

ORIGINAL BREVE

## Valor del óxido nítrico nasal en el diagnóstico de la discinesia ciliar primaria

A. Moreno Galdó<sup>a,\*</sup>, G. Vizmanos Lamotte<sup>b</sup>, C. Reverte Bover<sup>c</sup>, S. Gartner<sup>a</sup>,  
N. Cobos Barroso<sup>a</sup>, S. Rovira Amigo<sup>a</sup>, S. Liñán Cortés<sup>a</sup>,  
J. Lloreta Trull<sup>d</sup> y R. Busquets Monge<sup>e</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Neumología Pediátrica y Fibrosis Quística, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona, España

<sup>b</sup>Servicio de Pediatría, Hospital Nostra Senyora de Meritxell, Andorra

<sup>c</sup>Centro de Atención Primaria, Amposta, Tarragona, España

<sup>d</sup>Servicio de Anatomía Patológica, Hospital del Mar, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, España

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

Recibido el 26 de septiembre de 2009; aceptado el 26 de octubre de 2009

Disponible en Internet el 23 de marzo de 2010

### PALABRAS CLAVE

Discinesia ciliar  
primaria;  
Óxido nítrico nasal;  
Niños

### Resumen

**Objetivo:** Comunicar los valores de óxido nítrico nasal (ONn) en niños con discinesia ciliar primaria (DCP) comparados con los niveles de ONn en niños sanos y en niños afectados de asma, fibrosis quística (FQ) y bronquiectasias pos infecciosas.

**Pacientes y métodos:** Se realizó la determinación de ONn en 9 niños con DCP, 36 niños asmáticos, 31 niños con FQ, 8 niños con bronquiectasias post infecciosas y 37 niños sanos. Se compararon los valores de ONn en las diferentes patologías y se determinó la sensibilidad y la especificidad de la prueba para el diagnóstico de DCP.

**Resultados:** Todos los niños con DCP excepto uno (ONn 348 ppb) mostraron un valor de ONn inferior a 112 ppb, siendo la media de 88 ppb (IC95% 9,6 – 166). En los niños sanos, la media del ONn fue de 898 ppb (IC95% 801 – 995), en los asmáticos 1023 ppb (IC95% 911 – 1137), en los niños con FQ 438 ppb (IC95% 367 – 508) y en los pacientes con bronquiectasias pos infecciosas de 361 ppb (IC95% 252 – 470). El valor medio de ONn fue significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) en los niños afectados de DCP respecto a todos los demás grupos. Un punto de corte de  $\text{NO}_n \leq 112$  ppb mostró una sensibilidad del 88,9% y una especificidad del 99,1% para el diagnóstico de DCP [área bajo la curva ROC 0,98 (IC95% 0,94 – 0,99);  $p < 0,0001$ ; razón de probabilidad 95,1].

**Conclusiones:** Un valor de  $\text{NO}_n \leq 112$  ppb en niños es altamente sugestivo de DCP aunque un valor superior no descarta por completo la enfermedad.

© 2009 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

\*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: amoreno@vhebron.net (A. Moreno Galdó).

**KEYWORDS**

Primary ciliary dyskinesia;  
Nasal nitric oxide;  
Children

**Value of nasal nitric oxide in the diagnosis of primary ciliary dyskinesia****Abstract**

**Objective:** The aim of this study is to report nasal nitric oxide (nNO) values in children with primary ciliary dyskinesia (PCD) and to compare them with nNO values in healthy children, asthmatic children, children with cystic fibrosis and children with post infectious bronchiectasis.

**Patients and methods:** We determined nNO values in 9 children with PCD, 36 asthmatic children, 31 children with cystic fibrosis, 8 children with post infectious bronchiectasis and 37 healthy children. We compared nNO values between these different conditions and calculated sensitivity and specificity of nNO to diagnose PCD.

