

Đánh giá hiệu quả kỹ thuật CNV-seq trong chẩn đoán trước sinh bất thường di truyền tại Bệnh viện Phụ sản Hà Nội

Phạm Thúy Quỳnh¹, Đinh Thúy Linh², Bùi Phương Anh¹, Nguyễn Đắc Hoàng¹, Nguyễn Ngọc Sơn¹, Phạm Anh Quân¹, Lê Hữu Minh¹, Phạm Quang Anh³, Nguyễn Thị Trang^{1,4*}

¹Trường Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, phường Kim Liên, Hà Nội, Việt Nam

²Bệnh viện Phụ sản Hà Nội, 929 La Thành, phường Láng, Hà Nội, Việt Nam

³Trường Đại học Y Dược Thái Bình, 373 phố Lý Bôn, phường Trần Hưng Đạo, tỉnh Hưng Yên, Việt Nam

⁴Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, phường Kim Liên, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 7/8/2024; ngày chuyển phản biện 9/8/2024; ngày nhận phản biện 20/8/2024; ngày chấp nhận đăng 25/8/2024

Tóm tắt:

Nghiên cứu mô tả khả năng phát hiện một số bất thường nhiễm sắc thể (NST) của kỹ thuật giải trình tự phát hiện biến thể số lượng bản sao (CNV-seq) trong chẩn đoán trước sinh. Đối tượng, phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang kết hợp hồi cứu trên 421 thai phụ có tuổi thai 16-27 tuần, được chỉ định chọc ôi thực hiện đồng thời 2 kỹ thuật nuôi cấy tế bào ôi lập NST đồ và CNV-seq tại Bệnh viện Phụ sản Hà Nội trong thời gian tháng 1-12/2023. Kết quả: CNV-seq phát hiện được 146/421 (34,68%) trường hợp bất thường NST, trong khi NST đồ phát hiện được 137/421 trường hợp (32,54%). Xét nghiệm CNV-seq cho thấy, tỷ lệ phát hiện bất thường di truyền cao hơn so với NST đồ ở thai phụ có bất thường hình thái siêu âm, hoặc kết quả sàng lọc trước sinh không xâm lấn (NIPT) nguy cơ cao. Kết luận: CNV-seq tăng khả năng phát hiện bất thường số lượng và cấu trúc NST so với NST đồ. Kết hợp CNV-seq và NST đồ giúp tăng độ chính xác cho chẩn đoán trước sinh các bất thường di truyền ở thai nhi. Tuy nhiên, do chi phí cao và CNV-seq còn có các hạn chế nên cần nhắc chỉ định kỹ thuật này song song với kỹ thuật nuôi cấy tế bào ôi lập NST đồ trên các đối tượng có kết quả sàng lọc NIPT nguy cơ cao, thai có bất thường hình thái siêu âm... để có được chẩn đoán chính xác nhất các rối loạn di truyền ở thai nhi.

Từ khóa: bất thường di truyền, chẩn đoán trước sinh, CNV-seq.

Chỉ số phân loại: 3.1, 3.3, 3.5

CNV-seq technique in prenatal diagnosis of genetic abnormalities at Hanoi Obstetrics and Gynecology Hospital

Thuy Quynh Pham¹, Thuy Linh Dinh², Phuong Anh Bui¹, Dac Hoang Nguyen¹, Ngoc Son Nguyen¹, Anh Quan Pham¹, Huu Minh Le¹, Quang Anh Pham³, Thi Trang Nguyen^{1,4*}

¹Hanoi Medical University, 1 Ton That Tung Street, Kim Lien Ward, Hanoi, Vietnam

²Hanoi Obstetrics and Gynecology Hospital, 929 La Thanh Street, Lang Ward, Hanoi, Vietnam

³Thai Binh University of Medicine and Pharmacy, 373 Ly Bon Street, Tran Hung Dao Ward, Hung Yen Province, Vietnam

⁴Hanoi Medical University Hospital, 1 Ton That Tung Street, Kim Lien Ward, Hanoi, Vietnam

Received 7 August 2024; revised 20 August 2024; accepted 25 August 2024

Abstract:

