

МОНГОЛ УЛСЫН БОЛОВСРОЛ, СОЁЛ, ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ЯАМ
АНАГААХЫН ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ҮНДЭСНИЙ ИХ СУРГУУЛЬ

Гар бичмэлийн эрхтэй ©

МӨНХЗУЛЫН ЧОЙЖАМЦ

**ТРОМБОФИЛИЙГ НӨХЦӨЛДҮҮЛЭГЧ ЗАРИМ ГЕНИЙН МУТАЦУУДЫГ
ЗУЛБАЛТТАЙ ГЭСЭН ӨГҮҮЛЭМЖТЭЙ ЭМЭГТЭЙЧҮҮДЭД
ИЛРҮҮЛСЭН ДҮН**

E09120109Молекул биологи

Анагаах Ухааны магистрын зэрэг (MSc) горилсон нэг сэдэвт бүтээл

Улаанбаатар хот

2016 он

МОНГОЛ УЛСЫН БОЛОВСРОЛ, СОЁЛ, ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ЯАМ
АНАГААХЫН ШИНЖЛЭХ УХААНЫ ҮНДЭСНИЙ ИХ СУРГУУЛЬ

МӨНХЗУЛЫН ЧОЙЖАМЦ

**ТРОМБОФИЛИЙГ НӨХЦӨЛДҮҮЛЭГЧ ЗАРИМ ГЕНИЙН МУТАЦУУДЫГ
ЗУЛБАЛТТАЙ ГЭСЭН ӨГҮҮЛЭМЖТЭЙ ЭМЭГТЭЙЧҮҮДЭД
ИЛРҮҮЛСЭН ДҮН**

Эрдэм шинжилгээний ажлын удирдагч:

Анагаах ухааны доктор, профессор Ж.Сарантуяа

Эрдэм шинжилгээний ажлын зөвлөх:

Анагаах ухааны доктор Ц.Одгэрэл

Эрдэм шинжилгээний ажлын шүүмжлэгч:

Анагаах ухааны доктор Д.Булган

Улаанбаатар хот

2016 он

ТОВЧ АГУУЛГА

Тромбофилийг нөхцөлдүүлэгч зарим генийн мутацуудыг зулбалттай гэсэн өгүүлэмжтэй эмэгтэйчүүдэд илрүүлсэн дүн

Үндэслэл. Нөхөн үржихүйн насны нийт эмэгтэйчүүдийн дунд тохиолдох давтан зулбалтын 40% нь тромбофилийн шалтгаантай байдаг ба судалгаанд хамруулах шалгуур нь өөр байдагтай холбоотойгоор тромбофилийг үүсгэгч мутацуудын давтамж нь харилцан адилгүй илэрдэг. Манай оронд 2013 онд хийгдсэн судалгаагаар жирэмсэн, төрөх, төрсний дараах үеийн хүндрэлийн нийт 61131 тохиолдол бүртгэгдсэн, үүнээс амьгүй төрөлтийн 539 тохиолдол бүртгэгдсэн нь өмнөх оныхтой нь харьцуулахад 5,9%-иар нэмэгдсэн байна. Ургийн өсөлт зогсох, ураг эх дотроо эндэх, давтан зулбахад цус бүлэгнэлтийн талаас гарах өөрчлөлт болон бүлэгнэлтийн факторуудын үйл ажиллагааны алдагдлын талаарх судалгаа хомс байгаа нь энэхүү судалгааны ажлыг хийх үндэслэл болж байна.

Зорилго. Зуршсан зулбалт болон ураг эх дотроо эндсэн асуумжтай төрөх насны эмэгтэйчүүдийн дунд цус бүлэгнэлтийн факторуудын мутацууд болох Лейден V 1691 Ц>А (rs6025), протромбины 20210 Г>А (rs1799963), метилентетрагидрофолат 677 Г>Т (rs1801133) болон 1298 А>Ц (rs1801131) тодорхойлох.

