بررسی ارتباط چند شکلی G103T ژن فاکتور XIII با سقط مکرر جنین در بیماران ایرانی

فاطمه اسکندری[1*]، محمد تقی اکبری[2]، شهره زارع کاریزی[3]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد زیست شناسی- ژنتیک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران.
۲. استادیار گروه ژنتیک پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.
۳. استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد پیشوا، ورامین، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۶/۳ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۲/۸/۲۸

خلاصه

مقدمه: سقط خود به خودی مکرر جنین، یکی از معضلاتی است که تقریباً ۵٪ زوجین با آن رو به رو هستند. با توجه به این موضوع و با توجه به ارتباط سقط ها با ترومبوفیلیاها، مطالعه حاضر با هدف بررسی چند شکلی G103T فاکتور XIII به عنوان یک عامل مؤثر در روند انعقاد و ارتباط آن با سقط مکرر جنین انجام شد.

روش‌کار: این مطالعه مورد- شاهدی طی سال های ۹۱-۱۳۸۹ انجام شد. ۱۰۵ زن که حداقل ۲ یا بیشتر از ۲ سقط قبل از هفته بیستم بارداری داشتند، به عنوان گروه مورد و ۹۸ زن که حداقل ۲ تولد موفق بدون هیچ سابقه ای از سقط داشتند، به عنوان گروه شاهد وارد مطالعه شدند. استخراج DNA از لوکوسیت ها و با روش نمک اشباع، انجام شد. واریانت G103T با استفاده از روش PCR-RFLP بررسی شد. پس از تکثیر، ناحیه ژنومی مربوطه با استفاده از آنزیم محدود کننده Dde1، تیمار گردید. داده ها پس از گردآوری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۸) و آزمون کای دو مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: از مجموع ۱۰۵ بیمار مورد مطالعه، ۸۴ نفر (۸۰٪) واجد ژنوتیپ های 103GT/103TT بودند در حالی که این میزان در گروه شاهد، ۳۱ نفر (۳۲٪) بود که این اختلاف از نظر آماری معنی دار بود ($p<۰/۰۰۱$). دو گروه مورد و شاهد از نظر فرکانس اللی برای واریانت G103T نیز تفاوت معناداری داشتند ($p<۰/۰۰۱$).

نتیجه‌گیری: چند شکلی G103T از طریق اختلال در سیستم انعقادی می تواند باعث سقط جنین در افراد شود.

کلمات کلیدی: ترومبوفیلیا، سقط مکرر جنین، فاکتور انعقادی XIII

* **نویسنده مسئول مکاتبات:** فاطمه اسکندری؛ دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران. **تلفن:** ۰۹۱۲۶۱۶۰۱۶۷؛ **پست الکترونیک:** Fatima.eskandari@gmail.com

مقدمه

سقط مکرر جنین، به از دست دادن دو یا تعداد بیشتری جنین قبل از هفته بیستم بارداری اطلاق می شود. امروزه سقط مکرر جنین به عنوان یک بیماری چند عاملی شناخته می شود که دلایل شناخته شده ای مانند مشکلات آناتومیکی، مشکلات هورمونی، عوامل عفونی، مشکلات ایمونولوژیکی و عوامل محیطی دارد. از بین زوجینی که از سقط مکرر جنین رنج می برند، علت سقط تقریباً در ۵۰٪ موارد ناشناخته است (۱). شناسایی علل سقط، کمک زیادی به درمان و جلوگیری از سقط مجدد در این افراد می کند. به عنوان مثال در صورتی که علت سقط، عوامل ترومبوفیلیایی باشد، استفاده از اسیدفولیک، آسپرین و سایر داروهای ضد انعقاد می تواند در این افراد راه گشا باشد (۱۹). شواهد بسیاری وجود دارد که نشان می دهد ترومبوز در عروق باریک جفت می تواند دلیل بسیاری از سقط ها با علت نامشخص باشد. علت ترومبوز را نیز باید در عوامل ترومبوفیلیایی جستجو کرد. به طور کلی علل ترومبوفیلیاها را می توان به دو گروه اصلی تقسیم بندی کرد: ۱- منشأ در سیستم انعقادی، اختلالات فاکتورهای انعقادی، اختلالات ژنتیک یا فاکتورهای ایمونولوژیک ثانویه می باشد. ۲- عللی که منشأ آنها در عروق است و در ایجاد انعقاد و افزایش لخته پذیری مؤثر است (۲).

