

# Archivos de Bronconeumologia

## Implementación de un panel de genes para el diagnóstico genético de la discinesia ciliar primaria

--Borrador del manuscrito--

<b>Número del manuscrito:</b>	ARBR-D-20-00024
<b>Tipo de artículo:</b>	Original
<b>Palabras clave:</b>	discinesia ciliar primaria; secuenciación masiva; panel de genes; videomicroscopía óptica de alta velocidad; microscopía electrónica.
<b>Autor correspondiente:</b>	Antonio Moreno Galdó, MD, PhD Hospital Universitario Vall d'Hebron. Universitat Autònoma de Barcelona Barcelona, SPAIN
<b>Primer autor:</b>	Noelia Baz-Redón
<b>Orden de autores:</b>	Noelia Baz-Redón Sandra Rovira-Amigo Ida Paramonov Silvia Castillo-Corullón Maria Cols Roig María Antolín Elena García Arumí Alba Torrent-Vernetta Inés de Mir Messa Silvia Gartner Ignacio Iglesias Serrano M. Araceli Caballero-Rabasco Óscar Asensio de la Cruz Gerardo Vizmanos-Lamotte Carlos Martín de Vicente María del Mar Martínez-Cols Ana Reula Amparo Escribano Francisco Dasí Miguel Armengot-Carceller Eva Polverino Esther Amengual Pieras Rosanel Amaro-Rodríguez Marta Garrido-Pontnou Eduardo Tizzano Núria Camats-Tarruella Mónica Fernández-Cancio Antonio Moreno Galdó, MD, PhD
<b>Resumen:</b>	Introducción. La discinesia ciliar primaria (DCP) es una enfermedad caracterizada por

	<p>una alteración en la estructura ciliar que impide el correcto aclaramiento de las secreciones respiratorias. Su diagnóstico es complejo y se basa en una combinación de técnicas. El objetivo de este estudio fue diseñar un panel de genes incluyendo todos los genes causantes conocidos, y comprobar su utilidad diagnóstica en una cohorte de pacientes españoles.</p> <p>Métodos. Estudio transversal multicéntrico de pacientes con sospecha elevada de DCP, aplicando los criterios de la European Respiratory Society . Diseño de un panel de genes para secuenciación masiva con la tecnología de captura SeqCap EZ technology , incluyendo 44 genes relacionados con la DCP.</p> <p>Resultados. Se incluyeron 79 pacientes de los que 53 presentaron un diagnóstico de DCP confirmado o muy probable. En 81,1% (43/53) de los pacientes con DCP se encontraron variantes candidatas en alguno de los genes del panel, siendo 51,2% (22/43) homocigotos y 48,8% (21/43) heterocigotos compuestos. Los genes causales más frecuentes fueron DNAH5 y CCDC39 , en pacientes de origen caucásico, mientras que en los de origen no caucásico los genes causales más frecuentes fueron CCDC40 , DNAI2 y RSPH4A . Encontramos 52 variantes distintas, 36 no descritas previamente en la literatura.</p> <p>Conclusiones. Los resultados de este estudio muestran que el diseño e implementación de un panel de genes a medida tiene un alto rendimiento diagnóstico genético de la DCP, lo que permite conocer mejor la afectación causal de estos pacientes y sentar las bases para futuros abordajes terapéuticos.</p>
<p><b>Revisores sugeridos:</b></p>	<p>Rosario Menendez Villanueva Hospital Universitari i Politecnic La Fe rosmenend@gmail.com Experta en infecciones respiratorias y bronquiectasias</p> <p>M<sup>a</sup> Isabel Barrio Gómez de Agüero Hospital Universitario La Paz Hospital Infantil mbbarrio@gmail.com Experta en patología respiratoria pediátrica</p> <p>Valle Velasco González Hospital Universitario Nuestra Señora de la Candelaria valle-velasco@hotmail.com Experta en Neumología Pediátrica</p>
<p><b>Revisores a los que se opone:</b></p>	

**Apreciada Dra. Esther Barreiro**

**Editora Jefe de Archivos de Bronconeumología**

Le remitimos el artículo titulado **“Implementación de un panel de genes para el diagnóstico genético de la discinesia ciliar primaria”** para su consideración para ser publicado en la sección de Originales de la revista Archivos de Bronconeumología.

El diagnóstico de discinesia ciliar primaria, una enfermedad minoritaria de origen genético, es complejo y se basa en una combinación de pruebas solo disponibles en centros especializados. Para mejorar la eficacia diagnóstica hemos diseñado un estudio en el que hemos valorado la utilidad de un panel de genes mediante tecnología de secuenciación masiva en el diagnóstico de estos pacientes.

Para ello, hemos realizado un estudio transversal multicéntrico en pacientes con sospecha clínica elevada de discinesia ciliar primaria. Los hemos clasificado como enfermedad confirmada, o muy probable y como enfermedad muy improbable, en base a los criterios de la *European Respiratory Society*, mediante la revaloración de la historia clínica, la determinación del óxido nítrico nasal y el estudio mediante videomicroscopía óptica de alta velocidad y microscopio electrónico. En esta población hemos aplicado un panel de secuenciación masiva incluyendo todos los genes conocidos hasta el momento de su diseño.

Incluimos 79 pacientes de los que 53 presentaron un diagnóstico de discinesia ciliar primaria confirmado o muy probable. En 81,1% (43/53) de los pacientes con discinesia ciliar primaria se encontraron variantes candidatas en alguno de los genes del panel, con 51,2% (22/43) de homocigotos y 48,8% (21/43) de heterocigotos compuestos. Los genes causales más frecuentes fueron *DNAH5* y *CCDC39*, en pacientes de origen caucásico, mientras que en los pacientes de origen no caucásico los genes causales más frecuentes fueron *CCDC40*, *DNAI2* y *RSPH4A*. Hemos encontrado 52 variantes distintas, de las que 36 no estaban descritas previamente en la literatura.

En este trabajo presentamos la utilidad de un panel de genes para conseguir un diagnóstico de certeza en un elevado porcentaje de pacientes con discinesia ciliar primaria y caracterizamos los genes más frecuentes en nuestro medio. Creemos que este enfoque puede ayudar a disminuir las incertezas que el complejo diagnóstico de esta enfermedad plantea en los médicos y en los pacientes.

Ninguna parte de este manuscrito ha sido publicada previamente en ninguna revista. Todos los autores están de acuerdo con el contenido del mismo y ceden en caso de ser aceptado los derechos de publicación a SEPAR.

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés relacionado directa o indirectamente con los contenidos del manuscrito.

Este trabajo ha sido financiado con una ayuda de Acción Estratégica en Salud del Instituto de Salud Carlos III (PI16/01233), una beca de la Sociedad Española de Neumología Pediátrica y una beca de la Fundació Catalana de Pneumologia (FUCAP).

Todos los autores han hecho contribuciones sustanciales en cada uno de los siguientes aspectos: (1) la concepción y el diseño del estudio, o la adquisición de datos, o el análisis y la interpretación de los datos, (2) el borrador del artículo o la revisión crítica del contenido intelectual, (3) la aprobación definitiva de la versión que se presenta.

(1) AMG tuvo la idea del estudio, obtuvo la financiación para su realización y asume la responsabilidad de la integridad del estudio y los datos. AMG, MFC, y NCT diseñaron el estudio. NBR, SRA realizaron las técnicas de videomicroscopía y la introducción de datos. SRA realizó las recogidas de muestras nasales y las mediciones de óxido nítrico nasal. MFC, NCT, EGA, MA realizaron el diseño del panel de genes. IP realizó el análisis bioinformático de los estudios genéticos. MFC, NCT, EGA, MA, ET, realizaron la interpretación de los estudios genéticos. MGP realizó la interpretación de algunos de los estudios de microscopía electrónica.

