

# NGHIÊN CỨU MỐI LIÊN QUAN GIỮA ĐA HÌNH C677T CỦA GENE MTHFR VỚI SẴY THAI LIÊN TIẾP Ở PHỤ NỮ VIỆT NAM

Lê Thanh Nhã Uyên, Hà Thị Minh Thi, Nguyễn Viết Nhân

Bộ môn Di truyền Y học, Trường Đại học Y Dược, Đại học Huế

## Tóm tắt

**Đặt vấn đề:** Sẩy thai liên tiếp là một vấn đề sức khỏe quan trọng trong sản khoa. Trong những năm gần đây, ngày càng có nhiều nghiên cứu cho thấy vai trò của yếu tố di truyền trong cơ chế bệnh sinh của sẩy thai liên tiếp. Một số nghiên cứu đã công bố đa hình C677T của gene MTHFR là một yếu tố nguy cơ của sẩy thai liên tiếp. Tuy nhiên, kết quả công bố này vẫn còn nhiều tranh cãi. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài này nhằm khảo sát mối liên quan giữa đa hình C677T của gene MTHFR với sẩy thai liên tiếp. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu được thực hiện trên 100 phụ nữ không có tiền sử sẩy thai và 52 phụ nữ có tiền sử sẩy thai liên tiếp. Các kiểu đa hình tại vị trí C677T được xác định bằng kỹ thuật PCR-RFLP. **Kết quả:** Tỷ lệ đa hình 677CC, 677CT, và 677TT ở nhóm phụ nữ có tiền sử sẩy thai liên tiếp lần lượt là 65,4%, 30,8%, 3,8%; trong khi tỷ lệ các đa hình này ở nhóm chứng là 86%, 12%, và 2% ( $\chi^2 = 8,83$ ;  $p = 0,012$ ). Kiểu gene 677CT làm tăng nguy cơ bị sẩy thai liên tiếp gấp 3,37 lần so với kiểu gene 677CC (95%CI: 1,44 – 7,87;  $p = 0,0049$ ). Kiểu gene (677CT + 677TT) làm tăng nguy cơ bị sẩy thai liên tiếp gấp 3,25 lần so với kiểu gene 677CC (95%CI: 1,46 – 7,26;  $p = 0,004$ ), và allele T làm tăng nguy cơ cao gấp 2,74 lần so với allele C (95%CI: 1,55 – 5,55,  $p = 0,005$ ).

**Từ khóa:** gene MTHFR, sẩy thai liên tiếp, C677T

## Abstract

## ASSOCIATION OF C677T POLYMORPHISMS OF MTHFR GENE WITH RECURRENT PREGNANCY LOSS IN VIETNAMESE WOMAN

Le Thanh Nha Uyen, Ha Thi Minh Thi, Nguyen Viet Nhan

Department of Medical Genetics, Hue University of Medicine and Pharmacy

**Background:** Recurrent pregnancy loss is a major concern in gynecology. Recently, many papers have showed the role of genetic factors in etiology of recurrent pregnancy loss. Several published studies revealed that C677T polymorphism is a high risk of recurrent pregnancy loss. However, this finding is still controversial. Therefore, this study is aimed at investigating the association of C677T polymorphisms of MTHFR gene with recurrent pregnancy loss in Vietnamese woman. **Methods:** Study subjects comprised 100 healthy women (control group) and 52 women with recurrent pregnancy loss. C677T polymorphisms were identified by PCR-technique. **Results:** The frequency of 677CC, 677CT, and 677TT genotypes in Vietnamese women with recurrent pregnancy loss is 65.4%, 30.8%, 3.8%, respectively; while the distribution of those genotypes in the control-group is 86%, 12%, and 2% ( $\chi^2 = 8.83$ ;  $p = 0.012$ ). Statistical analysis revealed that MTHFR C677T polymorphisms are associated with recurrent pregnancy loss (for CT vs. CC: OR= 3.37, 95%CI: 1.44 – 7.87,  $p = 0.0049$ ; for (677CT + 677TT) vs. CC: OR= 3.25, 95%CI: 1.46 – 7.26,  $p = 0.004$ ; for T vs. C: OR= 2.74, 95%CI: 1.55 – 5.55,  $p = 0.005$ ).

