

ARTICOLI ORIGINALI

Glomerulosclerosi Focale e Segmentaria Familiare: vademecum per il nefrologo clinico



Gianluca Caridi, Francesca Lugani, Elisa Bonanni, Roberta Rossi, Alba Carrea, **Gian Marco Ghiggeri**

Laboratorio di Fisiopatologia dell'Uremia e UOC di Nefrologia, Dialisi e Trapianto

Corrispondenza a: Gian Marco Ghiggeri; Istituto Giannina Gaslini IRCCS, Via Gaslini, 5 - 16147 Genova.; Mail: labnefro@ospedale-gaslini.ge.it

Introduzione

La *sindrome nefrosica* (nephrotic syndrome, NS) è una condizione caratterizzata da proteinuria, ipoalbuminemia e presenza di edemi. Se ne stima un'incidenza di 2-3/100.000 all'anno e relativamente all'età pediatrica, la NS rappresenta una delle cause più comuni di malattia renale [1].

Nell'ambito della NS, la *glomerulosclerosi focale e segmentaria* (FSGS) è un frequente riscontro anatomo-patologico, caratterizzato dalla presenza di focolai di sclerosi glomerulare che più spesso interessa localmente il tessuto. Il quadro clinico è spesso indistinguibile da una forma meno impegnativa di malattia anche se la risposta ai farmaci è generalmente ridotta o assente. La FSGS è una tipica malattia prodotta da alterazioni della struttura e/o della funzione del *podocita* renale, che rappresentano un elemento comune a molte forme di NS ma che si manifestano con differente impegno clinico, estensione della lesione(minime lesioni nella forma iniziale, focolai di sclerosi nella FSGS classica) [2] (full text) e nel caso di

malattie con implicazioni autoimmuni anche per la presenza di anticorpi (Nefropatia membranosa)

Le forme familiari di FSGS non si discostano dalla descrizione sopra riportata ed anzi presentano le alterazioni tipiche per cui i podociti glomerulari hanno attratto l'interesse dei patologi, da cui è stato coniato il termine “*podocitopatia*”.

Negli ultimi anni è stato possibile identificare numerosi geni causativi di FSGS (Figura 2), che codificano proteine essenziali allo sviluppo ed alla funzione dei podociti. Modifiche molecolari nei geni podocitari sono legate ad alterazioni strutturali di proteine podocitarie [3] (full text) che quasi invariabilmente determinano la perdita di autonomia funzionale del glomerulo renale.

La FSGS familiare: dall'analisi della trasmissione ai geni.

La *familiarità*, il *modello di trasmissione* della malattia e l'*età di esordio* possono rappresentare utili indizi per un iniziale inquadramento delle podocitopatie e della