Evaluate the value of Copy number variations-sequencing (CNV-seq) for prenatal diagnosis of genetic abnormalities. Subjects and methods: A cross-sectional descriptive study with a retrospective review of 421 pregnant women with gestational age of 16-27 weeks, who were indicated for amniocentesis and performed two techniques simultaneously: amniocyte culture for karyotyping and CNV-seq at Hanoi Obstetrics and Gynecology Hospital from January 2023 to December 2023. Results: CNV-seq detected 146/421 cases of chromosomal abnormalities (34,68%), while karyotyping detected 137/421 cases (32.54%). CNV-seq showed a higher detection rate of genetic abnormalities compared to karyotyping in pregnant women with abnormal ultrasound morphology or high-risk NIPT screening results. Conclusion: CNV-seq increases the ability to detect chromosomal number and structural abnormalities compared to karyotyping. The combination of CNV-seq and karyotyping helps to increase the accuracy of prenatal diagnosis of genetic abnormalities in the fetus. However, due to its high cost and certain limitations, it is recommended that the CNV-seq technique be considered in parallel with amniotic fluid cell culture for karyotyping in cases such as high-risk NIPT screening results, fetuses with abnormal ultrasound morphology, etc., to achieve the most accurate diagnosis of genetic disorders in the fetus.

Keywords: CNV-seq, genetic abnormality, prenatal diagnosis.

Classification numbers: 3.1, 3.3, 3.5

*Tác giả liên hệ: Email: trangnguyen@hmu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Bất thường bẩm sinh là vấn đề nhận được nhiều sự quan tâm không chỉ ở Việt Nam mà còn trên toàn thế giới. Những bất thường di truyền, đặc biệt là bất thường trên NST để lại nhiều hậu quả nặng nề như gây đa dị tật hình thái, chậm phát triển tinh thần, vận động, thậm chí là tử vong trước khi sinh [1]. Vì vậy, việc sàng lọc và chẩn đoán trước sinh là rất cần thiết, giúp các bác sỹ lâm sàng và thai phụ có kế hoạch và quyết định can thiệp kịp thời đối với thai đã được chẩn đoán bất thường. Mặc dù nuôi cấy tế bào ối và lập công thức NST (NST đồ - Karyotyping) hiện nay vẫn được coi là tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán trước sinh các bất thường do nguyên nhân di truyền, tuy nhiên hạn chế của phương pháp này là có thể bỏ sót các trường hợp đột biến với kích thước nhỏ, thời gian trả kết quả kéo dài (2-3 tuần) [2]. Với khả năng xác định được các biến thể số lượng bản sao từ 1 Kb trở lên, kỹ thuật phân tích giải trình tự phát hiện biến thể số lượng bản sao (Copy Number Variations-sequencing - CNV-seq) có tiềm năng trở thành công cụ hữu ích, phát hiện những bất thường di truyền mà kỹ thuật NST đồ có thể bỏ sót [3]. Tuy nhiên, CNV-seq đòi hỏi trang thiết bị hiện đại, chi phí cao nên kỹ thuật này chưa được chỉ định rộng rãi cho đa số thai phụ. Những hạn chế cố hữu của cả NST đồ và CNV-seq cho thấy, kết hợp hai phương pháp có thể nâng cao hiệu quả chẩn đoán bất thường di truyền, mang lại kết quả tốt hơn trong việc quản lý thai kỳ. Trên thế giới, đã có nhiều nghiên cứu cho thấy CNV-seq góp phần bổ trợ cho kết quả NST đồ trong chẩn đoán sớm bất thường ở thai. Theo S. Zhang và cs (2022) [4], CNV-seq là phương pháp bổ sung hiệu quả cho karyotyping và cải thiện độ chính xác của chẩn đoán trước sinh. Nghiên cứu của H. Zhang và cs (2023) [5] cho thấy, kết hợp CNV với NST đồ đã phát hiện thêm đáng kể các đột biến trên NST thai so với công thức NST đơn thuần. Tuy nhiên, tại Việt Nam hiện chưa có nhiều nghiên cứu về vấn đề này. Chính vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm mục đích so sánh tỷ lệ bất thường di truyền ở thai nhi qua kết quả NST đồ và CNV-seq, từ đó nhận xét khả năng phát hiện bất thường của kỹ thuật CNV-seq trong chẩn đoán trước sinh.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Tất cả các thai phụ có tuổi thai 16-27 tuần đến khám và theo dõi thai tại Trung tâm Sàng lọc, Chẩn đoán trước sinh và sơ sinh, Bệnh viện Phụ sản Hà Nội từ tháng 1-12/2023 được chỉ định chọc hút dịch ối, tự nguyện chọc ối và làm xét nghiệm di truyền sau khi được tư vấn đầy đủ bằng kỹ thuật CNV-seq và lập công thức NST.

