



МЕДИЦИНСКИ ТРЕТМАН

СОВРЕМЕН ПРИСТАП КОН ДИЈАГНОЗА
НА ГЕНЕТСКИТЕ ПРИЧИНИ ЗА
ИНТЕЛЕКТУАЛНА ПОПРЕЧЕНОСТ

Ана ПЕТЕРЛИН
Борут ПЕТЕРЛИН

Клинички институт за медицинска генетика
Универзитетски клинички центар Љубљана,
Словенија

Примено: 07.07.2016
Прифатено: 16.07.2016

Резиме

Интелектуалната попреченост е доживотно нарушување во развојот со важен генетски придонес, кој останува да биде предизвик да се испита поради големата клиничка и генетска варијабилност. Откривањето на етиолошката дијагноза за интелектуалната попреченост (ИП) е од голема важност за пациентите и нивните семејства, така што создавањето на генетски дијагностичка патека со вистинската комбинација и сукцесија на дијагностички алатки е од клучно значење за спречување и соодветен третман и / или рехабилитација на пациенти со ИП. Новите дијагностички алатки во генетиката како Компаративната геномска хибридизација на низа (aCGH) и секвенционирањето на следната генерација (NGS) имаат многу повисока стапка на откривање на генетски аберации одговорни за ИП и имаат огромен потенцијал да го скратат патот кон дијагнозата, бидејќи раната дијагноза е камен-темелник за медицинско и немедицинско третирање на лицата кои страдаат од ИП.

Клучни зборови: интелектуална попреченост, aCGH, NGS, генетско тестирање.

Адреса за кореспонденција:
Борут ПЕТЕРЛИН

Клинички институт за медицинска генетика
Универзитетски клинички центар Љубљана,
Шлајмерјева 4, 1000 Љубљана, Словенија
Тел: +386 1 5401 137
Е-пошта: borut.peterlin@guest.arnes.si

MEDICAL TREATMENT

CONTEMPORARY APPROACH TO
DIAGNOSIS OF GENETIC CAUSES OF
INTELLECTUAL DISABILITY

Ana PETERLIN
Borut PETERLIN

Clinical Institute of Medical Genetics
University Medical Center Ljubljana,
Slovenia

Received: 07.07.2016
Accepted: 16.07.2016
Review article

Abstract

Intellectual disability is a lifelong debilitating developmental disorder with important genetic contribution, which remains challenging to investigate due to high clinical and genetic variability. Finding the etiologic diagnosis of ID, however comes with great benefits for patients and their families, therefore establishing a genetic diagnostic pathway with right combination and succession of diagnostic tools is crucial for both prevention and appropriate treatment and/or rehabilitation of patients with ID. New diagnostic tools in genetics such as array comparative genomic hybridization (aCGH) and next-generation sequencing (NGS) have much higher detection rate for genetic aberrations responsible for ID and have enormous potential to shorten the path to diagnosis, as early diagnosis is a cornerstone for medical and non-medical management of persons suffering from ID.

Keywords: intellectual disability, aCGH, NGS, genetic testing

Corresponding address:
Borut PETERLIN

Clinical Institute of Medical Genetics
University Medical Center Ljubljana
Šlajmerjeva 4, 1000 Ljubljana, Slovenia
Phone: +386 1 5401 137
E-mail: borut.peterlin@guest.arnes.si



Вовед

Интелектуалната попреченост (ИП) претставува најчесто нарушување во развојот. Тоа е доживотен инвалидитет карактеризиран со значително нарушување на интелектуалното функционирање и адаптивното однесување (концептуални, социјални и практични вештини), со почеток во детството или раното детство (1, 2). Преваленцијата на ИП варира во голема мера низ целиот свет, но повеќето студии процениле дека таа се појавува кај 1% и 3% од општата популација (3). Доживотните трошоци (директни и индиректни) за издржување на лица со ИП се големи; се проценува дека изнесуваат околу 1 милион долари по лице во САД (4).

ИП може да се опише според тежината на нарушувањето или според присуството на дополнителни клинички знаци (синдроми / несиндроми). За класификација на тежината на ИП се користат термините лесна (IQ од 55 - 70), умерена (IQ од 40 - 50), тешка (коэффициент на интелигенција од 25 - 40) и длабока (IQ помалку од 25). Кога постои инволвираност на други органи, појавата на малформации или типични клинички знаци, ИП се дефинира како синдромска. Несиндромската ИП е интелектуална попреченост што се случува или во отсуство на други клинички знаци или е поврзана со мали физички, невролошки и / или метаболички абнормалности, како што се аутизмот, хиперкинетичкото однесување, епилепсијата и невромускулните дефицити (2).