Tabella I: Geni principali coinvolti nelle podocitopatie e sindromi correlate

	Gene	Locus	Proteina	Trasmissione	#OMIM
Nephrotic Syndrome, type 1 (Finnish type)	NPHS1	1q13.1	Nephrin	AR	#602716
Nephrotic Syndrome, type 2	NPHS2	1q25.2	Podocin	AR	#604766
Nephrotic Syndrome, type 3	PLCE1	10q23.33	Phospholipase C epsilon 1	AR	#610725
Nephrotic Syndrome, type 4	WT1	11p13	Wilms tumor 1 gene	AD	#256370
Nephrotic Syndrome, type 5 (Pierson Syndrome)	LAMB2	3p21.31	Laminin beta 2	AR	#614199
Nephrotic Syndrome, type 6	PTPRO	12p12.3	Protein-Tyrosine Phosphatase, Receptor-Type, O	AR	#614196
Nephrotic Syndrome, type 7	DGKE	17q22	Diacylglycerol Kinase, Epsilon	AR	#615008
Nephrotic Syndrome, type 8	ARHGDIA	17q25.3	Arhgdia	AR	#615244
Nephrotic Syndrome, type 9	ADCY4	19q13.2	AARFdomain containing kinase 4	AR	#615573
Focal Segmental Glomerulosclerosis type 1	ACTN4	19q13.2	Alpha-Actinin 4	AD	#603278
Focal Segmental Glomerulosclerosis type 2	TRPC6	11q22.1	Transient Receptor Potential Cation Channel, homolog of 6	AD	#603965
Focal Segmental Glomerulosclerosis type 3	CD2AP	6p12.3	C02-associated protein	AR/AD	#607832
Focal Segmental Glomerulosclerosis type 4	APOL1	22q12.3	Apolipoprotein 1	AD	#612551
Focal Segmental Glomerulosclerosis type 5	INF2	14q32.33	Inverted Formin 2	AD	#613237
Focal Segmental Glomerulosclerosis type 6	MYO1E	15q22.2	Myosin 1 E	AR	#614131
Focal Segmental Glomerulosclerosis type 7	PAX2	10q24.31	Paired Box Gene 2	AD	#616002
Focal Segmental Glomerulosclerosis type 8	ANLN	7p14.2	Actin-Binding Protein Anillin	AD	#616032
Focal Segmental Glomerulosclerosis type 9 ?	LMX1B	9q33.3	Lim Homeobox Transcription Factor 1	AD	*602575
Cubulin	CUBN	10p13	Cubulin	AD	*602997
ARHGAP24	ARHGAP24	4q22.1	Arhgap24 (RhoGAP)	AD	*610586
Sindromi associate a NS					
Denys-Drash Syndrome	WT1	11p13	Proteina	Trasmissione	#OMIM
Frasier Syndrome	WT1	11p13	Wilms tumor 1 gene	AD	#194080
Schimke Immuno-Osseous Dysplasia	SMARCAL1	2q35	Wilms tumor 1 gene	AD	#136680
Pierson syndrome	LAMB2	3p21.31	SWI/SNF-Related, Matrix-Associated, Actin-Dependent Regulator of Chromatin, Subfamily a -Like Protein 1	AR	#242900
Coenzyme Q10 deficiency, primary, 1	COQ2	4q21.23	Laminin beta 2	AR	#609049
Coenzyme Q10 deficiency, primary, 3 (Leigh Syndrome)	PDSS2	6q21	Parahydroxybenzoate-Polypernyltransferase	AR	#607426
Coenzyme Q10 deficiency, primary, 6	COQ6		Decaprenyl Diphosphate Synthase, Subunit 2	AR	#607426
Epstein Syndrome	MYH9	22q12.3	S. cerevisiae homolog of 6	AR	#614650
ARMF Syndrome	SCARB2/LIMP2	4q21.1	Miosin II a	AD	#153650
(Action myoclonus-renal failure syndrome)			Scavenger Receptor Class B, Member 2	AR	#254900
Galloway-Mowat Syndrome	WDR73	15q25.2	WD Repeat-containing protein 73	AR	#251300
Nail Patella Syndrome	LMX1B	9q33.3	Lim Homeobox Transcription Factor 1	AD	#606170

Figura 2.

FSGS. Esistono poi criteri classificatori ancillari, presenza di sintomi extra renali e/o la velocità di evoluzione verso l'uremia che possono contribuire ad una iniziale indicazione volta a programmare in maniera adeguata i testi genetici. Ad esempio, una evoluzione rapida suggerisce forme a trasmissione autosomica recessiva (AR) mentre un'evoluzione più lenta è più caratteristica delle forme a trasmissione autosomica dominante (AD). Relativamente all'età di esordio, è probabile che studi molecolari condotti su pazienti con podocitopatie ad insorgenza precoce (0-5 anni) portino ad diagnosi genetica in una percentuale più alta di casi rispetto ad insorgenze tardive (80% per età <1anni) ed è pertanto importante attivare test genetici mirati in pazienti con esordio precoce di malattia.

Anche l'**entità della proteinuria** è legata a differenti tratti genetici: malattie ad ereditarietà recessiva presentano proteinurie più elevate rispetto a corrispondenti situazioni cliniche ad ereditarietà autosomica dominante; queste ultime spesso anche associate ad **ematuria** (ad es. *INF2*). **Segni extrarenali** identificano tratti mendeliani sindromici e possono suggerire lo studio di geni specifici quali *WT1* nel caso di genitali ambigui, *COQ2*, *COQ6* in caso di danni encefalici associati, *INF2*, in caso di neuropatia periferica, etc.

Infine, da un punto di vista prettamente molecolare, possiamo anche dire che le forme recessive sono causate da mutazioni genetiche con perdita di funzione (loss-of-function) di geni che sintetizzano proteine presenti nello slit-diaphragm (ad es. *NPHS1*, *NPHS2*). Al contrario, le forme dominanti sono causate da mutazioni con aumento di funzione (gain-of-function) in geni codificanti proteine del citoscheletro podocitario (ad es. *INF2*, *ACTN4*).

