

# GIÁ TRỊ BỔ SUNG CỦA GIẢI TRÌNH TỰ TOÀN BỘ HỆ GEN TRONG CHẨN ĐOÁN TRƯỚC SINH KHI KARYOTYPE, CMA VÀ WES ÂM TÍNH: BÁO CÁO CA BỆNH

Bùi Thị Phương Hoa<sup>1,✉</sup>, Nguyễn Thế Hùng<sup>2</sup>, Nguyễn Ngọc Tú<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bệnh viện Nam học và Hiếm muộn Hà Nội

<sup>2</sup>Bệnh viện Việt Pháp Hà Nội

<sup>3</sup>Bệnh viện Đa khoa Tâm Anh

Báo cáo trình bày 2 ca lâm sàng minh họa giá trị bổ sung của WGS trong chẩn đoán trước sinh khi xét nghiệm trước đó âm tính. Ca 1: Thai nam với não úng thủy tái diễn trong gia đình; WGS phát hiện mất đoạn bán hợp tử bao phủ exon 6, một phần exon 7 của gen L1CAM, phân loại có thể gây bệnh, phù hợp hội chứng L1 liên kết nhiễm sắc thể X; xác định mẹ là người mang gen, làm thay đổi tư vấn nguy cơ tái phát và định hướng PGT-M. Ca 2: Thai đa dị tật não; trio-WGS phát hiện mất đoạn dị hợp tử gen CREBBP (exon 29-31), phân loại gây bệnh, đột biến mới phát sinh, phù hợp hội chứng Rubinstein-Taybi; kết quả làm thay đổi tiên lượng và giảm đáng kể nguy cơ tái phát cho lần mang thai sau. WGS cho phép mở rộng phổ phát hiện các biến thể di truyền như SNV/indel ngoài vùng exon, CNV nhỏ, SV phức tạp, ROH/UPD và một phần bất thường ty thể hoặc khảm mức thấp, nâng cao giá trị chẩn đoán và tác động lâm sàng sau khi karyotype, CMA và WES âm tính.

**Từ khóa:** Whole-genome sequencing, trio-WGS, dị tật thai, L1CAM, CREBBP, CMA âm tính, WES âm tính, trước sinh.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong chẩn đoán trước sinh, bộ ba xét nghiệm karyotype (nhiễm sắc thể, NST đồ) - Microarray (chromosomal microarray, CMA) giải trình tự exome (WES) đã giúp phát hiện phần lớn bất thường nhiễm sắc thể và biến thể mã hóa gây bệnh đơn gen, trong đó tỷ lệ chẩn đoán của NST, CMA chiếm tới 40% và WES khoảng 10%.<sup>1-4</sup> Tuy nhiên, vẫn tồn tại một tỷ lệ không nhỏ các trường hợp thai đa dị tật trên siêu âm nhưng CMA/WES âm tính, dẫn tới khó khăn trong tư vấn tiên lượng và lập kế hoạch xử trí thai kỳ. Khoảng trống này phản ánh giới hạn cố hữu của từng kỹ thuật: karyotype có độ phân giải thấp; CMA không phát hiện được tái

sắp xếp cân bằng và nhiều biến thể cấu trúc (structural variants, SV) nhỏ và phức tạp; WES chủ yếu bao phủ vùng mã hóa (~1 - 2% hệ gen) nên dễ bỏ sót biến thể ngoài exon, CNV nhỏ, lặp bộ ba hoặc SV phức tạp.<sup>3,4</sup>

Giải trình tự toàn bộ hệ gen (whole-genome sequencing, WGS) đang nổi lên như bước kế tiếp hợp lý trong các tình huống nói trên nhờ khả năng khảo sát toàn bộ hệ gen ~3,2 Gb với độ bao phủ sâu. Ở một lần phân tích, WGS đồng thời ghi nhận:

(i) SNV/indel tại cả vùng mã hóa và vùng điều hòa/không mã hóa.

(ii) CNV nhỏ trung bình vượt ngưỡng phát hiện của CMA trong nhiều bối cảnh.

(iii) SV phức tạp (đảo đoạn, chuyển đoạn cân bằng, chèn/lặp, tái sắp xếp có điểm gãy tinh vi) thông qua tín hiệu paired-end và split-read.

Tác giả liên hệ: Bùi Thị Phương Hoa

Bệnh viện Nam học và Hiếm muộn Hà Nội

Email: hoabtp@afhanoi.com

Ngày nhận: 23/01/2026

Ngày được chấp nhận: 02/03/2026

(iv) các tín hiệu vùng đồng hợp/NST cùng nguồn (Regions of homozygosity (ROH)/ Uniparental disomy (UPD) hữu ích cho nhóm bệnh imprinting hoặc nghi cận huyết.

