

# Estudio genético de la enfermedad del riñón poliquístico autosómica dominante (ERPAD) en la población española

J. L. San Millán, B. Peral, A. Valero, C. Hernández y F. Moreno

Unidad de Genética Molecular. Hospital Ramón y Cajal. Madrid.

## RESUMEN

Hemos realizado un estudio de familias españolas afectadas de ERPAD con el fin de caracterizarlas genéticamente y evaluar la existencia de heterogeneidad genética en nuestra población. El método utilizado fue el análisis de ligamiento entre la enfermedad y seis marcadores de DNA polimórficos localizados cerca del locus PKD1. Este locus, localizado en el brazo corto del cromosoma 16, está implicado en la mayoría de los casos de ERPAD de las poblaciones de origen europeo. De las 50 familias estudiadas, 35 pudieron ser caracterizadas genéticamente. En 32 de ellas la enfermedad está asociada al locus PKD1 y en tres es debida a una mutación en otro lugar del genoma. Este resultado muestra que la enfermedad es genéticamente heterogénea en la población española, siendo la frecuencia de mutaciones PKD1 similar a la encontrada en otras poblaciones europeas. En las familias PKD1, los datos obtenidos por el análisis genético coinciden con los datos ecográficos. Las únicas discrepancias se observaron en individuos jóvenes, en su mayoría menores de veinte años, que todavía no habían manifestado la enfermedad. Entre los individuos de riesgo asintomáticos pertenecientes a estas familias PKD1, 97 (57,7%) fueron diagnosticados como portadores de la mutación y 71 (42,3%) como no portadores. Tanto la edad a la que aparecen los quistes renales como a la que ocurre la insuficiencia renal crónica terminal son significativamente más altas en las familias no-PKD1 comparadas con las familias PKD1. Así, mientras que en las familias no-PKD1 ningún individuo menor de veinte años presentaba quistes renales y la edad media del fallo renal era de  $63,2 \pm 4$  años, en las familias PKD1 aproximadamente el 40% de los individuos jóvenes presentaban quistes y la edad media del fallo renal era de  $52,3 \pm 9$  años.

Palabras clave: **Poliquistosis renal ERPAD-ADPKD. Heterogeneidad genética Análisis de DNA. Diagnóstico presintomático.**

Recibido: 20-IX-1991.  
En versión definitiva: 22-I-1992.  
Aceptado: 23-I-1992.

Correspondencia: Dr. J. L. San Millán.  
Unidad de Genética Molecular. Hospital Ramón y Cajal.  
Ctra. Colmenar, km 9,1.  
28034 Madrid.

## GENETIC STUDY OF AUTOSOMAL DOMINANT POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE IN THE SPANISH POPULATION

### SUMMARY

We studied fifty Spanish families with Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease (ADPKD) to compare presymptomatic diagnosis by ultrasonography with diagnosis by genetic-linkage studies and to evaluate the genetic heterogeneity of the disease in Spain. The approach was through the linkage between the disease and 6 polymorphic DNA fragments linked to the PKD1 locus, on the short arm of chromosome 16. Thirty five families were informative in linkage studies and used for further evaluation. In 32 families the disorder was found to cosegregate with marker loci flanking the PKD1 locus, and in 3 families it did not. This result confirms the existence of heterogeneity within our population with a frequency similar to that found in other European populations. In the 32 PKD1 families, all diagnoses made by ultrasonography were confirmed by determination of the genotype as inferred from linkage. As expected, discordances between negative ultrasonographic findings and genotypes were only found in young individuals, since all members 30 years old or older who inherited the mutation had renal cysts. Among the members of PKD1 families at risk, 97 (57.7%) had the mutation of which 73 had developed renal cysts. The other 71 members (42.3%) had not inherited the disease. In the few who inherited a non-PKD1 mutation for polycystic kidney disease, the cysts and renal failure developed at a later age than in those who inherited a PKD1 mutation.

Key words: *Polycystic kidney APKD Presymptomatic diagnosis. DNA analysis.*

### Introducción

La enfermedad renal poliquística autosómica dominante (ERPAD) es una de las enfermedades hereditarias más frecuentes, y afecta a uno de cada 1.000 individuos en las poblaciones de origen europeo. Es una causa importante de fallo renal irreversible y da cuenta del 10% de todos los casos que requieren terapia sustitutiva, diálisis o trasplante en España<sup>1</sup>. La enfermedad puede ser diagnosticada antes de que aparezcan los síntomas mediante la detección ecográfica de quistes renales. Estos quistes, que normalmente no son detectables en los niños, aumentan en número y tamaño con la edad<sup>2</sup>.

