



Universidad
Internacional
de Andalucía

TÍTULO

DIAGNÓSTICO DE LAS ALTERACIONES MORFOLÓGICAS Y
FUNCIONALES DEL CILIO RESPIRATORIO NASAL EN LA DISCINESIA
CILIAR PRIMARIA (DCP). REVISIÓN DEL ESTADO DEL ARTE

AUTORA

María Virginia Barrios Crispi

	Esta edición electrónica ha sido realizada en 2024
Tutor	Dr. D. Miguel Armengot Carceller
Institución	Universidad Internacional de Andalucía
Curso	<i>Máster de Formación Permanente en Rinología Avanzada y Base de Cráneo Anterior (2022/23)</i>
©	María Virginia Barrios Crispi
©	De esta edición: Universidad Internacional de Andalucía
Fecha documento	2023



Universidad
Internacional
de Andalucía



**Atribución-NoComercial-SinDerivadas
4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0)**

Para más información:

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.en>



Universidad Internacional de Andalucía
Máster propio en Rinología Avanzada y Base de Cráneo Anterior

**Diagnóstico de las alteraciones morfológicas y funcionales del cilio
respiratorio nasal en la discinesia ciliar primaria (DCP). Revisión del
estado del arte.**

Trabajo de Fin de Máster presentado por

María Virginia Barrios Crispi

Licenciada en Medicina y Cirugía

Tutor: Prof. Miguel Armengot Carceller

Universidad de Valencia

Junio, 2023

RESUMEN

La discinesia ciliar primaria (DCP) es una enfermedad rara que se caracteriza por afectar la morfología y/o motilidad de cilio respiratorio, una estructura compleja cuya función primordial es la defensa de la vía aérea a través del aclaramiento mucociliar. Diagnosticar las alteraciones ciliares en la DCP continúa siendo complejo debido a la gran cantidad de síntomas que comparte con otras enfermedades respiratorias. Esto obliga al clínico a realizar un amplio diagnóstico diferencial lo que a menudo genera retrasos diagnósticos. Este incluye una combinación de pruebas de screening y otras más específicas entre las cuales la microscopía electrónica de transmisión (MET) y el estudio de la batida ciliar que permiten evaluar las alteraciones morfo-funcionales del cilio mediante la obtención de una muestra de la mucosa nasal del paciente.

Objetivo

El objetivo principal de esta revisión consiste en describir las alteraciones morfológicas y funcionales del cilio respiratorio poniendo en valor el papel los distintos métodos diagnósticos en la DCP y su contribución a una mejor comprensión de su fisiopatología y diagnóstico precoz

Metodología

Se realizó una búsqueda exhaustiva de la literatura relevante sobre discinesia ciliar primaria a través de bases de datos académicas (PubMed); revistas científicas, bibliografías de artículos y libros, herramientas de búsqueda en línea (Google Académico) y consulta a expertos, para identificar estudios científicos, revisiones sistemáticas, metaanálisis y otros documentos relevantes. Se seleccionaron artículos que cumplieran una metodología sistematizada y se tomó en cuenta la relevancia del autor en la aportación al estudio de la DCP y palabras claves en inglés y español.

Conclusión

Para abordar la DCP es preciso un enfoque interdisciplinario, con esfuerzos dirigidos a reducir la morbilidad, evitar la mortalidad prematura, disminuir la discapacidad y mejorar la calidad de vida de las personas afectadas. Los síntomas se suelen enmascarar dentro de otras patologías de la vía respiratoria por lo que se requiere un alto índice de sospecha. El diagnóstico se fundamenta en el análisis de la frecuencia y patrón de la batida ciliar mediante video de alta resolución digital y alta velocidad (DHSV: digital high speed video) el cual se considera el primer paso para el diagnóstico específico en las guías europeas y el estudio de la microscopía electrónica de transmisión MET. Esta clasifica los defectos

estructurales en clase 1 y clase 2, siendo los primeros diagnósticos de la enfermedad (defectos de brazos externos de dineína BED, defectos de brazos externos BED e internos de dineína BID y desorganización microtubular asociados a déficits de BID). La ausencia de alteraciones en la MET no excluye el diagnóstico de DCP. Las guías refuerzan la necesidad de más estudios y consensos internacionales que faciliten el manejo de esta enfermedad.

INDICE

I. Introducción	1
1. Estructura ciliar	1
2. Mecanismos de motilidad ciliar	4
3. Transporte mucociliar	5
4. Discinesia ciliar primaria	6
4.1 Manifestaciones clínicas de la DCP en otorrinolaringología	6
5. Diagnóstico de la DCP	8
5.1 Pruebas de cribado	8
5.1.1 Determinación de óxido nítrico nasal exhalado (NO _n)	8
5.1.2 medidas de aclaramiento mucociliar	9
5.1.3 Métodos con trazadores radioisotópicos	9
5.2 Pruebas diagnósticas definitivas	9
5.2.1 Estudio de la batida ciliar	10
5.2.2 Estudio de la ultraestructura ciliar por Microscopía Electrónica de Transmisión (MET)	11
5.2.3 Algoritmos diagnósticos	15
II. Metodología	17
Objetivo principal	17
Objetivos secundarios	17
Diseño	17
Criterios de inclusión	17
Criterios de exclusión	17
III. Discusión	18
IV. Conclusiones	19
V. Bibliografía	20

INTRODUCCIÓN

1. Estructura ciliar

Los cilios y flagelos son proyecciones de la célula, rodeadas por la membrana celular que ejercen diversas funciones biológicas.¹ Poseen una compleja estructura celular morfológica y genética con diversas funciones en varios tipos de organismos.^{1,2}

De acuerdo con sus características funcionales, los cilios se clasifican en 3 categorías: móviles, primarios y nodales. Los cilios primarios o monocilios son prolongaciones solitarias que se encuentran en casi todas las células eucarióticas. Funcionan como quimiorreceptores, osmorreceptores y mecanorreceptores y median las percepciones luminosa, odorífera y sonora en muchos órganos del cuerpo. Los cilios nodales se encuentran en el disco embrionario bilaminar. Desempeñan un papel importante en el desarrollo embrionario inicial y difieren de los cilios primarios en su capacidad de realizar movimiento rotatorio. Los cilios móviles aparecen en grandes cantidades en la región apical de muchas células epiteliales. Poseen una organización axonémica 9 + 2 típica con proteínas motoras asociados con los microtúbulos, que les permiten movilizar líquido y partículas a lo largo y ancho de las superficies epiteliales.^{2,3}

El ejemplo más estudiado de motilidad ciliar es el del epitelio respiratorio, donde los cilios móviles llevan a cabo un coordinado mecanismo denominado transporte mucociliar, cuya función principal consiste en la defensa de la vía aérea, mediante el cual transportan una capa de moco hacia la orofaringe donde se degluten al tracto gastrointestinal, arrastrando toxinas, alérgenos y detritos.²

El cilio móvil brota como un crecimiento externo celular desde un cuerpo basal al que está unido, que también se lo conoce como centriolo y consiste en 9 tripletes de microtúbulos periféricos.¹ En el microscopio óptico los cilios móviles se ven como proyecciones cortas y delgadas que miden aproximadamente de 5 a 7 micras de longitud y 0.2 - 0.3 micras de diámetro. Básicamente constan de tres partes: la porción motora o axonema, y el cuerpo basal o cinetosoma y la membrana ciliar.^{1,2}

La microscopía electrónica de un cilio en corte longitudinal permite ver un centro de microtúbulos, denominado **axonema**.² El corte transversal muestra la clásica estructura de "9+2". Una configuración característica de nueve pares o dobletes de microtúbulos

periféricos, formados por los microtúbulos A y B, dispuestos en círculo alrededor de dos microtúbulos centrales, todo ello envuelto por la membrana celular.¹

