

PHÁT HIỆN CÁC BẤT THƯỜNG DI TRUYỀN BẰNG KỸ THUẬT LAI VI DÂY SO SÁNH HỆ GEN TRÊN CÁC BỆNH NHÂN CHẬM PHÁT TRIỂN TÂM THẦN VẬN ĐỘNG CHƯA RÕ NGUYÊN NHÂN

Nguyễn Ngọc Dũng*, Nguyễn Thị Phương Mai, Nguyễn Thị Mai Hương, Ngô Mạnh Tiến, Phạm Thu Hương, Ngô Thị Tuyết Nhung, Nguyễn Thị Quyên, Trần Phương Thảo, Nguyễn Thùy Trang, Nguyễn Thanh Tâm, An Thùy Lan, Đinh Thị Hồng Nhung, Cấn Thị Bích Ngọc, Nguyễn Ngọc Khánh, Nguyễn Thu Hà, Bùi Phương Thảo, Ngô Diễm Ngọc, Vũ Chí Dũng, Cao Việt Tùng, Trần Minh Điển
Bệnh viện Nhi Trung ương

TÓM TẮT

Kỹ thuật lai vi dây so sánh hệ gen (aCGH) được sử dụng khảo sát toàn bộ hệ gen nhằm phát hiện các bất thường mất cân bằng vật chất di truyền cho các bệnh nhân chậm phát triển tâm thần (CPTTT), bất thường hệ thần kinh, bất thường hệ tim mạch, rối loạn phổ tự kỷ, đa dị tật... .

Mục tiêu: Phát hiện các bất thường di truyền trên các bệnh nhân CPTTT, đa dị tật chưa rõ nguyên nhân.

Đối tượng nghiên cứu: Hai bệnh nhân có biểu hiện CPTTT, đa dị tật bẩm sinh được khám và điều trị tại Bệnh viện Nhi Trung ương.

Phương pháp nghiên cứu: Áp dụng kỹ thuật lai vi dây so sánh hệ gen có độ phân giải 60K.

Kết quả: Phát hiện bất thường di truyền trên hai ca bệnh: mất đoạn 4p16 kích thước 7,9Mb gây hội chứng Wolf-Hirschhorn và mất đoạn 18q21 kích thước 8,1Mb gây hội chứng Pitt-Hopkins.

Kết luận: Kỹ thuật lai vi dây so sánh hệ gen là kỹ thuật có khả năng phát hiện các bất thường di truyền ở dạng không cân bằng như các vi mất đoạn/lặp đoạn nhỏ, góp phần tăng tỷ lệ chẩn đoán trên các bệnh nhân CPTTT, đa dị tật bẩm sinh chưa rõ nguyên nhân. Đây cũng là cơ sở để tư vấn di truyền và chẩn đoán trước sinh cho gia đình.

Từ khóa: Chậm phát triển tâm thần, aCGH, Nhiễm sắc thể

DETECTION THE GENETIC ABNORMALITIES IN PATIENTS WITH DEVELOPMENTAL DELAY INTELLECTUAL DISABILITY BY ARRAY COMPARATIVE GENOMIC HYBRIDIZATION

Array Comparative Genomic Hybridization (aCGH) is used to identification of disease-causing in the entire genome to detect genetic imbalance aberrations with high resolution in patients with developmental delay/intellectual disability (DD/ID), nervous system abnormalities, severe abnormalities of the cardiovascular system, autism spectrum disorders, and multiple congenital anomalies...

Objective: Apply aCGH to detect genetic abnormalities in patients with unknown cause of DD/ID and multiple congenital malformations.

Nhận bài: 14-09-2023; Chấp nhận: 16-10-2023

Người chịu trách nhiệm: Nguyễn Ngọc Dũng

Email: nndung17121994@gmail.com

Địa chỉ: Bệnh viện Nhi Trung ương

Research subjects: Two patients with DD/ID and multiple congenital malformations were examined and treated at Vietnam National Children's Hospital.

Research method: Applying aCGH technique to compare genomes with resolution of 60K.