Судалгааны хэрэглэгдэхүүн ба арга зүй. Энэхүү судалгааг нэгэн агшингийн дескриптив судалгааны загвараар 2015.12 сараас 2016.03 сарын хооронд хийв. Судалгаанд Лейден V 1691 Ц<А (rs6025), протромбины 20210Г<А (rs1799963), Метилентетрагидрофолат 677Г<Т (rs1801133) болон 1298 А<Ц (rs1801131) мутацуудыг “The Genoflow Thrombophilia Array Test” цомгоор V фактор, II фактор, MTHFR генүүдийн мутацуудын өвөрмөц праймеруудыг ашиглан үйлдвэрлэгчийн заасан ажлын дарааллын дагуу үйл ажиллагааг хийж гүйцэтгэв.

Үр дүн. Судалгаанд 19-47 насны 49 эмэгтэйчүүд хамрагдсан бөгөөд дундаж нас 33 ± 6 жил байв. Судалгаанд хамрагдагсдын 10,3% (n=5) нь 1 хүртэлх зулбалттай, 22,4% нь (n=11) 2 болон түүнээс дээш зулбалттай байсан ба эмэгтэйчүүдийн 58,6% (n=31) нь ургийн өсөлт зогссон ба 8,7% (n=2) үүнээс ургийн өсөлт зогссон болон зулбалттай гэсэн давхар асуумжтай байсан.

Судалгаанд хамрагсдын 40,6%-д нь гетерозигот MTHFR677Ц<Т, гетерозигот MTHFR 1298А<Ц мутац 42,18%-д илэрсэн бол гомозигот MTHFR 677Ц<Т мутац 6,25%, гомозигот MTHFR 1298А<Ц мутац 4,60%-д нь илэрсэн. Гетерозигот Лейден V факторын 1691Ц<А мутац нь маш цөөн буюу 6,25%-ийн тохиолдолд илэрсэн.

Цусны бүлэгнэлтийн шинжилгээний үзүүлэлтийг цус бүлэгнэлтийн факторуудын тухайлсан хэлбэрүүдэд өөрчлөгдсөн эсэхийг авч үзэхэд протромбины хугацаа нь гомозигот MTHFR 677 Ц>Т, гомозигот MTHFR 1298 А>Ц бүлэг хооронд ялгаатай өөрчлөлт ажиглагдсан.

Дүгнэлт

1. Давтан зулбалттай болон ураг эх дотроо эндсэн төрөх насны эмэгтэйчүүдийн дунд тромбофилийд хүргэдэг цус бүлэгнэлтийн факторуудын мутац цөөнгүй тохиолдож байна. Лейден V факторын мутацуудын аллелийн давтамж 4.08%-тай генотипийн давтамжаар ГГ 95.9%, ГА 4.12% тодорхойлогдов. MTHFR генийн 677 Ц>Т, 1298 А>Т мутацуудын аллелийн давтамж 51%, 49%-тай генотипийн давтамж нь MTHFR 677Ц>Т ЦЦ 49,5%, ЦТ 41.6%, ТТ 8.76%, харин MTHFR 1298 А>Ц АА 55.5%, АЦ 38%, ЦЦ 6.51%-тай илэрсэн.
2. Төрөлхийн шалтгаант тромбофилийг үүсгэгч мутацууд илэрсэн нийт тохиолдлуудад цусны дэлгэрэнгүй шинжилгээ, болон биохимийн шинжилгээгээр өөрчлөлт илрээгүй. Гомозигот MTHFR 677 Ц>Т болон гомозигот 1298А>Ц мутацуудын үед протромбины хугацаа нь уртассан буюу($p=0.042$) статистик ач холбогдол бүхий ялгаа илэрсэн нь эдгээр мутацуудын үед цус бүлэгнэлт тодорхой хэмжээгээр идэвхжиж болохыг илтгэж байна.

Abstract

Detection of Factor V, Prothrombin, MTHFR gene mutations inreproductive aged women with recurrent abortion

Background: Thrombophilia is a clinical conditions characterized by an increased tendency to form abnormal blood clots that can block blood vessels. A number of reports have been shown that mutations of some coagulation factors as like Factor V G1691A, prothrombin G20210A, and MTHFR C677T and A1298C cause recurrent miscarriages and intrauterine growth restriction and neonatal death.