La naturaleza del defecto bioquímico que conduce a la formación del quiste y, finalmente, al fallo renal no se conoce todavía. En cambio, se ha localizado un locus responsable de ERPAD, designado PKD1, en el brazo corto del cromosoma 16, demostrando el ligamiento genético de la enfermedad con dos loci conocidos, el gen de la  $\alpha$ -globina y el gen de la fosfoglicolato fosfatasa<sup>3,4</sup>. Este resultado hace posible el estudio de familias ERPAD, basado en el ligamiento genético de la enfermedad a marcadores polimórficos de DNA situados cerca de PKD1. Siguiendo la cosegregación de la enfermedad y los loci marcadores es posible identificar qué alelos de éstos están ligados a aquélla y, por tanto, predecir la presencia o ausencia de la mutación causante de la enfermedad en personas de riesgo<sup>5</sup>.

A pesar de que en la mayoría de las familias estudiadas hasta ahora la enfermedad se hereda junto con mar-

cadore genéticos cercanos a PKD1, en aproximadamente el 7% de las familias la enfermedad se debe a una mutación localizada en otro lugar del genoma<sup>6,7</sup>. Este fenómeno se conoce como heterogeneidad genética. Así, aunque los estudios genéticos de ligamiento permiten el diagnóstico presintomático fiable a cualquier edad cuando la enfermedad es debida a una mutación en el locus PKD1, este método no puede ser empleado si la mutación no aparece ligada a ese locus. Por tanto, en la actualidad, toda predicción sobre el estatus genético de individuos de riesgo pasa por la demostración previa de que en la familia en estudio la enfermedad está ligada a marcadores del locus PKD1.

La edad de inicio de la disfunción renal debida a ERPAD varía ampliamente. Aunque la insuficiencia renal crónica terminal ocurre, en muchos casos, a una edad mediana, una proporción considerable de individuos permanecen asintomáticos a cualquier edad. Así, la probabilidad de que un individuo, de cincuenta y ocho años, genéticamente afectado sufra fallo renal debido a ERPAD se ha estimado en 0,53. Las características de la enfermedad debida a mutaciones PKD1 no difieren aparentemente de las de la causada por mutaciones no-PKD1. En muchos casos, síntomas como la hipertensión arterial, nefrolitiasis o infecciones en el tracto urinario pueden ocurrir, en ambas clases de familias, en los primeros estadios de la enfermedad, y en muchos pacientes pueden detectarse niveles elevados de creatinina en suero años antes de que ocurra el fallo renal<sup>2,6</sup>.

Es evidente que las personas que pudieran haber he-

redado esta enfermedad, de expresividad y penetrancia variables, necesitan una precisa información. Nosotros hemos iniciado un estudio genético de familias españolas afectadas de ERPAD con los siguientes objetivos: confirmar la sensibilidad y fiabilidad de los estudios ecográficos y de ligamiento genético en el diagnóstico presintomático; investigar el alcance de la heterogeneidad genética en la población ERPAD española y comparar ambos tipos; y, finalmente, aportar la posibilidad de un consejo genético, más fiable y consecuente que el puramente probabilístico, a este colectivo.

## Métodos

### *Identificación de familias e individuos afectados*

Nosotros contactamos con Servicios de Nefrología de diferentes hospitales del país con el fin de identificar individuos que estuvieran recibiendo tratamiento para ERPAD. Estos individuos y sus familiares fueron entonces invitados a participar en el estudio. Se analizaron un total de 50 familias, de las que 35 fueron informativas en términos del estudio genético (los criterios de exclusión se exponen en el apartado «Resultados»). Tanto dentro de cada familia como entre ellas se observó una apreciable variabilidad en la edad de inicio como en la severidad de la enfermedad.

### *Diagnóstico ecográfico*

Todos los individuos relacionados familiarmente con el afectado fueron sometidos a un estudio ecográfico en su hospital de zona por un radiólogo que interpretó los resultados. Los cónyuges de personas afectadas o de riesgo fueron estudiados también y constituyeron el grupo control.

Entre los individuos de riesgo se consideró como ERPAD+ al que tenía al menos un quiste en un riñón y dos en el otro (criterio de Bear y cols.<sup>2</sup>). En el grupo control, en ningún caso se detectaron quistes en ambos riñones.

### *Otras manifestaciones clínicas*

Se consideró como edad de inicio del fallo renal aquella en que se hizo necesario la aplicación de una terapia sustitutiva de la función renal. Los métodos utilizados para valorar la hipertensión arterial, niveles de creatinina en suero, nefrolitiasis e infecciones urinarias fueron los habituales en los hospitales de zona correspondientes.