یک بارداری موفق، نیازمند تعادل بین سیستم انعقادی و فیبرینولیز مادر است؛ زیرا از رسوب فیبرین در عروق جفت و پرزهای جنین جلوگیری می کند (۱، ۳). یکی از عوامل مهم سیستم انعقادی، فاکتور XIII (فاکتور پایدار کننده فیبرین) می باشد. این عامل، یک ترانس گلوتامیناز است که نقش محوری در فرآیند انعقاد دارد. فاکتور XIII پس از فعال شدن، باعث کاتالیز تشکیل باندهای کوالانسی میان گاما-گلوتامیل و دلتا-لیزین در مونومرهای فیبرین می شود، همچنین در تشکیل پیوند با سایر پروتئین ها مانند فیبرونکتین، آلفا-آنتی پلاسمین و کلاژن نقش دارد. تمام این تأثیرات، باعث افزایش مقاومت فیبرین به تجزیه توسط پلاسمین شده و باعث تبدیل شبکه تور مانند فیبرین به لخته خون می شود. رخداد یک موتاسیون معمول؛ تغییر گوانین به تیمین در نوکلئوتید ۱۰۳؛ در اگزون ۲ ژن زیر واحد A فاکتور XIII، باعث تبدیل والین به لوسین و در نهایت شبکه لخته مقاوم به فیبرینولیز می شود (۶). بنابراین با توجه به نقش این فاکتور در مسیر انعقاد، انتظار می رود این فاکتور با سقط مکرر جنین مرتبط باشد که برخی مطالعات نیز این ارتباط را تأیید کرده اند (۴، ۵). مطالعه حاضر با هدف مقایسه ارتباط چند شکلی G103T ژن فاکتور XIII با سقط مکرر جنین با استفاده از PCR-RFLP در دو گروه مورد و شاهد انجام شد.

روش کار

این مطالعه مورد- شاهدی بر روی ۱۰۵ زن مبتلا به سقط مکرر جنین انجام شد. افراد با میانگین سنی ۵/۰۳±۲۷/۷ سال که حداقل ۲ یا بیشتر از ۲ سقط قبل از هفته بیستم بارداری داشته و فاقد مشکلات آناتومیکی رحم، مشکلات سیتوژنتیکی، مشکلات هورمونی و مشکلات ایمونولوژیک بودند، به عنوان گروه مورد انتخاب شدند. این زنان طی سال های ۹۱-۱۳۸۹ به آزمایشگاه ژنتیک پزشکی تهران مراجعه کرده بودند. همچنین ۹۸ زن که حداقل ۲ تولد موفق بدون هیچ سابقه ای از سقط داشتند، به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. میانگین سن این افراد ۴/۶۶±۳۰ سال بود. پس از دادن آگاهی و کسب رضایت نامه، ۵ میلی لیتر خون محیطی از افراد مورد مطالعه در لوله های حاوی EDTA گرفته شد. حجم نمونه بر اساس فراوانی آللی و سایر مطالعات انجام شده در این زمینه، ۲۰۳ نفر محاسبه شد (۱۶-۱۸).

بررسی ژنتیک:

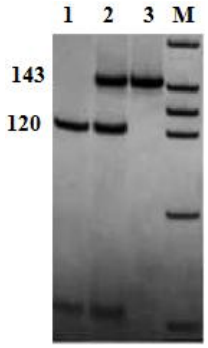
DNA ژنومیک با استفاده از روش استاندارد نمک اشباع (۷) از لکوسیت های خون محیطی، استخراج شد و واکنش زنجیره ای پلی مراز با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن ها انجام شد (جدول ۱).

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده و طول محصولات PCR جهت بررسی چند شکلی XIIIG103T

نام پرایمر	توالی پرایمر	اندازه محصول (bp)
XIIIG103T-F	5′-GACCTTGTAAAGTCAAAAATGTC-3′	143
XIIIG103T-R	5′- AGGTTGACTCTCCGGGGCAC-3	

واکنش زنجیره ای پلی مراز در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۵۰ نانوگرم DNA ژنومیک، ۲/۵ میکرولیتر 10X PCR Buffer (بافر 10X PCR)، ۰/۲۵ میلی مولار از هر dNTPs(دزوکسی نوکلئوتید تری فسفات)، ۱/۵ میلی مولار MgCl2 (کلرید منیزیم)، ۷-۵ پیکومول از هر پرایمر و ۰/۵ واحد آنزیم Taq DNApolymerase (سیناژن، ایران) انجام گرفت. تکثیر در ۳۲ سیکل، در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه، ۶۳ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱ دقیقه انجام شد. دناتوراسیون اولیه به مدت ۵ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی گراد و طویل سازی نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد انجام گرفت.

