

# Tekrarlayan Gebelik Kayıplarında Trombofili Mutasyon Sıklıkları

## Thrombophilia Mutation Frequencies in Recurrent Pregnancy Losses

### Feride İffet Şahin

Prof., M.D., Ph.D.  
Department of Medical Genetics  
Başkent University Medical Faculty  
feridesahin@hotmail.com

### Belgin Ataç

Assoc. Prof., Ph.D.  
Department of Medical Genetics and Biology  
Başkent University Medical Faculty  
batac@baskent.edu.tr

### Zerrin Yılmaz

Assoc. Prof., M.D.  
Department of Medical Genetics  
Başkent University Medical Faculty

### Hulusi Bülent Zeyneloğlu

Prof., M.D.  
Department of Obstetrics and Gynecology  
Başkent University Medical Faculty  
hnzeyneloglu@e-kolay.net

*This study was presented at Xth National Medical Biology and Genetics Congress, 6-9 September 2007, Antalya- Turkey.*

Submitted : March 10, 2008  
Revised : August 05, 2008  
Accepted : December 15, 2008

#### Corresponding Author:

Feride İffet Şahin  
Department of Medical Genetics  
Faculty of Medicine Baskent University  
Ankara, Turkey

Telephone: +90- 312 232 4400  
E- mail: feridesahin@hotmail.com

#### Özet

**Amaç:** Tekrarlayan gebelik kaybı (TGK) öyküsü olan ve olmayan kadınlarda, Faktör V Leiden (FVL), protrombin G20210A (Prt) ve metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) C677T' yi içeren üç trombofili mutasyonunun sıklığının belirlenmesi ve karşılaştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntemler:** Çalışma kapsamına iki veya daha fazla kez tekrarlayan gebelik kaybı öyküsü olan 205 kadın ve kontrol grubu olarak gebelik kaybı öyküsü olmayan 100 kadın birey alındı. Trombofili mutasyonları PCR-RFLP analizi ile belirlenerek genotipler ile TGK ve kontrol grubu arasındaki ilişki ki-kare testi, Fisher's exact test ve genotip frekanslarının düşük olduğu gen bölgesi için G testi ile analiz edildi.

**Bulgular:** İstatistiksel değerlendirme sonucunda incelenen üç gen bölgesi için genotipler ile tekrarlayan gebelik kaybı olan hastalar ve kontrol grubu arasında anlamlı ilişki saptanmadı ( $p > 0,05$ ).

**Sonuç:** Son yıllarda yayınlanmış çalışmalara benzer şekilde bizim sonuçlarımıza göre de hasta ve kontrol grubu ile genotipler arasında anlamlı bir ilişki saptanmamıştır.

Anahtar kelimeler: **Faktör V Leiden; Metilentetrahidrofolat redüktaz; Protrombin; Trombofili.**

#### Abstract

**Purpose:** In the current study we aimed to detect Factor V Leiden (FVL), prothrombin G20210A (Prt) ve methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T mutation frequencies in women with or without recurrent pregnancy losses.

**Material and Methods:** A total of 205 women with two or more pregnancy losses and 100 women without a history of abortuses were included in the study. Thrombophilia mutations were detected by PR-RFLP analyses. Results were analyzed statistically by Chi-square, Fisher's exact test and for the low genotype frequencies by G test.

**Results:** We did not detect a statistically significant relationship between genotypes of the three investigated gene regions and recurrent abortus and control groups ( $p > 0.05$ ).

**Conclusion:** According to the results of the current study, there is not a statistically significant relationship between the patient and control groups and genotypes. Our results support recent reports.

Key words: **Factor V Leiden; Methylenetetrahydrofolate reductase; Prothrombin; Thrombophilia.**

