

ARTICOLI ORIGINALI

Le Basi Genetiche delle Malformazioni Congenite dei Reni e delle Vie Urinarie



Monica Bodria^{1,2}, Simone Sanna-Cherchi²

(1) Dipartimento di Clinica Medica, Nefrologia, e Scienze della Prevenzione, Università di Parma, Italia

(2) Division of Nephrology, Department of Medicine, Columbia University College of Physicians and Surgeons, New York, NY 10032, USA

Corrispondenza a: Simone Sanna-Cherchi, M.D.; Division of Nephrology, Columbia University College of Physicians and Surgeons, 1150 Street Nicholas Avenue, Russ Berrie Pavilion #413, New York, New York 10032, USA; Mail: ss2517@columbia.edu

Abstract

Le anomalie congenite dei reni e delle vie urinarie (CAKUT, dall'inglese Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract) hanno un'incidenza di circa l'1% e sono tra i più comuni difetti congeniti. Il CAKUT è la principale causa di insufficienza renale terminale in età pediatrica con un impatto significativo sulla mortalità e morbilità. Studi condotti recentemente dimostrano come il CAKUT sia un tratto con una forte determinazione genetica. L'architettura genetica di questi fenotipi coinvolge sia mutazioni puntiformi sia varianti genomiche strutturali. L'enorme progresso tecnologico in campo di sequenziamento di seconda generazione ha portato ad una accelerazione nell'identificazione di nuovi geni di suscettibilità. Infine, la recente applicazione delle tecniche di microarray ha dimostrato che varianti strutturali rare costituiscono un'importante fonte di variazione genetica in pazienti con CAKUT. Le varianti identificate nel CAKUT sono risultate associate ad aumentato rischio di sviluppo di altre patologie ad esordio tardivo o in età adulta, ed in particolare malattie neuropsichiatriche come l'autismo, il ritardo mentale, la schizofrenia ed altre. La facile diagnosi pre-natale del CAKUT tramite ultrasonografia, e la successiva possibile diagnosi molecolare, fanno assumere al rene ed alle vie urinarie il nuovo ruolo di sentinella per patologie che si manifestano più avanti nel corso della vita, con forti implicazioni in campo di medicina personalizzata.

Genetic Basis of Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract

Congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT) occur have an incidence of about 1% and they are one of the most common birth defects. CAKUT is the most common cause of end stage renal disease in children, leading to high morbidity and mortality in these patients. Recent studies indicate a strong genetic component in the determination of CAKUT. The genetic architecture of these malformations involves both point mutations and structural variants. The recent improvement in next-generation sequencing technologies resulted in a boost on discovery of new genes involved in CAKUT. Results from micro-array study have demonstrated that rare structural variants are an important source of genetic variation in patients with CAKUT. Moreover, these structural variants have been proven to be associated with developmental disorders that develop later in life, especially neurodevelopment diseases, such as autism, schizophrenia, epilepsy, intellectual disability, and others. The easy pre-natal diagnosis of CAKUT by ultrasound and the possibility of a rapid molecular diagnosis in a significant fraction of patients, implicate the kidney and urinary tract as new possible sentinels for other diseases that develop later in life, bearing strong implications for personalized medicine.

Definizioni e Descrizione del Fenotipo

Le anomalie congenite dei reni e delle vie urinarie rappresentato uno spettro di malformazioni spesso raggruppate sotto l'acronimo di CAKUT (dall'inglese Congenital Anomalies of the Kidney and Urinary Tract). Queste malformazioni possono interessare una o più strutture dell'apparato urinario (rene, uretere, vescica) e possono presentarsi in modo isolato o in varie combinazioni nella stessa famiglia o anche nello stesso individuo, e possono essere simmetriche o asimmetriche [1] (full text) [2] [3] (full text) [4]. Il CAKUT include alterazioni del parenchima renale, come l'agenesia renale o l'ipodisplasia (RHD), e anomalie ureteriche, come la stenosi ostruttiva del giunto pieloureterale (UPJO), le duplicazioni del sistema escretore (DCS), il megauretere congenito, la stenosi del giunto uretero-vescicale (UVJO) e il reflusso vescicoureterale (VUR) [1] (full text), [2], [5] [6]. Questa classificazione anatomica è spesso non informativa riguardo all'eziologia molecolare o genetica primitiva. Infatti, è ben riconosciuto che individui portatori di mutazioni del gene *PAX2* (associate alla

sindrome rene-coloboma) possono avere fenotipi che spaziano dalla RHD isolata alla ostruzione ureterale o VUR, e anche combinazioni di questi difetti [7] (full text) [8] (full text) [9] (full text) [10]. Questa variabilità fenotipica è riconducibile al fatto che tutte le componenti delle vie urinarie derivano da due tessuti embriologici, il mesenchima metanefrico e la gemma ureterale, che condividono diversi pathways di trasduzione e che richiedono induzione reciproca per il loro differenziamento nelle strutture finali [11] [12] (full text) [13] [14] [15]. Di conseguenza, singoli difetti in ciascuno di questi due compartimenti possono avere un effetto pleiotropico sullo sviluppo dell'intero tratto urinario.

Epidemiologia del CAKUT

Malformazioni del tratto urogenitale sono presenti in più del 20% dei difetti di nascita [16] e si possono osservare in più dell'1% dei nati vivi [17] [18] [19] (full text). L'applicazione di routine dell'ultrasonografia durante la gravidanza ha portato ad un aumento di diagnosi di CAKUT in epoca pre-natale. Tra queste,

l'idronefrosi congenita è l'anomalia più frequentemente diagnosticata con ecografia prenatale, e si presenta in circa il 2% delle gravidanze normali [20] [21] (full text). Il 17% circa di queste si risolve spontaneamente ed una frazione significativa migliora o si stabilizza con la crescita [22]. La risoluzione spontanea e il miglioramento indicano una significativa plasticità delle vie urinarie nei primi anni di vita e suggeriscono che la scoperta dei difetti molecolari alla base del CAKUT possa indicare potenziali target terapeutici, quantomeno per l'uropatia ostruttiva e il reflusso vescicoureterale.

Il CAKUT è alla base del 40-50% dell'insufficienza renale terminale (ESRD) in età pediatrica e del 7% negli adulti, con un impatto significativo sulla mortalità e morbilità, soprattutto cardiovascolari [23] (full text) [24] [25] [26] (full text) [27] (full text). Bambini con ESRD hanno una mortalità globale del ~41%, che raggiunge un impressionante 93% quando l'ESRD si presenta alla nascita o entro il primo anno di vita [28]. I bambini che sopravvivono hanno una mortalità 30 volte superiore rispetto a bambini della stessa età ma senza ESRD, e l'aspettativa di vita si riduce di più di 30 anni per gli individui trattati con la dialisi [29] (full text).