جهت شناسایی پلی مورفیسم XIII(G103T)، محصول PCR با استفاده از آنزیم محدودالاثر Dde1 (New England Biolabs,) مورد هضم آنزیمی قرار گرفت. محصول PCR جهت بررسی این چند شکلی، طولی معادل ۱۴۳ جفت باز داشت. برش آنزیمی با Dde1، در افراد واجد ژنوتیپ TT، ایجاد دو قطعه ۱۲۰ و ۲۳ جفت بازی نمود؛ در حالی که آنزیم بر الل G مؤثر نبود و تنها یک باند ۱۴۳ جفت بازی ایجاد شد. محصولات PCR پس از هضم آنزیمی، بر روی ژل پلی آکریل آمید ۱۲٪ برده شد (شکل۱) و پس از تفکیک قطعات و رنگ آمیزی با نیترات نقره، نتایج حاصل مورد بررسی قرار گرفت. داده ها پس از گردآوری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS (نسخه ۱۸) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. توزیع ژنوتیپ های هر موتاسیون، فرکانس هوموزیگوت و هتروزیگوت در دو گروه مورد و شاهد با استفاده از آزمون کای دو پیرسون مورد سنجش قرار گرفت. میزان نسبت شانس و فاصله اطمینان برای هر دو گروه محاسبه و میزان p کمتر از ۰/۰۵ معنی دار در نظر گرفته شد.



شکل ۱- M: مارکر VIII(Roshe)۱- هوموزیگوت TT ۲- هتروزیگوت GT ۳- هوموزیگوت GG

یافته ها

با توجه به نتایج مشاهده شده در الکتروفورز محصول RFLP (قطعات طولی مختلف ایجاد شده به وسیله آنزیم محدودالاثر)، ژنوتیپ هر فرد برای پلی مورفیسم مذکور انتخاب شد. فراوانی ژنوتیپی مشاهده شده در نمونه های مورد مطالعه، از تعادل هاردی- واینبرگ تبعیت می کرد و این مقادیر در مورد و شاهد به ترتیب: ژنوتیپ GG در گروه مورد ۲۱ نفر (۲۰٪) بود، در حالی که این میزان در گروه شاهد ۶۷ نفر (۶۸٪) گزارش شد، ژنوتیپ GT نیز در گروه مورد ۸۴ نفر (۸۰٪) و در گروه شاهد تنها ۲۸ نفر (۲۹٪) بود و در نهایت ژنوتیپ TT در گروه مورد مشاهده نشد اما در گروه شاهد، ۳ نفر (۳٪) واجد این ژنوتیپ بودند (جدول ۲).

بر اساس نتایج به دست آمده، افراد حامل الل موتاسیون یافته در گروه مورد بیشتر بود و این تفاوت از نظر آماری معنی دار بود (p<۰/۰۰۱). نسبت شانس آن نیز (۴/۵-۱/۶، CI=۳/۶، ٪۹۵ OR) محاسبه شد.

جدول۲- فراوانی اللی و ژنوتیپی و بررسی سطح معنی داری برای چند شکلی G103T در گروه مورد و شاهد

متغیر			الل ها		ژنوتیپ ها		
			G	T	GG	GT	TT
بررسی فراوانی	کل افراد مطالعه شده	تعداد	۲۸۸	۱۱۸	۸۸	۱۱۲	۳
		درصد	٪۷۱	٪۲۹	٪۴۴	٪۵۵	٪۱
	گروه شاهد	تعداد	۱۶۲	۳۴	۶۷	۲۸	۳
		درصد	٪۸۳	٪۱۷	٪۶۸	٪۲۹	٪۳
	گروه بیمار	تعداد	۱۲۶	۸۴	۲۱	۸۴	۰
		درصد	٪۶۰	٪۴۰	٪۲۰	٪۸۰	٪۰
OR(95%CI)			۳/۱۷(۵/۰۵-۲/۰۰۴)		۸/۶۲(۱/۶۳-۴/۵۶)		
سطح معنی داری			$۵/۰۷\times۱۰^{-۷}$		$۳/۶۸\times۱۰^{-۱۲}$		

p دست آمده با استفاده از آزمون کای دو نشان داد که تفاوت ژنوتیپ های (GT+TT) در دو گروه مورد و شاهد از نظر آماری معنادار است و حضور این ژنوتیپ ها در فرد می تواند بروز سقط مکرر را به میزان نسبت شانس (odds ratios) افزایش دهد.