FSGS ad ereditarietà Autosomica Recessiva.

Principali varianti di sindrome nefrosica con tratto mendeliano autosomico recessivo e ad insorgenza precoce.

Sindrome nefrosica tipo 1 o Finnish congenital nephrosis (#256300): è causata da mutazioni omozigoti o eterozigoti composte della **Nefrina (*NPHS1*)** [4] (full text). La malattia si caratterizza per esordio molto precoce della proteinuria, quasi sempre congenita o anche prenatale, associata a sindrome nefrosica severa, resistente ai farmaci comunemente utilizzati (steroidi, terapia immunosoppressiva) ed a rapida progressione verso l'insufficienza renale cronica (ESRF).

La Nefrina è una proteina transmembrana fondamentale per la struttura del diaframma podocitario e implicata nel signaling cellulare. La porzione extracellulari della proteina è composta da otto domini IgG-like distali ed un dominio fibronectin di tipo 3 prossimale alla membrana cellulare, questi sono responsabili della dimerizzazione e della interazione fra i pedicelli podocitari per la formazione del diaframma di filtrazione. Sulla porzione transmembrana e sulla porzione intracellulari si localizzano i siti di

legame con altre molecole implicate nella trasmissione del segnale intracellulare (ad es. podocina, *CD2AP*).

Sindrome nefrosica tipo 2 (#600995): è causata da mutazioni omozigoti o eterozigoti composte del gene **Podocina (*NPHS2*)** [5]; è caratterizzata da esordio in epoca infantile/giovanile, resistenza ai farmaci e progressione verso ESRF nella prima/seconda decade di vita [6] (full text) [7] (full text). Alcuni pazienti mostrano un esordio più tardivo. Alcune mutazioni di *NPHS2* danno origine a sindrome nefrosica molto precoce e del tutto indistinguibile con la forma finnica; si tratta di mutazioni frameshift, nonsense e missense (ad es. p.R138Q) [8].

La podocina è una proteina appartenente al raft lipidico della membrana cellulare del podocita che interagisce strutturalmente con nefrina e *CD2AP*. Anche le mutazioni del gene della podocina determinano alterazione della permeabilità glomerulare ed a livello ultrastrutturale fusione pedicellare [9] (full text).

Sindrome nefrosica tipo 3 (#610725): è causata da mutazioni omozigoti o eterozigoti composite del gene **Fosfolipasi-C1-epsilon (*PCLE1*)** [10]. Anche questa forma di sindrome nefrosica è caratterizzata da esordio in epoca infantile/giovanile, resistenza ai farmaci e progressione verso la ESRF nella prima/seconda decade di vita.

La Fosfolipasi C1-epsilon è un enzima bi-funzionale che modula gli enzimi small GATase della superfamiglia Ras che regolano la sopravvivenza e la crescita cellulare. In particolare, tali enzimi interagiscono con RhoA nel signaling intracellulare e risultano determinanti per la l'organizzazione dell'actina [11] (full text) che ha un ruolo centrale alla patogenesi della malattia

Le tre forme descritte in precedenza (**Sindrome Nefrosica tipo 1,2,3**) rappresentano la quasi totalità delle forme di NS a trasmissione AR. Rare forme di NS sono legate a mutazioni presenti in geni quali *PTPRO* [12] (full text), *DGKE* [13] (full text), *ARHGDIA* [14], *ADCK4* [15], *MYO1E* [16].

Come già anticipato esistono poi casi di NS associate a sintomi extrarenali che si presentano nell'ambito di sindromi:

