

# ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ GIẢI TRÌNH TỰ GEN THỂ HỆ MỚI TRONG PHÁT HIỆN BẤT THƯỜNG DI TRUYỀN Ở THAI CÓ BẤT THƯỜNG HÌNH THÁI TẠI BỆNH VIỆN ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

Nguyễn Hữu Đức Anh<sup>1,2,✉</sup>, Đào Thị Trang<sup>1,2</sup>  
Nguyễn Thị Minh Ngọc<sup>2</sup>, Đinh Hồng Phúc<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Hà Nội

<sup>2</sup>Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

Nghiên cứu nhằm đánh giá hiệu quả của giải trình tự gen thể hệ mới (NGS) trong phát hiện bất thường di truyền ở thai nhi có bất thường hình thái. Từ 1/2023 - 12/2023, những thai phụ này được chọn để chẩn đoán trước sinh tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, với dịch ối được phân tích ở các mức độ nhiễm sắc thể, CNV và gen. Trong 64 thai có bất thường hình thái phát hiện qua siêu âm và MRI đã được chọn, có 57 trường hợp (89,1%) sử dụng NGS để chẩn đoán. Tỷ lệ khảo sát chỉ ở CNV và cả gen lẫn CNV lần lượt là 20,3% và 68,8%. Phát hiện 4 ca mang bất thường ở CNV dù nhiễm sắc thể bình thường, và trong 44 trường hợp khảo sát cả CNV và gen, có 11 ca phát hiện biến thể gen. Tuy nhiên, vẫn có 1 trường hợp phát hiện bất thường qua lập công thức nhiễm sắc thể nhưng CNV không phát hiện được. Kết quả cho thấy NGS giúp khảo sát tương đối toàn diện các bất thường di truyền, tuy nhiên vẫn cần phối hợp các xét nghiệm để tránh bỏ sót chẩn đoán.

**Từ khóa:** Chẩn đoán trước sinh, bất thường hình thái, giải trình tự gen thể hệ mới.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các dị tật bẩm sinh là những bất thường về cấu trúc hoặc chức năng hoặc cả hai, có thể được xác định từ trước khi sinh hoặc sau sinh.<sup>1</sup> Các phương pháp chủ yếu để sàng lọc trước sinh không xâm lấn đã giúp sàng lọc được các bất thường này từ trong thời kỳ bào thai. Siêu âm là phương pháp truyền thống và hiệu quả để phát hiện và đánh giá các bất thường về cấu trúc thai nhi. Trong đó, nguyên nhân di truyền như lệch bội, bất thường cấu trúc nhiễm sắc thể và các biến thể số bản sao (CNVs) có thể liên quan đến 40% các bất thường hình thái.<sup>2</sup> Các bất thường này có thể phát hiện thông qua các xét nghiệm như lập công thức nhiễm sắc thể, QF-PCR và microarray.<sup>3</sup> Tuy nhiên, các xét nghiệm này lại không xác định được các biến

thể đơn gen, vốn cũng là nguyên nhân của nhiều bất thường hình thái thai nhi. Hiện nay, các kỹ thuật giải trình tự gen thể hệ mới (NGS) giúp phát hiện không chỉ các biến thể đơn gen mà còn có thể phát hiện các trường hợp mất cân bằng vật chất di truyền như lệch bội, mất đoạn, và lặp đoạn.<sup>4</sup> Mẫu DNA của thai được thu từ dịch ối, gai rau và máu cuống rốn được sử dụng để tiến hành chẩn đoán trước sinh cho thai, thông qua các xét nghiệm như CNV-seq (Copy number variation - sequencing: Giải trình tự phát hiện biến thể số bản sao), ES (Exome sequencing: Giải trình tự hệ gen mã hóa), WGS (Whole genome sequencing: Giải trình tự toàn bộ hệ gen).<sup>5</sup> Điều này đã cải thiện đáng kể hiệu suất chẩn đoán các bất thường di truyền trong chẩn đoán trước sinh, đặc biệt là ở các thai có bất thường hình thái. Từ đó, giúp việc tiên lượng của bác sĩ đối với mỗi trường hợp trở nên tường tận. Tuy vậy, bất kỳ phương pháp nào cũng tồn tại mặt hạn chế và cần được đánh giá tính hiệu quả qua các nghiên cứu trên lâm sàng.