Results: Genetic abnormalities were detected in these two cases: 7.9Mb loss of 4p16 segment causing Wolf-Hirschhorn syndrome in one case and 8.1Mb deletion of 18q21 segment causing Pitt-Hopkins syndrome in the other.

Conclusion: aCGH is a technique capable of detecting imbalance genetic aberrations like microdeletions/duplications. This technique will increase the rate to the diagnosis of patients with unexplained DD/ID and congenital anomalies, and the aCGH results will be the basis of genetic counseling and prenatal diagnosis for these families.

Keywords: DD/ID, aCGH, Chromosome

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chậm phát triển tâm thần (CPTTT) là một trạng thái ngừng phát triển hoặc phát triển không đầy đủ về trí tuệ, đặc trưng chủ yếu bởi sự giảm sút các kỹ năng trong giai đoạn phát triển như khả năng nhận thức, ngôn ngữ, vận động và năng lực xã hội. Tỷ lệ bệnh nhân mắc CPTTT ước tính khoảng 3% dân số thế giới [1]. CPTTT có thể được phát hiện đơn độc hay kết hợp với các rối loạn về thần kinh như động kinh, rối loạn cảm giác hoặc rối loạn phổ tự kỷ và đa dị tật bẩm sinh (MCA) khác [2]. Nhiều nghiên cứu trên thế giới cho thấy mối tương quan giữa các bất thường di truyền đến CPTTT. Các bất thường di truyền rất đa dạng, từ bất thường số lượng bản sao (CNV) nhiễm sắc thể hoặc các loại đột biến điểm đơn gen, các đột biến dạng lặp đoạn, mất đoạn nhỏ hoặc thêm đoạn trên trình tự DNA hoặc do các khiếm khuyết trong điều hòa biểu hiện gen [1, 2].

Kỹ thuật lai vi dây so sánh hệ gen (array CGH-aCGH) là kỹ thuật sử dụng phương pháp lai vi dây giữa hệ gen người bình thường và người bệnh, từ đó so sánh hai hệ gen để phát hiện các bất thường trong bộ máy di truyền của người bệnh. Đây là kỹ thuật có khả năng phân tích toàn bộ hệ gen ở độ phân giải cao nên có thể phát hiện những thay đổi nhiễm sắc thể ở mức độ từ 0.5-1.5Mb trở lên [3]. Vì vậy, kỹ thuật này mang lại hiệu quả chẩn đoán cao hơn từ 15-20% để phát hiện bất thường trên các bệnh nhân mắc hội chứng chậm phát triển tâm thần - vận động (CPTTT-VĐ), rối loạn phổ tự kỷ, đa dị tật bẩm sinh

chưa rõ nguyên nhân. Kỹ thuật có độ nhạy và độ chính xác cao nên được khuyến nghị trở thành phương pháp xét nghiệm đầu tay trong chẩn đoán các bệnh nhân CPTTT.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi báo cáo 2 trường hợp bệnh nhân CPTTT, đa dị tật bẩm sinh chưa rõ nguyên nhân được khám tại Bệnh viện Nhi Trung ương. Hai bệnh nhân được xét nghiệm bằng kỹ thuật aCGH để phát hiện bất thường trong bộ máy di truyền, từ đó có thể xác định chính xác nguyên nhân gây bệnh và tư vấn di truyền cho gia đình.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Hai bệnh nhân có biểu hiện CPTTT, đa dị tật bẩm sinh được khám và điều trị tại Trung tâm Nội Tiết-Chuyển hóa- Di truyền và Liệu pháp phân tử (NT-CH-DT và LPPT), Bệnh viện Nhi Trung ương:

- Bệnh nhân 1: trẻ nữ, sinh năm 2021, đẻ mổ lúc 38 tuần cân nặng 1,9kg. Trẻ vào viện khám vì CPTTT-VĐ. Bệnh nhân là con thứ 4 trong gia đình, mẹ mang thai có tình trạng thai chậm phát triển trong tử cung, 3 chị gái đầu hiện không có biểu hiện triệu chứng bất thường.