Mutazioni del **gene soppressore del tumore di Wilms, *WT1*** (sindrome nefrosica tipo 4, #256370): è responsabile di NS caratterizzata da esordio in epoca infantile/giovanile e progressione in ESRF nella seconda/terza decade, alla biopsia renale si evidenzia una sclerosi diffusa mesangiale (S Denys-Drash) e/o tipiche lesioni di FSGS (S Frasier) [17] [18]. Mutazioni del gene *WT1* possono anche causare tumore di Wilms isolato (#194070), e sindromi complesse come la Denys-Drash syndrome (DDS; #194080), che progredisce in ESRF e si manifesta con genitali ambigui e neuroblastoma (tumore di Wilms) e la Frasier syndrome (#136680), caratterizzata da NS steroidoresistente in età giovanile con reperto istologico di FSGS, progressiva malattia cronica del rene, pseudoermafroditismo del maschio e frequente riscontro di gona-

doblastoma [19]. Normalmente le sindromi sopradescritte sono geneticamente determinate da mutazioni "de novo", che si localizzano frequentemente a livello degli esoni 8 e 9 e rispettivi siti di splicing, mentre in alcuni nuclei familiari, forme AD con proteinuria non nefrosica e lenta evoluzione verso l'ESRF sono state descritte in associazione a mutazioni missenso [20] (full text).

NS associate a deficit del coenzima Q10 possono essere causate da mutazioni di geni che codificano per vari metaboliti quali il *COQ2* [21], *COQ6* [22] ed per il primo enzima della catena di sintesi del coenzima Q10 (*PDSS2*) [23] (full text). Clinicamente tali mutazioni possono essere associate a manifestazioni encefaliche gravi quali l'encefalopatia nell'ambito di sindrome di Leigh

La NS associata a displasia immuno-ossea di Schimke è caratterizzata da displasia spondiloepifisaria con fenotipo caratteristico ed è principalmente legata ad un difetto progressivo del sistema immunitario, anomalie ossee specifici, marcato difetto di crescita ed anomalie encefaliche. Il gene implicato è *SMARCAL1* [24].

Una rara forma di NS associata a manifestazioni oculari, inclusa microcoria e ipoplasia dei muscoli ciliari e pupillari è descritta nell'ambito della sindrome di Pierson, causata da mutazioni del gene *LAMB2*. Spesso i pazienti presentano ritardo dello sviluppo neurolologico [25] (full text).

Infine, esiste un'associazione di NS nell'ambito della sindrome ARMF (Action Myoclonus-Renal Failure Syndrome), causata da mutazione del gene *SCARB2*. Questa sindrome è caratterizzata da epilessia mio-clonica progressiva e NS [26] (full text).

Recentemente sono state identificate mutazioni nel gene *WDR73* (WD-Repeat containing protein 73) associate alla sindrome di Galloway-Mowat, clinicamente caratterizzata da microcefalia, ernia iatale e NS [27] (full text).

FSGS ad ereditarietà Autosomica Dominante AD:

Mutazioni puntiformi di molti geni sono responsabili di FSGS ad ereditarietà autosomica dominante, la più comune è dovuta a mutazioni del gene *Inverted Formin 2*, *INF2* (*610982), che determina istologicamente una forma classica di glomerulosclerosi focale e segmentaria (FSGS) [28], con esordio clinico variabile e più spesso durante la seconda decade di vita. La proteinuria è generalmente lieve/moderata ma la malattia quasi invariabilmente evolve verso la ESRF. *INF2* è un membro della famiglia delle formine, molecole che concorrono alla polimerizzazione dell'actina citoscheletrica. Questa proteina ha una attività specifica che consiste nel velocizzare la polimerizzazione/de-polimerizzazione dell'actina stessa. I casi clinici associati a mutazione di *INF2* fino ad oggi riportati in letteratura e legati ad oltre 40 mutazioni identificate suggeriscono che la perdita dell'attività inibitoria di *INF2* stessa o di proteine omologhe ap-

partenenti della stessa categoria determinano la mancata o alterata polimerizzazione dell'actina e sono causa del meccanismo patogenetico [29]. È importante ricordare che un sottogruppo di pazienti con mutazione di *INF2* presentano la malattia di Charcot Marie-Tooth (CMT), una neuropatia periferica demielinizante (Charcot-Marie-Tooth disease #614455). Non esiste una chiara correlazione genotipo/fenotipo che possa definire quali mutazioni siano associate a FSGS isolata o a FSGS associata a CMT [29].

Due forme di FSGS dominante ad incidenza media, sono causate da mutazioni dei geni *ACTN4* (alfa actinina-4) [30] e *TRPC6* (canale cationico TRPC6). I fenotipi associati a tali mutazioni sono molto simili e sono ereditarietà AD, proteinuria tipicamente in range non nefrosico e progressione verso la malattia renale cronica. Hanno frequenza rara e non hanno tipicità relativamente all'età d'esordio; possibile l'insorgenza di entrambe in età pediatrica.