بحث

مطالعات نشان داده اند فاکتور انعقادی XIII، نقش اساسی در برقراری اتصالات متقاطع فیبرین در مرحله آخر انعقاد خون دارد. رخداد پلی مورفیسم در این فاکتور، بر روی فعالیت ترانس گلوتامیناز فاکتور XIII تأثیر می گذارد و حضور ژنوتیپ TT، با افزایش فعالیت این آنزیم و در نهایت با افزایش مقاومت شبکه تور مانند لخته به فیبرینولیزها، همراه است (۸، ۹). بنابراین با توجه به نقش کلیدی این فاکتور در مسیر انعقاد، مطالعات متعددی در مناطق مختلف در زمینه ارتباط فاکتور XIII با سقط مکرر جنین انجام شده است ولی از آنجایی که نتایج واحدی از این مطالعات حاصل نشده است، لذا مطالعه این فاکتور و ارتباط آن با سقط مکرر جنین، همچنان یکی از موضوعات مورد علاقه پژوهشگران می باشد. در مطالعه حاضر افراد حامل الل موتاسیون یافته (GT,TT) در گروه مورد، بیشتر از شاهد بودند و این تفاوت از نظر آماری معنی دار بود. در مطالعه گودمن و همکاران (۲۰۰۶) در آمریکا، ارتباط این فاکتور و سقط مکرر جنین نشان داده شد (۱۲). علاوه بر این، مطالعه کالم و همکاران (۲۰۰۶) در آمریکا نشان داد حضور ژنوتیپ TT در افرادی که از سقط مکرر جنین رنج می برند، به طور معناداری بیشتر از گروه شاهد است (۱۳). این نتایج دو سال بعد، با تعداد نمونه بیشتر، توسط همین گروه تأیید شد (۱۴). همچنین در مطالعه ینیسسو و همکاران (۲۰۱۰) که در ترکیه انجام شد، ژنوتیپ هتروزیگوت FXIII G103T در زنان مبتلا به سقط مکرر جنین به طور مشخصی بیشتر از گروه شاهد بود (۱۵). در مقابل برخی مطالعات نیز ارتباط بین این فاکتور و سقط مکرر جنین را رد کرده اند که از آن جمله می توان به مطالعه دوسنباخ گلانینجر و همکاران (۲۰۰۳) در استرالیا، باربوزا و همکاران (۲۰۰۴) در برزیل و مطالعه رامیرز و همکاران (۲۰۰۶) اشاره کرد (۹-۱۱). هیچ یک از مطالعات انجام شده در ایران نیز ارتباط بین این فاکتور و سقط مکرر جنین را نشان نداده اند. به عنوان مثال در مطالعه ترابی و همکاران (۲۰۱۲) که بر روی ۱۰۰ نفر در گروه شاهد و ۱۰۰ نفر در گروه مورد انجام شد، در گروه مورد، ۲۹ نفر و در گروه شاهد، ۱۷ نفر واجد ژنوتیپ های GT/TT بودند که این تفاوت از نظر آماری معنی دار نبود (۸). همچنین در مطالعه اعرابی و همکاران (۲۰۱۱) از بین ۶۳ بیمار، تنها ۲ نفر واجد ژنوتیپ TT و در گروه شاهد از بین ۱۱۴ نفر، تنها یک نفر واجد ژنوتیپ مذکور بود (۱۸). در مطالعه تهرانی

و همکاران (۲۰۱۰) نیز ارتباط معنی داری میان چند شکلی مذکور (FXIII G103T) با سندرم سقط مکرر مشاهده نشد (۱۷). در حالی که در مطالعه حاضر، افراد حامل الل موتاسیون یافته در گروه مورد، بیشتر از گروه شاهد بودند و میزان نسبت شانس به دست آمده (۴/۵۶-۱/۶۳)۸/۶۲ برای چند شکلی مذکور، نشان از خطر زیاد این چند شکلی در افزایش ابتلاء به سقط مکرر جنین داشت. تفاوت در نتایج مطالعات در ایران و سایر مناطق می تواند چند دلیل عمده داشته باشد که در ذیل بدان اشاره شده است:

