



## ORIGINALES

# Diagnóstico molecular de la poliquistosis renal autosómica dominante en la Comunidad Autónoma de Canarias<sup>1</sup>

M. J. Torres<sup>1</sup>, J. C. Rodríguez Pérez<sup>1,2</sup>, C. R. Hernández Socorro<sup>3</sup>, A. Anabitarte<sup>1</sup>, A. Caballero<sup>1</sup>, C. Vázquez<sup>4</sup>, M. Fernández-Burriel<sup>4</sup>, P. Pérez Borges\*\* y L. Palop\*\*

<sup>1</sup>Unidad de Investigación. <sup>2</sup>Servicio de Nefrología. <sup>3</sup>Servicio de Radiodiagnóstico. <sup>4</sup>Unidad de Genética. Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. <sup>1,2,3</sup>Complejo Hospitalario Materno-Insular. <sup>4</sup>Las Palmas de Gran Canaria.

### RESUMEN

La poliquistosis renal autosómica dominante es una enfermedad hereditaria responsable del 6% de los casos de insuficiencia renal terminal en España. En la década de los 90 se identificaron los dos únicos genes relacionados con la enfermedad hasta el momento, en los cromosomas 16 y 4 (PKD1 y PKD2). El diagnóstico de esta enfermedad de desarrollo dependiente de la edad puede realizarse fácilmente mediante ecografía, pero el diagnóstico molecular mediante el análisis de ligamiento ofrece la ventaja de la detección precoz de individuos asintomáticos portadores del defecto genético, con vistas al seguimiento preventivo de estos individuos y al consejo genético.

En este trabajo presentamos los resultados del análisis molecular de 30 familias con poliquistosis renal de la provincia de Las Palmas, realizado mediante análisis de ligamiento con dos series de marcadores polimórficos localizados en las inmediaciones de los genes PKD1 (D16S521, KG8, AC2.5, CW2, SM7) y PKD2 (D4S1538, D4S1534, D4S423, D4S414). Los objetivos del trabajo fueron: primero, comprobar el grado de informatividad y, por tanto, la utilidad de estos microsatélites para los estudios familiares de la PQRAD en nuestra población; y segundo, determinar la sensibilidad y especificidad del análisis genético en nuestra población.

La mayoría de los marcadores mostró una alta heterocigosidad, comparable a la de otros estudios. Considerar los alelos de los distintos marcadores presentes en un mismo cromosoma conjuntamente, como un haplotipo, aumentó la informatividad de los marcadores y permitió la identificación inequívoca de los datos genéticos en el 97,7% de los pacientes y en el 88,7% de los individuos sanos. La sensibilidad y especificidad del análisis genético fueron del 90,7% (IC 95%: 85,7-95,7) y 86,8% (IC 95%: 80,6-93,0), respectivamente.

Palabras clave: **Poliquistosis. Diagnóstico precoz. Consejo genético. Microsatélites.**

### MOLECULAR DIAGNOSIS OF ADULT DOMINANT POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE IN THE CANARY ISLANDS

### SUMMARY

Adult dominant polycystic kidney disease is an hereditary condition responsible for 6% of end-stage renal failure in Spain. Two genes were located in chromosomes 16 and 4 as

**Correspondencia:** Dr. José Carlos Rodríguez Pérez  
Unidad de Investigación  
Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín  
Barranco de la Ballena, s/n  
35010 Las Palmas de Gran Canaria  
E-mail: jrodper@gobiernodecanarias.org

<sup>1</sup> Grupo de investigación colaborador de la Asociación para la Investigación e Información sobre las Enfermedades Genéticas y Grupo de Trabajo de Enfermedades Renales Hereditarias de la Sociedad Española de Nefrología (Presidenta y Coordinadora, respectivamente: Dra. Roser Torra Balcells).

*related to this age-dependent disease in the 90s (PKD1 and PKD2). The diagnosis can be easily achieved by sonographic study, but molecular analysis by means of linkage analysis has the advantage of an early diagnosis in asymptomatic genetic carriers, with a view to the preventive follow-up of these subjects and genetic counselling.*

*In this paper we present the results of molecular analysis of 30 families with Adult Dominant Polycystic Kidney Disease (from the province of Las Palmas Spain), carried out linkage analysis with two series of microsatellite markers located within or in the vicinity of PKD1 (D16S521, KG8, AC2.5, CW2, SM7) and PKD2 (D4S1538, D4S1534, D4S423, D4S414) genes. The objectives of the study were: first, to verify the informativeness, and therefore, the usefulness of these markers for family studies in our population; and second, to assess the sensitivity and specificity of the genetic analysis in our population.*

