

BIOLOGIA MOLECULAR EN NEFROLOGIA

Biología molecular de la enfermedad dominante del riñón poliquístico del adulto

E. Coto, S. Aguado, M. J. Menéndez, J. Alvarez, S. Sanz de Castro, M. Arias, Carlos López-Larrea
Laboratorio de Biología Molecular. (E.C., M.J.M.), Servicio de Inmunología (C.L.L.) y Servicio de Nefrología (S.A.J.A.). Hospital Central de Asturias. Oviedo. Servicio de Nefrología (S.C.C., M.A.). Hospital Valdecilla. Santander.

Introducción

La poliquistosis renal del adulto (ADPKD, del inglés «adult dominant polycystic kidney disease») es la enfermedad hereditaria dominante más frecuente. Aproximadamente una de cada mil personas en nuestra población es portadora de una mutación en uno de los genes implicados en esta enfermedad (McKusick, 1988). Estas formas «anómalas» de al menos dos genes que aún no han sido caracterizados predisponen a los portadores a desarrollar quistes renales con probabilidad creciente con la edad. Los quistes crecen en número y tamaño hasta comprometer la función renal, por lo que el destino de la mayor parte de los portadores es ingresar en los programas de diálisis y trasplante renal. Aproximadamente el 15 % de las personas que precisan hemodiálisis padecen esta enfermedad hereditaria (Bear y cols., 1984).

Al tratarse de una enfermedad hereditaria, los pacientes con poliquistosis renal del adulto forman parte de familias en las que hay varios enfermos. Por ser una enfermedad dominante, cualquier persona portadora tiene una probabilidad del 50 % de transmitir a un hijo la forma anómala del gen (Bear y cols., 1991; Zerres, 1992).

La forma clásica de diagnóstico precoz de la enfermedad es la ecografía. Cuando alcanzan un tamaño suficiente, los quistes pueden ser detectados en los portadores a través de los análisis ultrasonográficos. Sin embargo, muchos portadores no empiezan a mostrar quistes hasta cumplir los 30-35 años. Estas personas son portadoras sin saberlo, padecerán la enfermedad y la transmitirán a sus hijos (Bear y cols., 1989; Watson y cols., 1990).

En la década de los 80, la biología molecular sentó

las bases para la descripción de los genes implicados en las enfermedades hereditarias más frecuentes, entre ellas la poliquistosis renal dominante del adulto (Germino y Reeders, 1989). La característica más sobresaliente de todo este proceso experimental es la posibilidad de describir el gen sin conocer la proteína implicada, incluso sin saber nada del defecto a nivel fisiológico. Todo el procedimiento experimental ha sido designado como «genética reversa» o «genética posicional». Entre sus éxitos cabe destacar la clonación de decenas de genes involucrados en patologías, entre ellas la fibrosis quística, el síndrome del cromosoma-X frágil, las neurofibromatosis o, más recientemente, la corea de Huntington (Orkin, 1986).

La primera fase en la aproximación al gen consiste en localizarlo en una región de un cromosoma, describiendo una serie de marcadores polimórficos del ADN en el entorno de dicho gen. Hasta la caracterización definitiva del gen, la descripción de su función y la identificación de las mutaciones que provocan la enfermedad pueden pasar años. Hasta la fecha, el caso más extremo lo representa la corea de Huntington, asignada al cromosoma 4 en 1984 y cuyo gen fue identificado a finales de 1992. Pese a la lentitud que conlleva el proceso, el simple hecho de localizar el gen en una zona de un cromosoma es un avance trascendental en el diagnóstico de la enfermedad, y en muchos casos tiene implicaciones en su tratamiento (Kerem y cols., 1989 y 1990; Collins, 1992).

La era de la genética molecular de la poliquistosis renal del adulto empezó en 1985, cuando el gen implicado en la mayoría de las familias fue asignado al brazo corto del cromosoma 16 (Reeders y cols., 1985b). Desde entonces, la colaboración de varios laboratorios de Europa y Estados Unidos permitió restringir la región del genoma conteniendo este gen a unos 500.000 pares de bases (500 kilobases) (Germino y cols., 1992; Graw y cols., 1992). En el camino se han ido describiendo decenas de marcadores polimórficos cada vez más próximos a este gen (Breuning y cols., 1990). Estas herramientas de la genética molecular hacen posible el

Correspondencia: Dr. Eliecer Coto.
Servicio de Inmunología.
Hospital Central de Asturias.
c/ Julián Clavería.
33006 Oviedo.

diagnóstico con probabilidad casi total en cualquier familia afectada (Coto y cols., 1992b).

Esta revisión analiza nuestros conocimientos sobre la genética molecular de la poliquistosis renal dominante del adulto.

En busca del gen: marcadores polimórficos del ADN y mapas del genoma

La «genética posicional» es un procedimiento tecnológicamente complejo. Para llegar al gen se parte de familias con varios afectados por la enfermedad. Los miembros de estas familias son analizados con decenas de marcadores polimórficos del ADN distribuidos por los 22 cromosomas del genoma humano (se excluyen los cromosomas X e Y en las enfermedades que, como la poliquistosis renal, no muestran ligamiento al sexo) (Bostein y cols., 1980). Las variaciones en la secuencia del ADN entre individuos normales fueron descritas por primera vez en el gen de la B-globina. Estas variaciones en la secuencia del ADN entre las personas pueden analizarse mediante el empleo de enzimas de restricción y del proceso conocido como «Southern blotting» (Jeffreys, 1979; Bostein y cols., 1980). Otra técnica que permite estudiar los polimorfismos o variaciones en cualquier región del genoma es la conocida como reacción en cadena de la polimerasa o PCR. La PCR se ha convertido en una tecnología biomédica fundamental, siendo aplicada en campos tan dispares como el análisis genético y el diagnóstico microbiológico. El procedimiento es rápido, barato y automatizado, y permite amplificar específicamente mediante una ADN polimerasa la secuencia comprendida entre dos oligonucleótidos empleados como cebadores de la síntesis del ADN (Saiki y cols., 1988) *.