Patogenesi

Lo sviluppo normale dei reni e delle vie urinarie è il risultato della precisa interazione, spazialmente e temporalmente coordinata, tra due strutture, il mesenchima metanefrico (MM, che origina dalla corda nefrogenica) e la gemma ureterale (UB, che origina dal dotto nefrico o di Wolff). Al giorno embrionale 10.5 nel topo e alla quinta settimana di gestazione nell'uomo, il MM induce l'UB a gemmare dal dotto nefrico e una serie di interazioni reciproche porta alla crescita e differenziazione del MM e alla ramificazione dell'UB dentro il MM fino alla formazione finale dei reni e delle vie urinarie [13] [15]. Qualunque alterazione, che sia genetica, ambientale, o stocastica, che influenza questo processo può risultare in malformazioni renali e delle vie urinarie. Sono numerose le molecole, espresse in ciascuno o in entrambi questi compartimenti, che orchestrano gli eventi di induzione e ramificazione dell'UB, e la conversione mesenchimo-epiteliale. L'inattivazione di ognuno di questi fattori in modelli murini risulta in diverse malformazioni del rene e delle vie urinarie che ricapitolano i fenotipi del CAKUT nell'uomo. La descrizione dettagliata degli eventi e delle pathways regolatrici dello sviluppo renale e delle vie urinarie va al di là degli scopi di questa review e sono discussi altrove [2] [6] [12] (full text) [13] [14] [15], [30] (full text) [31] [32] [33] (full text) [34] (full text) [35] [36] [37] [38].

In questo manoscritto ci focalizzeremo sulle più recenti scoperte in campo di genetica umana del CAKUT col tentativo di spiegare l'architettura genetica di questa malattia, e tratteremo le implicazioni cliniche delle scoperte genetiche.

L'architettura genetica del CAKUT

Per qualunque malattia umana o fenotipo può essere ipotizzato un modello di architettura genetica sottostante basandosi sulle caratteristiche del fenotipo e della sua epidemiologia. Il CAKUT rappresenta un gruppo molto eterogeneo di malattie con diversa severità, diverse modalità di trasmissione, e diverso grado di aggregazione con malformazioni e malattie extra-renali. Possiamo identificare, in maniera molto semplice, tre categorie principali di CAKUT: forme severe di malattia con alta letalità pre- o peri-natale e familiarità generalmente negativa; CAKUT familiare; forme sporadiche e comuni di CAKUT. Ognuna di queste categorie avrà verosimilmente un'architettura genetica differente e, quindi, richiederà approcci diversi per la diagnosi molecolare e l'identificazione di geni di suscettibilità.

Nelle forme sporadiche di malattia, che rappresentano la maggior parte delle forme di CAKUT, le malformazioni congenite sono frequentemente associate ad alta morbilità e mortalità, riducendo la possibilità che le mutazioni responsabili vengano trasmesse alla generazione successiva. Di conseguenza, i genitori dei soggetti affetti da queste condizioni hanno frequentemente (80-90% dei casi) un fenotipo normale suggerendo un tipo di ereditarietà recessiva o una mutazione *de novo*. Questi dati seguono la teoria genetica classica secondo la quale la maggior parte delle varianti deleterie sono eliminate dalla selezione naturale, e non raggiungono così un'alta frequenza nella popolazione generale [39] [40]. In questo scenario le varianti strutturali (copy number variations, o CNVs) costituiscono una fonte di variabilità genetica che sembra essere largamente coinvolta nello sviluppo della patologia soprattutto nei casi a presentazione sindromica. Infatti il diverso meccanismo che sottostà alla predisposizione genetica umana alle mutazioni puntiformi e alle CNVs rende le varianti strutturali tre volte più frequenti delle mutazioni puntiformi [41] (full text).

Nelle forme familiari di CAKUT, che rappresentano circa il 20-30% dei casi, la malattia segrega in forma autosomica dominante con penetranza incompleta nella maggior parte dei pedigree [6] [42] (full text) [43] (full text). In questo caso il modello genetico che concorda di più con l'epidemiologia è attribuibile a mutazioni che danno loss-of-function o ad alleli ipomorfici che producono malformazioni moderate senza un'impatto significativo sulla fitness riproduttiva.

Infine due forme di CAKUT mostrano una inusuale alta prevalenza nella popolazione generale e frequentemente una ereditarietà complessa non mendeliana: il reflusso vescico ureterale (VUR) e il doppio sistema collettore (DCS). Il VUR isolato è presente nel 1% dei bambini normali alla nascita [44] [45] e, nonostante la forte aggregazione familiare e l'alta ricorrenza in parenti di primo grado, finora non è stato identificato nessun gene di suscettibilità che segua le regole della genetica mendeliana classica [43] (full text) [45] [46] (full text). Il DCS è uno dei più comuni difetti del

tratto genito-urinario con una prevalenza di almeno 0.8% [47], probabile sottostima essendo gran parte dei DCS spesso asintomatici [48]. In questi fenotipi più comuni e meno aggressivi, l'ereditabilità del tratto potrebbe essere spiegata dalla presenza di varianti comuni con effetto lieve o moderato o una complessa interazione tra varianti funzionali in geni rilevanti per lo sviluppo.

Forme monogeniche di CAKUT causate da mutazioni puntiformi

L'evidenza per un ruolo importante delle mutazioni puntiformi nella patogenesi del CAKUT deriva principalmente dallo studio di rare ma ben definite forme sindromiche di malformazioni dei reni e delle vie urinarie secondarie a mutazioni in *PAX2*, *TCF2*, *SALL1*, *WT1*, *SIX1*, *EYA1* e altri geni [6]. Queste malattie sono frequentemente diagnosticate mediante manifestazioni extra-renali specifiche, come il coloboma oculare, fistole auricolari, malformazioni ano-rettali, ed altre. L'aggregazione familiare del CAKUT è da tempo riconosciuta ed è presente in circa il 20-30% dei casi, con differenti modelli di trasmissione [6] [42] (full text) [46] (full text), il più frequente dei quali è la forma autosomica dominante con penetranza incompleta. Questo modello suggerisce la presenza di mutazioni puntiformi eterozigoti con largo effetto sul fenotipo ma non severo a sufficienza da avere effetti maggiori sulla fitness riproduttiva. Studi di clonaggio posizionale condotti dal nostro gruppo hanno identificato diversi loci maggiori di suscettibilità per forme dominanti e recessive di CAKUT a carico dei cromosomi 1p32-33, 10q24-26 e 12p11-q13 [42] (full text) [46] (full text). Questi loci rendono ragione di meno del 5% delle famiglie, evidenziando l'alta eterogeneità genetica di queste malattie. Questa estrema variabilità genetica associata ad un ampio spettro fenotipico, a difficoltà diagnostiche e classificative, e a pedigree di piccole o medie dimensioni, hanno reso difficile l'identificazione di geni coinvolti nelle forme non sindromiche di CAKUT mediante approcci di clonaggio posizionale classico. I recenti sviluppi tecnologici di sequenziamento di seconda generazione hanno significativamente accelerato la scoperta di nuovi geni di suscettibilità per il CAKUT.