*Most of the markers showed a high heterozygosity, comparable to data in other studies. Considering the alleles of the different markers together in a chromosome as an haplotype increased the informativeness of the markers, and allowed the unequivocal identification of genetic data in 97.7% of patients and 88.7% of healthy subjects. The sensitivity and specificity of the genetic analysis were 90.7% (CI 95%: 85.7-95.7) and 86.8% (CI 95%: 80.6-93.0), respectively.*

**Key words: Polycystic disease. Early diagnosis. Genetic counselling. Microsatellite markers.**

## INTRODUCCIÓN

La poliquistosis renal autosómica dominante (PQRAD) es una enfermedad hereditaria responsable del 6% de los casos de insuficiencia renal terminal en España<sup>1</sup>. Se trata de una de las enfermedades hereditarias más frecuentes, con una prevalencia que varía entre uno de cada 400 a uno de cada 1.000 individuos en población blanca<sup>2</sup>, y un patrón de herencia dominante. Se caracteriza por la formación de múltiples quistes en los riñones, que van deteriorando progresivamente la función renal hasta llegar a la insuficiencia renal terminal. Igualmente, se originan quistes en otros órganos como el hígado, el bazo o el páncreas. Las complicaciones extrarrenales incluyen trastornos gastrointestinales y/o cardiovasculares, siendo las más graves las anomalías de las válvulas cardíacas, la disección de la aorta torácica y el aneurisma intracraneal. Los pacientes ven muy deteriorada su calidad de vida debido a las múltiples complicaciones de la enfermedad. La hipertensión arterial (HTA) afecta al 60% de los pacientes antes de que aparezca la insuficiencia renal<sup>2</sup>.

En 1994, el Consorcio Europeo de la Poliquistosis Renal identificó el primer gen relacionado con la PQRAD, denominado PKD1 y localizado en el cromosoma 16<sup>3</sup>. Un segundo gen (PKD2) fue localizado posteriormente en el cromosoma 4<sup>4,5</sup>. En el 85-90% de las familias afectadas la enfermedad está asociada con el gen PKD1, mientras que el 10-15% restante se asocia con el PKD2<sup>6,7</sup>. A pesar de que la enfermedad de los individuos PKD1 y PKD2 presenta los mismos rasgos clínicos generales, existen diferencias en la progresión de la enfermedad y la mortalidad, siendo la enfermedad asociada a PKD1 la más grave y la que comienza a manifestarse antes.

Las proteínas codificadas por los genes PKD1 y PKD2 se denominan poliquistina-1 y -2, respectivamente. A día de hoy se sabe que son proteínas de membrana implicadas en la recepción y transducción de señales intracelulares<sup>8-10</sup> en procesos como la proliferación o la apoptosis. Las mutaciones en los genes que codifican a las poliquistinas originan proteínas funcionalmente defectuosas

que alteran los procesos mencionados, además de las propiedades de polarización y transporte transcelular de las células epiteliales renales<sup>11</sup>. Esto tiene como resultado el crecimiento incontrolado del tejido y la acumulación de líquido en los quistes que caracteriza a la enfermedad poliquística.

El diagnóstico de la PQRAD se realiza habitualmente mediante ecografía. Sin embargo, las pruebas genéticas pueden ser utilizadas si los resultados ecográficos no son concluyentes, como prueba complementaria, o si se requiere un diagnóstico definitivo en una persona menor de 30 años. El diagnóstico molecular no puede predecir el momento de comienzo, la gravedad, el tipo de síntomas o el grado de progresión de la enfermedad. Sin embargo, permite una intervención precoz en cuanto al seguimiento y tratamiento de la HTA, infecciones y litiasis, que puede retrasar la aparición de la insuficiencia renal<sup>12</sup>. Otra aplicación importante del diagnóstico molecular es el consejo genético familiar, consistente en informar al individuo afecto sobre la enfermedad, su modo de herencia y los riesgos de transmitirla a su descendencia. La probabilidad de que un individuo poliquístico transmita el gen causante de la enfermedad a un hijo es del 50%.

El diagnóstico genético puede realizarse por búsqueda directa de la mutación o de forma indirecta, mediante análisis de ligamiento. El análisis mutacional presenta dificultades debido al gran tamaño y complejidad del gen PKD1, y a la gran cantidad de mutaciones y polimorfismos descritos en dicho gen, que hace difícil distinguir los cambios patogénicos de los neutrales. Con el análisis de ligamiento se estudia la transmisión de padres a hijos de una serie de marcadores polimórficos localizados en el gen de interés o en sus proximidades, lo que permite la identificación de individuos portadores antes de que aparezcan síntomas de la enfermedad.