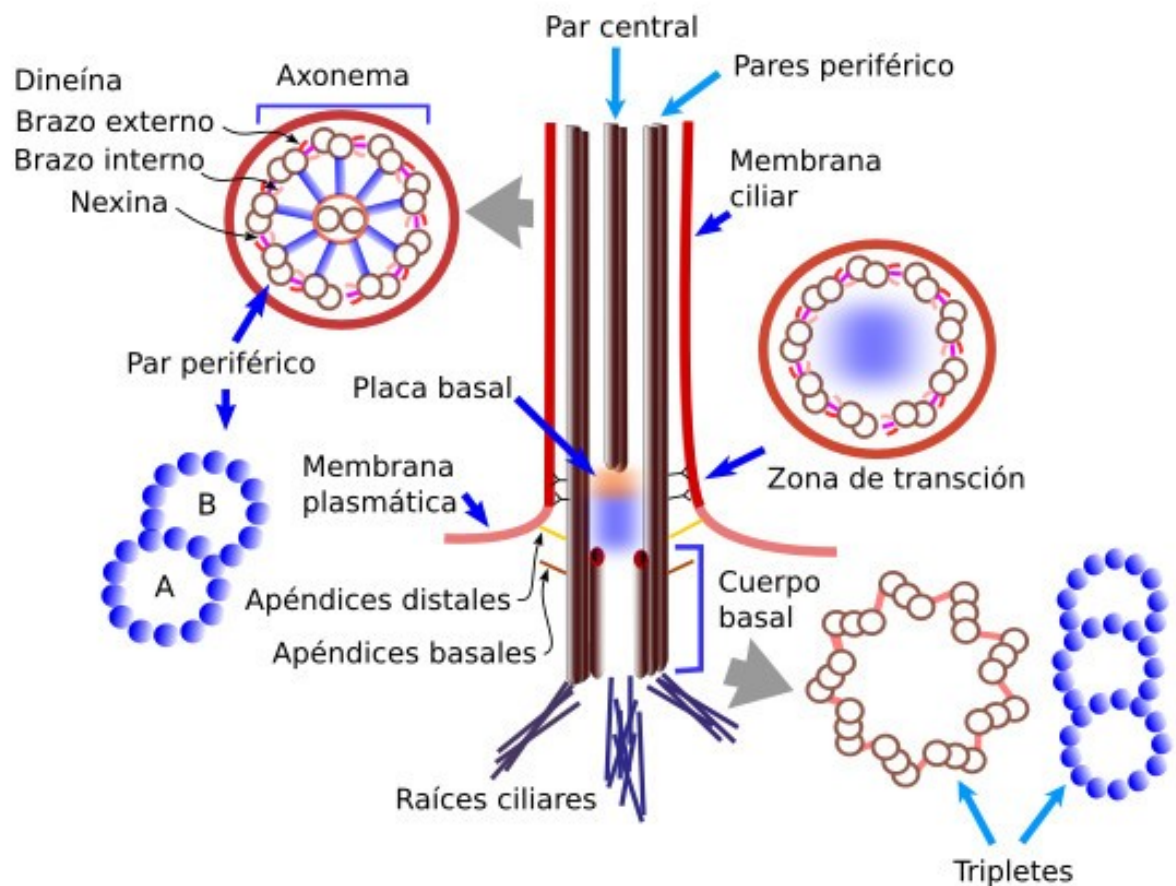


Figura 1. Esquema donde se indican los principales componentes de la estructura de un cilio o un flagelo. En los cilios primarios el par central de microtúbulos está ausente. Figura obtenida de: Megías M, Molist P, Pombal MA. Atlas de histología vegetal y animal. <http://mmegias.webs.uvigo.es/inicio.html>.

Los microtúbulos que componen cada doblete están constituidos de manera que el microtúbulo B, incompleto, formado por 10 protofilamentos, comparte una parte de la pared del otro microtúbulo del doblete: el microtúbulo A. Es el más externo, completo y está formado por 13 protofilamentos.¹ Esta estructura es consistente entre los cilios móviles del epitelio respiratorio, el oviducto y las células ependimales ventriculares cerebrales.^{1,3}

Algunas áreas de unión de las subunidades A y B contienen tektina, una proteína que les aporta estabilidad estructural a esta unión.

La tubulina es la principal proteína estructural de los pares de microtúbulos. Tiene base monomérica redondeada de 4 nanómetros de diámetro que se une a otro monómero formado por heterodímeros de alfa y beta tubulina, que a su vez se agregan para dar origen

al microtúbulo. Cada microtúbulo termina cerca del extremo del cilio a distintos niveles, por lo que a menudo no todas las secciones transversales muestran un patrón idéntico al de 9 + 2.^{1,3} Este hecho es fundamental al momento de realizar el diagnóstico morfológico de las alteraciones ciliares

Cada doblete de túbulos periféricos A y B tiene dos brazos de dineína (externo e interno) que contienen la proteína motriz del cilio.¹ Estos aparecen con intervalos de 24 nm en toda la longitud del microtúbulo A y se extienden para formar puentes cruzados temporales con el microtúbulo B del doblete contiguo.³ Los brazos de dineína son los causales de que los microtúbulos se deslicen unos sobre otros y el cilio se mueva. Están compuestos de 9 polipéptidos, incluyendo dos cadenas pesadas de ATPasa por brazo que son altamente específicas para el ATP y debe unirse con el magnesio para que se produzca el movimiento ciliar ¹.

Los **puentes de nexina** son otro tipo de enlace que mantienen el cilio intacto durante la batida. Son ligamentos elásticos que unen entre sí los dobletes periféricos. **Los túbulos centrales** están rodeados de una vaina central que se une a los dobletes periféricos mediante los brazos radiales o rayos, que son estructuras polipeptídicas que actúan como el esqueleto que salvaguarda la estructura del cilio.^{1,2} Las proteínas que forman los enlaces radiales y las conexiones de nexina entre los dobletes periféricos hacen posible las oscilaciones de gran amplitud que describe el cilio.¹

El cuerpo basal o cinetosoma es la parte del cilio situada por debajo de la superficie celular. Está constituido por 9 tripletes periféricos de microtúbulos. Posee un pie basal, con una punta estrecha que se dirige en la dirección del movimiento efectivo del cilio. De el cuerpo basal parte la raíz ciliar, que penetra en el citoplasma comportándose como un sistema de fijación del cilio.^{1,2}

En la base del cilio, mientras los microtúbulos centrales y los brazos de dineína terminan a nivel de la superficie celular, los dobletes periféricos son transformados en tripletes por adición de un tercer microtúbulo C incompleto, que se une a la subunidad B. El eje del triplete se gira, con el microtúbulo A más cerca del centro. En el extremo del cilio los dobletes periféricos se vuelven únicos por la pérdida de la subunidad B, introduciéndose en un complejo transmembrana llamado corona ciliar. Esta presenta de tres a siete “garras” que permiten el ajuste mecánico o químico entre el cilio y la capa de moco durante el movimiento ciliar efectivo¹.

La membrana ciliar es una prolongación de la membrana celular. Presenta características especiales en la composición de lípidos y proteínas para poder controlar el medio ambiente iónico del cilio. En la punta se encuentra la corona ciliar.