Il gene *ACTN4* codifica per la proteina alfa-actinina-4 il cui ruolo è modulare la polimerizzazione dell'actina citoscheletrica. Le mutazioni identificate si localizzano alla porzione N-terminale della proteina e causano un incremento nell'attività di legame determinando alterazioni nella struttura citoscheletrica del podocita [31] (full text).

Il gene *TRPC6* codifica per un canale cationico presente sulla membrana podocitaria e regolante il trasporto del Ca⁺⁺ intracellulare. Le mutazioni del gene *TRPC6* determinano un aumento dell'attività del canale cationico e il flusso di calcio può attivare il pathway cellulare RhoA, determinando una disfunzione podocitaria [32] (full text).

Rare forme dominanti sono state ricondotte a mutazioni dei geni *ARHGAP24* [33] e *CD2AP* [34] (full text) e ad altri geni più recentemente riportati in letteratura (Figura 2).

Next Generation Sequencing (NGS)

L'analisi molecolare consente la diagnosi genetica in circa il 20% dei pazienti con NS familiare, lasciando non caratterizzati molti casi. Ereditarietà complesse, fenotipi eterogenei e possibili eziologie multi genetiche possono essere implicate e rendono difficile evoluzioni successive [35] (full text). Gli sviluppi tecnologici possono qui incidere in maniera significativa e modificare le aspettative per il futuro.

È importante notare che le indagini genetiche mirate, oltre al ruolo centrale nella diagnosi molecolare di pazienti con malattia attiva, possono contribuire all'identificazione dell'eziologia e alla definizione del rischio genetico dei loro familiari, facilitando la realizzazione di un percorso assistenziale integrato con altri specialisti ed orientato alla diagnosi precoce ed a uno specifico programma terapeutico.

Le nuove tecnologie di sequenziamento (Next-Generation Sequencing, NGS) rendono l'argomento