### *Análisis de DNA*

El DNA genómico de todos los individuos, incluidos los cónyuges, se obtuvo a partir de células nucleadas sanguíneas. Alrededor de 8 µg de DNA se digirieron con las endonucleasas de restricción adecuadas; los fragmentos ob-

tenidos se separaron en geles de agarosa, se transfirieron a membranas de nailon y se hibridaron con sondas de DNA que identifican marcadores del brazo corto de cromosoma 16<sup>8</sup>. Las sondas fueron marcadas con P<sup>32</sup> mediante el método de primado con oligonucleótidos al azar<sup>9</sup>. Las sondas se obtuvieron a través de la Acción Conjunta Europea para el estudio de la poliquistosis renal del adulto. Su caracterización y localización respecto al locus PKD1 han sido descritas por otros. Cada pareja sonda de DNA-endonucleasa de restricción define un locus genético polimórfico.

### *Análisis de ligamiento*

En cada familia se estudió la segregación de la enfermedad y de seis loci polimórficos que flanquean al locus PKD1. De esta forma se puede distinguir familias en que la mutación se encuentra en el locus PKD1 de familias en las que la mutación se encuentra en otro lugar del genoma, y, dentro de las familias PKD1, identificar a los miembros asintomáticos que llevan la mutación. Las sondas utilizadas para detectar los loci marcadores del brazo corto del cromosoma 16 fueron 3'HVR, 2BP5, pGGG1, 26.6, VK5, y 24.1. Previamente se ha demostrado que el locus PKD1 se encuentra entre los loci definidos por pGGG1 y 26.6<sup>10</sup>. El empleo de sondas flanqueantes permitió detectar posibles cromosomas recombinantes, y el empleo de varias sondas simultáneamente permitió establecer el haplotipo asociado a la enfermedad aun en el caso de homocigosis para uno o más marcadores. La segregación de cada uno de los alelos marcadores con la enfermedad se estableció en cada pedigrí, aceptando que la enfermedad se transmite a la descendencia solamente cuando alelos de ambos lados del locus PKD1 segregaban con ERPAD. Sólo fenómenos de doble recombinación podrían invalidar esta aseveración, pero estos fenómenos son extremadamente raros, dada la proximidad de los marcadores utilizados al locus PKD1.

Puesto que el 90 % de los casos de ERPAD son debidos a mutaciones en el locus PKD1, consideramos como familias PKD1 aquellas que tenían al menos dos miembros en los que la enfermedad segregaba con los marcadores del cromosoma 16 y no existía otro individuo adulto sano con el mismo haplotipo. Si la presencia de quistes renales no segregaba con alelos de los loci marcadores que flanqueaban PKD1 en dos o más miembros, se consideró que en esa familia la enfermedad era debida a una mutación en otro lugar del genoma.

### *Análisis estadístico*

El análisis de ligamiento entre los diferentes loci marcadores y la enfermedad fue realizado con el paquete de programas Linkage, versión 5.03<sup>11</sup>. Los valores de *lod-score* fueron computados con la incorporación de clases de fiabilidad que tienen en cuenta la variación de la expresión de la enfermedad con la edad. Un valor de *lod-sco-*

re superior a +2 indica que existe ligamiento entre un marcador y la enfermedad. Asimismo, se aceptó como ligamiento cuando dicho valor era positivo para las seis sondas del cromosoma 16 simultáneamente. Un valor inferior a -2 indica que no existe ligamiento.

El análisis de homogeneidad, que permite evaluar: a) si existe heterogeneidad genética en la muestra estudiada; b) la frecuencia de familias no ligadas, y c) la probabilidad de que una familia determinada esté o no ligada a un determinado locus, fue realizado con el test de Smith<sup>12</sup>, utilizando el programa HOMOG

**Resultados**

*Estudio genético de familias afectadas por ERPAD*

Se estudiaron 50 familias ERPAD (448 individuos) procedentes de diferentes puntos del país, con el fin de de-

terminar la asociación de la enfermedad con marcadores polimórficos en el brazo corto del cromosoma 16. En 32 familias (290 individuos), el análisis genético y estadístico confirmó que la enfermedad se heredaba conjuntamente con estos marcadores, indicando que era debida, en cada caso, a una mutación en el locus PKD1. En la figura 1 se muestra una familia PKD1 típica. La abuela (núm. 1) fue diagnosticada de ERPAD a la edad de cuarenta años. Dos de sus hijos (núms. 2 y 3) fueron diagnosticados de ERPAD asintomático mediante ecografía. Sus otros dos hijos (núms. 4 y 5) eran sanos. El análisis genético mostró que los individuos afectados números 2 y 3 habían recibido el mismo cromosoma 16 de la madre, al menos la misma región definida por las sondas que empleamos. El individuo sano número 5 había recibido el otro cromosoma materno. El individuo sano número 4 es un recombinante para el cromosoma 16, por lo que lleva el mismo alelo PKD1 que el individuo número 5. Por tan-