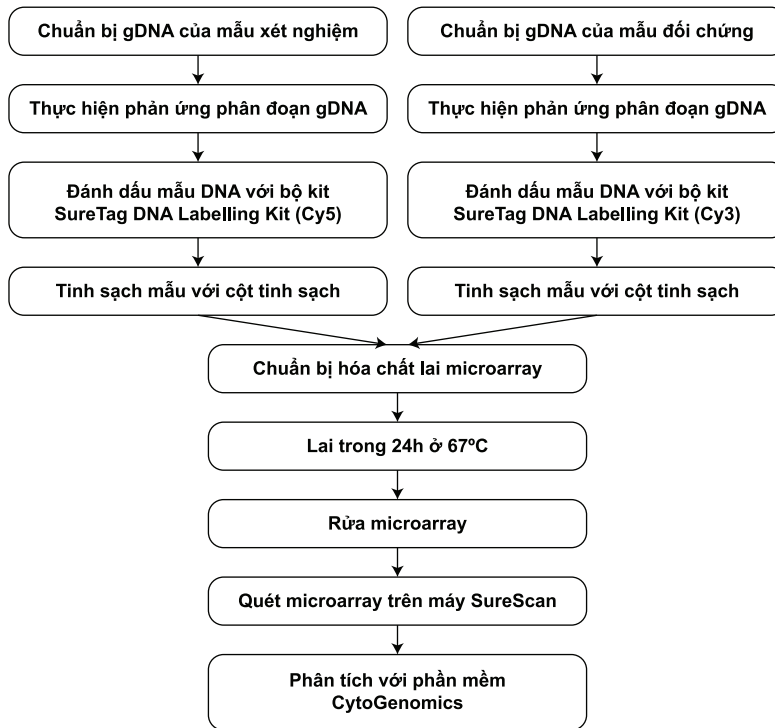
- Bệnh nhân 2: trẻ nam, sinh năm 2021, sinh thường 37 tuần, cân nặng 1,4kg. Trẻ vào viện khám vì CPTTT-VĐ. Bệnh nhân là con đầu trong gia đình, mẹ mang thai có tình trạng thai chậm phát triển trong tử cung.

- Mẫu bệnh phẩm: 2ml máu ngoại vi chống đông EDTA.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp nghiên cứu: Báo cáo ca bệnh.
- Kỹ thuật aCGH:
 - DNA tổng số được tách chiết từ máu ngoại vi bằng cột lọc chuyên dụng sử dụng kit tách chiết DNA QiaAmp DNA blood mini kit (Qiagen- Đức).

- Kỹ thuật CGH array được thực hiện trên bộ kit thương mại GenetiSure Cyto 8x60k CGH (Agilent) với 60.000 đầu dò, độ phủ >3644 gen. Kỹ thuật này được thực hiện tại Khoa Di truyền và Sinh học phân tử, Bệnh viện Nhi Trung ương. Quy trình kỹ thuật lai hệ gen so sánh được thực hiện theo sơ đồ sau (Hình 1).



Hình 1. Quy trình thực hiện kỹ thuật aCGH

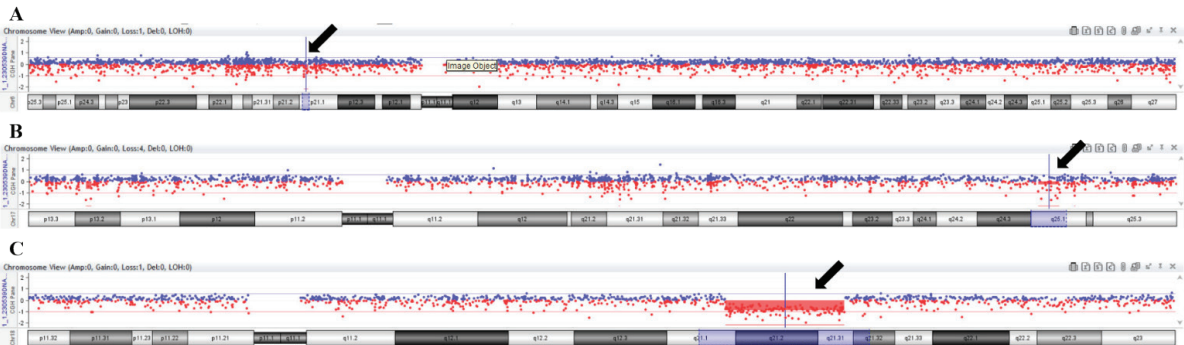
- Các dữ liệu thô sẽ được thu thập và phân tích bởi phần mềm Agilent Feature Extraction và Agilent CytoGenomic. Tiêu chuẩn phân loại các biến thể theo hướng dẫn của Hiệp hội Di truyền Y học Hoa Kỳ (ACMG).