(v) một phần biến thể ty thể; và ở mức độ nhất định, khả năng thấp.<sup>5</sup>

Chính nhờ phủ trọn phổ biến thể này, WGS đem lại giá trị gia tăng (incremental yield) đáng kể trong thai dị tật khi các xét nghiệm bậc một âm tính. Về giá trị lâm sàng, WGS trong chẩn đoán trước sinh mang lại lợi ích trên ba mục tiêu:

- (1) Chẩn đoán xác định/cơ chế bệnh sinh.
- (2) Tác động quyết định lâm sàng ngắn hạn.
- (3) Lập kế hoạch sinh sản về sau. Trong

bối cảnh Việt Nam, nơi năng lực siêu âm hình thái, CMA và WES đã được triển khai rộng rãi nhưng các trường hợp dị tật phức tạp khi xét nghiệm bậc một âm tính vẫn xuất hiện thường xuyên, việc đưa WGS vào xét nghiệm theo bậc là phù hợp.

Trong chẩn đoán trước sinh, việc định hướng chính xác một hội chứng di truyền cụ thể dựa trên hình thái siêu âm và MRI thai nhi thường gặp nhiều khó khăn, do biểu hiện lâm sàng còn chưa đầy đủ, thay đổi theo tuổi thai và có sự chồng lấp đáng kể giữa nhiều hội chứng khác nhau, do đó các đặc điểm lâm sàng có thể không điển hình hoặc không đủ đặc hiệu để định hướng xét nghiệm gen mục tiêu. Trong khi đó, thời gian trả kết quả trong chẩn đoán trước sinh là yếu tố then chốt, ảnh hưởng trực tiếp đến tư vấn tiên lượng và quyết định xử trí thai kỳ. Vì vậy, việc sử dụng các xét nghiệm phổ rộng cho phép khảo sát toàn diện hệ gen là một chiến lược hợp lý. Ngoài ra, nhiều gen liên quan dị tật bẩm sinh có phổ đột biến đa dạng, bao gồm CNV nhỏ, mất đoạn từng exon, tái sắp xếp phức tạp hoặc biến thể ngoài vùng mã hóa, không phải lúc nào cũng có sẵn mồi qPCR hoặc bộ kit MLPA phù hợp trong thực hành thường quy. Trong bối cảnh đó, WGS đóng vai

trò như một công cụ tích hợp, giúp tránh việc thực hiện tuần tự nhiều xét nghiệm mục tiêu, rút ngắn thời gian đến chẩn đoán và tối ưu hóa giá trị lâm sàng của kết quả xét nghiệm trước sinh đặc biệt khi karyotype, CMA và WES trước đó âm tính.

Trong bài báo này, chúng tôi báo cáo hai ca thai dị tật cấu trúc có CMA và/hoặc WES âm tính, nhưng WGS xác lập được chẩn đoán phân tử, làm thay đổi tư vấn và kế hoạch chăm sóc. Hai ca lâm sàng minh họa những kiểu biến thể điển hình mà WGS có thể phát hiện sau khi các xét nghiệm bậc một chưa cho lời giải (CNV kích thước nhỏ làm ảnh hưởng cấu trúc và chức năng của gen). Qua đó, chúng tôi đề xuất khung gợi ý chỉ định và các điểm cần lưu ý khi triển khai (kiểm soát MCC, cài đặt độ sâu vùng phủ, xác nhận độc lập, chính sách kết quả phụ, tư vấn di truyền), hướng tới rút ngắn thời gian đến chẩn đoán, nâng cao tính can thiệp được của kết quả xét nghiệm, và chuẩn hóa thuật toán ứng dụng WGS trong chẩn đoán trước sinh tại Việt Nam.

## II. GIỚI THIỆU CA BỆNH

### *Ca bệnh thứ nhất:*

Thai phụ mang thai lần thứ năm, có tiền sử sản khoa phức tạp. Thai phụ đã sinh hai con gái khỏe mạnh, trong khi hai thai trai trước đó đều bị não úng thủy nặng. Tiền sử ba thế hệ hai bên gia đình ghi nhận hoàn toàn khỏe mạnh (Hình 1).