Tác giả liên hệ: Nguyễn Hữu Đức Anh

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: ducanh0710yhn@gmail.com

Ngày nhận: 19/09/2024

Ngày được chấp nhận: 09/10/2024

Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu: Đánh giá hiệu quả của giải trình tự gen thể hệ mới trong phát hiện bất thường di truyền ở thai nhi có bất thường hình thái.

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 1. Đối tượng

#### **Tiêu chuẩn lựa chọn:**

- Các thai phụ mang thai từ 16 tuần trở lên đồng ý chọc ối làm chẩn đoán trước sinh.
- Có kết quả siêu âm/MRI phát hiện thai có bất thường hình thái.

#### **Tiêu chuẩn loại trừ:**

- Các trường hợp thai nguy cơ cao mắc thalassemia.
- Các thai phụ không đồng ý chọc ối.

### 2. Phương pháp

#### **Thiết kế nghiên cứu**

Hồi cứu và mô tả cắt ngang.

Dịch ối thu được sẽ được tiến hành phân tích qua các mức độ: lập công thức nhiễm sắc thể, phân tích CNV và gen bằng kỹ thuật giải trình tự gen thể hệ mới.

Về kỹ thuật giải trình tự được áp dụng: Giải

trình tự thể hệ mới hệ gen mã hóa của 4503 gen (clinical exome sequencing/CES) hoặc > 20.000 gen (whole exome sequencing/WES): DNA bộ gen được phân mảnh bằng enzyme và các vùng mục tiêu được làm giàu bằng cách sử dụng đầu dò bắt DNA. Các biến thể có liên quan tập trung vào vùng mã hóa các exon và +/- 10 nucleotide vùng nối của gen với bằng chứng kiểu gen rõ ràng (dựa trên thông tin OMIM®).

#### **Thời gian nghiên cứu**

Từ tháng 1/2023 đến tháng 12/2023.

#### **Địa điểm nghiên cứu**

Trung tâm Di truyền lâm sàng - Bệnh viện Đại học Y Hà Nội.

