

Revista de la Sociedad Otorrinolaringológica de Castilla y León, Cantabria y La Rioja

ISSN 2171-9381

Revista de Otorrinolaringología y disciplinas relacionadas dirigida a profesionales sanitarios.
Órgano de difusión de la Sociedad Otorrinolaringológica de Castilla y León, Cantabria y La Rioja
Periodicidad continuada
Edita: Sociedad Otorrinolaringológica de Castilla y León, Cantabria y La Rioja
Correspondencia: revistaorl@revistaorl.com
web: www.revistaorl.com

Artículo original

Diagnóstico mediante el estudio ultraestructural de la discinesia ciliar primaria

Diagnosis by ultrastructural study of primary ciliary dyskinesia

Pablo Melgarejo-Moreno*, Xavier Galindo-Ortego*, Fares Ghani, Montserrat Borrás-Perera*, Gerard Torres-Cortada**, Francisco Nicolás-Sánchez**
*Servicio ORL. **Servicio Medicina Interna. Hospital Santa María de Lleida. Lleida. España.
pmelgarejo3@gmail.com

Recibido: 10/12/2014

Aceptado: 24/12/2014

Publicado: 05/01/2015

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflictos de intereses

Imágenes: Los autores declaran haber obtenido las imágenes con el permiso de los pacientes

Referencia del artículo:

Melgarejo-Moreno P, Galindo-Ortego X, Ghani F, Borrás-Perera M, Torres-Cortada G, Nicolás-Sánchez F. Diagnóstico mediante el estudio ultraestructural de la discinesia ciliar primaria. Rev Soc Otorrinolaringol Castilla Leon Cantab La Rioja. 2015. 6 (2): 4-8

Resumen	Introducción y objetivo: La discinesia ciliar primaria (DCP), también conocida como síndrome de inmovilidad ciliar (SIC), es un trastorno hereditario, que incluye un grupo de enfermedades en las que los cilios respiratorios son inmóviles, el movimiento ciliar es discinético e ineficaz o no hay cilios. El objetivo de este estudio es determinar la ultraestructura ciliar en pacientes con sospecha de DCP. Método: En 8 pacientes con sospecha de DCP se realizó una biopsia de mucosa nasal mediante endoscopia a nivel del cornete inferior en su tercio medio por el Servicio de ORL bajo anestesia local. Resultados: En 2 casos no se encontraron defectos ultraestructurales a nivel ciliar. En dos casos junto a anomalías en la ultraestructura ciliar hay presente un síndrome de Kartagener. En un caso no se observaron cilios en la mucosa nasal. Discusión: La DCP y el SIC son términos sinónimos desde el punto de vista clínico y patogénico. La inmovilidad y la discinesia conducen a una ausencia de transporte mucociliar, estasis de las secreciones respiratorias y sus consecuencias, infecciones crónicas de vías respiratorias altas y bajas desde el nacimiento. El defecto ultraestructural más frecuente es la ausencia total o parcial de dineína. Conclusiones: El estudio ultraestructural permite el diagnóstico de la DCP dada la dificultad para el diagnóstico genético y por tanto, conseguir un diagnóstico temprano de esta patología lo cual sirve para mejorar la morbimortalidad de estos pacientes.
Palabras clave	Trastornos de la motilidad ciliar; microscopía electrónica; síndrome de Kartagener; sinusitis; bronquiectasia
Summary	Introduction and objective: Primary ciliary dyskinesia (PCD), also known as ciliary immotility (SIC) syndrome is an inherited disorder that includes a group of diseases in which respiratory cilia are immobile, ciliary movement is dyskinetic and ineffective or no cilia . The aim of this study is to determine the ciliary ultrastructure in patients with suspected DCP. Method: In 8 patients with suspected DCP nasal mucosa biopsy is performed with endoscopy at the inferior turbinate in the middle third by the ENT service under local anesthesia. Results: Of the 8 cases studied in 2 cases no ciliary ultrastructural level defects were found. In two cases with abnormal ciliary ultrastructure is present Kartagener syndrome. In a case no cilia were observed in the nasal mucosa. Discussion: The DCP and SIC are synonymous terms from clinical and pathogenetic view: immobility and dyskinesia lead to an absence of mucociliary transport, stasis of respiratory secretions with their consequences: chronic infections of lower respiratory tract and from birth . The most common ultrastructural defect is the total or partial absence of dynein. Conclusions: The ultrastructural study allows the diagnosis of PCD because genetic diagnosis is complicated and therefore get an early diagnosis of this condition which serves to improve the morbidity and mortality of these patients.
Keywords	Ciliary motility disorders; microscopy, Electron; Kartagener syndrome; sinusitis; Bronchiectasis

