y sobretodo los menores de 4) tiene un z-score de talla e índice de masa corporal más bajo que la población de mayor edad, y que en los pacientes que el diagnóstico es más tardío, estos índices también son menores.

En cuanto a la relación con la función pulmonar, sí encontraron una relación estadísticamente significativa entre que los pacientes con peores índices de talla y de índice de masa corporal tuvieran un peor FEV₁ y FVC.

En el estudio de Davis et al (111), estudian las características clínicas de un grupo de pacientes diagnosticados de DCP y relacionan las diferentes características clínicas con el defecto ultraestructural o las mutaciones genéticas, siendo significativamente menor el índice de masa corporal, el peso y la talla (también la función pulmonar) sólo en aquellos pacientes con mutaciones en el gen *CCDC39* y *CCDC40*. Los pacientes de nuestro estudio con estas mutaciones tenían un z-score de índice de masa corporal de -0,86, -1,33 y 2,35; siendo el valor más bajo del grupo de afectados de -1,75 y -1,97 en dos pacientes hermanas con mutaciones en *DNAH5*.

5.4.2. Función pulmonar

El FVC, FEV₁ y el MMEF fueron menores en el grupo de DCP respecto al de no afectados (de forma significativa el FEV₁ y MMEF), con un z-score de -0,8, -2,1 y -2,5 respectivamente. La mayoría de los estudios reflejan los valores como porcentaje, que en nuestro estudio equivaldrían a un FVC 90,2%, FEV₁ 76,3% y MMEF 50,2%.

En una revisión y metaanálisis reciente (23), se pone de manifiesto la diferente heterogeneidad en cuanto a metodología y grupos de edad de los estudios

realizados en población con DCP para la medida de la función pulmonar. De todas maneras, en todos los estudios el FEV₁ es menor en adultos que en niños, lo que indica un deterioro a lo largo de los años, aunque con un rango variable de valores. Los estudios seleccionados para el metaanálisis muestran un FEV₁ de 73-96% en menores de 18 años y de 44-79% en adultos. También se concluye que posiblemente exista una relación fenotipo-genotipo con diferente evolución dentro del grupo de pacientes con DCP. En este aspecto ya se ha descrito que los pacientes con mutaciones en *CCDC39* y *CCDC40* tienen una peor función pulmonar (111). En nuestros pacientes con estas mutaciones, ésta oscilaba entre FEV₁ 72-113% y MMEF 40,6-77%.

5.4.3. Resultados del estudio microbiológico

El microorganismo más frecuentemente aislado en nuestro estudio en el grupo de DCP fue el *Haemophilus influenzae*, seguido del *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* (aislamiento únicamente en un paciente de 15,6 años). Los estudios muestran una casuística similar a la de nuestro grupo y además describen que la *Pseudomonas aeruginosa* suele aparecer en la adolescencia y en la edad adulta (20–22), motivo que puede explicar que en nuestro caso la prevalencia de este microorganismo fuera tan baja al ser un estudio realizado en pacientes menores de 18 años.

5.5. Valor como prueba de despistaje del cuestionario PICADAR

En el estudio referido previamente de Behan et al (19), desarrollaron un cuestionario con una escala predictiva (PICADAR) para determinar la probabilidad de tener DCP

a partir de la clínica inicial en pacientes con tos crónica productiva diaria, para así avanzar o no en las pruebas diagnósticas específicas de esta enfermedad. Esta escala se elaboró a partir del resultado de la evaluación de diferentes ítems en 641 pacientes (75 con DCP y 566 sin DCP) y se validó a partir de 157 pacientes más de otro centro (80 con DCP y 77 negativos). Finalmente se postularon 7 cuestiones que hacen referencia a si existe o no prematuridad, problemas respiratorios neonatales, precisar o no cuidados intensivos en el periodo neonatal, tener asociado o no *situs inversus* o heterotaxia, tener una cardiopatía congénita, rinitis persistente y tener o no patología crónica ótica. Cada pregunta da una puntuación que es sumatoria, siendo el rango de puntos de 0 a 14. Encontraron la mejor sensibilidad (0,90) y especificidad (0,75) para una puntuación de > 5 puntos, con un valor predictivo positivo de 0,32 y negativo de 0,98. Se calculó que con una puntuación ≥ 10 el paciente tenía una probabilidad de $> 90\%$ de tener las pruebas diagnósticas positivas para DCP y si la puntuación era ≥ 5 la probabilidad era $> 11\%$. Por este motivo justifican la utilidad del cuestionario en aquellos casos donde es difícil remitir a los pacientes al centro diagnóstico de DCP de referencia y advierten a los clínicos que una puntuación baja no descarta padecer DCP.

En nuestra muestra, la escala PICADAR mostró su utilidad para discriminar entre pacientes con y sin DCP. El valor de la escala fue mayor de forma estadísticamente significativa en el grupo de DCP respecto los otros dos (6,91 *versus* 2,97 y 3,67). En nuestros pacientes el mejor punto de corte se correspondió a un valor > 4 puntos en lugar del valor > 5 del estudio original, y tuvo una sensibilidad del 90,9% y una especificidad del 86,7%, con un valor predictivo positivo de 71,4% y negativo de 96,3% para nuestra población. En nuestro segundo estudio realizado con pacientes remitidos para completar estudio por patología pulmonar crónica (n=200) se pudo

calcular esta escala en 155 pacientes de los 168 totales una vez excluidos los catalogados de diagnóstico no concluyente. En este caso, el punto de corte se estableció en > 3 , cifra inferior al estudio de la muestra de pacientes inicial. La sensibilidad y especificidad fue de 92,9% y 71,7% y los valores predictivos positivo y negativo de 54,9% y 96,4%.

Esta escala está diseñada sobretodo para pacientes pediátricos, ya que incluye datos relacionados con el periodo neonatal que pueden ser difíciles de recordar por los pacientes adultos y no incluye otros como los relacionados con la fertilidad. En este sentido, se ha desarrollado la escala m-PICADAR (*modified*-PICADAR) para pacientes adultos donde se excluyen muchas de estas cuestiones (112).

5.6. Valor como prueba de despistaje del óxido nítrico nasal

La medida del óxido nítrico nasal expresada tanto como concentración (ppb) como en flujo (nL/min), fue normal en los grupos de no afectos y no concluyentes y bajo en el grupo de enfermos con una diferencia estadísticamente significativa. La media en la población con DCP fue de 40,32 nL/min, cifra que se consideraría baja si tenemos de referencia la guía americana y no tanto para la europea (27,86).

Estas dos guías marcan como patrón estándar realizar el análisis con un analizador estático de quimioluminiscencia y con la maniobra con cierre del velo del paladar. De esta manera encuentran una sensibilidad y especificidad de 0,90-1,0 y 0,75-0,97, respectivamente (27). En nuestra población realizamos la técnica cumpliendo con estas dos premisas. El inconveniente de esta maniobra es que es difícilmente realizable por pacientes no colaboradores y sólo es posible a partir de los 5 o 6 años de edad, lo que nos limitó el número de medidas en nuestra población.

Debido a que cada analizador trabaja con diferentes rangos de flujo, se aconseja la medida del ONN con nL/min y no con ppb, utilizando la sencilla fórmula de $nL/min = ppb \times rango \text{ muestra analizador (L/min)}$, para que todos los resultados sean comparables.

Los diferentes puntos de corte en las diferentes guías se establecen a partir de los estudios de Leigh et al (33) para la guía americana (77 nL/min con una sensibilidad de 0,98 y especificidad de >0,99) y de Jackson et al (113) para la guía europea (30 nL/min con una sensibilidad de 0,90 y especificidad de 0,95). Esta diferencia es debida a que el protocolo diagnóstico en la guía americana sólo incluye el realizar microscopía electrónica y genética, por lo que falta un número de casos de DCP con microscopía normal y genética negativa para incluir.

Hay múltiples estudios que analizan la cifra de corte de ONN a partir de la cual se obtiene una buena sensibilidad y especificidad para detectar los casos de DCP. La cifra es diferente entre estudios porque no todos utilizan la misma metodología tanto a nivel del analizador de ONN como la maniobra usada para determinarlo, como se ha comentado previamente. En general se estima que es una prueba con una sensibilidad entre 0,90 y 1,0 y con una especificidad entre 0,75 y 0,97. Al no ser una técnica invasiva y ser relativamente fácil de realizar, se considera útil dentro del algoritmo diagnóstico de la DCP (27). En nuestra población se estableció que con un punto de corte de ≤ 220 ppb o su equivalente de $\leq 72,5$ nL/min de flujo se tenía la mejor sensibilidad y especificidad (80% y 100%), con un valor predictivo positivo de 100% y negativo de 90,9%. Este punto de corte es parecido al de la guía americana y mucho mayor que el de la europea. En el estudio realizado posteriormente con pacientes remitidos para completar estudio por patología pulmonar crónica (n=200), se realizó esta medida en 122 pacientes de los 168 totales una vez excluidos los

catalogados de diagnóstico no concluyente. El punto de corte se estableció en ≤ 248 ppb o $\leq 87,9$ nL/min de flujo, cifras algo superiores al estudio inicial. La sensibilidad y especificidad fue de 91,9% y 95,3-97,5%.