**Key words:** Recurrent pregnancy loss, C677T polymorphisms, MTHFR gene

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sẩy thai liên tiếp là một vấn đề sức khỏe quan trọng trong sản khoa, không những gây ảnh hưởng đến sức khỏe thai sản về phương diện y khoa, mà còn ảnh hưởng đến tâm lý, hạnh phúc gia đình. Sẩy thai liên tiếp xảy ra ở khoảng 1-5% số cặp vợ chồng [18]. Nhiều nghiên cứu về sẩy thai liên tiếp đã và đang được thực hiện trên toàn thế giới nhằm xác định nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh liên quan đến bệnh. Các nguyên nhân đã được xác định của sẩy thai liên tiếp bao gồm bất thường nhiễm sắc thể,

bất thường cấu trúc giải phẫu, rối loạn nội tiết tố, rối loạn đông máu, hoặc nhiễm khuẩn, và yếu tố môi trường ... [2, 6, 10]. Đáng chú ý là những năm gần đây, nhiều nghiên cứu đã cho thấy các yếu tố di truyền liên quan đến gene và các đa hình trên gene đóng một vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của sẩy thai liên tiếp [6, 19].

Gene MTHFR khu trú ở trên nhánh ngắn của nhiễm sắc thể 1, tại vị trí 1p36.3, kích thước 20.346 base, gồm 11 exon [13, 23]. Đa hình C677T khu trú trên gene MTHFR - gene mã hoá cho enzyme

methylenetetrahydrofolate reductase. Sự thay thế nucleotide C bởi T làm thay đổi một amino acid ở vị trí 226 trên gene tương ứng từ alanin thành valine. Sự thay đổi này làm ảnh hưởng đến hoạt tính của enzyme methylenetetrahydrofolate reductase, là enzyme có vai trò quan trọng trong chuyển hoá homocystein. Nghiên cứu cho thấy hoạt tính của enzyme methylenetetrahydrofolate reductase bị giảm khoảng 35% ở những người có kiểu gene 677CT và lên đến 70% ở những người có kiểu gene 677TT, dẫn đến hậu quả làm tăng homocystein trong máu, gây tăng đông máu [11]. Nhiều nghiên cứu đã công bố đa hình C677T của gene MTHFR có liên quan với tình trạng tăng homocystein máu và là một yếu tố nguy cơ của sẩy thai liên tiếp. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu này vẫn còn nhiều tranh cãi.

Tại Việt Nam, tác giả Hà Thị Minh Thi và cộng sự đã tiến hành một số nghiên cứu về tỷ lệ đa hình C677T trên nhóm người bình thường tại tỉnh Thừa Thiên Huế [3], và cho thấy có mối liên quan giữa đa hình C677T với tình trạng bất thường tinh dịch đồ ở nam giới [20] và bệnh lý tiền sản giật - sản giật [4]. Ngoài ra, chưa có công trình nào nghiên cứu về vai trò của đa hình C677T trong sẩy thai liên tiếp. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài này với những mục tiêu sau:

1. Xác định tỷ lệ đa hình C677T của gene MTHFR ở phụ nữ có sẩy thai liên tiếp.

2. Khảo sát mối liên quan giữa các kiểu đa hình C677T với sẩy thai liên tiếp.

## 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

#### 2.1.1. Tiêu chuẩn chọn bệnh

- **Nhóm chứng:** các phụ nữ có tiền sử thai sản bình thường.