ИП е резултат на интеракцијата помеѓу животната средина и генетските причини, особено за време на пренаталниот живот (5-9). Причини од животната средина се пренаталните инфекции, здравствената состојба на мајката (на пример, шеќерна болест), изложеноста на штетни материи во текот на бременоста (на пример, алкохол, дрога, еколошки хемикалии), компликациите за време на породувањето (на пример, перинатална асфиксија), предвременото раѓање и стекнатата повреда на мозокот (2).

Со цел постојано подобрување на антенаталната и постнаталната нега, различни генетски абнормалности се појавуваат како важна причина за ИП. Down синдромот - трисомија 21 што е резултат на хромозомската абнормалност, сè уште е една од најчестите причини за

Introduction

Intellectual disability (ID) presents the most common developmental disorder. It is a lifelong disability characterized by substantial impairment of intellectual functioning and adaptive behavior (conceptual, social and practical skills), with onset in infancy or early childhood (1, 2). Prevalence of ID varies greatly worldwide, however most studies estimate it affects between 1% and 3% of general population (3). Lifetime costs (direct and indirect) to support individuals with ID are large, estimated to be an average of approximately \$1 million per person in the USA (4).

ID can be described by severity of impairment or by the presence of additional clinical signs (syndromic/non-syndromic). For classification of severity of ID terms mild (IQ of 55 - 70), moderate (IQ of 40 - 50), severe (IQ of 25 - 40) and profound (IQ of less than 25) are used. When there is involvement of other organs, presence of malformation or typical clinical signs ID is defined as syndromic. Non-syndromic ID is intellectual disability that occurs either in absence of other clinical signs or is associated with minor physical, neurological and/or metabolic abnormalities, such as autism spectrum disorders, attention deficit hyperactivity disorder, epilepsy and neuromuscular deficits (2).

ID is a result of the interplay between environmental and genetic causes, especially during prenatal life (5-9). Environmental causes include prenatal infections, maternal conditions (e.g., diabetes), exposure to harmful substances during pregnancy (e.g., alcohol, drugs, environmental chemicals), complications during birth (e.g., perinatal asphyxia), preterm birth and acquired brain injury (2).

In light of ever improving antenatal and postnatal care, different genetic abnormalities emerge as an important cause of ID. Down syndrome - trisomy 21 that is result of chromosomal abnormality is still one of the most common causes of ID/DD with the estimated frequency of 1 in 800 live births (10) despite of significantly improved



ИП со проценетата фреквенција од 1 кај 800 живородени деца (10), и покрај значително подобрениите можности за пренатален скрининг. Втората најчеста генетска причина за појава на ИП се смета дека е синдром на Фрагилен X-хромозом, со фреквенција од 1,4 на 10.000 мажи и 0,9 на 10.000 жени од вкупното население (11).

Големото подобрување на генетската етиологија на ИП е последица на две нови методи воведени неодамна, на низата компаративни геномски хибридизации (aCGH) и на секвенционирањето на следната генерација. Имено, aCGH откри нова категорија на геномски мутации, субмикроскопски делеции и удвојувања на ДНК, таканаречена копија на варијација на број (CNV), коишто не се откриваат со кариотипизацијата. Покрај тоа, секвенционирањето на следната генерација откри огромна генетска хетерогеност на моногенски причини за ИП со повеќе од 800 гени веќе поврзани со ИП (2). Понатаму, и aCGH и NGS придонесоа за *de novo* парадигмата во ИП, бидејќи методологиите покажаа голем дел од *de novo* доминантните мутации во спорадични случаи на ИП (12). Комплексот генетска архитектура подразбира очигледна потреба да се промени дијагностичката патека за ИП. Раната дијагноза на ИП е неопходна за избегнување на непотребните или излишни дијагностички тестови коишто честопати резултираат со дијагностичка одисеја; овозможува рафинирани опции за третман и подобрување на разбирањето на прогнозата, управување со симптомите или надзор за познатите компликации, процена на повторувањето на потенцијалните ризици и примарната превенција, како и можност за кооправување на соодветни пациенти во контекст на медицински дом со цел да се обезбеди најдобра здравствена состојба, социјална и здравствена заштита за детето и семејството (13).