SRA, AMG, SCC, MCR, ATV, IMM, SG , II, MACR, OAC, GVL, CMV, MMMC, AE, FD, MAC, EP, EAP, RAR, remitieron a los pacientes para estudio y recogieron los datos clínicos y diagnósticos de las historias clínicas.

AMG, MFC, NCT, NBR y SRA realizaron la interpretación diagnóstica de los casos. AMG realizó el análisis de datos.

(2) NBR, SRA, AMG, NCT y MFC redactaron el borrador del artículo. Todos los autores participaron en la revisión crítica de su contenido.

(3) Todos los autores han aprobado la versión definitiva del manuscrito que se presenta.

Esperamos que este manuscrito sea de su interés para ser evaluado para su publicación en Archivos de Bronconeumología.

Atentamente,

Dr. Antonio Moreno Galdó

Sección de Alergia Pediátrica, Neumología Pediátrica y Fibrosis quística

Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona

## Implementación de un panel de genes para el diagnóstico genético de la discinesia ciliar primaria

Noelia Baz-Redón<sup>1,2\*</sup>, Sandra Rovira-Amigo<sup>1,2,3\*</sup>, Ida Paramonov<sup>1,4</sup>, Silvia Castillo-Corullón<sup>5</sup>, Maria Cols Roig<sup>6</sup>, , María Antolín<sup>1,4</sup>, Elena García Arumí<sup>1,4,7</sup>, , Alba Torrent-Vernetta<sup>1,2,3</sup>, Inés de Mir Messa<sup>1,3</sup>, Silvia Gartner<sup>1,3</sup>, Ignacio Iglesias<sup>1,3</sup>, M. Araceli Caballero-Rabasco<sup>8</sup>, Óscar Asensio de la Cruz<sup>9</sup>, Gerardo Vizmanos-Lamotte<sup>10</sup>, Carlos Martín de Vicente<sup>11</sup>, María del Mar Martínez-Colls<sup>12</sup>, Ana Reula<sup>13</sup>, Amparo Escribano<sup>5,15</sup>, Francisco Dasí<sup>14,15</sup>, Miguel Armengot-Carceller<sup>13,16,17</sup>, Eva Polverino<sup>1,18</sup>, Esther Amengual Pieras<sup>19</sup>, Rosanel Amaro-Rodríguez<sup>20</sup>, Marta Garrido-Pontnou<sup>21</sup>, Eduardo Tizzano<sup>1,4</sup>, Núria Camats-Tarruella<sup>1,7‡</sup>, Mónica Fernández-Cancio<sup>1,7‡</sup>, Antonio Moreno-Galdó<sup>1,2,3,7‡</sup>

<sup>1</sup>Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR), Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona

<sup>2</sup>Departamento de Pediatría, Obstetricia, Ginecología, Medicina Preventiva y Salud Pública, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona

<sup>3</sup>Sección de Alergología Pediátrica, Neumología Pediátrica y Fibrosis Quística, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona

<sup>4</sup>Área de Genética Clínica y Molecular, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona

<sup>5</sup>Unidad de Neumología Pediátrica. Hospital Clínico Universitario de Valencia, Universidad de Valencia, Valencia.

<sup>6</sup>Sección de Neumología infantil y Unidad de Fibrosis quística. Hospital Sant Joan de Déu. Barcelona

<sup>7</sup>CIBER de Enfermedades raras, CIBERER, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid

<sup>8</sup>Unidad de Neumología Pediátrica, Hospital del Mar, Barcelona

<sup>9</sup>Unidad de Neumología Pediátrica, Hospital Parc Taulí de Sabadell

<sup>10</sup>Unidad de Neumología Pediátrica, Andorra

<sup>11</sup>Unidad de Neumología Pediátrica, Hospital Miguel Servet, Zaragoza

<sup>12</sup>Unidad de Neumología Pediátrica, Hospital Germans Trias i Pujol, Badalona

<sup>13</sup>Grupo de Biomedicina Molecular, Celular y Genómica, IIS La Fe. Universidad de Valencia, Valencia

<sup>14</sup>Departamento de Fisiología, Universidad de Valencia, Valencia

<sup>15</sup>UCIM, Instituto de Investigación Sanitaria INCLIVA, Valencia

<sup>16</sup>Servicio de Otorrinolaringología, Hospital Universitario y Politécnico La Fe.

<sup>17</sup>CIBER de Enfermedades Respiratorias, CIBERES, Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid

<sup>18</sup>Servicio de Neumología, Hospital Universitario Vall d'Hebron, Barcelona

<sup>19</sup>Hospital de Son Llätzer, Palma de Mallorca

<sup>20</sup>Servicio de Neumología. Hospital Clínic, Barcelona

<sup>21</sup>Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona

\*Estos autores deben considerarse primer autor de forma conjunta.

‡Estos autores deben considerarse autores seniors de forma conjunta.

Autor de correspondencia:

Antonio Moreno-Galdó,

Sección de Neumología Pediátrica y Fibrosis quística

Hospital Universitari Vall d'Hebron,

Pg. Vall d'Hebron 119-129, 08035 Barcelona, España

Tel.: +34 934893171

Fax: +34 934 893 171

E-mail: [amoreno@vhebron.net](mailto:amoreno@vhebron.net)

**Recuento de palabras:** 2989

**Financiación:** El presente trabajo ha sido financiado por una ayuda de Acción Estratégica en Salud del Instituto de Salud Carlos III (PI16/01233), una beca de la Sociedad Española de Neumología Pediátrica y una beca de la Fundació Catalana de Pneumologia (FUCAP).

## **Agradecimientos**

Los autores participan en la COST Action BM1407 *Translational research in primary ciliary dyskinesia: bench, bedside, and population perspectives* (BEAT PCD). NCT recibió una ayuda para una *Short term Scientific Mission* de la COST Action BM1407. Este trabajo se ha realizado en el marco del programa de doctorado de Pediatría, Obstetricia y Ginecología de la Universitat Autònoma de Barcelona.

## **Conflictos de intereses**

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés relacionado directa o indirectamente con los contenidos del manuscrito.

# Implementación de un panel de genes para el diagnóstico genético de la discinesia ciliar primaria

## Resumen

Introducción. La discinesia ciliar primaria (DCP) es una enfermedad caracterizada por una alteración en la estructura ciliar que impide el correcto aclaramiento de las secreciones respiratorias. Su diagnóstico es complejo y se basa en una combinación de técnicas. El objetivo de este estudio fue diseñar un panel de genes incluyendo todos los genes causantes conocidos, y comprobar su utilidad diagnóstica en una cohorte de pacientes españoles.

Métodos. Estudio transversal multicéntrico de pacientes con sospecha elevada de DCP, aplicando los criterios de la *European Respiratory Society*. Diseño de un panel de genes para secuenciación masiva con la tecnología de captura *SeqCap EZ technology*, incluyendo 44 genes relacionados con la DCP.

Resultados. Se incluyeron 79 pacientes de los que 53 presentaron un diagnóstico de DCP confirmado o muy probable. En 81,1% (43/53) de los pacientes con DCP se encontraron variantes candidatas en alguno de los genes del panel, siendo 51,2% (22/43) homocigotos y 48,8% (21/43) heterocigotos compuestos. Los genes causales más frecuentes fueron *DNAH5* y *CCDC39*, en pacientes de origen caucásico, mientras que en los de origen no caucásico los genes causales más frecuentes fueron *CCDC40*, *DNAI2* y *RSPH4A*. Encontramos 52 variantes distintas, 36 no descritas previamente en la literatura.