Tiêu chuẩn lựa chọn: Thai phụ có tuổi thai 16-27 tuần, được chỉ định chọc hút dịch ối vì một trong các nguyên nhân: bất thường hình thái siêu âm, sàng lọc NIPT/huyết thanh mẹ nguy cơ cao, tiền sử sinh con hoặc mang thai dị tật, vợ/chồng mang bất thường di truyền.

Tiêu chuẩn loại trừ: Hồ sơ bệnh án không đầy đủ thông tin, các thai phụ không đồng ý tham gia nghiên cứu

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang và hồi cứu dữ liệu.

Cỡ mẫu và chọn mẫu: Chọn mẫu thuận tiện.

Công cụ thu thập thông tin và xử lý số liệu: Các số liệu được nhập vào phần mềm Microsoft Excel 2021, sau đó được xử lý trên phần mềm thống kê y học SPSS 25.0.

Quy trình nghiên cứu: Thu thập thông tin hành chính và lâm sàng của thai phụ, kết quả siêu âm, kết quả sàng lọc trước sinh (nếu có) và chẩn đoán trước sinh của các hồ sơ đủ tiêu chuẩn lựa chọn.

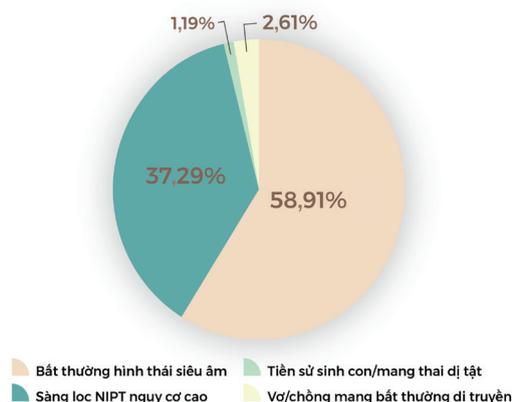
Mẫu ối được làm đồng thời 2 xét nghiệm: Lập công thức NST và CNV-seq. Kỹ thuật NST đồ: Sử dụng 10 ml nuôi cấy tế bào ối, lập karyotype phân tích bộ NST thai bằng phương pháp nhuộm băng G, theo tiêu chuẩn của Hội nghị quốc tế về Di truyền người 2019 (ISCN). Kỹ thuật CNV-seq: Ly tâm 8-10 ml dịch ối lấy cấy tế bào. DNA được tách chiết từ mẫu, sử dụng NEBNext Kit (Hoa Kỳ) phân cắt DNA để chuẩn bị thư viện giải trình tự. Sau đó, DNA được giải trình tự thế hệ mới trên hệ thống NextSeq, Illumina (Hoa Kỳ). Kết quả giải trình tự được so sánh với bộ gen tham chiếu (hg19) (bộ gen tham chiếu được chia nhỏ thành các vùng có kích thước 100 kb) để nhận dạng bất thường số lượng NST và CNV. Các đoạn CNV tìm thấy được phân lớp dựa trên các cơ sở dữ liệu: DECIPHER [6], DGV [7], 1000 genomes [8] và OMIM [9].

2.3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tiến hành với sự tuân thủ về mặt y đức, được Hội đồng Khoa học tại Đại học Y Hà Nội thông qua theo Quyết định số 407/QĐ-ĐHYHN ngày 6/2/2024.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả



Biểu đồ 1. Phân loại lý do chỉ định chọc hút dịch ối của thai phụ.

Trong số 421 thai phụ được chỉ định chọc hút dịch ối, nguyên nhân do bất thường hình thái siêu âm chiếm tỷ lệ cao nhất với 58,91%. Sàng lọc NIPT nguy cơ cao là nguyên nhân phổ biến thứ hai với 37,29%.

Bảng 1. Kết quả bất thường NST chẩn đoán qua xét nghiệm NST đồ và CNV-seq.