En los últimos años se ha publicado que la medida del óxido nítrico nasal con la maniobra a respiración corriente puede ser útil como aproximación en los pacientes no colaboradores, aunque es menos discriminativa.

Marthin et al (114), compararon las mediciones del óxido nítrico nasal con la maniobra de volumen corriente entre un analizador portátil y uno estático, siendo los valores discriminativos y aceptables entre los diferentes grupos de pacientes (DCP, FQ y sanos) aunque recomiendan establecer valores de corte de referencia diferentes que con los realizados con la maniobra del cierre del velo del paladar, sobretodo en los pacientes de menor edad. Con el analizador estático y la técnica a volumen corriente, la sensibilidad fue de 100% y la especificidad de 95,2-100% (según el modelo de analizador) y con la técnica del cierre del velo del paladar fue exactamente igual. Con el analizador portátil los resultados en cuanto a sensibilidad y especificidad fueron similares. Debe tenerse en cuenta que en un estudio previo de este mismo grupo (115), encontraron un total de 39% de casos falsos positivos con la maniobra de volumen corriente en niños y un 6,8% de pacientes con DCP con cifras por encima de los valores de corte.

En un estudio posterior Beydon et al (116) realizaron mediciones con un analizador de quimioluminiscencia en 142 pacientes remitidos con sospecha o diagnóstico de DCP, encontrando que la técnica con cierre del velo del paladar y las maniobras a respiración corriente tienen una sensibilidad (86-97%) y especificidad (90-94%) parecida aunque los valores de ONN con la técnica de respiración corriente

(midiendo el valor máximo en 5 picos) fueron menores pero más homogéneos y discriminativos en los niños de menos de 8 años de edad respecto la otra maniobra.

El óxido nítrico nasal también está disminuido en otras patologías como la FQ, pero no de manera tan significativa como en la DCP (117).

En otro estudio reciente de Marthin et al (34), se analiza la evolución de las cifras de ONN desde la época neonatal hasta los 2 años de edad además de realizar determinaciones durante los episodios de infección respiratoria, en una población de niños sanos y también revisan retrospectivamente otros pacientes incluyendo diagnosticados de DCP que tenían determinaciones de ONN previas. La medida se realizó con la técnica de volumen corriente. Se concluye que el ONN se incrementa significativamente un 5,4% al mes desde el nacimiento hasta los 2 años de edad y que durante las infecciones respiratorias puede llegar a disminuir hasta cifras parecidas a las de los pacientes con DCP. El motivo por el cual puede disminuir en estas situaciones no está claro, pero se postula que pueda haber un atrapamiento de óxido nítrico en los senos paranasales por la obstrucción de la mucosidad o bien en biofilms mucosos (igual que la posible explicación que se da en los pacientes con FQ, con pólipos nasales o con sinupatía crónica sin ninguna otra enfermedad de base). Por este motivo recomiendan repetir la medida tras 2-3 meses de la infección respiratoria. Se ha descrito de manera similar, casos falsos positivos en pacientes no alérgicos con hipertrofia adenoidea a los cuales se les encuentra una cifra normal de ONN tras la intervención (35).

En nuestro estudio, se les determinó la cifra de ONN a los pacientes en fase de estabilidad respiratoria y se repitió antes de cada uno de los estudios de motilidad, no habiendo diferencias relevantes de las cifras entre ellos.

Cada vez existe más evidencia que los valores de ONN pueden ser normales en algunos casos de DCP, por lo que no tiene que ser una prueba determinante para proseguir o no con el resto de las pruebas complementarias y explica algunos puntos de variabilidad que aparecen en los estudios de ONN y pacientes con DCP. Esta situación se ha descrito asociada a casos con mutaciones relacionadas con los brazos radiales (118) y se ha descrito también en un paciente con una mutación relacionada con el complejo regulador nexina-dineína (77). Este hecho coincide con nuestro estudio donde dos pacientes con mutación en el gen *RSPH1* tenían una cifra de ONN al límite bajo de la normalidad (305 ppb y 100,6 nL/min en un caso y 220 ppb y 72,5 nL/min en otro). Otro paciente pendiente de estudio de exoma también tenía cifras elevadas de ONN (437,2 ppb y 128,7 nL/min). Ningún paciente catalogado de no DCP tenía una cifra baja de ONN.

La medida del *óxido nítrico exhalado* fue menor de manera significativa en el grupo de afectos de DCP. En la literatura se describen también valores bajos de óxido nítrico exhalado en pacientes con DCP pero no estadísticamente significativos sobretodo cuando lo comparan con el grupo de FQ (31,119), seguramente puede ser debido a que el rango entre los valores es mucho menor que en el óxido nítrico nasal, por ese motivo las guías no lo consideran como método de cribado.

5.7. Utilidad diagnóstica del estudio con microscopio electrónico

En nuestro estudio, una vez catalogados los pacientes como DCP o no DCP, encontramos que hubo una proporción casi al 50% de pruebas de microscopio electrónico normales y patológicas en el grupo de pacientes sin la enfermedad. En

cambio, el resultado fue patológico en todos los casos del grupo de DCP excepto en un paciente. En la mayoría de los casos no concluyentes el resultado fue patológico. La sensibilidad y especificidad de la microscopía electrónica es difícil de valorar debido a la falta de estandarización hasta ahora de la prueba (difícil procesamiento de la muestra y su interpretación).

La sensibilidad y especificidad de los estudios analizados para la elaboración de la guía diagnóstica de la ERS, fue de 0,71-1,00 y 0,92-1,00 respectivamente, identificándose un total de 5 falsos positivos en éstos (27). En nuestro estudio encontramos una sensibilidad de 90,9% y una especificidad de 48,3%.

Calculando una prevalencia de la enfermedad de 27,5% (más elevada que la de la población general debido a que se seleccionan pacientes con sintomatología respiratoria crónica donde ya se han descartado algunas otras patologías como la FQ o inmunodeficiencias), el valor predictivo positivo fue de 40% y el negativo del 93,3%.

Estas diferencias tan importantes en la especificidad y el bajo valor predictivo positivo son debidas a que 15 pacientes sin DCP tuvieron una prueba anormal lo que puede deberse a que se pudieron diagnosticar como patológicos muchos casos que eran DCP secundarias, lo que no es ahora tan frecuente con la aplicación de las guías actuales (120).

Otro motivo puede ser que también se catalogaron como patológicos muchos pacientes con déficit exclusivo de los brazos internos de dineína (sin desorganización microtubular ni déficit de brazo externo). Como refiere la literatura, en muchas ocasiones es difícil identificar los brazos internos si el contraste no es el adecuado o los cortes no son muy finos, y esto ocurre sobretodo en publicaciones donde se realizó la técnica hace varios años. También actualmente se considera que

el déficit de brazos internos puede no ser patológico sino se acompaña de ningún defecto más, ya que éste aislado no se ha relacionado con ninguna mutación específica (27,120).

Para solventar estos problemas con la interpretación de los resultados del microscopio electrónico, en el último año, se ha publicado una guía de consenso para la interpretación de sus hallazgos (49). Se clasifican los defectos encontrados en dos grupos: clase 1 que son diagnósticos por sí solos de DCP y los de clase 2 que necesitan del apoyo de la clínica u otra prueba para que sean diagnósticos, ya que fácilmente pueden confundirse con defectos secundarios.

En los defectos de clase 1 se incluyen: déficit de brazo externo de dineína, de brazo externo e interno de dineína y desorganización microtubular con defecto del brazo interno de dineína. El defecto de los brazos de dineína debe estar presente en la mayoría de los dobletes (cinco o más en los externos y de siete o más en los internos) y en la mayoría de las secciones transversales ciliares (más del 50%) y en el caso de la desorganización ciliar, ésta debe perderse en más del 25% de las secciones transversales.

En los defectos de clase 2 se incluyen: defectos del par central (ausencia de uno o dos de los microtúbulos, estructura "8+1"), que suele verse en más del 20% de las secciones, desestructuración del cuerpo basal con pocos cilios o sin ellos, y la desorganización microtubular o la ausencia de brazos externos de dineína (junto con/sin los brazos internos) en el 25-50% de las secciones.

Los defectos secundarios o adquiridos más frecuentes son: protuberancias en el axonema, cilios compuestos, desorganización de los axonemas, ausencia o delección de microtúbulos periféricos o pérdida de uno o ambos microtúbulos del par

central. Los pacientes sin DCP tienen hasta un 10% de estos defectos secundarios (120).