Conclusiones. Los resultados de este estudio muestran que el diseño e implementación de un panel de genes a medida tiene un alto rendimiento diagnóstico genético de la DCP, lo que permite conocer mejor la afectación causal de estos pacientes y sentar las bases para futuros abordajes terapéuticos.

**Palabras claves:** Discinesia ciliar primaria, secuenciación masiva, panel de genes, videomicroscopía óptica de alta velocidad, microscopía electrónica.

## Introducción

La discinesia ciliar primaria (DCP) es una enfermedad rara (1/15.000 recién nacidos) caracterizada por una alteración en la estructura y función ciliar que impide el correcto aclaramiento de las secreciones respiratorias<sup>1,2</sup>. Sus manifestaciones clínicas incluyen tos productiva, rinitis crónica, otitis de repetición, bronquitis recurrentes, bronquiectasias<sup>3</sup>, infertilidad masculina, subfertilidad femenina y *situs inversus* (50%)<sup>1,2</sup> o heterotaxia (6-12%)<sup>4,5</sup>.

Aunque los síntomas son característicos, algunos de ellos son similares a los de otras enfermedades respiratorias, de manera que, el diagnóstico de DCP es complicado de realizar y se basa en una combinación de diferentes pruebas. La *European Respiratory Society* (ERS)<sup>6</sup> y la *American Thoracic Society* (ATS)<sup>7</sup> han realizado recomendaciones diagnósticas con enfoques y algoritmos diferentes. Así, un valor disminuido (<33 nl/min<sup>6</sup> o <77 nl/min<sup>7</sup>) de óxido nítrico nasal (NO<sub>n</sub>), se considera en las recomendaciones de la ERS una prueba de cribado mientras que la ATS estima que puede ser diagnóstico, siempre que se mida con un aparato de quimioluminiscencia en pacientes de 5 años o más y se haya descartado la fibrosis quística<sup>7</sup>.

La videomicroscopía de alta velocidad (HSVM, *high speed video-microscopy*), que analiza la frecuencia y el patrón del batido ciliar, tiene una alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico, aunque su interpretación tiene un componente de subjetividad y se puede ver alterada por las infecciones respiratorias<sup>8</sup>. La ERS la considera una técnica cuyo resultado alterado es altamente sospechoso del diagnóstico de DCP<sup>6</sup>, pero la ATS no la incluye en su algoritmo más que como una prueba de ayuda<sup>7</sup>. El estudio de las proteínas ciliares por inmunofluorescencia es una técnica prometedora<sup>9,10</sup> aunque no se incluye todavía en las recomendaciones diagnósticas<sup>6-7</sup>.

Actualmente, la presencia de alteraciones en el estudio con microscopía electrónica (ME) (defectos de brazos externos, defectos de brazos externos e internos, defectos de brazos internos con desorganización microtubular y ausencia del par central) y el hallazgo de variantes patogénicas en el estudio genético se consideran indicadores confirmatorios de DCP<sup>6,7</sup>. Mientras que la ME es una técnica compleja y da lugar a numerosos falsos positivos y negativos<sup>6</sup>, la realización de estudios genéticos mediante secuenciación masiva está permitiendo realizar nuevas aproximaciones con mayor rentabilidad diagnóstica.

La DCP es una enfermedad causada por variantes en distintos genes que codifican proteínas del axonema ciliar. La mayoría de genes asociados a DCP son autosómicos con herencia recesiva, a excepción de *PIH1D3* descrito recientemente y ligado al cromosoma X<sup>11</sup>, y dos genes que causan DCP sindrómica: *RPGR*, ligada al cromosoma X, cuyas mutaciones dan lugar a DCP y retinitis

1 pigmentaria<sup>12</sup>, y *OFD1* cuyas mutaciones causan DCP y discapacidad intelectual<sup>13</sup>. Actualmente,  
2 se han descrito algo más de 40 genes asociados a DCP que permiten definir el diagnóstico  
3 molecular de aproximadamente 70% de los pacientes<sup>14,15</sup>.  
4

5 El objetivo de este estudio es el diseño de un panel de secuenciación masiva que incluya todos  
6 los genes causantes de DCP conocidos hasta el momento, y comprobar su utilidad diagnóstica  
7 en una cohorte de pacientes con sospecha clínica de DCP.  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

## Métodos

### *Pacientes*

Se ha realizado un estudio transversal multicéntrico de una cohorte de pacientes remitidos a los centros diagnósticos de DCP del Hospital Universitari Vall d'Hebron (Barcelona) y del grupo de DCP de Valencia para su valoración por tener una historia clínica sugestiva de DCP.

El proyecto fue aprobado por el Comité de Ética de los hospitales participantes y se solicitó para su inclusión la autorización de los padres o tutores legales para los niños menores de 12 años, de los padres o tutores y del paciente cuando su edad era entre 12 y 18 años, y de los mayores de 18 años.

Se incluyeron pacientes procedentes del Hospital Vall d'Hebron (n=40), grupo de DCP de Valencia (n=14), Hospital Sant Joan de Déu (Esplugues, Barcelona) (n=14), Hospital Miguel Servet (Zaragoza) (n=4), Hospital del Mar (Barcelona) (n=2), Hospital Parc Taulí (Sabadell, Barcelona) (n=1), Hospital Germans Trias i Pujol (Badalona, Barcelona) (n=1), Hospital Clínic (Barcelona) (n=1), y Hospital Son Llàtzer (Palma de Mallorca) (n=1).

Se siguieron las recomendaciones de la ERS<sup>6</sup> para clasificar a los pacientes como DCP confirmada (historia sugestiva, alteraciones diagnósticas en el estudio con ME) o muy probable (historia sugestiva, NO<sub>n</sub> bajo, alteraciones en la HSV<sub>M</sub>), y como DCP muy improbable, en base a la valoración de los datos clínicos y escala PICADAR<sup>16</sup>, NO<sub>n</sub>, HSV<sub>M</sub> y/o ME.

La determinación de óxido nítrico nasal (NO<sub>n</sub>) se realizó usando un analizador de óxido nítrico por quimioluminiscencia (*CLD 88sp NO-analyser, ECO MEDICS AG, Duerten, Switzerland*). La frecuencia y el patrón de batido ciliar se analizaron con una cámara de grabación de alta velocidad (*MotionPro® X4, IDT, CA, EE.UU.*) acoplada a un microscopio óptico.

Algunos datos de los pacientes 14 y 15 (**tabla 1S y 2S**) se han publicado previamente<sup>10</sup>.

### *Secuenciación masiva y análisis de datos*

Se extrajo DNA de sangre periférica mediante extracción automática magnética (*Chemagic, Perkin-Elmer, Waltham, MA, USA*) o extracción manual utilizando el kit *Quick-DNA™ Midiprep Plus Kit (Zymo Research, Irvine, CA, USA)*. Se determinó la concentración de DNA con el reactivo "Qubit dsDNA BR Assay Kit" en el fluorímetro Qubit 2.0.

Para realizar el estudio genético se diseñó un panel que permite la secuenciación de exones y regiones intrónicas adyacentes (+/- 20 pb) a partir de la tecnología de captura *SeqCap EZ (Roche*

*Nimblegen*, Pleasanton, CA, USA). En este panel se incluyeron 44 genes relacionados con la DCP, según lo descrito en la literatura en el momento del diseño (**tabla 1**).

