



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO NACIONAL DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS
ISMAEL COSÍO VILLEGAS.



TÍTULO

**CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y RADIOLÓGICAS DE LOS PACIENTES PEDIÁTRICOS CON
ALTERACIONES DE LA ULTRAESTRUCTURA CILIAR RESPIRATORIA**

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO DE ESPECIALIDAD EN
NEUMOLOGÍA PEDIÁTRICA**

PRESENTA

BRENDA AIDE AVILÉS RAMÍREZ

ASESOR

DRA. ROSANGELA DEL RAZO RODRIGUEZ

CD. DE MÉXICO

FEBRERO 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AUTORIZACIONES

Dr. Juan Carlos Vázquez García

Dirección de Enseñanza

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas”.

Dra. Margarita Fernández Vega

Subdirectora de Enseñanza

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas”.

Dra. Rosangela Del Razo Rodríguez

Médico Adscrito del Servicio de Neumología Pediátrica. Jefa del servicio de Broncoscopia Pediátrica.

Asesora de Tesis

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas”.

Dr. Alejandro Alejandro García

Jefe del Departamento de Neumología Pediátrica

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias “Ismael Cosío Villegas”.

DEDICATORIA

INDICE

| | |
|--|----|
| RESUMEN | 5 |
| MARCO TEÓRICO | 9 |
| DEFINICIÓN DEL PROBLEMA..... | 13 |
| ANTECEDENTES..... | 13 |
| JUSTIFICACIÓN..... | 14 |
| HIPÓTESIS | 14 |
| OBJETIVO GENERAL | 14 |
| OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 14 |
| MATERIAL Y MÉTODOS | 16 |
| Criterios de inclusión y exclusión..... | 17 |
| Captura, procesamiento, análisis e interpretación de la información..... | 18 |
| DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES. | 18 |
| CONSIDERACIONES ÉTICAS..... | 25 |
| COMENTARIOS Y CONSIDERACIONES ADICIONALES DE LOS INVESTIGADORES | 25 |
| RESULTADOS | 25 |
| DISCUSIÓN | 31 |
| CONCLUSIONES | 32 |
| BIBLIOGRAFIA | 33 |

RESUMEN

GENERALIDADES:

La disquinesia ciliar primaria (DCP) es a un grupo heterogéneo de desórdenes hereditarios, autosómico recesivo, dado por una alteración de los cilios de la mucosa respiratoria, microanatómicas o funcionales (ausencia o un movimiento ciliar ineficaz, parcial o total). Tiene prevalencia de 1:15.000 a 1:30.000 (subdiagnosticada). La edad media al diagnóstico es de 4.4 años (6 años sin situs inversus). La ausencia de brazos de dineína fue la primera alteración ciliar descrita y afecta al 70-80% de los pacientes, puede ser de los brazos internos, de los externos o de ambos. Otros defectos son: ausencia de brazos radiales, desorientación ciliar y transposición ciliar; la variedad morfológica es debida a que el axonema ciliar es una construcción biológica que tiene 130 especies polipeptídicas diferentes, la más frecuentemente encontrada es la ausencia de brazos externos e internos de dineína. El transporte mucociliar deficitario impide que los agentes patógenos sean eliminados de las vías respiratorias, favoreciendo así la recurrencia de la infección respiratoria: Más del 85% de los niños tiene otitis media supurada crónica o grave. La sinusitis crónica es constante, las bronquiectasias están presentes en >80% de los pacientes. El diagnóstico se basa en el análisis de la ultraestructura ciliar mediante microscopía electrónica y en pruebas complementarias funcionales (valorar la eficiencia del transporte mucociliar que incluyen, el estudio del batido mucociliar y la medición de la frecuencia y patrón de batido, mediante test de sacarina o test de batido de partículas marcadas con isótopos (tecnecio), método de determinación de niveles de óxido nítrico). El diagnóstico precoz de la DCP ha mostrado ser crucial para disminuir la morbimortalidad y mejorar su calidad de vida. Dado que la DCP es una entidad subdiagnosticada y no contamos con algoritmo diagnóstico, se propone el siguientes protocolo para describir las características clínicas y radiológicas de los pacientes con alteraciones ciliares, para su diagnóstico oportuno y tratamiento.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA (PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN):

¿Cuál es el cuadro clínico y los hallazgos radiológicos de los pacientes con alteraciones de la ultraestructura ciliar respiratoria en nuestro Instituto?.

HIPÓTESIS:

No requiere hipótesis por ser un estudio observacional (no habrá intervención).

Objetivo principal:

Describir el cuadro clínico y los hallazgos radiológicos de los pacientes pediátricos con alteraciones de la ultraestructura ciliar respiratoria.

Objetivos secundarios:

1. Describir los tipos de alteración de la ultraestructura ciliar respiratoria en pacientes pediátricos.
2. Describir su función pulmonar
3. Realizar test de batido con partículas protéicas marcadas con isótopos (tecnecio).
4. Evaluar la función cardíaca (ecocardiograma).
5. Mencionar principales comorbilidades.
6. Identificar agentes infecciosos.
7. Aplicar un cuestionario de síntomas (validado en patología pulmonar crónica en pacientes pediátricos mexicanos).

Diseño del estudio:

Estudio observacional, descriptivo, prospectivo, longitudinal. Tomaremos pacientes que acudan al INER con cuadro sugestivo de DCP. A los mayores de 6 años: se realizará espirometría simple y postbroncodilatador, caminata de 6 minutos a los pacientes que no desaturen y titulación de oxígeno suplementario a los pacientes que desaturen. A los mayores de 12 años: se realizará test de batido con partículas protéicas marcadas con isótopos (tecnecio). A todos

se realizará broncoscopia para toma de biopsia bronquial para la realización de microscopia electrónica. A todos se realizará electrocardiograma. A todos se les realizará una valoración por el servicio de otorrinolaringología. Se valorará si requiere TAC de senos paranasales (en caso de tener sinusitis de repetición) o TACAR en caso de sospecharse bronquiectasias o tener infecciones de vías respiratorias bajas de repetición. Se describirán los datos obtenidos.

Criterios de inclusión:

1. Niños de cualquier sexo, entre 1 mes y 15 años de edad. (La edad mínima se escogió porque es la edad límite de los pacientes atendidos en el Servicio de Neumopediatría del INER).
2. Con infecciones de vías respiratorias bajas e repetición (neumonías recurrentes, bronquiectasias).
3. Con o sin infecciones de vías respiratorias altas de repetición (sinusitis, otitis, rinosinusitis).
4. Sin enfermedad aguda de vías aéreas bajas en las últimas 6 semanas.
5. Que sus padres o tutores legales acepten la realización del estudio mediante su firma de una carta de consentimiento informado (anexo 2) y asentimiento al niños mayores de 6 años (anexo 3).

Criterios de exclusión:

1. Niños con diagnóstico previo de inmunodeficiencia primaria o secundaria, que sea la causa a la que se atribuye de primera instancia la causa de infecciones recurrentes.
2. Niños con diagnóstico previo de neumopatía crónica infecciosa por ejemplo tuberculosis o micosis, que sea la causa a la que se atribuye de primera instancia la causa de sintomatología recurrente.
3. Niños con diagnóstico reciente (últimas 6 semanas) de reflujo gastroesofágico, que iniciaron tratamiento en el mismo lapso, que sea la causa a la que atribuye la causa de infecciones recurrentes.

Criterios de eliminación:

1. Pacientes que no cooperen para la realización de pruebas de función pulmonar (por ejemplo, estado neurológico) o imposibilidad para la realización de las mismas como hipotonía o distrofias musculares. Estos se realizará un estudio por separado.
2. Pacientes con antecedentes personales o familiares de atopia (asma, dermatitis atópica, rinitis alérgica, alergias alimentarias, pruebas cutáneas positivas, elevación de eosinófilos >4%, elevación de IgE), así como tabaquismo pasivo. Estos se realizará un estudio por separado.

Tamaño de la muestra:

No existen estudios similares al respecto que nos permitan calcular un tamaño de muestra, por lo que se considerará una muestra por conveniencia de 20 pacientes.

Análisis estadístico:

Para resumir las variables cualitativas se utilizarán frecuencias absolutas y relativas, mientras que para las variables cuantitativas se utilizará el promedio y desviación estándar o, en caso de no tener una distribución normal, mediana y extremos. Se utilizará la prueba de chi cuadrada para comparar entre los grupos las variables nominales. Se utilizará un modelo de regresión para tratar de determinar qué variables pudieran estar relacionadas con una mayor sintomatología. En todos los casos se considerará un valor de $p < 0.05$ a dos colas para significancia estadística.