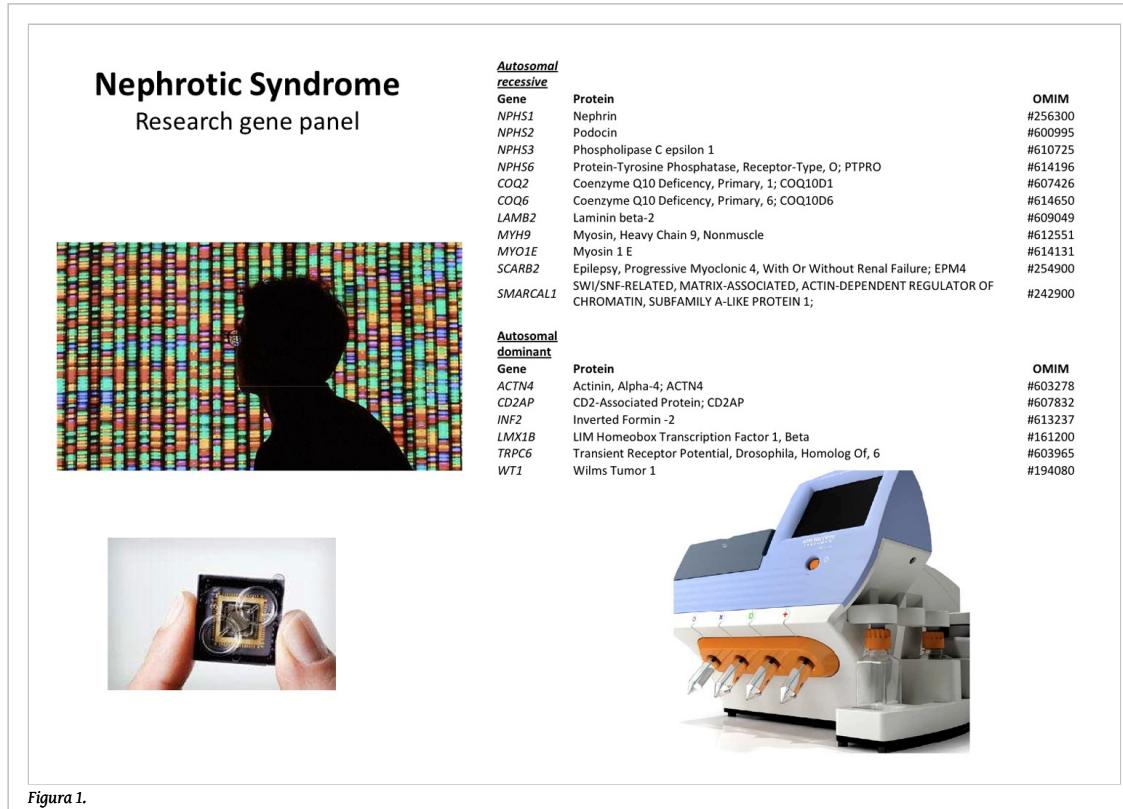


Figura 1.

un ambito in continua espansione e crescita; la possibilità di sequenziare a basso costo l'intero genoma umano ha reso possibile l'identificazione di nuovi geni, validare markers di suscettibilità e suggerire meccanismi responsabili di malattia. Tutte le potenzialità elencate possono avere applicazione in ambito nefrologico. Ciò permetterà un'accurata diagnosi (anche precoce) e soprattutto consentirà l'identificazione di strategie terapeutiche sempre più personalizzate e accurate rendendo irrinunciabile una collaborazione tra genetisti, nefrologi, pediatri [36].

NGS applicato alla NS

La messa a punto di un pannello di geni dedicato alla SN rappresenta di fatto una evoluzione importante sulla via della diagnosi molecolare precoce e diffusa. Nella Figura 1 mostriamo quanto sviluppato presso il nostro Istituto. Con la messa in uso di un pannello target per la sindrome nefrosica sarà possibile avere in tempo reale (che significa in contemporanea con le scelte terapeutiche) una visione globale del sistema di geni che sono implicati nella malattia (17 geni alla stesura del manoscritto, ma probabilmente il numero è in evoluzione). Questo rappresenta un punto cardine per il nefrologo clinico. Esistono però problemi tecnici da superare che devono essere noti anche agli utilizzatori della tecnica. Il primo punto è legato alla notevole mole di dati che vengono forniti dall'uso della NGS. Si tratta in molti casi di varianti non patologiche ma che devono essere vagilate con attenzione e spesso richiedono una attenta mappatura della famiglia onde definire lo stato clinico di altri portatori della variante genica. Il ruolo del

biologo molecolare e della bioinformatica sono centrali in questa fase. È nostra convinzione che si debbano creare team dedicati alla genetica delle malattie renali visto l'enorme massa di dati che devono essere presi in considerazione nella fase diagnostica avanzata e che vedono ovviamente la diagnostica molecolare della sindrome nefrosica come argomento importante del team. Un secondo punto cruciale è che ci sia scambio di informazioni fra laboratori dedicati in quanto la validazione delle differenti tecniche e dei differenti strumenti deve passare attraverso un necessario confronto fra gli addetti ai lavori. È critico alle evoluzioni tecnologiche avere sistemi di validazione che permettano di elaborare referti sicuri e l'organizzazione di reti fra i laboratori specializzati nella diagnostica molecolare avanzata della sindrome nefrosica è essenziale a tal fine e vede nelle società scientifiche il tessuto di connessione necessario allo scambio.

Conclusioni

In conclusione, disponiamo attualmente di test economici, accurati e standardizzati in grado di sequenziare l'intero genoma umano o di selezionare una serie di geni di interesse. L'obiettivo di avere disponibile una accurata valutazione della genetica in contemporanea con le scelte terapeutiche è alla portata ma ancora devono essere sciolti nodi importanti quali la formazione di team dedicati, al confronto fra gruppi che porti alla standardizzazione delle tecniche ed in ultimo faccia produrre un manufatto sicuro e validato. L'incredibile quantità di dati forniti dalle tecniche di sequenziamento richiedono adeguato filtro ed analisi. Fondamentale è il contributo

clinico nel porre diagnosi rigorose, riconoscere e segnalare eventuale ereditarietà e manifestazioni extrarenali che possono indirizzare lo studio genetico. Possiamo ora solo intravvedere le modifiche che l'evoluzione tecnologica apporterà al nostro lavoro

quotidiano, quello che riteniamo sempre più necessario è il mantenere un attivo e costruttivo confronto fra specialisti per garantire la miglior assistenza possibile ai nostri pazienti [36] [37] [38].