Introducción

Los cilios y flagelos son proyecciones de la célula, rodeadas por la membrana celular que ejercen diversas funciones biológicas. Están presentes en los protozoos, los animales y algunas plantas. En el organismo humano hay, al menos, 9 categorías de cilios u organelas derivadas con distintas características y funciones biológicas, aunque casi todas las células, en algún momento de su evolución, tienen estructuras ciliares que intervienen en la división celular [1-3].

La amplitud de la distribución y las funciones orgánicas del cilio hace que su

disfunción se relacione, además de con la discinesia ciliar primaria (DCP), con un amplio número de enfermedades. Son las conocidas actualmente como ciliopatías entre las que se incluyen [4-8]:

- Hidrocefalia congénita.
- Ceguera progresiva (retinitis pigmentosa).
- Hipoacusia neurosensorial (síndrome de Usher).
- Retraso mental.
- Insuficiencia renal crónica (riñón poliquístico y nefronoptosis).
- Polidactilia.
- Síndrome de Bardet Bield: obesidad, hipogenitalismo, debilidad mental, defectos craneales, retinitis pigmentosa, sindactilia.
- Complejas enfermedades congénitas cardíacas, especialmente desórdenes de la lateralidad.
- Atresia biliar.
- Atresia esofágica, reflujo severo.

Sin embargo, la DCP es el síndrome clínico más frecuente y con mayor repercusión relacionado con la disfunción ciliar. La DCP, también conocida como síndrome de inmovilidad ciliar (SIC), es un trastorno hereditario, autosómico recesivo, que afecta aproximadamente a 1/10.000–60.000 personas [9]. Incluye un grupo de enfermedades en las que los cilios respiratorios son inmóviles (SIC), el movimiento ciliar es discinético e ineficaz (DCP) o no hay cilios (aplasia ciliar); este último supuesto es de una extrema rareza [9-12].

Material y método

Ocho pacientes con sospecha de DCP vistos entre enero de 2010 y junio de 2014 fueron incluidos en nuestro estudio. Para ello, en el Servicio de ORL, se realizó biopsia con endoscopia bajo anestesia local de la mucosa nasal a nivel del tercio medio del cornete inferior. Salvo en los casos con evidencia clínica clara en que había situs inversus y sintomatología respiratoria concomitantes, antes de proceder a estudios ciliares específicos se descartaron otras causas de infección crónica respiratoria, fundamentalmente la fibrosis quística, la alergia respiratoria y los déficit inmunitarios.

El diagnóstico definitivo se basó en el estudio de la motilidad y la ultraestructura ciliares, necesarios para confirmar la enfermedad. En el estudio de la ultraestructura ciliar, la biopsia de la mucosa nasal se sumergió en glutaraldehído y se procesó para su estudio con microscopía electrónica de transmisión. Se examinaron cortes transversales de cilios y se analizaron los distintos componentes del axonema.

La valoración de una posible alteración se realizó siempre por el mismo personal del Servicio. Se analizaron entre 10 y 100 cortes transversales por paciente. Se consideró ausencia de dineína cuando el número medio de brazos de dineína contados era menor de 2 por corte transversal. En los déficit parciales de dineína se consideró: a) ausencia de brazos internos de dineína cuando esta media fue $<0,6$ por corte transversal y $<1,6$ referido a los brazos externos; b) pocos brazos de dineína externos o internos si la media fue <7 y 3 , respectivamente, y c) brazos cortos de dineína significaban una corta proyección de ellos en comparación con los cilios normales. La orientación

ciliar determinada por la disposición de los túbulos centrales fue normal si la variación era menor de 28° . Alteraciones del patrón 9+2 se consideraron significativas si afectaban a más del 30% de los axonemas ciliares.