A seguito discuteremo le più importanti e recenti scoperte nelle forme monogeniche di CAKUT causate da mutazioni in geni che hanno un effetto esclusivo o predominante sullo sviluppo dei reni e delle vie urinarie nell'uomo.

La prima convincente evidenza che mutazioni in geni associati a forme sindromiche di CAKUT possano essere identificate in bambini affetti da difetti isolati del rene e delle vie urinarie deriva dallo studio di Weber, et al, che hanno testato per mutazioni i geni *TCF2*, *PAX2*, *EYA1*, *SIX1*, and *SALL1* in pazienti affetti da ipodisplasia renale [9] (full text). Mentre mutazioni nella maggior parte dei geni erano rare, varianti rare e deleterie nei geni *TCF2* and *PAX2* erano frequenti, suggerendo un ruolo importante per questi due geni nella patogenesi di forme isolate di malformazioni

renali umane. È importante sottolineare che la scoperta di mutazioni in geni che sono usualmente associati a sindromi complesse, ha portato alla rivalutazione per patologie extra-renali dei pazienti portatori di tali mutazioni, risultando in un miglioramento del trattamento clinico. Da allora, numerosi gruppi, incluso il nostro, hanno riportato mutazioni dominanti nei geni *PAX2* e *TCF2* come la causa genetica più frequente di CAKUT tra i difetti monogenici. In ogni caso, la frazione totale di malattia attribuibile a mutazioni in questi due geni è inferiore al 10% [49]. Infatti, mentre mutazioni in *TCF2* sono frequentemente identificate in pazienti affetti da reni multicistici displasici o iperecogenici, e da ipodisplasia renale [50] (full text), [51] (full text), tali mutazioni sono rare in pazienti con altre malformazioni delle vie urinarie inferiori [9] (full text) [49] [51] (full text) [52] (full text) [53] (full text) [54] (full text). Un altro gene coinvolto in una frazione non trascurabile di CAKUT è stato recentemente identificato dal nostro gruppo mediante clonaggio posizionale associato a *exome sequencing* applicato ad una famiglia con 7 pazienti affetti da malformazioni urinarie che segregavano secondo una modalità autosomica dominante con penetranza incompleta [55] (full text). Queste analisi hanno portato ad identificare mutazioni (incluse varianti che portano a alterato splicing o terminazione prematura della traduzione dell'mRNA) nel gene *DSTYK*. *DSTYK* codifica per una chinasi a doppia specificità per serina/treonina e tirosina mai implicata precedentemente nello sviluppo dei reni e vie urinarie. Anomalie a carico di questo gene sono risultate presenti nel 2.3% di pazienti portatori di malformazioni dei reni e delle vie urinarie. L'inattivazione dell'ortologo di *DSTYK* nello zebrafish ha evidenziato una malformazione della cloaca e un complesso fenotipo che ricapitola l'inattivazione globale della pathway del fibroblast growth factor (FGF) [56] (full text) [57] (full text) [58] (full text). Infine, studi di silenziamento dell'RNA hanno identificato *DSTYK* come un nuovo regolatore positivo del segnale dell'FGF durante lo sviluppo delle vie urinarie.

Mutazioni in geni associati a forme autosomiche dominanti di malattia rappresentano le forme monogeniche più frequenti di malattia, anche se studi recenti suggeriscono che, in aggregato, rendono ragione di circa il 6% dei casi di CAKUT [59].

Forme monogeniche di CAKUT causate da varianti a trasmissione autosomica recessiva sono rare e, collettivamente, la frazione di patologia attribuibile a tali mutazioni è verosimilmente inferiore al 2%. Nonostante questo, malattie a trasmissione recessiva spesso mostrano correlazioni gene-fenotipo meglio definite. Mutazioni recessive nei geni che codificano per mediatori del sistema renina-angiotensina (RAS) sono state identificate nel 2005 in soggetti affetti da una forma estremamente severa di displasia tubulare renale associata a oligoidramnios e mortalità perinatale secondaria a ipoplasia polmonare [60]. Le anomalie di sviluppo renale in questi pazienti ricapitolano precisamente l'effetto degli inibitori dell'enzima di conversione dell'angiotensina nei feti

esposti a questi farmaci, confermando il ruolo centrale del RAS nello sviluppo renale normale. Recentemente, una mutazione *frame-shift* omozigote nel recettore muscarinico M3 per l'acetilcolina è stata identificata in una famiglia consanguinea con individui affetti da malformazioni vescicali che risultavano in VUR, idronefrosi, e in un fenotipo Prune-Belly-like [61] (full text). Il fenotipo ricapitola quello di topi con inattivazione del gene ortologo *chrm3* [62] (full text). In modo simile, una mutazione *frame-shift* nel gene *FGF20* è stata identificata mediante mappaggio per omozigosità e *whole-exome sequencing* in famiglie consanguinee con diversi feti affetti da agenesia renale bilaterale [63] (full text). Topi con doppia inattivazione di *fgf9* e *fgf20*, ricapitolavano il fenotipo umano. Infine, mutazioni omozigoti o eterozigoti composte del gene *TRAP1* sono state recentemente identificate in pazienti con CAKUT e CAKUT associato a sindrome di VACTERL in circa lo 0.5% dei pazienti [64] [65]. Il ruolo di TRAP1 nello sviluppo dei reni e delle vie urinarie è al momento sconosciuto.

In conclusione, forme monogeniche di CAKUT causate da mutazioni puntiformi rendono attualmente ragione di meno del 10% dei casi, a conferma dell'estrema eterogeneità genetica di questo fenotipo. Mentre mutazioni dominanti sono più frequenti, i geni che portano queste varianti sono più difficili da identificare e spesso non vi è una chiara correlazione tra la lesione genetica ed il fenotipo. All'opposto, i rari geni recessivi identificati sinora permettono una migliore correlazione gene-fenotipo. Col continuo sviluppo delle tecniche di sequenziamento e l'abbassamento dei costi, è verosimile che decine di nuovi geni di suscettibilità per il CAKUT verranno identificati nel prossimo futuro.