En este trabajo presentamos los resultados del análisis molecular de 30 familias con PQRAD de la provincia de Las Palmas, realizado mediante análisis de ligamiento con marcadores de las regiones cromosómicas donde se localizan los genes PKD1 y PKD2. Los objetivos del trabajo

fueron: primero, comprobar el grado de informatividad y, por tanto, la utilidad de estos microsatélites para los estudios familiares de la PQRAD en nuestra población; y segundo, determinar la sensibilidad y especificidad del análisis genético con dichos marcadores en nuestra población.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Familias

Se incluyeron en el estudio 30 familias seleccionadas a partir de pacientes con diagnóstico de PQRAD, procedentes del Servicio de Nefrología del Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín (24 familias) y de la Unidad de Genética del Complejo Hospitalario Materno-Insular (6 familias), siendo estos dos hospitales los centros de referencia para la enfermedad en la provincia de Las Palmas. Estas familias aportaron un total de 248 individuos al estudio, de los cuales 116 tenían un diagnóstico previo de PQRAD. Se obtuvo el consentimiento informado de todos los participantes en el estudio antes de su inclusión en el mismo.

### Estudio ecográfico

Los criterios de diagnóstico ecográfico consistieron en la existencia de al menos dos quistes (considerando los dos riñones en conjunto) en individuos de menos de 30 años, dos quistes en cada riñón en individuos entre los 30 y los 59 años y cuatro quistes en cada uno en individuos de edad igual o superior a los 60 años<sup>13</sup>. Los sujetos que cumplían estos criterios fueron clasificados como pacientes. Estos criterios han sido acordados por los laboratorios europeos y tienen una sensibilidad de prácticamente el 100% para los pacientes mayores de 30 años o para pacientes más jóvenes con mutaciones en PKD1, y del 67% para pacientes menores de 30 años con mutaciones en PKD2<sup>14</sup>. Todas las ecografías fueron realizadas en la Sección de Ecografía del Servicio de Radiodiagnóstico del Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín por un único ecografista (CRHS), con un ecógrafo doppler color de alta gama, modelo Aplio 80 «SSA-770A» (Toshiba, Tokio, Japón) con transductor sectorial convex de 3.75 MHz.

### Determinaciones genéticas

De cada individuo se obtuvo una muestra de 10 ml de sangre periférica de la que se extrajo el ADN mediante precipitación salina<sup>15</sup>. Para el análisis genético se utilizaron cinco marcadores PKD1 (D16S521, KG8, AC2.5, CW2, SM7) y cuatro PKD2 (D4S1538, D4S1534, D4S423, D4S414), analizándose los nueve marcadores en todas las familias. Los marcadores fueron amplificados, utilizando cebadores descritos previamente<sup>16-18</sup> mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en un volumen final de 15 µl, con 50 ng de DNA, MgCl<sub>2</sub> 1,5 mM (0,5 mM para KG8), dNTPs 200 µM, 4 pmoles de cada cebador y 0,5 U de polimerasa EcoTaq (Ecogen, Barcelona, España). El protocolo de amplificación se llevó a cabo en un termo-

ciclador GeneAmp PCR System 9600 (Applied Biosystems, Foster City, EE.UU.), y consistió en una desnaturalización inicial a 94 °C durante 5 minutos, seguida de 25 ciclos de 30 segundos a 94 °C, 30 segundos a 58 °C y 30 segundos a 72 °C. Se realizó un paso de extensión final a 72 °C durante 20 minutos.

Los amplificadores de los distintos marcadores fueron mezclados con el fin de obtener una sola muestra por paciente. A 1 µl de cada una de estas mezclas se añadieron 0,2 µl del marcador de peso molecular GeneScan-500-ROX (Applied Biosystems) y 20 µl de formamida desionizada. Las muestras así preparadas fueron desnaturalizadas a 95 °C durante 2 minutos y enfriadas rápidamente en hielo antes de ser analizadas por electroforesis capilar en un secuenciador ABI PRISM™ 310 (Applied Biosystems).

### Análisis de los resultados

Se calculó el porcentaje de individuos heterocigotos en una muestra de 74 individuos no relacionados, constituida por los cónyuges y un paciente por familia (caso índice). Este porcentaje es considerado como una de las medidas del grado de informatividad de marcadores polimórficos<sup>19</sup>.