**Results:** All children with PCD - except one (nNO 348 ppb) - had nNO values below 112 ppb, mean 88 ppb (95%CI 9.6 - 166). The nNO mean was 898 ppb (95%CI 801-995) in healthy children, 1023 ppb (95%CI 911 - 1137) in asthmatic children, 438 ppb (95%CI 367 - 508) in cystic fibrosis children and 361 ppb (95%CI 252 - 470) in children with post infectious bronchiectasis. The mean concentration of nNO was lower ( $P < 0.05$ ) in PCD patients, compared to the other groups. The measurement of nasal NO in our study population showed, at a cut-off level of  $\leq 112$  ppb, a sensitivity of 88.9% and a specificity of 99.1% in the diagnosis of PCD [ROC 0.98 (95%CI 0.94 - 0.99);  $P < 0.0001$ ; probability ratio 95.1].

**Conclusions:** The measurement of nasal NO appears to be a useful tool for screening children for PCD, in which a cut-off level of  $\leq 112$  ppb suggests the disease, although nNO above 112 ppb does not exclude PCD.

© 2009 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

**Introducción**

La discinesia ciliar primaria (DCP) es una enfermedad autosómica recesiva, genéticamente heterogénea, que se caracteriza por una disfunción total o parcial de las células ciliadas del organismo entre las que destacan las células de la mucosa de revestimiento del aparato respiratorio. Se ha estimado su incidencia en 1/20.000 recién nacidos vivos. Las principales manifestaciones clínicas de la DCP derivan de la acumulación de las secreciones respiratorias y la sobreinfección bacteriana, ocasionando otitis de repetición, sinusitis y bronquiectasias<sup>1,2</sup>.

El diagnóstico de la DCP es complejo, siendo necesario ante todo, un alto grado de sospecha clínica. Se han utilizado para su cribado el test de la sacarina<sup>3,4</sup> y el test de gotas marcadas con 99mTc-albúmina, depositadas en la nariz<sup>5,6</sup>, que determinan la alteración del aclaramiento mucociliar nasal, pero presentan una baja especificidad.

El estudio mediante microscopio electrónico de la ultraestructura (brazos de dineína internos y externos) de los cilios de la mucosa respiratoria, a partir de una muestra obtenida mediante cepillado nasal, se considera habitualmente el patrón oro para diagnosticar la enfermedad<sup>1</sup>. Sin embargo existe el inconveniente de que los contaminantes ambientales y/o las infecciones virales pueden inducir alteraciones en los cilios, por lo que algunos autores<sup>7</sup> realizan cultivos de células epiteliales para diferenciar los cambios secundarios en los cilios (que desaparecen cuando crecen las nuevas células) de los primarios. Además las técnicas de imagen mediante vídeo digital de alta velocidad que permiten visualizar la frecuencia y las características

del batido ciliar resultan fundamentales para el diagnóstico especialmente en algunos casos en que la ultraestructura puede ser normal<sup>1,8</sup>. Recientemente se está avanzando en el estudio genético de la DCP a pesar de ser una enfermedad genéticamente heterogénea<sup>9</sup> y, en algunos casos, el análisis de las mutaciones podría ser de gran utilidad diagnóstica.

El estudio de la ultraestructura y la motilidad ciliar a partir del cepillado nasal presenta el inconveniente de ser molesto para los pacientes y costoso, tanto a nivel económico como logístico, por lo que parece interesante disponer de un método de cribado que permita seleccionar a los pacientes que precisen esta prueba. En los últimos años, se ha descrito la determinación de los niveles de óxido nítrico nasal como un método prometedor de cribado para la DCP. Diferentes autores han observado niveles muy bajos de NO<sub>n</sub> en estos pacientes respecto a los controles sanos<sup>10-13</sup>.

El objetivo de nuestro trabajo es comparar los valores de NO<sub>n</sub> en pacientes afectados de DCP (diagnosticados por estudio de la ultraestructura de los cilios de la mucosa nasal mediante microscopio electrónico) con los valores de NO<sub>n</sub> en controles sanos, pacientes asmáticos, pacientes con fibrosis quística y con bronquiectasias postinfecciosas, determinando su sensibilidad y especificidad.