Resultados

De los 8 casos estudiados, en dos no se encontraron defectos ultraestructurales a nivel ciliar. En dos casos junto a anomalías en la ultraestructura ciliar había presente síndrome de Kartagener; en estos dos casos presentaban la ausencia de un brazo externo de dineína en un caso y de dos brazos de dineína en otro caso (figura 1).

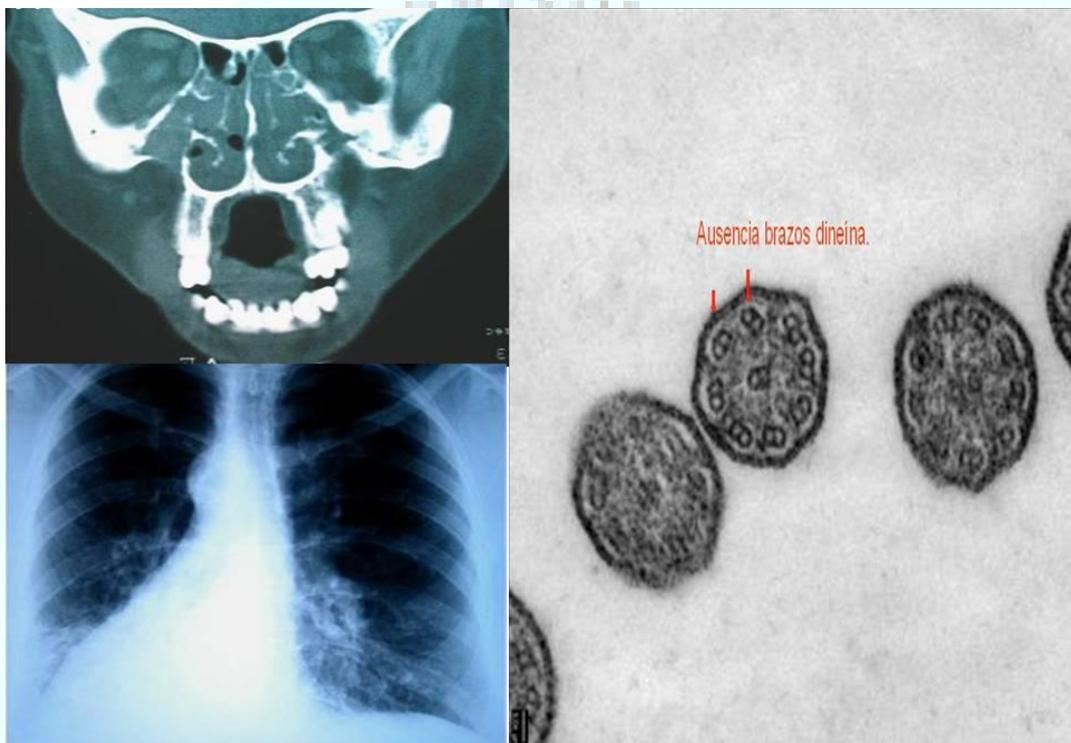


Figura 1. Paciente con síndrome de Kartagener con TC nasosinusal donde se aprecia una sinopatía bilateral crónica, dextrocardia en radiografía de tórax y estudio mediante microscopia electrónica de transmisión con corte transversal de un cilio con ausencia de brazos de dineína en dos dobletes.

En otros 3 casos sin síndrome de Kartagener se apreció una ausencia del brazo externo de dineína, en dos casos solo en un doblete y en un caso se observó en 3 dobletes (figura 2).

En un caso no se observaron cilios en la mucosa nasal en todas las muestras estudiadas lo que sugería un caso de aplasia ciliar primaria, ya que sí se observaron los cuerpos ciliares basales (figura3).



Figura 2. Imagen de microscopia electrónica de transmisión con pérdida de brazo de dineína en 3 dobletes de microtúbulos.

