Archive of SID

آنالیز پلی‌مورفیسم‌های ژن‌های ترومبوفیلی به عنوان یک فاکتور خطر سقط جنین: یک مطالعه مقطعی- توصیفی

دکتر امیر سهرابی[۱]، فاطمه اسکندری[۲]، دکتر مسعود حاجیا[۳*]

۱. دکتری تخصصی پزشکی ملکولی، بخش اپیدمیولوژی پزشکی و بیوانفورماتیک، انستیتو کارولینسکا، استکهلم، سوئد.
۲. کارشناس ارشد ژنتیک - بیولوژی، آزمایشگاه سعید، تهران، ایران.
۳. دکتری تخصصی میکروب‌شناسی پزشکی، بخش بیولوژی مولکولی، مرکز تحقیقات آزمایشگاه مرجع سلامت، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۱/۱۶ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۹۹/۰۴/۰۹

خلاصه

مقدمه: ژن‌های ترومبوفیلی غالباً به‌عنوان مهم‌ترین عوامل خطر در ایجاد بیماری‌های قلبی - عروقی، ترومبوآمبولی و از همه مهم‌تر برای سقط های حاملگی گزارش می‌شوند. مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان شیوع این پلی‌مورفیسم‌ها در زنان مراجعه کننده به یکی از آزمایشگاه‌های پاتوبیولوژی مولکولی تهران انجام شد.

روش‌کار: این مطالعه مقطعی- توصیفی بر روی ۵۹۱ نمونه خون بایگانی شده زنانی که با اختلالات سقط جنین و ناباروری از بهمن ماه ۱۳۹۲ تا اردیبهشت سال ۱۳۹۶ به یکی از آزمایشگاه‌های تشخیص مولکولی تهران مراجعه کرده بودند، انجام شد. بیماران برای مطالعه پلی‌مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی با استفاده از روش PCR-RFLP مورد بررسی قرار گرفتند. روش حاضر از نظر ویژگی، حساسیت و دقت توسط کنترل‌های مثبت و منفی برای جهش‌های مورد مطالعه و همچنین توسط نرم‌افزارهای بیوانفورماتیک از نظر صحت عملکرد بر اساس دستورالعمل‌های تشخیصی سازمان بهداشت جهانی و مقالات معتبر علمی مورد تأیید و بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: در مطالعه حاضر هموزیگوسیتی ژن‌های پروترومبین (AA)، لیدن (AA) و HPA-1(TT) تشخیص داده نشد. از بین ژنوتیپ‌ها، وقوع آلل‌های وحشی (۹۶/۳٪) و هتروزیگوت FII (۳/۷٪) به‌ترتیب بیشترین و کمترین میزان شیوع را دارا بودند. ژن MTHFR 1298 A>C در مقایسه با سایر ژن‌ها بالاترین فراوانی را در بین ۲۹۶ بیمار دارا بود. میزان فراوانی هتروزیگوسیتی ژنوتیپ‌های PAI-1، MTHFR1298، MTHFR677، فاکتور XIII، HPA-1، β-Fibrinogen، فاکتور V لیدن و پروترومبین به‌ترتیب ۷۲/۶٪، ۷۰٪، ۴۰/۵٪، ۲۹/۴٪، ۲۵/۵٪، ۲۰٪، ۴/۴٪ و ۳/۷٪ بود.

نتیجه‌گیری: هتروزیگوسیتی ژن‌های MTHFR 1298، MTHFR 677 و PAI-I از شیوع قابل ملاحظه‌ای برخوردار هستند و بایستی مورد بررسی و دقت نظر بیشتری جهت راهکارهای درمانی به‌ویژه در اختلالات انعقادی و سقط جنین قرار گیرند.