#### **Phương pháp chọn mẫu**

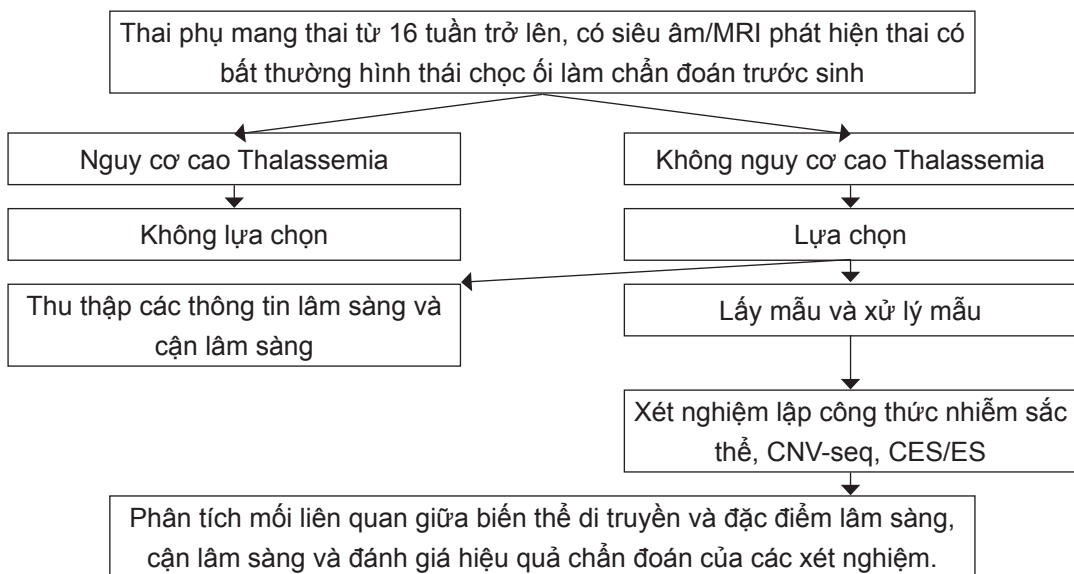
Chọn mẫu thuận tiện

Chúng tôi thu thập được 64 trường hợp mang thai có bất thường hình thái đồng ý chọc ối làm chẩn đoán trước sinh trong thời gian nghiên cứu.

#### **Phương pháp phân tích số liệu**

Dữ liệu được quản lý bằng Microsoft Excel và phân tích trên phần mềm R 4.4.1.

#### **Quy trình nghiên cứu**



Sơ đồ 1. Quy trình nghiên cứu

### 3. Đạo đức nghiên cứu

Tất cả các biến số và chỉ số nghiên cứu được thu thập một cách trung thực.

Tất cả thông tin cá nhân của thai được bảo mật và chỉ sử dụng cho mục đích nghiên cứu.

## III. KẾT QUẢ

**Bảng 1. Chỉ định xét nghiệm cho mẫu dịch ối**

Loại xét nghiệm	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Karyotype	7	10,9
Karyotype + CNV-seq	13	20,3
Karyotype + CNV-seq + CES/ES	44	68,8
Tổng	64	100

Trong 64 trường hợp, có 57 mẫu dịch ối được đánh giá đồng thời bằng lập công thức nhiễm sắc thể và các xét nghiệm giải trình tự gen thế hệ mới, đạt 89,1%.

### 1. Tỷ lệ áp dụng NGS trong chẩn đoán trước sinh tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

64 mẫu dịch ối sau khi thu được sẽ được chỉ định phân tích ở các mức độ khác nhau: Lập công thức nhiễm sắc thể, CNV-seq, CES/ES (Clinical Exome Sequencing/Exome sequencing).

### 2. Hiệu quả chẩn đoán bất thường nhiễm sắc thể của NGS trong chẩn đoán trước sinh

Năm 2023, có 57 thai phụ mang thai có bất thường hình thái được chỉ định xét nghiệm CNV-seq.

**Bảng 2. Tỷ lệ phát hiện bất thường của các mẫu ối được chỉ định CNV-seq**

Kết quả	Kết quả CNV-seq		Kết quả Karyotype	
	Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Bình thường	47	82,5	50	87,7
Lệch bội	3	5,3	3	5,3
Mất đoạn, lặp đoạn	3	5,3	3	5,3
Mất đoạn, lặp đoạn nhỏ	4	7	0	0
Đảo đoạn, chuyển đoạn cân bằng	0	0	1	1,8
Tổng số	57	100	57	100

Tỷ lệ phát hiện các bất thường nhiễm sắc thể bằng CNV-seq là khoảng 17,5%, lập công thức nhiễm sắc thể là khoảng 12,3%.

Tuy nhiên, trong 1 ca phát hiện ra bất thường bằng lập công thức nhiễm sắc thể, có 01 ca là đảo đoạn nhiễm sắc thể: 46,XY,inv(1)(p12q12). Trường hợp này CNV-seq không tìm được bất thường.

Tỷ lệ phát hiện biến thể đơn nucleotide ở thai có bất thường hình thái và kết quả phân lớp biến thể ở các biến thể có khả năng liên quan đến lâm sàng.

Trong tổng số 57 ca bệnh được áp dụng NGS để chẩn đoán trước sinh, có 44 mẫu ối được chỉ định làm các xét nghiệm giải trình tự gen như CES và ES.

**Bảng 3. Kết quả phát hiện bất thường trong giải trình tự gen**

Kết quả	Kết quả giải trình tự gen	
	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Biến thể có khả năng liên quan đến lâm sàng	11	25
Biến thể gen lặn	1	2,3
Bình thường	32	72,7
Tổng số	44	100

Tỷ lệ phát hiện ra các đột biến gen là 12/44 ca, chiếm 27,2% trong tổng số các mẫu được làm giải trình tự gen.