نقش FXIII(G103T) در سقط مکرر جنین؛ احتمالاً به دلیل مقاومت شبکه تور مانند لخته به تجزیه در مقابل پلاسمین؛ به رژیم غذایی و شاخص توده بدنی وابسته است و فنوتیپ نهایی، حاصل بر هم کنش این عوامل می باشد. در واقع اثر SNP (چند شکلی تک نوکلئوتیدی) مذکور بر فعالیت ترانس گلوتامینازی فاکتور XIII، به وضعیت سایر عوامل دخیل در روند انعقاد و عوامل محیطی مانند رژیم غذایی و ورزش وابسته است. جهش، احتمالاً در افرادی که رژیم غذایی غنی از فیبر و فاقد چربی، ورزش های روزانه، عدم استفاده از دخانیات و سایر عوامل ناشناخته دیگر دارند، تحمل می شود، در حالی که در سایر افراد که موارد بالا در نظر گرفته نمی شود، وقوع این جهش می تواند منجر به بروز فنوتیپ های بالینی یا بیوشیمیایی شود. بدین ترتیب تنوع در عوامل محیطی می تواند اختلاف در نتایج ارتباط میان پلی مورفیسم FXIII(G103T) با سقط مکرر جنین در جوامع مختلف را توجیه کند.

از طرف دیگر پراکنش SNP ها در جوامع مختلف متفاوت است. عامل مؤثر دیگر در توجیه نتایج متناقض در جوامع مختلف و حتی نتایج حاصل از مطالعات مختلف در یک جمعیت، اندازه، ترکیب، پراکنش جغرافیایی و قومیت جمعیت مورد مطالعه می باشد.

در نهایت، اثرات فنوتیپی چند شکلی های ژنی، متأثر از سایر عوامل ژنتیکی یا زمینه ژنتیکی فرد و عوامل محیطی است که اثرات فنوتیپی متأثر از محیط و ژن بهترین مثال از میانکنش بخش ژن- محیط در ایجاد یک فنوتیپ است. از این رو این احتمال وجود دارد که چند شکلی‌ها، تنها در ارتباط با یک پیش زمینه ژنتیکی خاص و یا همراه با عوامل محیطی می‌توانند منجر به بروز اختلال شوند (۶).

همانطور که پیشتر نیز گفته شد، سقط مکرر جنین یک بیماری چند عاملی است و عوامل محیطی در برآیند اثر بیماری، تأثیرگذار هستند، لذا پیشنهاد می شود در مطالعات تکمیلی، عوامل محیطی (شاخص توده بدنی، عدم مصرف دخانیات، قومیت) در پرسشنامه افراد مورد و شاهد لحاظ، و همبستگی آن با سایر متغیرها محاسبه شود که در این صورت، میزان تأثیر هر فاکتور بر ایجاد سقط مکرر روشن خواهد شد.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج به دست آمده می توان گفت پلی مورفیسم XIII(G103T) در نمونه های مورد بررسی، ارتباط معنی داری با سقط مکرر جنین دارد.

تشکر و قدردانی

این پروژه با حمایت مالی آزمایشگاه ژنتیک پزشکی تهران با شماره گرانت ۹۰۰۰۱ انجام شد. بدینوسیله از زحمات فراوان سرکار خانم بهمنی، سرکار خانم صراحی، سرکار خانم فرحزادی و کارشناسان محترم آزمایشگاه جهت همکاری صمیمانه در اجرای این طرح، تشکر و قدردانی می شود.

منابع

1. Buchholz T, Lohse P, Rogenhofer N, Kosian E, Pihusch R, Thaler CJ. Polymorphisms in the ACE and PAI-1 genes are associated with recurrent spontaneous miscarriages. Hum Reprod 2003 Nov;18(11):2473-7.
2. Walker ID. Thrombophilia in pregnancy. J ClinPathol 2000 Aug;53(8):573-80. Review.
3. Buchholz T, Thaler CJ. Inherited thrombophilia: impact on human reproduction. Am J Reprod Immunol 2003 Jul;50(1):20-32.

