



ARTIGO ORIGINAL

## Chromosomal microarrays testing in children with developmental disabilities and congenital anomalies<sup>☆</sup>



Guillermo Lay-Son<sup>a,b,\*</sup>, Karena Espinoza<sup>a</sup>, Cecilia Vial<sup>a</sup>, Juan C. Rivera<sup>a</sup>,  
María L. Guzmán<sup>a,b</sup> e Gabriela M. Repetto<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Centro de Genética Humana, Faculdade de Medicina, Clínica Alemana Universidad del Desarrollo, Santiago, Chile

<sup>b</sup> Hospital Padre Hurtado, Santiago, Chile

Recebido em 20 de março de 2014; aceito em 9 de julho de 2014

### KEYWORDS

Microarrays;  
Congenital anomalies;  
Developmental disabilities;  
Copy number variants;  
Diagnosis

### Abstract

**Objectives:** Clinical use of microarray-based techniques for the analysis of many developmental disorders has emerged during the last decade. Thus, chromosomal microarray has been positioned as a first-tier test. This study reports the first experience in a Chilean cohort.

**Methods:** Chilean patients with developmental disabilities and congenital anomalies were studied with a high-density microarray (CytoScan™ HD Array, Affymetrix, Inc., Santa Clara, CA, USA). Patients had previous cytogenetic studies with either a normal result or a poorly characterized anomaly.

**Results:** This study tested 40 patients selected by two or more criteria, including: major congenital anomalies, facial dysmorphism, developmental delay, and intellectual disability. Copy number variants (CNVs) were found in 72.5% of patients, while a pathogenic CNV was found in 25% of patients and a CNV of uncertain clinical significance was found in 2.5% of patients.

**Conclusion:** Chromosomal microarray analysis is a useful and powerful tool for diagnosis of developmental diseases, by allowing accurate diagnosis, improving the diagnosis rate, and discovering new etiologies. The higher cost is a limitation for widespread use in this setting.

© 2014 Sociedade Brasileira de Pediatria. Published by Elsevier Editora Ltda. All rights reserved.

DOI se refere ao artigo: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpmed.2014.07.003>

<sup>☆</sup> Como citar este artigo: Lay-Son G, Espinoza K, Vial C, Rivera JC, Guzmán ML, Repetto GM. Chromosomal microarrays testing in children with developmental disabilities and congenital anomalies. J Pediatr (Rio J). 2015;91:189–95.

\* Autor para correspondência.

E-mail: [glayson@udd.cl](mailto:glayson@udd.cl) (G. Lay-Son).

**PALAVRAS-CHAVE**

Microarrays;  
Anomalias  
congênitas;  
Atraso de  
desenvolvimento;  
Variante do número  
de cópia;  
Diagnóstico

## Análise cromossômica por microarray em crianças com deficiências de desenvolvimento e anomalias congênitas

**Resumo**

**Objetivo:** O uso clínico de técnicas baseadas em microarrays para a análise de transtornos de desenvolvimento tem surgido durante a última década. Assim, o microarray cromossômico tem sido posicionado como um teste de primeiro nível clínico. Relatamos a primeira experiência em uma coorte chilena.

**Métodos:** Pacientes chilenos com atraso de desenvolvimento e anomalias congênitas foram estudados com um microarray de alta densidade (CytoScan™ HD Array, Affymetrix, Inc., Santa Clara, CA, EUA). Pacientes tiveram estudos citogenéticos anteriores, ou um resultado normal ou de uma anomalia não bem caracterizada.

**Resultados:** Foram analisados 40 pacientes selecionados por dois ou mais critérios, incluindo: anomalias congênitas maiores, dismorfismo facial, atraso de desenvolvimento e deficiência intelectual. Uma variante do número de cópia (CNV) foi encontrada em 72,5% dos pacientes, enquanto que uma CNV patogênica foi encontrada em 25% dos pacientes e uma CNV de significado clínico incerto foi encontrada em 2,5% dos pacientes.