**Pacientes y métodos****Pacientes**

Estudiamos el ON<sub>n</sub> en 9 pacientes (4 varones) de 7 - 14 años de edad, diagnosticados de DCP a partir del estudio de la

ultraestructura de los cilios de la mucosa nasal mediante microscopio electrónico, comparando los resultados con niños sanos y pacientes afectados de otras patologías del mismo intervalo de edad, reclutados todos mediante un muestreo de conveniencia.

Se incluyeron 37 niños sanos que no presentaban atopia, patología respiratoria crónica ni infecciones respiratorias recientes (en el último mes) y 36 niños asmáticos con edades entre 6 – 17 años de las consultas de neumología pediátrica de nuestro centro, 21 con asma episódica ocasional sin tratamiento de mantenimiento y 15 con asma episódica frecuente o moderada persistente en tratamiento con corticoides inhalados. Los pacientes asmáticos no habían presentado ninguna crisis ni habían precisado corticoides orales durante el último mes.

Se compararon también los resultados con niños afectados de fibrosis quística (n = 31) reclutados en la Unidad de fibrosis quística de nuestro centro y niños con bronquiectasias postinfecciosas (n = 8), en los que se descartó patología de base (inmunodeficiencias, fibrosis quística o discinesia ciliar primaria), con edades entre 6 – 14 años. Ambos grupos de pacientes se encontraban en situación estable sin presentar una agudización infecciosa.

### Medición del óxido nítrico nasal

La medición del NO<sub>n</sub> se realizó mediante un analizador de quimioluminiscencia (LR 2000, Logan Research, Rochester, UK) siguiendo las recomendaciones de la European Respiratory Society (ERS) Task Force Report<sup>14</sup>. Se calibró el analizador utilizando NO (200 ppb [parts per billion]).

Para el estudio de la NO<sub>n</sub> empleamos la siguiente técnica: tras una inspiración a capacidad pulmonar total, el paciente mantiene la respiración a máxima tolerancia y se coloca una tubuladura de Teflón® que obstruye un orificio nasal dejando permeable el otro. El analizador de óxido nítrico aspira aire de forma continua a 250 ml/min de la fosa nasal ocluida. Durante la maniobra se controla el CO<sub>2</sub> para detectar el mínimo flujo espiratorio. Se aceptó la media de 3 lecturas registradas en la meseta de NO<sub>n</sub>, si la diferencia entre ellas era menor del 10%.

Datos de los niños sanos y asmáticos se han publicado previamente<sup>15</sup>, contando el estudio con la aprobación del Comité de Ética del hospital, y la autorización de los participantes.

### Análisis estadístico

Se presentan los datos como la media y su IC al 95%.

Se realizó un análisis de la varianza de una vía para comparar las medias, seguido del test de Student-Newman-Keuls de comparaciones múltiples, previa comprobación de la normalidad mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Se calculó la sensibilidad, especificidad y el área bajo la curva ROC de los niveles de NO<sub>n</sub> para el diagnóstico de DCP.

### Resultados

No existieron diferencias significativas en la edad de los pacientes entre los diferentes grupos estudiados.

Todos los niños afectados de DCP excepto uno (NO<sub>n</sub> 348 ppb) mostraron un valor de NO<sub>n</sub> inferior a 112 ppb, siendo la media de 88 ppb (IC95% 9,6 – 166). El paciente con NO<sub>n</sub> más elevado no presentaba rinitis alérgica ni otros signos de atopia. En la [tabla 1](#) se muestran los hallazgos microscópicos en cada paciente y sus valores respectivos de NO<sub>n</sub>.

Del resto de niños estudiados solo un paciente con fibrosis quística presentó un valor de NO<sub>n</sub> menor a 112 ppb (96 ppb).