Para el análisis de ligamiento, de dos puntos, se utilizó el programa MLINK del paquete LINKAGE (PC DOS v5.2, Columbia University, Nueva York). En los cálculos del *lod score*<sup>20</sup> se consideró una frecuencia de 0,001 para PKD1 y 0,0001 para PKD2. Se definieron 3 clases de penetrancia, con valores de 0,64 (individuos < 20 años), 0,92 (20-30 años) y 1 (> 30 años) para PKD1, y valores de 0,50, 0,85 y 0,95, respectivamente, para PKD2<sup>21</sup>. Para aumentar la potencia del análisis de ligamiento se definió un nuevo marcador consistente en el conjunto de los alelos de los distintos microsatélites en cada uno de los cromosomas (haplotipo). Mediante el análisis de los árboles genealógicos se identificó el haplotipo responsable de la transmisión de la enfermedad en cada familia (haplotipo transmisor). Se consideró como orden de los marcadores en los respectivos cromosomas el publicado en estudios anteriores<sup>16-18, 22, 23</sup> y en la base de datos de la Fundación Jean Dausset-Centre d'Etude du Polymorphisme Humain (<http://www.cephb.fr>).

Para la comparación de edades medias se utilizó el test de la *t* de Student.

## RESULTADOS

De los 248 individuos a los que se realizó el análisis genético, 129 presentaban quistes cumpliendo los criterios ecográficos para ser considerados pacientes, y 115 fueron clasificados como sanos. Las edades medias de ambos grupos, la distribución de sexos y la clasificación genética se muestran en la tabla I. A cuatro individuos no se les pudo realizar la ecografía, por lo que no fueron incluidos en ninguno de los dos grupos. De ellos, dos no eran portadores del haplotipo transmisor, uno sí, y el último fue clasificado como indeterminado desde el punto de vista genético por falta de informatividad de los marcadores. De los pacientes, 13 son nuevos diagnósticos.

**Tabla I.** Edad, sexo y análisis genético de los participantes en el estudio

	Pacientes (n = 129)	Sanos (n = 115)
Edad*	37,5 ± 13,7	44,1 ± 18,6
Sexo		
Hombres	61 (47,3%)	55 (47,8%)
Mujeres	68 (52,7%)	60 (52,2%)
Genética**		
(+)	118 (91,5%)	0
(-)	0	100 (86,9%)
recombinante	8 (6,2%)	2 (1,7%)
indeterminada	3 (2,3%)	13 (11,4%)

\*Se expresa como media ± desviación típica.

\*\*(+): portador del haplotipo transmisor; (-): no portador del haplotipo transmisor; recombinante: portador de una parte del haplotipo transmisor; indeterminada: no se puede establecer inequívocamente el haplotipo por falta de informatividad de los marcadores.

**Tabla II.** Número de pacientes e individuos sanos y valores de *lod score* para los haplotipos PKD1 y PKD2 en las familias estudiadas

Familia	Pacientes	Sanos	<i>Lod</i> PKD1	<i>Lod</i> PKD2
1	9	4	2,00	-10,42
2	11	9	2,84	-1,42
3	3	5	1,14	-0,18
4	7	7	2,95	-2,31
5	3	3	0,90	-2,31
6	4	5	1,55	-3,45
7	6	4	1,43	-2,61
8	8	3	1,84	-7,37
9	2	5	0,57	-0,20
10	5	5	1,74	-3,96
11	3	6	1,44	-5,78
12	4	2	0,44	-3,49
13	2	3	NC*	-0,22
14	3	2	0,60	0,58
15	2	2	<<-2,00	NC*
16	2	2	0,30	-1,02
17	2	1	0,30	0,00
19	2	1	0,30	-3,58
20	4	2	1,14	-7,62
21	3	1	0,60	-0,05
22	7	1	1,36	-3,40
23	4	1	0,90	NC*
24	2	3	0,60	-0,07
25	3	2	0,90	-4,38
26	7	3	2,21	-10,58
27	7	5	2,07	-8,16
28	7	17	3,01	-17,43
29	2	5	1,10	-3,89
30	3	3	0,60	-5,67
31	3	2	0,47	-0,18

\*NC: no calculado.

Nota: la familia nº18 fue finalmente excluida del estudio por contar con un solo individuo con quistes.