Kết quả		NST đồ		CNV-seq	
		n	%	n	%
Bất thường số lượng NST	Bất thường số lượng NST thường	39	9,2	39	9,2
	Bất thường số lượng NST giới tính X	18	4,2	21	4,98
	Bất thường số lượng NST giới tính Y	4	0,9	4	0,95
Bất thường cấu trúc NST	Bất thường cấu trúc NST thường	57	13,53	59	14,01
	Bất thường cấu trúc NST giới tính X	3	0,71	6	1,43
	Bất thường cấu trúc NST giới tính Y	0	0,00	0	0,00
Dạng khám		16	3,8	15	3,56
Bất thường khác (kết hợp bất thường số lượng và cấu trúc NST)		0	0,00	2	1,40
Bình thường		284	67,4	275	65,3
Tổng		421	100	421	100

CNV-seq phát hiện được 146/421 (34,68%) trường hợp bất thường NST, nhiều hơn so với NST đồ phát hiện được 137/421 trường hợp (32,54%). Trong số các bất thường về số lượng NST, CNV phát hiện được 64 trường hợp trong khi NST đồ chỉ phát hiện được 61 trường hợp. Về bất thường cấu trúc NST, CNV phát hiện được 65 trường hợp, trong đó 60 trường hợp được chẩn đoán trên NST đồ.

Bảng 2. Tỷ lệ phát hiện bất thường di truyền của 2 phương pháp theo chỉ định chọc hút dịch ối.

Chỉ định xét nghiệm dịch ối	n	Kết quả bất thường trên NST đồ		Kết quả bất thường trên CNV		Tỷ lệ phát hiện tăng thêm	OR
Bất thường hình thái siêu âm	248	59	23,79%	60	24,19%	0,4%	1,02
Sàng lọc NIPT nguy cơ cao	157	76	48,40%	82	52,22%	3,8%	1,17
Tiền sử sinh con/mang thai dị tật	5	0	0	2	40%	40%	nd
Vợ/chồng mang bất thường di truyền	11	2	18,18%	2	18,18%	0%	1
Tổng	421	137		146			

CNV-seq có khả năng phát hiện các bất thường NST của thai do bất thường hình thái siêu âm cao hơn NST đồ 0,4% (bảng 2). Đối với chỉ định chọc ối xét nghiệm di truyền, do kết quả sàng lọc NIPT nguy cơ cao, CNV phát hiện 82/157 trường hợp có bất thường, tăng 3,8% so với NST đồ (76/157).

3.2. Bàn luận

Nghiên cứu trên 421 thai phụ được chỉ định chọc ối làm đồng thời xét nghiệm di truyền NST đồ và CNV-seq cho thấy, nhóm thai phụ có bất thường hình thái siêu âm chiếm

tỷ lệ cao nhất với 58,91%, chỉ định chọc ối do thai phụ có kết quả sàng lọc NIPT nguy cơ cao là nguyên nhân phổ biến thứ hai. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của H.T. Nguyen và cs (2022) [10]. Theo khuyến cáo của Hiệp hội Di truyền và Hệ gen Y khoa Hoa Kỳ (The American College of Medical Genetics and Genomics - ACMG), CNV được khuyến cáo thực hiện trên các thai phụ có bất thường hình thái trên siêu âm nhằm phát hiện sớm các bất thường di truyền [11].

Đối chiếu giữa kết quả CNV và karyotyping cho thấy, kết quả tương đồng trong hầu hết các trường hợp bất thường số lượng NST (64/61 trường hợp). CNV phát hiện được 21 trường hợp bất thường số lượng NST giới tính X, trong khi NST đồ chỉ phát hiện được 18 trường hợp. 4 trường hợp bất thường số lượng NST giới tính Y được phát hiện qua CNV cũng được chẩn đoán qua xét nghiệm lập công thức NST.

Về bất thường cấu trúc NST, CNV phát hiện được 59 trường hợp bất thường cấu trúc trên NST thường trong khi NST đồ phát hiện được 57 trường hợp. Có 6 trường hợp bất thường cấu trúc trên NST giới tính X được phát hiện bằng CNV, NST đồ chỉ chẩn đoán được 3 trường hợp. Vì cỡ mẫu nhỏ nên không có trường hợp bất thường cấu trúc NST giới tính Y được phát hiện.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi cũng gặp 1 trường hợp NST đồ chẩn đoán thể khảm 2 dòng tế bào: 45,X/46,X,+mar trong khi CNV chỉ phát hiện mất đoạn trên 2 NST X. Chúng tôi cho rằng, trường hợp này trên NST đồ không xác định được cụ thể kích thước và vị trí mất đoạn nên sẽ không cung cấp được thông tin di truyền chi tiết như kết quả CNV. Việc CNV không phát hiện ra tình trạng khảm có thể là do hạn chế về mặt kỹ thuật hoặc do tác động của các sản phẩm ngoại lai trong quá trình nuôi cấy tế bào. Nghiên cứu của N. Ma và cs (2021) [12] đã mô tả về trường hợp này.