Целта на овој труд е во кратки црти да ги разгледа тековните релевантни генетски дијагностички алатки и да предложи генетски дијагностичка патека за ИП.

Дијагностички алатки

Важни карактеристики на дијагностичките алатки се клиничката важност и корист. Додека клиничката важност е мерка за тоа колку точно тестот ја детектира или предвидува клиничката состојба на односното лице, кли-

screening possibilities prenatally. Second most frequent genetic cause of ID is considered to be Fragile X syndrome with the frequency of 1.4 per 10,000 males and 0.9 per 10,000 females in the total population (11).

Major improvement of genetic etiology of ID/DD is a consequence of two novel methodologies introduced recently, array comparative genomic hybridization (aCGH) and next-generation sequencing. aCGH namely revealed a new category of genomic mutations, submicroscopic deletions and duplications of DNA, also called copy number variation (CNV) not detectable by karyotyping. Moreover, next generation sequencing revealed immense genetic heterogeneity of monogenic causes of ID/DD with more than 800 genes already associated with ID/DD (2). Furthermore, both aCGH and NGS contributed to the “*de novo*” paradigm in ID, since methodologies demonstrated a large proportion of *de novo* dominant mutations in sporadic cases of ID (12). The complex genetic architecture implies the obvious need to modify diagnostic pathways of ID. Early diagnosis of ID is namely necessary for the avoidance of unnecessary or redundant

diagnostic tests often resulting in diagnostic odyssey, refined treatment options and improving understanding of prognosis, symptom management, or surveillance for known complications, estimation of recurrence risks and potential primary prevention as well as opportunity for co-management of appropriate patients in the context of a medical home to ensure the best health, social, and health care services satisfaction outcomes for the child and family (13).

The purpose of this paper is to shortly review the current relevant genetic diagnostic tools and to propose the genetic diagnostic pathway for ID/DD.

Diagnostic Tools

Important characteristics of diagnostic tools are clinical validity and utility. While clinical validity is a measure of how accurately the test detects or predicts the clinical condition of interest, clinical utility



ничката корист на генетскиот тест се однесува на тоа колку веројатно тестот ќе влијае врз клиничките одлуки и врз подобрувањето на резултатите кај пациентот.

И додека податоците поврзани со клиничката важност (клиничка чувствителност, клиничка специфичност, позитивни и негативни предвидливи вредности) во врска со новите геномски дијагностички алатки брзо се акумулираат, сè уште недостасуваат рандомизираните клинички испитувања.

Презентирани се три големи генетски методологии поврзани со дијагностиката на ИП. Поради релативната ирелевантност на суптеломеричкиот скрининг со помош на FISH (флуоресценција *insitu* хибридизација) или MLPA (анализа со сонди), овие методи ќе бидат изоставени од описот.

Кариотип

Кариотипизацијата е метод на класична цитогенетика што бил користен во клинички истражувачки лаборатории повеќе од 50 години и сè уште претставува лесно достапен начин за детектирање на хромозомски абнормалности (14). Сепак, кариотипот не може да открие суптилни хромозомски абнормалности кои се на границата на светлосен микроскоп (комплетната резолуција е 5 мегабази) и не може да открие субмикроскопски преуредувања или би можел потенцијално погрешно да карактеризира хромозомски преуредувања како избалансирани, кога тие не се на ниво на ДНК (15, 16). Студиите покажаа дека, кога пациентите со Down синдром беа исклучени од евалвација, кариотипизацијата идентификувала хромозомски абнормалности кај помалку од 3% од лицата (16). Балансираните преуредувања и ниското ниво на мозаицизам не се откриваат преку aCGH, но тие ретко (кај <1% од случаите) се одговорни за интелектуалната попреченост (17). Анализата на хромозомските Г траки сè уште е најпрефериран метод ако постои сомнеж за синдром на анеуплоидија (на пример, Down синдром) и сè уште може да се земе предвид во случај на семејство со историја на хромозомско преуредување или повеќе спонтани абортуси. Кариотипот е широко достапен и надоместен генетски тест со цена околу 400 евра во европските држави.

of a genetic test refers to how likely the test is to affect clinical decisions and ultimately improve patient outcomes.

While data related to clinical validity (clinical sensitivity, clinical specificity, positive and negative predictive values) related to novel genomic diagnostic tools rapidly accumulate, randomized clinical trials are still lacking.

Three major genetic methodologies related to diagnostic of ID/DD are presented. Due to relative irrelevance of subtelomeric and microdeletion screening using FISH (fluorescence in situ hybridization) or MLPA (multiple ligation probe assay), these methods will be omitted from description.