Bibliografia

- [1] Braden GL, Mulhern JG, O'Shea MH et al. Changing incidence of glomerular diseases in adults. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 2000 May;35(5):878-83
- [2] Machuca E, Benoit G, Antignac C et al. Genetics of nephrotic syndrome: connecting molecular genetics to podocyte physiology. *Human molecular genetics* 2009 Oct 15;18(R2):R185-94 (full text)
- [3] Pollak MR Inherited podocytopathies: FSGS and nephrotic syndrome from a genetic viewpoint. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2002 Dec;13(12):3016-23 (full text)
- [4] Kestilä M, Lenkkeri U, Männikkö M et al. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein--nephrin--is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Molecular cell* 1998 Mar;1(4):575-82 (full text)
- [5] Boute N, Gribouval O, Roselli S et al. NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nature genetics* 2000 Apr;24(4):349-54
- [6] Caridi G, Bertelli R, Carrea A et al. Prevalence, genetics, and clinical features of patients carrying podocin mutations in steroid-resistant nonfamilial focal segmental glomerulosclerosis. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2001 Dec;12(12):2742-6 (full text)
- [7] Caridi G, Bertelli R, Di Duca M et al. Broadening the spectrum of diseases related to podocin mutations. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2003 May;14(5):1278-86 (full text)
- [8] Caridi G, Perfumo F, Ghiggeri GM et al. NPHS2 (Podocin) mutations in nephrotic syndrome. Clinical spectrum and fine mechanisms. *Pediatric research* 2005 May;57(5 Pt 2):54R-61R
- [9] Carraro M, Caridi G, Bruschi M et al. Serum glomerular permeability activity in patients with podocin mutations (NPHS2) and steroid-resistant nephrotic syndrome. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2002 Jul;13(7):1946-52 (full text)
- [10] Hinkes B, Wiggins RC, Gbadegesin R et al. Positional cloning uncovers mutations in PLCE1 responsible for a nephrotic syndrome variant that may be reversible. *Nature genetics* 2006 Dec;38(12):1397-405
- [11] Gbadegesin R, Hinkes BG, Hoskins BE et al. Mutations in PLCE1 are a major cause of isolated diffuse mesangial sclerosis (IDMS). *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2008 Apr;23(4):1291-7 (full text)
- [12] Ozaltin F, Ibsirlioglu T, Taskiran EZ et al. Disruption of PTEN causes childhood-onset nephrotic syndrome. *American journal of human genetics* 2011 Jul 15;89(1):139-47 (full text)
- [13] Ozaltin F, Li B, Rauhauser A et al. DGKE variants cause a glomerular microangiopathy that mimics membranoproliferative GN. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2013 Feb;24(3):377-84 (full text)
- [14] Gee HY, Saisawat P, Ashraf S et al. ARHGDIA mutations cause nephrotic syndrome via defective RHO GTPase signaling. *The Journal of clinical investigation* 2013 Aug;123(8):3243-53
- [15] Ashraf S, Gee HY, Woerner S et al. ADCK4 mutations promote steroid-resistant nephrotic syndrome through CoQ10 biosynthesis disruption. *The Journal of clinical investigation* 2013 Dec;123(12):5179-89
- [16] Sanna-Cherchi S, Burgess KE, Nees SN et al. Exome sequencing identified MYO1E and NEIL1 as candidate genes for human autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Kidney international* 2011 Aug;80(4):389-96
- [17] Lipska BS, Ranchin B, Iatropoulos P et al. Genotype-phenotype associations in WT1 glomerulopathy. *Kidney international* 2014 May;85(5):1169-78
- [18] Aucella F, Bisceglia L, De Bonis P et al. WT1 mutations in nephrotic syndrome revisited. High prevalence in young girls, associations and renal phenotypes. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)* 2006 Oct;21(10):1393-8
- [19] Pelletier J, Bruening W, Li FP et al. WT1 mutations contribute to abnormal genital system development and hereditary Wilms' tumour. *Nature* 1991 Oct 3;353(6343):431-4
- [20] Benetti E, Caridi G, Malaventura C et al. A novel WT1 gene mutation in a three-generation family with progressive isolated focal segmental glomerulosclerosis. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2010 Apr;5(4):698-702 (full text)
- [21] Barisoni L, Diomedi-Camassei F, Santorelli FM et al. Collapsing glomerulopathy associated with inherited mitochondrial injury. *Kidney international* 2008 Jul;74(2):237-43
- [22] Heeringa SF, Chernin G, Chaki M et al. COQ6 mutations in human patients produce nephrotic syndrome with sensorineural deafness. *The Journal of clinical investigation* 2011 May;121(5):2013-24
- [23] López LC, Schuelke M, Quinzii CM et al. Leigh syndrome with nephropathy and CoQ10 deficiency due to decaprenyl diphosphate synthase subunit 2 (PDSS2) mutations. *American journal of human genetics* 2006 Dec;79(6):1125-9 (full text)
- [24] Boerkel CF, Takashima H, John J et al. Mutant chromatin remodeling protein SMARCAL1 causes Schimke immuno-osseous dysplasia. *Nature genetics* 2002 Feb;30(2):215-20
- [25] Zenker M, Aigner T, Wendler O et al. Human laminin beta2 deficiency causes congenital nephrosis with mesangial sclerosis and distinct eye abnormalities. *Human molecular genetics* 2004 Nov 1;13(21):2625-32 (full text)
- [26] Berkovic SF, Dibbens LM, Oshlack A et al. Array-based gene discovery with three unrelated subjects shows SCARB2/LIMP-2 deficiency causes myoclonus epilepsy and glomerulosclerosis. *American journal of human genetics* 2008 Mar;82(3):673-84 (full text)
- [27] Colin E, Huynh Cong E, Mollet G et al. Loss-of-function mutations in WDR73 are responsible for microcephaly and steroid-resistant nephrotic syndrome: Galloway-Mowat syndrome. *American journal of human genetics* 2014 Dec 4;95(6):637-48 (full text)
- [28] Brown EJ, Schlöndorff JS, Becker DJ et al. Mutations in the formin gene INF2 cause focal segmental glomerulosclerosis. *Nature genetics* 2010 Jan;42(1):72-6
- [29] Caridi G, Lugani F, Dagnino M et al. Novel INF2 mutations in an Italian cohort of patients with focal segmental glomerulosclerosis, renal failure and Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2014 Sep;29 Suppl 4:iv80-6