III. KẾT QUẢ

3.1. Bệnh nhân 1:

- Khám lâm sàng:
 - Cân nặng 7kg, chiều cao 72cm, (<-3SD).
 - Bộ mặt bất thường: trán dô, khe mắt hẹp, môi cong, miệng rộng, cánh mũi to bè, tóc sáng màu, giảm sắc tố da.
 - CPTTT-VĐ: chưa phân biệt lạ quen, chưa lấy sấp, chưa bò, ngồi vững, đứng, đi được, bàn chân bàn tay gập bất thường.
 - Phẫu thuật thông liên thất năm 2022
- Xét nghiệm cận lâm sàng:
 - Siêu âm thóp: giãn nhẹ não thất.

- MRI não: theo dõi ổ rộng khoang quanh mạch Virchow Robin nhân bên phải
- Xét nghiệm huyết học, sinh hóa máu và sàng lọc sơ sinh các bệnh chuyển: không phát hiện bất thường.
- Karyotype: 46,XX,14pstk+
- Kết quả aCGH (Hình 1):
- Mất đoạn kích thước 8,1Mb (arr[GRCh37] 18q21.1q21.31(47449085_55543788)x1):
 - o Các gen liên quan: *FECH, NARS1, SMAD4, DCC, ATP8B1, MYO5B, TCF4, CFAP53*
 - o Phân loại gây bệnh.
- Mất đoạn kích thước 1,5Mb (arr[GRCh37] 17q25.1(71420642_72912227)x1)
 - o Các gen liên quan: *DNAI2, SLC9A3R1, FDXR, USH1G*
 - o Phân loại gây bệnh.
- Mất đoạn kích thước 619kb (arr[GRCh37] 6p21.1(41127283_41746502)x1)
 - o Các gen liên quan: *TREM2*
 - o Phân loại gây bệnh.



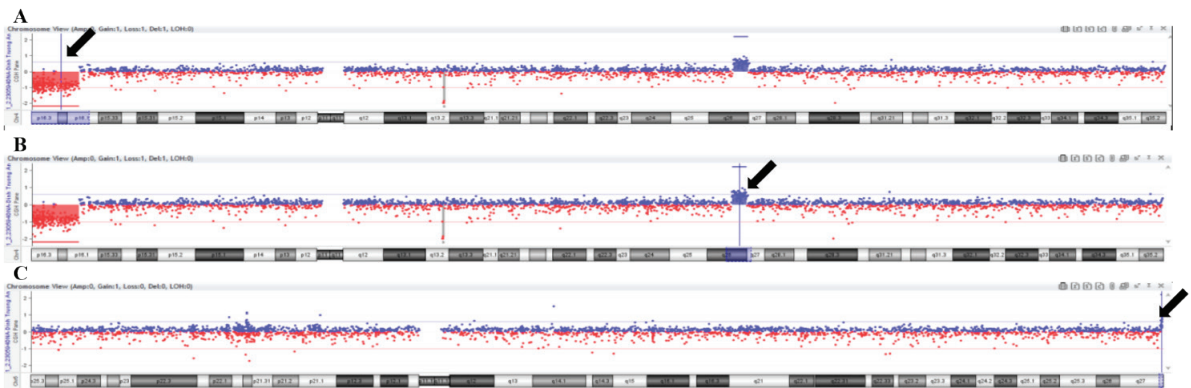
Hình 1. Phân bố tín hiệu đầu dò trên NST số 6,17,18 của bệnh nhân số 1

A. Tín hiệu đầu dò trên NST số 6 và vị trí mất đoạn 6p21.1. B. Tín hiệu đầu dò trên NST số 17 và vị trí mất đoạn 17q25.1. C. Tín hiệu đầu dò trên NST số 18 và vị trí mất đoạn 18q21.1-18q21.31. (Mũi tên đen: các vùng giảm hoặc tăng tín hiệu tương ứng với các đoạn lặp và mất.)