En nuestro estudio, la consideración diagnóstica fue tener una alteración en los brazos externos y/o internos de dineína $\geq 60\%$ o no, no se encontró ningún otro tipo de alteración.

Durante muchos años se ha considerado esta prueba como la *gold standard*, pero en diferentes estudios se ha demostrado que en algunos casos claros de DCP pueden pasar desapercibidas las alteraciones, con lo que el estudio de la ultraestructura ciliar es normal (ej. mutaciones en *DNAH11* (46)) o bien tener alteraciones sutiles que se catalogan como secundarias (ej. mutaciones en *HYDIN* (121)), llegándose a estimar hasta en un 30% los casos de DCP con microscopía electrónica normal (122). En nuestro estudio hubo un caso de DCP con microscopía electrónica normal (que se corresponde a un 9,1% de los casos de afectados de la enfermedad), cifra algo más baja que la descrita en la literatura pero que puede deberse al bajo número de casos con estudio de microscopio electrónico en nuestra muestra.

Para intentar mejorar la sensibilidad de la microscopía electrónica, se están desarrollando nuevas técnicas como la electromicroscopía de transmisión que permite reproducir de manera tridimensional la ultraestructura ciliar y así poder percibir defectos que no se ven con el microscopio electrónico clásico (123). Por ejemplo, en el caso de las mutaciones de *DNAH11* donde la ultraestructura se considera normal, con esta técnica se ve un defecto en la parte proximal del brazo externo de dineína (124). No obstante, esta nueva técnica es cara y de realización compleja.

5.8. Utilidad diagnóstica del estudio de motilidad ciliar

En nuestro estudio el resultado final del análisis de motilidad (frecuencia y patrón de batido ciliar) tras uno, dos o tres cepillados según el caso, fue anormal en todos los casos del grupo de DCP, normal en 24 casos de pacientes no afectados y anormal en 6 pacientes de este mismo grupo. En los casos no concluyentes, la mayoría de los pacientes tuvieron un estudio anormal. A los 6 pacientes sin DCP y con estudio de motilidad anormal, sólo se les realizó el estudio de motilidad en una ocasión debido a que no accedieron a realizar un segundo cepillado o bien no se les localizó. El defecto hallado en estos casos tanto se correspondía a una baja frecuencia de batido ciliar, a un elevado índice de discinesia o ambos.

La frecuencia de batido ciliar en el primer estudio fue significativamente menor en el grupo de DCP que en el de no afectados, al igual que el índice de discinesia y el de inmovilidad. En el segundo estudio sucedió lo mismo. No se realizó ningún estudio por tercera vez en los pacientes no diagnosticados de DCP y no hubo diferencias estadísticamente significativas en la cifra de frecuencia de batido entre los pacientes con DCP y los no concluyentes, aunque sí entre estos dos grupos cuando se midió el índice de discinesia y el de inmovilidad, siendo mayor en el caso de los pacientes afectados.

Los diferentes estudios muestran una sensibilidad de 0,95-1,00 y de especificidad de 0,93-0,95 para el estudio de la motilidad ciliar (27). El cultivo de células epiteliales respiratorias ayuda a mejorar en parte la fiabilidad de esta técnica disminuyendo los falsos positivos, aunque es un procedimiento difícil, costoso y con una baja tasa de éxito incluso en los centros más especializados. En nuestro caso, no disponemos de cultivo celular por el momento. La sensibilidad del análisis de la motilidad ciliar calculada en nuestro estudio fue del 100% y la especificidad de 80%. La

especificidad fue algo inferior a la reportada en la literatura ya que 6 pacientes sin DCP tenían el estudio de motilidad alterado, y esto es debido a que, cómo se ha citado previamente, todos ellos sólo tenían un estudio realizado y no se ha repetido posteriormente. En nuestro segundo estudio realizado con pacientes remitidos para completar estudio por patología pulmonar crónica (n=200) la sensibilidad y especificidad fue de 100% y 82,8%, cifras muy parecidas a nuestro estudio inicial, por lo que los resultados podrían extrapolarse a una población mayor con las mismas características clínicas.

Un porcentaje bajo de casos de DCP puede tener alteraciones sutiles en la motilidad que pueden pasar desapercibidas (45,77). Este hecho no ha sucedido en nuestro estudio ya que todos los pacientes con DCP tenían el estudio de motilidad alterado. Desde hace bastantes años se consensuó que la valoración del estudio de motilidad tenía que incluir tanto la frecuencia de batido como el patrón de movimiento, ya que algunos casos podrían catalogarse de normales sólo al valorar la frecuencia y si se analizaba el patrón se catalogarían como patológicos. En el estudio de Stannard et al (125), tomaron como prueba *gold standard* la microscopía electrónica de 371 pacientes y analizaron la función ciliar. Si sólo se tiene en cuenta la frecuencia de batido, la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de la prueba fue de 87,1%, 77,2%, 50,0% y 95,8%. En cambio, si en el análisis se incluye el patrón de batido ciliar, estos porcentajes se incrementaron al 92,5%, 97,6%, 91,2% y 99,2% respectivamente. En nuestro estudio se valoró tanto la frecuencia de batido ciliar como el patrón. Calculando una prevalencia de la enfermedad de 26,8% (más elevada que la de la población general debido a que se seleccionan pacientes con sintomatología respiratoria crónica donde ya se han descartado algunas otras patologías como la FQ o inmunodeficiencias), el valor predictivo positivo fue de

64,7% y el negativo del 100%. El valor predictivo positivo fue más bajo debido a los mismos motivos que se han detallado por tener una baja especificidad.

En el estudio de Rubbo et al (44), analizan la fiabilidad del estudio de motilidad para el diagnóstico de la DCP basándose en las recomendaciones de la guía de la ERS (hallazgos *gold standard* en el estudio de microscopía electrónica o bien tener un estudio genético positivo) y en la valoración de los casos por un grupo de varios expertos que se apoyan en el análisis conjunto de la clínica, cifra de óxido nítrico nasal, estudio de motilidad, estudio mediante inmunofluorescencia, microscopía electrónica y estudio genético, debido a que es difícil en todos los casos utilizar una prueba *gold standard* para el diagnóstico de esta enfermedad (siendo esto similar a la valoración que hicimos en nuestro estudio). La sensibilidad y especificidad de la videomicroscopía óptica de alta velocidad tomando como referencia lo sugerido por la guía de la ERS fue del 100% y 96% respectivamente y si se tomaba como referencia la valoración del equipo multidisciplinar de expertos fue del 96% y 91%. Además, en este estudio analizaron la concordancia interobservador y concluyeron que fue elevada para los casos de DCP positivos y los negativos y en menor grado para los no concluyentes. La ventaja del estudio de motilidad respecto a las otras pruebas (ultraestructura ciliar, genética) es que el resultado puede conocerse el mismo día y, aunque se realicen más estudios para corroborarlo, ya puede empezarse a tratar al paciente como DCP si los hallazgos son claramente positivos. Existe una controversia entre la inclusión o no del estudio de videomicroscopía en las guías diagnósticas (americana *versus* la europea). La guía europea defiende la inclusión de esta prueba en el algoritmo para no catalogar falsamente a pacientes de DCP por tener el óxido nítrico bajo o bien para evitar la pérdida de pacientes no diagnosticados por tener un estudio de microscopía electrónica normal. En cambio,

la guía americana no incluye la técnica del estudio de motilidad en su algoritmo ya que refiere que es costosa y está poco estandarizada y disponen de otras técnicas para el diagnóstico de esta enfermedad (126,127).

5.9. Valoración conjunta de los resultados obtenidos

En nuestro trabajo nos propusimos determinar la sensibilidad y especificidad de las pruebas para el despistaje y el diagnóstico de los pacientes con sospecha de discinesia ciliar primaria que se podían emplear en el momento de inicio del estudio, sin incluir pruebas más recientes como el estudio mediante inmunofluorescencia y el estudio genético. Hace unos 20 años, la única prueba utilizada para su diagnóstico era la microscopía electrónica y con la introducción del estudio de motilidad ciliar, nos planteamos comparar las dos técnicas.

La sensibilidad fue elevada en ambas, aunque algo más en la prueba de motilidad ciliar (100% *versus* 90,9%). La especificidad fue bastante menor con la técnica de microscopía electrónica (48,3% *versus* 80%), aunque seguramente, si se aplicara la nueva guía de procesamiento e interpretación de la microscopía electrónica, este porcentaje sería más similar. El valor predictivo positivo fue mejor para el estudio de motilidad que para la microscopía electrónica (64,7% *versus* 40%) al igual que el negativo (100% *versus* 93,3%).