Có 2 trường hợp bất thường kết hợp được phát hiện bằng CNV, trong đó 1 trường hợp cho kết quả trisomy 21 kết hợp lặp đoạn trên NST số 4 nhưng kết quả NST đồ chỉ phát hiện trisomy 21. Trường hợp còn lại CNV trả lời phát hiện đồng thời bất thường số lượng trên NST X và lặp đoạn trên NST số 7, nhưng NST đồ chỉ cho kết quả monosomy X. Cả 2 trường hợp này bất thường cấu trúc được phát hiện trên CNV đều là các lặp đoạn có kích thước <5 Mb, do vậy xét nghiệm lập công thức NST truyền thống không phát hiện được.

Như vậy, xét nghiệm CNV tăng khả năng phát hiện bất thường trên NST so với NST đồ, đặc biệt là các bất thường về cấu trúc NST. Nghiên cứu của H. Luo và cs (2023) [13] cũng cho thấy hiệu quả phát hiện bất thường trên CNV so với karyotype tăng 5,11%. Với khả năng phát hiện các bất thường có kích thước từ 400 Kb, CNV-seq cho thấy vai trò bổ sung chẩn đoán đối với các trường hợp mất đoạn hoặc lặp đoạn nhỏ có kích thước nằm ngoài giới hạn phân giải của kỹ thuật lập công thức NST.

Giá trị của xét nghiệm CNV-seq có mối liên quan với lý do thai phụ được chỉ định chọc ối. Với nguyên nhân thai phụ hoặc chồng có bất thường di truyền, CNV không ghi nhận thêm bất thường nào so với lập công thức NST. Tuy nhiên, các chỉ định chọc ối còn lại đều ghi nhận phát hiện bất thường trên CNV nhiều hơn NST đồ. Đối với chỉ định xét nghiệm dịch ối do kết quả sàng lọc NIPT nguy cơ cao, CNV phát hiện 52,2% trường hợp có bất thường, tăng 3,8% so với NST đồ. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của P. Xiang và cs (2023) [14]. Các nhóm thai phụ có bất thường hình thái trên siêu âm hay có tiền sử sinh con/mang thai dị tật, xét nghiệm CNV đều phát hiện thêm các trường hợp mang bất thường di truyền so với NST đồ. Thực hiện test kiểm định Chi-square cho kết quả của 2 xét nghiệm di truyền theo chỉ định chọc ối, chúng tôi nhận thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Nghiên cứu của X. Zhao và cs (2019) [15] cùng với J. Zhang và cs (2021) [16] cũng cho kết quả tương tự.

Như vậy, bên cạnh NST đồ là tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán các bất thường di truyền, CNV nên là xét nghiệm được thực hiện trên các đối tượng có kết quả sàng lọc NIPT nguy cơ cao, thai có bất thường hình thái siêu âm hay thai phụ có tiền sử sinh con/mang thai dị tật, giúp hạn chế bỏ sót bất thường ở thai nhi.

4. Kết luận

CNV-seq là xét nghiệm di truyền bổ sung hiệu quả cho NST đồ, giúp làm tăng đáng kể tỷ lệ phát hiện các trường hợp thai có bất thường số lượng và cấu trúc NST. Tuy nhiên, bên cạnh chi phí cao, CNV còn có các hạn chế như không phát hiện được các bất thường cấu trúc NST dạng cân bằng hay các trường hợp đa bội. Vì vậy, nên cân nhắc chỉ định CNV song song với kỹ thuật nuôi cấy tế bào ối lập NST đồ trên các đối tượng có kết quả sàng lọc NIPT nguy cơ cao, thai có bất thường hình thái siêu âm hay thai phụ có tiền sử sinh con/mang thai dị tật để có được chẩn đoán chính xác nhất các rối loạn di truyền ở thai nhi.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm tác giả xin chân thành cảm ơn Trung tâm Sàng lọc, Chẩn đoán trước sinh và sơ sinh, Bệnh viện Phụ Sản Hà Nội đã hỗ trợ chúng tôi thực hiện nghiên cứu này. Xin cảm ơn các đối tượng nghiên cứu đã hỗ trợ và đồng ý tham gia vào nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] L.M.E. Attar, A.A. Bahashwan, A.D. Bakhsh, et al. (2021), "The prevalence and patterns of chromosome abnormalities in newborns with major congenital anomalies: A retrospective study from Saudi Arabia", *Intractable Rare Dis. Res.*, **10(2)**, pp.81-87, DOI: 10.5582/irdr.2021.01016.