De las 30 familias analizadas, los haplotipos PKD1 fueron identificados con claridad en 29 de ellas, y en 28 familias en el caso de los haplotipos PKD2. En las familias en las que no pudo establecerse el haplotipo (familia nº 13 para PKD1 y familias nº 15 y 23 para PKD2), debido a la escasa informatividad de los marcadores y al pequeño tamaño de las familias en cuestión, no se realizó el análisis de ligamiento (tabla II). Veintiocho familias mostraron datos genéticos compatibles con el ligamiento a PKD1, y en una de ellas (nº15) se excluía dicho ligamiento. En la tabla II se muestra la distribución de pacientes e individuos sanos por familias y los valores de *lod score* obtenidos en el análisis de ligamiento para los marcadores PKD1 y PKD2. La sensibilidad y especificidad del análisis genético fueron del 90,7% (IC 95%: 85,7-95,7) y 86,8% (IC 95%: 80,6-93,0), respectivamente.

En las 21 familias con resultado claro de ligamiento a PKD1 (familias 1-8, 10-12, 19, 20, 22, 23 y 25-30) se encontraron 15 haplotipos transmisores distintos. Uno de los tres haplotipos que se repetían estaba presente en cuatro familias, otro en tres, y el tercero aparecía en dos familias. El número de haplotipos PKD1 no transmisores distintos fue de 110 de un total de 125. Se detectaron quince eventos de recombinación entre los marcadores PKD1, seis de los cuales implicaban al cromosoma identificado como transmisor. En el caso de los marcadores PKD2, se detectaron trece eventos de recombinación. El rango de tamaño de los alelos y los porcentajes de heterocigotos encontrados para cada marcador se muestran en la tabla III.

En cuanto a las características clínicas de los pacientes pertenecientes a las 21 familias con ligamiento a PKD1, la causa de diagnóstico más frecuente fue la historia familiar (tabla IV). No se observan diferencias significativas entre hombres y mujeres con respecto a la edad al diagnóstico de la enfermedad, la hipertensión o el comienzo del tratamiento renal sustitutivo (TRS) (tabla V). El número de pacientes en TRS, así como la prevalencia de hipertensión y patología vaso-cerebral, coronaria y vascular periférica se muestran en la tabla VI.

**Tabla III.** Rango de tamaño y porcentaje de heterocigotos de los marcadores PKD1 y PKD2 en nuestro estudio

Gen	Marcador	Rango alelos (pb)*	% heterocigotos (este estudio)	% heterocigotos (calculado)**
PKD1	D16S521	152 - 172	70,3	71,5
	KG8	106 - 124	55,4	56,4
	AC2,5	154 - 170	73,0	79,5
	CW2	107 - 127	79,7	82,9
	SM7	81 - 103	60,8	64,0
PKD2	D4S1538	145 - 171	68,9	69,9
	D4S1534	138 - 166	78,4	76,9
	D4S423	97 - 115	70,3	83,8
	D4S414	222 - 236	70,3	89,4

\* Tamaño de los alelos encontrados en este estudio, en pares de bases.

\*\* Datos de *The GDB Human Genome Database* (<http://www.gdb.org>).

**Tabla IV.** Causa del diagnóstico\* de la enfermedad en los pacientes PKD1

	N (%)
Antecedentes familiares	60 (69,1)
Hipertensión arterial	13 (14,9)
Hematuria	5 (5,7)
Infección urinaria	2 (2,3)
Otras	7 (8,0)
Total	87 (100)

\*Dato no disponible en 23 pacientes.

## DISCUSIÓN

La poliquistosis renal es la cuarta causa de insuficiencia renal crónica en Canarias, y representa el 8% del total de enfermos en diálisis en nuestra comunidad (Registro de Enfermos Renales, Sociedad Canaria de Nefrología, 2004). El análisis genético en familias con antecedentes de PQRAD es importante por varias razones. En primer lugar, hace posible el consejo genético. En segundo lugar, facilita el seguimiento preventivo de los individuos portadores del haplotipo transmisor. Y, por último, la exclusión inequívoca de la enfermedad en familiares de pacientes les permite vivir sin la incertidumbre de padecer la enfermedad en el futuro, y servir como donantes de riñón llegado el caso.

Los valores de sensibilidad y especificidad obtenidos (90,7 y 86,8%, respectivamente) confirman la validez del análisis genético con los marcadores escogidos para este estudio en nuestra población. La mayoría de los marcadores se encuentra en heterocigosis en un porcentaje de individuos que varía entre el 68,9 y el 78,4% (tabla III), rango considerado de alta informatividad<sup>24</sup>. Sólo los marcadores KG8 y SM7 (PKD1) presentan porcentajes menores, que no suponen una gran desventaja para el análisis debido al empleo conjunto de los otros tres marcadores. Los porcentajes de individuos heterocigotos encontrados son similares a los de otros trabajos<sup>16,21</sup> y a los publicados en la base de datos *Human Genome Database* (tabla III). Este grado de informatividad se traduce en una identificación inequívoca de los haplotipos PKD1 en un 96,7% de las familias de nuestro estudio, y de los PKD2 en un

93,3% de las mismas. Considerando los individuos, los datos genéticos fueron claramente interpretables (tabla I: genética (+), (-) o recombinante) en un 97,7% de los pacientes, y en un 88,7% de los individuos sin quistes.