Methods and materials: In this study were enrolled 49 Mongolian women who had prior complications during the pregnancy, recurrent miscarriages and intrauterine growth restriction. The Factor V G1691A, prothrombin G20210A, and MTHFR C677T and A1298C mutations were determined by molecular genetic methods using DiagCor GenoFlow Thrombophilia Array Test kit.

Result: Heterozygous MTHFR C677T and A1298C mutations were detected in 73% of the patients, and among these patients, 26% of them carried double heterozygous mutations. In contrast, the heterozygous Factor V G1691A and homozygous MTHFR C677T, MTHFR A1298C mutations were detected only in a smaller number of patients, 6.25% and 13% respectively.

Conclusion: Our result suggests that FVL, MTHFR C677T, MTHFR A1298C mutations might be associated with recurrent pregnancy loss.

Keyword: Thrombophilia, Factor V Leiden mutation (1691C>A), prothrombin mutation (20210G>A), methylenetetrahydrofolate reductase 677G>T, 1298A>C mutation, flow through hybridization system.

ГАРЧИГ

ТОВЧ АГУУЛГА

ГАРЧИГ	3
ТОВЧИЛСОН ҮГИЙН ЖАГСААЛТ	5
ХҮСНЭГТИЙН ЖАГСААЛТ	7
ЗУРГИЙН ЖАГСААЛТ	8
УДИРТГАЛ	9
Судалгааны ажлын үндэслэл.....	9
Судалгааны зорилго, зорилт.....	10
Судалгааны ажлын шинэлэг тал	10
Судалгааны ажлын практик ач холбогдол	10
Судалгааны үр дүнг хэлэлцүүлсэн байдал	11
Судалгааны ажлыг хэвлүүлсэн байдал.....	11
Эрдэм шинжилгээний илтгэл.....	11
Эрдэм шинжилгээний өгүүлэл.....	11
НЭГДҮГЭЭР БҮЛЭГ. ХЭВЛЭЛИЙН ТОЙМ.....	12
1.0 Жирэмсэн ба цус бүлэгнэлт	13
1.1 Төрөлхийн тромбофили.....	13
1.2 Идэвхжсэн C уураг тэсвэртэй болох	13
1.3 Лейден V-р факторын мутац	16
1.4 Протромбины 20210Г>А мутац	18
1.5 Метилентетрагидрофолат редуктаз 677Ц>Т, 1298А>С мутац.....	19
1.6 Антифосфолипид хам шинж.....	21
ХОЁРДУГААР БҮЛЭГ. СУДАЛГААНЫ ХЭРЭГЛЭГДЭХҮҮН БА АРГА ЗҮЙ	22
2.1 Судалгааны загвар	22
2.2 Судалгааны түүвэр ба сорьц цуглуулалт	22
2.3 Судалгааны ажлын арга зүй	23
2.3.1 Сорьц цуглуулах аргачлал	23
2.3.2 Цуснаас ДНХ-ийг ялгах аргачлал.....	25
2.3.3 ДНХ-ийг полимеразын гинжин урвалаар олшруулах	26

2.3.4Нэвчүүлэх гибриджүүлгийн тусламжтайгаар мутацуудыг илрүүлж, үр дүнг тодорхойлох	27
2.4Үр дүнгийн статистик боловсруулалт	31
ГУРАВДУГААР БҮЛЭГ. СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ҮР ДҮН.....	32
3.1Судалгаанд оролцогчдын талаарх, ерөнхий мэдээлэл.....	32
3.2Лейден V 1691Ц>A(rs6025), протромбины 20210Г>A (rs1799963) болон метилентетрагидрофолат 677Г>Т (rs1801133), 1298А>Ц (rs1801131)мутацуудыг тодорхойлсон дүн	34
3.3Лейден V 1691Ц>A (rs6025), протромбины 20210Г>A (rs1799963) болон метилентетрагидрофолат 677Г>Т (rs1801133), 1298А>Ц (rs1801131)мутацууд илэрсэн бүлгийг цусны дэлгэрэнгүй, цусны бүлэгнэлт, биохимийн шинжилгээний зарим үзүүлэлтүүдтэй харьцуулсан дүн.....	37
ДӨРӨВДҮГЭЭР БҮЛЭГ. ХЭЛЦЭМЖ.....	41
СУДАЛГААНЫ АЖЛЫН ДҮГНЭЛТ	47
НОМ ЗҮЙ	
ТАЛАРХАЛ	
ХАВСРАЛТ	

