

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ YẾU TỐ LIÊN QUAN ĐẾN NỒNG ĐỘ cffDNA TRONG THAI KỲ THỤ TINH ỔNG NGHIỆM

Trịnh Thế Sơn^{1*}, Nguyễn Minh Phương¹

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá mối liên quan giữa tuổi mẹ, chỉ số khối cơ thể (BMI) của mẹ, tuổi thai và nồng độ DNA tự do của thai nhi (cell-free fetal DNA - cffDNA) ở thai kỳ thụ tinh trong ống nghiệm. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu hồi cứu, mô tả cắt ngang trên 1.000 thai kỳ thụ tinh trong ống nghiệm (*in vitro* fertilization - IVF) thực hiện xét nghiệm sàng lọc trước sinh không xâm lấn (non-invasive prenatal testing - NIPT) tại Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội, Học viện Quân y từ tháng 01/2023 - 02/2026. **Kết quả:** Tuổi mẹ trung bình là $30,8 \pm 5,1$; BMI trung bình là $21,2 \pm 2,0 \text{ kg/m}^2$; tuổi thai trung bình là $10,8 \pm 1,2$ tuần. Nồng độ cffDNA trung bình toàn nhóm là $16,2 \pm 5,2\%$. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ cffDNA theo nhóm tuổi mẹ ($p = 0,577$) và BMI của mẹ ($p = 0,859$). Nồng độ cffDNA tăng dần theo tuổi thai từ $14,9 \pm 4,6\%$ ở tuần thứ 9 lên $17,1 \pm 5,1\%$ sau tuần thứ 12 ($p = 0,005$), với hệ số tương quan Pearson $r = 0,1701$ ($p < 0,001$). **Kết luận:** Ở thai kỳ IVF, nồng độ cffDNA tăng khi tuổi thai tăng với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tuổi mẹ và BMI của mẹ không liên quan có ý nghĩa thống kê với sự thay đổi nồng độ cffDNA.

Từ khóa: Nồng độ cffDNA; NIPT; Thụ tinh trong ống nghiệm.

FACTORS ASSOCIATED WITH cffDNA CONCENTRATION IN *IN VITRO* FERTILIZATION PREGNANCIES

Abstract

Objectives: To evaluate the association between maternal age, maternal body mass index (BMI), gestational age, and cell-free fetal DNA (cffDNA) concentration in *in vitro* fertilization pregnancies. **Methods:** A retrospective cross-sectional study was conducted on 1,000 IVF pregnancies undergoing non-invasive prenatal testing (NIPT)

¹Viện Mô phôi lâm sàng Quân đội, Học viện Quân Y

*Tác giả liên hệ: Trịnh Thế Sơn (trinhtheson@vmmu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 07/4/2026

Ngày được chấp nhận đăng: 19/5/2026

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v51i7.2056>

at the Military Institute of Clinical Embryology and Histology, Vietnam Military Medical University, from January 2023 to February 2026. **Results:** The mean maternal age was 30.8 ± 5.1 years; the mean BMI was 21.2 ± 2.0 kg/m²; and the mean gestational age was 10.8 ± 1.2 weeks. The overall mean cffDNA concentration was $16.2 \pm 5.2\%$. No statistically significant differences in cffDNA concentration were observed across maternal age groups ($p = 0.577$) or maternal BMI categories ($p = 0.859$). The cffDNA concentration increased with gestational age, from $14.9 \pm 4.6\%$ at 9 weeks to $17.1 \pm 5.1\%$ beyond 12 weeks ($p = 0.005$), with a Pearson correlation coefficient of $r = 0.1701$ ($p < 0.001$). **Conclusion:** In IVF pregnancies, cffDNA concentration increases significantly with advancing gestational age. Maternal age and maternal BMI are not significantly associated with changes in cffDNA concentration.

Keywords: cffDNA concentration; NIPT; *In vitro* fertilization.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Sự ra đời của kỹ thuật IVF đã mở ra cơ hội làm cha mẹ cho hàng triệu cặp vợ chồng vô sinh trên toàn thế giới. Tại Việt Nam, cùng với sự phát triển nhanh chóng của các trung tâm hỗ trợ sinh sản, số lượng thai kỳ đạt được nhờ IVF ngày càng gia tăng. Tuy nhiên, thai kỳ IVF thường có đặc điểm khác biệt so với thai kỳ tự nhiên, bao gồm tuổi mẹ, tỷ lệ rối loạn chuyển hóa (béo phì hoặc hội chứng buồng trứng đa nang), cũng như nguy cơ bất thường nhiễm sắc thể và các biến chứng thai kỳ cao hơn. Những yếu tố này đặt ra yêu cầu cần có các phương pháp sàng lọc trước sinh an toàn, hiệu quả và có độ chính xác cao.