En el análisis de ligamiento de dos puntos, 18 de las familias obtuvieron un valor de *lod score* próximo o superior a 1 para PKD1 (tabla II). En la familia nº 15, en la que el valor es mucho menor que -2,00, se excluye el ligamiento a PKD1. Este posible ligamiento a PKD2 no pudo ser confirmado por falta de informatividad de los marcadores. En el resto de los casos en los que el *lod score* es claramente inferior a 1 (valores  $\leq 0,60$ ), el ligamiento a PKD2 queda excluido en 3 de las familias (nº 12, 19 y 30). En las demás, los valores de *lod score* se encuentran en el rango de -1,02 a 0,58, tratándose de familias con 5 o menos miembros en la mayoría de los casos, en las que además los individuos con riesgo de haber heredado el haplotipo transmisor tienen menos de 30 años, lo que disminuye la potencia del análisis. Estas familias seguirán siendo objeto de seguimiento en los próximos años, procurando incorporar al estudio más miembros, con el fin de obtener resultados concluyentes en el diagnóstico genético.

Con respecto a las características clínicas de los pacientes PKD1 de nuestro estudio hay que señalar que la primera causa de diagnóstico de la enfermedad es la historia familiar, seguida de la HTA (tabla IV), al igual que se encontró en otros trabajos realizados en población española<sup>25, 26</sup>. Las edades en el momento del diagnóstico de la enfermedad y la hipertensión, y el inicio del TRS de nuestros pacientes PKD1 (tabla V) son similares a las del estudio de Torra y cols.<sup>26</sup>. Los porcentajes de pacientes en TRS y con hipertensión son, sin embargo, superiores en nuestro estudio (tabla VI), aunque estos datos podrían resultar modificados si se dispusiera de esta información en todos los casos.

Los resultados de este estudio no parecen apuntar hacia la existencia de un efecto fundador de las mutaciones PKD1 en nuestra población, como se ha podido observar en un trabajo realizado en las islas Seychelles<sup>27</sup>, e incluso en población canaria en el caso de la hiperoxaluria primaria tipo 1<sup>28</sup>, ya que sólo un pequeño número de haplotipos transmisores se repite en familias distintas. Sin embargo, para comprobar esto sería necesario hacer el análisis de mutaciones, ya que muchos de los haplotipos distintos difieren sólo en uno o dos marcadores, y podrían ser producto de una recombinación que conservara la mutación.

**Tabla V.** Edad media y desviación típica al diagnóstico de la enfermedad, de la HTA y al comienzo del TRS en los pacientes PKD1 con datos disponibles

	Hombres (N)	Mujeres (N)	p
Diagnóstico	26,5 ± 11,2 (35)	25,8 ± 10,5 (47)	0,757
HTA	33,8 ± 9,0 (17)	31,3 ± 10,8 (19)	0,447
TRS	43,4 ± 6,6 (11)	48,1 ± 8,3 (13)	0,138

HTA: hipertensión arterial; TRS: tratamiento renal sustitutivo.

**Tabla VI.** Características clínicas de la enfermedad en los pacientes PKD1 (N = 110)

	Presente	Ausente	ND*
TRS	33 (45,8%)	39 (54,2%)	38
HTA	73 (78,5%)	20 (21,5%)	17
Anomalías vasculo-cerebrales	5 (13,5%)	32 (86,5%)	73
Patología coronaria	8 (21,1%)	30 (78,9%)	72
Patología vascular periférica	2 (5,6%)	39 (54,2%)	74

\*ND: dato no disponible. HTA: hipertensión arterial. TRS: tratamiento renal sustitutivo.

Como se menciona en los resultados, se detectaron 6 haplotipos PKD1 transmisores recombinados, pero no se puede descartar la presencia de otros que no hayan podido ser detectados por haberse producido en una generación anterior a la primera estudiada. No obstante, hay que tener en cuenta que las Islas Canarias han recibido en los últimos cinco siglos un flujo continuo de población foránea de origen europeo y africano, principalmente, por lo que no la consideramos estrictamente como una población aislada a pesar del carácter insular de su territorio.