Karyotype

Karyotyping is a method of classical cytogenetics that has been utilized in clinical research laboratories for more than 50 years and is still the most readily accessible method for detecting chromosomal abnormalities (14). However, karyotype cannot detect subtle chromosome abnormalities that are at the limit of light microscopy (overall resolution is 5 Mega bases) and does not detect submicroscopic rearrangements or might potentially wrongly characterize chromosomal rearrangements as balanced, when they are not at the DNA level (15,16). Studies showed that, when patients with Down syndrome were excluded from evaluation, karyotyping identified chromosomal abnormalities in less than 3% of individuals (16). Balanced rearrangements and low-level mosaicisms are not detected by aCGH, but they are rarely (in <1% of cases) responsible for intellectual disability (17). Chromosomal G-banded analysis is still the method of choice if aneuploidy syndrome is suspected (e.g. Down syndrome) and might still be considered in the case of a family history of chromosomal rearrangement or multiple miscarriages.

Karyotype is widely available and reimbursed genetic test with a cost around 400 EUR in European countries.

Компаративна геномска хибридизација на низа (aCGH)

Компаративната геномска хибридизација на низа претставува нова цитогенетска техника, која има способност истовремено да открие анеуплоидија, делеции, дуплирања и / или зголемувања на кој било локус претставен во дадена низа (18). Таа има многу повисока резолуција (<5 мегабази) за откривање на варијации на копија на број во споредба со кариотипот и исто така не зависи од боето и границите на визуелната резолуција (19). Поради поголемата резолуција, исто така, може да детектира и микроскопски хромозомски абнормалности (18). Студиите на компаративната геномска хибридизација на низа идентификуваа голем број повторливи CNV што доведоа до опис на нови синдроми за ИП и идентификација на причинителните гени кај овие CNV. Се проценува дека воведувањето на aCGH доведе до 15% до 20% зголемување на етиолошката дијагноза кај пациенти со ИП и поврзани фацијални дисморфизми од непозната причина (20). Освен тоа, дијагностичките резултати се високи, дури и во полесни форми на ИП (21). Компаративната геномска хибридизација на низа обично не се поврзува со терапевтските или лековитите интервенции за когнитивна дисфункција. Сепак, резултатите од тестот може да влијаат врз други коморбидни состојби кои не може да се предвидат само на физички преглед, а коишто би можеле да имаат важни репродуктивни импликации. Исто така, неодамна беше објавено дека квалитетот на животот на мајката се подобрил кога aCGH успеал да ја разјасни етиолошката дијагноза кај дете со инвалидитет (22).

Како што aCGH го истражува целиот геном, постои ризик за наоѓање дополнителни генетски абнормалности - случајни наоди, кои не се поврзани со дијагностичката хипотеза (23). Затоа, генетското советување пред и по генетското тестирање е важно. Компаративната геномска хибридизација на низа е воведена во најразвиените здравствени системи, но сè уште е недостапен или не се надоместува трошокот за неа во неколку земји од Југоисточна Европа. Цената зависи од резолуцијата на низите и обично се движи од 500 до 900 евра.

Array comparative genomic hybridization (aCGH)

Array comparative genomic hybridization presents a new cytogenetic technique, which has the ability to simultaneously detect aneuploidies, deletions, duplications and/or amplifications of any locus represented on an array (18). It has much higher resolution (<5 Mega bases) to detect copy number variants compared with karyotype and it does not depend on staining and visual resolution limits (19). Because of higher resolution it can also detect submicroscopic chromosomal abnormalities (18).

Array comparative genomic hybridization studies have identified numerous recurrent CNVs leading to description of novel ID syndromes and identification of causative genes in these CNVs. It has been estimated that the introduction of aCGH led to a 15% to 20% increase in etiologic diagnosis for patients with ID and associated facial dysmorphism of unknown cause (20). Moreover diagnostic yield is high even in milder forms of DD/ID (21).

Array comparative genomic hybridization is usually not associated with therapeutic or curative interventions for the cognitive dysfunction. However, the test results may impact on other comorbid conditions that could not be predicted on physical examination alone and may have important reproductive implications. Moreover, it has been recently reported that maternal quality of life improved when aCGH succeeded to clarify etiologic diagnosis in disabled child (22).