Los marcadores polimórficos del ADN que se emplean en los análisis genéticos son de varios tipos, pero todos ellos permiten distinguir los dos cromosomas de una persona y seguir su segregación o herencia de padres a hijos. Si uno de estos marcadores polimórficos del ADN está cerca del gen implicado en la enfermedad, todos los enfermos en una familia compartirán la misma variante o alelo del marcador. Esto es una consecuencia de tener el mismo cromosoma que porta el gen «anómalo», que todas esas personas habrán heredado del mismo progenitor. En el caso contrario, el de un marcador situado en un cromosoma diferente al que contiene el gen implicado, los enfermos y sus parientes sanos pueden mostrar el mismo alelo. Es decir, el cromosoma analizado está presente tanto en personas afectadas como en sanas, por lo que no puede

contener el gen implicado en el desarrollo de la enfermedad hereditaria.

Mediante este procedimiento, el gen sobre el que actúan las mutaciones responsables de la poliquistosis renal del adulto fue asignado en 1985 al brazo corto del cromosoma 16. Un marcador polimórfico de esa región y más de 20 familias afectadas permitieron esta localización (Reeders y cols., 1985a). Los marcadores empleados en los estudios familiares son de tres tipos: fragmentos de restricción de longitud variable, secuencias de ADN repetidas en tándem un número variable de veces y secuencias microsatélites. A continuación se resume la base genética de estos polimorfismos y su aplicación a los estudios familiares en el caso de la poliquistosis renal del adulto.

Secuencias repetidas en tándem un número variable de veces

El genoma humano contiene secuencias de varios nucleótidos que aparecen repetidas un número variable de veces. Estas secuencias se designan como VTR o HVR (del inglés «variable tandem repeat» y «high variable repeat»). Cuando se corta el ADN de varias personas con un enzima de restricción que flanquea estas secuencias y se procede al análisis de la longitud de los fragmentos mediante el proceso conocido como «Southern blotting», se observa que la mayoría de las personas presentan dos alelos (Old, 1988). Esto quiere decir que los dos cromosomas de cada persona son diferentes para esa secuencia. Más aún, por existir decenas de alelos diferentes en la población, la probabilidad de que dos personas no emparentadas compartan uno de ellos es muy baja, por lo que estos marcadores son empleados en los estudios de paternidades.

En el brazo corto del cromosoma 16, cerca del gen más frecuentemente implicado en la poliquistosis renal del adulto (en lo sucesivo emplearemos la denominación internacionalmente aceptada para este gen: PKD1 por «polycystic kidney disease type 1») hay una región HVR. Esta consiste en una secuencia de 16 pares de bases repetida un número variable de veces (Jarman, 1986). Este marcador polimórfico del ADN permitió en 1985 asignar el gen PKD1 al cromosoma 16 (Reeders y cols., 1986). El elevado grado de polimorfismo de este marcador permite distinguir en la mayoría de las familias los cuatro cromosomas de los padres, definiendo cuál de ellos transmite la enfermedad y detectando a los portadores que aún no presentan síntomas (Reeders y cols., 1987) (fig. 1).

Fragmentos de restricción de longitud variable

Las secuencias VTR o HVR pueden ser englobadas dentro del tipo de marcadores que muestran variación

* En esta revisión no se detallan los fundamentos teóricos prácticos de las técnicas de biología molecular empleadas en nuestros estudios. Estas aparecen descritas en decenas de artículos y libros, algunos de los cuales son incluidos en la bibliografía.

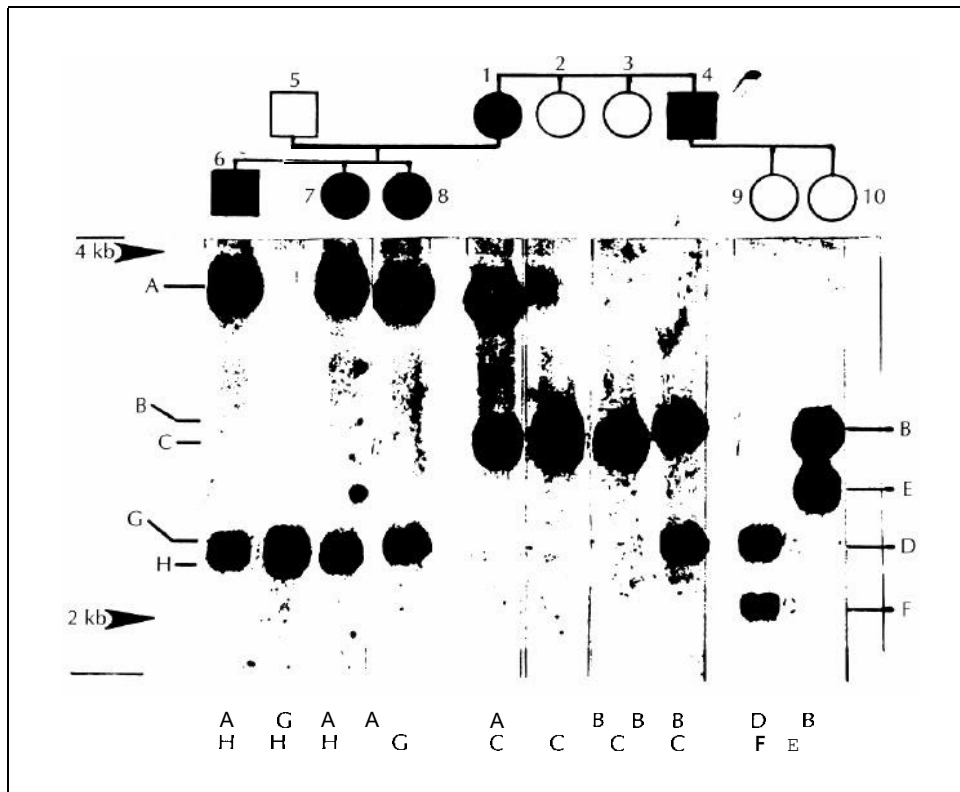


Fig. 1.-Polimorfismo de la región HVR cercana al gen PKD1 en una familia afectada por poliquistosis renal del adulto. En cada persona las bandas proceden de los dos cromosomas 16. En esta familia, las personas 6 (31 años), 7 (33 años) y 8 (36 años) han recibido el cromosoma con el alelo HVR-A de su madre (número 1, 65 años). La persona 4 (55 años) no tiene este cromosoma pese a estar enferma. Un análisis con otros marcadores cercanos a PKD1 demuestra que 4 ha heredado un cromosoma recombinante en el que la mutación en PKD1 se transmite asociada a un cromosoma con el alelo HVR-6, por lo que una hija de 4 (número 10, 22 años) que ha heredado este cromosoma sería portadora asintomática. kb = miles de pares de bases o kilobases; □ = varón sano; ■ = varón afectado por poliquistosis renal; ● = hembra sana; ○ = hembra afectada por poliquistosis renal.

en longitud cuando se digiere el ADN con un enzima de restricción. Estos marcadores se designan como RFLPs (del inglés «restriction fragment length polymorphisms»). Existe otro tipo de marcador con esta característica, pero exhibe un número mucho más reducido de alelos, con frecuencia sólo dos. Estas secuencias contienen o no la diana de restricción para un enzima determinado, de forma que tras el análisis mediante el método de «Southern» se pueden distinguir dos fragmentos: uno de mayor tamaño (la diana de restricción no está presente), y otro de menor tamaño, o dos fragmentos que sumados nos dan el de mayor tamaño (la diana de restricción está presente).