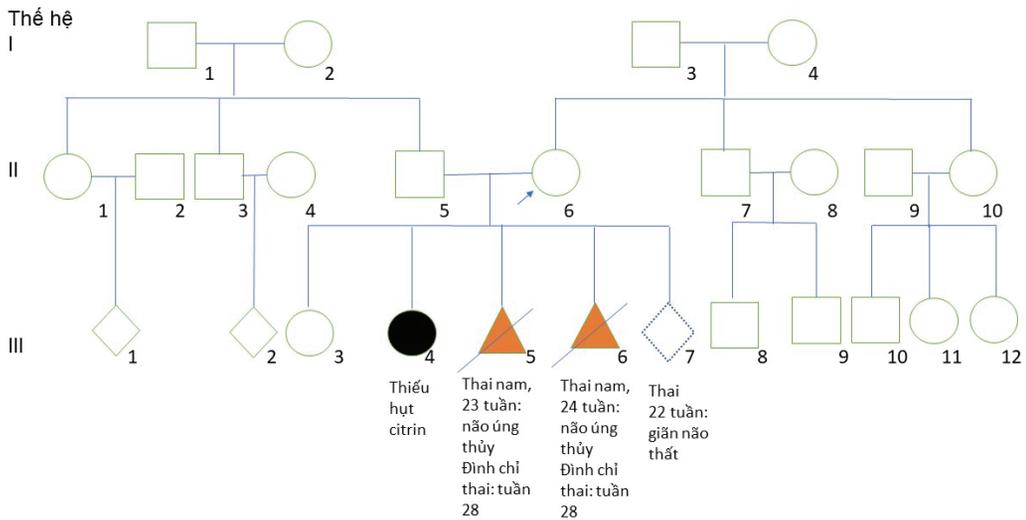
Thai trai lần thứ nhất: phát hiện não úng thủy ở tuổi thai 23 tuần, tiến triển nặng nhanh chóng, được hội chẩn và đình chỉ thai ở 26 tuần. Không thực hiện xét nghiệm di truyền hay cộng hưởng từ thai nhi (MRI).

Thai trai lần thứ hai: biểu hiện tương tự, phát hiện ở 24 tuần, đình chỉ ở 28 tuần. Kết quả phân tích nhiễm sắc thể bình thường; không làm xét nghiệm gen hay MRI.

Sau đó, vợ chồng thai phụ được tư vấn và thực hiện Nhiễm sắc thể, CMA (với độ phân giải 400kb) và WES (với độ sâu trung bình 100x và không có khả năng phát hiện các biến thể mất/lặp đoạn mức độ exon), cho kết quả không phát hiện bất thường.

Thai trai lần thứ ba: đến khám tại cơ sở chúng tôi ở tuổi thai 22 tuần 1 ngày, siêu âm cho thấy giãn não thất hai bên, dính mép đôi thị

qua đường giữa, bất sản thể chai, bàn tay phải nắm chặt. MRI ghi nhận giãn não thất hai bên mức độ trung bình, kéo dài cuống đại não hai bên, dính phía sau đôi thị, thiếu sản cầu não và thùy nhộng, kém phát triển rãnh Sylvius hai bên (Hình 2). Hội đồng chẩn đoán trước sinh thống nhất đình chỉ thai ở tuổi thai 23 tuần theo nguyện vọng gia đình. Trước thủ thuật, mẫu máu dây rốn được lấy để làm xét nghiệm WGS.



Hình 1. Phả hệ gia đình thai phụ 1

Kết quả WGS phát hiện tình trạng mất một bản sao (mất đoạn bán hợp tử) bao gồm toàn bộ exon 6 và một phần exon 7 của gen *L1CAM* được phát hiện qua phân tích CNV dựa trên dữ liệu NGS. Mất đoạn này dự kiến gây lệch khung đọc (out-of-frame), trong khi các biến thể gây mất chức năng đã được biết là cơ chế bệnh học của gen này. Tính gây bệnh của biến thể được đánh giá dựa trên cơ chế tác động và dữ liệu có trong HGMD Professional 2024.1, dbVar và cơ sở dữ liệu nội bộ của phòng xét nghiệm. Theo cách áp dụng hướng dẫn ACMG/AMP/ClinGen SVI của phòng xét nghiệm, biến thể này được phân loại là “có khả năng gây bệnh” (likely pathogenic). Xét nghiệm PCR được thực hiện trên mẫu thai để khẳng định lại đột biến từ kết quả WGS, bố và mẹ để xác định tính di truyền của đột biến.

Kết quả PCR cho thấy thai nhi mang đột biến dạng bán hợp tử di truyền từ mẹ dị hợp tử và bố không mang đột biến (Hình 3).

