

# Diagnóstico molecular de la poliquistosis renal del adulto

**E. Coto García**

Laboratorio de Genética Molecular. Servicio de Inmunología. Hospital Central de Asturias. Oviedo.

## Introducción

La poliquistosis renal del adulto (ADPKD, del inglés «adult dominant polycystic kidney disease») es una de las enfermedades hereditarias más frecuentes, afectando aproximadamente a una de cada mil personas. ADPKD manifiesta una herencia típicamente dominante, existiendo al menos dos genes implicados en su desarrollo (Mckusick, 1988). Las mutaciones en estos genes 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. Los quistes pueden ser detectados en los portadores a través de los análisis ultrasonográficos, pero algunos portadores no empiezan a mostrarlos hasta cumplir los 20-25 años. Estas personas son portadoras sin saberlo, padecerán la enfermedad y la transmitirán a sus hijos (Bear y cols., 1989; Watson y cols., 1990).

Desde una perspectiva genética, la década de los 80 puede ser designada como la era de la genética posicional. Este protocolo experimental ha permitido caracterizar 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 el proceso es la posibilidad de describir el gen sin conocer la proteína implicada, incluso sin saber nada del defecto a nivel fisiológico. Entre los muchos éxitos de la genética posicional se hallan la clonación de los genes de la fibrosis quística, el síndrome del cromosoma-X frágil, las neurofibromatosis o 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. 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; Kerem y cols., 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., 1985a, 1985b). Desde entonces, la colaboración de varios laboratorios de Europa y Estados Unidos permitió primero 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 fueron describiendo decenas de marcadores polimórficos cada vez más próximos a este gen (Breuning y cols., 1990). Los polimorfismos del ADN son herramientas fundamentales de la genética molecular y permiten el diagnóstico en cualquier familia afectada (Coto y cols., 1992a, 1992b). Tras casi diez años de investigación, el gen ADPKD localizado en el cromosoma 16, designado como PKD1, ha sido parcialmente caracterizado, y las primeras mutaciones asociadas a la enfermedad han sido descritas (Harris y cols., 1994).

## Polimorfismos del ADN y mapas del genoma humano

La genética posicional es un procedimiento tecnológicamente muy complejo, en el que para llegar al

---

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

gen se parte de familias con varios afectados por la enfermedad. Los miembros de estas familias son analizados con varios centenares de marcadores polimórficos del ADN de los 22 cromosomas del genoma humano (excluidos los cromosomas X e Y) (Bostein y cols., 1980). La 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. Actualmente, la PCR se ha convertido en una tecnología biomédica fundamental, siendo aplicada en campos tan dispares como los diagnósticos genético y microbiológico. El procedimiento es rápido, barato y automatizado, y consiste en la amplificación específica mediante una ADN polimerasa de la secuencia comprendida entre dos oligonucleótidos empleados como cebadores de la síntesis del ADN (Saiki y cols., 1988).

En la actualidad, los marcadores polimórficos del ADN que se emplean en los análisis genéticos son los conocidos como secuencias microsatélites. Los microsatélites del ADN son secuencias de dos, tres o cuatro nucleótidos repetidos en tándem un número muy variable de veces. Por término medio, existe un microsatélite por cada 50.000 bases del ADN (Jeffreys y cols. 1985; Goodfellow, 1993). Para analizar estos marcadores se precisa amplificar específicamente la secuencia que los contiene mediante la PCR. Para distinguir por el tamaño un alelo de otro (que pueden 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. La dificultad tecnológica es compensada con el elevado grado de informatividad que estos marcadores proporcionan, ya que es muy probable que en una persona se puedan diferenciar ambos cromosomas. Existen mapas de varios miles de microsatélites distribuidos por todo el genoma humano, lo cual permite la rápida localización del gen de cualquier enfermedad si se dispone de varias familias afectadas (Gyapay y cols., 1994).

Para cualquier microsatélite es posible distinguir los dos cromosomas de una persona y seguir su transmisión de padres a hijos. Si uno de estos microsatélites está cerca del gen de la enfermedad, todos los enfermos en una familia compartirán la misma variante o alelo del microsatélite. 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 microsatélite 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.