[2] L. Hixson, S. Goel, P. Schuber, et al. (2015), "An overview on prenatal screening for chromosomal aberrations", *J. Lab. Autom.*, **20(5)**, pp.562-573, DOI: 10.1177/2211068214564595.

[3] J. Nevado, R. Mergener, M.P. Bralo, et al. (2014), "New microdeletion and microduplication syndromes: A comprehensive review", *Genet. Mol. Biol.*, **37(1)**, pp.210-219, DOI: 10.1590/s1415-47572014000200007.

[4] S. Zhang, Y. Xu, D. Lu, et al. (2022), "Combined use of karyotyping and copy number variation sequencing technology in prenatal diagnosis", *PeerJ*, DOI: 10.7717/peerj.14400.

[5] H. Zhang, Z. Xu, Q. Chen, et al. (2023), "Comparison of the combined use of CNV-seq and karyotyping or QF-PCR in prenatal diagnosis: A retrospective study", *Sci. Rep.*, **13(1)**, DOI: 10.1038/s41598-023-29053-6.

[6] H.V. Firth, S.M. Richards, A.P. Bevan, et al. (2009), "DECIPHER: Database of chromosomal imbalance and phenotype in humans using ENSEMBL resources", *Am. J. Hum. Genet.*, **84(4)**, pp.524-33, DOI: 10.1016/j.ajhg.2009.03.010.

[7] Database of Genomic Variants [v107] (2022), <http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>, accessed 20 December 2023.

[8] 1000 Genomes | A Deep Catalog of Human Genetic Variation (2022), <https://www.internationalgenome.org/>, accessed 20 December 2023.

[9] Home - OMIM (2022), <https://omim.org/>, accessed 20 December 2023.

[10] H.T. Nguyen, H.X. Tang, C.X. Nguyen, et al. (2022), "Prenatal diagnosis of chromosomal abnormalities using CNV-seq technique at Nghe An Women's and Children's Hospital", *Obstetrics and Gynecology Journal*, **20(3)**, pp.26-31, DOI: 10.46755/vjog.2022.3.1432 (in Vietnamese).

[11] E.R. Riggs, E.F. Andersen, A.M. Cherry, et al. (2020), "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. Off. J. Am. Coll. Med. Genet.*, **22(2)**, pp.245-257, DOI: 10.1038/s41436-019-0686-8.

[12] N. Ma, H. Xi, J. Chen, et al. (2021), "Integrated CNV-seq, karyotyping and SNP-array analyses for effective prenatal diagnosis of chromosomal mosaicism", *BMC Med. Genomics*, pp.14-56, DOI: 10.1186/s12920-021-00899-x.

[13] H. Luo, Q. Wang, D. Fu, et al. (2023), "Additional diagnostic value of CNV-seq over conventional karyotyping in prenatal diagnosis: A systematic review and meta-analysis", *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, **49(7)**, pp.1641-1650, DOI: 10.1111/jog.15652.

[14] P. Xiang, L. Liu, X. Hu, et al. (2023), "Application value of CNV-seq for the prenatal diagnosis of women with high-risk pregnancies", *Chin J. Med. Genet.*, **40(1)**, pp.17-20, DOI: 10.3760/cma.j.cn511374-20211209-00976.

[15] X. Zhao, L. Fu (2019), "Efficacy of copy-number variation sequencing technology in prenatal diagnosis", *J. Perinat. Med.*, **47(6)**, pp.651-655, DOI: 10.1515/jpm-2019-0005.

[16] J. Zhang, X. Tang, J. Hu, et al. (2021), "Investigation on combined copy number variation sequencing and cytogenetic karyotyping for prenatal diagnosis", *BMC Pregnancy Childbirth*, **21**, DOI: 10.1186/s12884-021-03918-y.