**Conclusões:** A análise cromossômica microarray é uma ferramenta útil e poderosa em transtornos de desenvolvimento, permite um diagnóstico preciso, melhora a taxa de diagnóstico e descobre novas etiologias. O custo mais elevado é uma limitação para um uso difundido em nossa realidade.

© 2014 Sociedade Brasileira de Pediatria. Publicado por Elsevier Editora Ltda. Todos os direitos reservados.

**Introdução**

Anomalias congênitas múltiplas afetam de dois a três indivíduos em cada 100 nascidos vivos e são a principal causa de mortalidade e deficiência infantil.<sup>1,2</sup> Apesar de sua maioria ser isolada e de origem multifatorial, pacientes com anomalias múltiplas precisam de uma avaliação para identificar uma causa genética subjacente.

Nos últimos anos, o estudo etiológico de transtornos no desenvolvimento tem sido enriquecido com o uso clínico de técnicas em microarray. Em países desenvolvidos, o cariótipo molecular, ou a análise cromossômica por microarray (CMA), é considerado a técnica de primeira linha para a análise de pacientes com anomalias congênitas múltiplas, atraso de desenvolvimento/deficiência intelectual não síndromicos e transtornos do espectro autista.<sup>3-7</sup>

Em contrapartida, em países em desenvolvimento, como da América Latina, a detecção de anomalias cromossômicas ainda é feita principalmente por técnicas citogenéticas convencionais. O cariótipo com bandamento GTG (banda G pela tripsina e corante giemsa) em linfócitos tem sido amplamente usado principalmente para identificar anomalias cromossômicas com uma resolução maior ou igual a 5-10 megabases (5-10 Mb).<sup>8-11</sup> A hibridização *in situ* por fluorescência (FISH) está disponível para um número limitado de doenças causadas por microdeleções/microduplicações cromossômicas e tem uma resolução de 2-5 Mb em núcleos metafásicos e entre 50-150 Kb em núcleos interfásicos.<sup>8,9,11-13</sup> Outras técnicas moleculares foram desenvolvidas para procurar pequenas microdeleções/microduplicações, como a Amplificação de Múltiplas Sondas Dependentes de Ligação (MLPA).<sup>14</sup> Em contrapartida a essas técnicas convencionais, a CMA tem maior

resolução, que atinge 50 Kb, dez vezes maior do que a resolução do cariótipo convencional.<sup>13,15</sup> Essa busca desequilíbrios genéticos (ganhos ou perdas de segmentos cromossômicos) em todo o genoma e tem permitido a identificação de novas síndromes não prontamente detectadas pelos métodos descritos anteriormente.<sup>16-18</sup> A descoberta da variante normal em variantes do número de cópias (CNVs) representa um desafio à interpretação clínica.<sup>15</sup>

Embora os estudos de diagnóstico para indivíduos com anomalias congênitas ou deficiência intelectual com base na citogenética convencional apresentem rendimento diagnóstico próximo de 3%, a CMA apresenta rendimento de aproximadamente 15-20%, ou seja, mais de cinco vezes acima do cariótipo com bandamento G,<sup>6</sup> o que justifica seu uso como teste de diagnóstico de primeira linha para pacientes com diagnósticos clínicos desconhecidos. Estima-se que a CMA consiga detectar, individualmente, mais de 99% de todas as anomalias do cariótipo.<sup>5</sup>

Este relatório apresenta nossa experiência pioneira no uso da CMA em uma coorte de pacientes chilenos com anomalias congênitas múltiplas sem diagnóstico etiológico.

**Métodos****Pacientes**

Foram selecionados 40 pacientes das Clínicas Genéticas do Hospital Padre Hurtado (Santiago, Chile) entre maio de 2012 e novembro de 2012.

Incluímos pacientes que apresentavam no mínimo duas das seguintes características clínicas: anomalias congênitas múltiplas (ACMs), dismorfismo facial (DF), atraso de

desenvolvimento (AD) ou deficiência intelectual (DI). Nenhum dos pacientes apresentou uma causa definida da doença.