En los niños sanos, la media del NO<sub>n</sub> fue de 898 ppb (IC95% 801 – 995), en los asmáticos 1.023 ppb (IC95% 911 – 1.137), en los niños con fibrosis quística 438 ppb (IC95% 367 – 508) y en los pacientes con bronquiectasias postinfecciosas de 361 ppb (IC95% 252 – 470) ([fig. 1](#)).

El valor medio de NO<sub>n</sub> fue significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) en los niños con DCP respecto a todos los demás grupos, siendo además inferior en los niños con bronquiectasias y fibrosis quística respecto a los niños sanos y asmáticos ( $p < 0,05$ ). Entre los pacientes afectados de fibrosis quística y los pacientes con bronquiectasias postinfecciosas no existieron diferencias estadísticamente significativas.

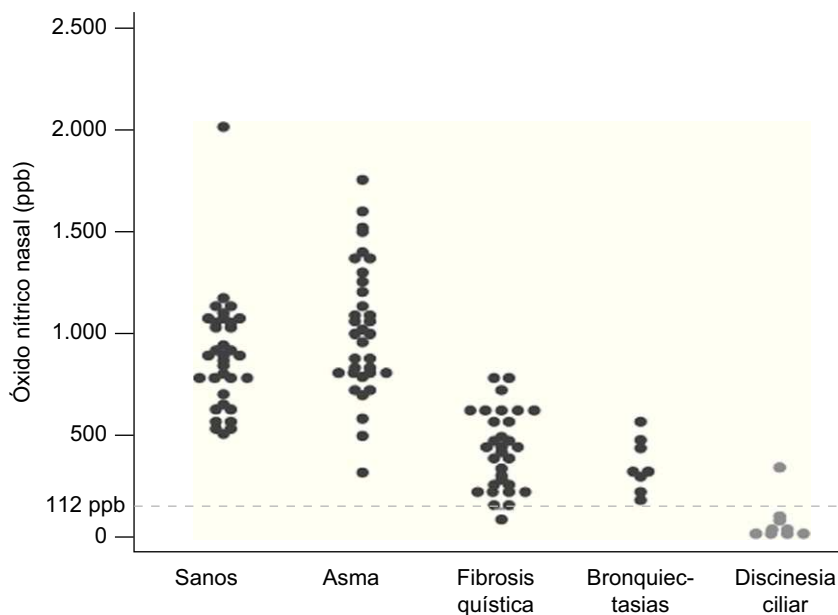
Un punto de corte de NO<sub>n</sub>  $\leq 112$  ppb mostró una sensibilidad del 88,9% y una especificidad del 99,1% para el diagnóstico de DCP (área bajo la curva ROC 0,98 [IC95% 0,94 – 0,99];  $p < 0,0001$ ; razón de probabilidad 95,1) ([fig. 2](#)).

### Discusión

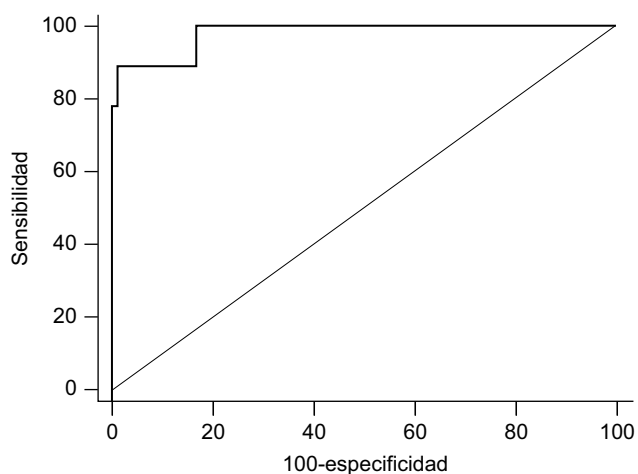
En nuestro estudio hemos comprobado que la determinación del NO<sub>n</sub> representa un método de cribado útil para el diagnóstico de DCP en niños, con una elevada sensibilidad y