4. Pickering W, Marriott K, Regan L. G20210A prothrombin gene mutation: prevalence in a recurrent miscarriage population. Clin Appl Thromb Hemost 2001 Jan;7(1):25-8.
5. Mtiraoui N, Borgi L, Hizem S, Nsiri B, Finan RR, Gris JC, et al. Prevalence of antiphospholipid antibodies, factor V G1691A (Leiden) and prothrombin G20210A mutations in early and late recurrent pregnancy loss. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2005 Apr;119(2):164-70.
6. De Lugo M, Rodriguez-Larralde A, Guerrero B, de Guerra D. Ethnic/geographic variation of the Val34 leu polymorphism of coagulation factor XIII and its distribution in american admixed populations. Int J Biol Anthropol 2008;2(1):1-12.
7. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. Nucleic Acids Res 1988 Feb;16(3):1215-20.
8. Torabi R, Zarei S, Zeraati H, Zarnani AH, Akhondi MM, Hadavi R, et al. Combination of thrombophilic gene polymorphisms as a cause of increased the risk of recurrent pregnancy loss. J Reprod Infertil 2012 Apr;13(2):89-94.
9. Dossenbach-Glaninger A, van Trotsenburg M, Dossenbach M, Oberkanins C, Moritz A, Krugluger W, et al. Plasminogen activator inhibitor 14G⁄5G polymorphism and coagulation factor XIII Val34Leu polymorphism: impaired fibrinolysis and early pregnancy loss. Clin Chem 2003 Jul;49(7):1081-6.
10. Barbosa HC, Carvalho EC, Barini R, Siqueira LH, Costa DS, Annichino-Bizzacchi JM. Tyr204Phe and Val34Leu polymorphisms in two Brazilian ethnic groups and in patients with recurrent miscarriages. Fertil Steril 2004 Nov;82(5):1455-7.
11. Lopez Ramirez Y, Vivenes M, Miller A, Pulido A, Lopez Mora J, Arocha-Pinango CL, et al. Prevalence of the coagulation factor XIII polymorphism Val34Leu in women with recurrent miscarriage. Clin Chim Acta 2006 Dec;374(1-2):69-74.
12. Goodman CS, Coulam CB, Jeyendran RS, Acosta VA, Roussev R. Which thrombophilic gene mutations are risk factors for recurrent pregnancy loss? Am J Reprod Immunol 2006 Oct;56(4):230-6.
13. Coulam CB, Jeyendran RS, Fishel LA, Roussev R. Multiple thrombophilic gene mutations rather thanspecific gene mutations are risk factors for recurrent miscarriage. Am J Reprod Immunol 2006 May;55(5):360-8.
14. Coulam CB, Wallis D, Weinstein J, DasGupta DS, Jeyendran RS. Comparison of thrombophilic gene mutations among patients experiencing recurrent miscarriage and deep vein thrombosis. Am J Reprod Immunol 2008 Nov;60(5):426-31.
15. Yenicesu GI, Cetin M, Ozdemir O, Cetin A, Ozen F, Yenicesu C, et al. A prospective case-control study analyzes 12 thrombophilic gene mutations in Turkish couples with recurrent pregnancy loss. Am J Reprod Immunol 2010 Feb;63(2):126-36.
16. Behjati R, Modarressi MH, Jeddi-Tehrani M, Dokoohaki P, Ghasemi J, Zarnani AH, et al. Thrombophilic mutations in Iranian patients with infertility\and recurrent spontaneous abortion. Ann Hematol 2006 Apr;85(4):268-71.
17. Jeddi-Tehrani M, Torabi R, Mohammadzadeh A, Arefi S, Keramatipour M, Zeraati H, et al. investigation assosiation of three polymorphisms of coagulation factor XIII and recurrent pregnancy loss. Am J Reprod Immunol 2010 Sep;64(3):212-7.
18. Aarabi M, Memariani T, Arefi S, Aarabi M, Hantooshzade S, Akhondi MA, et al. Polymorphisms of plasminogen activator inhibitor-1, angiotensin converting enzyme and coagulation factor XIII genes in patients with recurrent spontaneous abortion. J Matern Fetal Neonatal Med 2011 Mar;24(3):545-8.
19. de la Calle M, Usandizaga R, Sancha M, Magdaleno F, Herranz A, Cabrillo E. Homocysteine, folic acid and B-group vitamins in obstetrics and gynaecology. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol 2003 Apr;107(2):125-34. Review.