Para el estudio de estos marcadores dialélicos se aplica con frecuencia la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), una técnica que permite amplificar la región que contiene el sitio polimórfico específicamente (Saiki y cols., 1988; Weber y May, 1989). La posterior digestión con el enzima y la electroforesis en un gel de agarosa nos permiten definir cómo son los dos cromosomas de cada persona: si los dos tienen (o no tienen) la diana de restricción, la persona es homocigota, y si un cromosoma la tiene y el otro no, la persona es heterocigota.

Al tratarse de unos polimorfismos con sólo dos alelos la probabilidad de que en una familia el progenitor que transmite la enfermedad sea homocigoto (es decir,

no sea informativo) es elevada. Por tanto, distinguir sus dos cromosomas es más difícil, y el éxito en el diagnóstico es muy limitado. Sin embargo, se pueden analizar conjuntamente los resultados de varios de estos marcadores localizados en el entorno del gen implicado en la enfermedad. Ello incrementa la informatividad y hace posible el diagnóstico en la mayoría de los casos.

Se han descrito decenas de marcadores RFLPs a ambos lados del gen PKD1 (Breuning y cols., 1987b; Breuning y cols., 1990a; Hyland y cols., 1990; Wolf y cols., 1988). La figura 2 representa el análisis de uno de ellos mediante PCR y digestión con un enzima de restricción en una familia afectada por poliquistosis renal del adulto.

Secuencias microsatélites

Esparcidas por el genoma humano existen secuencias de dos, tres o cuatro nucleótidos repetidas en tándem un número muy variable de veces. Estas secuencias son designadas como microsatélites y se han convertido en la herramienta más poderosa para la elaboración de mapas del genoma (Jeffreys y cols., 1985; Goodfellow, 1993). Para analizar estos marcadores se precisa amplificar específicamente una secuencia que

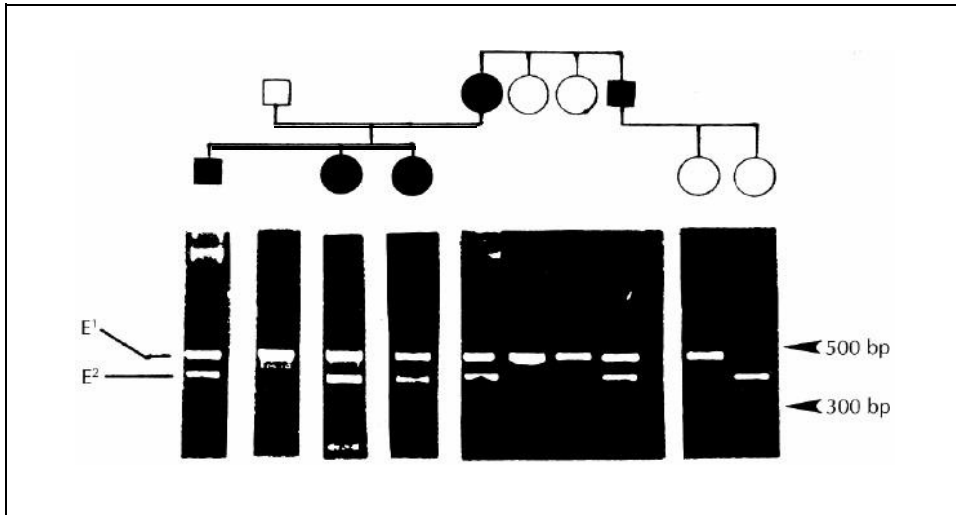


Fig. 2.-Polimorfismo de restricción (enzima *Bst*NI) de la región 26.6, cercana al gen *PKD1*, en la misma familia representada en la figura 1. Los dos alelos de este polimorfismo, E1 y E2, son reconocidos en esta familia. El gen *PKD1* se halla entre los marcadores HVR y 26.6, por lo que un análisis conjunto de estos marcadores permite definir los haplotipos y detectar cromosomas recombinantes. bp = pares de bases.

los contiene mediante la reacción en cadena de la polimerasa. Para distinguir por el tamaño un alelo de otro (que puede diferir en tan sólo dos bases), el producto de la reacción debe ser sometido a electroforesis en un gel de secuenciación, en el que la matriz es poliacrilamida en lugar de agarosa. El mayor requerimiento tecnológico es compensado por el elevado grado de informatividad que estos marcadores proporcionan. Como sucede con los marcadores VTR o HVR, es muy probable que en una persona se puedan diferenciar ambos cromosomas, lo cual permite asignar qué cromosoma lleva la copia «anormal» del gen y quiénes lo han heredado.

Muy cerca del gen *PKD1* hay varios marcadores microsatélites que son empleados en los estudios de las familias afectadas (Harris, 1991). La figura 3 representa un análisis familiar con uno de estos marcadores polimórficos.