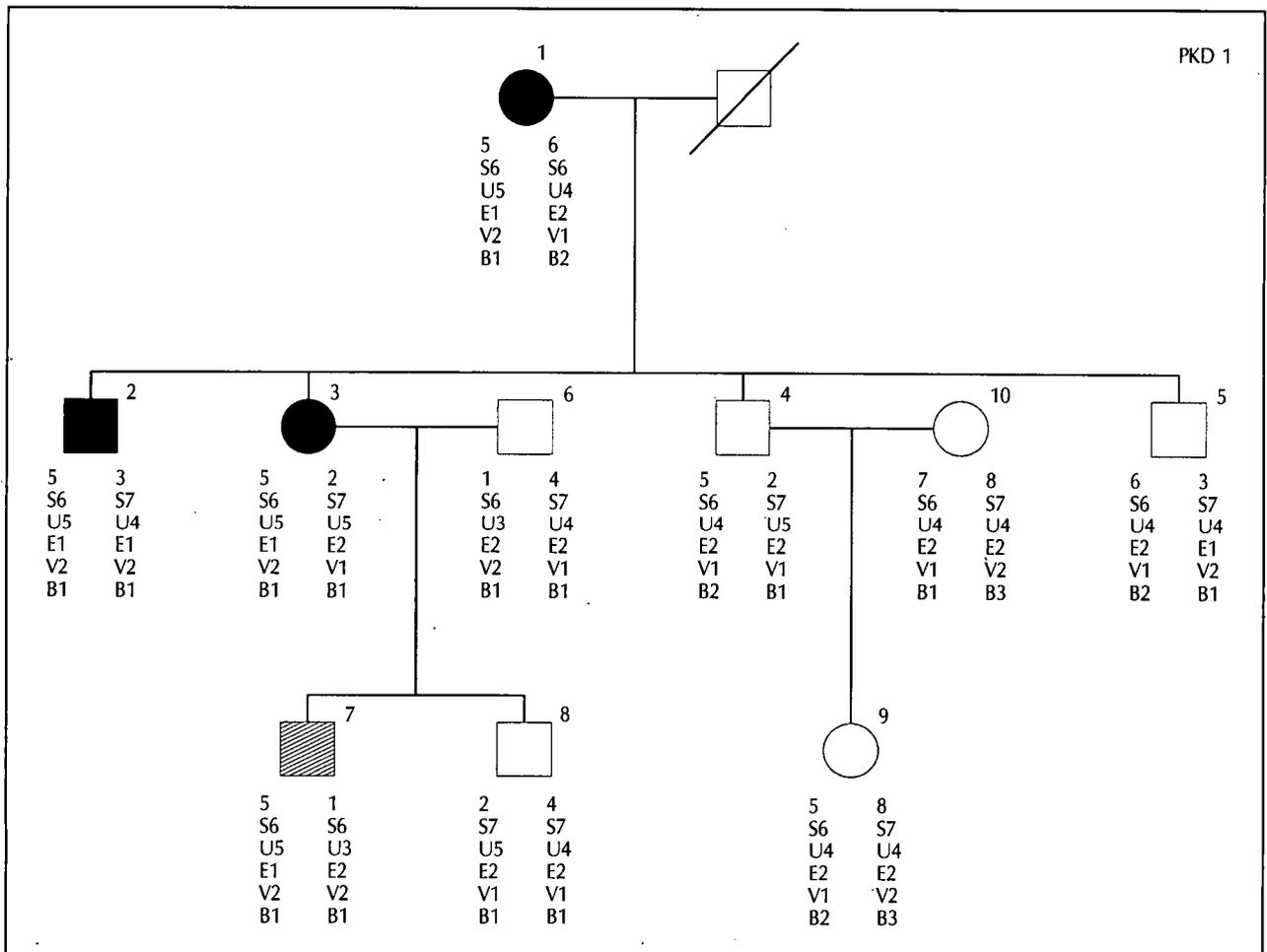


Fig. 1.—Estudio de ligamiento de una familia PKD1 con seis sondas ligadas al locus PKD1. Cada columna representa un cromosoma y cada fila los dos alelos presentes en cada individuo para la sonda correspondiente (de arriba abajo: 3'HVR-2BP5-pGGG1-26.6-VK5-24.1). Los símbolos negros representan individuos afectados o con quistes en ambos riñones. El símbolo rayado significa que el individuo tiene varios quistes en un solo riñón.

to, los tres individuos que llevan la región del cromosoma 16 definido por el haplotipo 5-S6-U5-E1-V2-B1 están afectados (núms. 1, 2 y 3), mientras que los individuos que llevan la correspondiente región materna del otro cromosoma 16 son sanos. Se acepta entonces que se trata de una mutación PKD1, puesto que la enfermedad segrega con uno de los cromosomas 16. El individuo número 3 tiene dos hijos, uno de los cuales, el número 7, lleva el cromosoma con la mutación. Este individuo presenta ya una ecografía dudosa a la edad de diecisiete años y será afectado con una probabilidad superior al 99,9 %, ya que sólo un fenómeno de doble recombinación entre los loci pGGG1 y 26.6 podría ocasionar la separación del gen mutado del haplotipo transmisor de la enfermedad. El otro individuo asintomático, el número 8, será sano con la misma probabilidad.