Ereditarietà complessa

L'estrema eterogeneità genetica del CAKUT, l'espressione variabile del fenotipo, e l'associazione pleiotropica di anomalie di sviluppo extra-renali, risultano in una bassa correlazione tra genotipo e fenotipo quando si analizza un singolo locus ed il quadro clinico del paziente portatore della variante genetica. È perciò verosimile che modelli di ereditarietà complessi, che coinvolgono varianti genetiche multiple in loci differenti, giochino un ruolo significativo nella determinazione ed espressione del fenotipo. Lo studio dei meccanismi di epistasi e ereditarietà oligogenica sono estremamente difficili in patologia umana. In nefrologia, probabilmente il miglior esempio è la sindrome di Bardet-Biedl (BBS), un tratto autosomico recessivo geneticamente eterogeneo caratterizzato da un'ampia variabilità fenotipica tra le famiglie ed addirittura tra individui all'interno della stessa famiglia [66] [67]. In BBS possono essere interessati diversi organi e sistemi, con lo sviluppo di malformazioni cistiche renali, obesità, polidattilia, degenerazione retinica, e altre manifestazioni [68] (full text). Nel BBS oligogenico, geni differenti che quando mutati causano la malattia, possono agire come modificatori in *cis* o in *trans* per altri loci e condizionare il fenotipo primario o le ma-

nifestazioni secondarie [67] [69] (full text) [70] (full text) [71] (full text). Il grado di variabilità clinica può infatti essere parzialmente spiegato dall'interazione a carico di tre o più dei loci di BBS. In uno studio recente, è stato identificato un nuovo gene *MGC1203* che codifica per una proteina in grado di interagire fisicamente con almeno otto proteine BBS note. Gli autori hanno trovato un'alta frequenza della variante C430T in pazienti BBS, e i pazienti portatori erano affetti da una forma di BBS più severa rispetto a parenti di primo grado non portatori (ex. esordio precoce di retinite pigmentosa) [67].

Un esempio di interazione genetica rilevante per il CAKUT è stato riportato recentemente per mutazioni del gene *HNF1B (TCF2)* e di geni correlati al rene policistico in famiglie con malattie cistiche renali [72] (full text). In questo report, pazienti affetti da forme severe di malattia cistica renale che risultavano in elevata mortalità fetale o perinatale, o con lesioni cistiche severe ad esordio particolarmente precoce, sono stati dimostrati portatori di più varianti germinali in uno dei geni *PKD* e *HNF1B (TCF2)*, dando spiegazione della drammatica variabilità fenotipica intra-familiare.

Un altro esempio di ereditarietà complessa deriva dagli studi di CNVs. Lavori recenti sul ritardo di sviluppo neurocognitivo e con malformazioni dei reni e delle vie urinarie hanno mostrato che circa il 10% dei pazienti con malattia associata a una variante patologica nota è anche portatore di un secondo grosso sbilanciamento genetico [73] (full text) [74] (full text). Questi pazienti, coerentemente con l'alto carico mutazionale, hanno mostrato avere fenotipi più gravi quali gravi disturbi del sistema neurocognitivo e un coinvolgimento multi-organo.

Ruolo delle varianti di copy number nelle forme sporadiche di CAKUT

Le copy number variations (CNVs) -generalmente definite come qualsiasi aumento o perdita di DNA germinativo di dimensioni comprese tra 1 kilobase (Kb) fino a diverse megabasi (Mb) e che non sono rilevabili dalle tecniche di citogenetica convenzionale- sono una fonte di variabilità genetica che si è iniziato ad apprezzare negli ultimi 5-10 anni [75] [76] (full text) [77] [78]. Le CNVs in genere interessano diversi gene e sono state dimostrate alla base di molteplici fenotipi nell'uomo, comprese malattie del sistema nervoso centrale (ritardo mentale, autismo, schizofrenia, epilessia), difetti cardiaci, patologie polmonari, malformazioni cranio-facciali, e altre [79] [80] [81] [82] (full text) [83] [84] (full text) [85] (full text) [86].

Le CNVs possono essere ricorrenti, quando vengono generate tramite un meccanismo di ricombinazione omologa non allelica (non-allelic homologous recombination, NAHR) guidata da elementi altamente ripetitivi (come ad esempio le duplicazioni segmentali, o low-copy repeats, LCRs) presenti in contiguità alle CNVs stesse; oppure possono essere non-ricorrenti, ossia in cui i punti di rottura sono diversi in ogni singolo individuo, quando guidate da altri tipi di meccanismi come il legame a terminazioni non omo-

loghe (non-homologous end-joining, NHEJ) o al *fork stalling template and switching* [87] [88] (full text).

Ci sono molte evidenze che uno squilibrio genomico giochi un ruolo principale nella predisposizione al CAKUT. Primo, il CAKUT è presente nel 23% delle sindromi malformative a riscontro prenatale (16) e esistono molti difetti citogenetici che si associano al CAKUT (10q26, 6p21 e 19q13) [89] [90] (full text) [91] (full text). Secondo, esistono specifici riarrangiamenti cromosomici diagnostici per difetti congeniti sindromici che si associano con alta prevalenza a malformazioni dei reni e delle vie urinarie. Tra questi è noto che le delezioni a carico di della regione 22q11.2, causative per la sindrome DiGeorge/Velocardiofaciale, sono associate con alta prevalenza a malformazioni dei reni e delle vie urinarie [92] (full text) [93]. Un'importante scoperta è stata l'identificazione di una delezione ricorrente di ~1.5 Mb sul cromosoma 17q12 in pazienti con malattia renale, soprattutto in casi di reni con displasia multicistica e diabete [94] (full text). Questa delezione coinvolge il gene *TCF2*, codificante per il *hepatocyte nuclear factor 1 beta* (HNF1B), un gene il cui ruolo è già noto nel diabete giovanile ad insorgenza tardiva di tipo 5 (MODY5) e a malformazioni renali [50] (full text) [52] (full text) [95] (full text), rendendo questa sindrome da microdelezione la prima sindrome ricorrente specifica per lo sviluppo dei reni e delle vie urinarie. Più recentemente uno studio comprendente 30 bambini con forme sindromiche di CAKUT ha identificato CNVs *de novo* in tre (10%) pazienti [96] (full text), confermando l'osservazione che lo sviluppo dei reni è sensibile al dosaggio genico. Il nostro gruppo ha recentemente condotto un largo studio caso-controllo che ha analizzato il contributo patogenetico delle CNVs rare nel CAKUT confrontando 522 bambini con agenesia renale o ipodisplasia verso circa 14000 controlli [74] (full text). I bambini di questo studio sono stati reclutati in diversi centri europei e dal Children Hospital di Philadelphia, USA. L'analisi di CNV è stata condotta mediante l'utilizzo di DNA micro-arrays per la genotipizzazione ad alta densità di polimorfismi del singolo nucleotide (SNPs). L'analisi ha mostrato un carico mutazionale significativamente più elevato nei casi rispetto ai controlli e, tra queste varianti strutturali, molte erano soprattutto delezioni contenenti uno o più elementi codificanti. In particolare, l'analisi genomica ha suggerito che le malformazioni renali possono essere attribuite a CNV di dimensioni uguali o superiori a 250 Kb in circa il 17% dei casi, suggerendo che varianti strutturali submicroscopiche rare siano una fonte importante di variazione genetica nella predisposizione all'agenesia renale e all'ipodisplasia [79]. L'analisi individuale di CNVs rare non ha rivelato un elevato numero di CNVs ricorrenti "rene-specifiche" ma soprattutto ha identificato 34 diversi disturbi genomici noti in 55 individui, andando a costituire il 10.5% dell'intera coorte di CAKUT. La più frequente variante patogenetica strutturale identificata è la delezione di ~1.5 Mb in 17q12 associata alla sindrome cisti renali e diabete (RCAD), trovata in 11 pazienti (2.1%). Gli altri 33 disturbi genomici riscontrati