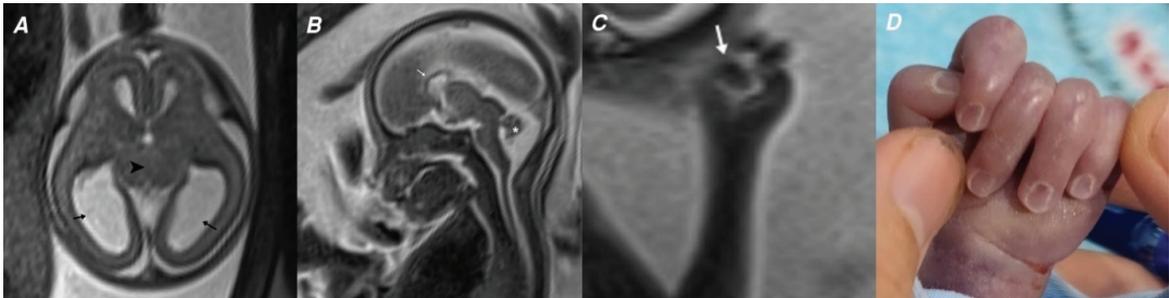
Gen *L1CAM* gây hội chứng L1 bao gồm một phổ kiểu hình từ nặng đến nhẹ, với ba thể lâm sàng chính:

- Não úng thủy liên kết X do hẹp cống Sylvius (HSAS).
- Hội chứng MASA (gồm chậm phát triển trí tuệ, chậm nói, liệt cứng hai chi dưới gây dáng đi kéo lê, ngón cái khép vào lòng bàn tay), bao gồm liệt cứng di truyền thể phức tạp type 1 liên kết X.
- Bất sản thể chai phức tạp liên kết X.

Nam giới mắc HSAS thường được sinh ra với não úng thủy nặng, ngón cái khép, tình

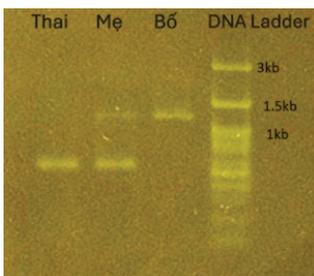
trạng cơ cứng cơ, và chậm phát triển trí tuệ mức độ nặng. Ở các trường hợp nam giới nhẹ hơn, não úng thủy có thể không biểu hiện rõ trên lâm sàng và được phát hiện tình cờ do chậm phát triển; mức độ chậm phát triển trí tuệ dao động từ nhẹ (IQ 50-70) đến trung bình (IQ 30-50). Điều quan trọng cần lưu ý là các kiểu hình khác nhau có thể gặp ở những cá thể mắc bệnh

trong cùng một gia đình (GeneReviews - PMID: 20301657). Các trường hợp nặng nhất thường tử vong trước sinh hoặc ngay sau sinh do não úng thủy nặng và vòng đầu lớn (Rosenthal et al., 1992; PMID: 1303258). Kiểu di truyền: lặn liên kết nhiễm sắc thể X (X-linked recessive, OMIM®: 307000).<sup>6</sup>



**Hình 2. Cộng hưởng từ (CHT) thai nhi 22 tuần 1 ngày**

A: Ghi nhận hình ảnh giãn não thất hai bên (mũi tên). Dính đôi thị hai bên qua đường giữa (đầu mũi tên). B: Loạn sản thể chai (mũi tên). Thiếu sản và loạn sản thùy nhộng (dấu sao). Hình ảnh ngón tay cái gập vào phía trong lòng bàn tay trên CHT (C) và sau khi đình chỉ thai (D).



**Hình 3. Kết quả PCR trên thai nhi và bố mẹ**

Kết quả PCR giúp khẳng định rằng thai nhi mang đột biến bán hợp tử (có một băng kết quả PCR kích thước 551bp), mẹ mang đột biến dị hợp tử (có hai băng kết quả PCR ở 2 vị trí khác nhau với kích thước ADN khác nhau theo chiều dọc, một băng là sản phẩm của gen bình thường ở trên (kích thước 1132bp) và băng còn lại là sản phẩm của gen đột biến ở dưới (kích thước 551bp)), bố không mang đột biến (có một băng tương ứng với băng bình thường ở trên của mẹ).

### Ca bệnh thứ hai

Thai phụ có tiền sử gia đình hai bên khỏe mạnh, đến khám sau đình chỉ thai lần đầu. Thai ở tuổi 31 tuần 6 ngày được ghi nhận nhiều bất thường trên siêu âm và MRI: thiếu sản và loạn sản thùy nhộng, thiếu sản thể chai, thiếu sản thùy trán hai bên, kém phát triển các rãnh cuộn não so với tuổi thai, giãn nhẹ khoang dưới nhện tầng trên lều, nghi ngờ nang thận và đa ối (Hình 4).

Xét nghiệm CMA và WES (phương pháp xét nghiệm tương tự ca bệnh số 1) từ mẫu thai cho kết quả âm tính. Thai phụ sau đó đình chỉ thai theo nguyện vọng cá nhân và quyết định của hội đồng chẩn đoán trước sinh.