کلمات کلیدی: پلی‌مورفیسم، ژن‌های ترومبوفیلی، سقط جنین

* **نویسنده مسئول مکاتبات:** دکتر مسعود حاجیا؛ مرکز تحقیقات آزمایشگاه مرجع سلامت، وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی، تهران، ایران. **تلفن:** ۶۶۷۲۸۱۱۲-۰۲۱؛ **پست الکترونیک:** massoudhajia@yahoo.com

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

سقط جنین یک اتفاق رایج در پزشکی است و می‌تواند به شکلی از سقط مکرر باشد که در اوایل سه ماهه دوم بارداری رخ می‌دهد. این بیماری در حدود ۱۵-۱۰٪ از بارداری‌ها اتفاق می‌افتد و می‌تواند به عنوان علت اصلی (بدون حاملگی تا پایان مدت)، ثانویه (سقط جنین‌های بعد از تولد زنده) یا سه‌تایی (۳ سقط جنین غیرمتوالی) طبقه‌بندی شود. بارداری یکی از عوامل مهم خطر در بروز ترومبوآمبولی محسوب می‌شود (۳-۱). در زنان مبتلا به ترومبوفیلی ارثی، افزایش شیوع ریزش جنین مشاهده شده است. نقش این جهش‌ها در منابع متعدد مورد بررسی قرار گرفته است، اگرچه برخی از اختلافات علمی در این خصوص وجود دارد. شایع‌ترین علت ترومبوفیلی اکتسابی، سندرم آنتی‌فسفولیپیداست. این سندرم شامل نقایصی است که در مسیرهای ضد انعقادی انعقاد خون مانند ضدترومبین III، پروتئین C و پروتئین S تأثیر می‌گذارد. به‌نظر می‌رسد فاکتور V-Leiden و پروترومبین ۲۰۲۱۰، شایع‌ترین نقص موجود در خانواده-های ترومبوفیلی هستند. علاوه بر عوامل ژنتیکی، عوامل محیطی و اکتسابی علل بروز این بیماری هستند، اگرچه پاتوژنز آن در برخی موارد ناشناخته مانده است (۷-۴).

بیشترین نشانگرهای ترومبوفیلی ارثی گزارش شده، فاکتور V لیدن و پروترومبین (PT G20210A) G20210A هستند. اگرچه نقش سایر ژن‌های ترومبوفیلی در موارد قابل توجهی مانند MTHFR[1]، β فیبرینوژن (۴۵۵ G> A)، آنتی‌ژن پلاکت انسانی (HPA-1)، فعال کننده مهارکننده پلاسمینوژن-۱ (PAI-1؛ 4G/5G) و فاکتور XIII(103 G> T) نشان داده شده است. اعتقاد بر این است که عوامل خطر ژنتیکی متوسط شامل FVL، FII-Prothrombin، MTHFR، PAI-1، FXIII، B-Fibrinogen و HPA-1 است که تخمین زده می‌شود در ۵۰-۴۰٪ از موارد مشاهده شود (۱۱-۸).

مطالعه حاضر با هدف شناسایی جهش‌های ترومبوفیلی پس از بهینه سازی روش تشخیصی و بررسی فراوانی آن در زنان مراجعه کننده به یکی از آزمایشگاه‌های تشخیص مولکولی خصوصی انجام شد.

روش‌کار

این مطالعه مقطعی- توصیفی بر روی ۵۹۱ نمونه خون بایگانی شده زنانی که با اختلالات سقط جنین و ناباروری از بهمن ماه ۱۳۹۲ تا اردیبهشت سال ۱۳۹۶ به یکی از آزمایشگاه‌های تشخیص مولکولی تهران مراجعه کرده بودند، انجام شد. قابل ذکر است که تمام بیماران مورد مطالعه با اختلالات در ناباروری و مشکلات سقط جنین مراجعه کرده بودند، ولی متأسفانه به‌دلیل عدم همکاری پرسنل بالینی، اطلاعات جزئی بیماران برای بررسی عمیق‌تر و جامع‌تر در دسترس ما قرار نگرفت.

از نظر ملاحظات اخلاقی، در مطالعه حاضر هیچ یک از داده‌های شخصی بیماران انتشار نیافت. لازم به ذکر است این مطالعه بر روی نمونه‌های آرشیو شده در آزمایشگاه انجام گردید. اگرچه آزمایشات مورد مطالعه بر روی نمونه‌های طرح قبلی با کد اخلاقی (IR.RHL.REC.1398.119) که در راستای اهداف طرح حاضر بوده است، انجام شده است.