Tamaño de la muestra: 20 pacientes

Tiempo a desarrollarse: 12 meses

MARCO TEÓRICO

DEFINICIÓN

La disquinesia ciliar primaria (DCP) es a un grupo heterogéneo de desórdenes hereditarios, autosómico recesivo, que se caracteriza por una alteración de los cilios de la mucosa respiratoria, ya sean microanatómicas o funcionales (por su ausencia o dando un movimiento ciliar ineficaz, parcial o total) 1-4.

EPIDEMIOLOGÍA

Tiene prevalencia de 1:15.000 a 1:30.000^{2,5}, aunque se considera que es una enfermedad subdiagnosticada^{2,5}, se ha encontrado hasta en más del 13% de los pacientes con bronquiectasias⁶. La edad media al diagnóstico en las series pediátricas es de 4.4 años (6 años en aquellos sin situs inversus)⁷ y la edad al diagnóstico es importante ya que el inicio de tratamientos específicos, afecta a la evolución 4. Su frecuencia cada vez más elevada obliga a que ante un niño con síntomas respiratorios crónicos o recurrentes (sinusitis, otitis, catarros, bronquitis, etc.) asociados o no a otras enfermedades, se busque activamente una alteración en el epitelio ciliar 3.

ANTECEDENTES Y GENERALIDADES

Clásicamente, se describía como parte del síndrome de Kartagener (SK), caracterizado por la tríada de situs inversus, bronquiectasias y sinusitis; pero los individuos con DCP presentan situs inversus tan sólo en el 50% de los casos ^{2,8}. La disfunción ciliar se ha visto implicada en riñones poliquísticos, atresia biliar y anomalías del sistema nervioso central incluyendo retinopatía e hidrocefalia⁹. La ausencia de brazos de dineína fue la primera alteración ciliar descrita en esta entidad¹⁰ y afecta al 70- 80% de los pacientes¹¹. El déficit puede ser de los brazos internos de dineína, de los externos o de ambos. Otros defectos de la ultraestructura ciliar asociados son: ausencia de brazos radiales, desorientación ciliar y transposición ciliar. Esta gran variedad morfológica es debida a que el axonema ciliar es una construcción biológica que tiene, al menos, 130 especies polipeptídicas diferentes¹². Sin embargo, se han comunicado casos de pacientes con DCP y SK que presentan una ultraestructura ciliar normal.

FISIOLOGÍA Y FISIOPATOLOGIA

Para que el transporte mucociliar sea eficiente es necesario que el moco posea una viscosidad y elasticidad adecuadas y que los cilios se muevan apropiadamente¹. La ultraestructura

normal de los cilios respiratorios consiste en 9 microtúbulos periféricos dobles, rodeando a un par central de microtúbulos. Lo anterior se denomina el core axonémico. Además, se acompañan de las proteínas asociadas a microtúbulos, complejo MAPs, donde encontramos los brazos de dineína externos e internos: los brazos internos de dineína son responsables de la forma del barrido y los brazos externos de la frecuencia del barrido de los cilios.. En el batido mucociliar los cilios tienen 2 ondas: una de choque efectivo y una de recuperación. Entre batidos, los cilios descansan en posición apuntando hacia abajo, lo que previene que el moco se devuelva a la vía aérea periférica¹³⁻¹⁶. En la DCP las alteraciones que más frecuentemente se encuentran son la ausencia de brazos externos e internos de dineína, en la mayoría de las células ciliadas estudiadas¹⁵. El transporte mucociliar deficitario impide que los agentes patógenos sean eliminados de las vías respiratorias, favoreciendo así la recurrencia de la infección respiratoria^{5,17}.

CUADRO CLÍNICO

La patología nasosinusal recurrente y otitis media con efusión persistente, nos debe hacer pensar en este síndrome^{10,18,19}: Más del 85% de los niños tiene otitis media supurada crónica o grave, la mayoría remiten espontáneamente a los 13 años^{4,20,21}. La sinusitis crónica es constante, así como la hipoplasia de los senos paranasales, sobre todo del frontal²². Las bronquiectasias están presentes en más del 80% de los pacientes, pero hay una correlación entre su presencia y la edad, ya que los sujetos más jóvenes aún no se han desarrollado²³. Otras manifestaciones son la infertilidad masculina, que afecta al 80% de los varones con DCP²⁴, la fertilidad femenina⁹ debido a la disfunción ciliar en la trompa de Falopio²⁵⁻²⁷.

DIAGNÓSTICO

La primer etapa incluye la sospecha clínica. La coexistencia, desde el nacimiento, de infecciones crónicas de las vías respiratorias altas y bajas y/o de situs inversus con estasis mucociliar nasal confirmada con un método radioisotópico debe considerarse definitiva para el diagnóstico de SK, aunque la ultraestructura ciliar sea normal. El SK es clínicamente homogéneo y ultraestructuralmente heterogéneo⁸. Algunos pacientes que no tienen alteraciones estructurales, aunque clínicamente tienen cuadro altamente sugestivo, por esta razón, se considera es necesario que los estudios de microscopía electrónica se

complementen con estudios funcionales que permitan valorar la eficiencia del transporte mucociliar¹. Entre estos métodos cabe señalar, la valoración del movimiento ciliar *in situ*^{28,29}, e *in vitro*³⁰, los ensayos de ciliogénesis *in vitro*³¹ y el recientemente desarrollado método de determinación de niveles de óxido nítrico^{32,33}, se incluye entonces, el estudio del batido mucociliar y la medición de la frecuencia y patrón de batido. El primero se puede realizar tanto con el test de sacarina o el test de batido con partículas proteicas marcadas con isótopos (tecnecio). El principal inconveniente es que requieren de la cooperación del paciente, por lo que son difíciles de llevar a cabo en niños menores de 12 años^{2 3,5}. Para medir la frecuencia y patrón de batido ciliar se requiere de una muestra, la que se suele obtener mediante un brushing o cepillado del epitelio de los cornetes inferiores. Esta se analiza con microscopio de luz o estroboscopia: se considera normal valores mayores a 11 hz. En caso de obtener valores menores a 6 hz o un patrón de batido anormal, se debe continuar con el análisis de la ultraestructura^{9,13}. Cabe mencionar que estudios recientes han demostrado que la microscopía de luz no es un test fiable para el screening de la discinesia ciliar, siendo definitivo para el diagnóstico el examen de la ultraestructura de los cilios mediante microscopía electrónica junto a los test funcionales³⁴ como se comentó previamente. Si bien la literatura plantea que la obtención de muestra pueden ser de la mucosa nasal, en la práctica se necesita al menos de 4 a 6 semanas de normalidad de la mucosa, esto es, sin infección y siendo que en la mayoría de sus pacientes el cuadro predominante es rinosinusitis crónica, esto no se logra casi nunca y la biopsia se realiza de mucosa bronquial. Incluso se debe tener especial precaución, al hacer la biopsia bronquial, de no efectuarla si el paciente está con un cuadro bronquial agudo, puesto que los resultados suelen ser no concluyentes y se debe repetir este procedimiento una vez pasado el cuadro agudo². Existe una clara tendencia a repetir cuadros bacterianos, ya sea pulmonares, bronquiales o sinusales, en los casos de mayor porcentaje de alteración ciliar. Por esto es muy importante que el patólogo nos precise este porcentaje, pues constituye, en nuestra experiencia, un factor pronóstico².

CLASIFICACIONES

Las anomalías de la ultraestructura ciliar se pueden dividir en aquellos defectos primarios vistos en la DCP y en los secundarios a distintas noxas². La clasificación más usada es la de Barlocco y colaboradores en 1991³⁵. Afzelius³⁶, propone diferentes subgrupos: el subgrupo típico se observa ausencia de los brazos de la dineína y/o disposición anómala de los

microtúbulos. Otro subgrupo muestra un cilio con estructura aparentemente normal, pero que no funciona de forma correcta. En otros casos, el epitelio tiene células con microvellosidades, pero no se observan cilios (síndrome de acilia o aplasia ciliar).

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

Las alteraciones morfológicas de los cilios no son totalmente patognómicas de la DCP ya que pueden hallarse cilios anormales en sujetos sanos y en pacientes con inflamación bronquial o con infecciones locales por Rinovirus, Mycoplasma, Bordetella o virus Influenza³⁷.

TRATAMIENTO:

Requiere de fisioterapia pulmonar, antibioticoterapia profiláctica o patógeno-específica e inmunización contra los patógenos respiratorios comunes en la comunidad^{13,38}. Los estadios tardíos pueden llegar a requerir cirugía para eliminar las bronquiectasias o trasplante pulmonar en los casos terminales^{3,17}. La mayoría de las estrategias terapéuticas son derivadas de los protocolos de fibrosis quística ^{4,39}. Los cultivos bacterianos de esputo comúnmente resultan positivos a *H. influenzae*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*; en individuos mayores con enfermedad avanzada los cultivos son positivos a *Pseudomona aeruginosa*^{4,19}.