- **Nhóm bệnh:** các phụ nữ có tiền sử sẩy thai liên tiếp đến khám và tư vấn di truyền tại Bộ môn Di truyền Y học và Trung tâm sàng lọc, chẩn đoán trước sinh và sơ sinh, trường Đại học Y Dược Huế.

**Tiêu chuẩn chẩn đoán:** theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị các bệnh sản phụ khoa năm 2015 của Bộ Y tế Việt Nam [1].

**Bảng 2.1.** Xác định kiểu gene dựa vào kích thước sản phẩm cắt

| Kiểu đa hình | Số băng | Kích thước sản phẩm cắt (bp) |
|--------------|---------|------------------------------|
| 677CC        | 1       | 83; 382                      |
| 677CT        | 4       | 83; 165; 217; 382            |
| 677TT        | 3       | 83; 165; 217                 |

#### 2.2.4. Xử lý số liệu và phân tích thống kê

- Phân tích sự phân bố các kiểu gene liên quan trong nhóm bình thường theo cân bằng Hardy-Weinberg.  
- Phân tích sự phân bố các kiểu gene liên quan trong nhóm phụ nữ có tiền sử sẩy thai liên tiếp. Đánh giá mối liên quan của các đa hình nghiên cứu với sẩy thai liên tiếp bằng cách xác định tỷ suất chênh (OR) và 95%CI.

- Sẩy thai: thai bị tổng xuất ra khỏi buồng tử cung trước 22 tuần hoặc cân nặng của thai nhi dưới 500g.

- Sẩy thai liên tiếp: có từ hai lần sẩy thai liên tục trở lên.

#### 2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ:

- Phụ nữ đình thai chủ động, thai ngoài tử cung, chữa trứng, khuyết tật giải phẫu.

#### 2.1.3. Cỡ mẫu:

Cỡ mẫu nghiên cứu gồm:

- Nhóm chứng (phụ nữ có tiền sử thai sản bình thường): 100 người

- Nhóm bệnh (phụ nữ có tiền sử sẩy thai liên tiếp): 52 người

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang có đối chứng

#### 2.2.2. Tách chiết DNA

DNA được tách chiết từ 2 ml mẫu máu tĩnh mạch (chống đông EDTA) bằng bộ hoá chất Wizard Genomic DNA purification (Ref: A1120, Promega). Quy trình tách chiết được thực hiện theo protocol hướng dẫn của hãng sản xuất. Mẫu DNA đạt yêu cầu khi có độ tinh sạch cao (tỷ A260/280 đạt 1,8 -2,0). Tiến hành pha loãng DNA đến nồng độ 50 ng/ µl bằng nước cất.

**2.2.3. Thực hiện kỹ thuật PCR-RFLP** để xác định đa hình C677T. Kỹ thuật này được thực hiện gồm hai bước:

**Bước 1:** Thực hiện phản ứng PCR sử dụng cặp mồi dưới đây để khuếch đại đoạn gene MTHFR chứa vị trí đa hình C677T:

Mồi xuôi: 5' TCATGAGCCCAGCCACTCAC 3'

Mồi ngược: 5' CAGCGAACTCAGCACTCCAC 3'

**Bước 2:** Thực hiện phản ứng cắt sản phẩm PCR được tạo thành ở bước 1, sử dụng enzyme cắt hạn chế *Hinfl* (Fast Digest, Fermentas) để xác định kiểu đa hình tại vị trí C677T.

Thành phần tham gia phản ứng và điều kiện luân nhiệt trong mỗi phản ứng ở bước 1 và bước 2 được thực hiện như quy trình đã công bố trước đây [3].

Sản phẩm sau cắt sẽ được tiến hành điện di trên gel agarose 2% có bổ sung RedView (RedSafe) và đọc kết quả dưới đèn cực tím.