3.2. Bệnh nhân 2:

- Khám lâm sàng:
 - Bộ mặt bất thường: sống mũi tẹt, phanh môi trên bám thấp, cằm nhỏ, vòm miệng cao, hai mắt lớn, xa nhau, đầu nhỏ, trán dô,
 - Vàng da, chậm tăng cân, bìu chẻ đôi
 - Thông liên nhĩ
 - CPTTT-VĐ: trẻ lầy đờ, chưa bò, ngồi, đứng, đi được, chưa nói từ đơn.
- Xét nghiệm cận lâm sàng:
 - Siêu âm thóp, MRI: giãn nhẹ não thất hai bên.
 - Karyotype: 46,XY.
 - Các xét nghiệm sinh hóa máu, nước tiểu và huyết học: không phát hiện bất thường.
 - Creatinin máu tăng: 48,8 $\mu\text{mol/L}$.
- Kết quả aCGH (Hình 2):

- Mất đoạn kích thước 7,9Mb (arr[GRCh37] 4p16.3-p16.1(71552_8041405)x1)
 - o Các gen liên quan: *ZNF141, PIGG, PDE6B, CPLX1, SLC26A1, IDUA, RNF212, CTBP1, UVSSA, FGFR3, LETM1, NSD2, NAT8L, SH3BP2, ADD1, HTT, DOK7, LRPAP1, ADRA2C, MSX1, EVC2, EVC, WFS1*
 - o Phân loại gây bệnh.
- Lặp đoạn kích thước 2,5Mb (arr[GRCh37] 4q26(118239882_120777320)x3)
 - o Các gen liên quan: *PRSS12, SEC24D, MYOZ2, USP53*
 - o Phân loại gây bệnh.
- Lặp đoạn kích thước 255kb (arr[GRCh37] 6q27(170624806_170880647)x3)
 - o Các gen liên quan: *PSMP1, TBP*
 - o Phân loại chưa rõ chức năng.



Hình 2. Phân bố tín hiệu đầu dò trên NST số 4 và 16 của bệnh nhân số 2

A. Tín hiệu đầu dò trên NST số 4 và vị trí mất đoạn 4p16.3-4p16.1. B. Tín hiệu đầu dò trên NST số 4 và vị trí lặp đoạn 4q26. C. Tín hiệu đầu dò trên NST số 6 và vị trí mất đoạn 6q27. (Mũi tên đen: các vùng giảm hoặc tăng tín hiệu tương ứng với các đoạn lặp và mất.)

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu này áp dụng kỹ thuật aCGH để phân tích hệ gen của 2 bệnh nhân có biểu hiện chậm phát triển tinh thần, đa dị tật bẩm sinh được khám tại Trung tâm NT-CH-DT và LPPT, Bệnh viện Nhi Trung ương. Kết quả của hai trường hợp đều phát hiện thấy bất thường mất cân bằng vật chất di truyền với kích thước dưới 10Mb phù hợp với biểu hiện lâm sàng của bệnh nhân, các bất thường này không phát hiện được trên kết quả NST đồ.