As aCGH interrogates with the whole genome, there is a risk of finding additional genetic abnormalities - incidental findings, not related to the diagnostic hypothesis (23). Therefore, genetic counselling before and after genetic testing is important. Array comparative genomic hybridization has been introduced in most developed health systems but is still unavailable or not reimbursed in several South European countries. The cost depends on the resolution of the arrays and usually ranges from 500 to 900 EUR.



Секвенционирање на следната генерација

Огромното количество на време и ресурси потребни за секвенционирање на првиот човечки геном во рамките на *Проектот за човечкиот геном* го стимулираше развојот на побрзи, попродуктивни и поевтини технологии, сега познати како секвенционирање на следната генерација (NGS). NGS претставува голем чекор напред, бидејќи во исто време може да врши илјадници до повеќе милиони секвенционирања, со што драстично го забрзува процесот на секвенционирање. Како резултат на тоа, неколку гени, сите егзони во геномот, па дури и целиот геном може да се анализира во еден генетски тест по разумна цена.

Постојат три главни пристапи во NGS за количината на истрага на податоци – NGS со примена на панели, кои се состојат од гени кои веќе биле поврзани со одредени болести, секвенционирање на целиот егзом (WES) и секвенционирање на целиот геном (WGS).

Високата стапка на *de novo* доминантни мутации се демонстрира со секвенционирање на егзомот со примена на пристапот погодено дете плус родители (24). Истиот пристап предложи високи, 44 - 45% дијагностички резултати во германската група на пациенти со ИП (25). Насочената (панел) NGS-анализа со ИП постигна само помал резултат од 11% за разлика од резултатите на aCGH.

Со примената на WGS беа достигнати дополнителни 42% повеќе од aCGH и од секвенционирањето на егзомот, и кумулативен резултат од 62% (26). Како што беше случајот со aCGH, случајни наоди може да бидат откриени за време на NGS-тестирањето, во зависност од тоа кој пристап NGS ќе се примени.

Дијагностичкиот потенцијал донекаде е ограничен поради недостаток на информации за фреквенција и патогеност (на пример, варијанти од непознато значење) на низа варијанти (25, 27).

Постои широка варијабилност во достапноста и надоместот за NGS во европските земји. Тестот е воведен како дел од клиничките дијагностички услуги, на пример, во Холандија и Словенија. Цената на NGS варира во зависност од пристапот и се движи од 1000 - 1800 евра за пациент.

Next-generation sequencing

The vast amount of time and resources needed to sequence the first human genome in scope of The Human Genome Project stimulated the development of faster, higher throughput and cheaper technologies, now known as next-generation sequencing (NGS). NGS represents a major step forward as it can carry out thousands-to-many millions of sequencing reactions at the same time, thus drastically speeding up the process of sequencing with Sanger. Consequently, several genes, all exomes in the genome or even whole genome can be analyzed in one genetic test at a reasonable cost.

There are three main approaches in NGS regarding the quantity of investigated data – NGS using panels that comprise genes that have been already linked to certain disease, whole exome sequencing (WES) and whole genome sequencing (WGS).

A high rate of *de novo* dominant mutations have been demonstrated by exome sequencing using affected child-parents trio approach (24). The same approach proposed a high, 44-45% diagnostic yield in the German cohort of the ID patients (25). Targeted (panel) NGS analysis of affected ID patients only reached lower yield of 11% beyond the yield of aCGH.

Using WGS further 42% diagnostic yield beyond aCGH and exome sequencing and cumulative yield of 62% was reached (26). As was the case with aCGH, incidental findings might be revealed during NGS testing, dependent on the NGS approach (panels/WES/WGS) used.

Diagnostic potential is somewhat limited due to the lack of information on frequency and pathogenicity (e.g., variants of unknown significance) of sequence variants (25, 27).