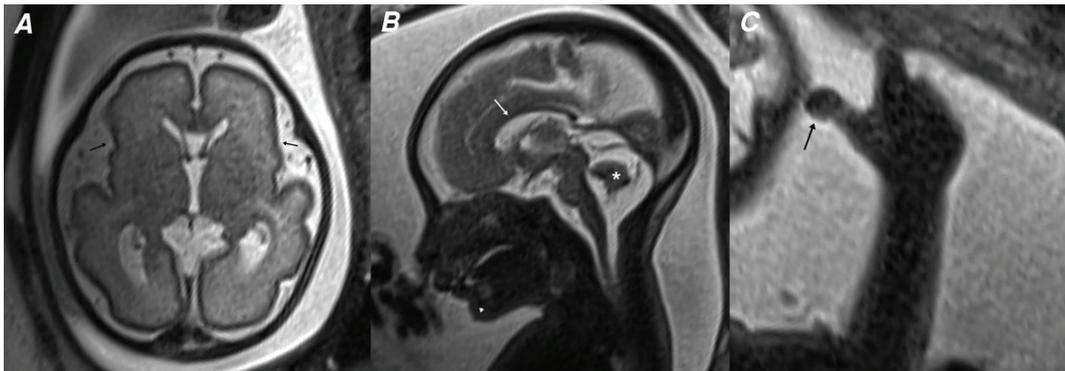
Sau tư vấn, gia đình đồng ý thực hiện xét nghiệm Trio-WGS trên mẫu thai và bố mẹ. Phân tích CNV dựa trên NGS phát hiện mất một bản sao (mất đoạn dị hợp tử) tại vùng 16p13.3, bao gồm các exon 29-31 của gen *CREBBP*. Theo HGMD Professional 2024.2, mất đoạn

này đã được báo cáo là biến thể gây bệnh liên quan đến hội chứng Rubinstein-Taybi (PMID: 25805166, 22426292, 32594341, 32827181, 35986282). Biến thể được phân loại “gây bệnh” (pathogenic) theo khuyến cáo của phòng xét nghiệm và tiêu chuẩn ACMG. Đáng chú ý, mất đoạn này được xác định là biến thể mới (de novo) ở thai nhi, không phát hiện ở bố mẹ.

Hội chứng Rubinstein-Taybi (RSTS) được đặc trưng bởi khuôn mặt điển hình, ngón cái và ngón chân cái to thường lệch trục, vóc dáng thấp và chậm phát triển trí tuệ mức độ trung bình đến nặng. Đặc điểm sọ mặt đặc trưng gồm khe mi mắt xếch xuống, columella mũi dài và trẻ, vòm miệng cao, nụ cười “grimacing smile” và răng nanh phụ (talon cusps). Trong thai kỳ, tăng trưởng thường bình thường; tuy nhiên,

sau sinh, chiều cao, cân nặng và vòng đầu nhanh chóng giảm bách phân vị trong vài tháng đầu đời. Người trưởng thành thường thấp bé, một số có béo phì từ thời thơ ấu hoặc tuổi thiếu niên. Chỉ số IQ trung bình 35 - 50, nhưng mức độ phát triển thần kinh biến thiên đáng kể, và một số trường hợp liên quan *EP300* có thể có trí tuệ gần bình thường.

Các biểu hiện bổ sung có thể bao gồm: bất thường mắt, giảm thính lực, khó thở, dị tật tim bẩm sinh, bất thường thận, tinh hoàn ẩn, rối loạn ăn uống, nhiễm trùng tái diễn và táo bón nặng. Đa số thai phụ RSTS được chẩn đoán do biến thể gây bệnh phát sinh mới (de novo) và thường là trường hợp đơn lẻ trong gia đình (PMID: 20301699).



**Hình 4. Cộng hưởng từ (CHT) thai nhi 30 tuần 4 ngày**

*A: Ghi nhận hình ảnh thiếu sản thùy trán hai bên và kém phát triển rãnh Sylvius hai bên (mũi tên). B: Thê chai mỏng và ngắn (mũi tên). Thiếu sản và loạn sản thùy nhộng (dấu sao). Cằm nhỏ (đầu mũi tên). C: Ngón tay cái to và choãi rộng (mũi tên)*

### III. BÀN LUẬN

Trong bối cảnh chẩn đoán trước sinh, sự kết hợp ba công cụ kinh điển gồm nhiễm sắc thể đồ (karyotype), CMA và WES đã giúp phát hiện phần lớn bất thường di truyền liên quan dị tật bẩm sinh. Tuy nhiên, vẫn còn một tỷ lệ đáng kể trường hợp thai có đa dị tật trên siêu âm nhưng kết quả CMA/WES âm tính, dẫn đến khó khăn

trong tiên lượng và tư vấn. Điều này phản ánh những hạn chế cố hữu: karyotype có độ phân giải thấp, CMA không phát hiện được tái sắp xếp cân bằng và biến thể cấu trúc (SV) nhỏ, trong khi WES tập trung chủ yếu ở vùng mã hóa, bỏ sót biến thể ngoài exon và nhiều CNV/SV phức tạp.