La captura de las regiones de interés se llevó a cabo de acuerdo al protocolo comercial [*SeqCap EZ (Roche Nimblegen, Pleasanton, CA, USA)*], con una fragmentación enzimática de 21 minutos. La secuenciación de la librería se realizó mediante un secuenciador masivo de última generación MiSeq (*Illumina, San Diego, CA, USA*). El proceso de análisis de los datos incluyó el recorte de las secuencias con *Trimmomatic*<sup>17</sup>, el alineamiento de las secuencias con el genoma humano de referencia GRCh (hg38) usando *BWA-MEM*<sup>18</sup>, la detección de variantes con *Genome Analysis Toolkit (GATK) Haplotype Caller*<sup>19</sup> y la anotación de las variantes con ANNOVAR<sup>20</sup>. Las variantes con una cobertura inferior a 20 no se tuvieron en cuenta en el análisis. La lista de las variantes identificadas se comparó con la información de bases de datos específicas para identificar variantes ya descritas en asociación a un fenotipo conocido (HGMD, ClinVar) y bases de datos de frecuencias poblacionales (GnomAD, ExAC, 1000 genomes) para descartar aquellas variantes que están presentes en la población general por encima del 1%. En paralelo, el análisis de datos también se realizó usando VariantStudio v2.2.1 (*Illumina*). Se evaluó la patogenicidad de las variantes utilizando el software Alamut v2.11, que incluye *Mutation Taster, Polyphen, Aling GVDG* y *SIFT*, y Varsome (<https://varsome.com/>), que incluye DANN, GERP y *MutationTaster*. Para mutaciones identificadas en regiones de *splicing* el efecto de las mismas se evaluó mediante *SpliceSiteFinder, MaxEntScan, NNSPLICE, GeneSplicer* y *Human Splicing Finder*, incluidos también en Alamut v2.11. Los datos de secuenciación masiva se reanalizaron bioinformáticamente utilizando el programa *ExomeDepth*<sup>21</sup> para detectar variaciones en el número de copias (*copy number variation, CNVs*). La nomenclatura y clasificación de las variantes está basada en las guías de la *Human Genome Variation Society* (HGVS) (<https://www.hgvs.org/>)<sup>22</sup> y del *American College of Medical Genetics and Genomics* (ACMG) (<https://www.acmg.net/>)<sup>23</sup>.

Las variantes potencialmente patogénicas se confirmaron en los pacientes mediante secuenciación Sanger y, cuando fue posible, se analizó la cosegregación familiar.

#### *Análisis estadístico*

Para la descripción de las variables se han utilizado el porcentaje, mediana y rango y media y desviación estándar (DS). Para la comparación entre los pacientes adultos y niños se ha utilizado la prueba de chi-cuadrado, considerándose estadísticamente significativo un valor de  $p < 0,05$ . Los análisis se han realizado con el paquete estadístico MedCalc Statistical Software version 19.1.3 (MedCalc Software bvba, Ostend, Bélgica).

## Resultados

En el periodo comprendido entre enero de 2017 y noviembre de 2019 se estudiaron 79 pacientes, pertenecientes a 74 familias distintas (74 casos índice), y 39 familiares. De los 79 pacientes, 26 se clasificaron como DCP muy improbable y en todos ellos el estudio genético fue negativo.

De los 53 pacientes con diagnóstico de DCP confirmado o muy probable, 35 (66,0%) eran pediátricos (edad mediana 10 años; rango 1-17 años) y 18 adultos (edad mediana 23 años; rango 18 – 42 años). Cuarenta y tres pacientes (81,1%) eran de origen caucásico, 4 (7,5%) de origen marroquí, 4 (7,5%) de origen paquistaní, uno de Oriente Medio y otro de origen latinoamericano. Diez pacientes (18,9%) tenían una historia familiar de consanguinidad (**tabla 2 y tabla 1S**). Las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron la tos crónica (94,2%) y la rinitis crónica (90,2%). Un 50% tuvieron antecedentes de distrés neonatal y el 32,7% presentaban *situs inversus*. La frecuencia de bronquiectasias fue superior en los pacientes adultos (94,1%) que en los pediátricos (51,4%),  $p = 0,004$  (**tabla 2 y tabla 1S**). El valor de la escala PICADAR fue igual o superior a 5 en 31 pacientes (65,9%). El NO<sub>n</sub> se pudo determinar en 35 casos, con un valor medio de 25,9 (DS 29,1) nl/min. En 25 el valor fue inferior a 33 nl/min y en sólo 2 fue superior a 77 nl/min (**tabla 1S**). Los hallazgos de la HSVM y el ME se recogen en la **tabla 1S**. En 12/15 casos la alteración encontrada en el ME se consideró diagnóstica. La HSVM fue muy sugestiva de DCP en 52 pacientes (no disponible en el paciente 3), siendo las alteraciones encontradas: patrón estático (n=18), patrón estático con movimiento residual (n=12), patrón rígido desorganizado (n=8), patrón hiperquinético (n=5), patrón rotatorio (n=6), disquinesia (n=2), disminución movimiento distal (n=1).

Las muestras de DNA se secuenciaron usando nuestro panel de genes, que ha cubierto el 98,75% de los exones y zonas intrónicas flanqueantes de los 44 genes incluidos (**tabla 1**). La cobertura media de los resultados fue de 600x con un 80,7% de *reads on target*.

En 81,1% (43/53) de los pacientes con DCP se encontraron variantes candidatas en alguno de los genes del panel, siendo 22 (51,2%) homocigotos y 21 (48,8%) heterocigotos compuestos. En 18,9% (10/53) de los pacientes no se encontró ninguna variante que pudiera explicar el fenotipo (**tabla 2S**).

Se han encontrado 52 variantes distintas (1 en *ARMC4*, 1 en *CCDC114*, 1 en *CCDC151*, 8 en *CCDC39*, 3 en *CCDC40*, 14 en *DNAH5*, 2 en *DNAH9*, 8 en *DNAH11*, 4 en *DNAI2*, 1 en *RPGR*, 3 en *RSPH1*, 1 en *RSPH4A*, 1 en *RSPH9*, 2 en *SPAG1* y 2 en *TTC25*), 16 de las cuales habían sido

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

previamente descritas asociadas a DCP y 36 no estaban descritas previamente en la literatura. De las 52 variantes encontradas, 14 (26,9%) fueron variantes *frameshift*, 14 (26,9%) *nonsense*, 13 (25%) de *splicing*, 9 (17,3%) *missense* y 3 (3,9%) CNVs. Un 51,9% (27/52) se clasificaron como patogénicas (incluyendo las 3 CNVs), un 23,1% (12/52) como probablemente patogénicas y un 26,9% (14/52) como variantes de significado incierto (VUS), según la clasificación del ACMG (**tabla 2S**).

Dieciocho pacientes presentaron variantes en genes relacionados con proteínas estructurales de los brazos externos de dineína [*DNAH5* (n=9), *DNAH11* (n=4), *DNAI2* (n=4), *DNAH9* (n=1)], y 5 con el *docking complex* de los brazos externos de dineína [*TTC25* (n=2), *ARMC4* (n=1), *CCDC114* (n=1), *CCDC151* (n=1)]; 8 mostraron variantes en genes que codifican proteínas de los brazos radiales [*RSPH1* (n=5), *RSPH4A* (n=2), *RSPH9* (n=1)]; en 10 se detectaron variantes en genes que codifican proteínas del complejo regulador del axonema [*CCDC39* (n=7), *CCDC40* (n=3)]; un paciente presentó variantes en *SPAG1*, que codifica una proteína probablemente relacionada con el transporte o ensamblaje citoplasmático de los complejos de dineína; y uno en *RPGR*, gen asociado a retinitis pigmentaria (**figura 1, tabla 2S**). Las variantes en los tres genes más frecuentes (*DNAH5*, *CCDC39* y *RSPH1*), se presentaron solo en los pacientes de origen caucásico.