Recombinación, haplotipos y diagnóstico de portadores

El análisis de una familia con un solo marcador muy polimórfico, como los VTR-HVR y los microsatélites, permite un diagnóstico rápido y casi seguro de los portadores (Breuning y cols., 1987a). El mayor problema para basar el diagnóstico en un solo marcador recae en el fenómeno de la recombinación meiótica. *PKD1* y cualquiera de los marcadores antes descritos están separados por cierta distancia. En la gametogénesis tiene lugar un intercambio entre el material de los dos cromosomas homólogos. Regiones de un cromosoma 16 pueden pasar a su homólogo, apareciendo un cromosoma nuevo. Por ello, la relación entre los marcadores polimórficos y el gen *PKD1* que se observa en un progenitor puede no ser la observada en alguno de sus hijos. De esta forma, en base al análisis de un solo

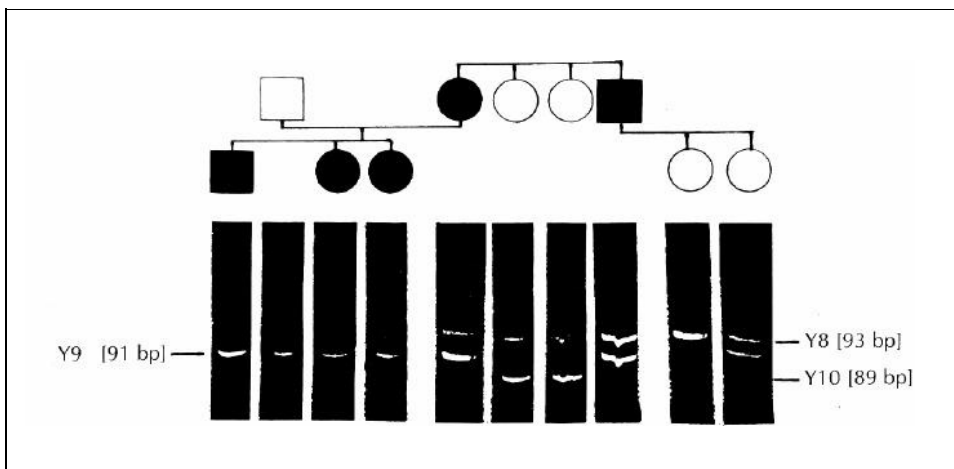


Fig. 3.-Polimorfismo del marcador microsatélite SM7 en la familia representada en las figuras 1 y 2. Este microsatélite consiste en la secuencia de dos nucleótidos -CA- repetida un número variable de veces. Hasta 10 tipos de cromosomas se pueden observar en nuestra población en base al número de repeticiones. En esta familia hay tres alelos, Y8 (93 pares de bases —bp—), Y9 (97 bp) y Y10 (89 bp). SM7 es uno de los marcadores polimórficos más próximos a *PKD1* y su análisis combinado con HVR y 26.6 permite construir haplotipos muy completos. *PKD1* se halla entre SM7 y HVR y el análisis de los haplotipos nos permitirá identificar cromosomas recombinantes.

marcador podríamos cometer errores en el diagnóstico debidos a recombinaciones. Personas que llevan el alelo asignado a la enfermedad en su familia podrían no ser portadoras, y personas diagnosticadas como no portadoras podrían en realidad serlo. La probabilidad de cometer este error en el diagnóstico depende de la frecuencia de recombinación entre el gen PKD1 y el marcador empleado, y ésta es una función de la distancia entre ambos. Así, el marcador HVR y PKD1 están separados por 5 centiMorgans; es decir, en el 5 % de las meiosis tiene lugar una recombinación entre HVR y PKD1 (Watson y cols., 1987). En el hombre, una fracción de recombinación del 1 % entre dos genes o marcadores genéticos equivale a una distancia física entre ellos de aproximadamente un millón de bases.

Las personas que portan cromosomas recombinantes dentro de una familia pueden ser detectadas analizando varios marcadores que flanquean el gen PKD1 por ambos lados. Los alelos de los diferentes marcadores que una persona recibe de uno de sus padres definen lo que se conoce como un haplotipo. Todos estos alelos se transmiten en bloque porque están físicamente ligados en el mismo cromosoma. Si una persona hereda un cromosoma con una recombinación entre un marcador y el gen PKD1 todos los alelos de los marcadores en la dirección de PKD1 pertenecerán al cromosoma homólogo.

Un detenido análisis de varios polimorfismos en una familia permite definir los haplotipos, identificar las recombinaciones y diagnosticar con fiabilidad casi total a los portadores de cromosomas con la forma anormal del gen PKD1 (Coto y cols., 1992a). La figura 4 ejemplifica este tipo de análisis.

Los análisis familiares de cualquier marcador polimórfico nuevo de la región PKD1 permiten determinar el grado de recombinación entre ambos. De dos marcadores estará más cerca del gen el que muestre menos recombinaciones con PKD1 (Ott, 1986). Este tipo de argumentación experimental permite describir la región que contiene al gen PKD1 elaborando mapas genéticos del entorno de este gen (Keith y cols., 1990). Este se hallará entre los dos marcadores flanqueantes con los que manifieste menos recombinaciones (Germino y cols., 1990). Desde su localización cromosómica en 1985 hasta nuestros días, la región que contiene al gen PKD1 se ha reducido a unos 500.000 pares de bases (Reeders y cols., 1988; Harris y cols., 1990; Germino y cols., 1992) (fig. 5). Para muchos genes este tamaño es suficiente para conseguir su identificación o clonación, ya que el propio gen es mayor, los marcadores más próximos son intragénicos y esta región contiene una sola secuencia codificadora. Este no es el caso de PKD1 ya que en esas 500 kilobases hay aproximadamente 20 genes diferentes y casi todos se expresan en