НОМЗҮЙ

1. Adelberg AM, Kuller JA. Thrombophilias and recurrent miscarriage. *Obstetrical & gynecological survey*. 2002;57(10):703-709.
2. Akimoto T, Akama T, Saitoh M, Kono I, Sumida T. Antiprothrombin autoantibodies in severe preeclampsia and abortion. *The American journal of medicine*. 2001;110(3):188-191.
3. Akkawat B, Rojnuckarin P. Protein S deficiency is common in a healthy Thai population. *Journal of the Medical Association of Thailand = Chotmai het thangphaet*. 2005;88 Suppl 4:S249-254.
4. Aksoy M, Tek I, Karabulut H, Berker B, Soylemez F. The role of thrombophilia related to Factor V Leiden and Factor II G20210A mutations in recurrent abortions. *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association*. 2005;55(3):104-108.
5. Nybo Andersen AM, Wohlfahrt J, Christens P, Olsen J, Melbye M. Maternal age and fetal loss: population based register linkage study. *BMJ (Clinical research ed.)*. 2000;320(7251):1708-1712.
6. Wu O, Robertson L, Langhorne P, et al. Oral contraceptives, hormone replacement therapy, thrombophilias and risk of venous thromboembolism: a systematic review. The Thrombosis: Risk and Economic Assessment of Thrombophilia Screening (TREATS) Study. *Thrombosis and haemostasis*. 2005;94(1):17-25.
7. Arkel YS, Ku DH. Thrombophilia and pregnancy: review of the literature and some original data. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2001;7(4):259-268.
8. Bick RL. Prothrombin G20210A mutation, antithrombin, heparin cofactor II, protein C, and protein S defects. *Hematology/oncology clinics of North America*. 2003;17(1):9-36.
9. Bates SM, Greer IA, Hirsh J, Ginsberg JS. Use of antithrombotic agents during pregnancy: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest*. 2004;126(3 Suppl):627s-644s.
10. Bremme KA. Haemostatic changes in pregnancy. *Best practice & research. Clinical haematology*. 2003;16(2):153-168.
11. Coulam CB, Jeyendran RS, Fishel LA, Roussev R. Multiple thrombophilic gene mutations rather than specific gene mutations are risk factors for recurrent miscarriage. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*. 2006;55(5):360-368.
12. Doyle NM, Monga M. Thromboembolic disease in pregnancy. *Obstetrics and Gynecology Clinics*. 31(2):319-344.
13. Robetorye RS, Rodgers GM. Update on selected inherited venous thrombotic disorders. *American journal of hematology*. 2001;68(4):256-268.
14. Rosendorff A, Dorfman DM. Activated protein C resistance and factor V Leiden: a review. *Archives of pathology & laboratory medicine*. 2007;131(6):866-871.
15. Sehirali S, Inal MM, Yildirim Y, et al. Prothrombin G20210A mutation in cases with recurrent miscarriage: a study of the mediterranean population. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2005;273(3):170-173.
16. Kovalevsky G, Gracia CR, Berlin JA, Sammel MD, Barnhart KT. Evaluation of the association between hereditary thrombophilias and recurrent pregnancy loss: a meta-analysis. *Archives of internal medicine*. 2004;164(5):558-563.