Con estos datos, podemos decir que ninguna de estas dos pruebas analizadas, ni tampoco la escala clínica predictiva PICADAR y el óxido nítrico nasal, que son sólo pruebas de despistaje, pueden ser de manera exclusiva diagnósticas o no de DCP, por lo que confirmamos que se necesita de la valoración conjunta de la clínica y todas las pruebas complementarias para poder catalogar o no a un paciente de DCP en la mayoría de los casos. Las nuevas técnicas que no han sido motivo de este

estudio (cultivos celulares, inmunofluorescencia y los estudios genéticos) también son herramientas útiles que pueden ayudar al diagnóstico, pero al igual que las otras no pueden utilizarse de manera aislada. No se ha determinado la sensibilidad del estudio genético como primera línea en el diagnóstico de la DCP, pero se estima que sería baja. Tampoco se ha determinado para la inmunofluorescencia ya que no se incluye dentro del algoritmo diagnóstico de la DCP. Según las recomendaciones actuales únicamente se puede catalogar como positivo un paciente de DCP si presenta una de las alteraciones de clase 1 de la microscopía electrónica o bien dos mutaciones bialélicas. En el resto de casos debe valorarse el conjunto de las pruebas y catalogar al paciente como “posiblemente DCP”, o “poco probable DCP” (27). Por último comentar que, incluso todos los centros en los que pueden realizarse todas las pruebas citadas tienen un número de pacientes no concluyentes, los cuales en un futuro quizás se puedan acabar de catalogar a medida que se va mejorando la estandarización e interpretación de pruebas como la microscopía electrónica o el estudio de motilidad ciliar y se van aplicando nuevas técnicas como la inmunofluorescencia y el estudio genético (27).

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

- El estudio de la motilidad ciliar (frecuencia y patrón de batido) mediante videomicroscopía óptica tuvo una mejor sensibilidad y sobretodo una mejor especificidad que el estudio de la ultraestructura con microscopía electrónica para el diagnóstico de discinesia ciliar primaria.
- Las características clínicas más importantes que definieron al grupo de pacientes con discinesia ciliar primaria fueron: padecer distrés respiratorio neonatal y presentar tos y rinorrea desde el primer día de vida. La mayoría de los pacientes con *situs inversus* estaban en este grupo. También presentaban más frecuencia de tos continua productiva, rinorrea persistente, mayor porcentaje de sordera y de sensación de oídos tapados que el resto de los grupos.
- Los pacientes con discinesia ciliar primaria tuvieron un menor peso e índice de masa corporal que el resto de los grupos, al igual que una función pulmonar disminuida (FEV₁ y MMEF).
- El microorganismo más frecuentemente aislado en el grupo de DCP fue el *Haemophilus influenzae*, seguido del *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.
- La escala predictiva PICADAR y la determinación de óxido nítrico nasal son buenas pruebas de despistaje de la discinesia ciliar primaria, lo que se ha confirmado tanto en la muestra inicial como en la muestra ampliada de pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Mirra V, Werner C, Santamaria F. Primary Ciliary Dyskinesia: An Update on Clinical Aspects, Genetics, Diagnosis, and Future Treatment Strategies. *Front Pediatr.* 2017;5(135):1–13.
2. Afzelius B a. A human syndrome caused by immotile cilia. *Science.* 1976;193:317–9.
3. Eliasson R, Mossberg B, Camner P, Afzelius B. The immotile-cilia syndrome. A congenital ciliary abnormality as an etiologic factor in chronic airway infections and male sterility. *N Engl J Med.* 1977;297:1–6.
4. Rossman CM, Forrest JB, Lee RM, Newhouse MT. The dyskinetic cilia syndrome. Ciliary motility in immotile cilia syndrome. *Chest.* 1980;78:580–2.
5. Sturgess J, Thompson M, Czedledy-Nagy E. Genetic aspects of immotile cilia syndrome. *Am J Med Genet.* 1986;25:149–60.
6. Ferkol T, Mitchison H, O’Callaghan C, Leigh M, Carson J, Lie H, et al. Current issues in the basic mechanisms, pathophysiology, diagnosis and management of primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir Monogr.* 2006;37:291–313.
7. Stannard W, O’Callaghan C. Ciliary function and the role of cilia in clearance. *J Aerosol Med.* 2006;19(1):110–5.
8. Mizuno N, Taschner M, Engel BD, Lorentzen E. Structural studies of ciliary components. *J Mol Biol.* 2012;422(2):163–80.
9. Heuser T, Raytchev M, Krell J, Porter ME, Nicastro D. The dynein regulatory complex is the nexin link and a major regulatory node in cilia and flagella. *J*

- Cell Biol. 2009;187(6):921–33.
10. Ferkol TW, Leigh MW. Ciliopathies: The central role of cilia in a spectrum of pediatric disorders. *J Pediatr*. 2012;160(3):366–71.
 11. Gudis D, Cohen N. Cilia Dysfunction. *Otolaryngol Clin North Am*. 2010;43:461–72.
 12. Kuehni CE, Frischer T, Strippoli M, Maurer E, Bush A, Nielsen KG, et al. Factors influencing age at diagnosis of primary ciliary dyskinesia in European children. *Eur Respir J Off J Eur Soc Clin Respir Physiol*. 2010;36(6):1248–58.
 13. Best S, Shoemark A, Rubbo B, Patel MP, Fassad MR, Dixon M, et al. Risk factors for situs defects and congenital heart disease in primary ciliary dyskinesia. *Thorax*. 2019;74(2):203–5.
 14. Mallowney T, Manson D, Kim R, Stephens D, Shah V, Dell S. Primary ciliary dyskinesia and neonatal respiratory distress. *Pediatrics*. 2014;134(6):1160–6.
 15. Fitzgerald DA, Shapiro AJ. When to suspect primary ciliary dyskinesia in children. *Paediatr Respir Rev*. 2016;18:3–7.
 16. Lobo LJ, Zariwala MA, Noone PG. Chapter 9. Ciliary dyskinesias: primary ciliary dyskinesia in adults. *Eur Respir Monogr*. 2011;52:130–49.
 17. Goutaki M, Meier AB, Halbeisen FS, Lucas JS, Dell SD, Maurer E, et al. Clinical manifestations in primary ciliary dyskinesia: Systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J*. 2016;48(4):1081–95.
 18. Ware SM, Aygun MG, Hildebrandt F. Spectrum of Clinical Diseases Caused By Disorders of Primary Cilia. *Proc Am Thorac Soc*. 2011;8:444–50.
 19. Behan L, Dimitrov BD, Kuehni CE, Hogg C, Carroll M, Evans HJ, et al. PRIMARY CILIARY DYSKINESIA PICADAR : a diagnostic predictive tool for primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J*. 2016;47:1103–12.

20. Alanin MC, Nielsen KG, von Buchwald C, Skov M, Aanaes K, Høiby N, et al. A longitudinal study of lung bacterial pathogens in patients with primary ciliary dyskinesia. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(12):1093.e1-1093.e7.
21. Roden L, Görlich D, Omran H, Peters G, Große-Onnebrink J, Kahl BC. A retrospective analysis of the pathogens in the airways of patients with primary ciliary dyskinesia. *Respir Med.* 2019;156:69–77.
22. Wijers CDM, Chmiel JF, Gaston BM. Bacterial infections in patients with primary ciliary dyskinesia: Comparison with cystic fibrosis. *Chron Respir Dis.* 2017;14(4):392–406.
23. Halbeisen FS, Jose A, de Jong C, Nyilas S, Latzin P, Kuehni CE, et al. Spirometric indices in primary ciliary dyskinesia: systematic review and meta-analysis. *ERJ Open Res.* 2019;5(2):1–13.
24. Davis SD, Rosenfeld M, Lee HS, Ferkol TW, Sagel SD, Dell SD, et al. Primary ciliary dyskinesia: Longitudinal study of lung disease by ultrastructure defect and genotype. *Am J Respir Crit Care Med.* 2019;199(2):190–8.
25. Boon M, Vermeulen FL, Gysemans W, Proesmans M, Jorissen M, De Boeck K. Lung structure-function correlation in patients with primary ciliary dyskinesia. *Thorax.* 2015;70:339–45.
26. Kennedy MP, Noone PG, Leigh MW, Zariwala M a, Minnix SL, Knowles MR, et al. High-resolution CT of patients with primary ciliary dyskinesia. *AJR Am J Roentgenol.* 2007;188:1232–8.
27. Lucas JS, Barbato A, Collins SA, Goutaki M, Behan L, Caudri D, et al. European Respiratory Society guidelines for the diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J.* 2017;49(1):1–26.
28. O'Connor MG, Griffiths A, Iyer NP, Shapiro AJ, Wilson KC, Thomson CC.