Se han analizado con el panel de genes 37 familiares de 22 familias distintas. Todos los padres analizados (18 familias distintas) eran portadores de alguna de las variantes encontradas en sus hijos. Se analizaron los DNAs procedentes de los abuelos maternos y la abuela materna del paciente 23 y se determinó que la variante c.12507+1G>C es de origen paterno y la c.13412\_13415dupAAAC de origen materno. (**tabla 2S**).

## Discusión

1  
2  
3  
4  
5  
6  
7  
8  
9  
10  
11  
12  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

En una cohorte de 53 pacientes con DCP confirmada o muy probable, utilizando un panel de 44 genes mediante secuencia masiva, se obtuvieron resultados genéticos positivos en el 79,2% de los pacientes, pudiendo describir por lo tanto en ellos el gen causante del defecto de la estructura ciliar. En otros 26 pacientes, remitidos por clínica respiratoria sospechosa, pero con diagnóstico de DCP muy improbable tras realizar las pruebas previas, el estudio genético fue negativo. Este es el primer estudio, en nuestro conocimiento, en describir los genes causantes de discinesia ciliar en una cohorte amplia de pacientes en España.

El panel de genes aplicado tuvo un buen rendimiento, comparable con los descritos por otros autores utilizando secuenciación NGS aplicada a paneles de genes<sup>6,14,24-27</sup>, que obtuvieron entre 70% y 80% de resultados positivos.

El diagnóstico de la DCP es complejo con las técnicas disponibles hasta ahora, lo que genera en los médicos y pacientes muchas incertezas diagnósticas y dudas acerca del pronóstico y evolución de su enfermedad. El estudio genético permite obtener un diagnóstico de certeza lo que ayuda a orientar de forma más adecuada el tratamiento de los pacientes, y a poder realizar un consejo genético y sentar las bases para la investigación de tratamientos específicos como podrían ser la terapia génica o terapias proteicas<sup>15</sup>.

La secuenciación masiva con el panel de genes permite el estudio de variantes puntuales y de delecciones o inserciones pequeñas (indels) y las variantes en número de copia (CNVs) de los genes descritos hasta el momento como causantes de DCP. Con esta técnica, una proporción de pacientes con DCP confirmada o muy probable, 21,2% en nuestra serie, quedan sin diagnóstico genético. En ellos el análisis del exoma completo podría ayudar a encontrar nuevos genes causantes de DCP.

La mayoría de las variantes descritas en nuestros pacientes (96,1%) causaron la pérdida de función proteica (*nonsense*, *frameshift*, CNVs y *splicing*), resultados similares a los descritos en otros estudios<sup>23</sup>. En 9 (17,3%) encontramos variantes *missense* de cambio de un único aminoácido y se catalogaron como VUS según la clasificación ACMG<sup>23</sup>, a excepción de la variante c.2T>G/p.Met1Arg (paciente 13) que afectaba al primer aminoácido y se clasificó como potencialmente patogénica (**Tabla 2S**). Estas variantes *missense* se tuvieron en cuenta como causa posible de alteración proteica según las predicciones *in silico*. Idealmente, estos defectos *missense* se deberían comprobar *in vitro* mediante cultivos de células de epitelio respiratorio nasal del paciente o modelos animales.

1 Dado el elevado número de variantes que se pueden encontrar con la secuenciación masiva,  
2 muchas de ellas benignas, es fundamental para interpretar de forma correcta los resultados  
3 relacionar las variantes encontradas con los hallazgos del ME y la HSVM. En nuestra serie, hubo  
4 una buena relación entre la ultraestructura y los hallazgos genéticos en sólo 6 casos, dadas las  
5 dificultades de interpretación de la ME y las posibilidades de alteraciones por infecciones  
6 respiratorias o por artefactos de procesamiento<sup>10,28</sup> mientras que el estudio con HSVM, mostró  
7 una buena relación con los hallazgos genéticos en todos los casos.  
8  
9

10 Los pacientes 13 y 19, que tenían inicialmente una única variante en heterocigosis en los genes  
11 *CCDC40* y *DNAH5* respectivamente, se pudieron resolver a partir del análisis bioinformático de  
12 CNVs, así como la paciente XX. En los pacientes 13 y 19 se describieron deleciones en el otro  
13 alelo que concordaba, además, con el estudio de segregación familiar, siendo la madre de la  
14 paciente 13 y el padre del paciente 19 los portadores de estas deleciones (**Tabla 2S**). En la  
15 paciente XX se ha detectado una deleción en homocigosis en el gen *DNAH5*. El análisis  
16 bioinformático de CNVs es una herramienta útil para resolver algunos casos, sobre todo en  
17 aquellos con variantes monoalélicas en un gen candidato que cuadre con el fenotipo.  
18  
19

20 Cabe destacar que todos los casos de consanguinidad de nuestra cohorte tuvieron resultado  
21 molecular positivo y fueron homocigotos para las variantes encontradas, todas ellas clasificadas  
22 como patogénicas o potencialmente patogénicas (**Tabla 2S**).  
23  
24

25 La distribución de genes causantes de PCD puede ser diferente dependiendo del origen étnico<sup>26</sup>.  
26 En nuestra serie *DNAH5* y *CCDC39* han sido los genes de mayor incidencia, y los dos se  
27 encontraron solo en los pacientes de origen caucásico (**Tabla 3**). *DNAH5* se ha descrito como el  
28 gen más frecuente en estudios en población caucásica, explicando el 15-37% de los casos<sup>22-24</sup> y  
29 poco frecuente en otras poblaciones como la árabe<sup>26,27</sup>. El gen *CCDC39* se ha descrito  
30 previamente en pacientes de origen europeo<sup>29</sup> y es uno de los genes que predomina en  
31 población de origen árabe<sup>26,27</sup>.  
32  
33

34 Las limitaciones de nuestro estudio están relacionadas principalmente con el número de  
35 pacientes estudiados, que aunque significativo para una enfermedad rara hay que ampliar para  
36 conocer mejor la frecuencia de las diferentes variantes en nuestra población, tanto en los de  
37 origen caucásico, como no caucásico. La secuenciación masiva no permite detectar todas las  
38 deleciones/duplicaciones en los genes, lo que se ha solventado a través del análisis  
39 bioinformático con el análisis de CNVs, aunque éste es solo una aproximación, y es conveniente  
40 confirmarlas con otros métodos. Otras limitaciones son las inherentes al estudio con un panel  
41 de genes, ya que no se analiza todo el exoma, ni todo el genoma. Sin embargo, ello facilita la  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

1 interpretación de los resultados, ya que en el análisis del exoma completo o del genoma pueden  
2 aparecer un número muy elevado de variantes sin significado patológico en población sana.  
3 Además en los paneles de genes, la cobertura de estos está optimizada respecto al estudio del  
4 exoma. Aunque el panel de genes diseñado a medida ha permitido conocer el defecto específico  
5 de los pacientes diagnosticados molecularmente, dado que cada año se describen nuevos genes  
6 de DCP<sup>30-32</sup>, es necesario una ampliación de este panel con los genes descubiertos hasta la fecha.  
7  
8  
9