Bệnh nhân 1 phát hiện có ba bất thường là các mất đoạn trên NST số 6, 17 và 18. Mất đoạn trên NST 18 có kích thước 8,1Mb, được phân loại gây bệnh theo tiêu chuẩn của ACMG [4]. Đoạn mất có chứa 103 gen trong đó có 28 gen mã hóa, trong số các gen mã hóa có 8 gen được báo cáo liên quan đến bệnh lý theo OMIM [5]. Phiên giải các gen này dựa trên tiêu chuẩn của Clingen cho thấy

có 2 gen được phân loại đủ bằng chứng gây bệnh khi mất đoạn là *TCF4* gây hội chứng Pitt-Hopkins và *SMAD4* gây hội chứng Myhre và hội chứng đa polyp đại trực tràng có tính chất gia đình [6]. Các phát hiện này phù hợp với các triệu chứng lâm sàng và bệnh nhân được kết luận mắc hội chứng Pitt-Hopkins. Một số triệu chứng đặc trưng bao gồm chậm phát triển trí tuệ mức độ trung bình đến nặng, chậm đạt các mốc vận động, rối loạn phát triển ngôn ngữ, rối loạn hành vi, rối loạn phổ tự kỷ, khuôn mặt hay cười, một số bất thường khuôn mặt như: Gốc mũi rộng, mũi lớn, nhân trung ngắn, viền môi dưới dài, đảo ngược..., cơ tăng thông khí, nín thở khi tỉnh [7]. Ngoài ra, trên bệnh nhân số 1 còn có mất đoạn NST 17 có kích thước 1,5Mb cũng được phân loại gây bệnh theo tiêu chuẩn của ACMG [4]. Đoạn mất có chứa 49 gen trong đó có 25 gen mã hóa, trong số các gen mã hóa có 4 gen được báo cáo liên quan đến bệnh

lý theo OMIM [5]. Phiên giải các gen này dựa trên tiêu chuẩn của Clingen đưa ra không có gen nào được phân loại đủ bằng chứng gây bệnh khi mất đoạn [6]. Tuy nhiên do mất đoạn có chứa gen nên bệnh nhân tăng nguy cơ các bệnh lý đơn gen sau bao gồm rối loạn vận động nhung mao (Di truyền lặn - AR), sỏi thận, giảm phosphat huyết tương, loãng xương (Di truyền trội - AD), hội chứng Usher (AR), bệnh thần kinh thị giác, thính giác (AR). Mất đoạn trên NST 6 có kích thước 619kb, được phân loại gây bệnh theo tiêu chuẩn của ACMG [4]. Đoạn mất có chứa 25 gen trong đó có 11 gen mã hóa, trong số các gen mã hóa có 1 gen là *TREM2* được báo cáo liên quan đến bệnh não chất trắng di truyền lặn theo OMIM [5]. Phiên giải các gen này dựa trên tiêu chuẩn của Clingen đưa ra không có gen nào được phân loại đủ bằng chứng gây bệnh khi mất đoạn [6]. Tuy nhiên khi mất đoạn có chứa gen *TREM2* sẽ làm tăng nguy cơ bệnh nhân có biểu hiện bệnh não chất trắng.

Bệnh nhân số 2 phát hiện 3 bất thường là các mất đoạn trên NST số 4 và lặp đoạn trên NST số 4 và 6. Mất đoạn trên NST 4 có kích thước lớn nhất (7,9Mb), được phân loại gây bệnh theo tiêu chuẩn của ACMG [4]. Đoạn mất có chứa 214 gen trong đó có 93 gen mã hóa, trong số các gen mã hóa có 23 gen được báo cáo liên quan đến bệnh lý theo OMIM [5]. Phiên giải các gen này dựa trên tiêu chuẩn của Clingen đưa ra có một vùng gen và một gen được phân loại đủ bằng chứng gây bệnh khi mất đoạn là vùng 4p16.3 (vùng ISCA-37429) gây hội chứng Wolf-Hirschhorn và *MSX1* gây bất sản/thiếu sản răng, lông tóc móng và khe hở vòm họng [6]. Các phát hiện này phù hợp với các triệu chứng phát hiện thấy trên lâm sàng và bệnh nhân được chẩn đoán mắc hội chứng Wolf-Hirschhorn. Đây là hội chứng di truyền gây ra bởi mất đoạn 4p16.3 hoặc đột biến gen *LETM1* nằm trong vùng NST này. Một số triệu chứng đặc trưng bao gồm chậm phát triển vận động, động kinh, rối loạn hành vi như rối loạn phát triển ngôn ngữ, cử động tay chân bất thường, chậm phát triển trí tuệ, chậm phát triển thể chất, đầu nhỏ, giảm trương lực cơ, thiếu sản tiểu não, thiếu sản hoặc bất sản vách trong suốt, bất sản thể chai, thiếu sản hoặc bất sản hành khứu, dị dạng hồi não, não úng thủy, dị dạng sọ mặt, các biểu hiện khuôn mặt bất thường