Dentre todos os pacientes, 36 apresentaram um cariótipo normal, dois apresentaram um pequeno cromossomo marcador supranumerário (sSMC) descaracterizado, um apresentou um cromossomo derivado, um apresentou translocação robertsoniana herdada e um apresentou monossomia do cromossomo X, porém com características adicionais incomuns.

O comitê de ética local aprovou este estudo e o consentimento informado por escrito foi obtido de todos os pacientes e/ou pais.

### Processamento das amostras

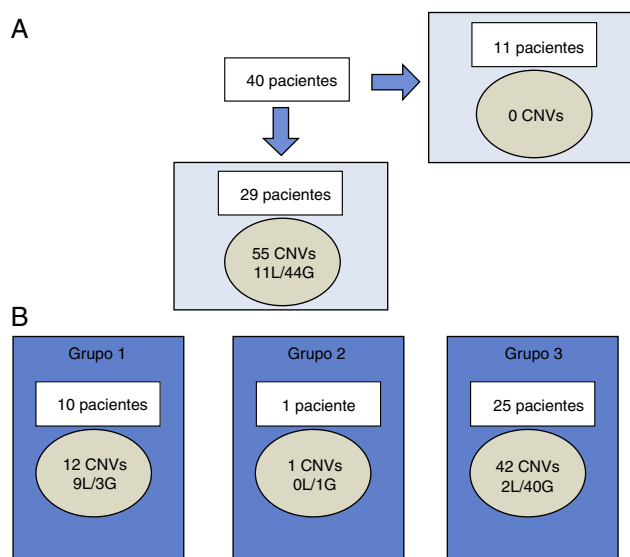
O DNA genômico foi purificado a partir de células mononucleares do sangue periférico com o Kit Miniprep da AxyPrep para extração de DNA genômico do sangue (Axygen Biosciences, Union City, CA, EUA) de acordo com as instruções do fabricante. O DNA genômico de cada paciente foi hibridizado para o CytoScan™ HD Array (Affymetrix, Inc., Santa Clara, CA, EUA) de acordo com as instruções do fabricante. Essa hibridização genômica comparativa por array de alta densidade personalizada com quase 2,7 milhões de marcadores genéticos inclui 700.000 marcadores de polimorfismo de nucleotídeo simples (SNP) e mais de 1,9 milhão de sondas de oligonucleotídeos não polimórficas para a detecção de CNVs.

### Análise de dados

Os dados de array foram analisados com o *software* da Affymetrix® Chromosome Analysis Software Suite (ChAS) v.1.2.2 (Affymetrix, Inc., Santa Clara, CA, EUA) com base na sequência genômica de referência do UCSC Genome Browser hg19, fevereiro de 2009 (GRCh37/hg19). Analisamos variantes do número de cópias (CNV) de mais de 400 Kb, conforme recomendado.<sup>6</sup> Com essa plataforma de maior resolução, conseguimos avaliar uma CNV menor, porém nenhum paciente apresentou anomalias clinicamente relevantes entre 100 e 400 Kb e, dessa forma, mantivemos esse limite para fins deste relatório. As CNVs de mais de 400 Kb foram categorizadas por relevância clínica como CNV de relevância clínica clara (grupo 1), CNV de relevância não clara ou relevância incerta (grupo 2) ou CNV benigna ou polimórfica (grupo 3), com as bases de dados publicamente disponíveis Isca (International Standard Cytogenomic Array),<sup>19</sup> DGV (Database of Genomic Variants),<sup>20,21</sup> Omim (Online Mendelian Inheritance in Man),<sup>22</sup> Decipher (Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources)<sup>23,24</sup> e Ecaruca (European Cytogeneticists Association Register of Unbalanced Chromosome Aberrations).<sup>25</sup>