Trong những năm gần đây, NIPT dựa trên phân tích nồng độ cffDNA trong máu

mẹ đã trở thành phương pháp sàng lọc trước sinh hiện đại, có độ nhạy và độ đặc hiệu cao, vượt trội so với các xét nghiệm sàng lọc sinh hóa truyền thống trong phát hiện các lệch bội nhiễm sắc thể thường gặp như trisomy 21, 18 và 13. Một yếu tố then chốt quyết định độ chính xác của NIPT là tỷ lệ cffDNA trong tuần hoàn mẹ. Nồng độ cffDNA thấp ($< 4\%$) có thể làm tăng nguy cơ kết quả không xác định hoặc âm tính giả, ảnh hưởng đến giá trị lâm sàng của xét nghiệm [1].

Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra nồng độ cffDNA chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố sinh học và kỹ thuật như các yếu tố của mẹ và thai như tuổi thai, tuổi mẹ, BMI của mẹ, cũng như đặc điểm của bánh nhau [2, 3]. Tuy nhiên, các kết quả nghiên cứu chưa hoàn toàn thống nhất,

đặc biệt trong giai đoạn đầu thai kỳ. Bên cạnh đó, các bằng chứng y văn gần đây cho thấy động học của nồng độ cffDNA trong thai kỳ IVF có những đặc điểm khác biệt so với thụ tinh tự nhiên. Một số nghiên cứu chỉ ra thai kỳ IVF thường có nồng độ cffDNA thấp hơn, điều này có thể liên quan đến sự thay đổi trong quá trình hình thành bánh nhau hoặc nồng độ hormone sinh dục trong giai đoạn sớm của thai kỳ [4]. Nồng độ cffDNA thấp hơn ở nhóm đối tượng này không chỉ làm tăng tỷ lệ xét nghiệm thất bại mà còn gây ra những lo ngại nhất định về tâm lý cho thai phụ (TP) vốn đã thuộc nhóm nguy cơ cao.

Tại Việt Nam, các nghiên cứu về nồng độ cffDNA chủ yếu tập trung vào quần thể thai kỳ tự nhiên [5], trong khi dữ liệu về thai kỳ IVF còn ít, đặc biệt là các phân tích định lượng về mối liên quan giữa các yếu tố của mẹ và thai với nồng độ cffDNA. Các yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ cffDNA trong nhóm thai kỳ IVF có ý nghĩa quan trọng trong việc tối ưu hóa chỉ định và diễn giải kết quả NIPT, góp phần nâng cao hiệu quả sàng lọc trước sinh trong thực hành lâm sàng. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện nhằm: *Đánh giá mối liên quan giữa tuổi mẹ, BMI của mẹ, tuổi thai và nồng độ cffDNA ở thai kỳ IVF.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 1.000 thai kỳ IVF thực hiện NIPT tại Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội, Học viện Quân y từ tháng 01/2023 - 02/2026.

* *Tiêu chuẩn lựa chọn:* TP mang thai bằng phương pháp IVF (đơn thai hoặc song thai không tiêu biến), thực hiện NIPT lần đầu, hồ sơ NIPT có đầy đủ thông tin cần thiết: Tuổi mẹ, BMI của mẹ tại thời điểm lấy máu, tuổi thai ghi nhận thông qua ngày chuyển phôi và tuổi phôi chuyển, kết quả NIPT hợp lệ, TP đồng ý tham gia nghiên cứu.

* *Tiêu chuẩn loại trừ:* TP mang đa thai (≥ 3 thai) hoặc song thai tiêu biến. TP không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu hồi cứu, mô tả cắt ngang.

* *Cỡ mẫu nghiên cứu:* Chọn mẫu toàn bộ, thuận tiện.