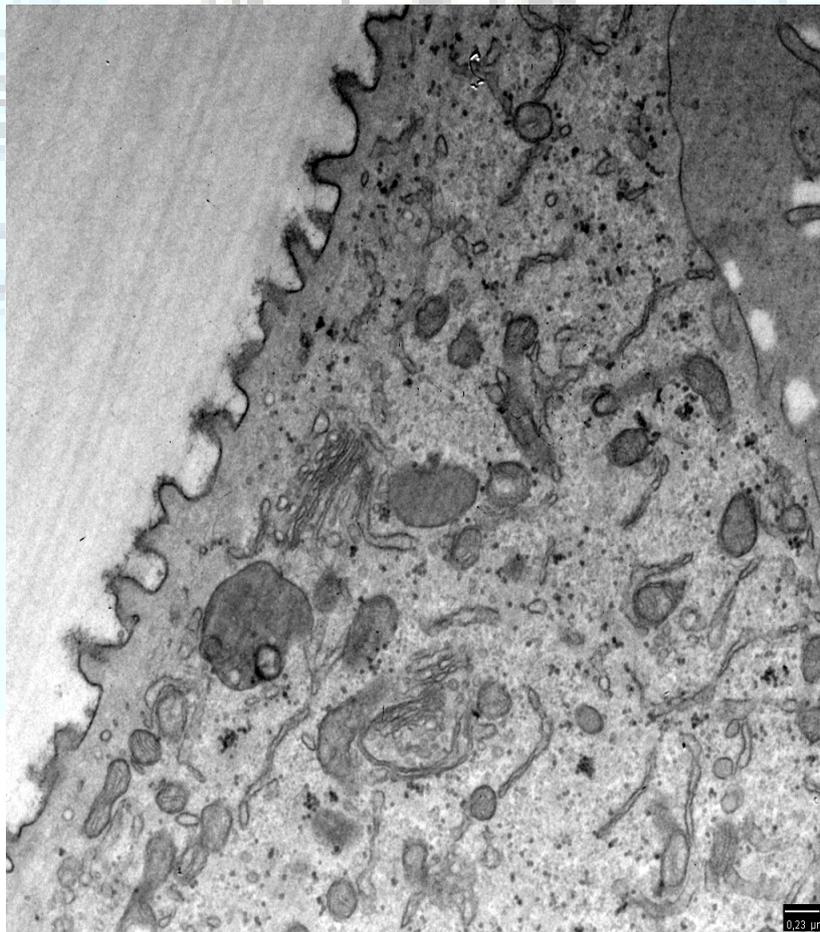


Figura 3. Paciente con aplasia ciliar primaria en esta imagen de microscopia electrónica de transmisión con ausencia de cilios a nivel de la membrana celular tampoco se aprecian los cuerpos ciliares.

Discusión

En el cilio respiratorio la parte que emerge de la superficie celular, conocida como axonema, tiene la clásica estructura de "9+2": 9 pares de microtúbulos periféricos que rodean a un par central. Cada doblete de túbulos periféricos tiene dos brazos de dineína (externo e interno) que contienen la proteína motriz del cilio. Los brazos de dineína son los causales de que los microtúbulos se deslicen unos sobre otros y el cilio se mueva. También están las uniones de nexina, que mantienen el cilio intacto durante la batida. Los túbulos centrales están rodeados de una vaina central que se une a los dobletes periféricos mediante los brazos radiales y que actúan como el esqueleto que salvaguarda la estructura del cilio [13].

Junto a este patrón ciliar, encontramos también cilios en el organismo con estructura "9+0", es decir sin el par de microtúbulos centrales. La mayoría de ellos, exceptuando los cilios nodales del embrión, son inmóviles y sus funciones no son bien conocidas, aunque en muchas células tienen una función sensorial [14,15].

El cilio interviene en el desarrollo embrionario, la polaridad de muchas células, el mantenimiento de la homeostasis, en funciones sensoriales (oído, vista, olfato), transportadoras y en la división celular. Esta amplia variedad de funciones implica una gran complejidad morfológica y genética. La función transportadora imprime movilidad a la propia célula, como es el caso del espermatozoide, o a los materiales situados sobre la superficie celular, como es el caso de las células ciliadas del aparato respiratorio, las transportadoras de moco, o las células de las trompas de Falopio, transportadoras del óvulo, o las transportadoras del líquido cefalorraquídeo en los ventrículos cerebrales. Las funciones sensoriales visuales y homeostáticas se fundamentan en otra propiedad de los cilios: la proteína de transporte intraflagelar presente en éstos genera un movimiento de moléculas y proteínas en dirección anterógrada y retrógrada, con relación a la célula, capaz de mantenerlas. Además, pueden actuar como mecano y quimiorreceptores, como acontece en los cilios del oído interno y en los olfatorreceptores, respectivamente [16-19].