## Giriş

Tekrarlayan gebelik kaybı (TGK), iki veya daha fazla üst üste gebelik kaybı olarak tanımlanır ve üreme çağındaki kadınların yaklaşık olarak %5' ini etkileyen önemli bir sağlık problemidir. Patofizyolojisini ortaya çıkarmak için birçok çalışma yapılmışsa da günümüzde hala açıklanamayan mekanizmalar bulunmaktadır. TGK, anatomik, kromozomal, endokrinolojik ve çeşitli pıhtılaşma bozuklukları ya da immünolojik problemler nedeniyle olabilmektedir (1,2). Gebelik, protein S gibi doğal antikoagulanların azalması ve koagülasyona neden olan faktörlerin artması nedeniyle koagülasyona yatkınlık oluşturan bir durumdur. Bununla birlikte pıhtılaşma bozuklukları TGK' nın ortalama %55-62'sinden sorumlu tutulmaktadır (2). Kan proteinleri ya da trombosit bozukluklarının, kanamaya yatkınlık veya pıhtılaşmaya yatkınlık oluşturan iki ayrı mekanizma ile TGK'ya yol açtığı bilinmektedir. Trombotik bozukluklar kanama bozukluklarıyla karşılaştırıldığında TGK'ya daha fazla yol açmaktadır (2). Desidual damarlardaki trombozun, fetal beslenmeyi bozarak, intrauterin gelişme geriliği, fetal ölüm ve düşüklere yol açtığı düşünülmektedir.

Trombofil, kalıtsal ya da kazanılmış nedenlerle olabilir. Faktör V Leiden (FVL) G1691A, Protrombin (Prt) G20210A ve Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) C677T mutasyonları, venöz tromboza (VT) yatkınlığın değerlendirilmesinde önem taşıyan üç yaygın moleküler belirteçlerdir (1-4). FVL mutasyonu sonucu aktif faktör V, aktive protein C ile yıkıma direnç gösterir ve venöz tromboz riskini 3-5 kat artırır. Prt G1691A mutasyonu protrombin düzeylerinin artmasına yol açarak VT riskini 3 kat arttırmaktadır. MTHFR geni C677T yanlış anlamalı mutasyonu ile enzim termolabil varyantına dönüşerek katalitik aktivitesi azalır. Bu mutasyona sahip bireylerde hiperhomosisteinemi gelişir, özellikle folat eksikliğinde belirgindir. Metionin-homosistein yolağındaki bozukluklar sadece kalıtsal nedenlere bağlı değildir. Vitamin B<sub>12</sub>, B<sub>1</sub> ve folik asit eksikliğinde de hiperhomosisteinemi ortaya çıkmaktadır. Böylece mutasyonla birlikte folat eksikliğinin varlığı homosistein düzeylerinin artmasına yol açmaktadır (1,5). Bu birliktelik bizim toplumumuz için de geçerlidir. Hiperhomosisteinemi, hem venöz hem de arteriyel tromboza yatkınlığa yol açmaktadır.

Fetal ölüm, plasental yetmezlik ve intrauterin büyüme geriliği gibi gebelikte birlikte bulunan hastalıklar için bu üç mutasyon önemli bir risk faktörü olarak tanımlanmaktadır (2,3). Bütün bu komplikasyonların ortak noktası plasental fonksiyonu bozan plasental damarlardaki

trombüs oluşumudur. Bu olay anne ya da fetus yönündeki koryonik villus kanlanması bozarak fetus gelişimini bozar ve yukarıda bahsedilen problemlerle birlikte gebelik kaybına yol açar. Bu çalışmada TGK öyküsü olan ve olmayan kadın bireylerde yaygın üç trombofil mutasyonunun sıklığının belirlenmesi ve karşılaştırılması amaçlanmıştır.

## Hastalar ve Yöntem

**Çalışma ve Kontrol Grubu.** Bu çalışma Başkent Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından KA05/28 proje numarası ile desteklenmiştir. Çalışmamıza Ocak 2004 - Mart 2007 tarihleri arasında iki veya daha fazla TGK nedeniyle başvuran, kendinde veya ailesinde tromboemboli veya sistemik hastalık öyküsü olmayan 205 kadın birey ve kontrol grubu olarak ailede trombofil ve düşük öyküsü olmayan en az iki çocuğu bulunan sağlıklı 100 kadın birey dahil edildi. Çalışmaya katılan bireylerin tümü bilgilendirilerek yapılacak işlemler için onayları alındı. Hasta grubunun yaşları 19-42 arasında, kontrol grubunun yaşları 24-58 arasında değişmekteydi. Hasta grubuna dahil edilen bireylerde ve eşlerinde TGK'na neden olabilecek herhangi bir anatomik, karyotipik, endokrinolojik ve immünolojik anormallik saptanmadı.

**DNA izolasyonu.** EDTA'lı tüplere alınan periferik kan örneklerinden ticari kit kullanılarak genomik DNA izole edildi (Roche Mannheim/Germany).