### Resultados

Dos 40 pacientes analisados, 16 (41%) eram do sexo feminino. As idades variavam de um mês a 25 anos, com uma idade média de 4,2 anos. Como selecionado, a vasta maioria de nossos pacientes tem anomalias múltiplas, incluindo



**Figura 1** Caracterização das CNVs maiores do que 400 Kb na coorte chilena.

A, não foram encontradas CNVs em 11 de 40 pacientes. Nos 29 pacientes restantes, foram encontradas 55 CNVs (11 perdas e 44 ganhos). B, cada paciente poderá ter CNV de mais um grupo ao mesmo tempo. As CNVs foram categorizadas por relevância clínica como CNV de relevância clínica clara (grupo 1), CNV de relevância incerta (grupo 2) ou CNV benigna ou polimórfica (grupo 3).

CNVs: variantes do número de cópias; G: ganhos; L: perdas.

transtornos de desenvolvimento estruturais e funcionais. Os detalhes clínicos estão resumidos na [tabela 1](#).

### Caracterização da variante do número de cópias (CNV) (fig. 1)

Encontramos 55 CNVs de mais de 400 Kb em 29 de 40 pacientes (72,5%), variação entre 0 e 4 CNVs por paciente. Do total, 11 foram perdas e 44 foram ganhos (fig. 1A). O tamanho dos desequilíbrios cromossômicos variava entre 420,9 Kb e 25,2 Mb. Esse último valor corresponde a um paciente com sSMC detectado por cariótipo.

Esses 55 CNVs foram classificados em três grupos com base em sua interpretação clínica.

De acordo com nossa classificação (fig. 1B), 21,8% pertenciam ao grupo 1 (relevância clínica clara relacionada ao fenótipo), 1,8% ao grupo 2 (relevância incerta) e 76,4% ao grupo 3 (benigno ou polimórfico). As perdas aconteceram predominantemente no grupo 1, ao passo que os ganhos ocorreram no grupo 3.

### Rendimento diagnóstico

No Grupo 1, dois pacientes apresentaram dois desequilíbrios cromossômicos terminais, provavelmente resultantes de translocações crípticas não balanceadas. Sete apresentaram uma microdeleção e um apresentou trissomia mosaico parcial do cromossomo 20 (um dos pacientes com sSMC). Mais detalhes estão resumidos na [figura 1](#).