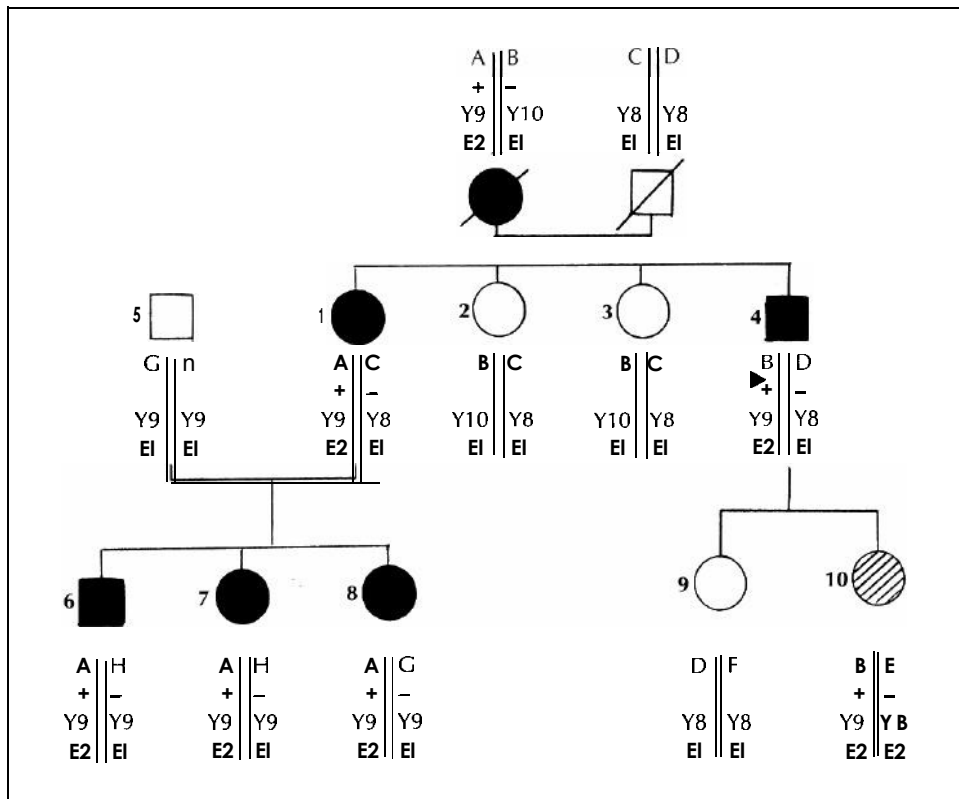


Fig. 4.-Haplotipos definidos por los marcadores HVR, SM7 y 26.6 en los miembros de la familia representada en las figuras 1, 2 y 3. Obsérvese la presencia de dos cromosomas diferentes con la mutación en PKD1 En 1 y sus hijos 6, 7 y 8, la mutación segrega con el cromosoma HVR.A/PKD 1 +/SM7. Y9/26.6. E2 (PKD1+ indica un gen PKD1 con mutación y PKD1- un gen PKD1 normal). La persona número 4 ha heredado un cromosoma 16 recombinante definido por los alelos B/PKD 1 +/Y9/E2. Este cromosoma procede de un intercambio entre los dos cromosomas 16 del padre afectado. La recombinación tuvo lugar entre el marcador HVR y el gen PKD1 (flecha), y el nuevo cromosoma portador de la mutación en PKD1 ha sido heredado por la persona 10, que es una portadora asintomática de la enfermedad dominante del riñón poliquístico del adulto.

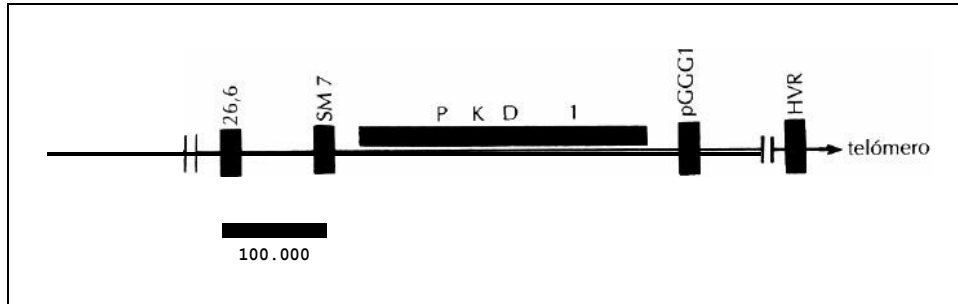


Fig. 5.-Mapa físico de los marcadores polimórficos ligados al gen PKD1 en el brazo corto del cromosoma 16. El gen PKD1 se halla en una región de unos 500.000 pares de bases entre los marcadores SM7 y pGGG1. bp = pares de bases.

las células renales (Somlo y cols., 1992). De esta forma, lo que debería ser una tarea sencilla se ha convertido en un reto difícil: definir cuál de los 20 candidatos es el gen PKD1 determinar su función biológica y describir la naturaleza de las mutaciones que provocan la enfermedad.

Una forma alternativa de la poliquistosis renal del adulto

En algunas familias afectadas por poliquistosis renal del adulto, la enfermedad se debe a mutaciones en un gen diferente a PKD1. Estas familias se reconocen porque no se puede identificar un cromosoma 16 común a la mayoría de las personas enfermas y que esté ausente en la mayoría de las sanas (Kimberling y cols., 1988; Romeo y cols., 1988; Coto y cols., 1992a). Ha sido estimado en aproximadamente el 15 % el porcentaje de familias que presentan esta forma alternativa de la poliquistosis renal del adulto, desconociéndose si se trata de un solo gen o de varios genes (Pieke y cols., 1989). En algunas de estas familias se ha sugerido la segregación de la enfermedad con un gen del cromosoma 2, pero son necesarios más análisis sobre familias de gran tamaño, con muchos afectados, para localizar el o los genes alternativos.

El hecho de que la poliquistosis renal sea una enfermedad genéticamente heterogénea introduce una limitación en el diagnóstico. Cualquier familia afectada debe tener un número mínimo de pacientes accesibles al estudio. El consenso acordado por los laboratorios europeos establece que una familia debe tener al menos tres pacientes con poliquistosis (quistes ecográficos) y dos personas sanas mayores de 40 años (sin quistes ecográficos) descendientes del progenitor que transmitió la enfermedad. Si se trata de la forma clásica, debida a mutaciones en PKD1 se observará un mismo cromosoma 16 en todos los pacientes, careciendo de él los sanos (Reeders y cols., 1987).

La mayoría de los laboratorios que han analizado al menos 15 familias han hallado al menos una con la forma alternativa de la enfermedad (Pieke y cols., 1989; Mandich y cols., 1990). Nuestro grupo ha descrito una

entre 20 estudiadas (Coto y cols., 1992a). Las figuras 4 y 6 representan familias con las formas clásica y alternativa de poliquistosis renal del adulto, respectivamente.

Análisis genéticos y estudios clínicos

Una de las posibilidades del análisis molecular en familias afectadas por la poliquistosis renal del adulto es la de correlacionar parámetros clínicos con el hecho de ser portador de mutaciones en el gen PKD1. Varios estudios han definido entre los 30 y los 35 años la edad máxima de aparición de los quistes detectables mediante ecografía (Dalgaard, 1985). Nosotros observamos en un estudio realizado sobre 15 familias que la ecografía renal es un método muy fiable para detectar portadores cuando éstos tienen más de 30 años. Sin embargo, un porcentaje considerable de los menores de 30 años permanece asintomático (Coto y cols., 1992a y 1992b).

El consejo genético es uno de los beneficios que estas personas obtienen (Reeders y cols., 1989b). Para cualquier enfermedad hereditaria, el conocimiento de su naturaleza portadora permite a una persona tomar una decisión fundamentada sobre su descendencia. Un portador sabe que tiene una probabilidad del 50 % de tener hijos portadores (Zerres, 1986; Reeders y cols., 1989a; Parfrey y cols., 1990).