- Summary for clinicians: Diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *Ann Am Thorac Soc.* 2019;16(2):171–4.
29. Bush A, Chodhari R, Collins N, Copeland F, Hall P, Harcourt J, et al. Primary ciliary dyskinesia: current state of the art. *Arch Dis Child.* 2007;92:1136–40.
 30. Marthin JK, Mortensen J, Pressler T, Nielsen KG. Pulmonary radioaerosol mucociliary clearance in diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *Chest.* 2007;132:966–76.
 31. Walker WT, Liew A, Harris A, Cole J, Lucas JS. Upper and lower airway nitric oxide levels in primary ciliary dyskinesia, cystic fibrosis and asthma. *Respir Med.* 2013;107(3):380–6.
 32. Simpson K, Brodlie M. How to use nasal nitric oxide in a child with suspected primary ciliary dyskinesia. *Arch Dis Child Educ Pract Ed.* 2017;102(6):314–8.
 33. Leigh MW, Hazucha MJ, Chawla KK, Baker BR, Shapiro AJ, Brown DE, et al. Standardizing nasal nitric oxide measurement as a test for primary ciliary dyskinesia. *Ann Am Thorac Soc.* 2013;10(6):574–81.
 34. Marthin JK, Philipsen MC, Rosthoj S, Nielsen KG. Infant nasal NO over time; natural evolution and impact of respiratory tract infection. *Eur Respir J.* 2018;51:1702503.
 35. Rybnikar T, Senkerik M, Chladek J, Chladkova J, Kalfert D, Skoloudik L. Adenoid hypertrophy affects screening for primary ciliary dyskinesia using nasal nitric oxide. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol.* 2018;115(June 2018):6–9.
 36. Kempeneers C, Seaton C, Garcia Espinosa B, Chilvers MA. Ciliary functional analysis: Beating a path towards standardization. *Pediatr Pulmonol.* 2019;54(10):1627–38.
 37. Sommer JU, Gross S, Hörmann K, Stuck B. Time-dependent changes in nasal

- ciliary beat frequency. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngology*. 2010;267:1383–7.
38. Jorissen M, Willems T. Success rates of respiratory epithelial cell culture techniques with ciliogenesis for diagnosing primary ciliary dyskinesia. *Acta oto-rhino-laryngologica*. 2000;54:357–65.
39. Chilvers MA, Rutman A, O’Callaghan C. Functional analysis of cilia and ciliated epithelial ultrastructure in healthy children and young adults. *Thorax*. 2003;58:333–8.
40. Hogg C. Primary ciliary dyskinesia: when to suspect the diagnosis and how to confirm it. *Paediatr Respir Rev*. 2009;10:44–50.
41. Kempeneers C, Seaton C, Bch BM, Chilvers MA. Variation of Ciliary Beat Pattern in Three Different Beating Planes in Healthy Subjects. *Chest*. 2017;151(5):993–1001.
42. Chilvers M, Rutman A, Callaghan C. Ciliary beat pattern is associated with specific ultrastructural defects in primary ciliary dyskinesia. *J Allergy Clin Immunol*. 2003;112:518–24.
43. Chilvers M, O’Callaghan C. Analysis of ciliary beat pattern and beat frequency using digital high speed imaging: comparison with the photomultiplier and photodiode methods. *Thorax*. 2000;55:314–7.
44. Rubbo B, Shoemark A, Jackson CL, Hirst R, Thompson J, Hayes J, et al. Accuracy of High-Speed Video Analysis to Diagnose Primary Ciliary Dyskinesia. *Chest*. 2019;155(5):1008–17.
45. Raidt J, Wallmeier J, Hjejij R, Onnebrink G, Pennekamp P, Loges NT, et al. Ciliary beat pattern and frequency in genetic variants of primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J Off J Eur Soc Clin Respir Physiol*. 2014;44:1579–88.
46. Knowles M, Leigh M, Carson J, Davis S, Dell S, Ferkol T, et al. Mutations of

- DNAH11 in patients with primary ciliary dyskinesia with normal ciliary ultrastructure. *Thorax*. 2012;67:433–41.
47. Pifferi M, Montemurro F, Cangiotti a M, Ragazzo V, Di Cicco M, Vinci B, et al. Simplified cell culture method for the diagnosis of atypical primary ciliary dyskinesia. *Thorax*. 2009;64:1077–81.
48. Hirst R, Rutman A, Williams G, Callaghan C. Ciliated air-liquid cultures as an aid to diagnostic testing of primary ciliary dyskinesia. *Chest*. 2010;138:1441–7.
49. Shoemark A, Boon M, Brochhausen C, Bukowy-Bieryllo Z, de Santi MM, Goggin P, et al. International consensus guideline for reporting transmission electron microscopy results in the diagnosis of Primary Ciliary Dyskinesia (BEAT PCD TEM Criteria). *Eur Respir J*. 2020;55:1900725.
50. Papon JF, Coste A, Roudot-Thoraval F, Boucherat M, Roger G, Tamalet A, et al. A 20-year experience of electron microscopy in the diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J*. 2010;35:1057–63.
51. Vallet C, Escudier E, Roudot-Thoraval F, Blanchon S, Fauroux B, Beydon N, et al. Primary ciliary dyskinesia presentation in 60 children according to ciliary ultrastructure. *Eur J Pediatr*. 2013;172(8):1053–60.
52. Noone PG, Leigh MW, Sannuti A, Minnix SL, Carson JL, Hazucha M, et al. Primary ciliary dyskinesia: diagnostic and phenotypic features. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;169(8):459–67.
53. Mitchison HM, Shoemark A. Motile cilia defects in diseases other than primary ciliary dyskinesia: The contemporary diagnostic and research role for transmission electron microscopy. *Ultrastruct Pathol*. 2017;41(6):415–27.
54. Shoemark A, Frost E, Dixon M, Ollosson S, Kilpin K, Patel M, et al. Accuracy of immunofluorescence in the diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *Am J Respir*

- Crit Care Med. 2017;196(1):94–101.
55. Horani A, Ferkol TW. Advances in the Genetics of Primary Ciliary Dyskinesia: Clinical Implications. *Chest*. 2018;154(3):645–52.
 56. Leigh MW, Horani A, Kinghom B, O'Connor MG, Zariwala A KM. Primary Ciliary Dyskinesia (PCD): A genetic disorder of motile cilia. *Transl Sci Rare Dis*. 2019;4:51–75.
 57. Olm MAK, Caldini EG, Mauad T. Diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *J Bras Pneumol*. 2015;41(3):251–63.
 58. Loges NT, Antony D, Maver A, Deardorff MA, Güleç EY, Gezdirici A, et al. Recessive DNAH9 Loss-of-Function Mutations Cause Laterality Defects and Subtle Respiratory Ciliary-Beating Defects. *Am J Hum Genet*. 2018;103(6):995–1008.
 59. Mazor M, Alkrinawi S, Chalifa-Caspi V, Manor E, Sheffield VC, Aviram M, et al. Primary ciliary dyskinesia caused by homozygous mutation in DNAL1, encoding dynein light chain 1. *Am J Hum Genet*. 2011;88(5):599–607.
 60. Duriez B, Duquesnoy P, Escudier E, Bridoux AM, Escalier D, Rayet I, et al. A common variant in combination with a nonsense mutation in a member of the thioredoxin family causes primary ciliary dyskinesia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(9):3336–41.
 61. Bonnefoy S, Watson CM, Kernohan KD, Lemos M, Hutchinson S, Poulter JA, et al. Biallelic Mutations in LRRC56, Encoding a Protein Associated with Intraflagellar Transport, Cause Mucociliary Clearance and Laterality Defects. *Am J Hum Genet*. 2018;103(5):727–39.
 62. Knowles MR, Leigh MW, Ostrowski LE, Huang L, Carson JL, Hazucha MJ, et al. Exome sequencing identifies mutations in CCDC114 as a cause of primary

- ciliary dyskinesia. *Am J Hum Genet.* 2013;92(1):99–106.
63. Hjeij R, Onoufriadis A, Watson CM, Slagle CE, Klena NT, Dougherty GW, et al. CCDC151 mutations cause primary ciliary dyskinesia by disruption of the outer dynein arm docking complex formation. *Am J Hum Genet.* 2014;95(3):257–74.
64. Wallmeier J, Shiratori H, Dougherty GW, Edelbusch C, Hjeij R, Loges NT, et al. TTC25 Deficiency Results in Defects of the Outer Dynein Arm Docking Machinery and Primary Ciliary Dyskinesia with Left-Right Body Asymmetry Randomization. *Am J Hum Genet.* 2016;99(2):460–9.
65. Lucas JS, Davis SD, Omran H, Shoemark A. Primary ciliary dyskinesia in the genomics age. *Lancet Respir Med.* 2020;8(2):202–16.
66. Ta-Shma A, Hjeij R, Perles Z, Dougherty GW, Abu Zahira I, Letteboer SJF, et al. Homozygous loss-of-function mutations in MNS1 cause laterality defects and likely male infertility. *PLoS Genet.* 2018;14(8):1–23.
67. Mitchison HM, Schmidts M LN. Mutations in axonemal dynein assembly factor DNAAF3 cause primary ciliary dyskinesia. *Nat Genet.* 2012;44(4):381–S2.
68. Horani A, Druley TE, Zariwala MA, Patel AC, Levinson BT, Van Arendonk LG, et al. Whole-exome capture and sequencing identifies HEATR2 mutation as a cause of primary ciliary dyskinesia. *Am J Hum Genet.* 2012;91(4):685–93.
69. Paff T, Loges NT, Aprea I, Wu K, Bakey Z, Haarman EG, et al. Mutations in PIH1D3 Cause X-Linked Primary Ciliary Dyskinesia with Outer and Inner Dynein Arm Defects. *Am J Hum Genet.* 2017;100(1):160–8.
70. Knowles MR, Ostrowski LE, Loges NT, Hurd T, Leigh MW, Huang L, et al. Mutations in SPAG1 cause primary ciliary dyskinesia associated with defective outer and inner dynein arms. *Am J Hum Genet.* 2013;93(4):711–20.
71. Austin-Tse C, Halbritter J, Zariwala MA, Gilberti RM, Gee HY, Hellman N, et al.