### 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 3.1. Tỷ lệ các kiểu đa hình C677T của gene MTHFR ở hai nhóm phụ nữ nghiên cứu

**Bảng 3.1.** Tỷ lệ các kiểu đa hình C677T của gene MTHFR trong hai nhóm phụ nữ nghiên cứu

| Kiểu gene   | Nhóm chứng |            | Nhóm phụ nữ có tiền sử sẩy thai liên tiếp |            |                                |
|-------------|------------|------------|-------------------------------------------|------------|--------------------------------|
|             | n          | Tỷ lệ %    | n                                         | Tỷ lệ %    |                                |
| 677CC       | 86         | 86         | 34                                        | 65,4       | $\chi^2 = 8,827$<br>$p = 0,01$ |
| 677CT       | 12         | 12         | 16                                        | 30,8       |                                |
| 677TT       | 2          | 2          | 2                                         | 3,8        |                                |
| <b>Tổng</b> | <b>100</b> | <b>100</b> | <b>52</b>                                 | <b>100</b> |                                |

Nhận xét: Sự khác biệt về tỷ lệ phân bố các kiểu đa hình C677T ở hai nhóm nghiên cứu có ý nghĩa thống kê.

**Bảng 3.2.** Tỷ lệ các allele 677C và 677T trong hai nhóm phụ nữ nghiên cứu

| Kiểu allele | Nhóm chứng |            | Nhóm phụ nữ có tiền sử sẩy thai liên tiếp |            |
|-------------|------------|------------|-------------------------------------------|------------|
|             | n          | Tỷ lệ %    | n                                         | Tỷ lệ %    |
| 677C        | 184        | 92         | 84                                        | 80,8       |
| 677T        | 16         | 8          | 20                                        | 19,2       |
| <b>Tổng</b> | <b>200</b> | <b>100</b> | <b>104</b>                                | <b>100</b> |

Nhận xét: Tỷ lệ allele 677C chiếm tỷ lệ cao trong cả hai nhóm nghiên cứu (92% ở nhóm chứng và 84% ở nhóm phụ nữ có tiền sử sẩy thai liên tiếp).

**Bảng 3.3.** Phân tích cân bằng Hardy Weiberg ở nhóm phụ nữ không có tiền sử sẩy thai

| Kiểu gene   | Tần suất quan sát | Tần suất kỳ vọng theo cân bằng Hardy Weiberg | p          |
|-------------|-------------------|----------------------------------------------|------------|
| 677CC       | 86                | 83,72                                        | $p = 0,60$ |
| 677CT       | 12                | 15,56                                        |            |
| 677TT       | 2                 | 0,72                                         |            |
| <b>Tổng</b> | <b>100</b>        | <b>100</b>                                   |            |

Nhận xét: Sự phân bố các kiểu gene C677T ở nhóm phụ nữ không có tiền sử sẩy thai phù hợp với cân bằng Hardy-Weiberg.

#### 3.2. Mối liên quan giữa đa hình C677T của gene MTHFR với sẩy thai liên tiếp

**Bảng 3.4.** Phân tích mối liên quan giữa các kiểu đa hình C677T của gene MTHFR với sẩy thai liên tiếp theo tỷ suất chênh OR

| Các mô hình phân tích        | OR          | 95%CI        | p            |
|------------------------------|-------------|--------------|--------------|
| 677CT so với 677CC           | <b>3,37</b> | 1,44 – 7,87  | <b>0,005</b> |
| 677TT so với (677CC + 677CT) | 1,96        | 0,27 – 14,33 | 0,51         |
| (677CT + 677TT) so với 677CC | <b>3,25</b> | 1,46 – 7,26  | <b>0,004</b> |
| Allele 677T so với 677C      | <b>2,74</b> | 1,55 – 5,55  | <b>0,005</b> |

Nhận xét: Kiểu đa hình 677CT và (677CT + 677TT) làm tăng nguy cơ sẩy thai liên tiếp hơn 3 lần so với kiểu gene 677CC. Allele 677T làm tăng nguy cơ sẩy thai liên tiếp 2,74 lần so với allele 677C.