Varios estudios han analizado también en los portadores parámetros como la hipertensión, niveles de creatinina en sangre, eficacia de una dieta baja en proteínas para mejorar la calidad de vida de los portadores, etc (Bell y cols., 1982; Alvestrand y cols., 1983; Cabow, 1990; Florijn y cols., 1992; Cretz y cols., 1992).

Un hallazgo interesante apunta una diferencia clínica entre las formas clásica y alternativa de la enfermedad. Aunque el número de familias con poliquistosis renal debida a mutaciones en un gen diferente a PKD1 es reducido, en casi todas ellas los síntomas clínicos aparecen tardía, y su curso clínico es más lento. Los pacientes de estas familias precisan hemodiálisis a edad más tardíamente que los pacientes con la forma clásica (Bear y cols., 1989).

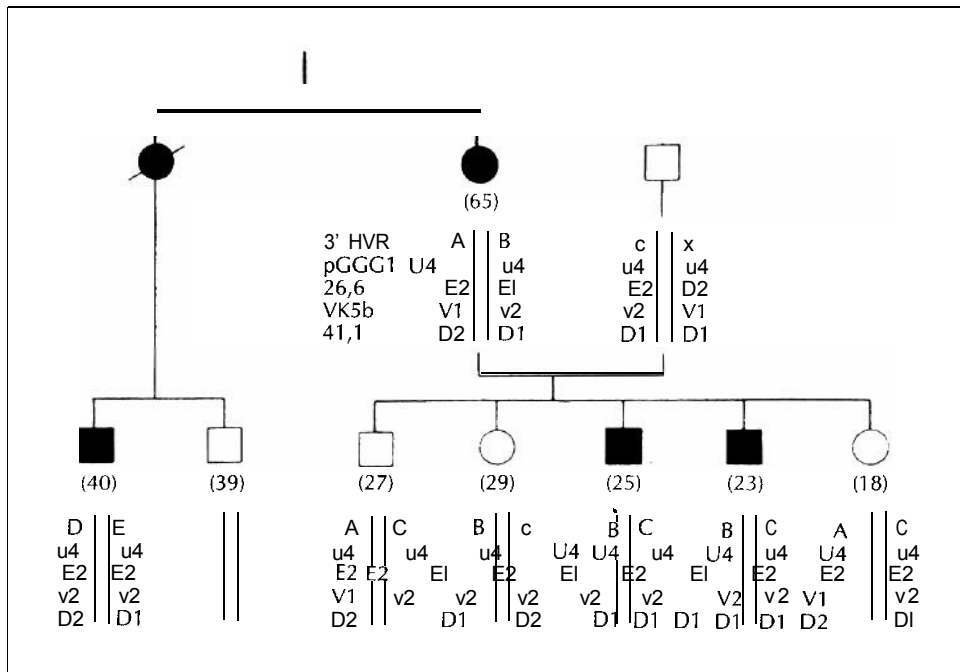


Fig. 6.-Haplotipos definidos por varios marcadores polimórficos ligados al gen PKD1 en una familia afectada por la forma alternativa de la poliquistosis renal del adulto. Como se puede observar, no existe un cromosoma 16 común a todas las personas enfermas, por lo que debe ser excluida una mutación en el gen PKD1 como responsable de la enfermedad en esta familia. El gen PKD1 se halla entre los marcadores pGGG1 y 26.6.

Futuro de la genética molecular en la poliquistosis renal del adulto

Una de las mayores limitaciones para el progreso en el tratamiento de la poliquistosis renal del adulto radica en el hecho de que desconocemos cuál es el defecto a nivel fisiológico. La imposibilidad de diseñar terapias racionales ha concentrado todas las expectativas en la clonación del gen. Un precedente muy ilustrativo lo proporciona la fibrosis quística de páncreas. En 1989 fue clonado el gen implicado en esta enfermedad, designado como CFTR. En los tres años transcurridos, la biología molecular ha aclarado la función de la proteína (un conducto para el cloro), la regulación celular de su expresión y la naturaleza de las mutaciones responsables de la enfermedad (Kerem y cols., 1989; Gregory y cols., 1990; Collins, 1992). El objetivo final de todo este esfuerzo, la mejora de la calidad de vida de los enfermos, es una posibilidad prometedora. El conocimiento de la base molecular de la enfermedad ha permitido diseñar terapias farmacológicas y, en último extremo, ensayar los primeros protocolos de terapia genética. La detección directa de las mutaciones hace posible diagnosticar de forma rápida y segura a los portadores. En el caso de la poliquistosis renal, el análisis directo de las mutaciones haría posible el diagnóstico directo de cualquier persona con antecedentes familiares de la enfermedad, permitiendo superar la barrera impuesta por el tamaño familiar mínimo.

Siguiendo este hilo argumental podríamos concluir que en la poliquistosis renal dominante del adulto

habrá un antes y un después de la clonación del gen PKD1. La Nefrología debe ver con las mejores expectativas el trabajo de la biología molecular sobre esta enfermedad.

Recientemente dos grupos han descrito el ligamiento de la poliquistosis con varios marcadores del cromosoma 4 (brazo largo) en varias familias que presentaban una forma alternativa de la enfermedad (Peters, D.J.M. et al. *Nature Genetics*. 5: 359-362, 1993; Kimberling, W.J. et al. *Genomics* 1994, en prensa).

Agradecimientos

Los autores deseamos expresar nuestra gratitud a todas aquellas personas que colaboran con nosotros en los estudios de las familias afectadas por poliquistosis renal.

Todo nuestro trabajo depende de la colaboración de las familias afectadas, a cuyos miembros mostramos nuestro agradecimiento.

Bibliografía

Alvestrand A, Ahlberg M y Bergström J: Retardation of the progression of renal insufficiency in patients treated with low-protein diets. *Kidney Int* 24 (supl. 16):S268-S272, 1983.
 Bear JC, McManamon P, Morgan J, Payne RH, Lewis H, Gault MH y Churchill DN: Age at clinical onset and at ultrasonographic detection of adult polycystic kidney disease: Data for genetic counselling. *Am J Med Genet* 18:45-53, 1984.