PRONÓSTICO:

El diagnóstico precoz de la disquinesia ciliar primaria ha mostrado ser crucial para disminuir la morbimortalidad de estos pacientes y mejorar sustancialmente su calidad de vida⁵.

DEFINICIÓN DEL PROBLEMA

¿Cuál es el cuadro clínico y los hallazgos radiológicos de los pacientes con alteraciones de la ultraestructura ciliar respiratoria en nuestro Instituto

ANTECEDENTES

Se deberá proveer información de base para poder entender la relevancia del presente estudio y el propósito y fundamento del estudio.

Se deberá incluir un resumen de los datos de estudios no clínicos que tengan potencialmente una importancia clínica y de estudios clínicos y epidemiológicos relevantes para el presente estudio, así como las referencias de la literatura relevantes al estudio y que provean un sustento para el estudio.

La disquinesia ciliar primaria (DCP) es a un grupo heterogéneo de desórdenes hereditarios, autosómico recesivo, que se caracteriza por una alteración de los cilios de la mucosa respiratoria, ya sean microanatómicas o funcionales (por su ausencia o dando un movimiento ciliar ineficaz, parcial o total) ¹⁻⁴. Tiene prevalencia de 1:15.000 a 1:30.000^{2,5}, aunque se considera que es una enfermedad subdiagnosticada^{2,5}, se ha encontrado hasta en más del 13% de los pacientes con bronquiectasias⁶. La edad media al diagnóstico en las series pediátricas es de 4.4 años (6 años en aquellos sin situs inversus)⁷ y la edad al diagnóstico es importante ya que el inicio de tratamientos específicos, afecta a la evolución ⁴. Su frecuencia cada vez más elevada obliga a que ante un niño con síntomas respiratorios crónicos o recurrentes (sinusitis, otitis, catarros, bronquitis, etc.) asociados o no a otras enfermedades, se busque activamente una alteración en el epitelio ciliar ³. Se describía como parte del síndrome de Kartagener (SK), caracterizado por la tríada de situs inversus, bronquiectasias y sinusitis; pero los individuos con DCP presentan situs inversus tan sólo en el 50% de los casos ^{2,8}. La disfunción ciliar se ha visto implicada en riñones poliquisticos, atresia biliar y anomalías del sistema nervioso central incluyendo retinopatía e hidrocefalia⁹. La ausencia de brazos de dineína fue la primera alteración ciliar descrita en esta entidad¹⁰ y afecta al 70- 80% de los pacientes¹¹. El déficit puede ser de los brazos internos de dineína, de los externos o de ambos.

Otros defectos de la ultraestructura ciliar asociados son: ausencia de brazos radiales, desorientación ciliar y transposición ciliar. Esta gran variedad morfológica es debida a que el axonema ciliar es una construcción biológica que tiene, al menos, 130 especies polipeptídicas diferentes¹². Sin embargo, se han comunicado casos de pacientes con DCP y SK que presentan una ultraestructura ciliar normal.

Dado que la DCP es una entidad subdiagnosticada y no contamos con algoritmo diagnóstico, se propone el siguientes protocolo para describir las características clínicas y radiológicas de los pacientes con alteraciones ciliares, para su diagnóstico oportuno y tratamiento.

JUSTIFICACIÓN

Dado que las alteraciones de la ultraestructura ciliar respiratoria, principalmente la DCP, son enfermedades consideradas subdiagnosticadas, que se han identificado en otros países como una causa importante de infecciones de vías respiratorias de repetición así como bronquiectasias, es necesario identificar el cuadro clínico y radiológico que presentan los pacientes en México con sospecha de esta enfermedad para dar un diagnóstico temprano y tratamiento oportuno.

El presente estudio mostrará el cuadro clínico y radiológico de los pacientes con alteraciones de la ultraestructura ciliar respiratorio en nuestra población.

HIPÓTESIS

No requiere hipótesis por ser un estudio observacional (no habrá intervención).

OBJETIVO GENERAL

Objetivo principal

Describir el cuadro clínico y hallazgos radiológicos en pacientes pediátricos con alteraciones de la ultraestructura ciliar respiratoria.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Objetivos secundarios

1. Describir la frecuencia de los diferentes tipo de alteración de la ultraestructura ciliar respiratoria en pacientes pediátricos.
2. Describir la función pulmonar de los pacientes (en los niños mayores de 6 años).
3. Describir los hallazgos en un test de batido con partículas protéicas marcadas con isótopos (tecnecio) - en los pacientes mayores de 12 años –.
4. Evaluar la función cardiaca de los pacientes mediante ecocardiograma.
5. Mencionar las principales comorbilidades de los pacientes.
6. Identificar agentes infecciosos presentes.

MATERIAL Y MÉTODOS

a) Lugar del estudio:

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, INER.

Diseño de estudio: Será un estudio observacional, descriptivo, prospectivo, longitudinal.

Descripción de la población de estudio:

Niños de cualquier sexo, entre 1 mes y 15 años de edad. (La edad mínima se escogió porque es la edad límite de los pacientes atendidos en el Servicio de Neumopediatría del INER). Con infecciones de vías respiratorias bajas de repetición (neumonías recurrentes, bronquiectasias). Con o sin infecciones de vías respiratorias altas de repetición (sinusitis, otitis, rinosinusitis).

Procedimientos del estudio

Tomaremos pacientes que acudan al INER con cuadro sugestivo de DCP.

Realizaremos apertura de expediente y se programará su hospitalización (previo consentimiento informado).

Una vez hospitalizado el paciente:

Se aplicará un cuestionario de síntomas (validado en patología pulmonar crónica en pacientes pediátricos mexicanos).

A los mayores de 6 años: se realizará espirometría simple y postbroncodilatador y caminata de 6 minutos a los pacientes que no desaturen y titulación de oxígeno suplementario a los pacientes que desaturen.

A los mayores de 12 años: se realizará test de batido con partículas protéicas marcadas con isótopos (tecnecio).

A todos se realizará broncoscopia para toma de biopsia bronquial para análisis mediante microscopía electrónica.

A todos se realizará ecocardiograma.

A todos se les realizará una valoración por el servicio de otorrinolaringología.

Se valorará si requiere TAC de senos paranasales (en caso de tener sinusitis de repetición) o TACAR en caso de sospecharse bronquiectasias o tener infecciones de vías respiratorias bajas de repetición.

Se describirán los datos obtenidos

Número necesario de sujetos de investigación

Tamaño de la muestra: No existen estudios similares al respecto que nos permitan calcular un tamaño de muestra, por lo que se considerará una muestra por conveniencia de 20 pacientes.

Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión

Niños de cualquier sexo, entre 1 mes y 15 años de edad. (La edad mínima se escogió porque es la edad límite de los pacientes atendidos en el Servicio de Neumopediatría del INER).

Con infecciones de vías respiratorias bajas de repetición (neumonías recurrentes, bronquiectasias).

Con o sin infecciones de vías respiratorias altas de repetición (sinusitis, otitis, rinosinusitis).

Sin enfermedad aguda de vías aéreas bajas en las últimas 6 semanas.

Que sus padres o tutores legales acepten la realización del estudio mediante su firma de una carta de consentimiento informado (**anexo 2**) y asentimiento al niños mayores de 6 años (**anexo 3**).

Criterios de exclusión

Niños con diagnóstico previo de inmunodeficiencia primaria o secundaria, que sea la causa a la que se atribuye de primera instancia la causa de infecciones recurrentes.

Niños con diagnóstico previo de neumopatía crónica infecciosa por ejemplo tuberculosis o micosis, que sea la causa a la que se atribuye de primera instancia la causa de sintomatología recurrente.

Niños con diagnóstico reciente (últimas 6 semanas) de reflujo gastroesofágico, que iniciaron tratamiento en el mismo lapso, que sea la causa a la que atribuye la causa de infecciones recurrentes.

Criterios de eliminación

1. Pacientes que no cooperen para la realización de pruebas de función pulmonar (por ejemplo, estado neurológico) o imposibilidad para la realización de las mismas como hipotonía o distrofias musculares. Estos se realizará un estudio por separado.
2. Pacientes con antecedentes personales o familiares de atopia (asma, dermatitis atópica, rinitis alérgica, alergias alimentarias, pruebas cutáneas positivas, elevación de eosinófilos >4%, elevación de IgE), así como tabaquismo pasivo. Estos se realizará un estudio por separado.