### 4. BÀN LUẬN

#### 4.1. Tỷ lệ các đa hình C677T của gene MTHFR ở nhóm chứng và nhóm phụ nữ có tiền sử sẩy thai liên tiếp

Nghiên cứu của chúng tôi thực hiện trên 100 phụ nữ không có tiền sử sẩy thai (nhóm chứng) cho thấy tỷ lệ phân bố các kiểu gene 677CC, 677CT và

677TT lần lượt là 86%; 12% và 2%. Tỷ lệ các kiểu gene C677T trong nghiên cứu của chúng tôi khác biệt có ý nghĩa thống kê so với kết quả nghiên cứu công bố năm 2010 của tác giả Hà Thị Minh Thi và cộng sự (86% so với 71,67%,  $p = 0,027$  đối với kiểu gene 677CC; 12% so với 25%,  $p = 0,03$  đối với kiểu gene 677CT; 2% so với 3,33%,  $p < 0,05$  đối với kiểu

gene 677TT [3]. Điều này gợi ý có sự phân bố khác nhau về các kiểu gene C677T giữa hai giới nam và nữ. Tuy nhiên, do cỡ mẫu nghiên cứu còn nhỏ, nên cần thực hiện nghiên cứu với quy mô lớn hơn để khẳng định điều này.

Trong khi nghiên cứu của chúng tôi cho thấy kiểu gene 677CC chiếm tỷ lệ cao, hơn 80%, thì nhiều nghiên cứu khác trên thế giới công bố tỷ lệ kiểu gene này thấp hơn nhiều. Kết quả nghiên cứu của Unfried (2002) ở các phụ nữ da trắng vùng Trung Âu cho thấy: sự phân bố của các kiểu gene 677CC, 677CT và 677TT lần lượt là 62,2%; 32,4% và 5,4%. Tỷ lệ alen 677T của gene MTHFR là 21,6% [21]. Kết quả nghiên cứu của Bagheri (2010) thực hiện ở Iran và Thổ Nhĩ Kỳ cho thấy sự phân bố của các kiểu gene 677CC, 677CT và 677TT ở các phụ nữ bình thường lần lượt là 54,6%; 38% và 7,41%, trong đó tỷ lệ alen 677T là 26% [7]. Trong khi đó, nghiên cứu của Walid Al-Acharchar được thực hiện ở Syria công bố các con số tỷ lệ lần lượt là 62,2%; 36,7% và 1% [5].

Nghiên cứu của chúng tôi thực hiện trên 52 phụ nữ có tiền sử sảy thai liên tiếp cho thấy tỷ lệ phân bố các kiểu gene 677CC, 677CT và 677TT lần lượt 65,4%, 30,8%, và 3,8%. Tuy tỷ lệ phân bố có sự khác nhau giữa hai nhóm nghiên cứu của chúng tôi ( $p < 0,05$ ) (bảng 3.5), nhưng kiểu gene 677CC vẫn chiếm đa số.

Trong khi đó, nghiên cứu của Wang và cộng sự (2006) thực hiện trên 147 phụ nữ Trung Quốc có sảy thai liên tiếp đã công bố tỷ lệ kiểu gene chiếm đa số là 677CT (52,3%), các kiểu gene 677CC và 677TT lần lượt là 32,9% và 13,4% [22]. Một nghiên cứu khác của tác giả Makino và cộng sự tiến hành trên 125 phụ nữ Nhật Bản có tiền sử sảy thai liên tiếp cũng công bố tỷ lệ tương tự [16].

Trong khi đó, nghiên cứu của Goovindaiah thực hiện ở Ấn Độ cho kết quả tương tự với kết quả nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ kiểu gene 677CC chiếm 79,3%, trong khi kiểu gene 677Cv và 677TT lần lượt là 17,9% và 2,9% [12].