- Bear JC, Parfrey PS, Morgan J, Cramer BC, McManamon PJ, Gault MH, Churchill DN, Singh M, Hewitt R, Somlo S y Reeders ST: Autosomal dominant polycystic kidney disease: Ultrasonographic detection and prognosis of PKD1 and PKD2 forms. *Am J Med Genet* 45:39-43, 1989.
- Bear JC, Parfrey PS, Morgan JM, Martin CJ y Cramer BC: Autosomal dominant polycystic kidney disease: New information for genetic counselling. *Am J Hum Genet* 49 (sup.): A226, 1991.
- Bell PE, Hossack KF, Gabow PA, Durr JA, Johnson AM y Schrier RW: Hypertension in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int* 34:683-690, 1988.
- Bostein D, White RL, Skolnick MH v Davies RW: Construction of genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphism (RFLPs). *Am J Hum Genet* 32:314-331, 1980.
- Breuning MH, Reeders ST, Brunner H, Ijdo JW, Saris JJ, Verwest A, Van Ommen GJB v Pearson PL: Improved early diagnosis of adult polycystic kidney disease with flanking DNA markers. *Lancet* II:1 359-1361, 1987a.
- Breuning MH, Saris JJ, Wapenaar MC, DenDunnen JT, Van Ommen GJP, Callen DF, Sutherland D, Buys HCM y Pearson PL: New probes close to the gene for adult polycystic kidney disease (PKD1) on 16p (abstract). 9th International Workshop on Human Gene Mapping. *Cytogenet Cell Genet* 46:586, 1987b.
- Breuning MH, Snijdwint FC, Smits JR, Dauwerse JG, Saris JJ y Van Ommen GJ: A TaqI polymorphism identified by 26.6 (D16S125) proximal to the locus affecting adult polycystic kidney disease (PKD1) on chromosome 16. *Nucleic Acids Res* 18:3106, 1990a).
- Breuning MH, Snijdwint FGM, Brunner H, Verwest A, Ijdo JW, Saris JJ, Dauwerse JG, Blonden L, Keith T, Callen DF, Hyland VJ, Xiao CH, Scherer G, Higgs DR, Harris P, Bachner L, Reeders ST, Germino CC, Pearson PL y Van Ommen GJB: Map of 16 polymorphic loci on the short arm of chromosome 16 close to the gene involved in polycystic kidney disease (PKD1). *J Med Genet* 27:603-613, 1990b.
- Collins FS: Cystic fibrosis: Molecular Biology and therapeutic implications. *Science* 256:774-779, 1992.
- Coto E, Aguado S, Alvarez J, Menéndez MJ y López-Larrea C: Genetic and clinical studies in autosomal dominant polycystic kidney disease type I (ADPKD1). *J Med Genet* 29:243-246, 1992a.
- Coto E, Aguado S, Alvarez J, Sanz de Castro S, Arias M, Fernández Toral J, Benavides A, Hernando I, Plasencia A, Herrera J, Menéndez MJ y López-Larrea C: Diagnóstico de la poliquistosis renal dominante del adulto mediante análisis de los polimorfismos del ADN. *Med Clin (Barc)* 98:409-412, 199213.
- Dalgaard OZ: Bilateral polycystic disease of the kidney: A follow up of two hundred eighty-four patients and their families. *Acta Med Scand* (supl. 158):1-255, 1985.
- Florijn KW, Van Saase JLCM, Breuning MH y Chang PC: Autosomal-dominant polycystic kidney disease and hypertension: A review. En: *Contributions to Nephrology: Polycystic kidney disease*. Ed. Karger, 71-92, Basilea, 1992.
- Gabow PA: Autosomal dominant polycystic kidney disease. More than a renal disease. *Am J Kidney Dis* 16:403-414, 1990.
- Germino GG y Reeders ST: A molecular approach to autosomal dominant polycystic kidney disease. En: *Topics in renal medicine: Inheritance of kidney and urinary tract diseases*. Ed. Kluwer, Boston, 1989.
- Germino GG, Barton NJ, Lamb J, Higgs DR, Harris P, Scherer G, Nakamura Y y Reeders ST: Identification of a locus which shows no genomic recombination with the autosomal dominant polycystic kidney disease gene on chromosome 16. *Am J Hum Genet* 46:925-933, 1990.
- Germino GG, Weinstat-Saslow D, Himmelbauer H, Gillespie GA, Somlo S, Wirth B, Barton N, Harris KL, Frischauf AM y Reeders S: The gene for autosomal dominant polycystic kidney disease lies in a 750-kb CpG-rich region. *Genomics* 13:144-151, 1992.
- Goodfellow PN: Microsatellites and the new genetic maps. *Current Biology* 3:149-152, 1993.
- Graw SL, Schalling M, Housman D, Callen DF, Klingler, Landes G y Lerner T: Isolation and characterization of a candidate gene for autosomal-dominant polycystic kidney disease. En: *Contributions to Nephrology: Polycystic kidney disease*. Ed. Karger, 110-117, Basilea, 1992.
- Gregory R, Cheng SH, Rich DP, Marshal J, Paul S, Hehin K, Ostedgaard L, Klingler K, Welsh MJ y Smith AE: Expression and characterization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Nature* 347:382-387, 1990.
- Cretz N y Strauch M: Effect of a low-protein diet on the rate of progression of chronic renal failure in patients with polycystic kidney disease. En: *Contributions to Nephrology: Polycystic kidney disease*. Ed. Karger, 93-100, Basilea, 1992.
- Harris PC, Barton NJ, Higgs DR, Reeders ST y Wilkie AOM: A long-range restriction map between the α -globin complex and a marker closely linked to the polycystic kidney disease 1 (PKD1) locus. *Genomics* 7:195-206, 1990.
- Harris PC, Thomas S, Ratcliffe PJ, Breuning MH, Coto MH y López-Larrea C: Rapid genetic analysis of families with polycystic kidney disease 1 by means of a microsatellite marker. *Lancet* 338:1484-1487, 1991.
- Hyland VJ, Suthers GK, Friend K, MacKinnon RN, Callen DF, Breuning MH, Keith T, Brown VA, Phipps P y Sutherland GR: Probe VK5b is located in the same interval as the autosomal dominant adult polycystic kidney disease locus, PKD1. *Hum Genet* 84:286-288, 1990.
- Jarman AP, Nicholls RD, Weatherall DJ, Clegg JB y Higgs DR: Molecular characterization of a hypervariable region downstream of the human α -globin cluster. *EMBOJ* 5:1857-1863, 1986.
- Jeffreys AJ: DNA sequence variants in the Gy1, Ayy1, and β -globin genes. *Cell* 18:1-10, 1979.
- Jeffreys AJ, Wilson V y Thein SL: Hypervariable «minisatellite» regions in human DNA. *Nature* 314:67-73, 1985.
- Keith T, Green P, Reeders ST, Brown VA, Phipps P, Bricker A, Falls K, Rediker KS, Powers JA, Hogan C, Nelson C, Knowlton R y Donis-Keller H: Genetic linkage map of 46 DNA markers on human chromosome 16. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:5754-5758, 1990.
- Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, Buchwald M y Tsui LC: Identification of the cystic fibrosis gene: Genetic analysis. *Science* 245:1073-1080, 1989.
- Kerem E, Corey M, Kerem B, Rommens J, Markiewicz D, Levison H, Tuxi L y Durie P: The relation between genotype and phenotype in cystic fibrosis. Analysis of the most common mutation (DF508). *New Engl J Med* 323:1517-1522, 1990.
- Kimberling WJ, Fain PR, Kenyon JB, Goldgar D, Sujansky E y Gabow PA: Linkage heterogeneity of autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 319:913-918, 1988.
- Mandich P, Restagno G, Novelli G, Bellone E y Potenza L: Autosomal dominant polycystic kidney disease: A linkage evaluation of heterogeneity in Italy. *Am J Med Genet* 35:579-581, 1990.
- McKusick VA: Mendelian inheritance in man. Catalogs of autosomal dominant, autosomal recessive and X-linked phenotypes, 8th ed. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 1988.
- Old JM: Fetal DNA analysis. En: *Human genetic disease. A practical approach*. IRL Press, 1-17, Oxford, 1986.
- Orkin SH: Reverse genetics and human disease. *Cell* 47:845-850, 1986.
- Ott J: A short guide to linkage analysis. En: *Human Genetic disease. A practical approach*. IRL Press, 19-32, Oxford, 1986.
- Parfrey PS, Bear JC, Morgan J, Cramer BC, McManamon PJ, Gault MH, Churchill DN, Singh M, Hewitt R, Somlo S y Reeders ST: The diagnosis and prognosis of autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 323:1085-1090, 1990.
- Pieke SA, Kimberling WJ, Kenyon JB y Gabow P: Genetic heterogeneity of polycystic kidney disease: an estimate of the proportion of families unlinked to chromosome 16. *Am J Hum Genet* 45:58, 1989.
- Reeders ST, Breuning MH, Davies KE, Nicholls DR, Jarman AJ, Higgs DR, Pearson PL y Weatherall DJ: A highly polymorphic DNA marker linked to adult polycystic kidney disease on chromosome 16. *Nature* 317:542-544, 1985a.
- Reeders ST, Breuning MH, Davies KE, Meera Khan P, Jeremiah SJ, Corney G, Nicholls RD, Higgs DR, Pearson PL y Weatherall DJ: Adult polycystic kidney disease is linked to the α -globin and phosphoglycolate phosphatase loci on chromosome 16. *Cytogenet Cell Genet* 40:729, 1985b.
- Reeders ST, Breuning MH, Corney G, Jeremiah SJ, Meera Khan P, Davies KE, Hopkinson DA, Pearson PL y Weatherall DJ: Two genetic