Captura, procesamiento, análisis e interpretación de la información.

Para resumir las variables cualitativas se utilizarán frecuencias absolutas y relativas, mientras que para las variables cuantitativas se utilizará el promedio y desviación estándar o, en caso de no tener una distribución normal, mediana y extremos. Se utilizará la prueba de chi cuadrada para comparar entre los grupos las variables nominales. Se utilizará un modelo de regresión para tratar de determinar qué variables pudieran estar relacionadas con una mayor sintomatología. En todos los casos se considerará un valor de $p < 0.05$ a dos colas para significancia estadística.

DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES.

Variables independientes

Alteraciones de la ultraestructura ciliar respiratoria:

Definición conceptual: Visualización de alteración de las estructuras ciliares en cortes seriados semifinos, teñidos con azul de toluidina que muestren mucosa respiratoria con epitelio cilíndrico ciliado, en una muestra en adecuada preservación estructural y tejido suficiente para su estudio ultraestructural en microscopio electrónico.

Escala de medición: Categórica dicotómica.

Valores: sí, no.

Discinecia ciliar primaria:

Definición conceptual: Es un grupo heterogéneo de desórdenes hereditarios, autosómico recesivo, que se caracteriza por una alteración de los cilios de la mucosa respiratoria, ya sean microanatómicas o funcionales (por su ausencia o dando un movimiento ciliar ineficaz, parcial o total).

Escala de medición Categórica dicotómica.

Valores: sí, no.

Variables dependientes

FVC:

Definición conceptual: Capacidad vital forzada. Máximo volumen de aire que puede exhalarse después de una inspiración máxima.

Escala de medición: Continua.

Valores: Litros y porcentaje del predicho.

FEV₁:

Definición conceptual: volumen espiratorio en el primer segundo. Cantidad de aire que puede sacar un individuo un segundo después de iniciar la exhalación teniendo los pulmones completamente inflados y haciendo un máximo esfuerzo.

Escala de medición: Continua.

Valores: Litros y porcentaje del predicho.

%FEV₁/FVC:

Definición conceptual: Cociente FEV₁/FVC. Porcentaje de aire que exhala un individuo de forma forzada teniendo los pulmones inflados al máximo.

Escala de medición: Continua.

Valores: Porcentaje.

Síntomas respiratorios

Definición conceptual: Conjunto de manifestaciones clínicas percibidas por el paciente y atribuibles a desórdenes del aparato respiratorio. Se detectarán mediante cuestionario estandarizado (**anexo1**).

Escala de medición: Continua (calificación obtenida en el cuestionario).

Valores: Graduación de cada respuesta.

Variables de grupo

Edad

Definición conceptual: Tiempo que ha vivido una persona desde su nacimiento. Es la resta que resulta de la fecha actual menos la fecha de nacimiento.

Escala de medición: Continua.

Valores: Años.

Peso

Definición conceptual: Fuerza resultante de la acción de la gravedad sobre un cuerpo. Medición del niño colocándolo sobre una báscula.

Escala de medición: Continua.

Valores: Kilogramos.

Talla

Definición conceptual: Es la medición de una persona desde los pies hasta la cabeza.

Definición operacional: El valor que resulta de la medición con un estadímetro desde la cabeza hasta los pies, en los menores de años en posición supina y en los mayores de ésta edad en posición erecta.

Escala de medición: Continua.

Valores: Centímetros.

Sexo

Definición conceptual: Constitución orgánica que distingue entre macho y hembra. Aspecto fenotípico del niño que lo distingue en hombre o mujer.

Escala de medición: Dicotómica.

Valores: Hombre, mujer.

DESCRIPCIÓN DE LAS MANIOBRAS PARA REALIZACIÓN DE PRUEBAS DE FUNCIÓN PULMONAR

Espirometría. En primer lugar se explicará detenidamente y se ejemplificará el procedimiento al niño. Posteriormente, estando el paciente sentado y usando una pinza nasal, realizará una inspiración máxima seguida inmediatamente de una espiración forzada sobre la boquilla de un espirómetro, animándolo a que realice el mayor esfuerzo posible y durante el mayor tiempo posible. La maniobra se repetirá por lo menos 3 veces, pero no más de 8 veces. El equipo rechaza automáticamente aquellas maniobras que no cumplen los criterios de aceptabilidad propuestos por la *American Thoracic Society*, selecciona 3 curvas que cumplen los criterios de repetitividad, a partir de las cuales mide los parámetros que se evaluarán en este estudio: FEV₁ y FVC y la relación FEV₁/FVC. Estos parámetros espirométricos se expresarán tanto en valores absolutos como en porcentaje del ideal predicho para sexo, edad y estatura. Para evaluar el grado de respuesta a un agente broncodilatador, después de esta primera espirometría el paciente inhalará salbutamol (200 µg depositados en un espaciador con mascarilla), y 20 minutos después se repetirá la espirometría. Los cambios en los parámetros espirométricos se expresarán como porcentaje con respecto a la espirometría basal.

CAMINATA DE 6 MINUTOS: La prueba se realiza en uno de los corredores de las instalaciones de neumología pediátrica del INER, de 30m de longitud. Los pacientes son estimulados a caminar a su máximo esfuerzo, personal técnico que camina junto a ellos. La forma de evaluación de esta prueba consiste en cuantificar la distancia máxima que los pacientes pueden recorrer en el tiempo de la prueba. Con el objeto de conocer y registrar la saturación de oxígeno durante la prueba, se determina con un oxímetro de pulso portátil la oximetría y la frecuencia cardiaca cada minuto. La percepción del esfuerzo se evalúa con la escala de Borg que mide la sensación, percepción de dificultad respiratoria y el disconfort de piernas experimentada durante el ejercicio. Antes de iniciar la prueba los pacientes son

familiarizados con la escala de Borg que tiene un rango de 0 a 10; donde 0 representa ninguna dificultad para respirar y, 10 la más grave dificultad respiratoria que un sujeto puede experimentar.

FeNO nasal: La medición del NO se realiza con un analizador que utiliza el método de la quimioluminiscencia. Se recoge una muestra de aire a través de un orificio nasal, mientras el otro permanece libre. Para evitar contaminación con aire de la vía aérea inferior, debe existir una presión bucal suficiente para obtener la elevación del velo del paladar y así poder aislar la cavidad nasal. Para realizar la medición del NO se precisa un flujo de aire transnasal que recorriendo ambas fosas permita obtener la muestra de aire a valorar. Estudios recientes han evidenciado que la producción de NO es relativamente constante en un rango de flujo transnasal de 1-5 l/min. Para ocluir el velo del paladar se han utilizado diversas técnicas, y la más aconsejada es la que se realiza espirando de forma lenta por la boca contra una resistencia de al menos 10 cmH₂O. Mantener la boca cerrada con una presión oral que insufla las mejillas sería otro método útil para conseguir la oclusión del velo del paladar.

Test de batido con partículas protéicas marcadas con isótopos (tecnecio) o Gammagrama de transporte mucociliar: Se realiza la gammagrafía mediante administración nasal de macroagregados de albúmina humana marcados con tecnecio. Para la preparación de la dosis se carga del vial 270 microcurios en 0.1 mililitros con una jeringa de insulina y de ésta se extrae, con una micropipeta Eppendor, 10 microlitros, es decir, 27 microcurios. Esta dosis se administra a través de rinoscopio iluminado con espejo frontal, en la vertiente posterior de la cabeza del cornete nasal inferior, procurando contener la respiración en el momento de instilar el trazador y adquiriendo imágenes inmediatas. Es un estudio dinámico de 15 minutos (1 imagen/30 segundos), Matriz 128, el paciente sentado y la cabeza en lateral con la fosa nasal donde se ha instilado la dosis en contacto con el colimador. Interpretación: En el aspecto normal, la velocidad normal está entre 4 y 10,5 milímetros por minuto. Aclaradores lentos:

Velocidad entre 2 y 4 milímetros por minuto. No es patológico. Ausencia de transporte o éctasis mucociliar nasal. Velocidad inferior a 2 milímetros por minuto: es patológico.

ECOCARDIOGRAMA: La ecocardiografía Doppler es una técnica básica de diagnóstico en cardiología que utiliza como método físico de exploración la emisión de ultrasonidos dirigida hacia el corazón, los cuales se reflejan en las estructuras cardíacas produciendo ecos de retorno, de cuyo análisis se puede obtener información fisiopatológica, tanto de las características anatómicas de las válvulas como de los flujos cardíacos, existiendo diversas modalidades de estudio: ecocardiografía en modo M, ecocardiografía bidimensional y Doppler cardíaco.