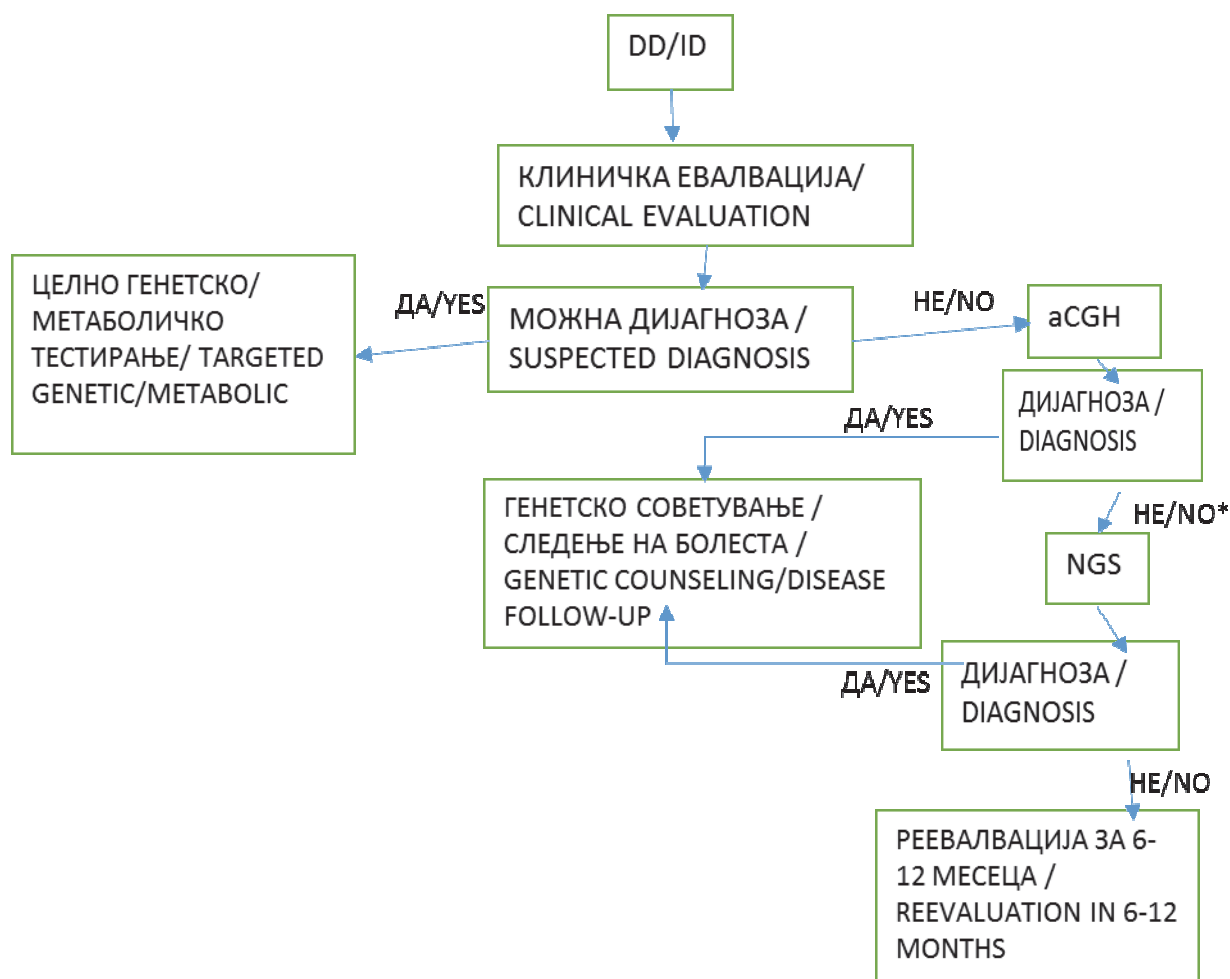
There is wide variability of the availability and reimbursement of NGS in European countries. The test has been introduced in the clinical diagnostic service e.g. in Netherlands and Slovenia. The cost of NGS varies according to the approach (panel/exome sequencing) and ranges from 1000 – 1800 EUR for a patient.

Патека на генетската дијагноза

Пристапот за генетска дијагноза и натаму останува врз основа на цврста клиничка евалуација на ИП, којашто најпрво треба да ги исклучи негенетските причини. Исто така, клиничката евалуација ја насочува генетската евалуација кон генетски тестови во случај на одредена дијагноза (на пр., Трисомија 21 – хромозомски синдром (анеуплоидија), Фрагилниот X-синдром или Prader-Willi синдромот) или хипотеза бесплатно пребарување за генетски абнормалности преку користење на геномски тестови како aCGH и NGS (слика 1).

Genetic diagnostic pathway

The approach to genetic diagnosis still remains based on the solid clinical evaluation of ID/DD which should firstly exclude non-genetic causes. Furthermore, clinical evaluation directs genetic evaluation to targeted genetic tests in the case of specific diagnosis (e.g. trisomy 21 - chromosomal syndrome (aneuploidy), Fragile X syndrome or Prader-Willi syndrome) or hypothesis free search for genetic abnormality using genomic tests like aCGH and NGS (Fig 1).