**PCR-RFLP analizi.** FVL, Prt G20210A ve MTHFR C677T için daha önceden belirlenmiş özgün primerler kullanılarak polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yapıldı. Amplifikasyon ürünleri uygun restriksiyon enzimi ile kesildi ve ürün %12'lik poliakrilamid jelde yürütüldü (Restriksiyon parçacık uzunluk polimorfizm analizi-RFLP). Gen ürünleri DNA uzunluklarına bakılarak analiz edildi ve genotipleme yapıldı. Çalışmada kullanılan primer dizileri, restriksiyon enzimleri ve uzunluk polimorfizmine dayalı genotipleri Tablo I'de görülmektedir (1).

**İstatistiksel analizler.** Çalışılan mutasyonlar için, genotipler ile TGK olup olmaması arasındaki ilişki ki-kare testi, Fisher Exact test ve mutant genotip frekansının düşük olduğu gen bölgesi için G testi ile analiz edildi. Bulgular olgu sayısı (n) ve yüzde (%) oran olarak ifade edildi. p<0,05 düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Veri setinin analizinde SPSS 13, 0 (Statistical Package for the Social Sciences, version 13, 0, SPSS Inc, Chicago, IL, USA) istatistik paket programı kullanıldı.

**Tablo I.** Çalışmada kullanılan primer dizileri, restriksiyon enzim kesimi sonrası DNA uzunluk polimorfizmine dayalı genotip özellikleri.

Gen	Mutasyon	Primer dizisi	Restriksiyon enzimi	Restriksiyon parçacık uzunluk polimorfizmi ile saptanan bantlar (bç)		
				WT	H	M
MTHFR	C677T	F 5'TGA AGG AGA AGG TGT CTG CGG GA 3'  R 5' AGG ACG GTG CGG TGA GAG TG 3'	Hinf I	198	198	175
					75	23
Faktör V	G1691A FVL	F 5' TGC CCA GTG CTT AAC AAG ACC A3'  R 5' TGT TAT CAC ACT GGT GCT AA 3'	Mnl I	163	200	200
				67	163	67
				37	67	
Protrombin	G20210A	F 5' TCT AGA AAC AGT TGC CTG GC 3'  R 5' ATA GCA CTG GGA GCA TTG AA 3'	Hind III	345	345	322
					322	23
					23	

bç: baz çifti, WT: Yabanıl tip, H: Heterozigot, M: Homozigot mutant

### Bulgular

Hasta ve kontrol gruplarına ait mutasyon oranları Tablo II'de verilmiştir. MTHFR C677T açısından 205 hastanın 105'inde CC (yabanıl tip, WT), 81'inde CT (Heterozigot, H), 19'unda TT (homozigot mutant, M) genotipi saptandı. Kontrol grubunda 58 bireyde CC genotipi, 39 bireyde CT genotipi ve 3 bireyde TT genotipi belirlendi. "C" alleli sıklığı TGK grubunda %70,97 iken kontrol grubunda %77,5 olarak saptandı. "T" alleli sıklığı TGK grubunda %29,02 iken kontrol grubunda %22,5 olarak saptandı.

FV geni Leiden mutasyonu açısından 205 hastanın 182'sinde GG (WT), 22'sinde GA(H), 1'inde AA (M) genotip saptanırken, kontrol grubunda bu sayılar sırasıyla 89, 11 ve 0 olarak saptandı. "G" alleli sıklığı TGK grubunda %94,15, kontrol grubunda % 94,5 olarak saptandı. "A" allelinin sıklığı ise sırasıyla %5,85 ve % 5,5 olarak belirlendi.

Prt G20210A genotipleme sonucunda 205 hastanın 194'ü GG (WT), 11'i GA (H) genotipinde saptanırken

mutant AA genotipi saptanmadı. Bu grubun kontrol bireylerinde GG genotipi 95, GA genotipi ise 5 bireyde saptanırken, mutant AA genotipi saptanmadı. Allel sıklıklarının TGK ve kontrol grubuna ait değerleri sırasıyla "G" alleli için % 97,32 ve %97,5 ; "A" alleli için sırasıyla %2,69 ve %2,5 olarak belirlendi.