erano presenti ognuno in pochi individui (ad es. la delezione in1q21, la sindrome di Wolf-Hirschhorn, la sindrome Potocki-Lupski, la sindrome di DiGeorge/VCF, la sindrome di Phelan-McDermid) o in un solo soggetto. Questi dati indicano che i disordini noti legati a CNVs, generalmente non diagnosticabili con i soli strumenti clinici, sono in realtà una causa frequente di malformazioni renali. In più, l'identificazione di 34 regioni discrete del genoma associate al CAKUT evidenzia l'estrema eterogeneità genetica di questi tratti. L'analisi di casi senza CNVs patogeniche note ha portato all'identificazione di 38 ulteriori varianti genetiche strutturali rare in 32 individui (6.1%). Queste rappresentano nuove regioni candidate per disordini genomici associati al CAKUT. Nell'insieme, questi dati mostrano che uno su sei bambini con malformazioni renali è portatore di una variante strutturale rara di grossa dimensione diagnostica per una sindrome nota. Molto interessante è l'osservazione che quasi tutte queste varianti sono state precedentemente associate a fenotipi di sviluppo neurocognitivi che tendono solitamente a manifestarsi più tardivamente nel corso della vita, con grandissimo potenziale di impatto sulla stratificazione del rischio e nella individualizzazione della cura. Un'altra importante osservazione in questo studio è che 14 soggetti (2.7% della coorte; 16.1% dei casi affetti da malattie associate a anomalie di copy number) sono portatori di più di un disordine noto o di nuovo di copy number. Sempre il nostro gruppo ha recentemente esteso l'analisi di micro-array per ricerca di CNV ad una coorte pediatrica di oltre 400 pazienti appartenenti al CKiD Study (Chronic Kidney Disease in Children prospective cohort study), uno studio epidemiologico longitudinale, prospettico e multietnico mirato ad identificare i fattori di rischio per la progressione dell'insufficienza renale nei bambini. Questo studio ha dimostrato che delezioni e duplicazioni rare che sono associate a disordini genomici noti sono frequenti in questa popolazione, permettendo un'accurata diagnosi genetica in più del 7% dei casi [97]. Nuovamente, bambini affetti da ipodisplasia renale avevano il più alto carico (*burden*) mutazionale, confermando il CAKUT come un fenotipo estremamente sensibile al dosaggio genico.

Implicazione clinica dei test genetici

Oltre alla importante implicazione nella scoperta dei geni per comprendere la patofisiologia del CAKUT nell'uomo, i test genetici offrono un'opportunità unica per portare ad una diagnosi molecolare, per migliorare il counseling genetico e il planning familiare, e per individuare terapie specifiche per disturbi legati allo sviluppo neurocognitivo che si manifestano solo più tardivamente nel corso della vita. Questo aspetto è particolarmente rilevante nelle malformazioni dei reni e delle vie urinarie. Infatti, con l'introduzione in routine dell'ultrasonografia nello screening pre-natale, molti fenotipi CAKUT possono essere diagnosticati prima della nascita, fungendo da sentinella per eventuali anomalie genetiche che possano predisporre a malattie con esordio clinico

più tardivo, e offrendo così la possibilità di migliorare le cure offerte al paziente. L'identificazione di mutazioni in geni generalmente coinvolti nelle forme sindromiche di CAKUT in pazienti affetti da ipodisplasia renale isolata può indirizzare il pediatra a rivalutare globalmente il paziente e, in una percentuale significativa di casi, a identificare così difetti extra-renali potenzialmente trattabili o prevenibili, come ad esempio il diabete mellito associato a mutazioni in *HNF1B* o il coloboma oculare nelle mutazioni di *PAX2* [9] (full text). Molto importante è inoltre l'alto rischio di l'associazione tra le copy number variations riscontrate nel 20% dei soggetti con anomalie congenite dei reni e delle vie urinarie e le malattie dello sviluppo neurocognitivo, quali la schizofrenia, l'autismo, il ritardo mentale, l'epilessia [74] (full text). Queste diagnosi, se effettuate in epoca pre-natale, possono potenzialmente influenzare il planning dei genitori e sicuramente offrire strategie di trattamento preventive e personalizzate.

Ad esempio, la delezione in 17q12 causativa per la sindrome cisti renali e diabete, è stata associata a un rischio aumentato di circa 14 volte per lo sviluppo di autismo o schizofrenia [98] (full text). La diagnosi molecolare precoce può quindi guidare verso una valutazione neuropsichiatrica per il riconoscimento dei primi segni e sintomi di autismo, con possibilità significative di modificarne l'outcome clinico. Infatti è stato dimostrato come un approccio terapeutico precoce e intensive possa migliorare significativamente la prognosi di questi bambini [99].

Conclusioni

Riassumendo, le anomalie congenite e delle vie urinarie sono una condizione relativamente frequente con alto impatto sulla sopravvivenza complessiva e sulla funzione renale nei bambini affetti. L'architettura genetica di queste condizioni coinvolge sia mutazioni puntiformi che varianti strutturali, con un ruolo potenzialmente significativo dell'interazione multi-locus nello spiegare l'altissima variabilità fenotipica inter-individuale. La frequente associazione di anomalie genetiche causative per CAKUT con un alto rischio di malattie dello sviluppo neurocognitivo che si presentano solo tardivamente nella vita e il riconoscimento in utero delle malformazioni congenite dei reni e delle vie urinarie, conferiscono al rene e alle vie urinarie il ruolo di sentinella per una diagnostica precoce in grado di ottimizzare e personalizzare le strategie terapeutiche nei bambini con rischio di sviluppo di altri disturbi anche a carico del sistema nervoso centrale.

Ringraziamenti

Ci scusiamo per tutto l'importante lavoro di ricerca che non è stato possibile citare in questa review a causa di spazio. Questo lavoro è stato finanziato da: the American Heart Association Grant-in-Aid 13GRN-T14680075, dal Columbia CTSA Irving Institute/Clinical Trials Office pilot grant, e dai grants NIDDK 1R01DK103184 e 1R21DK098531 (tutti a SSC). SSC è inoltre supportato dal Paul Marks Scholar Award.