Слика 1. Патека за генетска дијагностика на ИП / Figure 1. Genetic diagnostic pathway for ID/DD

Легенда за слика 1: *Тестирање на Фрагилниот X може да се земе предвид кај мажите со умерена до тешка ИП - доцнење во развојот / интелектуална попреченост, aCGH - компаративна геномска хибридизација на низа, NGS - секвенционирање на следната генерација

Legend to Fig 1. * fragile X testing might be considered in males with moderate to severe ID, DD/ID – developmental delay / intellectual disability, aCGH – array comparative genomic hybridization, NGS – next-generation sequencing



Клиничките испитувања треба да вклучуваат комплетна медицинска историја (пренатална, при раѓање и развојна историја), со семејно дрво од три генерации и сеопфатен физички преглед (други засегнати органски системи, дисморфолошки, невролошки и абнормалности во однесувањето).

Ако не се појават специфични дијагностички резултати по клиничката евалвација, aCGH е метод на избор за необјаслива појава на ИП. Ако не се најде мутација, тестирање на фрагилниот X-хромозом може да се земе предвид, особено кај мажи со умерена до тешка ИП. Анализата на хромозомските Г-ленти може да се земе предвид во случај на семејна историја на хромозомско преуредување или повеќе спонтани абортуси. Ако сè уште нема дијагноза, се препорачува NGS. Ако WES или WGS се користи како метода на NGS, истовремено може да се скенира и множеството на познати гени поврзани со ИП, како и метаболичките генетски причини за ИП за евентуални мутации.

Заклучоци

Додека познавањето на генетската етиологија на ИП значително е зголемено во последно време, сепак постојат неколку предизвици во имплементацијата на нови геномски методи во клиничката пракса. Тие ги вклучуваат ограничените докази за клиничката корист на aCGH и NGS, недостатокот на стандарди и упатства - особено во NGS, ограничениот пристап до експертиза и тестирање во домашните здравствени системи или прекуграничната здравствена заштита и недостатокот на надомест за новите тестови на геноми. Сепак, поради големиот семеен и општествен - товар на ИП, од една страна, и бенефитите од рано дијагностицирање, од друга страна, имплементацијата на нови дијагностички методи во здравствените системи е оправдана.

Конфликт на интереси

Авторите изјавуваат дека не постои конфликт на интереси.

Референци / References

1. Leonard H, Wen X. The epidemiology of mental retardation: Challenges and opportunities in the new millennium. *Mental Retardation and Developmental Disabilities Research Reviews* 2002; 117-134.
2. Chiurazzi P, Pirozzi F, Chiurazzi P, Pirozzi F. Advances in understanding - genetic basis of

Clinical evaluation should include comprehensive medical history (prenatal, birth and developmental history) with a three generation family tree and comprehensive physical examination (other affected organ systems, dysmorphologic, neurologic and behavioral abnormalities).

If no specific diagnosis results after clinical evaluation, aCGH is the method of choice for unexplained ID/DD. If no mutation is found, fragile X testing might be considered especially in males with moderate to severe ID.

Chromosomal G-banded analysis might still be considered in the case of a family history of chromosomal rearrangement or multiple miscarriages. If still no diagnosis has been established NGS is indicated. If WES or WGS is used as NGS methodology, both comprehensive set of known genes related to ID/DD as well as metabolic genetic causes for ID can be screened for mutations.

Conclusions

While the knowledge of genetic etiology in ID/DD has significantly increased recently, there are still several challenges in implementation of new genomic methods in the clinical practice. These include limited evidence of clinical utility of aCGH and NGS, lack of diagnostic standards and guidelines - especially in NGS, limited access to expertise and testing in domestic health systems or cross border health care and lack of reimbursement for new genomic tests. Nevertheless, due to high familial and societal burden of ID one hand and benefits of early diagnosis on the other, implementation of new diagnostic methods in health systems is warranted.

Conflict of interests

Authors declare no conflict of interests.

intellectual disability. F1000Research 2016;5(0):599.