جهت صحه‌گذاری و اعتبارسنجی روش RFLP، در ابتدا توالی‌های مورد نیاز کلیه ژن‌های ترومبوفیلی توسط بانک جهانی ژن (GenBank) و سایر نرم‌افزارهای معتبر بیوانفورماتیک و پایگاه‌های معتبر علمی مورد بررسی و تأیید قرار گرفت.

روش RFLP برای ویژگی، حساسیت و صحت توسط نمونه‌های کنترل مثبت از نظر جهش‌های مورد مطالعه و روش‌های بیوانفورماتیک مورد ارزیابی دقیق قرار گرفتند (۱۲، ۱۳). جزئیات بررسی‌های انجام شده در خصوص صحه‌گذاری و اعتبارسنجی آزمایشات در مقاله حاضر ذکر نگردیده است.

استخراج DNA نمونه‌های خون با استفاده از کیت استخراج High Pure PCR Template Preparation Kit (Roche©, Germany) مطابق دستورالعمل سازنده انجام شد.

آنالیز پلی‌مورفیسم تک نوکلوتیدی (PCR-RFLP) برای ژن‌های MTHFR 677 C>T، 1298 A>C،

[1] 677C> T و 1298 A> C

www.SID.ir

Archive of SID

Prothrombin 20210 ،Leiden 1691 G>A PAI-1, HPA-، Factor XIII 103 G>T،G>A β- Fibrinogen 455 G>A،1 با ارزیابی‌های انجام شده و مقایسه با منابع ذکر شده صحه‌گذاری گردید (۱۴، ۱۵). واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن‌های مذکور انجام گرفت. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر حاوی ۵۰ نانوگرم DNA ژنومیک، ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰ بار غلظت، ۰/۲۵ مولار از هر dNTP، ۱/۵ مولار MgCl2، ۷-۵ پیکومول از هر پرایمر و ۰/۵ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase انجام شد. تکثیر در ۴۰ سیکل، دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه، ۶۱-۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱ دقیقه انجام شد. دناتوراسیون اولیه به‌مدت ۵ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد و طویل‌سازی نهایی به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد صورت گرفت. محصولات PCR جهت تشخیص موتاسیون‌های ژن‌های مذکور با استفاده از روش RFLP و آنزیم‌های HPyFI ،Rsa I ،Hinf I ،BsuR I ،Msp I ،Msp I، HindIII برای آنالیز موتاسیون‌های نقطه‌ای مورد استفاده قرار گرفتند. محصول PCR-RFLP ژن‌های مذکور توسط ژل آگارز ۳٪ و زیر نور UV دستگاه ترانس لومیناتور با شناسایی طول قطعات متفاوت مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها

مطالعه توصیفی حاضر، شامل ۵۹۱ زن با میانگین سنی بیماران ۶/۱۲±۳۲/۸ سال و دامنه سنی ۴۸-۱۶ سال بود. در مطالعه حاضر، MTHFR 677 C> T بیشترین درخواست برای آزمایش مولکولی و حداقل درخواست مربوط به ژنوتیپ HPA-1 بود. از بین این ژنوتیپ‌ها، وقوع آلل‌های وحشی (۹۶/۳٪) و هتروزیگوت FII (۳/۷٪) به‌ترتیب بیشترین و کمترین میزان شیوع را دارا بودند. فراوانی ژنوتیپ (AC) و ژنوتیپ (CC) از MTHFR (1298 A> C) همراه با PAI-5G/4G بالاترین فراوانی در بین سایر آزمایشات را داشت. تجزیه و تحلیل توزیع پلی‌مورفیسم‌های ژنی با توجه به تجویز پزشکان MTHFR1298، MTHFR677، PAI-1، پروترومبین، فاکتور ۵ لیدن، فاکتور XIII، ژنوتیپ β- Fibrinogen و HPA-1 به‌ترتیب شامل ۴۲۳ (۷۱/۶٪)، ۴۴۵ (۷۵/۳٪)، ۳۷۳ (۶۳/۱٪)، ۲۴۳ (۴۱/۱٪)، ۳۶۵ (۶۱/۸٪)، ۱۵۳ (۲۵/۹٪)، ۵۰ (۸/۵٪) و ۳۴ (۵/۸٪) بود. نتایج ژنوتیپ پلی‌مورفیسم‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است. (AA) F II، (AA) FV و HPA-1 در این مطالعه تشخیص داده نشد. نتایج مقایسه‌ای مطالعه حاضر با سایر گزارش‌های ارائه شده در جدول ۲ ارائه شده است.