Việc phát hiện CNV từ dữ liệu WES gặp nhiều khó khăn do WES không được thiết kế chuyên biệt cho phân tích CNV. Dữ liệu WES chỉ bao phủ các exon, phân bố rời rạc và có độ phủ không đồng đều trên bộ gen, khiến việc xác định ranh giới CNV bị hạn chế và hầu như không thể phát hiện các CNV nằm hoàn toàn ngoài vùng mã hóa. Bên cạnh đó, độ sâu đọc của WES chịu ảnh hưởng mạnh bởi sai lệch bắt giữ exon, hàm lượng GC, làm gia tăng nhiễu và tỷ lệ dương tính giả. Do khó xác định tập âm tính thực sự cho CNV, độ đặc hiệu theo nghĩa cổ điển khó được ước lượng, nên nhiều nghiên cứu sử dụng độ chính xác dương tính (precision/PPV) để thay thế. Để phát hiện CNV từ WES một cách đáng tin cậy, cần đáp ứng một số yêu cầu quan trọng. Trước hết là độ sâu phủ đủ cao và tương đối đồng đều, thường từ 80 - 100 lần trở lên. Thứ hai, các phương pháp dựa trên độ sâu đọc yêu cầu một tập mẫu tham chiếu đủ lớn, được xử lý bằng cùng bộ bắt giữ exon và quy trình tin sinh học, nhằm mô hình hóa và loại bỏ nhiễu hệ thống. Ngoài ra, cần áp dụng các bước chuẩn hóa và lọc nghiêm ngặt theo số exon hoặc kích thước CNV, vì các CNV rất nhỏ có độ tin cậy thấp. Về hiệu năng, các nghiên cứu đánh giá cho thấy độ nhạy của phát hiện CNV từ WES phụ thuộc mạnh vào kích thước CNV. Đối với các CNV lớn (từ 3 exon trở lên), độ nhạy thường đạt khoảng 65 - 95%, trong đó các mất đoạn thường dễ phát hiện hơn các lặp đoạn.<sup>7,8</sup> Ngược lại, CNV nhỏ (đặc biệt chỉ 1 exon) có độ nhạy thấp và độ chính xác dương tính không ổn định.<sup>9</sup> Do đó, WES chỉ được xem là công cụ gợi ý hoặc hỗ trợ cho phát hiện CNV trong vùng mã hóa, nhưng chưa thể thay thế hoàn toàn các phương pháp chuyên biệt như CMA hoặc giải trình tự toàn bộ gen trong phân tích CNV toàn diện ở tất cả các phòng xét nghiệm di truyền.

Giải trình tự toàn bộ hệ gen (whole genome sequencing - WGS) được sử dụng như công

cụ có khả năng khắc phục một phần các hạn chế trên nhờ khảo sát hệ gen một cách chi tiết và rộng hơn. Không chỉ phát hiện biến thể đơn nucleotide (SNV/indel) trong và ngoài vùng mã hóa, WGS còn có thể phát hiện CNV nhỏ, SV phức tạp, các tín hiệu vùng đồng hợp tử (ROH)/lưỡng bội đơn cha mẹ (UPD), thậm chí một phần biến thể ty thể và khả năng thấp. Chính nhờ bao phủ phổ biến thể rộng hơn, WGS đem lại giá trị gia tăng khi các xét nghiệm bậc một âm tính.

Hai ca lâm sàng chúng tôi báo cáo minh họa cho tình huống này. Ở ca bệnh thứ nhất, thai có nhiều dấu hiệu não úng thủy và dị tật não trên siêu âm, với tiền sử hai lần thai trai mắc não úng thủy trước đó. Kết quả WGS đã phát hiện mất đoạn bán hợp tử gen *L1CAM*, một cơ chế bệnh học điển hình gây hội chứng L1 với phổ kiểu hình từ nặng đến nhẹ. Phát hiện này có ý nghĩa quan trọng không chỉ cho việc xác định chẩn đoán nguyên nhân mà còn cho tư vấn di truyền về nguy cơ tái phát, đặc biệt trong bối cảnh mẹ được xác định là người mang gen bệnh.