#### 4.2. Mối liên quan giữa đa hình C677T của gene MTHFR với sảy thai liên tiếp

Đa hình C677T của gene MTHFR được xem là một yếu tố nguy cơ của sảy thai liên tiếp. Trong nghiên cứu này, chúng tôi phân tích mối liên quan giữa các kiểu đa hình C677T với sảy thai liên tiếp bằng phép phân tích tỷ suất chênh OR.

Chúng tôi tiến hành phân tích theo các mô hình khác nhau: mô hình dị hợp tử (CT với CC), mô hình lặn (CC + CT với TT), mô hình trội (CT + TT với CC), và so sánh giữa allele 677C với 677T. Kết quả cho thấy có mối liên quan giữa đa hình C677T với sảy thai liên tiếp. Cụ thể, đa hình 677CT làm tăng nguy cơ của sảy thai liên tiếp là 3,37 lần, tương tự allele 677T làm

tăng nguy cơ 2,74 lần (bảng 3.4). Đồng thời phân tích tỷ suất chênh theo mô hình trội (CT + TT) so với CC cũng cho thấy nguy cơ sảy thai liên tiếp cao gấp 3,25 lần.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả của nhiều nghiên cứu đã công bố như nghiên cứu tổng kết của Chen và cộng sự (2015) phân tích số liệu từ 15 nghiên cứu đã công bố trước đó về mối liên quan của đa hình C677T với sảy thai liên tiếp ở Trung Quốc. Thực hiện phân tích tỷ suất chênh theo các mô hình dị hợp tử, đồng hợp tử, mô hình trội, mô hình lặn, và allele C so với T cho thấy đa hình C677T là yếu tố nguy cơ của sảy thai liên tiếp [9].

Một số nghiên cứu tổng kết khác như nghiên cứu của tác giả Wu và cộng sự phân tích số liệu từ 27 nghiên cứu khác nhau, cũng cho kết quả tương tự. Tuy nhiên, chỉ tìm thấy mối liên quan giữa kiểu gene 677TT và allele 677T với sảy thai liên tiếp ở quần thể phụ nữ Châu Á, mà không tìm thấy mối liên quan ở các phụ nữ da trắng [23].

Nghiên cứu của Cao và cộng sự phân tích dữ liệu lớn hơn từ 46 nghiên cứu công bố trước đó, gồm 3559 phụ nữ sảy thai liên tiếp và 5097 phụ nữ bình thường cũng cho thấy có mối liên quan giữa đa hình C677T với sảy thai liên tiếp ở nhóm quần thể phụ nữ Đông Á, mà không tìm thấy mối liên quan ở các phụ nữ da trắng [8].

Một nghiên cứu tổng hợp phân tích gần đây nhất của tác giả Vanandana Rai (2016) dựa trên số liệu của 29 nghiên cứu khác nhau thực hiện tại nhiều nước châu Á như Israel, Trung Quốc, Nhật Bản, Ấn Độ, Palestine, Iran, Ai Cập, Thổ Nhĩ Kỳ... cũng một lần nữa khẳng định có mối liên giữa đa hình C677T với sảy thai liên tiếp [18]. Tuy nhiên, cũng có nhiều nghiên cứu công bố không tìm thấy mối liên quan giữa đa hình C677T với sảy thai liên tiếp như nghiên cứu của tác giả Kobayashi và cộng sự thực hiện ở Nhật Bản [15], nghiên cứu của tác giả Nadir và cộng sự tiến hành ở Israel [17].