جدول ۱- پراکندگی پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی ژن‌های ترمبوفیلی در ۵۹۱ بیمار

پلی مورفیسم‌های تک نوکلئوتیدی	آلل نوع وحشی* تعداد (درصد)	هتروزیگوس** تعداد (درصد)	هموزیگوس*** تعداد (درصد)	کل بیماران- تعداد (درصد)
MTHFR 1298 A>C	AA-۵۵ (۱۳)	AC-۲۹۶ (۷۰)	CC-۷۲ (۱۷)	۴۲۳ (۷۱/۶)
MTHFR 677 C>T	CC-۲۲۰ (۴۹/۵)	CT-۱۸۰ (۴۰/۵)	TT-۴۵ (۱۰)	۴۴۵ (۷۵/۳)
Plasminogen Activator Inhibitor-1(PAI-1)	5G/5G-۷۳ (۱۹/۶)	5G/4G-۲۷۱ (۷۲/۶)	4G/4G-۲۹ (۷/۸)	۳۷۳ (۶۳/۱)
Factor II-Prothrombin (20210 G>A)	GG-۲۳۴ (۹۶/۳)	GA-۹ (۳/۷)	AA-۰	۲۴۳ (۴۱/۱)
Factor V- Leiden (1691 G>A)	GG-۳۴۹ (۱۶)	GA-۱۶ (۴/۴)	AA-۰	۳۶۵ (۶۱/۸)
Factor XIII (103 G>T)	GG-۱۱۰ (۷۲)	GT-۳۹ (۲۵/۵)	TT-۴ (۲/۵)	۱۵۳ (۲۵/۹)
β-Fibrinogen (455 G>A)	GG-۳۶ (۷۲)	GA-۱۰ (۲۰)	AA-۴ (۸)	۵۰ (۸/۵)
Human Platelet Antigens (HPA-1)	CC-۲۴ (۷۰/۶)	CT-۱۰ (۲۹/۴)	TT-۰	۳۴ (۵/۸)

* Wild type, ** Heterozygous, *** Homozygous

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- مقایسه نتایج مطالعه حاضر با سایر گزارش‌های انتشار یافته در ایران

ژن‌های ترومبوفیلیا	میزان شیوع تعداد (درصد)	مثال‌هایی از مقالات منتشر شده مشابه با تحقیق حاضر
MTHFR A1298C	۴۲۳ (۷۱/۶)	اختلاف معنی‌داری برای ژنوتیپ هموزیگوت *MTHFR* A1298C گزارش شد (۱۵).
MTHFR C677T	۴۴۵ (۷۵/۳)	اختلاف معنی‌داری بین گروه کنترل و بیمار در ژن MTHFR C677T مشاهده شد (۱۹-۱۶).
PAI-1	۳۷۳ (۶۳/۱)	در این مطالعه ارزیابی ژنوتیپ‌های 4G/4G, 5G-5G and 4G/5G برای ژن PAI اختلاف معنی‌داری حاصل شد. هرچند برای ژنوتیپ هموزیگوت 5G/5G اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (۱۱، ۱۴).
Prothrombin(20210 G>A)	۲۴۳ (۴۱/۱)	اختلاف معنی‌داری برای ژن حاضر بین گروه بیمار کنترل مشاهده نگردید (۱۴، ۱۸، ۲۱).
FVL-Leiden(1691 G>A)	۳۶۵ (۶۱/۸)	فاکتور ۵ لیدن به‌عنوان مهم‌ترین عامل ژنتیکی در سقط جنین مطرح است (۱۴، ۲۲).
Factor XIII (103 G>T)	۱۵۳ (۲۵/۹)	ارتباط معنی‌داری در ژنوتیپ هتروزیگوت در سقط‌های سه ماه اول بارداری در رنان مصری مشاهد شد (۲۰، ۲۱).
β-Fibrinogen (455 G>A)	۵۰ (۸/۵)	اختلاف معنی‌داری در ژن حاضر مشاهده شد (۲۳).
HPA-1	۳۴ (۵/۸)	اختلاف معنی‌داری بین زنان با سابقه سقط جنین و گروه کنترل مشاهده نگردید (۲۴).