**Tabla 1** Hallazgos de la ultraestructura ciliar y valores de óxido nítrico (NO) nasal en los pacientes afectados de discinesia ciliar primaria

Paciente	Ausencia brazo externo dineína	Ausencia brazo interno dineína	NO nasal (ppb)
1		70%	59
2		80%	36
3	40%	80%	46
4	15%	70%	89
5		75%	112
6	90%	100%	36
7	40%	50%	41
8	85%	90%	348
9	95%	65%	23



**Figura 1** Valores de óxido nítrico nasal en las diferentes patologías y en niños sanos



**Figura 2** Curva ROC de la utilidad del óxido nítrico nasal para el diagnóstico de discinesia ciliar primaria. Área bajo la curva 0,98 (IC95% 0,94–0,99);  $p < 0,0001$ .

especificidad, para un punto de corte de 112 ppb. Los niveles medios de NO<sub>n</sub> en los niños con DCP fueron un 90% inferiores respecto de los valores medios de los niños normales.

La sensibilidad y especificidad del NO<sub>n</sub> en el diagnóstico de la DCP, observadas en nuestro trabajo es similar a la de otros estudios en pacientes con bronquiectasias de otra causa (tabla 2). Así, Horváth et al<sup>16</sup> con un punto de corte de 187 ppb encuentran un 93 y un 95%, respectivamente. Piacentini et al<sup>17</sup> comparando solo con controles sanos obtienen para un punto de corte de NO<sub>n</sub> de 68 ppb, una sensibilidad de 100% y una especificidad de 90%, para el diagnóstico de DCP, aunque el valor medio de NO<sub>n</sub> que obtienen en los niños con DCP ( $29,7 \pm 5,7$  ppb) es inferior al nuestro (88 ppb).

Una de las limitaciones de nuestro estudio es el escaso número de pacientes en el grupo de discinesia ciliar. La

realización de nuevos trabajos multicéntricos con mayor número de pacientes y tecnología similar podría ayudar a definir mejor un punto de corte común para los diferentes centros.

Es posible que la medición en el mismo paciente del NO<sub>n</sub> y de la fracción exhalada del óxido nítrico (FE<sub>NO</sub>) aumente la especificidad de la prueba, cuando la FE<sub>NO</sub> está también disminuida<sup>18</sup>, y la determinación de la FE<sub>NO</sub> se realiza utilizando un flujo de 50 ml/min. En nuestro estudio no pudimos analizar este aspecto al realizarse las mediciones con un medidor con flujo de 250 ml/min<sup>15</sup>, con lo que los valores de FE<sub>NO</sub> se superponen entre los sujetos normales y los afectados de DCP.

Los valores de NO<sub>n</sub> que hemos observado en las diferentes patologías estudiadas y los que encuentran en otras series pediátricas<sup>17,18</sup>, son similares a los de población adulta<sup>19,20</sup>. Esto sugiere que probablemente no existen diferencias en cuanto a los mecanismos que alteran el NO<sub>n</sub> en las diferentes patologías en niños y adultos.

Se han planteando diferentes hipótesis que justifican la disminución de los niveles de NO<sub>n</sub> en la DCP. Se ha implicado al óxido nítrico en la regulación positiva de la frecuencia de batido ciliar<sup>21</sup>, lo que ha hecho que se especule que los niveles bajos de NO en la DCP estén relacionados con el defecto ciliar primario. La sintasa endotelial de óxido nítrico (eNOS) está localizada cerca de la base de los cilios. Esta enzima en el endotelio se activa por el estrés. El movimiento de inclinación de los cilios podría ser el «estrés» que activara la eNOS estimulando la producción de óxido nítrico, que juega un papel en la regulación del movimiento ciliar. La falta de este estímulo se asociaría con la falta o la disminución de la activación de la eNOS y la reducción consecuente de la producción de óxido nítrico en el epitelio de la vía aérea<sup>22</sup>.