17. De Stefano V, Chiusolo P, Paciaroni K, Leone G. Epidemiology of factor V Leiden: clinical implications. *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 1998;24(4):367-379.
18. Bauduer F, Zivelin A, Ducout L, Shpringer E, Seligsohn U. The prevalence of factor V G1691A but not of prothrombin G20210A and methylenetetrahydrofolate reductase C677T is remarkably low in French Basques. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. 2004;2(2):361-362.
19. Beretta AL, Bianchi M, Norchi S, Martinelli I. Pregnancy-associated deep vein thrombosis in a double homozygous carrier of factor V Leiden and prothrombin G20210A. *Thrombosis and haemostasis*. 2005;94(6):1329-1330.
20. Ayadurai T, Muniandy S, Omar SZ. Thrombophilia investigation in Malaysian women with recurrent pregnancy loss. *The journal of obstetrics and gynaecology research*. 2009;35(6):1061-1068.
21. Aytekin E, Ergun SG, Ergun MA, Percin FE. Evaluation of GenoFlow Thrombophilia Array Test Kit in its detection of mutations in Factor V Leiden (G1691A), prothrombin G20210A, MTHFR C677T and A1298C in blood samples from 113 Turkish female patients. *Genetic testing and molecular biomarkers*. 2014;18(11):717-721.
22. Bernardi F, Faioni EM, Castoldi E, et al. A factor V genetic component differing from factor V R506Q contributes to the activated protein C resistance phenotype. *Blood*. 1997;90(4):1552-1557.
23. Bertina RM, Koeleman BP, Koster T, et al. Mutation in blood coagulation factor V associated with resistance to activated protein C. *Nature*. 1994;369(6475):64-67.
24. Laffan MA, Manning R. The influence of factor VIII on measurement of activated protein C resistance. *Blood coagulation & fibrinolysis : an international journal in haemostasis and thrombosis*. 1996;7(8):761-765.
25. Cumming AM, Tait RC, Fildes S, Yoong A, Keeney S, Hay CR. Development of resistance to activated protein C during pregnancy. *British journal of haematology*. 1995;90(3):725-727.
26. Curvers J, Thomassen MC, Rimmer J, et al. Effects of hereditary and acquired risk factors of venous thrombosis on a thrombin generation-based APC resistance test. *Thrombosis and haemostasis*. 2002;88(1):5-11.
27. Lindqvist PG, Svensson P, Dahlback B. Activated protein C resistance -- in the absence of factor V Leiden -- and pregnancy. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2006;4(2):361-366.
28. Rey E, Kahn SR, David M, Shrier I. Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis. *Lancet (London, England)*. 2003;361(9361):901-908.
29. Bick RL. Antiphospholipid thrombosis syndromes. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2001;7(4):241-258.
30. Dahlback B, Carlsson M, Svensson PJ. Familial thrombophilia due to a previously unrecognized mechanism characterized by poor anticoagulant response to activated protein C: prediction of a cofactor to activated protein C. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1993;90(3):1004-1008.
31. Bick RL, Hoppensteadt D. Recurrent miscarriage syndrome and infertility due to blood coagulation protein/platelet defects: a review and update. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2005;11(1):1-13.