بحث

چند گزارش علمی از پلی‌مورفیسم ترومبوفیلی در زنان ایرانی مبتلا به اختلالات باروری وجود دارد. به‌نظر می‌رسد که بیشتر این جهش‌ها با مطالعات جداگانه در سایر اختلالات مورد بررسی قرار گرفته است و انسجام کلی در خصوص بهره‌گیری از نتایج وجود ندارد (۱۸-۱۶). کمالی و همکاران (۲۰۱۸)، گزارشی از متاآنالیز پلی‌مورفیسم ژن‌های ترومبوفیلی را به‌عنوان یکی از معدود گزارشات جامع ایرانی منتشر کرده‌اند. نتایج آنها حاکی از افزایش قابل توجه خطر سقط مکرر در تمام مدل‌های ژنتیکی بود. پلی‌مورفیسم پروترومبین G20210A، PAI-1 4G/5G و FVL G1691A نیز با خطر RPL در جمعیت ایران همراه بود (۱۹). در مطالعه حاضر F II (AA) و FV (AA) شناسایی نشد که با نتایج برخی مطالعات همخوانی داشت (۲۴-۲۰).

باید متذکر شد که پروتکل‌های تشخیصی و سپس دانش‌پزشکی برای تفسیر و تجزیه و تحلیل کلی مورفیسم‌های تک ژنی (SNP) در مراکز پزشکی مورد نیاز است. متأسفانه در اکثر موارد امکان دسترسی به کیت‌های معتبر و تأیید شده وجود نداشت. بر اساس بررسی‌های انجام شده مشخص گردید که همکاران آزمایشگاه‌های دیگر از پروتکل‌های خانگی استفاده می‌کنند که بیشتر آنها بدون هیچ‌گونه تأییدیه مطابق با استانداردهای جهانی، آزمایشات را گزارش می‌نمایند. این پروتکل‌ها باید با روش‌های استاندارد برای هر آزمایش در آزمایشگاه بالینی مولکولی تأیید شوند. به‌عنوان یک نتیجه، برخی پزشکان همیشه نمی‌توانند نتایج SNP را مورد استفاده قرار دهند و از آزمایشگاه می‌خواهند تا به آنها برای مراقبت از بیمار کمک کنند. این امر مؤید آن است که دانش آنها برای تفسیر تحلیل SNPها به‌تنهایی کافی نیست. در مطالعه حاضر پزشکان برای گزارش دقیق اطلاعات بالینی و پیشینه مطالعه جمعیت متأسفانه با ما همکاری نکردند. در نتیجه امکان تجزیه و تحلیل سابقه بالینی زنان برای مقایسه نتایج و بررسی‌های عمیق‌تر در این مواجهه وجود نداشت. با توجه به محدودیت‌های ذکر شده، تعداد قابل توجهی از بانوان مورد آنالیز قرار گرفتند. یافته‌های این مطالعه می‌تواند جهت مطالعات گسترده اپیدمیولوژیک در کشور مورد استفاده قرار گیرد. به‌نظر می‌رسد استفاده از روش‌های نوین ژنتیکی جهت آنالیز موتاسیون‌های بیشتر در سطح ژنوم انسانی، راهگشای مناسبی جهت اتخاذ روش‌های درمانی مناسب مورد استفاده قرار گیرد.