TGK grubunda 205 bireyin 6'sında birden fazla mutasyon bulunuyordu. Bunlardan 1'i hem MTHFR C677T hem de FVL açısından heterozigot; 3'ü FVL açısından heterozigot, MTHFR C677T için homozigot mutant; 1'i FVL için homozigot mutant, MTHFR C677T için heterozigot; 1 hasta FVL ve Prt G20210A için heterozigot, MTHFR C677T için homozigot mutant olarak saptandı. Kontrol grubunda 7 birey FVL ve MTHFR C677T için heterozigot, 2 birey Prt G20210A ve MTHFR C677T için heterozigot, 1 birey ise üç mutasyon için de heterozigot genotipe sahipti. Kontrol grubunda kombine mutasyon olarak MTHFR C677T mutasyonu için homozigot genotip ile birlikte FVL ve Prt G20210A gen mutasyonları gözlenmedi.

İstatistiksel değerlendirme sonucunda allel sıklıkları açısından çalışılan mutasyonlar ile TGK arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. TGK ile kontrol grubu arasındaki ilişki; MTHFR C677T genotipleri açısından Pearson ki-kare testi ile ( $p=0,120$ ), Prt G20210A genotipleri açısından Fisher Exact test ile ( $p=1,000$ ) ve mutant genotip frekansının düşük olduğu FVL G1691A açısından, G testi ile ( $p=0,671$ ) analiz edildi. (Tablo II).

**Tablo II.** İncelenen gen bölgelerine ait genotip bulguları.

Gen	Genotip	TGK		Kontrol		p
		n	%	n	%	
MTHFR C677T	CC	105	51,22	58	58,00	0,120
	CT	81	39,51	39	39,00	
	TT	19	9,27	3	3,00	
FVL G1691A	GG	182	88,78	89	89,00	0,671
	GA	22	10,73	11	11,00	
	AA	1	0,49	0	0,00	
Prt G20210A	GG	194	94,63	95	95,00	1,000
	GA	11	5,37	5	5,00	
	AA	0	0,00	0	0,00	

TGK: Tekrarlayan gebelik kaybı.

### Tartışma

Gebelik koagülasyon artışına neden olan bir durumdur. Diğer yandan fetusun gelişimi ve doğuma ulaşması plasental kanlanmanın uygun olmasına bağlıdır. Bu nedenle trombofil risk faktörleri gebeliğin sağlıklı olarak ilerlemesi ve sonlanması açısından önem kazanmaktadır ve böylece trombofilik faktörlerin varlığı TGK için risk oluşturmaktadır. Gebelikte en çok araştırılan trombofilik faktörleri FVL, MTHFR C677T ve Prt G20210A mutasyonlarıdır ancak daha önce yapılan araştırmaların bir kısmı bu mutasyonlar ile TGK arasında bağlantı bulurken bir kısmı bulamamıştır. (1, 3, 4, 6, 7). Bizim çalışmamızda da TGK ve kontrol grubu ile taranan mutasyonlar arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmadı ( $p>0,05$ ; Tablo II).

FVL mutasyonunun tek başına %25- 48 gibi değişen oranlarda TGK'na neden olabileceği ileri sürülmektedir (2,8). Bununla birlikte bu ikisi arasında ilişkinin olmadığını ileri süren çalışmalar da bulunmaktadır (9). Bizim çalışmamız da bu bulguları desteklemektedir. FVL mutasyonları özellikle ikinci trimester gebelik kayıpları veya plasenta yetmezliğinden sorumlu tutulmaktadır (4, 8). Çalışmamızda FVL heterozigot oranı TGK grubunda %10,73 iken kontrol grubunda %11 olarak bulunmuştur. Bu oranlar daha önce sağlıklı kontrol grubu için bildirilen

oranlardan biraz yüksektir. Bunun nedeninin çalışılan olgu sayısının farklılığına olabileceğini düşünüyoruz (10).

Önceki çalışmalarda Prt G20210A mutasyonunun TGK riskini 2-3 kat arttırdığı ileri sürülmüştür (2, 11). Bununla birlikte çalışmamızda TGK ve kontrol grubu arasında allel sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır. Bulgularımız daha önce bildirilen TGK riski ile Prt G20210A mutasyonu arasında ilişki olmadığını öne süren çalışmayı desteklemektedir (11). Saptadığımız oranlar daha önce ülkemizde yapılan çalışmalarda saptanan oranlardan yüksek bulunmuştur (13). Çalışmamızdaki olgu sayısının daha az olmasının oranların yüksek çıkmasına neden olduğunu düşünüyoruz.