Bibliografia

- [1] Ichikawa I, Kuwayama F, Pope JC 4th et al. Paradigm shift from classic anatomic theories to contemporary cell biological views of CAKUT. *Kidney international* 2002 Mar;61(3):889-98 (full text)
- [2] Nakanishi K, Yoshikawa N Genetic disorders of human congenital anomalies of the kidney and urinary tract (CAKUT). *Pediatrics international : official journal of the Japan Pediatric Society* 2003 Oct;45(5):610-6
- [3] Pope JC 4th, Brock JW 3rd, Adams MC et al. How they begin and how they end: classic and new theories for the development and deterioration of congenital anomalies of the kidney and urinary tract, CAKUT. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 1999 Sep;10(9):2018-28 (full text)
- [4] Vats AN, Ishwad C, Vats KR et al. Steroid-resistant nephrotic syndrome and congenital anomalies of kidneys: evidence of locus on chromosome 13q. *Kidney international* 2003 Jul;64(1):17-24
- [5] Goodyer PR. In: Avner ED, Harmon WE, and Niaudet P eds. *Pediatric nephrology*, 5th ed. Philadelphia Lippincott Williams & Wilkins; 2004
- [6] Sanna-Cherchi S, Caridi G, Weng PL et al. Genetic approaches to human renal agenesis/hypoplasia and dysplasia. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)* 2007 Oct;22(10):1675-84
- [7] Fletcher J, Hu M, Berman Y et al. Multicystic dysplastic kidney and variable phenotype in a family with a novel deletion mutation of *PAX2*. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2005 Sep;16(9):2754-61 (full text)
- [8] Nishimoto K, Iijima K, Shirakawa T et al. *PAX2* gene mutation in a family with isolated renal hypoplasia. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2001 Aug;12(8):1769-72 (full text)
- [9] Weber S, Moriniere V, Knüppel T et al. Prevalence of mutations in renal developmental genes in children with renal hypodysplasia: results of the ESCAPE study. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2006 Oct;17(10):2864-70 (full text)
- [10] Yoshida J, Tsuchiya M, Tatsuma N et al. Mass screening for early detection of congenital kidney and urinary tract abnormalities in infancy. *Pediatrics international : official journal of the Japan Pediatric Society* 2003 Apr;45(2):142-9
- [11] GROBSTEIN C Inductive epitheliomesenchymal interaction in cultured organ rudiments of the mouse. *Science (New York, N.Y.)* 1953 Jul 10;118(3054):52-5
- [12] Costantini F, Kopan R Patterning a complex organ: branching morphogenesis and nephron segmentation in kidney development. *Developmental cell* 2010 May 18;18(5):698-712 (full text)
- [13] Dressler GR The cellular basis of kidney development. *Annual review of cell and developmental biology* 2006;22:509-29
- [14] Schedl A Renal abnormalities and their developmental origin. *Nature reviews. Genetics* 2007 Oct;8(10):791-802
- [15] Vainio S, Lin Y Coordinating early kidney development: lessons from gene targeting. *Nature reviews. Genetics* 2002 Jul;3(7):533-43

- [16] Garne E, Dolk H, Loane M et al. EUROCAT website data on prenatal detection rates of congenital anomalies. *Journal of medical screening* 2010;17(2):97-8
- [17] Birth Defects Monitoring Program (BDMP)/Commission on Professional and Hospital Activities (CPHA) surveillance data, 1988-1991. *Teratology* 1993 Dec;48(6):658-75
- [18] Metropolitan Atlanta Congenital Defects Program surveillance data, 1988-1991. *Teratology* 1993 Dec;48(6):695-709
- [19] Schulman J, Edmonds LD, McClearn AB et al. Surveillance for and comparison of birth defect prevalences in two geographic areas--United States, 1983-88. *MMWR. CDC surveillance summaries : Morbidity and mortality weekly report. CDC surveillance summaries / Centers for Disease Control* 1993 Mar 19;42(1):1-7 (full text)
- [20] Thom RP, Rosenblum ND A translational approach to congenital non-obstructive hydronephrosis. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)* 2013 Sep;28(9):1757-61
- [21] Dudley JA, Haworth JM, McGraw ME et al. Clinical relevance and implications of antenatal hydronephrosis. *Archives of disease in childhood. Fetal and neonatal edition* 1997 Jan;76(1):F31-4 (full text)
- [22] Cheng AM, Phan V, Geary DF et al. Outcome of isolated antenatal hydronephrosis. *Archives of pediatrics & adolescent medicine* 2004 Jan;158(1):38-40
- [23] Centers for Disease Control and Prevention (CDC) State-specific trends in chronic kidney failure--United States, 1990-2001. *MMWR. Morbidity and mortality weekly report* 2004 Oct 8;53(39):918-20 (full text)
- [24] Ardissino G, Daccò V, Testa S et al. Epidemiology of chronic renal failure in children: data from the ItalKid project. *Pediatrics* 2003 Apr;111(4 Pt 1):e382-7
- [25] Sanna-Cherchi S, Ravani P, Corbani V et al. Renal outcome in patients with congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Kidney international* 2009 Sep;76(5):528-33
- [26] Westland R, Schreuder MF, Bökenkamp A et al. Renal injury in children with a solitary functioning kidney--the KIMONO study. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2011 May;26(5):1533-41 (full text)
- [27] Corbani V, Ghiggeri GM, Sanna-Cherchi S et al. 'Congenital solitary functioning kidneys: which ones warrant follow-up into adult life?'. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2011 May;26(5):1458-60 (full text)
- [28] Collins AJ, Foley RN, Herzog C et al. US Renal Data System 2012 Annual Data Report. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation* 2013 Jan;61(1 Suppl 1):A7, e1-476
- [29] McDonald SP, Craig JC, Australian and New Zealand Paediatric Nephrology Association et al. Long-term survival of children with end-stage renal disease. *The New England journal of medicine* 2004 Jun 24;350(26):2654-62 (full text)
- [30] Bates CM Role of fibroblast growth factor receptor signaling in kidney development. *American journal of physiology. Renal physiology* 2011 Aug;301(2):F245-51 (full text)
- [31] Chen F Genetic and developmental basis for urinary tract obstruction. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)* 2009 Sep;24(9):1621-32
- [32] Drummond IA, Davidson AJ Zebrafish kidney development. *Methods in cell biology* 2010;100:233-60
- [33] Woolf AS, Price KL, Scambler PJ et al. Evolving concepts in human renal dysplasia. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2004 Apr;15(4):998-1007 (full text)
- [34] Woolf AS, Winyard PJ Advances in the cell biology and genetics of human kidney malformations. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 1998 Jun;9(6):1114-25 (full text)
- [35] Woolf AS, Winyard PJ Molecular mechanisms of human embryogenesis: developmental pathogenesis of renal tract malformations. *Pediatric and developmental pathology : the official journal of the Society for Pediatric Pathology and the Paediatric Pathology Society* 2002 Mar-Apr;5(2):108-29
- [36] Airik R, Kispert A Down the tube of obstructive nephropathies: the importance of tissue interactions during ureter development. *Kidney international* 2007 Dec;72(12):1459-67
- [37] Little MH, McMahon AP Mammalian kidney development: principles, progress, and projections. *Cold Spring Harbor perspectives in biology* 2012 May 1;4(5)
- [38] Pulkkinen K, Murugan S, Vainio S et al. Wnt signaling in kidney development and disease. *Organogenesis* 2008 Apr;4(2):55-9
- [39] Manolio TA, Collins FS, Cox NJ et al. Finding the missing heritability of complex diseases. *Nature* 2009 Oct 8;461(7265):747-53
- [40] McCarroll SA, Kuruville FG, Korn JM et al. Integrated detection and population-genetic analysis of SNPs and copy number variation. *Nature genetics* 2008 Oct;40(10):1166-74
- [41] Itsara A, Wu H, Smith JD et al. De novo rates and selection of large copy number variation. *Genome research* 2010 Nov;20(11):1469-81 (full text)
- [42] Sanna-Cherchi S, Caridi G, Weng PL et al. Localization of a gene for nonsyndromic renal hypodysplasia to chromosome 1p32-33. *American journal of human genetics* 2007 Mar;80(3):539-49 (full text)
- [43] Sanna-Cherchi S, Reese A, Hensle T et al. Familial vesicoureteral reflux: testing replication of linkage in seven new multigenerational kindreds. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2005 Jun;16(6):1781-7 (full text)
- [44] Peters PC, Johnson DE, Jackson JH Jr et al. The incidence of vesicoureteral reflux in the premature child. *The Journal of urology* 1967 Feb;97(2):259-60
- [45] Scott JE, Swallow V, Coulthard MG et al. Screening of newborn babies for familial ureteric reflux. *Lancet (London, England)* 1997 Aug 9;350(9075):396-400
- [46] Weng PL, Sanna-Cherchi S, Hensle T et al. A recessive gene for primary vesicoureteral reflux maps to chromosome 12p11-q13. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2009 Jul;20(7):1633-40 (full text)
- [47] Privett JT, Jeans WD, Roylance J et al. The incidence and importance of renal duplication. *Clinical radiology* 1976 Oct;27(4):521-30
- [48] Hartman GW, Hodson CJ The duplex kidney and related abnormalities. *Clinical radiology* 1969 Oct;20(4):387-400
- [49] Thomas R, Sanna-Cherchi S, Warady BA et al. HNF1B and PAX2 mutations are a common cause of renal hypodysplasia in the CKiD cohort. *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)* 2011 Jun;26(6):897-903
- [50] Decramer S, Parant O, Beauflis S et al. Anomalies of the TCF2 gene are the main cause of fetal bilateral hypernephrogenic kidneys. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2007 Mar;18(3):923-33 (full text)
- [51] Heidet L, Decramer S, Pawtowski A et al. Spectrum of HNF1B mutations in a large cohort of patients who harbor renal diseases. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2010 Jun;5(6):1079-90 (full text)
- [52] Ulinski T, Lescure S, Beauflis S et al. Renal phenotypes related to hepatocyte nuclear factor-1beta (TCF2) mutations in a pediatric cohort. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2006 Feb;17(2):497-503 (full text)