En tres familias (29 individuos), el fenotipo ERPAD y los alelos marcadores del cromosoma 16 se heredaban independientemente, indicando que la mutación causante de la enfermedad no se encuentra en el locus PKD1. En la figura 2 se muestra una de las familias no-PKD1 detectadas en este estudio. Los dos hermanos afectados, números 1 y 2, no comparten ningún cromosoma 16. Dado que el individuo número 1 carece de hijos y sus padres han muerto, no se ha podido establecer con exactitud el haplotipo ligado a la enfermedad y no se puede descartar que se trate de un recombinante. Sin embargo, dos de los hijos del individuo número 2, los números 5 y 6, son afectados asintomáticos y no comparten el mismo cromosoma 16 de la madre. Por otro lado, el tercer hijo del individuo número 2, el número 4, es sano a los cuarenta y tres años y lleva los mismos cromosomas 16 que el individuo número 5, afectado con treinta y seis años. Dado que la enfermedad no segrega con el cromosoma 16, se concluye que es debida a una mutación no-PKD1.

En el resto de las familias, en número de 15, la cosegregación de los marcadores y la enfermedad no pudo ser confirmada o excluida. En la mayoría de los casos disponíamos de pocos miembros de la familia para hacer una valoración estadística fiable. En unos pocos casos, los padres del afectado habían muerto y sus hijos eran demasiado jóvenes como para manifestar los síntomas. Una de estas familias no informativas se presenta en la figura 3. Sólo disponíamos de dos individuos afectados y el estudio ecográfico de los hijos de uno de ellos, menores de veinte años, no detectó en ellos quistes bilaterales. En casos como éste es imposible establecer la segregación de la enfermedad en el momento actual.

*Diagnóstico genético*

Se realizó en las 35 familias que pudieron ser clasificadas: 32 del tipo PKD1 y tres del tipo no-PKD1. Los estudios ecográficos de 191 personas con un 50 % de riesgo de sufrir ERPAD mostraron que la proporción de individuos con quistes renales era dependiente de la edad y más baja en las familias con mutaciones no-PKD1 que en

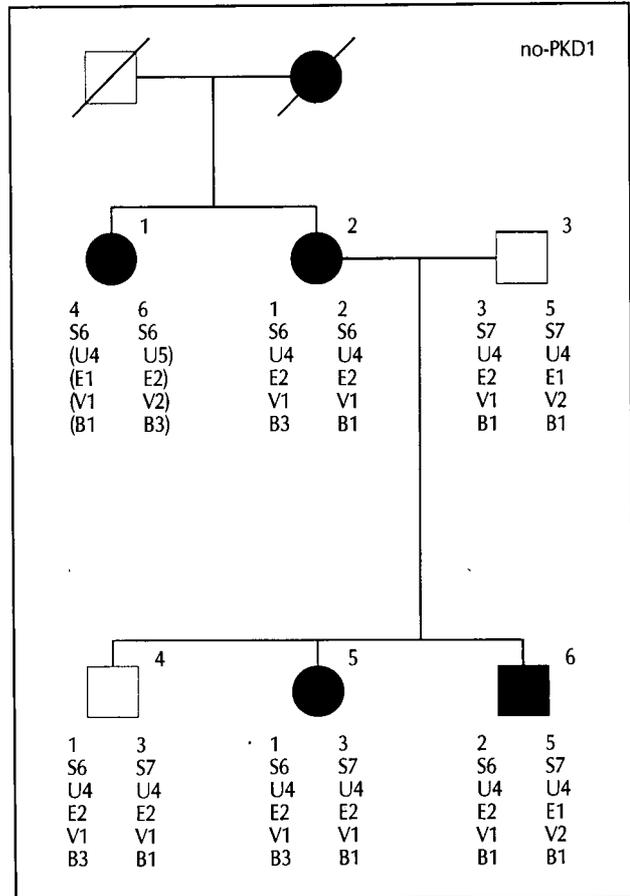


Fig. 2.—Estudio de ligamiento de una familia no-PKD1. Sondas y símbolos igual que en la figura 1.

familias con mutaciones en este locus. Mientras que en las familias PKD1 se detectó un número apreciable de individuos con edad inferior a veinte años que presentaban quistes bilaterales, la aparición de esta condición se retrasaba hasta los veinticinco años en los individuos de las familias no-PKD1 (véase tabla I).