- Zebrafish ciliopathy screen plus human mutational analysis identifies C21orf59 and CCDC65 defects as causing primary ciliary dyskinesia. *Am J Hum Genet.* 2013;93(4):672–86.
72. Höben IM, Hjeij R, Olbrich H, Dougherty GW, Nöthe-Menchen T, Aprea I, et al. Mutations in C11orf70 Cause Primary Ciliary Dyskinesia with Randomization of Left/Right Body Asymmetry Due to Defects of Outer and Inner Dynein Arms. *Am J Hum Genet.* 2018;102(5):973–84.
73. Jeanson L, Copin B, Papon JF, Dastot-Le Moal F, Duquesnoy P, Montantin G, et al. RSPH3 Mutations Cause Primary Ciliary Dyskinesia with Central-Complex Defects and a Near Absence of Radial Spokes. *Am J Hum Genet.* 2015;97(1):153–62.
74. El Khouri E, Thomas L, Jeanson L, Bequignon E, Vallette B, Duquesnoy P, et al. Mutations in DNAJB13, Encoding an HSP40 Family Member, Cause Primary Ciliary Dyskinesia and Male Infertility. *Am J Hum Genet.* 2016;99(2):489–500.
75. Edelbusch C, Cindrić S, Dougherty GW, Loges NT, Olbrich H, Rivlin J, et al. Mutation of serine/threonine protein kinase 36 (STK36) causes primary ciliary dyskinesia with a central pair defect. *Hum Mutat.* 2017;38(8):964–9.
76. Cindrić S, Dougherty GW, Olbrich H, Hjeij R, Loges NT, Amirav I, Philipsen MC, Marthin JC, Nielsen KG OH. SPEF2- and HYDIN-mutant Cilia Lack the Central Pair Associated Protein SPEF2 Aiding PCD Diagnostics. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2020;62(3):382–96.
77. Olbrich H, Cremers C, Loges NT, Werner C, Nielsen KG, Marthin JK, et al. Loss-of-Function GAS8 Mutations Cause Primary Ciliary Dyskinesia and Disrupt the Nexin-Dynein Regulatory Complex. *Am J Hum Genet.*

- 2015;97(4):546–54.
78. Hannah WB, DeBrosse S, Kinghorn BA, Strausbaugh S, Aitken ML, Rosenfeld M, et al. The expanding phenotype of OFD1-related disorders: Hemizygous loss-of-function variants in three patients with primary ciliary dyskinesia. *Mol Genet Genomic Med.* 2019;7(9):1–10.
 79. Bustamante-Marin XM, Yin WN, Sears PR, Werner ME, Brotslaw EJ, Mitchell BJ, et al. Lack of GAS2L2 Causes PCD by Impairing Cilia Orientation and Mucociliary Clearance. *Am J Hum Genet.* 2019;104(2):229–45.
 80. Emiralioglu N, Wallmeier J, Olbrich H, Omran H, Ozcelik U. DYNC2H1 mutation causes Jeune syndrome and recurrent lung infections associated with ciliopathy. *Clin Respir J.* 2018;12(3):1017–20.
 81. Sigg MA, Menchen T, Lee C, Johnson J, Melissa K, Choksi SP, et al. Evolutionary proteomics uncovers ancient associations of cilia with signaling pathways. *Dev Cell.* 2017;43(6):744–62.
 82. Noël ES, Momenah TS, Al-Dagriri K, Al-Suwaid A, Al Shahrani S, Jiang H, et al. A Zebrafish loss-of-function model for human CFAP53 mutations reveals its specific role in laterality organ function. *Hum Mutat.* 2016;37(2):194–200.
 83. Narasimhan V, Hjeij R, Vij S, Loges NT, Wallmeier J, Koerner-Rettberg C, et al. Mutations in CCDC11, which encodes a coiled-coil containing ciliary protein, causes situs inversus due to dysmotility of monocilia in the left-right organizer. *Hum Mutat.* 2015;36(3):307–18.
 84. Wallmeier J, Frank D, Shoemark A, Nöthe-Menchen T, Cindric S, Olbrich H, et al. De Novo Mutations in FOXJ1 Result in a Motile Ciliopathy with Hydrocephalus and Randomization of Left/Right Body Asymmetry. *Am J Hum Genet.* 2019;105(5):1030–9.

85. Lucas JS, Alanin MC, Collins S, Harris A, Johansen HK, Nielsen KG, et al. Clinical care of children with primary ciliary dyskinesia. *Expert Rev Respir Med.* 2017;11(10):779–90.
86. Shapiro AJ, Davis SD, Polineni D, Manion M, Rosenfeld M, Dell SD, et al. Diagnosis of primary ciliary dyskinesia: An official American thoracic society clinical practice guideline. *Am J Respir Crit Care Med.* 2018;197(12):24–39.
87. Shoemark A, Dell S, Shapiro A, Lucas JS. ERS and ATS diagnostic guidelines for primary ciliary dyskinesia: similarities and differences in approach to diagnosis. *Eur Respir J.* 2019;54(3):1901066.
88. Lobo LJ, Zariwala MA, Noone PG. Primary ciliary dyskinesia. *Qjm.* 2014;107(9):691–9.
89. Kuehni CE, Goutaki M, Lucas JS. Management of primary ciliary dyskinesia : current practice and future perspectives. 2018;282–99.
90. Goutaki M, Halbeisen FS, Spycher BD, Maurer E, Belle F, Amirav I, et al. Growth and nutritional status, and their association with lung function: a study from the international Primary Ciliary Dyskinesia Cohort. *Eur Respir J.* 2017;50(6):1701659.
91. Schofield LM, Duff A, Brennan C. This is a repository copy of Airway Clearance Techniques for Primary Ciliary Dyskinesia; is the Cystic Fibrosis literature portable? *Paediatr Respir Rev.* 2017;25:73–7.
92. Phillips GE, Thomas S, Heather S, Bush a. Airway response of children with primary ciliary dyskinesia to exercise and β_2 -agonist challenge. *Eur Respir J.* 1998;11(6):1389–91.
93. Paff T, Daniels JMA, Weersink EJ, Lutter R, Vonk Noordegraaf A, Haarman EG. A randomised controlled trial on the effect of inhaled hypertonic saline on

- quality of life in primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J.* 2017;49(2):1601770.
94. Tarrant BJ, Le Maitre C, Romero L, Steward R, Button BM, Thompson BR, et al. Mucoactive agents for chronic, non-cystic fibrosis lung disease: A systematic review and meta-analysis. *Respirology.* 2017;22(6):1084–92.
95. O'Donnell AE, Barker AF, Ilowite JS, Fick RB. Treatment of idiopathic bronchiectasis with aerosolized recombinant human DNase. *Chest.* 1998;113(5):1329–34.
96. Fauroux B, Tamalet A, Clément A. Management of primary ciliary dyskinesia: the lower airways. *Paediatr Respir Rev.* 2009;10:55–7.
97. Kobbernagel HE, Buchvald FF, Haarman EG, Casaulta C, Collins SA, Hogg C, et al. Efficacy and safety of azithromycin maintenance therapy in primary ciliary dyskinesia (BESTCILIA): a multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet Respir Med.* 2020;8(5):493–505.
98. Crowley S, Holgersen MG, Nielsen KG. Variation in treatment strategies for the eradication of *Pseudomonas aeruginosa* in primary ciliary dyskinesia across European centers. *Chron Respir Dis.* 2018;16:1–8.
99. Yiallourous PK, Kouis P, Middleton N, Nearchou M, Adamidi T, Georgiou A, et al. Clinical features of primary ciliary dyskinesia in Cyprus with emphasis on lobectomized patients. *Respir Med.* 2015;109(3):347–56.
100. Barbato A, Frischer T, Kuehni CE, Snijders D, Azevedo I, Baktai G, et al. Primary ciliary dyskinesia: A consensus statement on diagnostic and treatment approaches in children. *Eur Respir J.* 2009;34(6):1264–76.
101. Campbell R. Managing upper respiratory tract complications of primary ciliary dyskinesia in children. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2012;12(1):32–8.
102. Ratjen F, Waters V, Klingel M, McDonald N, Dell S, Leahy TR, et al. Changes