به‌طور کلی استفاده از روش‌های معتبر تشخیصی با حساسیت، ویژگی و دقت بالا، نقش مهمی در ارزیابی پلی‌مورفیسم‌ها در این بیماران دارد. در مطالعه حاضر میزان شیوع MTHFR1298، MTHFR677، PAI-1، پروترومبین و FVL با مطالعه کمالی و همکاران (۲۰۱۸)، به‌عنوان یک بررسی متاآنالیز، جامع

www.SID.ir

Archive of SID

و استاندارد در گروه بیماران حاضر و همچنین با مطالعه بیگدلی و همکاران (۲۰۱۸) همخوانی داشت (۲۵، ۱۹).

نتیجه‌گیری

بررسی ژنوتیپ‌های ترومبوفیلی می‌تواند به درک نتایج بهتر برای ارزیابی اثرات متقابل ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی به‌عنوان یک عامل خطر برای هرگونه انعقاد خون و سقط مکرر کمک کند. هتروزیگوسیتی ژن‌های MTHFR 1298، MTHFR 677 و PAI-I از شیوع قابل ملاحظه‌ای برخوردارند و بایستی مورد بررسی و دقت نظر بیشتری جهت راهکارهای درمانی به‌ویژه در اختلالات انعقادی و سقط جنین قرار گیرند.

همچنین مطالعات آتی جهت یافتن الگوهای مولکولی و تشخیص زودهنگام این ژن‌ها در زنان ایرانی برای انتخاب بهترین سیاست‌های ملی به‌ویژه برای سیستم نظارت و صرفه‌جویی در یارانه‌های دولتی جهت حمایت نسخه‌های درمانی و آزمایشگاهی بیماران، در سیستم نظام مراقبت کشوری ضروری به‌نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از سرکار خانم منیره بابایی جهت همکاری و کمک ایشان در فرآیندهای تحقیق، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Elmahgoub IR, Afify RA, Abdel Aal AA, El-Sherbiny WS. Prevalence of coagulation factor XIII and plasminogen activator inhibitor-1 gene polymorphisms among Egyptian women suffering from unexplained primary recurrent miscarriage. J Reprod Immunol 2014; 103:18-22.
2. Ticconi C, Mancinelli F, Gravina P, Federici G, Piccione E, Bernardini S. Beta-fibrinogen G-455A polymorphisms and recurrent miscarriage. Gyecol Obstet Invest 2011; 71(3):198-201.
3. Hohlagschwandtner M, Unfried G, Heinze G, Huber JC, Nagele F, Tempfer C. Combined thrombophilic polymorphisms in women with idiopathic recurrent miscarriage. Fertil Steril 2003; 79(5):1141-8.
4. Ho WK. Deep vein thrombosis--risks and diagnosis. Aust Fam Physician 2010; 39(7):468-74.
5. Anderson FA Jr, Spencer FA. Risk factors for venous thromboembolism. Circulation 2003; 107(23 Suppl): I9-16.
6. De Stefano V, Finazzi G, Mannucci PM. Inherited thrombophilia: pathogenesis, clinical syndromes, and management. Blood 1996; 87(9):3531-44.
7. Rosendaal FR, Reitsma PH. Genetics of venous thrombosis. J Thromb Haemost 2009; 7 Suppl:301-4.
8. Neamatzadeh H, Ramazani V, Kalantar SM, Ebrahimi M, Sheikhha MH. Serum immune reactivity against β2-Glycoprotein-I and anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies by ELI-P-Complex screening technology in recurrent miscarriage. Minerva Ginecol 2016; 68(3):243-9.
9. Valdez LL, Quintero A, Garcia E, Olivares N, Celis A, Rivas F Jr, et al. Thrombophilic polymorphisms in preterm delivery. Blood Cells Mol Dis 2004; 33(1):51-6.
10. 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; 63(2):126-36.
11. Proite MM, Malinverni AM, Oshima CT, Ishigai MM, Moron AF, et al. Mutations in the gene for factor v leiden and g20210a prothrombin polymorphism in women with recurrent spontaneous abortion: a retrospective study in a brazilian population. J Clin Gynecol Obstet 2016; 5(3):85-91.
12. Hajia M. Secondary use of laboratory data: potentialities and limitations. Iran J Pathol 2019; 14(3):188-192.
13. Hajia M, Safadel N, Samiee SM, Dahim P, Anjarani S, Nafisi N, et al. Quality assurance program for molecular medicine laboratories. Iran J Public Health 2013; 42(Supple1):119-124.
14. Karimi A, Abdolhasani M, Hashemzadeh-Chaleshtori M, Pourgheysari B. A preliminary study of inherited thrombophilic risk factors in different clinical manifestations of venous thromboembolism in central Iran. Indian J Med Res 2015;142(1):46-52.
15. Eskandari F, Akbari MT, Zare-Karizi Sh. Association of C677T and A1298C polymorphisms of the MTHFR gene with recurrent pregnancy loss. Pajouhandeh 2013; 18(4):167-173.