- [30] Kaplan JM, Kim SH, North KN et al. Mutations in ACTN4, encoding alpha-actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nature genetics* 2000 Mar;24(3):251-6
- [31] Winn MP, Conlon PJ, Lynn KL et al. A mutation in the TRPC6 cation channel causes familial focal segmental glomerulosclerosis. *Science (New York, N.Y.)* 2005 Jun 17;308(5729):1801-4 (full text)
- [32] Gigante M, Caridi G, Montemurno E et al. TRPC6 mutations in children with steroid-resistant nephrotic syndrome and atypical phenotype. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2011 Jul;6(7):1626-34 (full text)
- [33] Akilesh S, Suleiman H, Yu H et al. Arhgap24 inactivates Rac1 in mouse podocytes, and a mutant form is associated with familial focal segmental glomerulosclerosis. *The Journal of clinical investigation* 2011 Oct;121(10):4127-37
- [34] Gigante M, Pontrelli P, Montemurno E et al. CD2AP mutations are associated with sporadic nephrotic syndrome and focal segmental glomerulosclerosis (FSGS). *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2009 Jun;24(6):1858-64 (full text)
- [35] Caridi G, Gigante M, Ravani P et al. Clinical features and long-term outcome of nephrotic syndrome associated with heterozygous NPHS1 and NPHS2 mutations. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2009 Jun;4(6):1065-72 (full text)
- [36] Giglio S, Provenzano A, Mazzinghi B et al. Heterogeneous genetic alterations in sporadic nephrotic syndrome associate with resistance to immunosuppression. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2015 Jan;26(1):230-6
- [37] Brown EJ, Pollak MR, Barua M et al. Genetic testing for nephrotic syndrome and FSGS in the era of next-generation sequencing. *Kidney international* 2014 May;85(5):1030-8
- [38] Bullich G, Trujillano D, Santín S et al. Targeted next-generation sequencing in steroid-resistant nephrotic syndrome: mutations in multiple glomerular genes may influence disease severity. *European journal of human genetics : EJHG* 2015 Sep;23(9):1192-9