* *Quy trình tiến hành nghiên cứu:* Ghi nhận tuổi thai tại thời điểm lấy máu xét nghiệm NIPT. Tuổi thai tại thời điểm lấy mẫu được xác định dựa trên ngày chuyển phôi và tuổi phôi khi chuyển,

sau đó quy đổi sang tuần thai thập phân theo công thức:

$$\text{Tuổi thai (tuần thập phân)} = \frac{\text{Số tuần} + (\text{Số ngày lẻ}/7)}{1}$$

Thu thập và bảo quản mẫu máu: TP mang thai sau IVF được lấy 10mL máu tĩnh mạch vào ống chuyên dụng Cell-Free DNA BCT (hãng Streck, Hoa Kỳ), mẫu máu được bảo quản và vận chuyển ở nhiệt độ từ 6 - 37°C.

Tách chiết DNA tự do: Thực hiện ly tâm kép ở 4°C (lần 1: 1.600 x g/10 phút; lần 2: 16.000 x g/10 phút) để thu huyết tương tinh sạch. Sau đó, sử dụng bộ kit hạt từ tính để tách chiết DNA tự do từ phần huyết tương này.

Chuẩn bị thư viện và giải trình tự: Tạo thư viện DNA bằng bộ kit chuyên dụng, chuẩn hóa và gộp mẫu (pooling) theo mã vạch. Sau đó, tiến hành giải trình tự trên nền tảng BioelectronSeq 4000.

Phân tích tin sinh học và tính nồng độ cffDNA: Chọn lọc các mẫu đạt chuẩn (reads > 3,5 triệu, nồng độ ≥ 1 nmol/L) để thuật toán tính toán tự động. Dùng phương pháp Z-score để phát hiện lệch bội nhiễm sắc thể.

* *Xử lý số liệu*: Bằng phần mềm Microsoft Excel và Stata 14. Các biến định lượng được trình bày dưới dạng trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn ($\bar{X} \pm SD$), giá trị nhỏ nhất và lớn nhất. So sánh giữa các

phân nhóm tuổi mẹ, BMI của mẹ và tuổi thai sử dụng kiểm định One-way ANOVA. Mỗi tương quan giữa nồng độ cffDNA với tuổi thai được đánh giá bằng hệ số tương quan Pearson (r). Sự khác biệt được coi là có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện theo đúng quy định của Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội, Học viện Quân y. Số liệu nghiên cứu được Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội, Học viện Quân y cho phép sử dụng và công bố. Nhóm tác giả cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Trong 1.000 TP tham gia nghiên cứu, tuổi mẹ trung bình là $30,8 \pm 5,1$, phân bố từ 18 - 50 tuổi, với tỷ lệ cao nhất ở nhóm 25 - 29 tuổi (35,3%) và 30 - 34 tuổi chiếm 32,3%. Chỉ số BMI trung bình của mẹ là $21,2 \pm 2,0$ kg/m², đa số có thể trạng bình thường (18,5 - 22,99 kg/m²), chiếm 70,0%. Tuổi thai trung bình tại thời điểm lấy máu xét nghiệm là $10,8 \pm 1,2$ tuần, dao động từ 9,0 - 13,9 tuần (Bảng 1).

Nồng độ cffDNA trung bình của TP là $16,2 \pm 5,2\%$, với giá trị nhỏ nhất quan sát được là 4,3% và giá trị lớn nhất là 41,5%.

Bảng 1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu.

Yếu tố	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	$\bar{X} \pm SD$	Min	Max
Tuổi mẹ (năm)					
< 25	93	9,3			
25 - 29	353	35,3	30,8 ± 5,1	18	50
30 - 34	323	32,3			
≥ 35	231	23,1			
BMI mẹ (kg/m ²)					
< 18,5	101	10,1			
18,5 - 22,99	700	70,0	21,2 ± 2,0	17,4	26,7
23 - 24,99	172	17,2			
≥ 25	27	2,7			
Tuổi thai (tuần)					
9w - 9w6d	266	26,6			
10w - 10w6d	252	25,2	10,8 ± 1,2	9,0	13,9
11w - 11w6d	219	21,9			
≥ 12	263	26,3			

(w: Tuần; d: Ngày)

2. Ảnh hưởng của tuổi mẹ và BMI mẹ đến nồng độ cffDNA

Bảng 2. Nồng độ cffDNA theo nhóm tuổi mẹ.