Nuestro estudio no ha identificado a ningún portador del haplotipo transmisor asintomático [tabla I: sanos con genética (+)]. Sin embargo, hay que tener en cuenta que en 13 individuos sin quistes los marcadores no mostraron informatividad suficiente como para clasificarlos inequívocamente como portadores o no portadores (genética indeterminada). De ellos, 4 tienen menos de 30 años, por lo que es posible que entre estos sujetos haya portadores que hubieran sido detectados si la informatividad de los marcadores en esas familias concretas hubiese sido mayor.

A la luz de los resultados de éste y otros trabajos<sup>14</sup>, la ecografía sigue mostrándose como una técnica muy sensible y asequible para el diagnóstico presintomático de la PQRAD. Dada la relativa poca utilidad del diagnóstico a edad temprana, debido a la falta de tratamiento en la actualidad, el análisis de ligamiento estaría indicado sobre todo cuando se demanda consejo genético. Sin embargo, esto podría cambiar en el futuro, gracias a los avances en el conocimiento de los mecanismos moleculares de la enfermedad y genes modificadores, que podrían llevar, si bien no a curarla, sí al desarrollo de fármacos que frenaran su progresión<sup>29,30</sup>.

En resumen, a pesar de sus limitaciones, derivadas de la necesidad de que participe en los estudios familiares un número suficiente de individuos afectos y sanos, de la edad de los individuos con diagnóstico ecográfico negativo y de la informatividad de los marcadores para cada familia concreta, el análisis de ligamiento con dos series de marcadores polimórficos localizados en las inmediaciones de los genes PKD1 y PKD2 se ha mostrado como una herramienta útil para el diagnóstico genético de la PQRAD en nuestra población.

Agradecimientos: A las familias por su participación en este estudio, a la Fundación Mapfre Guanarteme su apoyo económico para la realización del mismo, y a la Obra Social de La Caja de Canarias los fondos que permitieron la compra de un secuenciador de ADN para la Unidad de Investigación del Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Agradecemos a Érika Hernández y Yaridé Hernández su colaboración en el laboratorio, y al Dr. Xosé Manuel Lens y su equipo (Hospital Clínico, Santiago de Compostela) y al Dr. Francisco Barros (Unidad de Medicina Molecular, Fundación Instituto Galego de Oftalmoloxía, Santiago de Compostela) su asesoramiento.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ceballos M, López-Revuelta K, Saracho R, García López F, Castro P, Gutiérrez JA y cols.: Informe de diálisis y trasplante correspondiente al año 2002 de la Sociedad Española de Nefrología y Registros Autonómicos. *Nefrología* XXV(2): 121-9, 2005.
- Gabow PA: Autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 329 (5): 332-42, 1993.
- The European Polycystic Kidney Disease Consortium. The polycystic kidney disease 1 gene encodes a 14 kb transcript and lies within a duplicated region on chromosome 16. *Cell* 78 (4): 725, 1994.
- Peters DJM, Spruit L, Saris JJ, Ravine D, Sandkuijl LA, Fossdal R y cols.: Chromosome 4 localization of a second gene for autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nat Genet* 5 (4): 359-62, 1993.
- Kimberling WJ, Kumar S, Gabow PA, Kenyon JB, Connolly CJ, Somlo S: Autosomal dominant polycystic kidney disease: localization of the second gene to chromosome 4q13-q23. *Genomics* 18 (3): 467-72, 1993.
- Kimberling WJ, Fain PR, Kenyon JB, Goldgar D, Sujansky E, Gabow PA: Linkage heterogeneity of autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 319 (14): 913-8, 1988.
- Peters DJ, Sandkuijl LA: Genetic heterogeneity of polycystic kidney disease in Europe. *Contrib Nephrol* 97: 128-39, 1992.
- Qian F, Germino FJ, Cai Y, Zhang X, Somlo S, Germino GC: PKD1 interacts with PKD2 through a probable coiled-coil domain. *Nat Genet* 16 (2): 179-83, 1997.
- Hanaoka K, Qian F, Boletta A, Bhunia AK, Piontek K, Tsiokas L y cols.: Co-assembly of polycystin-1 and -2 produces unique cation-permeable currents. *Nature* 408 (6815): 990-4, 2000.
- Barr MM, DeModena J, Braun D, Nguyen CQ, Hall DH, Sternberg PW: The Caenorhabditis elegans autosomal dominant polycystic kidney disease gene homologs lov-1 and pkd-2 act in the same pathway. *Curr Biol* 11 (17): 1341-6, 2001.
- Wilson PD: Polycystin: new aspects of structure, function, and regulation. *J Am Soc Nephrol* 12 (4): 834-45, 2001.
- Lens XM: Los nefrólogos y la poliquistosis renal. *Nefrología* XXI (5): 412-3, 2002.
- Ravine D, Gibson RN, Walker RG, Sheffield LJ, Kincaid-Smith P, Danks DM: Evaluation of ultrasonographic diagnostic criteria for autosomal dominant polycystic kidney disease 1. *Lancet* 343 (8901): 824-7, 1994.
- Nicolau C, Torra R, Badenas C, Vilana R, Bianchi L, Gilibert R y cols.: Autosomal dominant polycystic kidney disease types 1 and 2: assessment of US sensitivity for diagnosis. *Radiology* 213 (1): 273-6, 1999.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF: A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acid Res* 16: 1215, 1988.
- Peral B, Ward CJ, San Millán JL, Thomas S, Stallings RL, Moreno F, Harris PC: Evidence of linkage disequilibrium in the Spanish polycystic kidney disease I population. *Am J Hum Genet* 54 (5): 899-908, 1994.
- Coto E, Sanz de Castro S, Aguado S, Álvarez J, Arias M, Menéndez MJ, López-Larrea C: DNA microsatellite analysis of families with autosomal dominant polycystic kidney disease types 1 and 2: evaluation of clinical heterogeneity between both forms of the disease. *J Med Genet* 32 (6): 442-5, 1995.
- San Millán JL, Viribay M, Peral B, Martínez I, Weissenbach J, Moreno F: Refining the localization of the PKD2 locus on chromosome 4q by linkage analysis in Spanish families with autosomal dominant polycystic kidney disease type 2. *Am J Hum Genet* 56 (1): 248-53, 1995.
- Elston RC: Linkage and association to genetic markers. *Exp Clin Immunogenet* 12 (3): 129-40, 1995.
- Lathrop GM, Lalouel JM: Easy calculations of lod scores and genetic risks on small computers. *Am J Hum Genet* 36(2): 460-5, 1984.
- Lee JG, Lee KB, Kim UK, Ahn C, Hwang DY, Hwang YH y cols.: Genetic heterogeneity in Korean families with auto-