Ở ca bệnh thứ hai, thai được ghi nhận nhiều bất thường não và nghi ngờ dị tật thận trên siêu âm nhưng CMA và WES đều âm tính. Trio-WGS đã xác định mất đoạn dị hợp tử vùng 16p13.3 ảnh hưởng đến các exon 29-31 của gen *CREBBP*, được phân loại là biến thể gây bệnh liên quan hội chứng Rubinstein-Taybi. Đặc biệt, biến thể được xác định là de novo, từ đó làm thay đổi tiên lượng và giảm đáng kể nguy cơ tái phát cho gia đình trong lần mang thai sau. Cũng thay đổi cách thức tư vấn di truyền và phương án theo dõi cho thai kỳ tiếp theo.

Từ hai ca bệnh trên, có thể rút ra một số điểm:

Giá trị bổ sung của WGS: Cả hai biến thể phát hiện đều được phân loại là khó xác định bằng CMA hoặc WES do các hạn chế và khó

khẩn của kỹ thuật, WGS sẽ giúp ích trong phát hiện CNV kích thước nhỏ.

Trio-WGS đặc biệt hữu ích trong bối cảnh xét nghiệm trước sinh nhờ khả năng rút ngắn thời gian lọc biến thể, tăng độ tin cậy chẩn đoán và giảm gánh nặng biến thể chưa rõ ý nghĩa (VUS). Tuy nhiên, vẫn cần lưu ý thách thức trong diễn giải VUS, hạn chế của công nghệ giải trình tự đoạn ngắn đối với trình tự lặp lại mở rộng (repeat expansions) hoặc khảm mức thấp, yêu cầu hạ tầng tin sinh học, quản trị dữ liệu và khung pháp lý - đạo đức, cũng như chi phí xét nghiệm lớn.

Trong bối cảnh Việt Nam, nơi siêu âm hình thái và CMA/WES đã được triển khai rộng rãi nhưng vẫn gặp các trường hợp dị tật phức tạp âm tính với các xét nghiệm bậc một, việc đưa WGS vào thuật toán chẩn đoán bậc thang là hợp lý. Cách tiếp cận khả thi là: karyotype/CMA ± xét nghiệm mục tiêu (bậc 1), WES (bậc 2), và WGS (bậc 3, ưu tiên Trio) khi kết quả trước đó âm tính nhưng kiểu hình phức tạp hoặc tái phát trong gia đình. Song song, cần chuẩn hóa quy trình báo cáo theo tiêu chuẩn ACMG/AMP, kết hợp hội chẩn đa chuyên khoa, và đầu tư cho hạ tầng tin sinh học cùng đào tạo nhân lực.

Qua đó, chúng tôi đề xuất một khung gợi ý chỉ định và triển khai WGS trong chẩn đoán trước sinh gồm:

- Chỉ định: áp dụng cho các trường hợp thai có dị tật đa hệ cơ quan, nghi ngờ bất thường cấu trúc phức tạp, CMA/WES âm tính hoặc gia đình có tiền sử bất thường lặp lại. Trio-WGS nên được ưu tiên để giảm thiểu khối lượng biến thể chưa rõ ý nghĩa và tăng tốc độ trả kết quả.

- Yêu cầu kỹ thuật: kiểm soát nguy cơ nhiễm tế bào mẹ (MCC), đảm bảo chất lượng DNA cao, cài đặt độ sâu  $\geq 30x$  và vùng phủ  $\geq 95\%$  hệ gen, sử dụng pipeline chuẩn hóa với GRCh38 và các công cụ phát hiện SNV, indel, CNV, SV.

- Xác nhận biến thể: các biến thể ứng cử cần được xác minh độc lập bằng Sanger, MLPA, qPCR hoặc long-read mục tiêu trong trường hợp nghi ngờ điểm gây phức tạp.

- Chính sách báo cáo: xác định phạm vi báo cáo kết quả phụ, nguyên tắc xử lý biến thể chưa rõ ý nghĩa và lộ trình tái phân tích định kỳ.

- Tư vấn di truyền: kết quả phải được giải thích trong bối cảnh lâm sàng, nhấn mạnh ý nghĩa hành động, nguy cơ tái phát và các lựa chọn sinh sản về sau.

Khung này hướng tới việc rút ngắn thời gian đến chẩn đoán, nâng cao tính can thiệp được của kết quả xét nghiệm, và tiến tới chuẩn hóa thuật toán ứng dụng WGS trong chẩn đoán trước sinh tại Việt Nam. Đây là nền tảng quan trọng để kết nối xét nghiệm di truyền với chăm sóc lâm sàng, góp phần tối ưu hóa tiên lượng, quản lý thai kỳ và hỗ trợ lập kế hoạch sinh sản an toàn, cá thể hóa cho các gia đình có nguy cơ.