Trong tổng số 44 mẫu này:

**Bảng 4. Kết quả phân lớp biến thể ở các biến thể có khả năng liên quan đến lâm sàng**

Kết quả	Kết quả giải trình tự gen	
	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Gây bệnh/Có khả năng gây bệnh	8	18,2
Chưa rõ chức năng	2	4,5
Lành tính/Có khả năng lành tính	1	2,3

#### IV. BÀN LUẬN

Trong 64 trường hợp thai có bất thường hình thái được chọc ối, có 57 mẫu được tiến hành chẩn đoán trước sinh bằng kỹ thuật NGS đồng thời với lập công thức nhiễm sắc thể. Cụ thể, theo bảng 1, chỉ có 7 mẫu (10,9%) chỉ sử dụng phương pháp lập công thức nhiễm sắc thể, trong khi đó 13 mẫu (20,3%) đã được kết hợp cả lập công thức nhiễm sắc thể và CNV-seq. Đáng chú ý, tỷ lệ lớn nhất thuộc về nhóm mẫu được phân tích đồng thời bởi cả ba phương pháp, bao gồm lập công thức nhiễm sắc thể, CNV-seq và CES/ES, chiếm 68,8% (44 mẫu). Điều đó chỉ ra rằng, việc kết hợp các kỹ thuật trong chẩn đoán trước sinh ngày càng phổ biến và được cộng đồng chấp nhận.

Đối với các trường hợp phát hiện bất thường nhiễm sắc thể, theo bảng 2, kết quả CNV-seq ghi nhận có 10/57 ca (17,5%) có bất

thường. Trong 10 ca bệnh này, lập công thức nhiễm sắc thể phát hiện được bất thường ở 6/10 trường hợp (chiếm 60%). Đối với các bất thường lệch bội nhiễm sắc thể gặp trong nghiên cứu, lập công thức nhiễm sắc thể và CNV-seq cho kết quả tương đồng ở 100% trường hợp. Chứng tỏ khả năng chẩn đoán rất đáng tin cậy của CNV-seq.

Không những vậy, CNV-seq còn phát hiện 04 trường hợp (7%) mang mất đoạn, lặp đoạn mà lập công thức nhiễm sắc thể không phát hiện được, đây là những bất thường có kích thước nhỏ, trong khi lập công thức nhiễm sắc thể chỉ phát hiện được các mất đoạn hoặc lặp đoạn có kích thước lớn hơn 10Mb.<sup>6</sup> Kết quả này cao hơn với nghiên cứu của tác giả Hsu P. Chong và cộng sự tiến hành phân tích nhiễm sắc thể bằng kỹ thuật lai so sánh hệ gen (aCGH) trên

1129 thai có bất thường hình thái với tỷ lệ phát hiện mất cân bằng nhiễm sắc thể/CNV là 7 - 10%.<sup>7</sup> Từ đó, cho thấy tính ưu việt của việc tích hợp chẩn đoán khi sử dụng giải trình tự thế hệ mới so với phương pháp lập công thức nhiễm sắc thể.