**Tabela 1** Resumo das características clínicas e dos desequilíbrios genéticos encontrados nessa coorte

Nº do Paciente	Atraso no Desenvolvimento	Deficiência Intelectual	Hipotonia generalizada	Convulsões	Malformação do sistema nervoso	Microcefalia	Dismorfismo facial	Anomalia congênita do olho	Anomalia visual	Anomalia do ouvido externo	Deficiência auditiva	Fissura labiopalatina (+/-)	Fissura palatina/Sequência de Onça cardíaca congênita	Herniã/émbrias/Escoliose	Malformação gastrointestinal	Hernia abdominal	Malformação nos rins	Defeitos na Semelhança/Trato	Anomalia dos membros	Hipertrófico ligamentar	Anomalia esquelética	Baixa estatura	Deficiência de crescimento	Obesidade	Defeito Congênito da	Estudos citogenéticos	Resultados da análise citogenética por Microarray (CMA)	Interpretação clínica
1		N/A																							46, XX	arr(1-22,X)x2	Nenhum desequilíbrio genômico	
2		N/A																								46, XX	arr(1-22,X)x2	Nenhum desequilíbrio genômico
3		N/A																								46, XX	arr(1-22,X)x2	Nenhum desequilíbrio genômico
4		N/A																								46, XY	arr(1-22,X)x2, (XY)x1	Nenhum desequilíbrio genômico
5																										46, XY	arr(1-22,X)x2, (XY)x1	Nenhum desequilíbrio genômico
6		N/A																								46, XY	arr 9p23 (9,323, 653-11,359,708)x3	Variante de relevância incerta (VOUS)
7		N/A																								46, XY	arr(1-22,X)x2, (XY)x1	Nenhum desequilíbrio genômico
8																										46, XX; FISH 22q (-)	arr 6p25.1-p23 (6,389,847-15,124,349)x1	deleção do 6p25.1p23
9		N/A																								46, XX	arr(1-22,X)x2	Nenhum desequilíbrio genômico
10																										46, XY, der (16)	arr(-22,X)x2, (XY)x1	Inversão pericêntrica do cromossomo 16
11		N/A																								46, XY	arr(1-22,X)x2, (XY)x1	Nenhum desequilíbrio genômico
12		N/A																								46, XY	arr(1-22,X)x2, (XY)x1	Nenhum desequilíbrio genômico
13																										46, XX; FISH 22q (-)	arr(1-22,X)x2	Nenhum desequilíbrio genômico
14																										46, XX	arr(1-22,X)x2	Nenhum desequilíbrio genômico
15																										46, XY; FISH 22q (-)	arr(1-22,X)x2, (XY)x1	Nenhum desequilíbrio genômico
16		N/A																								46, XY	arr(1-22,X)x2, (XY)x1	Nenhum desequilíbrio genômico
17																										46, XY	arr(1-22,X)x2, (XY)x1	Nenhum desequilíbrio genômico
18																										46,XX	arr(1-22,X)x2	Nenhum desequilíbrio genômico
19																										47, XX, +mar/46, XX	arr 20p12.3q11.22 (7,180,552-32,402,789)x2-3	Trissomia mosaico parcial do cromossomo 20
20		N/A																								46, XY	arr 2q23.2q24.2(150,2016,03-161,228,203)x1	deleção do 2q23.2q24.3
21																										46, XY; FISH 22q (-)	arr(1-22,X)x2, (XY)x1	Nenhum desequilíbrio genômico
22																										46, XY; FISH 22q (-)	arr 15q25.2 (83,083,418-84,834,123)x1	deleção do 15q25.2
23																										46, XY; FISH 22q (-)	arr(1-22,X)x2, (XY)x1	Nenhum desequilíbrio genômico
24		N/A																								46, XY	arr(1-22,X)x2, (XY)x1	Nenhum desequilíbrio genômico
25																										46, XX; FISH 17P (-)	arr(1-22,X)x2	Nenhum desequilíbrio genômico
26																										46, XX	arr(1-22,X)x2	Nenhum desequilíbrio genômico
27		N/A																								46, XY	arr(1-22,X)x2, (XY)x1	Nenhum desequilíbrio genômico
28		N/A																								46, XY; FISH 22q (-); Análise de quebras cromossômicas (-)	arr(1-22,X)x2, (XY)x1	Nenhum desequilíbrio genômico
29																										46, XX	arr(1-22,X)x2	Nenhum desequilíbrio genômico
30																										45, XY, der (14;15)(q10;q10)	arr(1-22,X)x2, (XY)x1	Translocação Robertsoniana, nenhum desequilíbrio genômico
31																										46, XX	arr 22q12.1q12.3(28,966,333-34,541,402)x1	deleção do 22q12.1q12.3
32		N/A																								47, XX, +mar(mat); FISH 15q (-)	arr(1-22,X)x2	SMC bisatélite (RON manchadas), heterocromatina de origem materna (mãe saudável)
33		N/A																								46, XX; FISH 22q (-)	arr(1-22,X)x2	Nenhum desequilíbrio genômico
34																										46, XY; FISH 7q (-); 22q(-) subtelômeros (-)	arr 6p25.3-p25.2 (156,974-2,400,023)x1	deleção do 6p25.3p25.2



para identificar possíveis rearranjos com implicações para o aconselhamento genético.<sup>7,32</sup>

Em nossa coorte, descobrimos que três pacientes com anomalias citogenéticas previamente conhecidas resultaram em um cariótipo molecular normal. Como esperado, o paciente portador de uma translocação robertsoniana apresentou um resultado de CGH-array normal/equilibrado. No caso de um dos dois pacientes com sSMC, a cobertura do array, as sequências genômicas envolvidas e o tamanho do sSMC podem explicar por que esse material genético não foi detectado por esse método.<sup>19</sup> Assim, esse pequeno cromossomo bisatélite provavelmente corresponde a sequências altamente repetitivas, típicas de cromossomos acrocêntricos não incluídos no array que foi demonstrado por bandamento da região organizadora do nucléolo (NOR). No paciente com um cromossomo 16 derivado, com um padrão de bandamento anormal e uma morfologia também anormal (mais metacêntrica que o normal), uma inversão pericêntrica é a explicação mais plausível.