La DCP y el SIC son términos sinónimos desde el punto de vista clínico y patogénico: la inmovilidad y la discinesia conducen a una ausencia de transporte mucociliar, estasis de las secreciones respiratorias con sus consecuencias: infecciones crónicas de vías respiratorias altas y bajas desde el nacimiento. El trastorno de la movilidad también afecta al flagelo del espermatozoide y a los cilios de la trompa de Falopio, en estos casos es común la esterilidad en los varones y una fertilidad reducida en las mujeres [20-22].

La ineficacia de los cilios nodales embrionarios hace que la asimetría de los órganos internos se disponga al azar, por lo que aproximadamente el 50% de estos pacientes tienen un situs inversus total. Durante muchos años se ha conocido como síndrome de Kartagener la asociación de sinusitis, bronquiectasias y situs inversus. Sin embargo, las bronquiectasias no aparecen en el nacimiento y se desarrollan posteriormente como consecuencia de la infección crónica, por lo que actualmente este síndrome queda definido por la coexistencia de DCP y situs inversus, con una prevalencia de 1/20.000–40.000 individuos [23-25].

Aunque su presentación clínica es bastante homogénea (tos productiva crónica, rinorrea y rinitis crónica desde el nacimiento, sinusitis crónica, agenesia de senos frontales y situs inversus en el 50% de los pacientes), su morfología es muy heterogénea. El defecto ultraestructural más frecuente es la ausencia total o parcial de dineína, pero hay casos con una estructura ciliar normal. Además, hay multitud de defectos ciliares adquiridos por la acción de gérmenes o tóxicos (discinesia ciliar secundaria [DCS]) que se debe discriminar de los congénitos. La gran cantidad de polipéptidos implicados en la constitución del cilio implica también un gran número de genes determinantes en su función, dificultando el también heterogéneo diagnóstico genético [26-28].

Conclusiones

El estudio ultraestructural permite el diagnóstico de la DCP dada la dificultad para el diagnóstico genético y por tanto, conseguir un diagnóstico temprano de esta patología lo cual sirve para mejorar la morbimortalidad de estos pacientes. Además, el especialista ORL sería el profesional más indicado para la toma de muestras por su conocimiento de la anatomía de la cavidad nasal.

Agradecimientos

A Xavier Calomarde responsable de la unidad de Microscopía electrónica de la Facultat de Medicina de Lleida por su inestimable ayuda.

Bibliografía

1. Afzelius BA. Cilia related diseases. *J Pathol.* 2004;204:470-7.
2. Fligauf M, Benzing T, Omran H. When cilia go bad: cilia defects and ciliopathies. *Molecular Cell Biology.* 2007;8:880-93.
3. Eley L, Yates L, Goodship A. Cilia and disease. *Current Opinion in Genetics and Development.* 2005;15:308-14.
4. Armengot Carcellera M, Mata Roigb M, Milara Paya X, Cortijo Gimeno J. Discinesia ciliar primaria. Ciliopatías. *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2010;61(2):149-59.
5. Iannaccone A, Breuer D, Wang X. Clinical and immunohistochemical evidence for an X linked retinitis pigmentosa syndrome with recurrent infections and hearing loss in association with an RPGR mutation. *J Med Genet.* 2003;40:118-26.
6. Eley L, Yates L, Goodship J. Cilia and diseases. *Current Opinion in Genetics and Development.* 2005;15:308-14.
7. Ong ACM, Wheatley DN. Polycystic kidney disease: the ciliary connection. *Lancet.* 2003;361:774-6.
8. Badano JL, Mitsuma N, Beales PL. The ciliopathies: an emerging class of human genetic disorders. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2006;7:125-48.
9. Melgarejo Moreno, P; Galindo Ortego, X; Marques Amat, L; Torres Cortada, G; Hellín Meseger, D; García González, B; Alteración ciliar con ausencia