10 En conclusión, los resultados de este estudio muestran la utilidad del diseño e implementación  
11 del análisis genético mediante paneles de genes a medida que representa una herramienta de  
12 utilidad para conseguir un mejor diagnóstico de la DCP.  
13  
14  
15  
16  
17  
18  
19  
20  
21  
22  
23  
24  
25  
26  
27  
28  
29  
30  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

## Bibliografía

1. Lucas JS, Burgess A, Mitchison HM, Moya E, Williamson M, Hogg C. Diagnosis and management of primary ciliary dyskinesia. *Arch Dis Child*. 2014;99:850-6, <http://dx.doi.org/10.1136/archdischild2013-304831>.
2. Reula A, Lucas J, Moreno-Galdó A, Romero T, Milara X, Carda C, et al. New insights in Primary Ciliary Dyskinesia. *Expert Opin Orphan Drugs*. 2017;5:537-48, <http://dx.doi.org/10.1080/21678707.2017.1324780>.
3. Martínez-García MA, Máiz L, Oliveira C, Girón RM, de la Rosa D, Blanco M, et al. Spanish guidelines on the evaluation and diagnosis of bronchiectasis in adults. *Arch Bronconeumol*. 2018;54:79–87, <http://dx.doi.org/10.1016/j.arbres.2017.07.015>.
4. Brueckner M. Heterotaxia, Congenital Heart Disease, and Primary Ciliary Dyskinesia. *Circulation*. 2007;115:2793–5, <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.699256>.
5. Kennedy MP, Omran H, Leigh MW, Dell S, Morgan L, Molina PL, et al. Congenital Heart Disease and Other Heterotaxic Defects in a Large Cohort of Patients With Primary Ciliary Dyskinesia. *Circulation*. 2007;115:2814–21, <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.649038>.
6. Lucas JS, Barbato A, Collins SA, Goutaki M, Behan L, Caudri D, et al. European Respiratory Society guidelines for the diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J*. 2017;49 (1), <http://dx.doi.org/10.1183/13993003.01090-2016>.
7. Shapiro AJ, Davis SD, Polineni D, Manion M, Rosenfeld M, Dell SD, et al. American Thoracic Society Diagnosis of Primary Ciliary Dyskinesia An official American Thoracic Society Clinical Practice Guideline. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018;197:e24–39, <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.201805-0819ST>.
8. Rubbo B, Shoemark A, Jackson CL, Hirst R, Thompson J, Hayes J, et al.; National PCD Service, UK. Accuracy of High-Speed Video Analysis to Diagnose Primary Ciliary Dyskinesia. *Chest*. 2019 May;155(5):1008-1017. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chest.2019.01.036>.
9. Shoemark A, Frost E, Dixon M, Ollosson S, Kilpin K, Patel M, et al. Accuracy of immunofluorescence in the diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017;196:94–101, <http://dx.doi.org/10.1164/rccm.201607-1351OC>.
10. Baz-Redón N, Rovira-Amigo S, Camats-Tarruella N, Fernández-Cancio M, Garrido-Pontnou M, Antolín M, et al. Role of Immunofluorescence and Molecular Diagnosis in the Characterization of Primary Ciliary Dyskinesia. *Arch Bronconeumol*. 2019;55:439-41, <http://dx.doi.org/10.1016/j.arbres.2019.01.021>.
11. Olcese C, Patel MP, Shoemark A, Kiviluoto S, Legendre M, Williams HJ, et al. X-linked primary ciliary dyskinesia due to mutations in the cytoplasmic axonemal dynein assembly factor PIH1D3. *Nat Commun*. 2017;8:14279, <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms14279>.
12. Moore A, Escudier E, Roger G, Tamalet A, Pelosse B, Marlin S, et al. RPGR is mutated in patients with a complex X linked phenotype combining primary ciliary dyskinesia and retinitis pigmentosa. *J Med Genet*. 2006;43:326–33, <http://dx.doi.org/10.1136/jmg.2005.034868>.
13. Budny B, Chen W, Omran H, Fliegauf M, Tzschach A, Wisniewska M, et al. A novel X-linked recessive mental retardation syndrome comprising macrocephaly and ciliary dysfunction is allelic to oral – facial – digital type I syndrome. *Hum Genet*. 2006;120:171–8, <http://dx.doi.org/10.1007/s00439-006-0210-5>.
14. Horani A, Ferkol TW, Dutcher SK, Brody SL. Genetics and Biology of Primary Ciliary Dyskinesia. *Pediatr Respir Rev*. 2016;18:18–24, <http://dx.doi.org/10.1016/j.prrv.2015.09.001>.

15. Lucas JS, Davis SD, Omran H, Shoemark A. Primary ciliary dyskinesia in the genomics age. *Lancet Respir Med*. 2019. pii: S2213-2600(19)30374-1, [http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600\(19\)30374-1](http://dx.doi.org/10.1016/S2213-2600(19)30374-1).
16. Behan L, Dimitrov BD, Kuehni CE, Hogg C, Carroll M, Evans HJ, et al. PICADAR : a diagnostic predictive tool for primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J*. 2016;47:1103–12, <http://dx.doi.org/10.1183/13993003.01551-2015>.
17. Bolger AM, Lohse M, Usadel B. Genome analysis Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics*. 2014;30:2114–20, <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btu170>.
18. Li H. Aligning sequence reads , clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM arXiv:1303.3997v2 [q-bio.GN] 2013;00:1–3.
19. Mckenna A, Hanna M, Banks E, Sivachenko A, Cibulskis K, Kernytsky A, et al. The Genome Analysis Toolkit : A MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Res*. 2010:1297–303, <http://dx.doi.org/10.1101/gr.107524.110>.
20. Wang K, Li M, Hakonarson H. ANNOVAR : functional annotation of genetic variants from high-throughput sequencing data. *Nucleic Acids Res*. 2010;38:e164, <http://dx.doi.org/10.1093/nar/gkq603>.
21. Plagnol V, Curtis J, Epstein M, Mok KY, Stebbings E, Grigoriadou S, et al. A robust model for read count data in exome sequencing experiments and implications for copy number variant calling. *Bioinformatics*. 2012;28:2747–54, <http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/bts526>.
22. Dunnen JT Den, Dagleish R, Maglott DR, Hart RK, Greenblatt MS, McGowan-jordan J, et al. HGVS Recommendations for the Description of Sequence Variants : 2016 Update. *Hum Mutat*. 2016;37:564–9, <http://dx.doi.org/10.1002/humu.22981>.
23. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S. ACMG Standards and Guidelines Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants : a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17:405–24, <http://dx.doi.org/10.1038/gim.2015.30>.
24. Djakow J, Kramn L, Dusátková L, Uhlík J, Pursiheimo J-P, Svobodová T, et al. An Effective Combination of Sanger and Next Generation Sequencing in Diagnostics of Primary Ciliary Dyskinesia. *Pediatr Pulmonol*. 2016;509:498–509, <http://dx.doi.org/10.1002/ppul.23261>.
25. Boaretto F, Snijders D, Salvaro C, Spalletta A, Mostacciuolo ML, Collura M, et al. Diagnosis of Primary Ciliary Dyskinesia by a Targeted Next-Generation Sequencing Panel Molecular and Clinical Findings in Italian Patients. *J Mol Diagn* 2016;18:912–22, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jmoldx.2016.07.002>.
26. Fassad MR, Patel MP, Shoemark A, Cullup T, Hayward J, Dixon M, et al. Clinical utility of NGS diagnosis and disease stratification in a multiethnic primary ciliary dyskinesia cohort. *J Med Genet*. 2019 D. pii:jmedgenet-2019-106501, <http://dx.doi.org/10.1136/jmedgenet-2019-106501>.
27. Fassad MR, Shoman WI, Morsy H, Patel MP, Radwan N, Jenkins L, et al. Clinical and genetic spectrum in 33 Egyptian families with suspected primary ciliary dyskinesia. *Clin Genet*. 2019. <http://dx.doi.org/10.1111/cge.13661>.
28. Shapiro AJ, Leigh MW. 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. *Ultrastruct Pathol*. 2017;41:373–85, <http://dx.doi.org/10.1080/01913123.2017.1362088>.