- mal-dominant polycystic kidney disease (ADPKD): the first Asian report. *Clin Genet* 60 (2): 138-44, 2001.
22. Torra R, Badenas C, Darnell A, Nicolau C, Volpini V, Revert L, Estivill X: Linkage, clinical features, and prognosis of autosomal dominant polycystic kidney disease types 1 and 2. *J Am Soc Nephrol* 7 (10): 2142-51, 1996.
  23. Deltas CC, Christodoulou K, Tjakouri C, Pierides A: Presymptomatic molecular diagnosis of autosomal dominant polycystic kidney disease using PKD1- and PKD2-linked markers in Cypriot families. *Clin Genet* 50 (1): 10-8, 1996.
  24. Dib C, Faure S, Fizames C, Samson D, Drouot N, Vignal A y cols.: A comprehensive genetic map of the human genome based on 5,264 microsatellites. *Nature* 380 (6570): 152-4, 1996.
  25. Aguado S: Diagnóstico convencional y genético en la poliquistosis renal autosómica dominante (PQRAD). Implicaciones sobre el consejo genético. *Nefrología* XV (Supl. 1): 11-4, 1995.
  26. Torra R, Badenas C, Darnell A, Nicolau C, Volpini V, Revert L, Estivill X: Estudio clínico, genético y molecular de la poliquistosis renal autosómica dominante tipos 1 y 2. *Med Clin (Barc)* 110: 481-7, 1998.
  27. Yersin C, Bovet P, Wauters JP, Schorderet DF, Pescia G, Paccaud F: Frequency and impact of autosomal dominant polycystic kidney disease in the Seychelles (Indian Ocean). *Nephrol Dial Transplant* 12: 2069-74, 1997.
  28. Santana A, Salido E, Torres A, Shapiro LJ: Primary hyperoxaluria type 1 in the Canary Islands: a conformational disease due to I244T mutation in the P11L-containing alanine glyoxylate aminotransferase. *Proc Natl Acad Sci USA* 100 (12): 7277-82, 2003.
  29. Coto E: Genómica, farmacogenómica y medicina en el siglo XXI. *Nefrología* XX (3): 209-13, 2000.
  30. Torres VE: Therapies to slow polycystic kidney disease. *Nephron Exp Nephrol* 98(1): 1-7, 2004.