Assim, o cariótipo continua sendo mais adequado para avaliar possíveis portadores de rearranjos cromossômicos, casais com abortos recorrentes ou pacientes com um fenótipo característico de aneuploidia. Da mesma forma, a Fish é mais adequada em caso de suspeita elevada de uma síndrome específica de microdeleção.<sup>7</sup>

A análise cromossômica por microarray é um método altamente preciso, robusto e de alto rendimento. Temos usado um array combinado com base em oligonucleotídeos e um array de SNP, o que cria muitas vantagens, já que o array de SNP melhora de forma significativa a precisão e a sensibilidade da detecção e mosaicismos da CNV e permite igualmente a detecção de variantes neutras de número de cópias.<sup>33</sup> No caso do chip usado neste relatório (Cytoscan HD, Affymetrix), a plataforma química e seus algoritmos analisam o oligonucleotídeo e as sondas de SNP de forma independente. Assim, podemos detectar e confirmar cada CNV ao mesmo tempo, o que não exige confirmação adicional.<sup>32,33</sup> Nesse caso, em vez de uma confirmação de achado de arrays, a análise FISH permite determinar o tipo de rearranjo.<sup>32</sup>

O alto custo do exame cria uma limitação no uso difundido do cariótipo molecular. No Chile, o custo da CMA é quatro a sete vezes maior do que o cariótipo e/ou Fish e atualmente não é coberto por plano de saúde. Contudo, para chegar a um diagnóstico precoce em alguns pacientes com anomalias congênicas múltiplas e/ou atraso global de desenvolvimento, é possível evitar exames desnecessários (a "odisseia de diagnóstico") e permitir foco nos problemas específicos, o que pode ter um bom custo-benefício em longo prazo.<sup>34-38</sup> Pode ser esperada uma diminuição dos custos com o passar do tempo, o que permitirá seu uso mais difundido. Por fim, deve ser mencionado que existem outras plataformas com resolução mais baixa, porém por um custo relativamente reduzido.

Reconhecendo suas limitações, existe cada vez mais evidência do impacto clínico dessa tecnologia. Em muitos pacientes, um diagnóstico definitivo pode afetar não apenas a informação e o aconselhamento de seu ambiente familiar,<sup>39</sup> mas também a vigilância ativa em busca de possíveis complicações, entre outros tipos de intervenções médicas.<sup>37,38</sup>

Nossos dados mostram a utilidade da CMA, que permite uma capacidade de diagnóstico melhorada com precisão e o aprimoramento da gestão e supervisão da saúde desse grupo de pacientes com necessidades especiais.

## Financiamento

Bolsa da Fundação de Saúde Infantil em Birmingham, Alabama.

## Conflitos de interesse

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

## Agradecimentos

Agradecemos à Fundação de Saúde Infantil em Birmingham, Alabama, por sua bolsa para este trabalho, aos pacientes e parentes participantes e à Dra. Silvia Castillo e à citogeneticista Ana María Fuentes pela análise dos resultados de cariótipo convencional.