1 29. Antony D, Becker-Heck A, Zariwala MA, Schmidts M, Onoufriadis A, Forouhan M, et al.  
2 Mutations in CCDC39 and CCDC40 are the major cause of primary ciliary dyskinesia with  
3 axonemal disorganization and absent inner dynein arms. Hum Mutat. 2013;34:462-72,  
4 <http://dx.doi.org/10.1002/humu.22261>.

5 30. Höben IM, Hjeij R, Olbrich H, Dougherty GW, Nöthe-Menchen T, Aprea I, et al. Mutations in  
6 C11orf70 Cause Primary Ciliary Dyskinesia with Randomization of Left/Right Body Asymmetry  
7 Due to Defects of Outer and Inner Dynein Arms. Am J Hum Genet. 2018 May 3;102(5):973-984.  
8 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.03.025>.

9 31. Cindrić S, Dougherty GW, Olbrich H, Hjeij R, Loges NT, Amirav I, Philipsen MC, Marthin JK,  
10 Nielsen KG, Sutharsan S, Raidt J, Werner C, Pennekamp P, Dworniczak B, Omran H. SPEF2- and  
11 HYDIN-mutant Cilia Lack the Central Pair Associated Protein SPEF2 Aiding PCD Diagnostics. Am J  
12 Respir Cell Mol Biol. 2019 Sep 23. <http://dx.doi.org/10.1165/rcmb.2019-0086OC>.

13 32. Wallmeier J, Frank D, Shoemark A, Nöthe-Menchen T, Cindric S, Olbrich H, et al. De Novo  
14 Mutations in FOXJ1 Result in a Motile Ciliopathy with Hydrocephalus and Randomization of  
15 Left/Right Body Asymmetry. Am J Hum Genet. 2019 Nov 7;105(5):1030-1039.  
16 <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2019.09.022>.

## 27 Pies de figura

28 **Fig. 1: Diagrama transversal de un cilio indicando sus componentes estructurales y los genes**  
29 **en los que se han encontrado variantes.** Brazos externos-DC: *docking complex* de los brazos  
30 externos de dineína; N-DRC: nexina-complejo regulador de la dineína.  
31  
32  
33  
34  
35  
36  
37  
38  
39  
40  
41  
42  
43  
44  
45  
46  
47  
48  
49  
50  
51  
52  
53  
54  
55  
56  
57  
58  
59  
60  
61  
62  
63  
64  
65

**Tabla 1. Listado de genes incluidos en el panel para estudio de la discinesia ciliar primaria**

Nombre Gen	ID Gen	ID Tránsito	ID Proteína	Número de exones
<i>ARMC4</i>	NG_042820.1	NM_018076.3	NP_060546.2	29
<i>C21orf59/CFAP298</i>	NG_033839.2	NM_021254.2	NP_067077.1	7
<i>CCDC11/CFAP53</i>	NG_042815.1	NM_145020.3	NP_659457.2	8
<i>CCDC39</i>	NG_029581.1	NM_181426.1	NP_852091.1	20
<i>CCDC40</i>	NG_029761.1	NM_017950.3	NP_060420.2	26
<i>CCDC65</i>	NG_033837.1	NM_033124.4	NP_149115.2	8
<i>CCDC103</i>	NG_032792.1	NM_213607.2	NP_998772.1	4
<i>CCDC114</i>	NG_033251.1	NM_144577.3	NP_653178.3	19
<i>CCDC151</i>	NG_041777.1	NM_145045.4	NP_659482.3	14
<i>CCDC164/DRC1</i>	NG_042824.1	NM_145038.3	NP_659475.2	17
<i>CCNO</i>	NG_034201.1	NM_021147.4	NP_066970.3	3
<i>DNAAF1</i>	NG_021174.1	NM_178452.4	NP_848547.4	15
<i>DNAAF2</i>	NG_013070.1	NM_018139.2	NP_060609.2	3
<i>DNAAF3</i>	NG_032759.1	NM_001256714.1	NP_001243643.1	12
<i>DNAAF5</i>	NG_033137.1	NM_017802.3	NP_060272.3	13
<i>DNAH1</i>	NG_052911.1	NM_015512.4	NP_056327.4	81
<i>DNAH5</i>	NG_013081.1	NM_001369.2	NP_001360.1	86
<i>DNAH6</i>	NG_050957.1	NM_001370.1	NP_001361.1	81
<i>DNAH7</i>	NC_000002.12	NM_018897.2		69
<i>DNAH8</i>	NG_041805.1	NM_001206927.1	NP_001193856.1	97
<i>DNAH9</i>	NG_047047.1	NM_001372.3	NP_001363.2	73
<i>DNAH11</i>	NG_012886.2	NM_001277115.1	NP_001264044.1	82
<i>DNAI1</i>	NG_008127.1	NM_012144.3	NP_036276.1	24
<i>DNAI2</i>	NG_016865.1	NM_023036.4	NP_075462.3	17
<i>DNAL1</i>	NG_028083.1	NM_031427.3	NP_113615.2	10
<i>DNALI1</i>	NC_000001.11	NM_003462.3	NP_003453.3	6
<i>DYX1C1/DNAAF4</i>	NG_021213.1	NM_130810.3	NP_570722.2	11
<i>EPB41L4A</i>	NG_052950.1	NM_022140.3	NP_071423.4	26
<i>GAS8</i>	NG_046598.1	NM_001481.2	NP_001472.1	15
<i>HYDIN</i>	NG_033116.2	NM_001270974.1	NP_001257903.1	92
<i>LRR6</i>	NG_033068.1	NM_012472.4	NP_036604.2	17
<i>MCIDAS</i>	NG_051620.1	NM_001190787.1	NP_001177716.1	7
<i>MNS1</i>	NC_000015.10	NM_018365.2	NP_060835.1	10
<i>NME8</i>	NG_015893.1	NM_016616.4	NP_057700.3	18
<i>OFD1</i>	NG_008872.1	NM_003611.2	NP_003602.1	27
<i>RPGR</i>	NG_009553.1	NM_000328.2	NP_000319.1	18
<i>RSPH1</i>	NG_034257.1	NM_080860.3	NP_543136.1	9
<i>RSPH3</i>	NG_051819.1	NM_031924.4	NP_114130.3	11
<i>RSPH4A</i>	NG_012934.1	NM_001010892.2	NP_001010892.1	7
<i>RSPH9</i>	NG_023436.1	NM_152732.4	NP_689945.2	7
<i>SPAG1</i>	NG_033834.1	NM_172218.2	NP_757367.1	21
<i>TEKT1</i>	NC_000017.11	NM_053285.1	NP_444515.1	8
<i>TTC25</i>	NG_053115.1	NM_031421.3	NP_113609.1	13
<i>ZMYND10</i>	NG_042828.1	NM_015896.2	NP_056980.2	12

ID: identificación. Los datos de ID se han obtenido de la base de datos ncbi (*National Center for Biotechnology Information*, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>).