- in airway inflammation during pulmonary exacerbations in patients with cystic fibrosis and primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J*. 2016;47:829–36.
103. Carrascosa A, Yeste D, Moreno-Galdó A, Gussinyé M, Ferrández Á, Clemente M, et al. Crecimiento puberal de 1.453 niños sanos según la edad de inicio de la pubertad. Estudio longitudinal de Barcelona. *An Pediatría*. 2018;89(3):144–52.
104. Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, Burgos F, Casaburi R, Coates A, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J*. 2005;26(2):319–38.
105. Graham BL, Steenbruggen I, Barjaktarevic IZ, Cooper BG, Hall GL, Hallstrand TS, et al. Standardization of spirometry 2019 update an official American Thoracic Society and European Respiratory Society technical statement. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019;200(8):70–88.
106. Quanjer PH, Stanojevic S, Cole TJ, Baur X, Hall GL, Culver BH, et al. Multi-ethnic reference values for spirometry for the 3-95-yr age range: The global lung function 2012 equations. *Eur Respir J*. 2012;40(6):1324–43.
107. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide, 2005. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171(8):912–30.
108. Leigh MW, Ferkol TW, Davis SD, Lee H-S, Rosenfeld M, Dell SD, et al. Clinical Features and Associated Likelihood of Primary Ciliary Dyskinesia in Children and Adolescents. *Ann Am Thorac Soc*. 2016;13(8):1305–13.
109. Kennedy MP, Omran H, Leigh MW, Dell S, Morgan L, Molina PL, et al. Congenital heart disease and other heterotaxic defects in a large cohort of patients with primary ciliary dyskinesia. *Circulation*. 2007;115(22):2814–21.
110. Maglione M, Bush A, Montella S, Mollica C, Manna A, Esposito A, et al.

- Progression of lung disease in primary ciliary dyskinesia: Is spirometry less accurate than CT? *Pediatr Pulmonol.* 2012;47:498–504.
111. Davis SD, Ferkol TW, Rosenfeld M, Lee HS, Dell SD, Sagel SD, et al. Clinical features of childhood primary ciliary dyskinesia by genotype and ultrastructural phenotype. *Am J Respir Crit Care Med.* 2015;191(3):316–24.
112. Rademacher J, Buck A, Schwerk N, Price M, Fuge J, Welte T, et al. Nasal Nitric Oxide Measurement and a Modified PICADAR Score for the Screening of Primary Ciliary Dyskinesia in Adults with Bronchiectasis. *Pneumologie.* 2017;71(8):543–8.
113. Jackson CL, Behan L, Collins SA, Goggin PM, Adam EC, Coles JL, et al. Accuracy of diagnostic testing in primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J.* 2016;47:837–48.
114. Marthin JK, Nielsen KG. Hand-Held Tidal Breathing Nasal Nitric Oxide Measurement - A Promising Targeted Case-Finding Tool for the Diagnosis of Primary Ciliary Dyskinesia. *PLoS One.* 2013;8(2):e57262.
115. Marthin JK, Nielsen KG. Choice of nasal nitric oxide technique as first-line test for primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J.* 2011;37(3):559–65.
116. Beydon N, Chambellan A, Alberti C, De Blic J, Clément A, Escudier E, et al. Technical and practical issues for tidal breathing measurements of nasal nitric oxide in children. *Pediatr Pulmonol.* 2015;50(12):1374–82.
117. Wodehouse T, Kharitonov S a., Mackay IS, Barnes PJ, Wilson R, Cole PJ. Nasal nitric oxide measurements for the screening of primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J.* 2003;21:43–7.
118. Knowles MR, Ostrowski LE, Leigh MW, Sears PR, Davis SD, Wolf WE, et al. Mutations in RSPH1 cause primary ciliary dyskinesia with a unique clinical and

- ciliary phenotype. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;189(6):707–17.
119. Narang I, Ersu R, Wilson NM, Bush A. Nitric oxide in chronic airway inflammation in children: diagnostic use and pathophysiological significance. *Thorax*. 2002;57(5):586–9.
120. Dixon M, Shoemark A. Secondary defects detected by transmission electron microscopy in primary ciliary dyskinesia diagnostics. *Ultrastruct Pathol*. 2017;41(6):390–8.
121. Olbrich H, Schmidts M, Werner C, Onoufriadis A, Loges NT, Raidt J, et al. Recessive HYDIN mutations cause primary ciliary dyskinesia without randomization of left-right body asymmetry. *Am J Hum Genet*. 2012;91(4):672–84.
122. Knowles MR, Daniels LA, Davis SD, Zariwala MA, Leigh MW. Primary ciliary dyskinesia: Recent advances in diagnostics, genetics, and characterization of clinical disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;188(19):913–22.
123. Shoemark A. Applications of emerging transmission electron microscopy technology in PCD research and diagnosis. *Ultrastruct Pathol*. 2017;41(6):408–14.
124. Shoemark A, Burgoyne T, Kwan R, Dixon M, Patel MP, Rogers AV, et al. Primary ciliary dyskinesia with normal ultrastructure: three-dimensional tomography detects absence of DNAH11. *Eur Respir J*. 2018;51(2):1701809.
125. Stannard WA, Chilvers MA, Rutman AR, Williams CD, O’Callaghan C. Diagnostic testing of patients suspected of primary ciliary dyskinesia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2010;181:307–14.
126. Lavie M, Amirav I. In defense of high-speed video microscopy in evaluating patients with suspected primary ciliary dyskinesia. *Am J Respir Crit Care Med*.

2019;200(9):1181–3.

127. Amirav I, Lavie M. Reply to Shoemark et al. and to Shapiro et al. *Am J Respir Crit Care Med.* 2020;201(1):123–5.

ANEXOS

8.1. ANEXO 1: FORMULARIO DE RECOGIDA DE DATOS (ESTUDIO PACIENTES SANOS)

IDENTIFICACIÓ:**DATA ACTUAL:**

COGNOMS I NOM:

ÈTNIA:

NHC:

SEXE: H / D

NAIXEMENT I EDAT ACTUAL:

HISTÒRIA CLÍNICA

- Antecedents personals:
 - Bronquitis de repetició (>3 episodis/anuals): sí / no
 - Otitis repetició (>6 episodis/any): sí / no
 - Rinosinusitis crònica: sí / no
 - Alteracions immunològiques: sí / no
 - Tabaquisme actiu / passiu: sí / no
 - Tractament actual: sí / no

- Simptomatologia actual:
 - Última infecció respiratòria:

ESTUDI MOTILITAT CILIAR

- N° eixos obtinguts (“perfil lateral + cap a observador” / “visió des de dalt”):
- CBF (Hz):
- Patró:
- Índex discinèsia:
- Índex immobilitat:

8.2. ANEXO 2: FORMULARIO DE RECOGIDA DE DATOS (ESTUDIO MUESTRA ORIGINAL DE PACIENTES)

IDENTIFICACIÓ:**DATA ACTUAL:**

COGNOMS I NOM:

ÈTNIA:

NHC:

TELÈFON:

NAIXEMENT I EDAT ACTUAL:

SEXE: H / D

HISTÒRIA CLÍNICA I EXPLORACIÓ FÍSICA

- Raspallat nasal previ:
 - o Data i edat pacient:
 - o Resultat:
- Antecedents personals:
 - o Pares consanguinis:
 - o Tabaquisme actiu / passiu:
 - o Setmanes gestació:
 - o Requeriment oxigen:
 - o Tos / Rinorrea al néixer:
 - o Taquipnea transitòria RN:
 - o Ventilació mecànica (CPAP / SIMV / VAFO) i dies:
 - o Retràs desenvolupament: activitat motora fina / grollera, social, llenguatge
 - o Patologia associada:
 - Reflux GE:
 - Patologia renal:
 - Hidrocefàlia:
 - *Situs inversus / ambiguus*
 - Pòlips nasals:
 - Al·lèrgies:
 - Altres:
- Antecedents familiars:
 - o Bronquièctasis:
 - o Discinèsia ciliar:
 - o Asma:
 - o Otitis:
 - o Altres:
 - o Arbre genealògic:
- Simptomatologia habitual (actual):
 - o Tos: edat inici seca / productiva continua / intermitent dia / nit
 - o Rinorrea: edat inici persistent / intermitent color (transparent / groc / verd)
 - o Expectoració: sí / no color (clar / groc / verd)
 - o Sibilants: sí / no dia / nit