En otras enfermedades como en la fibrosis quística y bronquiectasias de otro origen existen también niveles bajos de NO<sub>n</sub>, pero superiores a los de la DCP<sup>18</sup>, aunque en otras series no se alcanza la significación estadística<sup>18</sup>, como

**Tabla 2** Estudios comparando la sensibilidad y especificidad de la determinación de óxido nítrico nasal en los pacientes afectos de discinesia ciliar primaria, comparada con pacientes con bronquiectasias sin discinesia ciliar primaria

Estudio	Flujo de aspiración (l/min)	Punto de corte (ppb)	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
Horvath et al <sup>16</sup>	0,25	187	93	95
Narang et al <sup>18</sup>	0,25	250	97	90
Corbelli et al <sup>11</sup>	1,2	105	94	88
Moreno et al	0,25	112	88,9	99,1

hemos visto en nuestros pacientes. En los pacientes con fibrosis quística se ha descrito una disminución de la expresión de óxido nítrico sintasa en el epitelio bronquial, lo que podría explicar la disminución del NO<sub>n</sub><sup>23</sup>.

En comparación con otras pruebas de cribado de la DCP, la determinación del NO<sub>n</sub> es una prueba más rentable que el test de la sacarina o que el estudio del transporte mucociliar mediante gammagrafía con albúmina marcada con tecnecio en el que De Boeck et al<sup>5</sup> obtienen una sensibilidad de 100% y una especificidad de tan solo 55%. Parece más prometedora una nueva técnica en la que se estudia el aclaramiento mucociliar de todo el árbol respiratorio mediante inhalación de un radioaerosol, determinando su depósito y su eliminación en las vías respiratorias, y midiendo así la función del epitelio ciliado en las vías aéreas inferiores. Su ventaja respecto a los test de sacarina y albúmina marcada es que estos últimos solo evalúan el aclaramiento mucociliar de la región nasal y que permite detectar defectos regionales del aclaramiento mucociliar<sup>24</sup>.

Se han descrito 2 genes, que intervienen en la síntesis de dineína, cuyas mutaciones se han asociado con la DCP: *DNAI1*, en el 10% de los casos, y *DNAH5*, en el 28% de los pacientes<sup>9</sup>. El estudio de estos genes podría ser de utilidad diagnóstica, especialmente en pacientes con ultraestructura normal.

Más del 60% de los pacientes con DCP no tienen una mutación identificable en ninguno de estos 2 genes, y aunque se han propuesto otras posibles mutaciones, como la de la *DNAH11*, su relación con la DCP no está todavía totalmente caracterizada<sup>9</sup>.

En conclusión, la medición del NO<sub>n</sub> en niños es una prueba no invasora para el despistaje de la DCP, que deberá confirmarse mediante cepillado de la mucosa nasal. Un valor de NO<sub>n</sub> ≤ 112 ppb es altamente sugestivo de DCP aunque un valor superior no descarta por completo la enfermedad. Creemos que su determinación puede ser un instrumento de apoyo para el diagnóstico, apoyando la indicación de la realización de un cepillado de la mucosa nasal en los casos en que esté disminuido.

## Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

## Bibliografía

- 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.
- Vendrell M, de Gracia J, Olveira C, Martínez MA, Girón R, Máiz L, et al. Diagnóstico y tratamiento de las bronquiectasias. *Arch Bronconeumol*. 2008;44:629–40.
- Deitmer T. A modification of the saccharine test for nasal mucociliary clearance. *Rhinology*. 1986;24:237–40.
- Plaza Valía P, Carrión Valero F, Marín Pardo J, Bautista Rentero D, González Monte C. Test de la sacarina en el estudio del aclaramiento mucociliar. Valores de referencia en una población española. *Arch Bronconeumol*. 2008;44:540–5.
- De Boeck K, Proesmans M, Mortelmans L, Van Billoen B, Willems T, Jorissen M. Mucociliary transport using 99mTc-albumin colloid: a reliable screening test for primary ciliary dyskinesia. *Thorax*. 2005;60:414–7.
- Armengot Carceller M, Carda Batalla C, Escribano A, Samper GJ. Estudio del transporte mucociliar y de la ultraestructura ciliar nasales en pacientes con síndrome de Kartagener. *Arch Bronconeumol*. 2005;41:11–5.
- Toskala E, Haataja J, Shirasaki H, Rautiainen M. Culture of cells harvested with nasal brushing: a method for evaluating ciliary function. *Rhinology*. 2005;43:121–4.
- Lee CH, Lee SS, Mo JH, Kim IS, Quan SH, Wang SY, et al. Comparison of ciliary wave disorders measured by image analysis and electron microscopy. *Acta Otolaryngol*. 2005;125:571–6.
- Zariwala MA, Knowles MR, Omran H. Genetic defects in ciliary structure and function. *Annu Rev Physiol*. 2007;69:423–50.
- Karadag B, James AJ, Gültekin E, Wilson NM, Bush A. Nasal and lower airway level of nitric oxide in children with primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J*. 1999;13:1402–5.
- 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;126:1054–9.
- Struben VMD, Wieringa MH, Mantingh CJ, Bommeljé C, Don M, Feenstra L, et al. Nasal NO: normal values in children age 6 through to 17 years. *Eur Respir J*. 2005;26:453–7.
- Bodini A, Rugolotto S, Pradal U, Zanotto G, Peroni D. Nasal nitric oxide for early diagnosis of familial primary ciliary dyskinesia. *Arch Dis Child*. 2008;93:452–3.
- American Thoracic Society; European Respiratory Society. ATS/ERS recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171:912–30.
- Cobos Barroso N, Reverté Bover C, Gartner S, Liñán Cortés S, Quintó Domech L. Óxido nítrico exhalado y nasal en niños normales y asmáticos. *An Esp Pediatr*. 1998;49:241–7.
- Horváth I, Loukides S, Wodehouse T, Csiszér E, Cole PJ, Kharitonov SA, et al. Comparison of exhaled and nasal nitric oxide and exhaled carbon monoxide levels in bronchiectatic patients with and without primary ciliary dyskinesia. *Thorax*. 2003;58:68–72.
- Piacentini GL, Bodini A, Peroni D, Rigotti E, Pigozzi R, Pradal U, et al. Nasal nitric oxide for early diagnosis of primary ciliary dyskinesia: practical issues in children. *Respir Med*. 2008;102:541–7.

18. Narang I, Ersu R, Wilson NM, Bush A. Nitric oxide in chronic airway inflammation in children: diagnostic use and pathophysiological significance. *Thorax*. 2002;57:586–9.
19. Noone PG, Leigh MW, Sannuti A, Minnix SL, Carson JL, Hazucha M, et al. Primary ciliary dyskinesia: diagnostic and phenotypic features. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;114:839–43.
20. Wodehouse T, Kharitonov SA, Mackay IS, Barnes PJ, Wilson R, Cole PJ. Nasal nitric oxide measurements for the screening of primary ciliary dyskinesia. *Eur Respir J*. 2003;21:43–7.
21. Li D, Shirakami G, Zhan X, Johns RA. Regulation of ciliary beat frequency by the nitric oxide – cyclic guanosine monophosphate signaling pathway in rat airway epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2000;23:175–81.
22. Leigh MW. Primary ciliary dyskinesia. *Semin Respir Crit Care Med*. 2003;24:653–62.
23. Meng QH, Springall DR, Bishop AE, Morgan K, Evans TJ, Habib S, et al. Lack of inducible nitric oxide synthase in bronchial epithelium: a possible mechanism of susceptibility to infection in cystic fibrosis. *J Pathol*. 1998;184:323–31.
24. Marthin JK, Mortensen J, Pressler T, Nielsen KG. Pulmonary radioaerosol mucociliary clearance in diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *Chest*. 2007;132:966–76.