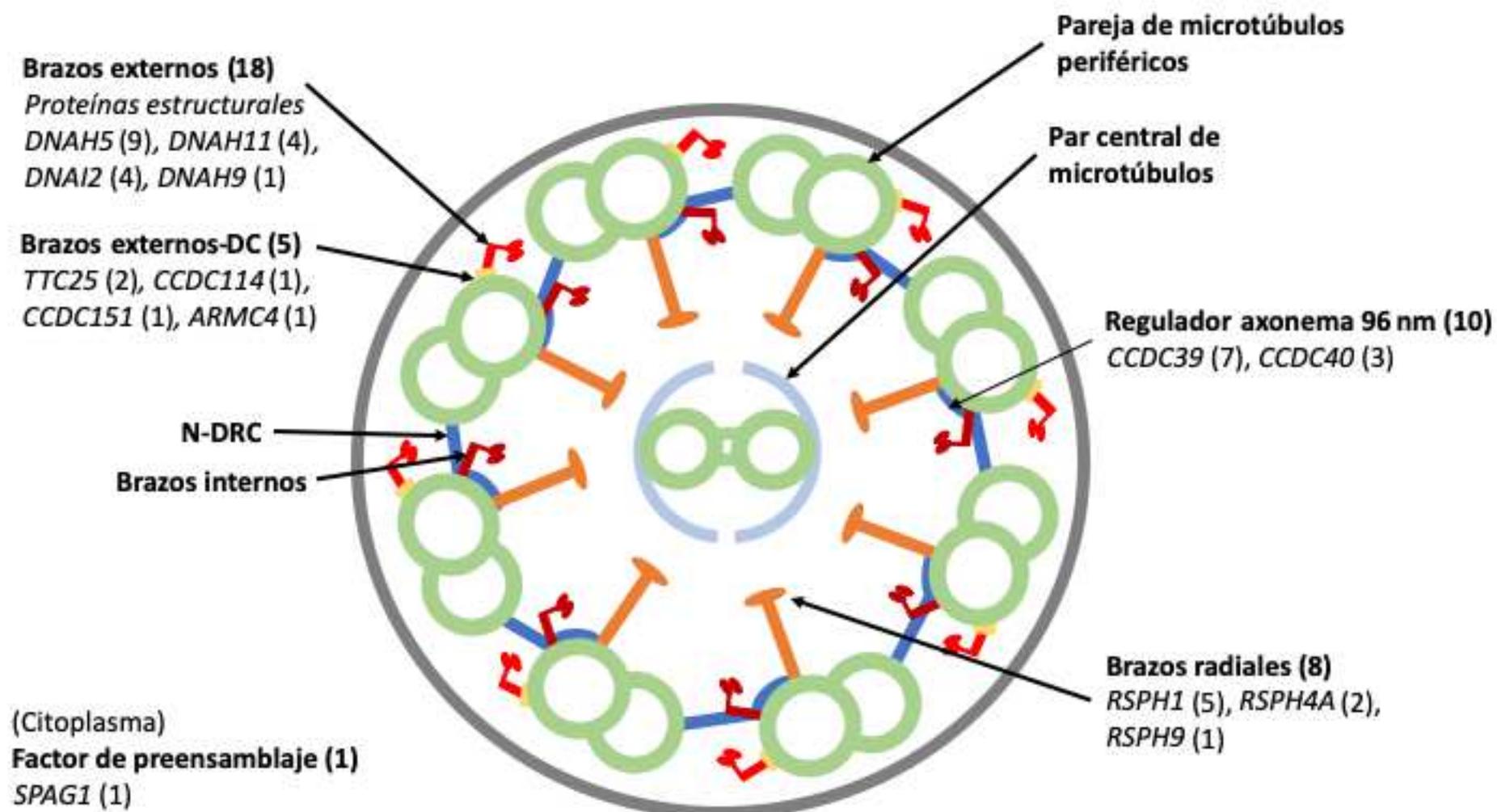
**Tabla 2. Características clínicas de los pacientes con discinesia ciliar primaria incluidos en el estudio**

	<b>Total (n = 53)</b>	<b>Adultos (n = 18)</b>	<b>Niños (n = 35)</b>	<b>P</b>
<b>Edad [mediana, (rango)]</b>	15,0 (1 – 42)	23,0 (18 – 42)	10 (1 – 17)	
<b>Género [mujeres (%)]</b>	22/53 (41,5%)	6/18 (33,3%)	16/35 (45,7%)	0,391
<b>Consanguinidad</b>	10/53 (18,9%)	0/18 (0%)	10 /35 (28,6%)	0,012
<b><i>Situs inversus</i></b>	17/52 (32,7%)	3/17 (17,6%)	14/35 (40,0%)	0,103
<b>Distrés neonatal</b>	24/48 (50%)	8/14 (57,1%)	16/34 (47,0%)	0,061
<b>Rinitis crónica</b>	46/51 (90,2%)	14/16 (87,5%)	32/35 (91,4%)	0,121
<b>Tos crónica</b>	49/52 (94,2%)	16/17 94,1%)	33/35 (94,3%)	0,371
<b>Sinusitis</b>	12/51 (23,5%)	9/16 (56,2%)	3/35 (8,6%)	0,0002
<b>Otitis de repetición</b>	27/51 (52,9%)	10/16 (62,5%)	17/35 (48,6%)	0,088
<b>Bronquitis de repetición</b>	24/51 (47,1%)	12/16 (75%)	12/35 (34,3%)	0,002
<b>Neumonías de repetición</b>	13/52 (25,0%)	7/17 (41,2%)	6/35 (17,1%)	0,066
<b>Bronquiectasias</b>	34/52 (65,4%)	16/17 (94,1%)	18/35 (51,4%)	0,004

**Tabla 3. Distribución étnica de los genes en los pacientes afectados de discinesia ciliar primaria**

	Caucásica	Árabe	Pakistaní
<i>DNAH5</i>	9		
<i>DNAH11</i>	3	1	
<i>DNAI2</i>	2		2
<i>DNAH9</i>	1		
<i>TTC25</i>	1	1	
<i>CCDC114</i>	1		
<i>CCDC151</i>	1		
<i>ARMC4</i>	1		
<i>CCDC39</i>	7		
<i>CCDC40</i>	1		2
<i>RSPH1</i>	5		
<i>RSPH4A</i>		2	
<i>RSPH9</i>		1	
<i>SPAG1</i>	1		
<i>RPGR</i>	1		

Figura (Figure)

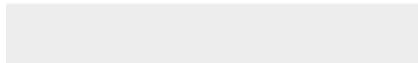




Pulse aquí para acceder/descargar

**Otros documentos (Supplementary files)**

Material suplementario Tablas articulo cilios.pdf



# Ética de la publicación

1. ¿Su trabajo ha comportado experimentación en animales?:

**No**

2. ¿En su trabajo intervienen pacientes o sujetos humanos?:

**Sí**

- Si la respuesta es afirmativa, por favor, mencione el comité ético que aprobó la investigación.:

**Comité ético Hospital Vall d'Hebron de Barcelona Comité ético Hospital Clínic de Valencia**

- Si la respuesta es afirmativa, por favor, confirme que los autores han cumplido las normas éticas relevantes para la publicación. :

**Sí**

- Si la respuesta es afirmativa, por favor, confirme que los autores cuentan con el consentimiento informado de los pacientes. :

**Sí**

3. ¿Su trabajo incluye un ensayo clínico?:

**No**

4. ¿Todos los datos mostrados en las figuras y tablas incluidas en el manuscrito se recogen en el apartado de resultados y las conclusiones?:

**Sí**