### **Poliquistosis renal del adulto: dos genes y una enfermedad**

Mediante un procedimiento similar al que acabamos de describir, el gen sobre el que actúan las mutaciones responsables de la mayor parte de los casos de 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 del gen, designado como PKD1 (Reeders y cols., 1985a; Reeders y cols., 1986). Muy cerca del gen PKD1 hay varios marcadores microsatélites que son empleados en los estudios de las familias afectadas (Harris, 1991). Pronto se observó que en algunas familias afectadas por ADPKD la enfermedad se debía 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). En 1994, el segundo gen, designado PKD2, fue localizado en el brazo largo del cromosoma 4 (Peters y cols., 1994; Kimberling y cols., 1994). Se ha estimado en un 10 % el porcentaje de familias que presentan poliquistosis renal del adulto debido a mutaciones en PKD2, aunque esta frecuencia depende de la población estudiada, siendo mayor en el sur de Europa. En un estudio sobre 17 familias de Asturias y Santander, nuestro grupo ha hallado cinco con ligamiento al cromosoma 4. Esto supone una frecuencia del 30 %, hasta ahora la mayor descrita para la forma alternativa.

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 3 pacientes con poliquistosis (quistes ecográficos) y 2 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, mientras que en la forma alternativa el cromosoma compartido por los enfermos será el 4.

### **Análisis genéticos y estudios clínicos**

Una de las posibilidades del análisis molecular en familias afectadas por la poliquistosis renal del adulto

es la de buscar diferencias clínicas entre las dos formas de la enfermedad. Varios estudios han definido en los 30 años la edad máxima de aparición de los quistes detectables mediante ecografía (Dalgaard, 1985). En un estudio realizado sobre 17 familias hemos observado que la ecografía renal es un método muy fiable para detectar portadores cuando éstos tienen más de 30 años. Sin embargo, algunos portadores menores de 30 años permanecen asintomáticos (Coto y cols., 1992a, 1992b). El consejo genético es uno de los beneficios que estas personas obtienen del estudio molecular (Reeders y cols., 1989). Para cualquier persona, el conocimiento de su naturaleza portadora le permite 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).

Los portadores de mutaciones en PKD1 desarrollan quistes a edad más temprana que los que tienen mutaciones en PKD2. En un estudio reciente sobre 12 familias PKD1 hemos observado la presencia de quistes en 3 de los 16 (19 %) portadores menores de 20 años. Sin embargo, en 5 familias PKD2, 5 de los 6 (83 %) portadores menores de 20 años aún no tenían quistes renales.

La forma clásica de la enfermedad determina una mayor probabilidad de sufrir enfermedad renal terminal y a edad más temprana. En el mismo estudio precisaban diálisis 25 de los 42 (56 %) portadores PKD1 mayores de 30 años y 6 de los 24 (25 %) portadores PKD2 en el mismo grupo de edad. La edad media de entrada en diálisis fue 47 años ( $\pm 10$  años) para los pacientes con mutaciones en PKD1 y 56 años ( $\pm 7$  años) para los pacientes con mutaciones en PKD2.

La hipertensión es también más frecuente en los portadores PKD1 que en los portadores PKD2. Así, eran hipertensos 21 de los 77 (27 %) portadores de la forma clásica frente a 7 de los 36 (20 %) portadores de la forma alternativa. La diferencia fue más significativa entre los portadores menores de 40 años, con frecuencias del 22 % (11/49) y 8 % (2/24) para los grupos PKD1 y PKD2, respectivamente.

Otros estudios han analizado en los portadores parámetros como niveles de creatinina en sangre, efecto de una dieta baja en proteínas para mejorar la calidad de vida de los portadores, etc. (Bell y cols., 1982; Alvestrand y cols., 1983; Gabow, 1990; Florijn y cols., 1992; Gretz y cols., 1992).