như: hai mắt xa nhau, lác, đục thủy tinh thể..., mũi rộng, môi ngắn, dị tật hở vòm, hàm nhỏ, tai nhỏ, đóng thóp, có thể khiếm thính, có thể gặp dị tật hệ tim mạch, hô hấp, tiết niệu, cơ xương khác... [8]. Bệnh nhân còn được phát hiện có lặp đoạn trên NST 4 (kích thước 2,5Mb) và lặp đoạn trên NST 6 (kích thước 255kb). Cả hai đoạn lặp này đều được phân loại gây bệnh theo tiêu chuẩn của ACMG [4]. Đoạn lặp trên NST số 4 có chứa 45 gen trong đó có 11 gen mã hóa, trong số các gen mã hóa có 4 gen được báo cáo liên quan đến bệnh lý theo OMIM [5]. Phiên giải các gen này dựa trên tiêu chuẩn của Clingen đưa ra không có gen nào được phân loại đủ bằng chứng gây bệnh khi lặp đoạn [6]. Tra cứu ca bệnh tương tự trên cơ sở dữ liệu Decipher có 2 trường hợp (ca bệnh 500969 và 331432) lặp đoạn nằm trong vùng lặp này được báo cáo có thể gây bệnh, biểu hiện kiểu hình chậm phát triển trí tuệ, đầu to, tầm vóc thấp, hẹp động mạch phổi [9]. Lặp đoạn trên NST 6 chứa 5 gen trong đó có 3 gen mã hóa, trong số các gen mã hóa có 2 gen là *PSMP1*, *TBP* được báo cáo liên quan đến thất điều tiểu não, dị tật đầu nhỏ, chậm phát triển ngôn ngữ di truyền lặn theo OMIM [5]. Phiên giải các gen này dựa trên tiêu chuẩn của Clingen đưa ra không có gen nào được phân loại đủ bằng chứng gây bệnh khi lặp đoạn [6]. Tra cứu ca bệnh tương tự trên cơ sở dữ liệu Decipher có 1 trường hợp (ca bệnh 331606) lặp đoạn nằm trong vùng lặp này được báo cáo có thể gây bệnh, biểu hiện kiểu hình chậm phát triển trí tuệ, khe hở vòm họng [9].

Các bất thường di truyền có ảnh hưởng rất lớn đến tình trạng CPTTT. Các bất thường NST được phát hiện khoảng 30% các trường hợp mắc bệnh hoặc do các bất thường đơn gen gây nên. Các bất thường này được phát hiện bằng các phương pháp xét nghiệm di truyền có độ phân giải khác nhau. Các bất thường lớn trên 10Mb có thể được phát hiện bằng phương pháp lặp Nhiễm sắc thể (NST) đồ. Các bất thường di truyền với kích thước từ 1Kb đến 10Mb chiếm khoảng 15% tổng số các bất thường vẫn là một thách thức lớn trong phát hiện và chẩn đoán bệnh [10]. Một số kỹ thuật đã được ứng dụng để nhằm mục đích phát hiện những bất thường ở mức độ này như lai huỳnh quang tại chỗ (FISH), các kỹ thuật PCR đặc hiệu

và các biến thể, khuếch đại đa đầu dò dựa trên phản ứng ghép nối (MLPA)... nhưng các kỹ thuật này có nhược điểm là chỉ có thể khảo sát được một phần của hệ gen và chỉ có thể phát hiện được các bất thường được nhắm tới [11].