www.SID.ir

Archive of SID

16. Parand A, Honar N, Aflaki K, Imanieh MH, Haghighat M, Cohan N, et al. Management of bleeding in post-liver disease, surgery and biopsy in patients with high uncorrected international normalized ratio with prothrombin complex concentrate: an Iranian experience. Iran Red Crescent Med J 2013; 15(12):e12260.
17. Farajzadeh M, Bargahi N, Poursadegh Zonouzi A, Farajzadeh D, Pouladi N. Polymorphisms in thrombophilic genes are associated with deep venous thromboembolism in an Iranian population. Meta Gene 2014; 15(2):505-513.
18. Poursadegh Zonouzi A, Chaparzadeh N, Ghorbian S, Sadaghiani MM, Farzadi L, Ghasemzadeh A, et al. The association between thrombophilic gene mutations and recurrent pregnancy loss. J Assist Reprod Genet 2013; 30(10):1353-9.
19. Kamali M, Hantoushzadeh S, Borna S, Neamatzadeh H, Mazaheri M, Noori-Shadkam M, et al. Association between thrombophilic genes polymorphisms and recurrent pregnancy loss susceptibility in the Iranian population: a systematic review and meta-analysis. Iran Biomed J 2018; 22(2):78-89.
20. Sofi F, Lari B, Rogolino A, Marcucci R, Pratesi G, Dorigo W, et al. Thrombophilic risk factors for symptomatic peripheral arterial disease. J Vasc Surg 2005; 41(2): 255-60.
21. Bargahi N, Farajzadeh M, Poursadegh-Zonouzi A, Farajzadeh D. Prevalence of thrombophilic gene polymorphisms in an Azari population of Iran. Hematol Rep 2014; 6(2):5321.
22. Saidi S, Mahjoub T, Slamia LB, Ammou SB, Al-Subaie AM, Almawi WY. Polymorphisms of the human platelet alloantigens HPA-1, HPA-2, HPA-3, and HPA-4 in ischemic stroke. Am J Hematol 2008; 83(7):570-3.
23. Khaniani MS, Afkhami F, Abbasalizadeh F, Mansoori Derakhshan S. Evaluation of thrombophilic genes in recurrent pregnancy loss: a case-control study in Iranian women. Int J Hum Genet 2016; 16(1):48-52.
24. Ozturk N, Bakan E, Gul MA, Bakan N, Sebin E, Kiziltunc A. The frequency of some thrombophilic mutations in Eastern Turkey. Eurasian J Med 2016; 48(1):2-5.
25. Bigdeli R, Younesi MR, Panahnejad E, Asgary V, Heidarzadeh S, Mazaheri H. Association between thrombophilia gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss risk in the Iranian population. Syst Biol Reprod Med 2018; 64(4):274-282.

www.SID.ir