Về các biến thể gen được phát hiện bằng giải trình tự gen trong nghiên cứu, các biến thể này được phân lớp dựa vào cơ sở dữ liệu Clinvar và hướng dẫn phân loại của ACMG (Gây bệnh/ Có khả năng gây bệnh/Chưa rõ chức năng/Có khả năng lành tính/Lành tính).<sup>8</sup> Theo bảng 2 và bảng 3, có 11 trường hợp phát hiện ra các biến thể gen có liên quan đến lâm sàng. Trong 11 ca này, có 08 ca phát hiện ra các biến thể có liên quan đến lâm sàng được phân lớp là gây bệnh/ có khả năng gây bệnh. Kết quả này cao hơn so với hai nghiên cứu lớn tại Anh của tác giả Jenny Lord và Hoa Kỳ của tác giả Slavé Petrovski năm 2019, với tổng số ca được làm giải trình tự gen là 844 mẫu có tỷ lệ phát hiện biến thể là nguyên nhân của tình trạng bất thường là 76 ca (9%).<sup>9</sup> Bên cạnh đó, nghiên cứu phát hiện 02/44 ca (4,5%) phát hiện biến thể được phân loại là chưa rõ chức năng (VUS - Variant of unknown significance), 01 trường hợp phát hiện ra biến thể được phân loại là có khả năng lành tính. Kết quả cũng tương đương với nghiên cứu của tác giả Jenny Lord với tỷ lệ phát hiện các biến thể VUS là 4%.<sup>9</sup> Việc phát hiện ra các biến thể liên quan đến lâm sàng giúp bác sĩ đưa ra tiên lượng xác đáng hơn đối với mỗi thai kỳ. Từ đó, giải thích cho gia đình thai phụ hiểu hơn về tình trạng thai. Ngoài ra, việc phát hiện các biến thể không liên quan đến lâm sàng cũng có ý nghĩa trong một số trường hợp.

Hiện nay, xét nghiệm CNV-seq và xét nghiệm giải trình tự gen mã hóa (CES/ES) có thể tiến hành đồng thời, cho nhiều mẫu cùng một lúc, giảm thiểu thời gian chờ đợi, kết quả báo cáo có độ chính xác cao nên rất phù hợp

để tiến hành áp dụng rộng rãi trong chẩn đoán trước sinh.

Theo bảng 2, có 01 ca bệnh trên CNV-seq không phát hiện ra bất thường, nhưng trên nhiễm sắc thể đồ lại phát hiện ra bất thường 46,XY,inv(1)(p12q12). Đây vốn là điểm yếu của xét nghiệm CNV-seq khi chỉ đánh giá được các hiện tượng mất cân bằng vật chất di truyền mà không đánh giá được các đảo đoạn và chuyển đoạn cân bằng, cũng như không đánh giá được thể đa bội, nhiễm sắc thể cùng nguồn gốc.<sup>12</sup> Chính vì điều này nên hiện nay các xét nghiệm phân tử như microarray hay hiện nay là các kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới dù rất phát triển nhưng để chẩn đoán bất thường di truyền thì cũng không hoàn toàn thay thế được xét nghiệm truyền thống là lập công thức nhiễm sắc thể.

Tuy nhiên, nghiên cứu còn nhiều hạn chế. Thứ nhất, số lượng mẫu nghiên cứu chưa đủ lớn, có thể ảnh hưởng đến tính đại diện và khả năng khái quát hóa kết quả. Thứ hai, khó khăn của thai phụ trong việc nhận thức rõ điểm yếu và giới hạn kỹ thuật của các xét nghiệm nhấn mạnh sự cần thiết của việc kết hợp các phương pháp chẩn đoán khác nhau để đạt được kết quả chính xác nhất.