### **Caracterización del gen PKD1**

Tras diez años de investigación, el gen PKD1, localizado en el brazo corto del cromosoma 16, fue descubierto a principios de 1994. Este gen ha sido par-

cialmente secuenciado. El gen PKD1 se extiende por unas 100 kilobases de ADN y codifica un ARN mensajero muy grande, de unas 15 kilobases. El 30 % del gen, en el extremo 3', es único, no presentando homología con otros genes conocidos. Sin embargo, el resto del gen, en el extremo 5', es casi idéntico a otros dos genes localizados en el cromosoma 16, cerca de PKD1. En la región ya secuenciada de PKD1 se han hallado tres mutaciones en pacientes pertenecientes a otras tantas familias. Dos de estas mutaciones eran deleciones y la tercera una mutación puntual de un nucleótido por otro (Harris y cols., 1994). Por el contrario, en más de 100 pacientes no se encontró ninguna mutación en esa región del gen. La secuenciación completa de PKD1 permitirá determinar si el resto del gen, aún desconocido, es la región que contiene la mayoría de las mutaciones, y si existe una mutación mayoritaria o por el contrario, muchas mutaciones diferentes y poco frecuentes.

Un hallazgo interesante de la investigación sobre la región que contiene a PKD1 ha sido el descubrimiento de uno de los genes implicados en el desarrollo de la esclerosis tuberosa, una enfermedad dominante que afecta a múltiples órganos, entre ellos el riñón (Sampson y Harris, 1994). El gen de esta enfermedad está muy próximo al gen PKD1, y se han encontrado pacientes que presentan deleciones de una región del cromosoma 16 que afecta a ambos genes.

### **La forma recesiva de la poliquistosis renal**

La poliquistosis recesiva (ARPKD) es una de las enfermedades hereditarias con manifestación infantil más frecuentes. En muchos casos es una enfermedad fatal. Desde hace varios años se sabe que el gen PKD1 no es el responsable de esta enfermedad, y más recientemente fue también excluido el gen PKD2. Un análisis de 16 familias con 236 microsatélites de todo el genoma humano ha permitido situar el gen de la forma recesiva en el brazo corto del cromosoma 6 (Zerres y cols., 1994). Desde entonces es posible el diagnóstico prenatal en aquellas parejas con hijos afectados por esta enfermedad.

### **Una mirada al futuro de 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 de los genes. El preceden-

te más ilustrativo lo proporciona la fibrosis quística de páncreas. En 1989 fue clonado el gen implicado en esta enfermedad, designado como CFTR. Desde entonces ha sido descrita 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 prometedorra. 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. Por último, se han «construido» ratones transgénicos que reproducen los síntomas de la poliquistosis renal. En un estudio reciente con estos modelos animales se ha observado que el taxol, una droga empleada en el tratamiento de varios tipos de cáncer, es capaz de bloquear el desarrollo de los quistes, inhibiendo la progresión de la enfermedad (Woo y cols., 1994).

Quizás aún no estén cercanos los descubrimientos que cambien el tratamiento de esta enfermedad, pero no caben dudas de que éstos vendrán del «diálogo» entre aquellos profesionales que trabajan con los pacientes y las familias afectadas, nefrólogos y biólogos moleculares entre ellos.

*Nota:* Una revisión sobre la biología molecular de la enfermedad dominante del riñón poliquístico del adulto ha sido publicada recientemente en *Nefrología* (Coto y cols., vol. XIV; núm. 1. 1994, pp. 10-22).

## 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 (suppl.): 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 y 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, Snijdwint FGM, Brunner H, Verwest A, Ijdo JW, Saris JJ, Dauwerse JG, Blonden L, Keith T, Callen DF, Hyland VJ, Xiao GH, Scherer G, Higgs DR, Harris P, Bachner L, Reeders ST, Germino GG, 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, 1990.
- 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, 1992b.
- Dalgaard OZ: Bilateral polycystic disease of the kidney: A follow up of two hundred eighty-four patients and their families. *Acta Med Scand*, suppl. 158:1-255, 1985.
- Florijn KW, Van Saase JCM, Breuning MH y Chang PC: Autosomal Dominant polycystic kidney disease and hypertension: A review. En *Contributions to Nephrology: Polycystic kidney disease*, pp. 71-92. Ed. Karger, Basilea, 1992.
- Gabow PA: Autosomal dominant polycystic kidney disease. More than a renal disease. *Am J Kidney Dis* 16:403-414, 1990.
- 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, Klinger K, 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*, pp. 110-117. Ed. Karger, Basilea, 1992.
- Gregory R, Cheng SH, Rich DP, Marshal J, Paul S, Hehin K, Ostedgaard L, Klinger K, Welsh MJ y Smith AE: Expression and characterization of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator. *Nature* 347:382-387, 1990.
- Grezt 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*, pp. 93-100. Ed. Karger, Basilea, 1992.
- Gyapay G, Morissette J, Vignal A y cols.: The 1993 - 1994 Génethon human genetic linkage map. *Nature Genetics* 7:246-249, 1994.
- 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.