2. Mecanismos de motilidad ciliar

El movimiento ciliar tiene su origen en el deslizamiento de los dobletes de microtúbulos, el cual es generado por la actividad de la ATPasa de los brazos de dineína.³

Los cilios respiratorios baten constantemente a una frecuencia media de 1000 batidas por minuto, generando una corriente mucociliar a una velocidad variable de entre 3-25 mm por minuto. Según la teoría del microtúbulo deslizante, la motilidad ciliar depende de una serie de mecanismos mediados por ATP que hacen que los microtúbulos del axonema se deslicen entre sí produciendo una fuerza vectorial.^{1,3}

Cada cilio realiza un movimiento rápido efector seguido de un movimiento más lento de recuperación conocido como moción bifásica.^{4,3} Durante el movimiento efector el extremo de los cilios completamente extendidos alcanza la capa superficial de la secreción de moco o capa de gel transmitiendo la fuerza en dirección al movimiento ciliar efectivo. Durante el movimiento de recuperación el cilio se dobla aproximadamente 90° y se desdobra hasta su punto de partida dentro de la capa más profunda de la secreción mucosa que rodea los ejes de los cilios. Esto no solo crea un transporte unidireccional de la capa de moco, sino que también genera una mezcla en todo el líquido de superficie de la vía aérea aumentando la eficacia en la captura de residuos inhalados.^{1,2,3}

La batida ciliar está controlada tanto por mecanismos que utilizan 3'5 adenosina monofosfato cíclico (AMPC), de manera que al aumentar este se incrementa el ATP, como por variaciones del calcio intracelular mediante un sistema de calcio-calmodulina dependiente, que impulsa las interacciones de microtúbulos, o a una onda hidrodinámica que fuerza una coordinación sincronizada de los cilios cercanos.^{4,2}

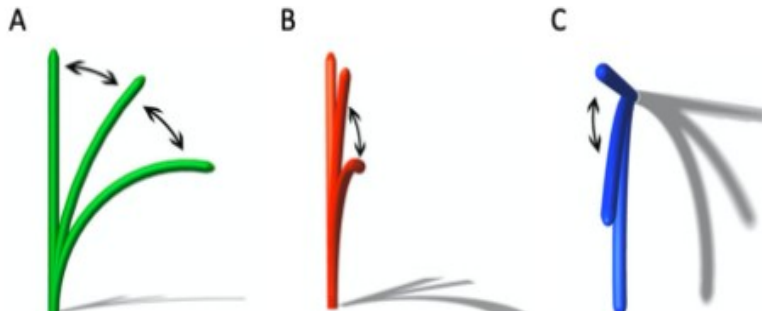


Figura 2. Diferentes planos de visión del movimiento ciliar A) Lateral. B) Hacia el observador. C) Desde arriba. Imagen obtenida de tesis doctoral: estudio de la función de los cilios mediante imagen digital de alta velocidad. Comparación con la ultraestructura ciliar en la discinesia ciliar primaria. Rovira S, Universitat Autònoma de Barcelona.

Cuando la superficie de una área ciliada se observa al microscopio parecen campos de trigo batidos por el viento.⁵ Una sección paralela a las ondas de la membrana mucosa mostraría a todos los cilios batiendo en la misma fase. A este fenómeno se le conoce como sincronía. En todas las otras secciones los cilios estarían en diferente fase pero de forma organizada en la que el siguiente cilio en la fila también está en la siguiente fase del ciclo de batida evitando la colisión ciliar en las distintas fases del movimiento. A este fenómeno se le conoce como metacronia u ondas metacronales.^{4,5}

3. Transporte mucociliar

El transporte mucociliar se lleva a cabo siempre en la misma dirección dentro de una cierta área del tracto respiratorio. En el extremo más anterior de la nariz la corriente se dirige hacia delante, donde los materiales son accesibles a la limpieza manual. Un poco por atrás, la secreción es movida hacia los meatos, áreas protegidas donde los cilios están bien preservados. Desde otras partes de las paredes laterales y desde el tabique nasal el flujo de moco está dirigido ligeramente hacia abajo y atrás, en dirección a la faringe donde será deglutido de forma habitualmente desapercibida. En los senos paranasales el flujo de moco se encuentra siempre dirigido hacia el ostium de desembocadura en la fosa nasal. El flujo del árbol traqueobronquial también es dirigido hacia la faringe.^{4,5}

El sistema mucociliar es relativamente independiente de la gravedad y del peso que debe ser movido, aunque dentro de unos límites. Los valores de transporte mucociliar encuentran una gran variación entre distintas partes del tracto respiratorio, entre diferentes sujetos, incluso de la misma especie, y, en menor grado, en el mismo sujeto dependiendo

de las circunstancias. Un cilio de la nariz humana mide aproximadamente 5-6 micras de longitud y adopta un movimiento de 90 grados de cilio rígido durante el movimiento efectivo.⁵ Durante este movimiento la distancia recorrida por el extremo del cilio es de $1/2p \times 5 \times 10$ centímetros ó 0.8 milímetros por minuto a una frecuencia de 1000 batidas por minuto.^{1,5}

La velocidad media de aclaramiento del moco en las fosas nasales es de 8 milímetros/minuto. La velocidad es similar en la tráquea, pero va disminuyendo conforme penetramos en el árbol traqueobronquial, estimándose en 0.5 milímetros/minuto en bronquiolos y 1 milímetros/minuto en bronquios superiores.⁵ La velocidad de arrastre de las secreciones por el movimiento ciliar depende también del punto de profundidad que consideremos dentro de la propia capa de secreción. Así, el movimiento de la capa de gel será el óptimo, pero a medida que penetremos en la capa de sol irá disminuyendo, de manera que en la superficie apical de la célula no habrá desplazamiento alguno.⁵

4. Discinesia Ciliar Primaria

La Discinesia Ciliar Primaria (DCP) es el síndrome clínico más frecuente y con mayor repercusión clínica relacionado con la disfunción ciliar. Se conoce también como síndrome de inmovilidad ciliar y es un trastorno hereditario, autosómico recesivo, sin predilección de sexo o raza , que afecta a 1/10.000-60.000 individuos^{2,6,7}. El término primaria, se asoció a la CPD para distinguirlo de los defectos ciliares secundarios o adquiridos asociados a infección en inflamación.^{2,8}

La causa subyacente es una falta total de cilios aplasia ciliar, entidad muy rara, o una anomalía ciliar que, o bien impide su movilidad (síndrome del cilio inmóvil), o imposibilita una batida normal (discinesia ciliar).^{1,5,9} Tanto la discinesia como la inmovilidad conducen a una ausencia de transporte mucociliar que, en el aparato respiratorio, provoca estasis de secreciones e infección crónica de las vías respiratorias altas y bajas.^{2,9,6}

4.1 Manifestaciones clínicas de la DCP en otorrinolaringología

Dado que los cilios son parte primordial del funcionamiento de las vías respiratorias, la DCP afectará universalmente el aclaramiento mucociliar desde las fosas nasales, hasta los bronquios terminales y es la forma de presentación más frecuente de esta enfermedad.¹⁰ Las manifestaciones clínicas iniciales son muy variables, ocurrirán desde el periodo neonatal con una evolución crónica que persistirá durante toda la vida. Hasta un 80% de los

neonatos se presentan con distress respiratorio normalmente diagnosticados al inicio con taquipnea transitoria del recién nacido o neumonía neonatal. Otros hallazgos comunes durante la infancia incluyen congestión nasal permanente, tos productiva desde el nacimiento, otitis media crónica o sinusitis. La dificultad mantenida en el aclaramiento de las secreciones conllevan a inflamación crónica de las vías respiratorias que eventualmente causan bronquiectasias y rinosinusitis crónica.^{1,10} Las infecciones de oído medio de repetición causadas por el estasis de moco pueden comprometer la audición y el desarrollo del lenguaje. Estos suelen mejorar con la edad sin llegar a desaparecer.^{7,9}

Estos síntomas suelen enmascarse con las infecciones de vías respiratorias comunes de la infancia, lo que retrasa el diagnóstico de DCP, por tanto se requiere de un alto índice de sospecha.⁶