## Referências

- Christianson A, Howson M, Modell B. March of Dimes: global report on birth defects. The hidden toll of dying and disabled children. White Plains, NY: March of Dimes Birth Defects Foundation; 2006.
- Kumar P, Burton BK. Dysmorphology. In: Kumar P, Burton BK, editors. Congenital malformations: evidence-based evaluation and management. New York: McGraw-Hill Prof Med/Tech; 2007. p. 3–11.
- Rauch A, Hoyer J, Guth S, Zweier C, Kraus C, Becker C, et al. Diagnostic yield of various genetic approaches in patients with unexplained developmental delay or mental retardation. *Am J Med Genet A*. 2006;140:2063–74.
- Vermeesch JR, Fiegler H, De Leeuw N, Suzhai K, Schoumans J, Ciccone R, et al. Guidelines for molecular karyotyping in constitutional genetic diagnosis. *Eur J Hum Genet*. 2007;15:1105–14.
- Hochstenbach R, Van Binsbergen E, Engelen J, Nieuwint A, Polstra A, Poddighe P, et al. Array analysis and karyotyping: workflow consequences based on a retrospective study of 36,325 patients with idiopathic developmental delay in the Netherlands. *Eur J Med Genet*. 2009;52:161–9.
- Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, et al. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet*. 2010;86:749–64.
- Manning M, Hudgins L. Professional Practice and Guidelines Committee. Array-based technology and recommendations for utilization in medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *Genet Med*. 2010;12:742–5.
- Shaffer LG, Ledbetter DH, Lupski JR. Molecular cytogenetics of contiguous gene syndromes: mechanisms and consequences of gene dosage imbalance. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B, Kinzler KW, et al., editors. The metabolic and molecular basis of inherited disease. New York: McGraw Hill; 2001. p. 1291–324.
- Trask BJ. Human cytogenetics: 46 chromosomes, 46 years and counting. *Nat Rev Genet*. 2002;3:769–78.