BRONCOSCOPIA FLEXIBLE CON TOMA DE BIOPSIA DE MUCOSA RESPIRATORIA: Es un procedimiento, que mediante la introducción por nariz o boca de un tubo flexible (broncoscopio flexible) permite la visualización del árbol bronquial así como la exploración y toma de muestras de secreciones o tejidos. En este caso, el paciente acostado, y tras anestesia general o sedación profunda, se aplica anestesia local conforme el paso del mismo. Se visualizan los bronquios principales y lobares y se tomará bipsia de mucosa con pinza de 1.2 mm que pasa a través del canal de trabajo, la cual se coloca el fragmento en paraglutaraldehido para su fijación, supervisándose sea una muestra adecuada por la Dra Peña (Patología), quien posteriormente la procesará y examinará bajo microscopía electrónica en el INR.

Tamaño de la muestra

No existen estudios similares al respecto que nos permitan calcular un tamaño de muestra, por lo que se considerará una muestra por conveniencia de 20 pacientes.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Los sujetos participantes serán invitados previamente y los padres o tutores legales deberán completar un consentimiento informado por escrito (**anexo 2**). De ser posible se recabará también la firma de asentimiento del niño. El proyecto será evaluado por el Comité de Ciencia y Bioética en Investigación del INER. Toda la información se manejará de manera anónima. El estudio será conducido de acuerdo con las normas éticas, el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y con la declaración de Helsinki de 1975, revisada en 1996 en Sudáfrica, así como la buena práctica clínica.

COMENTARIOS Y CONSIDERACIONES ADICIONALES DE LOS INVESTIGADORES

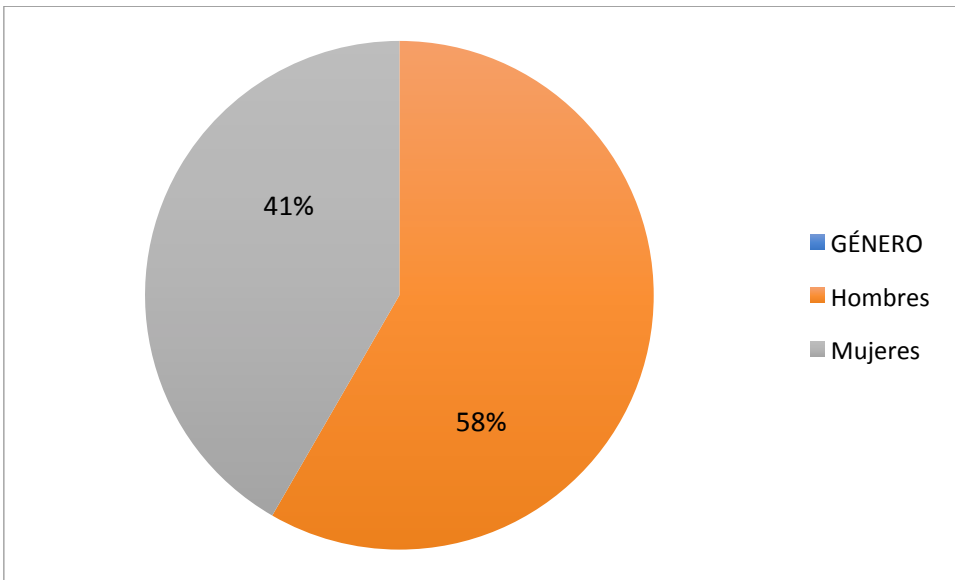
FORMACIÓN DE NUEVOS RECURSOS HUMANOS DURANTE EL PROYECTO

Este estudio será la tesis de la Dra. Brenda Aide Avilés Ramírez, quien es residente de segundo año de Neumología Pediátrica del INER, perteneciente a la Facultad de Medicina, UNAM, bajo la tutoría del Dr. Alejandro Alejandro García (INER).

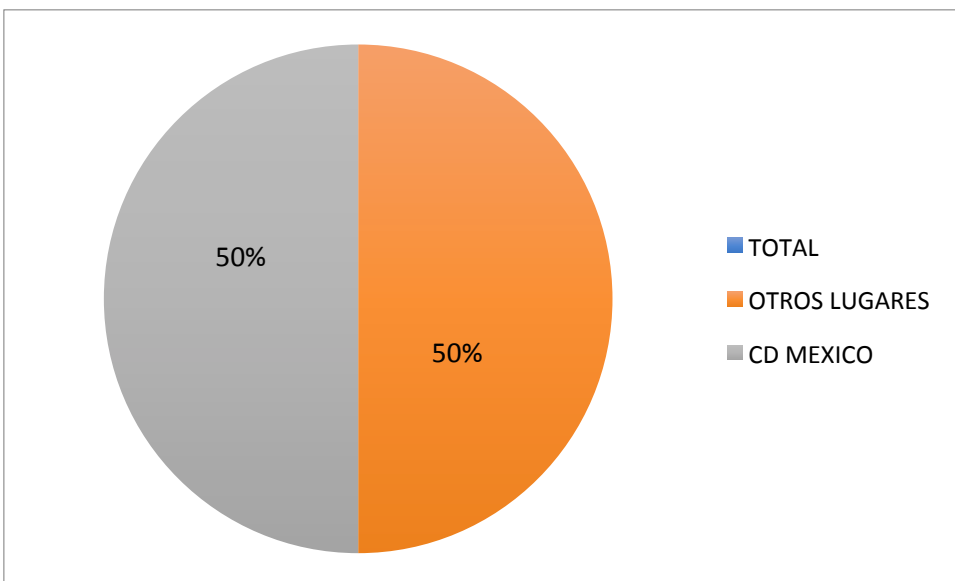
RESULTADOS

Se evaluaron 36 pacientes con Diagnóstico de Neumonía recurrente los cuales fueron sometidos a procedimiento de Broncoscopia para toma de muestra para biopsia de Carina principal, con la finalidad de realizar el Diagnóstico de Alteración ciliar, en el periodo de 2015-2017. Se analizó mediante microscopia electrónica dicha muestra de esta forma se identificó a 22 paciente con alteración ciliar. Se encontró del estudio realizado los siguientes resultados:

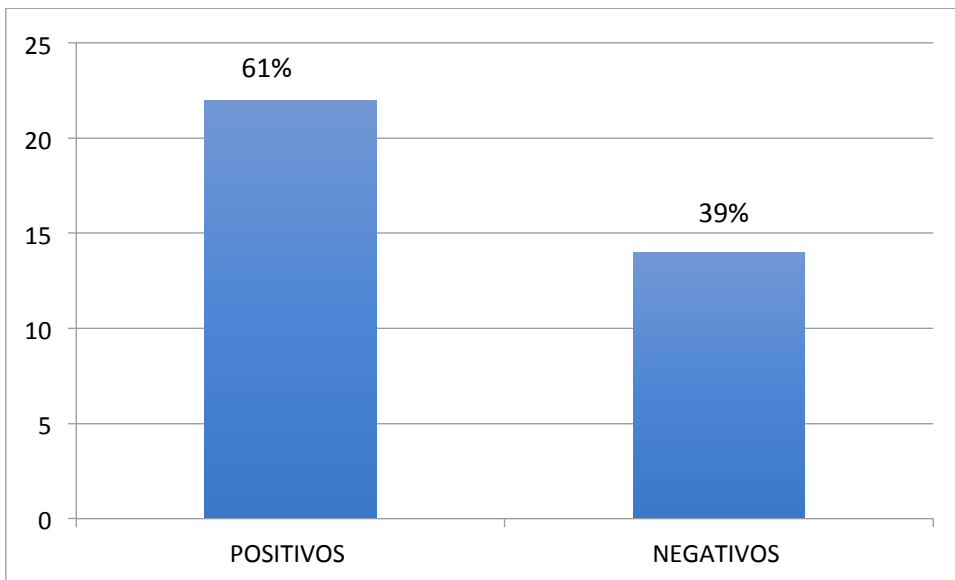
De los 36 pacientes analizados, 21 (58%) fueron hombres y 15 (41%) mujeres.