En adolescentes y adultos son comunes las sinusitis de repetición, aquellas que comprometen de manera total o parcial todos los senos paranasales, la mayoría de veces por moco y menos frecuente por tejido blando polipoideo. La poliposis nasal es menos frecuente y más común en la fibrosis quística y en el 10% de los casos se detectan bronquiectasias.¹¹

La infección bronquial suele ser de aparición precoz y es la mayor causa de morbilidad y mortalidad en DCP. La inflamación suele ser fundamentalmente neutrofílica y las sobreinfecciones bacterianas suelen variar con la edad siendo más frecuente el *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae* en niños y adolescentes y la *Pseudomona aeruginosa* y micobacterias no tuberculosas en el adulto.¹¹ En el adulto las bronquiectasias cilíndricas o saculares son habituales y a diferencia de la fibrosis quísticas que se localizan en lóbulos superiores, en la DCP afectan a los lóbulos medios e inferiores y la línula.^{6,11}

La ineficacia de los cilios nodales embrionarios hace que la asimetría de los órganos internos se disponga al azar dando lugar, en aproximadamente un 50% de estos pacientes, a un situs inversus total (raramente presentan dextrocardia aislada o vísceras invertidas aisladas). Su presencia, junto a sinusitis crónica y bronquiectasias, se conoce como síndrome de Kartagener, un subgrupo de la DCP, producto de una anomalía estructural que comprende la falta de brazos de dineína y falla en el sistema de transporte mucociliar, con una prevalencia de 1/20.000-40.000 individuos.^{1,2} En la actualidad, dado que las bronquiectasias no existen en el momento del nacimiento y que un diagnóstico precoz y la adopción de medidas terapéuticas adecuadas podrían retrasar su aparición, este síndrome

podría quedar definido por la coexistencia de DCP y situs inversus.² Un situs inversus o un antecedente familiar positivo para la enfermedad debe orientarnos en la sospecha diagnóstica.^{2,6}

5. Diagnóstico de DCP

El diagnóstico clínico de la DCP comienza con la sospecha de la enfermedad basada en las manifestaciones clínicas antes descritas. En 2016 Leigh et al describieron 4 signos clínicos predictivos para DCP incluidos defectos de lateralidad, distress respiratorio neonatal no explicado por otras causas, congestión nasal y tos productiva de inicio precoz durante todo el año con una sensibilidad de 0.21 y especificidad de 0.99.⁸ Salvo estos casos, es preciso hacer el diagnóstico diferencial con otras patologías que causan infección crónica respiratoria como la fibrosis quística, la alergia respiratoria y déficits inmunitarios mediante pruebas específicas para cada enfermedad.

El test PICADAR (primary ciliary dyskinesia Rule) es un test predictivo que contiene 7 sencillas preguntas que estima la probabilidad de un individuo sintomático de padecer DCP. Estas incluyen nacimiento a término, aparición de síntomas respiratorios en el periodo neonatal, admisión en unidad de cuidados intensivos neonatal, defectos neonatales congénitos, situs inversus, rinitis crónica y síntomas otológicos. Se calcula la puntuación total y la probabilidad individual de tener un diagnóstico de DCP se estima a partir de una curva de probabilidad (Score 4, sensibilidad de 0.97 y especificidad 0,48: Score 5 sensibilidad 0.90, especificidad 0.75).¹²

Las guías diagnósticas coinciden en que la mayoría de las pruebas presentan una baja especificidad y sensibilidad y recomiendan usar una combinación de ellas. A continuación se detallan pruebas de cribado y pruebas específicas.

5.1 Pruebas de cribado

5.1.1 La determinación de óxido nítrico nasal exhalado (NON)

Se considera una herramienta útil en el cribado de DCP por su alta sensibilidad 95% y especificidad 90%. Se recomienda su realización en niños mayores de 4 años que sean capaces de hacer maniobras de cierre velopalatino y hayan desarrollado los senos paranasales. Sus valores son bajos o casi ausentes en pacientes con DCP, incluso en aquellos cuyos cilios tienen una ultraestructura normal. Sin embargo es necesario realizar un test de confirmación ya que otras enfermedades como fibrosis quística, rinosinusitis

crónica y bronquiolitis también cursan con cifras bajas de NO_n. Habitualmente las cifras elevadas excluyen la enfermedad, particularmente en aquellos pacientes que no presentan síntomas habituales de la enfermedad.^{11.13}

Hay excepciones donde la concentración nasal de óxido nítrico está por encima del límite típico utilizado para diagnosticar primaria discinesia ciliar. Dichas excepciones incluyen individuos con mutaciones en GAS8, STK36, CCDC103, RSPH1 y GAS2L2.¹³

5.1.2 Medida de aclaramiento mucociliar

En el pasado, se han utilizado pruebas de cribado como test de gotas marcadas con ^{99m}Tc-albúmina y el test de sacarina para medir el aclaramiento mucociliar. En este último se coloca una pequeña tableta de sacarina en el cornete inferior y se registra el tiempo que tarda el paciente en notar su sabor.¹⁴ Esta prueba es poco fiable en niños por debajo de los 12 años de edad. Presentan una baja especificidad y se desaconseja su uso. Se encuentra también alterado en pacientes con discinesia ciliar secundaria.^{11.15.16}

5.1.3 Métodos con trazadores radioisotópicos

Son los más rentables y objetivos pudiéndose realizar en el recién nacido. Es un método recomendado en la exclusión de PCD, por su alta sensibilidad aunque presenta una baja especificidad.¹⁶

5.2 Pruebas diagnósticas definitivas

La DCP es considerada una enfermedad rara cuyo diagnóstico análisis e interpretación son difíciles. Su diagnóstico se basa en la sospecha clínica y pruebas diagnósticas adecuadas, sin embargo no existe una técnica “gold standard” para todos los fenotipos de DCP.

Su estudio se fundamenta tanto en el análisis de la frecuencia y la forma de la batida ciliar mediante video de alta resolución digital y alta velocidad (DHSV: digital high speed video), como en la ultraestructura ciliar, mediante microscopía electrónica de transmisión (ME) de las células del cilio respiratorio, que se obtienen del cepillado o curetaje de la mucosa nasal o bronquial. Se recomienda demorar la obtención de la muestra de 4-6 semanas si el paciente ha padecido una infección de la vía aérea superior ya que esta circunstancia puede causar un daño reversible en el epitelio respiratorio.

5.2.1 Estudio de la batida ciliar

Es un estudio preciso que permite analizar la batida ciliar en diferentes planos, a diferentes velocidades e incluso imagen a imagen, tras su grabación con un sistema de cámara digital de alta velocidad acoplada al microscopio (DHSV) y un programa informático aplicado sobre las imágenes.¹⁰ La muestra se coloca en Medio 199 (pH 7,3), que contiene soluciones antibióticas y antifúngicas. Las tiras ciliadas de epitelio respiratorio son suspendidas en una cámara entre un cubreobjetos y un portaobjetos de vidrio y deben ser analizadas en las próximas 9 horas. La muestra debe ser analizada a una temperatura ambiente de entre 22 y 37°C con un microscopio óptico con lente de interferencia x100 e inmersión montado en aceite sobre una mesa antivibratoria. El movimiento de los cilios se registra con una cámara de alta velocidad a 400-500 imágenes por segundo. Es necesario analizar la frecuencia de batido y el patrón en diferentes planos: lateral, hacia el observador y desde arriba.¹⁰