Tuy nhiên đây là báo cáo ca bệnh, do đó không cho phép đánh giá định lượng giá trị chẩn đoán hay hiệu quả chi phí của WGS trong chẩn đoán trước sinh. Ngoài ra, WGS dựa trên công nghệ giải trình tự đoạn ngắn vẫn có những giới hạn trong phát hiện các biến thể lặp lại mở rộng, khảm mức thấp hoặc tái sắp xếp rất phức tạp. Các nghiên cứu quy mô lớn hơn, thiết kế tiến cứu, sử dụng công nghệ giải trình tự đoạn dài là cần thiết để xác định rõ vai trò của WGS trong thực hành chẩn đoán trước sinh.

#### IV. KẾT LUẬN

Báo cáo cung cấp thêm bằng chứng thực tiễn về vai trò của WGS trong chẩn đoán trước sinh các dị tật cấu trúc phức tạp, gợi mở một khung triển khai phù hợp cho Việt Nam nhằm rút ngắn thời gian đến chẩn đoán, nâng cao tính ứng dụng lâm sàng của xét nghiệm di truyền và hỗ trợ lập kế hoạch sinh sản an toàn cho các gia đình.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Mellis R OK SE, Hill M, Chitty LS, et al. Diagnostic yield of exome sequencing for prenatal diagnosis of fetal structural anomalies: A systematic review and meta-analysis. *Prenatal diagnosis* 2022; 42(6): 662-685.
2. Callaway JL, Shaffer L G, Chitty L S, et al. The clinical utility of microarray technologies applied to prenatal cytogenetics in the presence of a normal conventional karyotype: a review of the literature. *Prenatal diagnosis*. 2013; 33(12): 1119-1123.
3. Liu X, Liu S, Wang H, et al. Potentials and challenges of chromosomal microarray analysis in prenatal diagnosis. *Frontiers in genetics*. 2022; 13:938183.
4. Best S, Wou K, Vora N, et al. Promises, pitfalls and practicalities of prenatal whole exome sequencing. *Prenatal diagnosis*. 2018; 38(1): 10-19.
5. Basel-Salmon L, Brabbing-Goldstein D. Fetal whole genome sequencing as a clinical diagnostic tool: Advantages, limitations and pitfalls *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*. 2024; 97: 102549.
6. Stumpel C VY. *L1 Syndrome* Vol 1993-2025: Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 2004.
7. Babadi M, Fu J M, Lee S K, et al. GATK-gCNV enables the discovery of rare copy number variants from exome sequencing data. *Nature genetics* 2023; 55(9): 1589-1597.
8. Marchuk DS CK, Strande N, et al.,. Increasing the diagnostic yield of exome sequencing by copy number variant analysis. *PLoS One*. 2018; 13(12): e0209185.
9. Thomas W Laver EDF, Matthew B Johnson, et al. Supervised exercise (Vivifrail) protects institutionalized older adults against severe functional decline after 14 weeks of COVID confinement. *Journal of the American Medical Directors Association*. 2021; 22(1): 217-219.

## Summary

### ADDED DIAGNOSTIC VALUE OF TRIO WHOLE-GENOME SEQUENCING IN PRENATALLY DETECTED FETAL ANOMALIES WITH NEGATIVE CMA AND WES: TWO CASE REPORTS

This report presents two clinical cases that illustrate the added diagnostic value of WGS when prior tests are negative. Case 1: A male fetus with recurrent familial hydrocephalus. WGS detected a hemizygous deletion involving exon 6 and part of exon 7 of L1CAM, classified as likely pathogenic and consistent with X-linked L1 syndrome. The mother was identified as a carrier, recurrence-risk counselling was modified accordingly and PGT-M planning were provided. Case 2: A fetus with multiple cerebral malformations. Trio-WGS revealed a heterozygous de novo deletion of CREBBP (exons 29–31), classified as pathogenic and compatible with Rubinstein–Taybi syndrome. Based on the test result, the prognosis was refined and would greatly reduced the estimated recurrence risk for future pregnancies. WGS expands the detectable spectrum of genetic variants, including SNVs/indels outside exonic regions, small CNVs, complex structural variants, ROH/UPD, and partial mitochondrial or low-level mosaic abnormalities, thereby providing diagnostic value and clinical impact after negative karyotype, CMA, and WES results.

**Keywords:** Whole-genome sequencing, trio-WGS, prenatal abnormalities, L1CAM, CREBBP, CMA negative results, WES negative results, prenatal.