Gần đây nhất, trong công bố của tác giả K. R. Hwang năm 2017 thực hiện ở Hàn Quốc, nghiên cứu trên 302 phụ nữ bình thường và 315 phụ nữ sảy thai liên tiếp, cũng không tìm thấy mối liên quan giữa đa hình C677T với sảy thai liên tiếp [14]. Điều này càng chứng minh sự phân bố đa hình C677T là khác nhau giữa các chủng tộc, quốc gia và vùng địa lý khác nhau. Tuy vậy, các nghiên cứu này chỉ mới thực hiện trên một nhóm đối tượng với cỡ mẫu nhỏ. Do đó cần có những nghiên cứu với quy mô lớn hơn để có thể kết luận chắc chắn mối liên quan giữa đa hình C677T với sảy thai liên tiếp ở các quốc gia này.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi đã cung cấp những số liệu đầu tiên về vai trò của đa hình C677T

trong sẩy thai liên tiếp ở phụ nữ Việt Nam nói riêng, cũng như góp phần xây dựng cơ sở dữ liệu quan trọng trong nghiên cứu vai trò của đa hình này với bệnh lý nói chung.

Đồng thời, kết quả nghiên cứu của chúng tôi đã cung cấp thêm một bằng chứng góp phần khẳng định mối liên quan giữa đa hình C677T với sẩy thai liên tiếp ở quần thể phụ nữ Châu Á.

## 5. KẾT LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu này, chúng tôi rút ra những kết luận sau:

- Tỷ lệ các kiểu gene 677CC, 677CT, và 677TT trong nhóm phụ nữ có tiền sử sẩy thai liên tiếp lần lượt là 65.4%, 30.8%, và 3.8%.
- Có mối liên quan giữa đa hình C677T với phụ nữ có tiền sử sẩy thai liên tiếp.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế, "Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị các bệnh sản phụ khoa", (2015): tr12
2. Cung Thị Thu Thủy, Lê Thị Anh Đào, Trần Thị Thu Hạnh, "Nghiên cứu một số nguyên nhân và yếu tố liên quan đến sẩy thai liên tiếp tại bệnh viện Phụ sản Trung ương", *Tạp chí Y học Thực hành* (2012), 4: 91-94
3. Hà Thị Minh Thi, Nguyễn Thị Nguyệt Minh, Lê Thanh Nhã Uyên, Nguyễn Viết Nhân, "Nghiên cứu xác định đa hình C677T trên gene MTHFR bằng kỹ thuật PCR-RFLP", *Tạp chí Y Dược học* (2011), 2: tr28-35
4. Lê Mai Hoàng Thông, "Nghiên cứu xác định đa hình C677T của gene Methylene tetrahydrofolate reductase và đa hình M235T của gene Angiotensinogen ở các sản phụ bình thường và sản phụ tiền sản giật - sản giật" (2013), Trường Đại học Y Dược Huế.
5. Al-Achkar, W., A. Wafa, S. Ammar, F. Moassass, and R.A. Jarjour, "Association of Methylene tetrahydrofolate Reductase C677T and A1298C Gene Polymorphisms With Recurrent Pregnancy Loss in Syrian Women", *Reproductive Sciences* (2017), 24(9): 1275-1279
6. Allison, J.L. and D.J. Schust, "Recurrent first trimester pregnancy loss: revised definitions and novel causes", *Current Opinion in Endocrinology, Diabetes and Obesity* (2009), 16(6): 446-450
7. Bagheri, M. and A. Isa, "Frequency of the Methylene tetrahydrofolate REDUCTASE 677CT and 1298AC mutations in an Iranian Turkish female population", *Maedica* (2010), 5(3): 171
8. Cao, Y., J. Xu, Z. Zhang, X. Huang, A. Zhang, J. Wang, Q. Zheng, L. Fu, and J. Du, "Association study between methylene tetrahydrofolate reductase polymorphisms and unexplained recurrent pregnancy loss: a meta-analysis", *Gene* (2013), 514(2): 105-111
9. Chen, H., X. Yang and M. Lu, "Methylene tetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss in China: a systematic review and meta-analysis", *Archives of gynecology and obstetrics* (2016), 293(2): 283-290