- Frecuencia de Batida Ciliar (FBC): cada laboratorio determinará sus valores normales. Se considera normal si es mayor o igual a 9 Hz (540 batidas por minuto).¹⁰.
- Patrón - forma de la batida ciliar. Estudia los ciclos de la batida ciliar, una fase de movimiento eficaz, en la que el cilio se extiende en toda su longitud, y una de recuperación, cuando el cilio se dobla y vuelve a la posición inicial para iniciar de nuevo la batida. Es necesario analizar tanto el patrón como la frecuencia de batida ciliar ya que en algunos casos la frecuencia de batida puede ser normal y el movimiento puede ser discinético. Este estudio permite detectar patrones específicos de batida relacionados con una alteración en la ultraestructura ciliar.¹⁰. El patrón de batida ciliar es el parámetro más eficaz para el diagnóstico.
- Test de rotación celular. es una forma alternativa e indirecta de determinar la eficacia de la batida. Normalmente las células son capaces de rotar sobre sí mismas en un medio de cultivo. Si no es posible obtener células sueltas en la primera muestra, se practica un cultivo celular y varias semanas después se trata con pronasa para separar las células: las células sanas rotan constantemente.^{2,10}

Ante una frecuencia y patrón de batido ciliar normales, con baja sospecha clínica de DCP, no sería necesario realizar más pruebas complementarias. En caso de observar una frecuencia de batido menor a la establecida como normal, un patrón de batido discinético o si existe una alta sospecha de DCP, se realiza también un estudio de la ultraestructura con microscopio electrónico. Un reciente consenso de expertos recomienda analizar tanto la

FBC, como la MET como medios de diagnóstico de la PCD. Sin embargo, la realización de la DHSV es un reto que requiere una experiencia y una formación considerables. Además, estos conocimientos se limitan a unos pocos laboratorios de Europa y Canadá y no hay consenso en la metodología de este estudio en la actualidad por lo que su aplicabilidad clínica es limitada.¹⁷

La ventaja en la realización de esta prueba es que los videos pueden almacenarse como un registro permanente, permitiendo reevaluar según cambia el curso del cuadro clínico. Sin embargo también presenta serias limitaciones relacionadas con el efecto de la infección y la inflamación del cilio durante su análisis, el daño del epitelio durante la recolección de las muestras¹⁸ y el solapamiento de la frecuencia de batido ciliar entre pacientes con DCP y sujetos normales. El reanálisis de los patrones y frecuencias de batida ciliar y la estructura del cilio por microscopía electrónica usando la técnica de cultivo in vitro que permite el crecimiento y diferenciación celular en una interfaz aire-líquido, tal y como es su crecimiento, en condiciones naturales, reduce los efectos de la inflamación y la infección en el análisis de las muestras.¹⁹

5.2.2 Estudio de la ultraestructura ciliar por Microscopía Electrónica de Transmisión (MET)

La MET es una herramienta muy importante en el estudio de la estructura del cilio y en el diagnóstico de pacientes con DCP. La mayoría de los expertos recomiendan obtener una muestra de al menos 20–50 secciones cilíndricas individuales, obtenidas de varios grupos de células diferentes en la biopsia y se analizan tanto la orientación de los cilios como los distintos componentes de axonema ciliar. La presencia de microvellosidades rodeando al axonema sugiere que las secciones transversales se obtuvieron a un nivel ciliar apropiado y no demasiado cerca la punta ciliar, donde las estructuras normales podrían estar alteradas. La valoración exacta de una posible alteración requiere personal experto y criterios específicos tanto cuantitativos como cualitativos, sobre las distintas estructuras ciliares a estudiar desde un punto de vista diagnóstico.

En el año 2020, Shoemark A, y col publicaron una guía de consenso desarrollada por expertos en microscopía electrónica PCD que representan a 18 centros en 14 países. En esta se aprobaron unas directrices acordadas mediante el intercambio de muestras y micrografías electrónicas entre los 18 centros de diagnóstico. La directriz final proporciona una terminología acordada y una definición de los defectos de Clase 1 que son diagnósticos de PCD; identifica defectos de Clase 2 que pueden indicar un diagnóstico de PCD en

combinación con otra evidencia de apoyo; describe las características que deben incluirse en un informe de ultraestructura ciliar para ayudar al diagnóstico multidisciplinario de PCD; y define la adecuación de una muestra de diagnóstico. Esta declaración probada y validada externamente proporciona una guía clara para el diagnóstico de PCD por TEM que actualmente se usa para estandarizar el diagnóstico a nivel internacional.²⁰

El grupo de consenso de expertos identificó dos clases de defectos de diagnóstico de PCD

Defectos de clase 1: se consideran defectos distintivos, que confirman un diagnóstico en un paciente con síntomas de la afección. Se confirman tras la evaluación de más de 50 axonemas en el corte transversal de varias células. Los brazos de dineína deben evaluarse en secciones transversales con características estructurales claras y una membrana ciliar intacta. La disposición microtubular se puede evaluar en un mayor número de secciones transversales con una membrana intacta en la que los brazos de dineína pueden no estar claros.

Se consideran defectos clase 1 los siguientes:

1. Defectos de BED (brazos externos de dineína)

Ausencia de la totalidad o una gran parte de la estructura de los BED, de la mayoría (cinco o más) de los dobletes microtubulares, en la mayoría (más del 50%) de las secciones transversales de los cilios.

2. Defectos de BED y BID (brazos internos de dineína)

Ausencia de la totalidad o una parte mayor de la estructura de los BED, de la mayoría (cinco o más) de los dobletes microtubulares en la mayoría (más del 50 %) de las secciones transversales de los cilios U ausencia de la totalidad o una parte mayor de la estructura BID de la mayoría (siete o más) de los dobletes microtubulares, en la mayoría (más del 50%) de las secciones transversales de los cilios. Si el número de IDA no se puede determinar con precisión, las muestras deben informarse como "defecto de ODA (+/- defecto de IDA)".

3. Desorganización microtubular y defectos de BID

Interrupción de la simetría 9+2 de los microtúbulos en más del 25 % de las secciones

transversales combinada con la ausencia total o de una gran parte de la estructura IDA de la mayoría (más de siete) de dobletes microtubulares en la mayoría (más de 50%) de los axonemas de los cilios visualizados en sección transversal.