## DIAGNOSTICO MOLECULAR DE LA POLIQUISTOSIS RENAL DEL ADULTO

22. Harris PC y The European PKD Consortium: The polycystic kidney disease 1 gene encodes a 14 kb transcript and lies within a duplicated region on chromosome 16. *Cell* 77:881-894, 1994.
23. Jeffreys AJ, Wilson V y Thein SL. Hypervariable «minisatellite» regions in human DNA. *Nature* 314:67-73, 1985.
24. 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.
25. 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 JMed* 323:1517-1522, 1990.
26. Kimberling WJ, Fain PR, Kenyon JB, Goldgar D, Sujansky E y Gabow PA: Linkage heterogeneity of autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl JMed* 319:913-918, 1988.
27. Kimberling WJ, Kumar S, Gabow PA, Kenyon JB, Connolly CJ y Somlo S: Autosomal dominant polycystic kidney disease: localization of the second gene to chromosome 4q13-q23. *Genomics* 18:467-472, 1994.
28. McKusick VA: *Mendelian inheritance in man. Catalogs of autosomal dominant, autosomal recessive and X-linked phenotypes*, 8th ed. The Johns Hopkins Univ. Press, Baltimore, 1988.
29. Orkin SH: Reverse genetics and human disease. *Cell* 47:845-850, 1986.
30. 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 JMed* 323:1085-1090, 1990.
31. Peters DJM, Spruit L, Saris JJ y cols.: Chromosome 4 localization of a second gene for autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nature Genetics* 5:359-362, 1994.
32. 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.
33. Reeders ST, Breuning MH, Davies KE, Meera Khan P, Jeremiah SJ, Corney G, Nicholls DR, Higgs DR, Pearson PL y Weatherall DJ: Adult polycystic kidney disease is linked to the alpha-globin and phosphoglycolate phosphatase loci on chromosome 16. *Cytogenet Cell Genet* 40:729, 1985b.
34. Reeders ST, Breuning MH, Corney G, Jeremiah SJ, Meera Khan P, Davies KE, Hopkinson DA, Pearson PL y Weatherall DJ: Two genetic markers closely linked to adult polycystic kidney disease on chromosome 16. *Br Med J* 292:851-853, 1986.
35. Reeders ST, Germino GG y Gillespie GAJ: Recent advances in the genetics of renal cystic disease. *Mol Biol Med* 6:81-86, 1989a.
36. Reeders ST, Germino GG y Gillespie GAJ: Mapping the locus of autosomal dominant polycystic kidney disease: diagnostic application. *Clin Chem* 35:13-16, 1989b.
37. Romeo G, Costa G, Catizone 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.
38. 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.
39. Sampson JR y Harris PC: The molecular genetics of tuberous sclerosis. *Human Molecular Genetics* 3:1477-1480, 1994.
40. Watson ML, Macnicol AM y Wright AF: Adult polycystic kidney disease. *Br Med J* 300:62-67, 1990.
41. Woo DL, Miao SYP, Pelayo JC y Woolf AS: Taxol inhibits progression of congenital polycystic kidney disease. *Nature* 368:750-753, 1994.
42. Zerres K: Attitudes to early diagnosis of polycystic kidney disease. *Lancet* II:1395, 1986.
43. Zerres K: Polycystic kidney disease, Thoughts on the meaning of prevention. En *Contributions to Nephrology: Polycystic kidney disease*, pp. 15-22. Ed. Karger, Basilea, 1992.
44. Zerres K, Mücher G, Bachner L y cols.: Mapping of the gene for autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD) to chromosome 6p21-cen. *Nature Genetics* 7:429-432, 1994.