## V. KẾT LUẬN

Qua 57 mẫu ối được chẩn đoán trước sinh bằng kỹ thuật NGS và lập công thức nhiễm sắc thể tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội đã phát hiện 23 trường hợp phát hiện bất thường di truyền. Giải trình tự gen thế hệ mới giúp cá thể hóa các thai có bất thường hình thái, tăng hiệu suất chẩn đoán. Tuy nhiên, lập công thức nhiễm sắc thể vẫn rất cần thiết vì khảo sát được bất thường mà CNV-seq không phát hiện được như đảo đoạn hay chuyển đoạn cân bằng. Do đó, cần thiết phải có sự phối hợp các phương pháp xét nghiệm để tăng hiệu quả chẩn đoán.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sadler TW. *Langman's medical embryology*. Lippincott Williams & Wilkins; 2022.
2. Mone F, O'Connor C, Hamilton S, et al. Evolution of a prenatal genetic clinic-A 10-year cohort study. *Prenat Diagn*. Apr 2020; 40(5): 618-625. doi:10.1002/pd.5661.
3. Emms A, Castleman J, Allen S, Williams D, Kinning E, Kilby M. Next Generation Sequencing after Invasive Prenatal Testing in Fetuses with Congenital Malformations: Prenatal or Neonatal Investigation. *Genes (Basel)*. Aug 24 2022; 13(9)doi:10.3390/genes13091517.
4. Luo H, Wang Q, Fu D, Gao J, Lu D. Additional diagnostic value of CNV-seq over conventional karyotyping in prenatal diagnosis: A systematic review and meta-analysis. *J Obstet Gynaecol Res*. Jul 2023; 49(7): 1641-1650. doi:10.1111/jog.15652.
5. Kilby MD, Morgan S, Mone F, Williams D. Prenatal next-generation sequencing in the fetus with congenital malformations: how can we improve clinical utility? *American Journal of Obstetrics & Gynecology MFM*. 2023; 5(5): 100923.
6. Cirigliano V, Ejarque M, Cañadas MP, et al. Clinical application of multiplex quantitative fluorescent polymerase chain reaction (QF-PCR) for the rapid prenatal detection of common chromosome aneuploidies. *Mol Hum Reprod*. Oct 2001; 7(10): 1001-6. doi:10.1093/molehr/7.10.1001.
7. Chong HP, Hamilton S, Mone F, et al. Prenatal chromosomal microarray testing of fetuses with ultrasound structural anomalies: A prospective cohort study of over 1000 consecutive cases. *Prenat Diagn*. Nov 2019; 39(12): 1064-1069. doi:10.1002/pd.5545.
8. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. May 2015; 17(5): 405-24. doi:10.1038/gim.2015.30.
9. Lord J, McMullan DJ, Eberhardt RY, et al. Prenatal exome sequencing analysis in fetal structural anomalies detected by ultrasonography (PAGE): a cohort study. *Lancet*. Feb 23 2019; 393(10173): 747-757. doi:10.1016/s0140-6736(18)31940-8.
10. Petrovski S, Aggarwal V, Giordano JL, et al. Whole-exome sequencing in the evaluation of fetal structural anomalies: a prospective cohort study. *Lancet*. Feb 23 2019; 393(10173): 758-767. doi:10.1016/s0140-6736(18)32042-7.
11. Kilby MD. The role of next-generation sequencing in the investigation of ultrasound-identified fetal structural anomalies. *Bjog*. Jan 2021; 128(2): 420-429. doi:10.1111/1471-0528.16533.
12. Lan L, She L, Zhang B, He Y, Zheng Z. Prenatal diagnosis of 913 fetuses samples using copy number variation sequencing. *J Gene Med*. May 2021; 23(5): e3324. doi:10.1002/jgm.3324.

## Summary

# EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF NEXT-GENERATION SEQUENCING FOR DETECTING GENETIC ABNORMALITIES IN FETUSES WITH MORPHOLOGICAL ANOMALIES AT HANOI MEDICAL UNIVERSITY HOSPITAL

The study aims to evaluate the effectiveness of next-generation sequencing (NGS) in detecting genetic abnormalities for fetuses with structural anomaly. From 1/2023 to 12/2023, pregnant women undergoing amniocentesis for prenatal diagnosis at Hanoi Medical University hospital, had amniotic fluid analysis for karyotype, CNV and gene levels. Of the 64 fetuses with structural anomaly, 57 cases (89.1%) utilized NGS for diagnosis. The rates of investigation solely on CNV and both gene and CNV levels were 20.3% and 68.8%, respectively. Four cases were found to have CNV anomalies despite having normal karyotypes, and among the 44 cases that were tested for both CNV and gene levels, 11 were found to have gene mutations. However, one case with an abnormality detected by karyotyping did not show any CNV anomalies. The results indicate that NGS provides a relatively comprehensive screening of genetic anomalies, however, to avoid missed diagnoses, it is necessary to use a combination of different testing methods.

**Keywords:** Prenatal diagnosis, structural anomaly, next-generation sequencing.