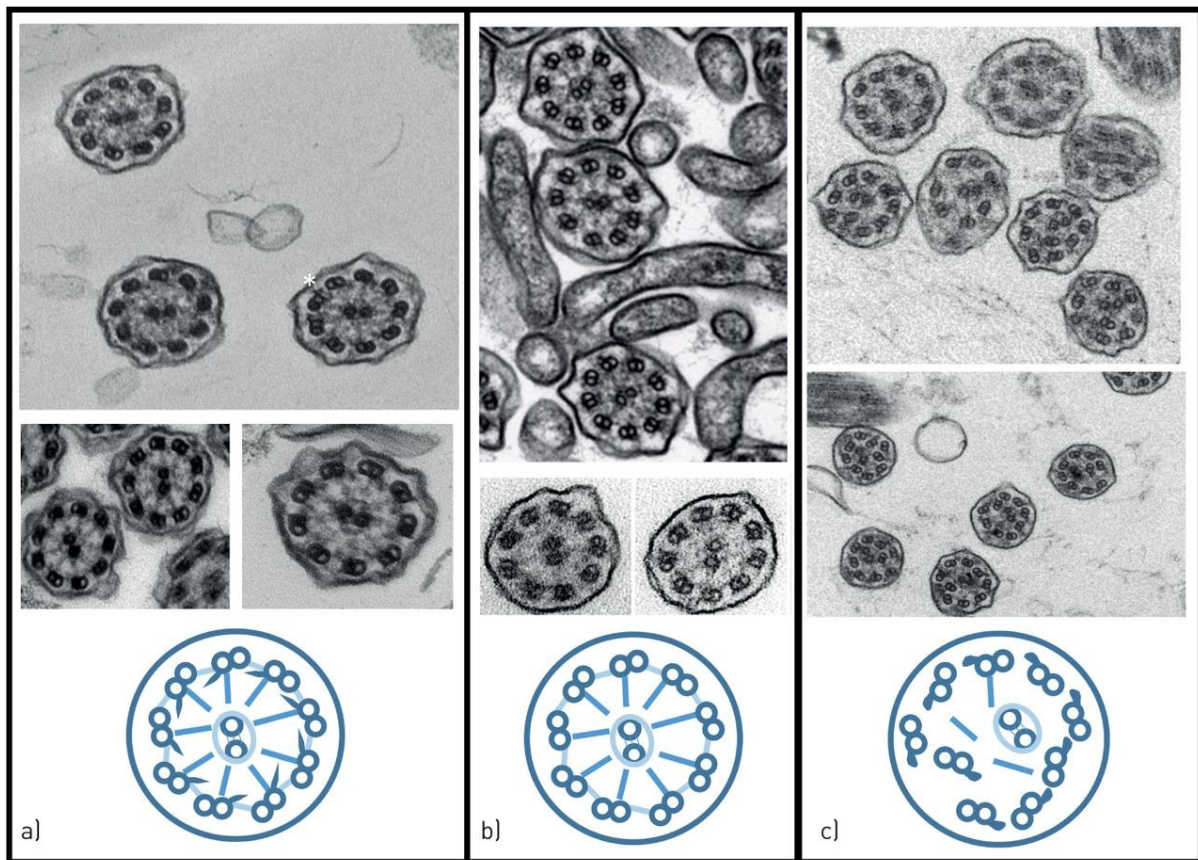


Figura 3. Defectos ultraestructurales Clase 1 en sección transversal. a) Defecto del brazo externo de dineína (ODA); b) defecto de ODA y IDA; c) desorganización microtubular y defecto IDA. Cabe señalar que no todos los brazos faltan por completo. Aunque la estructura de gancho curvo del ODA no está presente en su totalidad, la estrella blanca en a) indica alguna estructura proximal remanente que probablemente sea el complejo de acoplamiento

Imagen obtenida del International consensus guideline for reporting transmission electron microscopy results in the diagnosis of primary ciliary dyskinesia (BEAT PCD TEM Criteria) 2020

Defectos de Clase 2: indican un diagnóstico de PCD en un paciente con síntomas clínicos de la afección si son consistentes en más de una muestra o después de un cultivo celular y si son consistentes con los resultados de otras pruebas. Estos defectos pueden ser más difíciles de reconocer y pueden ser similares a los defectos secundarios.

Se consideran clase 2 los siguientes defectos:

1. Defecto del complejo central: los defectos del complejo central consisten en una proporción de secciones transversales normales y secciones transversales consistentes con uno o ambos de los microtúbulos centrales ausentes

(generalmente > 20%). Ocasionalmente puede observarse el par central doble o la translocación del microtúbulo externo a la región central (8+1). La translocación generalmente ocurre cerca de la punta ciliar. En los cortes longitudinales, se puede observar la pérdida completa o parcial del par central o la transposición de un doblete externo. A menudo se observa desorganización microtubular.

2. Malposición de cuerpos basales con pocos o ningún cilio: los hallazgos son típicamente de ninguna o muy pocos cortes transversales en combinación con la alteración en el acoplamiento de la mayoría de los cuerpos basales en la superficie apical de la célula, lo que significa que se ven constantemente dentro del citoplasma.
3. Desorganización microtubular: Interrupción de la simetría del complejo 9+2 de los microtúbulos en cortes transversales consistentemente a lo largo de una muestra sana. En ocasiones se observa ausencia del complejo regulador de dineína - nexina. Por lo general, la mayoría de los cortes transversales tienen una ultraestructura normal con BED y BID presentes.
4. Ausencia de BED en 25 % al 50 % de los cortes transversales:
Esta definición es la misma que para los defectos BED de clase 1, excepto que los brazos de dineína están ausentes en una minoría de cilios y están presente en la mayoría de cortes transversales.
5. Ausencia combinada de BED y BID en 25 % al 50 % de los cortes transversales:
Esta definición es la misma que para los defectos BED y BID de clase 1, excepto que los brazos de dineína están ausentes en una minoría de cilios y están presente en la mayoría de cortes transversales

Las alteraciones del patrón 9 + 2 se consideran significativas si afectan a más del 30% de los axonemas ciliares.^{2,10} Los déficit de dineína: ausencia completa asociada a inmovilidad o ausencia parcial asociada a discinesia (movimiento ciliar ineficaz), son los defectos ciliares más frecuentemente encontrados en la MET, y afectan al 80-95% de los pacientes con DCP. De estos, los defectos de los BED (25-50%), alteraciones combinadas de BED y BID (25-50%), defectos de BID asociado con desorganización microtubular (15%) y defectos del par central (5-15%). La alteración aislada de BID es controvertida. La ausencia de brazos de dineína (internos, externos o ambos) puede ser considerado cuando la media de brazos de dineína es inferior a dos por corte transversal y la orientación de los cilios es normal si la variación del eje ciliar es menos de 28.

El resto de las anomalías estructurales explicadas anteriormente son menos prevalentes, aunque desde el punto de vista morfológico, solo el déficit total de dineína

puede considerarse diagnóstico.²

La MET, fue considerada durante mucho tiempo el “gold standard” para el diagnóstico de DCP, pero hasta en un 30% de todos los casos, los cilios pueden tener una ultraestructura normal o cambios sutiles que no se consideran diagnósticos. Con lo cual podemos deducir que una ultraestructura normal no descarta DCP y solo serán diagnósticos, los casos con defectos ciliares congénitos.²¹ Los cultivos celulares son útiles en casos de dudas diagnósticas, ya que los cilios neoformados reproducen las alteraciones ciliares congénitas, no así las adquiridas.^{2,21}

5.2.3 Algoritmos Diagnósticos:

Tanto la European Respiratory Society (ERS) como la American Thoracic Society (ATS) han publicado guías clínicas y algoritmos diagnósticos de la DCP que debido a la complejidad y altos costos que conllevan, suelen realizarse en centros especializados. La guía ERS clasifica a los pacientes como positivos, altamente probables o altamente improbables. Ambas guías clínicas coinciden en la utilidad de la microscopia electrónica en el diagnóstico de la DCP, sin embargo no es lo mismo para el estudio de la movilidad ciliar y cultivos celulares que se considera en primer paso en el diagnóstico en las guías europeas, mientras que en la guía ATS no es considerada un estudio de rutina y se realizan en centros especializados en casos no concluyentes. Por otra parte la ATS considera al óxido nítrico nasal es el primer paso diagnóstico (si esta disponible) antes de continuar o no el estudio y los valores se consideran bajos por debajo de 77nL/min mientras que para la ERS el estudio del óxido nítrico nasal es complementario y los valores se consideran bajos por debajo de 33nL/min. Todo esto refuerza la necesidad de realizar un consenso único internacional para el manejo de la DCP.