32. Bizzaro N, Antico A, Musso M, et al. A prospective study of 1038 pregnancies on the predictive value of anti-annexin V antibodies for fetal loss. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2005;1050:348-356.
33. Zammiti W, Mtiraoui N, Hidar S, Fekih M, Almawi WY, Mahjoub T. Antibodies to beta2-glycoprotein I and annexin V in women with early and late idiopathic recurrent spontaneous abortions. *Archives of gynecology and obstetrics*. 2006;274(5):261-265.
34. Blumenfeld Z, Brenner B. Thrombophilia-associated pregnancy wastage. *Fertility and sterility*. 1999;72(5):765-774.
35. Bontempo FA, Hassett AC, Faruki H, Steed DL, Webster MW, Makaroun MS. The factor V Leiden mutation: spectrum of thrombotic events and laboratory evaluation. *Journal of vascular surgery*. 1997;25(2):271-275; discussion 276.
36. Brenner B, Mandel H, Lanir N, et al. Activated protein C resistance can be associated with recurrent fetal loss. *British journal of haematology*. 1997;97(3):551-554.
37. Ridker PM, Miletich JP, Buring JE, et al. Factor V Leiden mutation as a risk factor for recurrent pregnancy loss. *Annals of internal medicine*. 1998;128(12 Pt 1):1000-1003.
38. Tal J, Schliamser LM, Leibovitz Z, Ohel G, Attias D. A possible role for activated protein C resistance in patients with first and second trimester pregnancy failure. *Human reproduction (Oxford, England)*. 1999;14(6):1624-1627.
39. Bose P, Black S, Kadyrov M, et al. Adverse effects of lupus anticoagulant positive blood sera on placental viability can be prevented by heparin in vitro. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2004;191(6):2125-2131.
40. Rees DC. The Population Genetics of Factor V Leiden (Arg506Gln). *British journal of haematology*. 1996;95(4):579-586.
41. Krabbendam I, Franx A, Bots ML, Fijnheer R, Bruinse HW. Thrombophilias and recurrent pregnancy loss: a critical appraisal of the literature. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2005;118(2):143-153.
42. Carlin AJ, Farquharson RG, Quenby SM, Topping J, Fraser WD. Prospective observational study of bone mineral density during pregnancy: low molecular weight heparin versus control. *Human reproduction (Oxford, England)*. 2004;19(5):1211-1214.
43. Poort SR, Rosendaal FR, Reitsma PH, Bertina RM. A common genetic variation in the 3'-untranslated region of the prothrombin gene is associated with elevated plasma prothrombin levels and an increase in venous thrombosis. *Blood*. 1996;88(10):3698-3703.
44. Kyrle PA, Mannhalter C, Beguin S, et al. Clinical studies and thrombin generation in patients homozygous or heterozygous for the G20210A mutation in the prothrombin gene. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 1998;18(8):1287-1291.
45. Brenner B, Sarig G, Weiner Z, Younis J, Blumenfeld Z, Lanir N. Thrombophilic polymorphisms are common in women with fetal loss without apparent cause. *Thrombosis and haemostasis*. 1999;82(1):6-9.
46. Foka ZJ, Lambropoulos AF, Saravelos H, et al. Factor V Leiden and prothrombin G20210A mutations, but not methylenetetrahydrofolate reductase C677T, are associated with recurrent miscarriages. *Human reproduction (Oxford, England)*. 2000;15(2):458-462.