Kỹ thuật aCGH là kỹ thuật lai so sánh hệ gen ứng dụng lai vi dây và so sánh tỷ lệ của mẫu bệnh và mẫu đối chứng để phát hiện các bất thường trong bộ máy di truyền. Kỹ thuật này có thể phát hiện các bất thường NST có kích thước từ 0.5-5Mb hoặc thậm chí lên tới 40kb phụ thuộc vào số lượng đầu dò được thiết kế và khoảng cách giữa các đầu dò [3]. Vì vậy, ứng dụng kỹ thuật aCGH trong thực hành lâm sàng đã tăng khả năng chẩn đoán các bất thường di truyền đến hơn 28% cho các bệnh nhân CPTTT-VĐ, đa dị tật chưa rõ nguyên nhân. Đây cũng là một phương pháp có độ nhạy và độ đặc hiệu cao, được khuyến cáo sử dụng đầu tay để chẩn đoán các bất thường di truyền cho nhóm các bệnh nhân này.

V. KẾT LUẬN

Kỹ thuật lai vi dây so sánh hệ gen là kỹ thuật có khả năng phát hiện các bất thường di truyền ở dạng không cân bằng như các vi mất đoạn/lặp đoạn nhỏ, góp phần tăng tỷ lệ chẩn đoán trên các bệnh nhân CPTTT, đa dị tật bẩm sinh chưa rõ nguyên nhân. Đây cũng là cơ sở để tư vấn di truyền và chẩn đoán trước sinh cho gia đình.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Daily DK, Ardinger HH, Holmes GE.** Identification and evaluation of mental retardation. *Am Fam Physician* 2000;61(4):1059-1067, 1070.
2. **Raymond FL, Tarpey P.** The genetics of mental retardation. *Human Molecular Genetics* 2006;15(suppl_2):R110-R116. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddl189>
3. **van Beers EH, Nederlof P.** Array-CGH and breast cancer. *Breast Cancer Res* 2006;8(3):210. <http://dx.doi.org/10.1186/bcr1510>
4. **Riggs ER, Andersen EF, Cherry AM et al.** Technical standards for the interpretation and reporting of constitutional copy-number variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) and the Clinical Genome Resource (ClinGen). *Genet Med* 2020;22(2):245-257. <https://doi.org/10.1038/s41436-019-0686-8>
5. **McKusick-Nathans.** Baltimore Online Mendelian Inheritance in Man, OMIM®, World Wide Web URL: <https://omim.org/>.
6. **Rehm HL, Berg JS, Brooks LD et al.** ClinGen—The Clinical Genome Resource. *New England Journal of Medicine* 2015;372(23):2235-2242. <https://doi.org/10.1056/nejmsr1406261>
7. **Goodspeed K, Newsom C, Morris MA et al.** Pitt-Hopkins Syndrome: A Review of Current Literature, Clinical Approach, and 23-Patient Case Series. *J Child Neurol* 2018;33(3):233-244. <https://doi.org/10.1177/0883073817750490>
8. **Battaglia A, Carey JC.** Wolf-Hirschhorn syndrome and Pitt-Rogers-Danks syndrome. *Am J Med Genet* 1998;75(5):541. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1096-8628\(19980217\)75:5<541::aid-ajmg18>3.0.co;2-k](https://doi.org/10.1002/(sici)1096-8628(19980217)75:5<541::aid-ajmg18>3.0.co;2-k)
9. **Firth HV, Richards SM, Bevan AP et al.** DECIPHER: Database of Chromosomal Imbalance and Phenotype in Humans Using Ensembl Resources. *The American Journal of Human Genetics* 2019;84(4):524-533. <https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2009.03.010>
10. **Vissers LELM, Veltman JA, Kessel AG et al.** Identification of disease genes by whole genome CGH arrays. *Human Molecular Genetics* 2005;14(suppl_2), tr. R215-R223. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddi268>
11. **Saxena D, Agarwal M, Gupta D et al.** Utility and limitations of multiplex ligation-dependent probe amplification technique in the detection of cytogenetic abnormalities in products of conception. *J Postgrad Med* 2016;62(4):239-241. <https://doi.org/10.4103/0022-3859.192664>