*Correspondencia entre el diagnóstico ecográfico y el genético en las familias PKD1*

Se compararon los diagnósticos realizados mediante análisis genético de ligamiento y por ecografía renal en 168 personas con un 50 % de riesgo de heredar una mutación PKD1 (véase tabla II). En ninguna de estas personas se observó una ecografía ERPAD+ en discrepancia con el genotipo. Las discrepancias entre las ecografías ERPAD- y los genotipos eran debidas a la edad. De 38 personas con treinta años o más que habían heredado una mutación PKD1, todas tenían quistes renales; de 59 personas DNA+ menores de treinta años, 24 no tenían quistes. Por tanto, la probabilidad de que un individuo joven, porta-

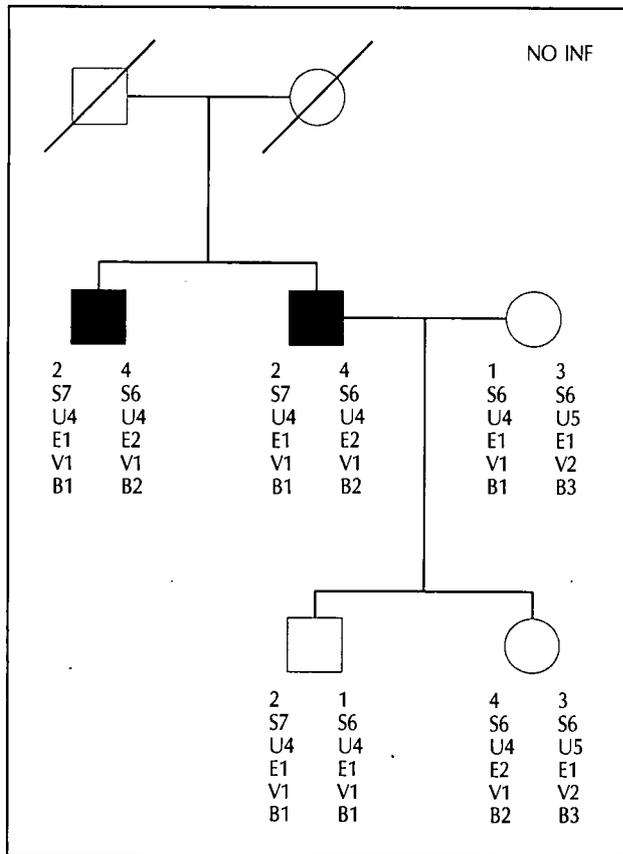


Fig. 3.—Estudio de ligamiento de una familia no informativa. Sondas y símbolos igual que en la figura 1.

dor de una mutación PKD1, no presente quistes renales oscila entre el 90 %, si es menor de diez años, y el 10 %, si está en la tercera década de vida. En total, 97 (57,7 %) de los individuos de riesgo asintomáticos fueron diagnosticados como portadores de la mutación PKD1 y 71 (42,3 %) como sanos.

**Tabla I.** Comparación de los resultados ecográficos en función de la edad entre familias PKD1 y no-PKD1

Edad	Resultados ecográficos			
	Con quistes renales		Sin quistes	
	PKD1	No-PKD1	PKD1	No-PKD1
Hasta 20 años .....	12	—	42	5
De 20 a 30 años .....	23	2	26	2
De 31 a 40 años .....	18 (3)	4	14	3
Más de 40 años .....	20 (19)	6 (4)	13	1

Los individuos con fallo renal no han sido incluidos en la serie. Su número, dentro de cada clase, se indica entre paréntesis.

**Tabla II.** Comparación de los análisis de ligamiento y ecográfico en personas de riesgo de padecer ERPAD en familias PKD1

Edad	N.º de casos	DNA+ eco+	DNA+ eco-	DNA- eco+	DNA- eco-
Hasta 10 años .....	26	1	12	—	13
De 11 a 20 años .....	35	12	9	—	14
De 21 a 30 años .....	44	22	3	—	19
De 31 a 40 años .....	29	18	—	—	11
De 41 a 50 años .....	15	7	—	—	8
De 51 a 60 años .....	15	11	—	—	4
Más de 60 años .....	4	2	—	—	2

DNA+ ó -: el análisis genético de ligamiento confirma que el individuo porta la mutación PKD1 o no, respectivamente. Eco: ecografía renal.

### Insuficiencia renal crónica terminal

Se comparó la edad a la que ocurría el fallo renal en ambos grupos de familias. En las familias PKD1, la más temprana edad a la que ocurrió el fallo renal fue treinta y un años. Entre las personas con fallo renal, el 13 % había alcanzado esa condición entre los treinta y uno y los cuarenta años de edad, el 18 % entre los cuarenta y uno y los cincuenta años, y el 50 % entre los cincuenta y uno y los sesenta, siendo la edad media de aparición del fallo renal en las familias PKD1 la de  $52,3 \pm 9$  años.