Tuổi mẹ (tuổi)	Nồng độ cffDNA (%)			p
	$\bar{X} \pm SD$	Min	Max	
< 25	16,5 ± 5,5	5,6	35,6	0,577
25 - 29	16,3 ± 5,0	6,3	32,1	
30 - 34	15,9 ± 5,4	5,7	39,8	
≥ 35	16,2 ± 5,3	4,3	41,5	

Kết quả phân tích cho thấy nồng độ cffDNA trung bình theo nhóm tuổi mẹ dao động hẹp (15,9 - 16,5%) và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ cffDNA trung bình giữa các phân nhóm tuổi mẹ (p = 0,577) (Bảng 2).

Bảng 3. Nồng độ cffDNA theo nhóm BMI của mẹ.

BMI của mẹ (kg/m ²)	Nồng độ cffDNA (%)			p
	$\bar{X} \pm SD$	Min	Max	
< 18,5	16,2 ± 5,3	5,8	39,8	0,859
18,5 - 22,99	16,1 ± 5,2	4,3	41,5	
23 - 24,99	16,3 ± 5,4	6,6	36,4	
≥ 25	18,6 ± 5,6	6,8	30,2	

Tương tự, chỉ số BMI của mẹ cũng không ghi nhận sự ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến tỷ lệ cffDNA trong máu mẹ (p = 0,859).

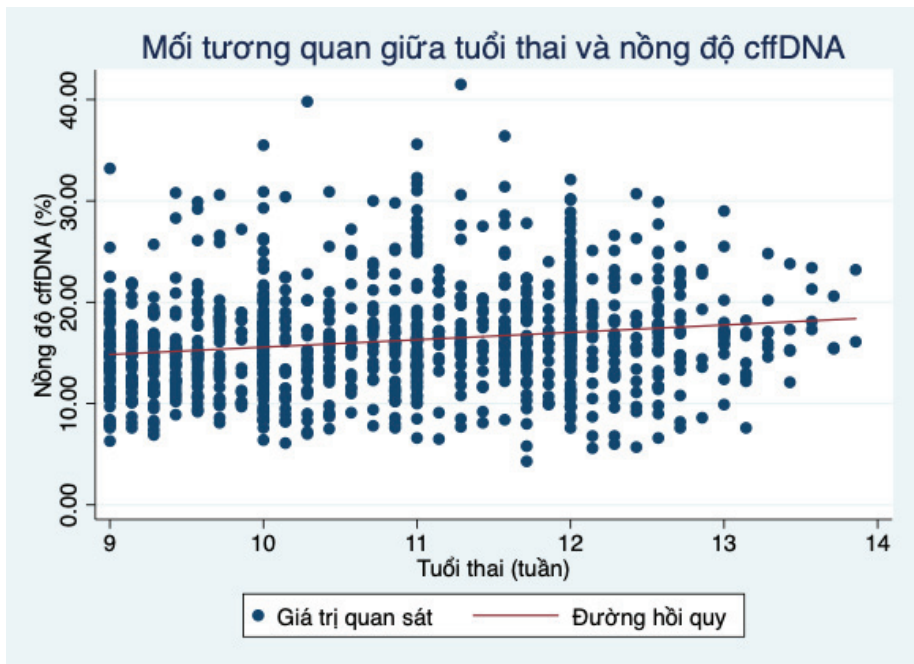
3. Ảnh hưởng của tuổi thai đến nồng độ cffDNA

Bảng 4. Nồng độ cffDNA theo nhóm tuổi thai.

Tuổi thai (tuần)	Nồng độ cffDNA (%)			p
	$\bar{X} \pm SD$	Min	Max	
9w - 9w6d	14,9 ± 4,6	6,3	33,2	0,005
10w - 10w6d	15,8 ± 5,3	6,1	39,8	
11w - 11w6d	17,1 ± 5,8	4,3	41,5	
≥ 12w	17,1 ± 5,1	5,6	32,1	

(w: Tuần; d: Ngày)

Nồng độ cffDNA có xu hướng tăng dần theo sự phát triển của thai kỳ. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm tuổi thai với p = 0,005.



$$r = 0,1701, p < 0,001$$

Biểu đồ 1. Mối tương quan giữa nồng độ cffDNA với tuổi thai.

Biểu đồ 1 cho thấy có mối tương quan thuận mức độ yếu, có ý nghĩa thống kê giữa tuổi thai và nồng độ cffDNA, với hệ số tương quan Pearson $r = 0,1701$ ($p < 0,001$).