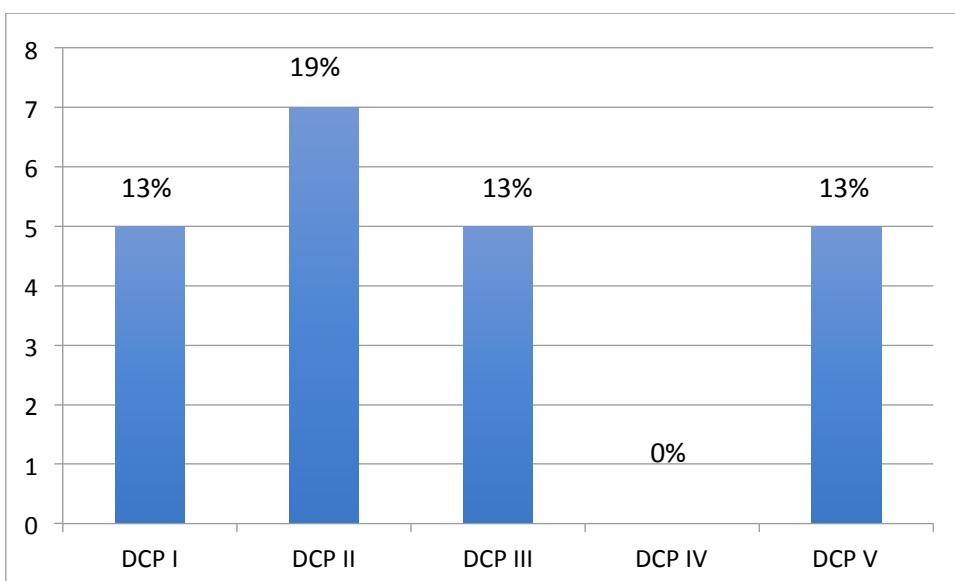
Del total de pacientes con diagnóstico de Neumonía recurrente sometidos a Biopsia de cilio, que asistieron referidos a nuestro instituto se encontró que el 50% pertenecen a la Cd. De México, el otro 50% a otros estados de la República.



De los pacientes analizados se encontró que, de los 36 pacientes sometidos a Biopsia resultaron positivos 22 para alguna alteración de la Ultraestructura ciliar, siendo el 61% de los pacientes con alta sospecha de Discinesia ciliar primaria.

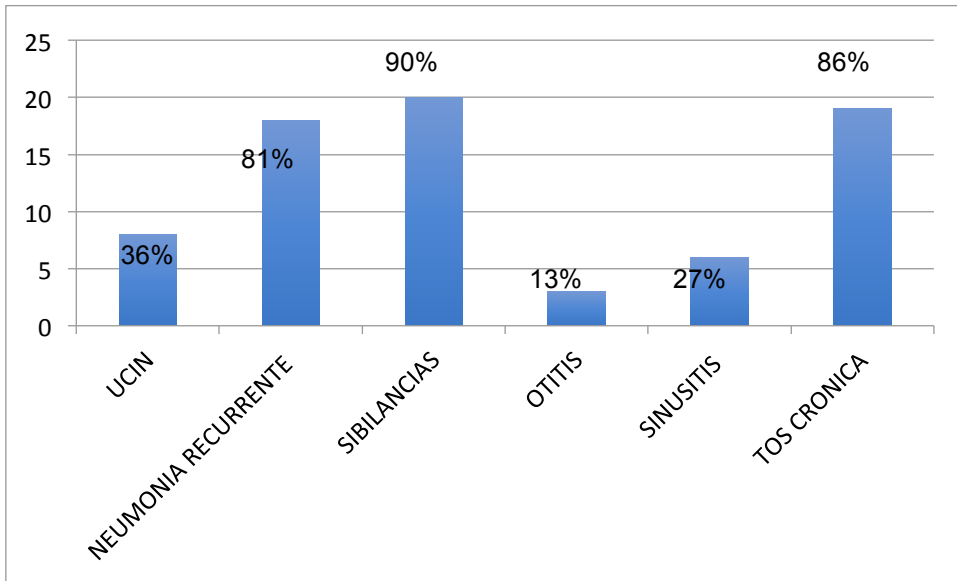


De los 22 pacientes con alteración ciliar, se encontró que 5 pacientes fueron positivos para alteración ciliar tipo I (13%), 7 pacientes tipo II (19%), 5 pacientes para tipo III (13%), 0 pacientes para tipo IV (0%) y 5 pacientes para tipo V (13%). (Según clasificación de Barlocco y col).

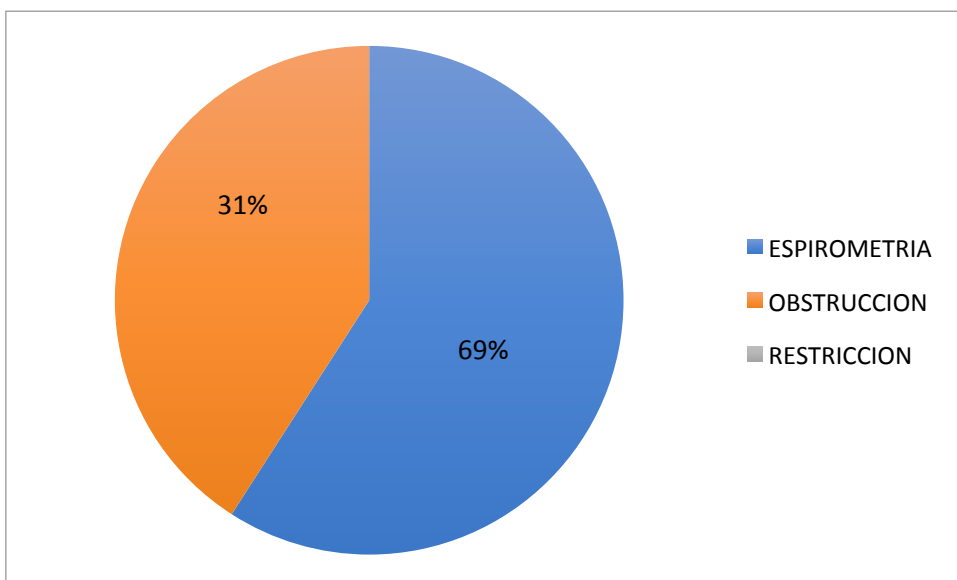


Como antecedentes de importancia y correlación clínica se encontraron los siguientes porcentajes: De los 22 pacientes positivos para DCP en general 8 pacientes tuvieron alguna alteración al nacimiento, respiratoria, por lo cual requirieron asistencia en UCIN (36%), el 81% (18 pacientes) tuvieron o tienen clínica de neumonía recurrente, el 90% tiene antecedente de

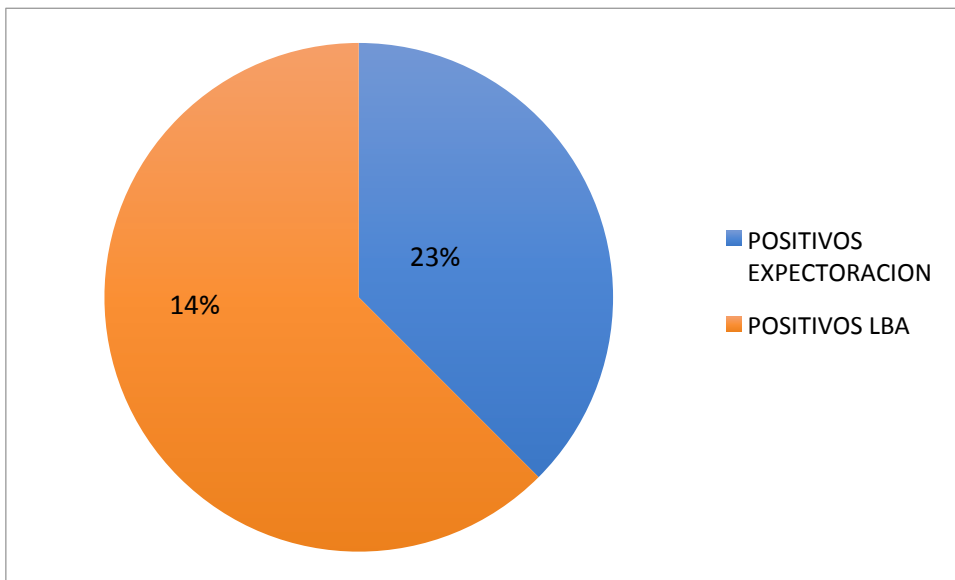
sibilancias recurrentes (20 pacientes), 3 pacientes presentaron historia de Otitis y 6 de sinusitis (13% y 27% respectivamente) y 19 pacientes tuvieron antecedente de tos crónica (86%).