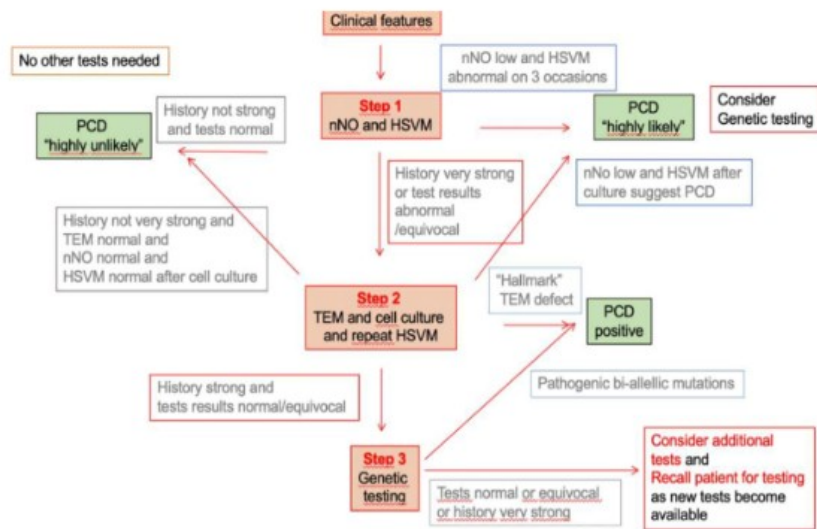


Figura 4. DCP (PCD) guía diagnóstica E.R.S. 2017. siglas en inglés. Oxido nítrico nasal (nNO). Sistema de cámara digital de alta velocidad acoplada al microscopio (DHSV). Microscopía electrónica de transmisión (TEM). Imágenes obtenidas de: Understanding Primary Ciliary Dyskinesia: Experience From a Mediterranean Diagnostic Reference Centre. J Clin Med. 2020 Mar

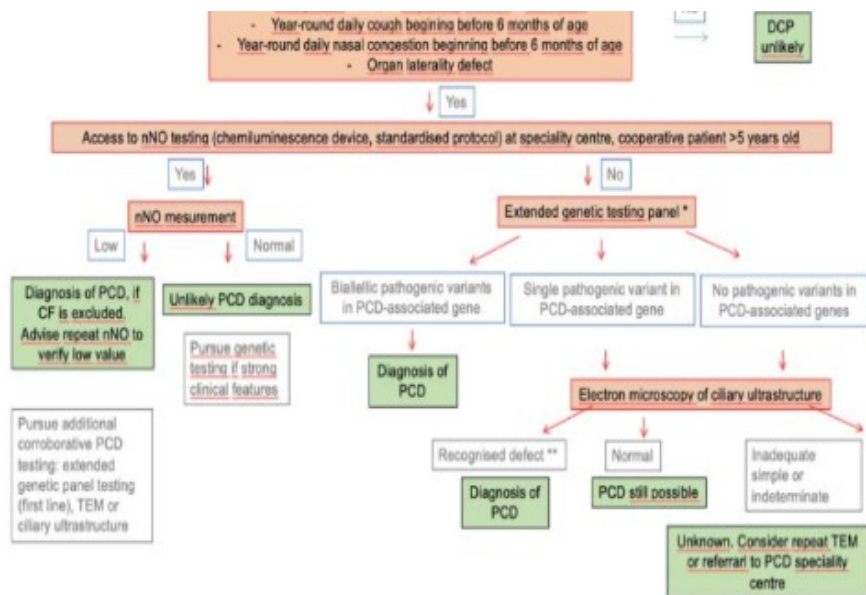


Figura 5. Adaptado de A.T.S. 2018 DCP (PCD) guía diagnóstica siglas en inglés. Oxido nítrico nasal (nNO). Fibrosis quística (CF), Microscopía electrónica de transmisión (MET), * test genéticos para mutaciones en >12 enfermedades asociadas a DCP (PCD), incluyendo análisis delección / duplicación, ** Defectos de brazos externos de dineína (ODA), defectos de ODA más defectos de brazos internos de dineína (IDA), defectos de IDA con desorganización microtubular, ausencia de par central. Imágenes obtenidas de: Understanding Primary Ciliary Dyskinesia: Experience From a Mediterranean Diagnostic Reference Centre. J Clin Med. 2020 Mar

II. METODOLOGÍA

Esta revisión del estado del arte va dirigida a ampliar conocimientos que permitan aclarar las dudas diagnósticas en la Discinesia Ciliar Primaria, disminuir el número de falsos positivos y negativos, realizar un diagnóstico precoz y disminuir su morbilidad.

Objetivo principal

El objetivo principal de esta revisión consiste en describir las alteraciones morfológicas y funcionales del cilio respiratorio poniendo en valor el papel los distintos métodos diagnósticos de la DCP y su contribución a una mejor comprensión de su fisiopatología

Objetivos secundarios

- Describir la estructura, movilidad de los cilios respiratorios en pacientes con DCP
- Describir la clínica de la DCP en otorrinolaringología que nos permitan orientar el diagnóstico hacia la realización de pruebas más específicas
- Definir alteraciones ciliares específicas de la DCP que faciliten el diagnóstico de la enfermedad

Diseño

Descriptivo. Revisión del estado del arte.

Se realizó una búsqueda exhaustiva de la literatura relevante sobre discinesia ciliar primaria a través de bases de datos académicas (PubMed); revistas científicas, bibliografías de artículos y libros, herramientas de búsqueda en línea (Google Académico) y consulta a expertos, para identificar estudios científicos, revisiones sistemáticas, metaanálisis y otros documentos relevantes. La búsqueda se realizó con las siguientes palabras claves en inglés y español: estructura - ultraestructura ciliar, diagnóstico DCP (discinesia ciliar primaria), microscopía electrónica diagnóstico DCP, movilidad ciliar, guía clínica DCP, manejo DCP, ciliopatías. Se seleccionaron artículos que cumplieran una metodología sistematizada y se tomó en cuenta la relevancia del autor en la aportación al estudio de la DCP.

Criterios de inclusión: Estudios científicos, revisiones sistemáticas, metaanálisis sobre discinesia ciliar primaria, temas de libros.

Criterios de exclusión: en la selección se excluyeron casos clínicos.

III. DISCUSIÓN

Los cilios son proyecciones de la célula, que desempeñan diversas funciones en el organismo.¹ Los cilios móviles del epitelio respiratorio realizan un mecanismo coordinado llamado transporte mucociliar que ayuda en la defensa de la vía aérea.² Estos poseen una estructura compleja que consta de una porción motora o axonema, un cuerpo basal o cinetosoma y una membrana ciliar.^{1,2} La porción motora presenta una organización característica de “9+2” con 9 pares de microtúbulos periféricos (A y B) dispuestos alrededor de 2 microtúbulos centrales, envueltos por una membrana celular.¹ La tubulina es la principal proteína estructural de los microtúbulos, y las uniones entre las subunidades A y B contienen tektina que les aporta estabilidad.¹ Los brazos de dineína, presentes en los dobletes periféricos son los responsables del deslizamiento de los microtúbulos y en consecuencia del movimiento ciliar.^{1,5,10} Los puentes de nexina y los brazos radiales mantienen la estructura del cilio y permiten sus oscilaciones.¹

La DCP es un trastorno hereditario, autosómico recesivo muy raro cuya causa subyacente es una falta total de cilios aplasia ciliar, o una anomalía ciliar que, o bien impide su movilidad (síndrome del cilio inmóvil), o imposibilita una batida normal (discinesia ciliar)^{2,5,10}. Tanto la discinesia como la inmovilidad conducen a una ausencia de transporte mucociliar que, en el aparato respiratorio, provoca estasis de secreciones e infección crónica de las vías respiratorias altas y bajas⁵. El inicio de los síntomas ocurre en edades muy tempranas, antes de los 2 años de edad, y estos se mantienen durante todo el año sin una relación estacional, especialmente en aquellos casos donde predominan las infecciones respiratorias de repetición desde el periodo neonatal acompañadas de situs inversus, defectos congénitos y/o atelectasias.^{8,12,14} En el adulto las bronquiectasias, neumonías e infertilidad asociados a antecedentes relevantes para DCP en la historia clínica, puede orientarnos en el diagnóstico de esta patología^{10,11,12}. Los defectos de la lateralidad, el distress respiratorio neonatal no explicado por otras causas, la congestión nasal y la tos productiva de inicio precoz se consideran signos clínicos predictivos de DCP con una sensibilidad del 0.21 y especificidad del 0.99.^{8,12}

Su estudio diagnóstico se fundamenta tanto en el análisis de la frecuencia y la forma de la batida ciliar mediante video de alta resolución digital y alta velocidad (DHSV: digital high speed video), como en la ultraestructura ciliar, mediante microscopía electrónica de transmisión (ME) de las células del cilio respiratorio, que se obtienen del cepillado o curetaje de la mucosa nasal o bronquial.^{18,20} Los déficits de dineína son los defectos ciliares más comunes y afectan a la mayoría de los pacientes con DCP, aunque la ausencia de

alteraciones en la ME no excluye el diagnóstico de DCP^{2.10}

Por lo general, presentan una evolución crónica muy severa, con múltiples deficiencias orgánicas, y por lo tanto suelen presentar un alto nivel de complejidad clínica que dificultan su diagnóstico y reconocimiento. Aunque sean de origen genético el componente ambiental nunca puede ser excluido.