E. COTO y cols.

markers closely linked to adult polycystic kidney disease on chromosome 16. *Br Med J* 292:851-853, 1986.

Reeders ST, Breuning MH, Ryyanen MA, Wright AF, Davies KE, Kily AW, Watson ML y Weatherall DJ: A study of genetic linkage heterogeneity in adult polycystic kidney disease. *Hum Genet* 76:348-351, 1987.

Reeders ST, Keith T, Green P, Germino CC, Baton NJ, Lehmann OJ, Brown VA, Phipps P, Morgan J, Bear JC y Parfrey P: Regional localization of the autosomal dominant polycystic kidney disease locus. *Genomics* 3:150-155, 1988.

Reeders ST, Germino GG y Gillespie GAJ: Recent advances in the genetics of renal cystic disease. *Mol Biol Med*. 6:81-86, 1989a.

Reeders ST, Germino GG y Gillespie GAJ: Mapping the locus of autosomal dominant polycystic kidney disease: diagnostic application. *Clin Chem* 35:13-16, 1989b.

Romeo G, Costa G, Catzone L, Germino GG, Weatherall DJ, Devoto M, Roncuzzi L, Zucchelli P, Keith T y Reeders ST: A second genetic locus for autosomal dominant polycystic kidney disease. *Lancet* 2:7-11, 1988.

Saiki RK, Gelfand DH, Stoffel S, Scharf SJ, Higuchi R, Horn GT y Ehrlich HA: Primer-directed enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science* 239:487-491, 1988.

Somlo S, Wirth B, Germino CC, Weinstat-Saslow D, Gillespie

GA, Himmelbauer H, Steevens L, Coucke P, Willems P, Bachner L, Coto E, López-Larrea C, Peral B, San Millán JL, Saris JJ, Breuning MH, Frischauf AM y Reeders ST: Fine genetic localization of the gene for autosomal dominant polycystic kidney disease (PKD1) with respect to physically mapped markers. *Genomics* 13:152-158, 1992.

Watson ML, Wrigth AF, MacNicol AM, Allan PL, Clayton JF, Dempster M, Jeremiah SJ, Corney G y Hopkinson DA: Studies of genetic linkage between adult polycystic kidney disease and three markers on chromosome 16. *J Med Genet* 24:457-461, 1987.

Watson ML, MacNicol AM y Wright AF: Adult polycystic kidney disease. *Br Med J* 300:62-67, 1990.

Weber JL y May PE: Abundant class of human DNA polymorphism which can be typed using the polymerase chain reaction. *Am J Hum Genet* 44:388-396, 1989.

Wolff E, Nakamura Y, O'Connell P, Leppert M, Lathrop CM, Lalouel JM y White R: Isolation and mapping of a polymorphic DNA sequence (pEKMDA2-1) on chromosome 16. *Nucleic Acids Res* 16:9885, 1988.

Zerres K: Attitudes to early diagnosis of polycystic kidney disease. *Lancet* II:1395, 1986.

Zerres K: Polycystic kidney disease: Thoughts on the meaning of prevention. En: *Contributions to Nephrology: Polycystic kidney disease*. 15-22. Ed. Karger, Basilea, 1992.