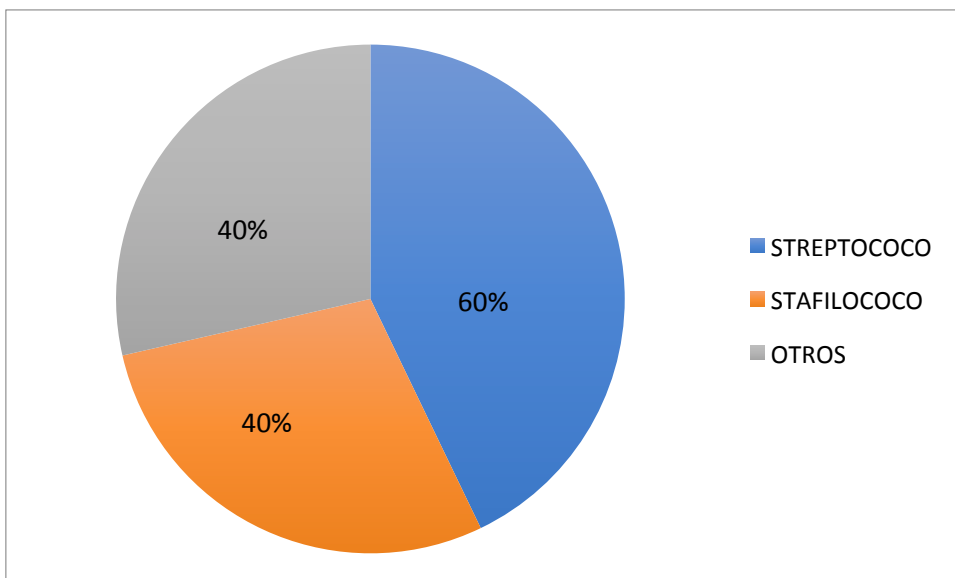
A tan solo 13 pacientes de los 22 positivos (59%) se les ha realizado pruebas de función respiratoria (Espirometría) encontrando que el 69% (9 pacientes) ha presentado un patrón obstructivo y ninguno de ellos un patrón restrictivo, por lo que 31% (4 pacientes) cuentan con espirometría normal.



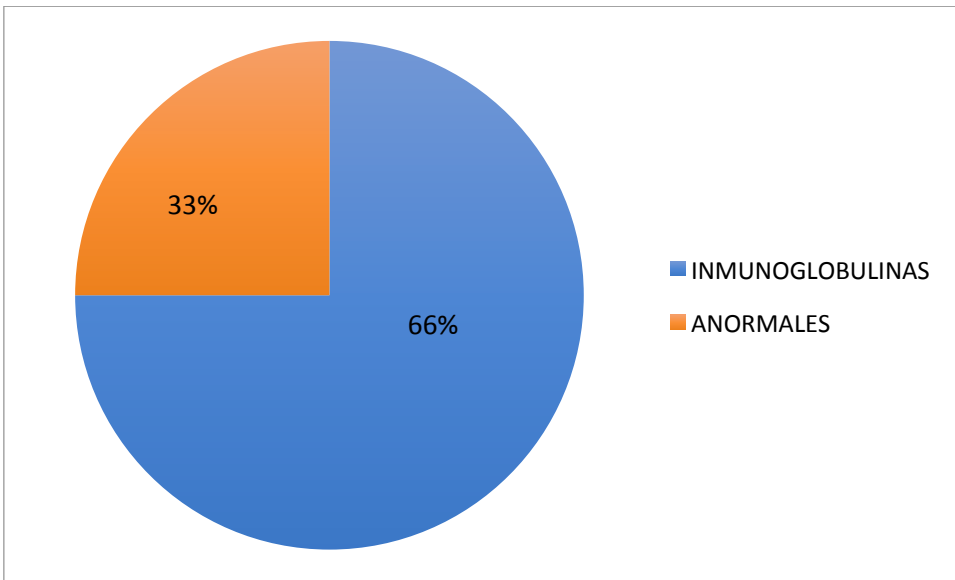
De los 22 pacientes analizados positivos para DCP, a 21 se les ha tomado algún tipo de cultivo, de los cuales resultaron 3 positivos para expectoración y 5 positivos para LBA (14% y 23% respectivamente).



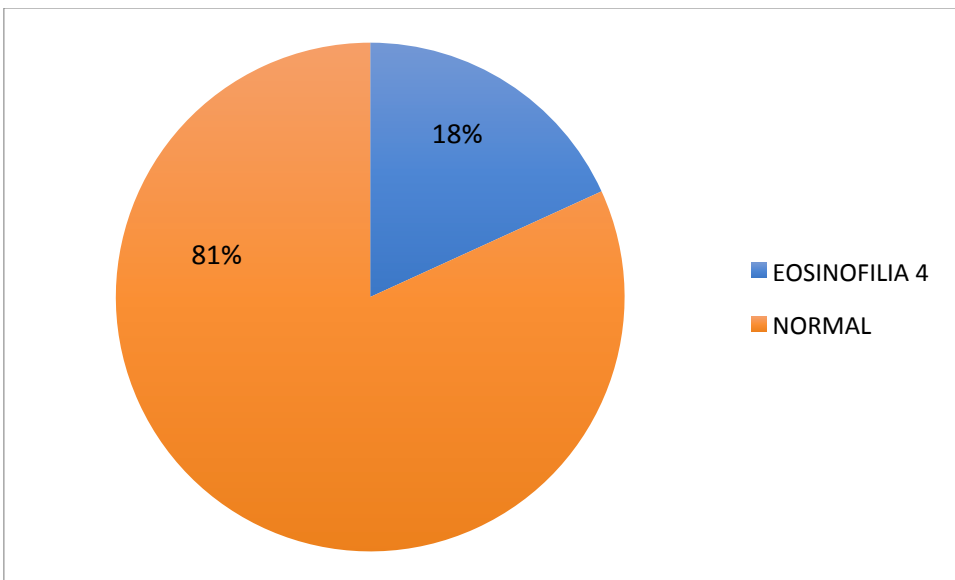
De los cultivos positivos de LBA se encontro 3 positivos para Estreptococo, 2 para Stafilococo y 2 debido a otros microorganismos (60%, 40% y 40% respectivamente).



18 pacientes positivos para DCP cuentan con perfil inmunológico, encontrándose en percentilas para la edad 12 (66%) y anormales 33% (6 pacientes).



Se analizaron las Biometrías hemáticas de los pacientes positivos para DCP, 18 de las cuales se encontraron en percentilas para la edad (81%) y 4 de ellas cuentan con elevación de eosinofilos (18%).



DISCUSIÓN

Se estudiaron 36 pacientes los cuales fueron sometidos a Broncoscopia ya que contaban con alta sospecha de DCP (Neumonía recurrente o Sibilancias recurrentes), de éstos 22 pacientes resultaron positivos para alguna alteración ciliar. Se encontró una prevalencia mayor en hombres (58%) vs mujeres 41%, que no correlaciona con la literatura ya que no se menciona predilección de sexo ^(1,2). En cuanto a las regiones afectas y siendo nuestro Instituto un centro de referencia encontramos 50% de los pacientes son de la Cd. De México mientras que el otro 50% es referido de otros estados de la republica.

Un dato importante como ya se mencionó fue que de los 36 pacientes con alta sospecha de DCP por clínica sugestiva encontramos positivos 22, es decir el 61%, un alto porcentaje que tan solo con la clínica nos puede orientar a realizar el diagnóstico, de éstos, se encontró que 5 pacientes fueron positivos para alteración ciliar tipo I (13%), 7 pacientes tipo II (19%), 5 pacientes para tipo III (13%), 0 pacientes para tipo IV (0%) y 5 pacientes para tipo V (13%). (Según clasificación de Barlocco y col), según la literatura, los tipos de mayor prevalencia son las inespecíficas tipo V, en este estudio se encontró que la de mayor prevalencia fueron los tipo III seguido del tipo I,II y V, no encontramos pacientes tipo IV positivos.

En cuanto a la clínica y antecedentes de los pacientes coincidimos con lo demostrado en la literatura ^(1,2,3,4) que los pacientes presentan antecedente importante de estancia en UCIN por algún problema respiratorio, neumonía, dificultad respiratoria o algún otro padecimiento en el cual involucra el uso de oxígeno y estancia en la unidad de cuidados intensivos neonatales. Sin embargo la gran mayoría de los pacientes muestran historia importante de Cuadros recurrentes de neumonía, antecedente de tos crónica o bien historia de eventos frecuentes de sibilancias. Así como encontramos una baja frecuencia de Sinusitis u otitis,

Se realizó estudio de función respiratoria a los pacientes que por condiciones clínicas o por edad (posibilidad de realizar la prueba) lográndose realizar en 13 pacientes de los 22 positivos (59%) encontrando que el 69% (9 pacientes) ha presentado un patrón obstructivo y ninguno de ellos un patrón restrictivo, por lo que 31% (4 pacientes) cuentan con espirometría normal, lo anterior corresponde a la literatura que reporta que la DCP es un padecimiento que cursa con algún grado de obstrucción que no responde a Broncodilatador ^(4,5,20,21).

A 21 pacientes de los positivos para DCP se les tomó algún tipo de cultivo, de los cuales resultaron 3 positivos para expectoración y 5 positivos para LBA (14% y 23% respectivamente). Encontrando una prevalencia mayor para Streptococo seguido de Stafilococo y el resto para otros microorganismos.