- de los brazos de dineina en el síndrome de Kartagener. *Acta Otorrinolaringol Esp.* 2004;55:145-7.
10. Ibáñez-Tallon I, Zariwala M, Knowles M. To beat or not to beat: roles of cilia in development and disease. *Hum Mol Genet.* 2003;12:R27-35.
 11. Bush A, Chodhari R, Collins N, Copeland F, Hall P, Harcourt J, et-al. Primary ciliary dyskinesia: current state of the art. *Arch Dis Child.* 2007;92:1136-40.
 12. Afzelius BA, Stenram U. Prevalence and genetics of immotile-cilia syndrome and left-handedness. *Int J Dev Biol.* 2006;50:571.
 13. Carlen B, Stenram U. Primary ciliary dyskinesia: a review. *Ultrastruct Pathol.* 2005;29:217-20.
 14. Carda C, Armengot M, Escribano A, Peydro A. Ultrastructural patterns of primary ciliary dyskinesia syndrome. *Ultrastruct Pathol.* 2005;29:3-8.
 15. Rossman C, Lee R, Forrest J, Newhose M. Nasal ciliary ultrastructure and function in patients with Primary ciliary dyskinesia compared with that in normal subjects and in subjects with various respiratory diseases. *Am Rev Respir Dis.* 1984;129:161-7.
 16. Greenstone MA, Jones RWA, Dewar A, Neville BG, Cole PJ. Hydrocephalus and primary ciliary dyskinesia. *Arch Dis Child.* 1984;59:481.
 17. Jonsson MS, McCormick JR, Gillies CG, Gondos B. Kartagener's syndrome with motile spermatozoa. *N Engl J Med.* 1982;307:1131.
 18. Armengot M, Carda C, Basterra J. Axonema ciliar incompleto. ¿Otra causa de síndrome de inmovilidad ciliar?. *Acta Otorrinolaringol Esp.* 1998;49:57-9.
 19. Corbelli R, Bringolf-Isler B, Amacher A, Sasse B, Spycher M, Hammer J.. Nasal nitric oxide measurements to screen children for primary ciliary dyskinesia. *Chest.* 2004;126:1054.
 20. O'Callaghan C, Chilvers M, How C, Bush A, Lucas J. Diagnosing primary ciliary dyskinesia. *Thorax.* 2007;62:656-7.
 21. Chilvers MA, Rutman A, O'Callaghan C. Ciliary beat pattern is associated with specific ultrastructural defects in primary ciliary dyskinesia. *J Allergy Clin Immunol.* 2003;112:518-24.
 22. Jorissen M, Willems T, Van der Schueren B, Verbeken E, De Boeck K.. Ultrastructural expression of primary ciliary dyskinesia after ciliogenesis in culture. *Acta Otorhinolaryngol Belg.* 2000;54:343.
 23. Armengot Carceller M, Carda Batalla C, Escribano A, Samper GJ. Study of mucociliary transport and nasal ciliary ultrastructure in patients with Kartagener's syndrome. *Arch Bronconeumol.* 2005;41:11-5.
 24. Noone P, Leigh M, Sannuti A, Minnix SL, Carson JL, Hazucha M, et-al. Primary ciliary dyskinesia: diagnostic and phenotypic features. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;169:459-67.
 25. Homma S, Kawabata M, Kishi K, Tsuboi E, Narui K, Nakatani, et-al. Bronchiolitis in Kartagener's syndrome. *Eur Respir J.* 1999;14:1332.
 26. Geremek M, Uit M. Primary ciliary dyskinesia: genes, candidate genes and chromosomal regions. *J Appl Genet.* 2004;45:347-61.
 27. Morillas H, Zariwala M, Knowles M. Genetic causes of bronchiectasis: Primary ciliary dyskinesia. *Respiration.* 2007;74:252-63.
 28. Storm van's Gravesande K, Omran H. Primary ciliary dyskinesia: Clinical presentation, diagnosis and genetics. *Annals of Medicine.* 2005;37:439-49.