10. Salman M, Jhanwar SC, Ostrer H. Will the new cytogenetics replace the old cytogenetics? *Clin Genet.* 2004;66:265–75.
11. Smeets DF. Historical prospective of human cytogenetics: from microscope to microarray. *Clin Biochem.* 2004;37:439–46.
12. Turleau C, Vekemans M. New developments in cytogenetics. *Med Sci (Paris).* 2005;21:940–6.
13. Edelmann L, Hirschhorn K. Clinical utility of array CGH for the detection of chromosomal imbalances associated with mental retardation and multiple congenital anomalies. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1151:157–66.
14. Jehee FS, Takamori JT, Medeiros PF, Pordeus AC, Latini FR, Bertola DR, et al. Using a combination of MLPA kits to detect chromosomal imbalances in patients with multiple congenital anomalies and mental retardation is a valuable choice for developing countries. *Eur J Med Genet.* 2011;54:e425–32.
15. Lee C, Iafrate AJ, Brothman AR. Copy number variations and clinical cytogenetic diagnosis of constitutional disorders. *Nat Genet.* 2007;39:548–54.
16. Shaffer LG, Bejjani BA, Torchia B, Kirkpatrick S, Coppinger J, Ballif BC. The identification of microdeletion syndromes and other chromosome abnormalities: cytogenetic methods of the past, new technologies for the future. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2007;145C:335–45.
17. Schluth-Bolard C, Till M, Edery P, Sanlaville D. New chromosomal syndromes. *Pathol Biol (Paris).* 2008;56:380–7.
18. Slavotinek AM. Novel microdeletion syndromes detected by chromosome microarrays. *Hum Genet.* 2008;124:1–17.
19. International Collaboration for Clinical Genomics (ICCG), International Standard Cytogenomic Array (ISCA) Consortium Database Search Disponível em <http://www.iccg.org/>. Acessado em 4 de março de 2014.
20. MacDonald JR, Ziman R, Yuen RK, Feuk L, Scherer SW. The Database of Genomic Variants: a curated collection of structural variation in the human genome. *Nucleic Acids Res.* 2014;42:D986–92.
21. Database of Genomic Variants (DGV), Disponível em <http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>. Acessado em 4 de março de 2014.
22. McKusick-Nathans Institute of Genetic Medicine, Johns Hopkins University (Baltimore, MD). Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM® Disponível em <http://omim.org/>. Acessado em 10 de março de 2014.
23. Firth HV, Richards SM, Bevan AP, Clayton S, Corpas M, Rajan D, et al. Decipher: Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources. *Am J Hum Genet.* 2009;84:524–33.
24. Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans using Ensembl Resources (Decipher). Disponível em <https://decipher.sanger.ac.uk/>. Acessado em 10 de março de 2014.
25. European Cytogeneticists Association Register of Unbalanced Chromosome Aberrations (Ecaruca). Disponível em <http://umcecaruca01.extern.umcn.nl:8080/ecaruca/ecaruca.jsp>. Acessado em 10 de março de 2014.
26. De Leeuw N, Dijkhuizen T, Hehir-Kwa JY, Carter NP, Feuk L, Firth HV, et al. Diagnostic interpretation of array data using public databases and internet sources. *Hum Mutat.* 2012.
27. Rosenberg C, Knijnenburg J, Bakker E, Vianna-Morgante AM, Sloos W, Otto PA, et al. Array-CGH detection of micro rearrangements in mentally retarded individuals: clinical significance of imbalances present both in affected children and normal parents. *J Med Genet.* 2006;43:180–6.
28. Krepisch-Santos AC, Vianna-Morgante AM, Jehee FS, Passos-Bueno MR, Knijnenburg J, Szuhai K, et al. Whole-genome array-CGH screening in undiagnosed syndromic patients: old syndromes revisited and new alterations. *Cytogenet Genome Res.* 2006;115:254–61.
29. Michelson DJ, Shevell MI, Sherr EH, Moeschler JB, Gropman AL, Ashwal S. Evidence report: Genetic and metabolic testing on children with global developmental delay: report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology and the Practice Committee of the Child Neurology Society. *Neurology.* 2011;77:1629–35.
30. Uetani N, Kato K, Ogura H, Mizuno K, Kawano K, Mikoshiba K, et al. Impaired learning with enhanced hippocampal long-term potentiation in PTPdelta-deficient mice. *EMBO J.* 2000;19:2775–85.
31. Takahashi H, Craig AM. Protein tyrosine phosphatases PTPδ, PTPσ, and LAR: presynaptic hubs for synapse organization. *Trends Neurosci.* 2013;36:522–34.
32. Bui TH, Vetro A, Zuffardi O, Shaffer LG. Current controversies in prenatal diagnosis 3: is conventional chromosome analysis necessary in the post-array CGH era? *Prenat Diagn.* 2011;31:235–43.
33. Mason-Suares H, Kim W, Grimmitt L, Williams ES, Horner VL, Kunig D, et al. Density matters: comparison of array platforms for detection of copy-number variation and copy-neutral abnormalities. *Genet Med.* 2013;15:706–12.
34. Wordsworth S, Buchanan J, Regan R, Davison V, Smith K, Dyer S, et al. Diagnosing idiopathic learning disability: a cost-effectiveness analysis of microarray technology in the National Health Service of the United Kingdom. *Genomic Med.* 2007;1:35–45.
35. Newman WG, Hamilton S, Ayres J, Sanghera N, Smith A, Gaunt L, et al. Array comparative genomic hybridization for diagnosis of developmental delay: an exploratory cost-consequences analysis. *Clin Genet.* 2007;71:254–9.
36. Trakadis Y, Shevell M. Microarray as a first genetic test in global developmental delay: a cost-effectiveness analysis. *Dev Med Child Neurol.* 2011;53:994–9.
37. Coulter ME, Miller DT, Harris DJ, Hawley P, Picker J, Roberts AE, et al. Chromosomal microarray testing influences medical management. *Genet Med.* 2011;13:770–6.
38. Riggs E, Wain K, Riethmaier D, Smith-Packard B, Faucett W, Hoppman N, et al. Chromosomal microarray impacts clinical management. *Clin Genet.* 2013.
39. Pina-Neto JM. Genetic counseling. *J Pediatr (Rio J).* 2008;84:520–6.