Se realizó Biometría hemática y Perfil inmunológico a los pacientes encontrando que no correlaciona con la literatura ya que en un 33% de los pacientes se encontró alguna alteración inmunología, en la mayoría se encontró aumento en la IgE y en cuanto a Eosinofilia solo se encontró aumento de ésta en un 18% de los pacientes.

CONCLUSIONES

1. Al contar con alta sospecha por clínica, ya sea eventos de sibilancias frecuentes o pacientes con presencia de neumonías recurrentes, se puede lograr identificar a pacientes con DCP, realizándose Broncoscopia y toma de muestra de cilio a tiempo para ofrecer a éstos pacientes un tratamiento oportuno.
2. Se encontró coincidencia con la escala de Piccardar por lo que se podría utilizar como escala de tamizaje a pacientes con alta sospecha de alteración ciliar, esto con el fin de identificar pacientes candidatos a Broncoscopia.
3. Se sugiere seguimiento por medio de estudios de imagen y pruebas de función respiratoria a todos los pacientes positivos de DCP, para lo cual se necesitan mas estudios prospectivos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Brauer M, Viettro L. Aportes de la microscopía electrónica de transmisión al diagnóstico de la disquinesia ciliar. *Rev Med Uruguay* 2003;19:140-8.
2. Ribalta G, Christensen A, González S, Piñera C. Disquinesia ciliar primaria: su presentación en otorrinolaringología. experiencia con 14 pacientes. *Rev otorrinolaringol Cir Cabeza Cuello* 2004;64:85-90.
3. Busquets RM, García A, Esteban E, Herrero S, Bargas R, Lloreta J. Discinesia ciliar primaria: tres nuevos casos. *An Esp Pediatr* 2001;54:513-7.
4. Barbato A, Frischer T, Kuehni CE, Snijders D, Azevedo I, Baktal G, Bartolini L, Eber E, Escribano A, Haarman E, Hesselman B, Hogg C, Jorissen M, Lucas K. Primary ciliary dyskinesia: a consensus statement on diagnostic and treatment approaches in children. *Eur respir J* 2009;34:1264-76.
5. Afzelius BA. Immotile cilia syndrome: past, present and prospect future. *Thorax* 1998;53:894-7.
6. Verra F EE, Bignon J, et al. . Inherited factors in diffuse bronchiectasis in the adult: a prospective study. *Eur Respir J* 1991;4:937-44.
7. Coren ME MM, Morrison I, et al. Primary ciliary dyskinesia: age at diagnosis and symptom history. *Acta Paediatr* 2002;91:667-9.
8. Armengot M CC, Escribano A, Samper GJ. Estudio del transporte mucociliar y de la ultraestructura ciliar nasales en pacientes consíndrome de Kartagener. *Arch Bronconeumol* 2005;41:11-5.
9. Bush A CR, Collins N, et al. Primary ciliary dyskinesia: current state of the art. *Arch Dis Child* 2007;92:1136-40.
10. Afzelius BA. A human syndrome caused by immotile cilia. *Science* 1976;193:317-9.

11. Jorissen M BB. Ciliary dyskinesia in the nose and paranasal sinuses. *Acta Otorhinolaringol Belg* 1997;51:353-66.
12. Afzelius BA. Situs inversus and ciliary abnormalities. What is the connection? . *Int J Dev Biol* 1995;39:839-44.
13. Meeks M, Bush A. Primary ciliary dyskinesia (PCD). *Pediatr Pulmonol* 2000;29:307-16.
14. al Be. Primary ciliary dyskinesia: Diagnosis and standards of care. . *Eur Respir J* 1998;12:982-8.
15. Moya G, Caussade S, González S, Navarro H, Sánchez I. Disquinesia ciliar primaria. Experiencia en 6 pacientes. *Rev Méd Chile* 1999;127:961-6.
16. Chin G, Karas D, Kashgarian M. Correlation of presentation and pathologic condition in primary ciliary dyskinesia. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2002 128:1292-4.
17. Cowan MJ, Gladwin MT, Shelhamer JH. Disorders of ciliary motility. *Am J Med Sci* 2001;321.
18. Friedman N, Pachigolla R, Deskin R, Hawkins H. Optimal technique to diagnose primary ciliary dyskinesia. *Laryngoscope* 2000;110:1548-51.
19. Chapelin C. Incidence of primary ciliary dyskinesia in children with recurrent respiratory diseases. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 1997;106: 854-8.
20. 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;188:913-22.
21. Majithia A, Fong J, Hariri M, et al. Hearing outcomes in children with primary ciliary dyskinesia – a longitudinal study. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2005;69:1061–4.

22. Armengot MCC, Escribano A, Samper GJ. Disquinesias mucociliares. In: Gil Carcedo LM MJ, Medina J, Ortega P, Trinidad J, ed. Tratado de otorrinolaringología y cirugía de cabeza y cuello. Guadalajara: Proyectos Médicos; 1999:638-46.
23. Noone P, Leigh M, Sannuti A, Minnix S, Carson J, Hazucha M, et al. Primary ciliary dyskinesia: diagnostic and phenotypic features. *Am J Respir Crit Care Med* 2004;169:457-9.
24. Coren ME, Meeks M, Morrison I, et al. Primary ciliary dyskinesia: age at diagnosis and symptom history. *Acta Paediatr* 2002; 91:667-9.
25. Armengot M CC, Escribano A, Samper GJ. Estudio del transporte mucociliar y de la ultraestructura ciliar nasales en pacientes con síndrome de Kartagener. *Arch Bronconeumol* 2005;41:11-5.
26. Munro N, Currie D, Lindsay K, Ryder T, Rutman A, Dewar A, et al. Fertility in men with primary ciliary dyskinesia presenting with respiratory infections. *Thorax* 1994;49:684-7.
27. Halbert S, Patton D, Zarutskie P, Soules M. Function and structure of cilia of the Fallopian tube of an infertile woman with Kartagener's syndrome. *Human Reprod* 1997;12:55-8.
28. Greenstone M, Rutman A, Dewar A, Mackay I, Cole P. Primary ciliary dyskinesia: cytological and clinical features. *Q J Med* 1988;67:405-30.
29. Passali D, Bellussi L, Bianchini-Ciampoli M, De Seta E. Experiences in the determination of nasal mucociliary transport time. *Acta Otolaryngol* 1984; 97:319-23.
30. Canciani M, Barlocco EG, Masetta G, de Santi MM, Gardi Lungarella G. The saccharin test meted for test- ing mucociliary function in patients suspected of having primary ciliary disquinesia. *Pediatr Pulmonol* 1988; 5:210-4.
31. Jorissen M, Willems T, De Boeck K. Diagnostic evaluation of mucociliary transport: from symptoms to coordinated ciliary activity after ciliogenesis in culture. *Am J Rhinol* 2000;14:345-52.

32. Gulisano M, Pacini S, Ruggiero M, Pacini A, Delrio AM, Pacini P. In vitro effects of some differentiation inductors in metaplastic epithelium of human nasal cavity. *Cell Tissue Res* 1996; 285: 119-25.
33. Karadag B, James AJ, Gültekin E, Wilson NM, Bush A. Nasal and lower airway level of nitric oxide in children with primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J* 1999;13 1402-5.
34. Lefevre L, Willems T, Lidberg S, Jorissen M. Nasal nitric oxide. *Acta Otorhinolaryngol Belg* 2000;54:271-80.
35. Santamaria F, de Santi MM, Grillo G, Sarnelli P, Caterino M, Greco L. Ciliary motility at light microscopy: a screening technique for ciliary defects. *Acta Paediatr* 1999;88:853-7
36. Barlocco EG, Valleta EA, Canciani M, Lungarella G, Gardi C, De Santi MM, et al. Ultrastructural ciliary defects in children with recurrent infections of the lower respiratory tract. *Pediatr Pulmonol* 1991;10:11-7.
37. Afzelius BA. Genetics and pulmonary medicine. Inmotile cilia syndrome: past, present, and prospects for the future. *Thorax* 1998 53:894-7.
38. Martínez M, Pignatelli F, Orts C, De la Torre J, Berlinches P. Discinesia ciliar primaria, a propósito de un caso atípico. *An Med Int* 2002;19:460-2.
39. Rossman CM. Primary ciliary dyskinesia: evaluation and management. *Pediatr Pulmonol* 1988;5:36-5.
40. Boon M, Jorissen M, Proesmans M, De Boeck K. Primary ciliary dyskinesia, an orphan disease. *Eur J Pediatr* 2013;172:151-62.