3. Tan CA, Topper S, del Gaudio D, Nelakuditi V, Shchelochkov O, Nowaczyk MJM, et al. Characterization of patients referred for non-specific intellectual disability testing: The importance of



- autosomal genes for diagnosis. *Clin Genet* 2016; 89(4):478–83.
4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Economic costs associated with mental retardation, cerebral palsy, hearing loss, and vision impairment--United States, 2003. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2004; 53(3):57–59.
 5. Inlow JK, Restifo LL. Molecular and Comparative Genetics of Mental Retardation. *Genetics* 2004; 166(2):835–881.
 6. Chelly J, Khelfaoui M, Francis F, Chérif B, Biennu T. Genetics and pathophysiology of mental retardation. *Eur J Hum Genet* 2006; 14(6):701–713.
 7. Raymond FL, Tarpey P. The genetics of mental retardation. *Hum Mol Genet* 2006 Oct 15; 15 Spec No(JUNE):R110–116.
 8. Ropers HH. Genetics of intellectual disability. *Current Opinion in Genetics and Development* 2008; 241–250.
 9. Ropers HH. Genetics of Early Onset Cognitive Impairment. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2010; 11(X):161–187.
 10. Roizen NJ, Patterson D. Down's syndrome. *Lancet* 2003; 361(9365):1281–1289.
 11. Hunter J, Rivero-Arias O, Angelov A, Kim E, Fotheringham I, Leal J. Epidemiology of fragile X syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Am J Med Genet Part A*. 2014; 164(7):1648–1458.
 12. Vissers LE, Gilissen C, Veltman JA. Genetic studies in intellectual disability and related disorders. *Nat Rev Genet* 2016; 17(1):9–18.
 13. Moeschler JB, Shevell M. Comprehensive evaluation of the child with intellectual disability or global developmental delays. *Pediatrics* 2014; 134(3):e903–918.
 14. Bates SE. Classical cytogenetics: karyotyping techniques. *Methods Mol Biol* 2011; 767:177–90.
 15. Shaffer LG, Bejjani BA. A cytogeneticist's perspective on genomic microarrays. *Human Reproduction Update* 2004; 221–226.
 16. 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(5):749–764.
 17. Bernardini L, Alesi V, Loddo S, Novelli A, Bottillo I, Battaglia A, et al. High-resolution SNP arrays in mental retardation diagnostics: how much do we gain? *Eur J Hum Genet* 2010; 18(2):178–185.
 18. Albertson DG, Ylstra B, Seagraves R, Collins C, Dairkee SH, Kowbel D, et al. Microarray-based comparative genomic hybridization (aCGH). *Nat Educ* 2008; 1(1):45.
 19. Satya-murti S, Michelson D. Chromosomal Microarray Analysis for Genetic Testing: The Concepts 2013; 1–11.
 20. Stankiewicz P, Beaudet AL. Use of array CGH in the evaluation of dysmorphology, malformations, developmental delay, and idiopathic mental retardation. *Current Opinion in Genetics and Development*. 2007; 182–192.
 21. D'Arrigo S, Gavazzi F, Alfei E, Zuffardi O, Montomoli C, Corso B, et al. The Diagnostic Yield of Array Comparative Genomic Hybridization Is High Regardless of Severity of Intellectual Disability/Developmental Delay in Children. *J Child Neurol* 2016; 31(6):691–699.
 22. Lingen M, Albers L, Borchers M, Haass S, Gärtner J, Schröder S, et al. Obtaining a genetic diagnosis in a child with disability: impact on parental quality of life. *Clin Genet* 2016; 89(2):258–266.
 23. Lefebvre M, Sanlaville D, Marle N, Thauvin-Robinet C, Gautier E, Chehadeh SE, et al. Genetic counselling difficulties and ethical implications of incidental findings from array-CGH: A 7-year national survey. *Clin Genet* 2016; 89(5):630–635.
 24. de Ligt J, Willemsen MH, van Bon BWM, Kleefstra T, Yntema HG, Kroes T, et al. Diagnostic exome sequencing in persons with severe intellectual disability. *N Engl J Med* 2012; 367(20):1921–1929.
 25. Rauch A, Wieczorek D, Graf E, Wieland T, Ende S, Schwarzmayr T, et al. Range of genetic mutations associated with severe non-syndromic sporadic intellectual disability: An exome sequencing study. *Lancet* 2012; 380(9854):1674–1682.
 26. Gilissen C, Hehir-Kwa JY, Thung DT, van de Vorst M, van Bon BWM, Willemsen MH, et al. Genome sequencing identifies major causes of severe intellectual disability. *Nature* 2014; 511(7509):344–347.
 27. Cooper GM, Coe BP, Girirajan S, Rosenfeld JA, Vu TH, Baker C, et al. A copy number variation morbidity map of developmental delay. *Nat Genet* 2011; 43(9):838–46.