Para abordar la DCP es preciso un planteamiento interdisciplinar, con esfuerzos especiales que se dirijan a la reducción de la morbilidad, evitar la mortalidad prematura, disminuir el grado de discapacidad y mejorar la calidad de vida así como el potencial socioeconómico de las personas afectadas.

Por lo general, la investigación no sólo es escasa, sino que también está muy dispersa. Por último, la falta de políticas sanitarias específicas para la DCP y la escasez de experiencia generan retrasos en el diagnóstico y dificultades de acceso a la asistencia. Esto conduce a deficiencias físicas, psicológicas e intelectuales adicionales. En ocasiones, se observa cómo este retraso diagnóstico ha evitado un acertado consejo genético y se producen más de un caso en una misma familia.

IV. CONCLUSIONES

El estudio de la batida ciliar en un paciente con una clínica compatible con la DCP es un test de screening válido en la mayoría de los pacientes, aunque existen algunas mutaciones en las que la motilidad ciliar solo sufre cambios sutiles difíciles de identificar. La ultraestructura ciliar es diagnóstica cuando se aprecian los cambios ciliares típicos: defectos de brazos de dineína asociados o no a defectos del complejo central, aunque en un 30% de los pacientes no se aprecian cambios en el axonema ciliar.

Cuando se combinan estudio de morfología y función ciliar el rendimiento diagnóstico se incrementa.

V. BIBLIOGRAFÍA

1. libro de patología capitulo 5 pag 113 . La región apical y sus modificaciones. Kierszenbaum AL, Tres LL. Epitelio. En: Fernández MJ, editor. Histología y biología celular. Introducción a la anatomía patológica. 3.a ed. Barcelona: Elsevier España; 2012. p. 1- 58
2. Armengot Carceller, M., Mata Roig, M., Milara Payá, X., & Cortijo Gimeno, J. (2010). Discinesia ciliar primaria. Ciliopatías. *Acta otorrinolaringol. esp*, 149-159.
3. Hannah M Mitchison & Amelia Shoemark (2017) Motile cilia defects in diseases other than primary ciliary dyskinesia: The contemporary diagnostic and research role for transmission electron microscopy, *Ultrastructural Pathology*, 41:6, 415-427, DOI: 10.1080/01913123.2017.1370050
4. Wanner A. Clinical aspects of mucociliary transport. *The American Review of Respiratory Disease*. 1977 Jul;116(1):73-125. DOI: 10.1164/arrd.1977.116.1.73. PMID: 327882.
5. Armengot Carceller, M. Aportaciones al conocimiento del sistema de transporte mucociliar nasal humano. Facultad de medicina y odontología. Departamento de cirugía. Universidad de Valencia. Abril 1988.
6. Goutaki, M., & Shoemark, A. (2022). Diagnosis of Primary Ciliary Dyskinesia. *Clinics in chest medicine*, 43(1), 127–140. <https://doi.org/10.1016/j.ccm.2021.11.008>
7. Lucas, J. S., Chetcuti, P., Copeland, F., Hogg, C., Kenny, T., Moya, E., O'Callaghan, C., & Walker, W. T. (2014). Overcoming challenges in the management of primary ciliary dyskinesia: the UK model. *Paediatric respiratory reviews*, 15(2), 142–145. <https://doi.org/10.1016/j.prrv.2013.04.007>
8. Leigh MW, Ferkol TW, Davis SD, et al. Clinical features and associated likelihood of primary ciliary dyskinesia in children and adolescents. *Ann Am Thorac Soc* 2016; 13: 1305–13.
9. Knowles, M. R., Daniels, L. A., Davis, S. D., Zariwala, M. A., & Leigh, M. W. (2013). Primary ciliary dyskinesia. Recent advances in diagnostics, genetics, and characterization of clinical disease. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 188(8), 913–922. <https://doi.org/10.1164/rccm.201301-0059CI>
10. Tratado de pediatría Cruz, 11va edición capitulo 309. DCP. A, Escribano Montaner y M, Armengot Carceller. Editorial médica panamericana
11. Barbato A, Frischer T, Kuehni CE, et al. Primary ciliary dyskinesia: a consensus statement on diagnostic and treatment approaches in children. *Eur Respir J* 2009;34:1264-76

12. Lucas, J. S., Davis, S. D., Omran, H., & Shoemark, A. (2019). *Primary ciliary dyskinesia in the genomics age. The Lancet Respiratory Medicine*. doi:10.1016/s2213-2600(19)30374-1
13. Collis S.A, Gove K, Walker W, Lucas J. Nasal nitric oxide screening for primary ciliary dyskinesia: systematic review and meta-analysis. *Eur Respir J* 2014;44:1589-1599
14. Stillwell, P. C., Wartchow, E. P., & Sagel, S. D. (2011). Primary Ciliary Dyskinesia in Children: A Review for Pediatricians, Allergists, and Pediatric Pulmonologists. *Pediatric allergy, immunology, and pulmonology*, 24(4), 191–196. <https://doi.org/10.1089/ped.2011.0099>
15. Wallmeier, J., Nielsen, K. G., Kuehni, C. E., Lucas, J. S., Leigh, M. W., Zariwala, M. A., & Omran, H. (2020). Motile ciliopathies. *Nature reviews. Disease primers*, 6(1), 77. <https://doi.org/10.1038/s41572-020-0209-6>
16. A, Escribano, M, Armengot. Actualización, Discinesia ciliar primaria. *An Pediatr Contin*. 2013;11(1):38-45
17. Shapiro, A. J., Davis, S. D., Polineni, D., Manion, M., Rosenfeld, M., Dell, S. D., Chilvers, M. A., Ferkol, T. W., Zariwala, M. A., Sagel, S. D., Josephson, M., Morgan, L., Yilmaz, O., Olivier, K. N., Milla, C., Pittman, J. E., Daniels, M. L. A., Jones, M. H., Janahi, I. A., Ware, S. M., ... American Thoracic Society Assembly on Pediatrics (2018). Diagnosis of Primary Ciliary Dyskinesia. An Official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 197(12), e24–e39. <https://doi.org/10.1164/rccm.201805-0819ST>
18. B. Thomas, A. Rutman and C. O'Callaghan. Disrupted ciliated epithelium shows slower ciliary beat frequency and increased dyskinesia. *Eur Respir J* 2009; 34: 401–404
19. [Hirst RA](#), [Rutman A](#), [Williams G](#), [O'Callaghan C](#). Ciliated air-liquid cultures as an aid to diagnostic testing of primary ciliary dyskinesia. [Chest](#). 2010 Dec;138(6):1441-7.
20. Shoemark A, Boon M, Brochhausen C, 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 [<https://doi.org/10.1183/13993003.00725-2019>].
21. Adam J. Shapiro and Margaret W. Leigh. Value of transmission electron microscopy for primary ciliary dyskinesia diagnosis in the era of molecular medicine: Genetic defects with normal and non-diagnostic ciliary ultrastructure. *Ultrastructural pathology* 2017, 41(6), 373–385