- Broncospasmes (nº episodis / any):
 - Exercici físic: normal / capacitat disminuïda / no en realitza
 - Pneumònies (nº episodis / any):
 - Audició – ORL: orelles “tapades” (sí / no), drenatges transtimpànics (quan), sordesa (sí / no), altres problemes auditius
 - Otitis mitja aguda (nº episodis / any) o otitis serosa:
 - Sinusitis aguda (nº episodis / any) o crònica:
 - Última infecció respiratòria:
 - Altres:
- Nombre exacerbacions / any:
 - Nombre ingressos per problemes respiratoris en últim any:
 - Tractament actual:
 - GC inh (+/- beta2-llarga durada):
 - Antibiòtic cíclic (vo / neb):
 - Antibiòtic en exacerbacions:
 - GC nassals:
 - Fisioteràpia:
 - Altres:
 - Exploració física (actual):
 - Pes: Talla:
 - Auscultació pulmonar:
 - Tiratge:
 - Acropàquies:
 - ORL (otoscòpia, rinorrea visible i orofaringe):
 - SatO2:

PROVES COMPLEMENTÀRIES PRÈVIES

- Test suor (Cl quantitatiu en mmol/L):
- Estudi immunològic:
 - Ig's:
 - Subclasses IgG:
 - Complement:
 - Resposta funcional Ac:

DADES RADIOLÒGIQUES

- Última Rx tòrax (data i resultat):
- Últim TC pulmonar (data i resultat):

FUNCIÓ PULMONAR I ÒXID NÍTRIC (dia de la visita)

- Espirometria:
 - o FVC (L) (%)
 - o FEV₁ (L) (%)
 - o FEV₁/FVC (%)
 - o MMEF (L/s) (%)
- ONE (ppb):
- ONN (ppb):

MICROBIOLOGIA (dia de la visita)

- Cultiu esput / Frotis faringi:

ESTUDI MOTILITAT CILIAR

- N° eixos obtinguts (“perfil lateral + cap a observador” / “visió des de dalt”):
- CBF (Hz):
- Patró:
- Índex discinèsia:
- Índex immobilitat:

8.3. ANEXO 3: INFORME DEL COMITÉ ÉTICO (ESTUDIO PACIENTES SANOS)

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA Y COMISIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL UNIVERSITARI VALL D'HEBRON

Doña MIREIA NAVARRO SEBASTIÁN, Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Vall d'Hebrón, de Barcelona,

CERTIFICA

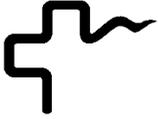
Que el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Vall d'Hebron , en el cual la Comisión de proyectos de investigación está integrada, se reunió en sesión ordinaria nº 185 el pasado 25 de febrero de 2011 y evaluó el proyecto de investigación presentado con fecha 04/02/2011, titulado "*Estudio de la función ciliar y de la ultraestructura del epitelio respiratorio en niños y adultos sanos.*" que tiene como investigador principal a la Sra. Sandra Rovira Amigo del Servicio de neumología Pediátrica de nuestro Centro.

El resultado de la evaluación fue el siguiente:

APROBADO.

El Comité tanto en su composición como en los PNT cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con el Real Decreto 223/2004, y su composición actual es la siguiente:

Presidenta: Gallego Melcón, Soledad. Médico
Vicepresidente: Bagó Granell, Joan. Médico
Secretaria: Navarro Sebastián, Mireia. Química
Vocales : Armadans Gil, Lluís. Médico
Azpiroz Vidaur, Fernando. Médico
Catalán Ramos, Arantxa. Farmacéutica de Atención Primaria
Cucurull Folgera, Esther. Médico Farmacóloga
Latorre Arteché, Francisco. Médico



De Torres Ramírez, Inés M. Médico
Ferreira González, Ignacio. Médico
Fuentelsaz Gallego, Carmen. Diplomada Enfermería
Fuentes Camps, Inmaculada. Médico Farmacóloga
Guardia Massó, Jaume. Médico
Hortal Ibarra, Juan Carlos. Profesor de Universidad de Derecho
Laporte Roselló, Joan Ramon. Médico Farmacólogo
Miró Muixi, Isabel. Médico
Montoro Ronsano, J. Bruno. Farmacéutico Hospital
Rodríguez Gallego, Alexis. Médico Farmacólogo
Segarra Sarries, Joan. Abogado
Solé Orsola, Marta. Diplomada Enfermería
Suñé Martín, Pilar. Farmacéutica Hospital

En dicha reunión del Comité Ético de Investigación Clínica se cumplió el quórum preceptivo legalmente.

En el caso de que se evalúe algún proyecto del que un miembro sea investigador/colaborador, éste se ausentará de la reunión durante la discusión del proyecto.

Sra. Mireia Navarro

Secretaria del CEIC del Hospital Universitario de Vall d'Hebron

Barcelona, 02 de marzo del 2011

8.4. ANEXO 4: INFORME DEL COMITÉ ÉTICO (ESTUDIO MUESTRA ORIGINAL DE PACIENTES)

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA Y COMISIÓN DE INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL UNIVERSITARI VALL D'HEBRON DE BARCELONA

El Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitari Vall d'Hebron, en el cual se integra la Comisión de Investigación, reunido en sesión ordinaria con fecha 18 de febrero de 2009, y una vez analizado el proyecto de investigación titulado "*Estudio de la función de los cilios mediante imagen digital de alta velocidad y cultivo de células epiteliales. Comparación con la ultraestructura ciliar en la discinesia ciliar primaria*", presentado por el *Dr/Dra. Antonio Moreno Galdó*, del *CIBBIM - Fisiopatología Celular* de nuestro centro, lo informa favorablemente, quedando constancia de ello en el acta número 163 de la citada fecha.



El Secretario

Dr. L. Armadans



Vall d'Hebron
Hospital
Comité Ético
d'Investigació Clínica

8.5. ANEXO 5: INFORME DEL COMITÉ ÉTICO (ESTUDIO MUESTRA AMPLIADA DE PACIENTES)

INFORME DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA Y COMISIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL UNIVERSITARI VALL D'HEBRON

Doña Mireia Navarro, Secretaria del COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA CON MEDICAMENTOS del Hospital Universitari Vall d'Hebron,

CERTIFICA

Que el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Vall d'Hebron, en el cual la Comisión de proyectos de investigación está integrada, se reunió en sesión ordinaria nº 249 el pasado 29 de abril de 2016 y evaluó el proyecto de investigación PR(AMI)148/2016 presentado con fecha 01/04/2016, titulado “*CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA DISCINESIA CILIAR PRIMARIA*” que tiene como investigador principal al Dr. Antonio Moreno Galdó del Servicio de Pediatría de nuestro Centro.

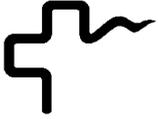
Y que tras emitir un informe aprobado condicionado en dicha reunión y evaluar la documentación recibida posteriormente en respuesta a este informe

El resultado de la evaluación fue el siguiente:

DICTAMEN FAVORABLE

El Comité tanto en su composición como en los PNT cumple con las normas de BPC (CPMP/ICH/135/95) y con el Real Decreto 1090/2015, y su composición actual es la siguiente:

Presidenta: Gallego Melcón, Soledad. Médico
Vicepresidente: Segarra Sarries, Joan. Abogado
Secretaria: Navarro Sebastián, Mireia. Química



Vocales: Armadans Gil, Lluís. Médico
Azpiroz Vidaur, Fernando. Médico
Balasso, Valentina. Médico
Cucurull Folguera, Esther. Médico Farmacóloga
Latorre Arteche, Francisco. Médico
De Torres Ramírez, Inés M. Médico
Fernández Liz, Eladio. Farmacéutico de Atención Primaria
Fuentes Camps, Inmaculada. Médico Farmacóloga
Guardia Massó, Jaume. Médico
Joshi Jubert, Nayana. Médico
Hortal Ibarra, Juan Carlos. Profesor de Universidad de Derecho
Iavecchia, María Luján. Médico Farmacólogo
Rodríguez Gallego, Alexis. Médico Farmacólogo
Sánchez Raya, Judith. Médico
Solé Orsola, Marta. Diplomada Enfermería
Suñé Martín, Pilar. Farmacéutica Hospital
Vargas Blasco, Víctor, Médico

En dicha reunión del Comité Ético de Investigación Clínica se cumplió el quórum preceptivo legalmente.

En el caso de que se evalúe algún proyecto del que un miembro sea investigador/colaborador, éste se ausentará de la reunión durante la discusión del proyecto.

Lo que firmo en Barcelona a 10 de noviembre de 2016

Sra. Mireia Navarro
Secretaria CEIm