47. Facchinetti F, Marozio L, Grandone E, Pizzi C, Volpe A, Benedetto C. Thrombophilic mutations are a main risk factor for placental abruption. *Haematologica*. 2003;88(7):785-788.
48. Franco RF, Reitsma PH. Genetic risk factors of venous thrombosis. *Human genetics*. 2001;109(4):369-384.
49. Kobashi G, Kato EH, Morikawa M, et al. MTHFR C677T Polymorphism and factor V Leiden mutation are not associated with recurrent spontaneous abortion of unexplained etiology in Japanese women. *Seminars in thrombosis and hemostasis*. 2005;31(3):266-271.
50. Rosendaal FR. Venous thrombosis: a multicausal disease. *Lancet (London, England)*. 1999;353(9159):1167-1173.
51. den Heijer M, Rosendaal FR, Blom HJ, Gerrits WB, Bos GM. Hyperhomocysteinemia and venous thrombosis: a meta-analysis. *Thrombosis and haemostasis*. 1998;80(6):874-877.
52. Lee R, Frenkel EP. Hyperhomocysteinemia and thrombosis. *Hematology/oncology clinics of North America*. 2003;17(1):85-102.
53. de Maat MP, Bladbjerg EM, Johansen LG, Gram J, Jespersen J. Absence of prothrombin mutation in Inuit (Greenland Eskimos). *Thrombosis and haemostasis*. 1998;79(4):882.
54. de Ronde H, Bertina RM. Laboratory diagnosis of APC-resistance: a critical evaluation of the test and the development of diagnostic criteria. *Thrombosis and haemostasis*. 1994;72(6):880-886.
55. Lissak A, Sharon A, Fruchter O, Kassel A, Sanderovitz J, Abramovici H. Polymorphism for mutation of cytosine to thymine at location 677 in the methylenetetrahydrofolate reductase gene is associated with recurrent early fetal loss. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1999;181(1):126-130.
56. Raziel A, Kornberg Y, Friedler S, Schachter M, Sela BA, Ron-El R. Hypercoagulable thrombophilic defects and hyperhomocysteinemia in patients with recurrent pregnancy loss. *American journal of reproductive immunology (New York, N.Y. : 1989)*. 2001;45(2):65-71.
57. Kutteh WH. Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low-dose aspirin is superior to low-dose aspirin alone. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1996;174(5):1584-1589.
58. Onderoglu L, Baykal C, Al RA, Demirtas E, Deren O, Gurgey A. High frequency of thrombophilic disorders in women with recurrent fetal miscarriage. *Clinical and experimental obstetrics & gynecology*. 2006;33(1):50-54.
59. Brenner B. Inherited thrombophilia and pregnancy loss. *Thrombosis and haemostasis*. 1999;82(2):634-640.
60. Roque H, Paidas MJ, Funai EF, Kuczynski E, Lockwood CJ. Maternal thrombophilias are not associated with early pregnancy loss. *Thrombosis and haemostasis*. 2004;91(2):290-295.
61. Gonen R, Lavi N, Attias D, et al. Absence of association of inherited thrombophilia with unexplained third-trimester intrauterine fetal death. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2005;192(3):742-746.
62. Mahjoub T, Mtiraoui N, Tamim H, et al. Association between adverse pregnancy outcomes and maternal factor V G1691A (Leiden) and prothrombin G20210A genotypes in women with a history of recurrent idiopathic miscarriages. *American journal of hematology*. 2005;80(1):12-19.

63. Corosu R, Salome E. [Inherited thrombophilia in pregnancy: a systematic review]. *Minerva ginecologica*. 2006;58(1):69-73.
64. Zahed LF, Rayes RF, Mahfouz RA, Taher AT, Maarouf HH, Nassar AH. Prevalence of factor V Leiden, prothrombin and methylene tetrahydrofolate reductase mutations in women with adverse pregnancy outcomes in Lebanon. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2006;195(4):1114-1118.
65. Bouvier S, Cochery-Nouvellon E, Lavigne-Lissalde G, et al. Comparative incidence of pregnancy outcomes in thrombophilia-positive women from the NOH-APS observational study. *Blood*. 2014;123(3):414-421.
66. Connors JM. Preventing pregnancy loss. *Blood*. 2014;123(3):308-310.
67. Poursadegh Zonouzi A, Chaparzadeh N, Ghorbian S, et al. The association between thrombophilic gene mutations and recurrent pregnancy loss. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2013;30(10):1353-1359.
68. Nelen WL, Steegers EA, Eskes TK, Blom HJ. Genetic risk factor for unexplained recurrent early pregnancy loss. *Lancet (London, England)*. 1997;350(9081):861.
69. Quere I, Chasse JF, Dupuy E, et al. [Homocysteine, 5,10-methylenetetrahydrofolate reductase and deep venous thrombosis. Survey of 120 patients in internal medicine]. *La Revue de medecine interne / fondee ... par la Societe nationale francaise de medecine interne*. 1998;19(1):29-33.
70. Stonek F, Hafner E, Philipp K, Hefler LA, Bentz EK, Tempfer CB. Methylene tetrahydrofolate reductase C677T polymorphism and pregnancy complications. *Obstetrics and gynecology*. 2007;110(2 Pt 1):363-368.
71. Ozdemir O, Yenicesu GI, Silan F, et al. Recurrent pregnancy loss and its relation to combined parental thrombophilic gene mutations. *Genetic testing and molecular biomarkers*. 2012;16(4):279-286.