- [53] Madariaga L, Morinière V, Jeanpierre C et al. Severe prenatal renal anomalies associated with mutations in HNF1B or PAX2 genes. *Clinical journal of the American Society of Nephrology* : CJASN 2013 Jul;8(7):1179-87 (full text)
- [54] Hoskins BE, Cramer CH 2nd, Tasic V et al. Missense mutations in EYA1 and TCF2 are a rare cause of urinary tract malformations. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2008 Feb;23(2):777-9 (full text)
- [55] Sanna-Cherchi S, Sampogna RV, Papeta N et al. Mutations in DSTYK and dominant urinary tract malformations. *The New England journal of medicine* 2013 Aug 15;369(7):621-9 (full text)
- [56] Abe G, Ide H, Tamura K et al. Function of FGF signaling in the developmental process of the median fin fold in zebrafish. *Developmental biology* 2007 Apr 1;304(1):355-66 (full text)
- [57] Griffin KJ, Kimelman D Interplay between FGF, one-eyed pinhead, and T-box transcription factors during zebrafish posterior development. *Developmental biology* 2003 Dec 15;264(2):456-66 (full text)
- [58] Nissen RM, Yan J, Amsterdam A et al. Zebrafish foxi one modulates cellular responses to Fgf signaling required for the integrity of ear and jaw patterning. *Development (Cambridge, England)* 2003 Jun;130(11):2543-54 (full text)
- [59] Hwang DY, Dworschak GC, Kohl S et al. Mutations in 12 known dominant disease-causing genes clarify many congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *Kidney international* 2014 Jun;85(6):1429-33
- [60] Gribouval O, Gonzales M, Neuhaus T et al. Mutations in genes in the renin-angiotensin system are associated with autosomal recessive renal tubular dysgenesis. *Nature genetics* 2005 Sep;37(9):964-8
- [61] Weber S, Thiele H, Mir S et al. Muscarinic Acetylcholine Receptor M3 Mutation Causes Urinary Bladder Disease and a Prune-Belly-like Syndrome. *American journal of human genetics* 2011 Nov 11;89(5):668-74 (full text)
- [62] Matsui M, Motomura D, Karasawa H et al. Multiple functional defects in peripheral autonomic organs in mice lacking muscarinic acetylcholine receptor gene for the M3 subtype. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2000 Aug 15;97(17):9579-84 (full text)
- [63] Barak H, Huh SH, Chen S et al. FGF9 and FGF20 maintain the stemness of nephron progenitors in mice and man. *Developmental cell* 2012 Jun 12;22(6):1191-207 (full text)
- [64] Saisawat P, Kohl S, Hilger AC et al. Whole-exome resequencing reveals recessive mutations in TRAP1 in individuals with CAKUT and VACTERL association. *Kidney international* 2014 Jun;85(6):1310-7
- [65] Westland R, Sanna-Cherchi S Recessive mutations in CAKUT and VACTERL association. *Kidney international* 2014 Jun;85(6):1253-5
- [66] Zaghoul NA, Katsanis N Mechanistic insights into Bardet-Biedl syndrome, a model ciliopathy. *The Journal of clinical investigation* 2009 Mar;119(3):428-37
- [67] Badano JL, Leitch CC, Ansley SJ et al. Dissection of epistasis in oligogenic Bardet-Biedl syndrome. *Nature* 2006 Jan 19;439(7074):326-30
- [68] Beales PL, Elcioglu N, Woolf AS et al. New criteria for improved diagnosis of Bardet-Biedl syndrome: results of a population survey. *Journal of medical genetics* 1999 Jun;36(6):437-46 (full text)
- [69] Zaghoul NA, Liu Y, Gerdes JM et al. Functional analyses of variants reveal a significant role for dominant negative and common alleles in oligogenic Bardet-Biedl syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2010 Jun 8;107(23):10602-7 (full text)
- [70] Katsanis N The oligogenic properties of Bardet-Biedl syndrome. *Human molecular genetics* 2004 Apr 1;13 Spec No 1:R65-71 (full text)
- [71] Beales PL, Badano JL, Ross AJ et al. Genetic interaction of BBS1 mutations with alleles at other BBS loci can result in non-Mendelian Bardet-Biedl syndrome. *American journal of human genetics* 2003 May;72(5):1187-99 (full text)
- [72] Bergmann C, von Bothmer J, Ortiz Bruchle N et al. Mutations in multiple PKD genes may explain early and severe polycystic kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology* : JASN 2011 Nov;22(11):2047-56 (full text)
- [73] Girirajan S, Rosenfeld JA, Coe BP et al. Phenotypic heterogeneity of genomic disorders and rare copy-number variants. *The New England journal of medicine* 2012 Oct 4;367(14):1321-31 (full text)
- [74] Sanna-Cherchi S, Kiryluk K, Burgess KE et al. Copy-number disorders are a common cause of congenital kidney malformations. *American journal of human genetics* 2012 Dec 7;91(6):987-97 (full text)
- [75] Conrad DF, Pinto D, Redon R et al. Origins and functional impact of copy number variation in the human genome. *Nature* 2010 Apr 1;464(7289):704-12
- [76] Sebat J, Lakshmi B, Troge J et al. Large-scale copy number polymorphism in the human genome. *Science (New York, N.Y.)* 2004 Jul 23;305(5683):525-8 (full text)
- [77] Redon R, Ishikawa S, Fitch KR et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature* 2006 Nov 23;444(7118):444-54
- [78] Iafrate AJ, Feuk L, Rivera MN et al. Detection of large-scale variation in the human genome. *Nature genetics* 2004 Sep;36(9):949-51
- [79] Cooper GM, Coe BP, Girirajan S et al. A copy number variation morbidity map of developmental delay. *Nature genetics* 2011 Aug 14;43(9):838-46
- [80] Greenway SC, Pereira AC, Lin JC et al. De novo copy number variants identify new genes and loci in isolated sporadic tetralogy of Fallot. *Nature genetics* 2009 Aug;41(8):931-5
- [81] Osoegawa K, Vessere GM, Utami KH et al. Identification of novel candidate genes associated with cleft lip and palate using array comparative genomic hybridisation. *Journal of medical genetics* 2008 Feb;45(2):81-6
- [82] Serra-Juhé C, Rodríguez-Santiago B, Cuscó I et al. Contribution of rare copy number variants to isolated human malformations. *PloS one* 2012;7(10):e45530 (full text)
- [83] Brunetti-Pierri N, Berg JS, Scaglia F et al. Recurrent reciprocal 1q21.1 deletions and duplications associated with microcephaly or macrocephaly and developmental and behavioral abnormalities. *Nature genetics* 2008 Dec;40(12):1466-71
- [84] Sanders SJ, Ercan-Sencicek AG, Hus V et al. Multiple recurrent de novo CNVs, including duplications of the 7q11.23 Williams syndrome region, are strongly associated with autism. *Neuron* 2011 Jun 9;70(5):863-85 (full text)
- [85] Sebat J, Lakshmi B, Malhotra D et al. Strong association of de novo copy number mutations with autism. *Science (New York, N.Y.)* 2007 Apr 20;316(5823):445-9 (full text)
- [86] Stefansson H, Rujescu D, Cichon S et al. Large recurrent microdeletions associated with schizophrenia. *Nature* 2008 Sep 11;455(7210):232-6
- [87] Lupski JR Genomic rearrangements and sporadic disease. *Nature genetics* 2007 Jul;39(7 Suppl):S43-7
- [88] Lee JA, Carvalho CM, Lupski JR et al. A DNA replication mechanism for generating nonrecurrent rearrangements associated with genomic disorders. *Cell* 2007 Dec 28;131(7):1235-47 (full text)
- [89] Groenen PM, Vanderlinden G, Devriendt K et al. Rearrangement of the human CDC5L gene by a t(6;19)(p21;q13.1) in a patient with multicystic renal dysplasia. *Genomics* 1998 Apr 15;49(2):218-29