BÀN LUẬN

Nghiên cứu trên 1.000 thai kỳ IVF lấy máu ở tuổi thai từ 9 - 14 tuần, cho thấy nồng độ cffDNA trung bình là $16,2 \pm 5,2\%$. Không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê theo nhóm tuổi mẹ ($p = 0,577$) và BMI của mẹ ($p = 0,859$). Ngược lại, nồng độ cffDNA tăng theo tuổi thai, với hệ số tương quan Pearson $r = 0,1701$ ($p < 0,001$). Kết quả này khẳng định tuổi thai là yếu tố ảnh hưởng có ý nghĩa nhất đến nồng độ cffDNA trong thai kỳ IVF.

Về tuổi mẹ, nghiên cứu của chúng tôi không tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm ($p = 0,577$). Kết

quả này phù hợp với nghiên cứu của Hoàng Thu Lan và CS (2024) trên 1.171 TP ($p = 0,643$), trong đó nồng độ cffDNA chỉ có xu hướng giảm nhẹ khi tuổi mẹ ≥ 30 tuổi nhưng chưa đạt ý nghĩa thống kê [3], cũng như nghiên cứu của Hestand và CS (2019) [6]. Tuy nhiên, kết quả này trái ngược với nghiên cứu lớn của Vũ Thị Thúy Chi và CS (2023) trên 17.451 TP, ghi nhận mối tương quan nghịch biến rõ rệt giữa nồng độ cffDNA và tuổi mẹ ($p < 0,05$) [5], cũng như nghiên cứu của Hou và CS (2019) trên 13.661 trường hợp cho thấy nồng độ cffDNA giảm dần khi tuổi mẹ tăng ($p < 0,01$) [2].

Đối với BMI của mẹ, nghiên cứu không ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p = 0,859$). Kết quả này khác biệt so với một số nghiên cứu trước đây trên thai kỳ tự nhiên, trong đó nồng độ cffDNA giảm đáng kể khi BMI tăng: Các nghiên cứu của Hoàng Thu Lan và CS (2024) ($p < 0,001$) [3], Hou và CS (2019) ($p < 0,01$) [2] và Hestand và CS (2019) [6] đều ghi nhận mối tương quan nghịch biến giữa BMI và nồng độ cffDNA, với cơ chế giải thích thông thường do BMI tăng làm tăng thể tích tuần hoàn của mẹ, do đó pha loãng cffDNA, cũng như tăng lượng cfDNA có nguồn gốc từ mẹ làm giảm tỷ lệ tương đối của cffDNA. Sự không tương đồng trong kết quả nghiên cứu này có thể được giải thích bởi kích thước mẫu nhóm BMI $\geq 25 \text{ kg/m}^2$ trong nghiên cứu của chúng tôi còn nhỏ ($n = 27$, chiếm 2,7%), đồng thời, các yếu tố đặc thù của thai IVF như sử dụng nội tiết ngoại sinh để hỗ trợ hoàng thể có thể che lấp ảnh hưởng của BMI.

Về tuổi thai, kết quả của chúng tôi hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu trong và ngoài nước. Nồng độ cffDNA tăng dần theo tuổi thai với $p = 0,005$ và $r = 0,1701$, tương tự với các nghiên cứu của Hoàng Thu Lan và CS (2024) ($p < 0,05$) [3], Vũ Thị Thúy Chi và CS (2023) ($r = 0,1539$; $p < 0,05$) [5] và Hou và CS (2019) [2]. Điều này khẳng định tuổi thai vẫn là yếu tố quan trọng nhất quyết định nồng độ cffDNA, ngay cả trong thai kỳ IVF, do sự phát triển của bánh nhau - nguồn gốc chính giải phóng các đoạn

DNA thai nhi vào máu mẹ thông qua quá trình apoptosis của các tế bào lá nuôi [7].

Bên cạnh tuổi thai, nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận sự dao động cá thể rất lớn về nồng độ cffDNA, với khoảng giá trị từ 4,3 - 41,5%. Sự biến thiên này cho thấy nồng độ cffDNA không chỉ phụ thuộc vào tuổi thai mà còn bị chi phối bởi các yếu tố sinh học nội tại chưa được đánh giá hết như khối lượng bánh nhau thực tế, tỷ lệ apoptosis của nguyên bào nuôi ở mỗi cá thể. Đặc biệt, nghiên cứu của Kallianidis và CS (2022) [4] cũng nhấn mạnh việc đánh giá nồng độ cffDNA trên thai kỳ IVF cần xem xét thêm tác động của phác đồ chuẩn bị niêm mạc hay tình trạng đáp ứng nội tiết ngoại sinh, những yếu tố có thể làm thay đổi động học giải phóng cffDNA vào tuần hoàn mẹ.