10. Ford, H.B. and D.J. Schust, "Recurrent pregnancy loss: etiology, diagnosis, and therapy", *Reviews in obstetrics and gynecology* (2009), 2(2): 76
11. Frosst, P., H.J. Blom, R. Milos, P. Goyette, C.A. Sheppard, R.G. Matthews, G.J.H. Boers, M. Den Heijer, L.A.J. Kluijtmans, and L.P. Van Den Heuvel, "A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase", *Nature genetics* (1995), 10(1): 111
12. Govindaiah, V., S.M. Naushad, K. Prabhakara, P.C. Krishna, and A.R.R. Devi, "Association of parental hyperhomocysteinemia and C677T Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) polymorphism with recurrent pregnancy loss", *Clinical biochemistry* (2009), 42(4-5): 380-386
13. Goyette, P., A. Pai, R. Milos, P. Frosst, P. Tran, Z. Chen, M. Chan, and R. Rozen, "Gene structure of human and mouse methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR)", *Mammalian Genome* (1998), 9(8): 652-656
14. Hwang, K.R., Y.M. Choi, J.J. Kim, S.K. Lee, K.M. Yang, E.C. Paik, H.J. Jeong, J.K. Jun, S.H. Yoon, and M.A. Hong, "Methylene tetrahydrofolate Reductase Polymorphisms and Risk of Recurrent Pregnancy Loss: a Case-Control Study", *Journal of Korean medical science* (2017), 32(12): 2029-2034
15. Kobashi, G., E.H. Kato, M. Morikawa, S. Shimada, K. Ohta, S. Fujimoto, H. Minakami, and H. Yamada, "MTHFR C677T Polymorphism and factor V Leiden mutation are not associated with recurrent spontaneous abortion of unexplained etiology in Japanese women. in *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 2005. Copyright© 2005 by Thieme Medical Publishers, Inc., 333 Seventh Avenue, New York, NY 10001, USA.
16. Makino, A., T. Nakanishi, M. Sugiura-Ogasawara, Y. Ozaki, N. Suzumori, and K. Suzumori, "No association of C677T methylenetetrahydrofolate reductase and an endothelial nitric oxide synthase polymorphism with recurrent pregnancy loss", *American journal of reproductive immunology* (2004), 52(1): 60-66
17. Nadir, Y., R. Hoffman, and B. Brenner, "Association of homocysteine, vitamin B12, folic acid, and MTHFR C677T in patients with a thrombotic event or recurrent fetal loss", *Annals of hematology* (2007), 86(1): 35-40
18. Rai, V., "Methylene tetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and recurrent pregnancy loss risk in Asian population: a meta-analysis", *Indian Journal of Clinical Biochemistry* (2016), 31(4): 402-413

19. Rull, K., L. Nagirnaja, and M. Laan, "Genetics of recurrent miscarriage: challenges, current knowledge, future directions", *Frontiers in genetics* (2012), 3: 34
20. Thi, H.T.M. and N.T.N. Minh, "Study on identifying the C677T polymorphism of MTHFR gene by PCR-RFLP technique in patients with abnormal semen analysis", *Journal of Medicine and Pharmacy* (2012), 2(1): 142-150
21. Unfried, G., A. Griesmacher, W. Weismüller, F. Nagele, J.C. Huber, and C.B. Tempfer, "The C677T polymorphism of the methylenetetrahydrofolate reductase gene and idiopathic recurrent miscarriage", *Obstetrics & Gynecology* (2002), 99(4): 614-619
22. Wang, X., Z. Ma, and Q. Lin, "Inherited thrombophilia in recurrent spontaneous abortion among Chinese women", *International Journal of Gynecology & Obstetrics* (2006), 92(3): 264-265
23. Wu, X., L. Zhao, H. Zhu, D. He, W. Tang, and Y. Luo, "Association between the MTHFR C677T polymorphism and recurrent pregnancy loss: a meta-analysis", *Genetic testing and molecular biomarkers* (2012), 16(7): 806-811.