[90] Ogata T, Muroya K, Sasagawa I et al. Genetic evidence for a novel gene(s) involved in urogenital development on 10q26. *Kidney international* 2000 Dec;58(6):2281-90 (full text)

[91] Vats KR, Ishwad C, Singla I et al. A locus for renal malformations including vesico-ureteric reflux on chromosome 13q33-34. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2006 Apr;17(4):1158-67 (full text)

[92] Shprintzen RJ Velocardiofacial syndrome and DiGeorge sequence. *Journal of medical genetics* 1994 May;31(5):423-4 (full text)

[93] Burtey S 22q11.2 microdeletion syndrome is a common cause of renal tract malformations. *Nature clinical practice. Nephrology* 2008 Aug;4(8):E1

[94] Mefford HC, Clauin S, Sharp AJ et al. Recurrent reciprocal genomic rearrangements of 17q12 are associated with renal disease, diabetes, and epilepsy. *American journal of human genetics* 2007 Nov;81(5):1057-69 (full text)

[95] Bellanné-Chantelot C, Clauin S, Chauveau D et al. Large genomic rearrangements in the hepatocyte nuclear factor-1beta (TCF2) gene are the

most frequent cause of maturity-onset diabetes of the young type 5. *Diabetes* 2005 Nov;54(11):3126-32 (full text)

[96] Weber S, Landwehr C, Renkert M et al. Mapping candidate regions and genes for congenital anomalies of the kidneys and urinary tract (CAKUT) by array-based comparative genomic hybridization. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2011 Jan;26(1):136-43 (full text)

[97] Verbitsky M, Sanna-Cherchi S, Fasel DA et al. Genomic imbalances in pediatric patients with chronic kidney disease. *The Journal of clinical investigation* 2015 May;125(5):2171-8

[98] Moreno-De-Luca D, SGENE Consortium, Mulle JG et al. Deletion 17q12 is a recurrent copy number variant that confers high risk of autism and schizophrenia. *American journal of human genetics* 2010 Nov 12;87(5):618-30 (full text)

[99] Klintwall L, Eldevik S, Eikeseth S et al. Narrowing the gap: effects of intervention on developmental trajectories in autism. *Autism : the international journal of research and practice* 2015 Jan;19(1):53-63