En las familias PKD1, el fallo renal más temprano se detectó a los cincuenta y cinco años, siendo la edad media de aparición del fallo en el conjunto de esas familias la de  $63,2 \pm 4$  años. Con todo, no se observó una menor incidencia de fallo renal en estas familias no-PKD1 que en las PKD1.

En cuanto a las otras manifestaciones de la enfermedad, no se observaron diferencias significativas entre familias PKD1 y no-PKD1. Sólo notamos que la frecuencia de quistes hepáticos en afectados PKD1 era del 30 %, mientras que en afectados no-PKD1 era del 40 %. Si esta diferencia es significativa o no sólo podrá saberse estudiando más familias.

### Discusión

Hasta ahora el diagnóstico de la ERPAD antes de la aparición de los primeros síntomas de insuficiencia renal sólo era posible mediante ecografía. La aplicación de las técnicas de la genética molecular al estudio de esta enfermedad permite el diagnóstico presintomático incluso cuando, debido a la juventud del paciente, la ecografía resulta negativa. Este estudio confirma que la demostración de la existencia de quistes renales bilaterales establece inequívocamente el diagnóstico a cualquier edad y puede afirmarse que, al menos en las familias PKD1, una ecografía negativa en la tercera década de vida confiere una considerable seguridad de que el individuo no va a estar afectado.

Sin menoscabo del valor informativo del análisis genético de ligamiento, hay que señalar sus limitaciones. Estas son: la falta de informatividad de algunos marcadores en determinadas familias (homocigosis); la penetrancia variable de la enfermedad, incluso en la misma familia; la posibilidad de recombinación genética entre marcadores polimórficos y la enfermedad, y, la más importante, la heterogeneidad genética, ya que la enfermedad puede ser causada por mutaciones en loci distintos.

La primera limitación puede obviarse en la práctica en el diagnóstico de PKD1, puesto que se dispone de una buena colección de sondas que detectan diferentes polimorfismos. Nosotros hemos utilizado rutinariamente seis, y, cuando se estimó necesario, usamos otras para eliminar posibles ambigüedades y confirmar el diagnóstico.

La segunda limitación, la penetrancia variable de la enfermedad, implica que la familia contenga al menos dos individuos afectados, con ecografía positiva clara y que, al menos, un individuo sano, con ecografía negativa, tenga la edad suficiente para asegurar que ese diagnóstico es definitivo.

La posibilidad de recombinación genética no representa una limitación mayor, puesto que las sondas que se utilizan flanquean el locus PKD1 por ambos lados y los posibles recombinantes son detectados fácilmente. De hecho, hemos detectado dos cromosomas recombinantes entre los loci pCGG1 y PKD1 que están siendo analizados, en colaboración con otros equipos, con el fin de localizar el gen PKD1.

Estos problemas en el diagnóstico genético derivados del uso de loci marcadores serán probablemente eliminados cuando el gen PKD1 sea identificado y las mutaciones puedan ser detectadas directamente.

La heterogeneidad genética representa en la actualidad el problema más importante para el diagnóstico desde dos puntos de vista. El primero se refiere a la clasificación de la enfermedad como PKD1 o no-PKD1. Esto puede establecerse con aceptable fiabilidad sólo cuando la familia es lo suficientemente numerosa para establecer si la enfermedad segrega o no con el brazo corto del cromosoma 16. Hay que resaltar que la mayoría de las 15 familias que no han podido ser diagnosticadas lo hubiesen sido de haber dispuesto de uno o dos miembros más, mayores de veinte años, para el análisis.

El segundo punto, el diagnóstico directo de familias no-PKD1, no está resuelto. Antes habrá que localizar la región o regiones cromosómicas afectadas, para lo que se requiere, una vez más, el estudio de familias numerosas. Localizado el locus (o loci) responsable de los casos no-PKD1, podrá realizarse con estas familias un diagnóstico preciso, como el aquí realizado con las familias PKD1.

En este estudio se demuestra la existencia de heterogeneidad genética en la ERPAD dentro de la población española. Aproximadamente el 7 % de las mutaciones causantes de ERPAD en poblaciones de origen europeo no están ligadas al locus PKD1<sup>6,7</sup>. Podríamos afirmar que esta forma no-PKD1 de ERPAD es menos severa que la for-

ma PKD1, dado que en este último caso la edad media del fallo renal fue más temprana que en las familias no-PKD1. También fue más temprana la edad de aparición de quistes renales detectables ecográficamente en individuos asintomáticos.

En conclusión, el análisis genético molecular, apoyado en el estudio ecográfico, permite definir el haplotipo responsable de la enfermedad en familias ERPAD PKD1 y, por tanto, un consejo genético consecuente, no basado exclusivamente en consideraciones probabilísticas, a individuos de la familia en edad reproductiva. La detección precoz de individuos genéticamente afectados, sin signos clínicos de la enfermedad, permitirá su mejor seguimiento clínico y quizá retrasar la aparición de la enfermedad mediante tratamientos adecuados. Un interés suplementario del análisis genético reside en la posibilidad de seleccionar donantes intrafamiliares de órganos genéticamente sanos. Finalmente, este análisis permite el diagnóstico prenatal en el caso de mutaciones PKD1.

#### Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (FISSS). Belén Peral y Ana Valero son becarias del FISSS. Se reconoce la colaboración de nuestros compañeros de laboratorio Eladio Velasco, Susana Gómez, Carmen Valero, Laura Velasco, Mar Velázquez y Carmen Martín. Colaboraron en este estudio, identificando y caracterizando clínicamente las familias, los Servicios de Nefrología de los siguientes hospitales: doctora Rodríguez (Hospital General de Huelva), doctora Gonzalo (Hospital Ramón y Cajal, Madrid), doctor De Arriba y doctora Jarillo (Hospital Universitario de Guadalajara), doctor Peñaléz (Hospital Montecelo, Pontevedra), doctora Ballesta (Servicio de Genética, Hospital Clínico de Barcelona), doctor Conde (Hospital Clínico Universitario de Valladolid), doctor Rodríguez (Hospital Príncipe de Asturias, Alcalá de Henares), y doctores De Miguel y Escuin (Hospital La Paz, Madrid).

Queremos agradecer, en especial, la colaboración prestada por todas las familias ERPAD participantes en este estudio, así como la del doctor García Maroto, del Servicio de Radiodiagnóstico del Hospital Ramón y Cajal, que realizó numerosos estudios ecográficos para este trabajo.

Este estudio se encuadra dentro de la Acción Concertada Europea para el estudio de ERPAD. Queremos resaltar que esta Acción contempla los aspectos no sólo genéticos, sino también clínicos de la enfermedad. Cuestiones como el desarrollo de la enfermedad en gemelos, el papel eventual de la hipertensión en el desarrollo de los quistes, la incidencia relativa de aneurismas en familias PKD1 y no-PKD1 y otras son objeto del estudio. Todos los profesionales y servicios hospitalarios que lo deseen pueden participar en esta Acción Europea, y nosotros enviaremos toda la información disponible a quien nos lo demande.

#### Bibliografía

1. Vallés M y García-García M: Informe anual del registro de pacientes en diálisis y trasplante renal en España (1987). *Nefrología*, 9 (Supl. 1):1-6, 1989.
2. 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.
3. Reeders ST, Breuning MH, Davies KE, Nicholls RD, Jarman AP, Higgs DR, Pearson PR y Weatherall DJ: A highly polymorphic DNA mar-

- ker linked to adult polycystic kidney disease on chromosome 16. *Nature*, 317:542-544, 1985.
4. Breuning MH, Madam K, Verjaal M, Wijnen JT, Meera Khan P y Pearson PL: Human  $\alpha$ -globin maps to pter-p13.3 in chromosome 16 distal to PGP. *Hum Genet*, 76:287-289, 1987.
  5. Breuning MH, Reeders ST, Brunner H y cols.: Improved early diagnosis of adult polycystic kidney disease with flanking DNA markers. *Lancet*, ii:1359-1961, 1987.
  6. Bear JC, Parfrey PJ, Morgan J, Cramer BC, McManamon PJ, Gault MH, Churchill DN, Singh M, Hewitt R, Somlo S y Reeders S: Autosomal dominant polycystic kidney disease: ultrasonographic detection and prognosis of PKD1 and PKD2 forms. *Am J Hum Genet*, 45:39, 1989.
  7. 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 (Supl.):A58, abstract, 1989.
  8. Maniatis T, Fritsch EF y Sambrook J: *Molecular cloning*. Cold Spring Harbor Lab. Cold Spring Harbor. New York, 1982.
  9. Feinberg, AP y Vogelstein B: A technique for radiolabelling DNA restriction endonuclease fragments to high specific activity. *Anal Biochem*, 132:6-13, 1983.
  10. Breuning MH, Snijdwint FGM, Brunner H, Verwest A, Ijdo, JW, Saris JJ, Dauwese JG, Blondeu L, Keith T, Callen DF, Hyland VJ, Xiao GH, Scherer G, Higgs DR, Harris P, Bachner L, Reeders ST, Germinio G, Pearson PL y Van Ommen GJB: Map of 16 polymorphic loci on the short arm of chromosome 16 close to the polycystic kidney disease gene (PKD1). *J Med Genet*, 27:603-613, 1990.
  11. Lathrop GM y Lalouel JM: Easy calculations of lod-scores and genetic risks on small computers. *Am J Hum Genet*, 36:460-465, 1984.
  12. Smith CAB: Testing for heterogeneity of recombination fraction values in human genetics. *Ann Hum Genet*, 27:175-182, 1963.