Nghiên cứu có điểm mạnh là cỡ mẫu lớn (1.000 trường hợp) và tập trung vào đối tượng đặc thù là thai kỳ IVF, giúp cung cấp dữ liệu tham chiếu quan trọng cho các bác sĩ lâm sàng khi tư vấn NIPT cho TP IVF, với quy trình kỹ thuật được chuẩn hóa nghiêm ngặt từ khâu lấy mẫu đến phân tích tin sinh học. Tuy nhiên, hạn chế của nghiên cứu là thiết kế hồi cứu đơn trung tâm, chưa có nhóm chứng thai kỳ tự nhiên để so sánh trực tiếp, và kích thước mẫu các nhóm BMI cao cùng tuổi mẹ lớn còn nhỏ, có thể làm giảm ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu dựa trên các hồ sơ đã có kết quả NIPT hợp lệ, do đó không thống kê được các trường hợp xét nghiệm thất bại (no-call) do nồng độ

cffDNA dưới ngưỡng phân tích. Ngoài ra, nghiên cứu chưa đánh giá mối liên quan giữa nồng độ cffDNA với các yếu tố liên quan đến quy trình IVF như phác đồ chuẩn bị niêm mạc tử cung hay việc sử dụng các thuốc nội tiết tố.

Trong tương lai, cần thực hiện các nghiên cứu tiến cứu đa trung tâm với cỡ mẫu lớn hơn, so sánh trực tiếp giữa thai kỳ IVF và thai kỳ tự nhiên, đồng thời phân tích thêm các yếu tố liên quan đến quy trình IVF để làm rõ cơ chế ảnh hưởng đến nồng độ cffDNA. Việc theo dõi kết quả thai kỳ dài hạn cũng giúp đánh giá giá trị dự báo của NIPT trong thai kỳ IVF, từ đó tối ưu hóa quy trình tư vấn và sàng lọc trước sinh không xâm lấn cho nhóm TP này tại Việt Nam.

KẾT LUẬN

Nồng độ cffDNA tăng khi tuổi thai tăng với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tuổi mẹ và BMI của mẹ không liên quan có ý nghĩa thống kê với sự thay đổi nồng độ cffDNA.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Deng C and Liu S. Factors affecting the fetal fraction in noninvasive prenatal screening: A review. *Front Pediatr*. 2022; 10:812781.

2. Hou Y, Yang J, Qi Y, et al. Factors affecting cell-free DNA fetal fraction: statistical analysis of 13,661 maternal plasmas for non-invasive prenatal screening. *Hum Genomics*. 2019; 13(1):62.

3. Hoàng Thu Lan, Nguyễn Thị Lương, Hoàng Thị Ngọc Lan và CS. Nghiên cứu một số yếu tố của mẹ và thai ảnh hưởng đến nồng độ DNA tự do của thai trong máu mẹ. *Tạp chí nghiên cứu y học*. 2024; 182(9):70-77.

4. Kallianidis K, Dimitroulia E, Mavrogianni D, et al. Comparison of the fetal fraction of cell-free DNA in in-vitro fertilization (IVF) versus natural conception: evaluation of the fetal fraction with IVF parameters. *Cureus*. 2022; 14(4):e24516.

5. Vũ Thị Thúy Chi, Trịnh Thị Quế, Nguyễn Bá Sơn và CS. Phân tích giá trị của nồng độ cffDNA trong xét nghiệm NIPT sàng lọc trước sinh hội chứng Down. *Tạp chí Y học Cộng đồng*. 2023; 64(2).

6. Hestand MS, Bessem M, van Rijn P, et al. Fetal fraction evaluation in non-invasive prenatal screening (NIPS). *Eur J Hum Genet*. 2019; 27(2):198-202.

7. Alberry M, Maddocks D, Jones M, et al. Free fetal DNA in maternal plasma in anembryonic pregnancies: Confirmation that the origin is the trophoblast. *Prenat Diagn*. 2007; 27(5):415-418.