Hiperkoagülasyon ve trombofilik için risk faktörü olan MTHFR C677T mutasyonları ile TGK arasında ilişki açısından önceki yayınlarda çelişkili sonuçlar bildirilmiştir (9, 12). Bazı çalışmalar mutasyonun homozigot genotipte olması veya diğer mutasyonlarla birlikteliğinin, TGK riskini arttırdığını ileri sürerken, diğer çalışmalar bu verilerin TGK için risk oluşturmadığını bildirmektedir (2). Daha önce ülkemizde yapılan çalışmada saptanan genotip sıklıkları bizim bulgularımızla benzer oranlarda bildirilmiştir (14).

Fetal gelişim için çok önemli olan metilasyon mekanizmaları ile doğrudan ilgili MTHFR mutasyonu ilk trimester düşüklerinde daha etkin rol oynayabilir. Böylece MTHFR C677T mutasyonu, metilasyon mekanizmasına katkısı ve homosistein düzeylerini artırarak hem venöz hem de arteriyel trombüslere neden olabileceği açısından, fetusun gelişimine birçok yönden zarar verebileceği ileri sürülmektedir. Bununla birlikte Kutteh ve arkadaşları 50 TGK ve 50 kontrol üzerinde yaptıkları çalışmada MTHFR C677T homozigot ya da heterozigot mutasyonunun erken gebelik kaybı ile ilişkisi olmadığını belirlemişlerdir. Tepeli ve arkadaşları Eskişehir bölgesinde, üç veya daha fazla düşük öyküsü olan 101 olguda yaptıkları çalışmada MTHFR C677T ve MTHFR A1298C mutasyonları ile TGK arasında ilişki bulamamışlardır. Çalışmamızın sonuçları da bu bulguları desteklemektedir (7, 9).

Sotiriadis ve arkadaşları 5 trombofilik mutasyonunu (FVL, FV A1299H, Prt G20210A, MTHFR C677T, MTHFR A1298C) araştırdıkları çalışmalarında kombine mutasyonların TGK ile ilişkili olmadığını saptamışlardır (15). Birden fazla trombofilik mutasyonunun birlikteliği

açısından değerlendirildiğinde çalışmamızda da TGK ve kontrol grubu arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Ancak, MTHFR homozigot mutasyonu, TGK grubunda kombine mutasyonların bir parçası iken, kontrol grubunda MTHFR homozigotluğu hiç saptanmadı. Homozigot MTHFR C677T mutasyonunun diğer trombofilik mutasyonlarla birlikteliği, trombofili riski açısından tek başına olmasından daha yüksek riskli bir durumdur (12,16). Kontrol grubunda MTHFR C677T homozigot mutasyonunun saptanmaması bu anlamda değerli olabilir. Ancak kombine mutasyona sahip birey sayısının her iki grupta da az olması nedeniyle vaka sayısının artırılması bu açıdan daha doğru değerlendirme yapılmasını sağlayacaktır.

Yapılan çalışmalarda TGK ile trombofili mutasyonları arasındaki bağlantı açısından çelişkili bulgular sunulmuştur. Bu nedenle TGK olan olgularda antikoagülan tedavilerin etkili olduğu bildirilmiş olsa da anfraksiyone heparin ve aspirin tedavisinin sonraki gebelik kayıplarını ancak %54 oranında azaltabildiği, düşük molekül ağırlıklı heparinin ise %35 oranında azaltabildiği bildirilmiştir. Tedavi seçeneklerinde de, yapılan çalışmalardakine benzer biçimde değişken bildiriler bulunmakta, TGK'nda antikoagülan tedavi amprik kalmaktadır (17, 18).

Literatürde çalışmamızı destekleyen ve desteklemeyen çelişkili sonuçlar bildirilmiştir (16, 18, 19). Bu çeşitlilik temelde seçilen hasta ve kontrol gruplarının farklı olması ile açıklanabilir. Ayrıca Goodman ve arkadaşlarının 550 TGK'lı kadında yaptıkları çalışma sonucunda, FVL, Prt G20210A ve MTHFR C677T mutasyonuna bakılarak trombofiliye bağlı TGK'larının sadece %15'inin saptanabildiğini ileri sürmüşlerdir (12). Bu üç mutasyon açısından mutasyonu bulunmayan hastalar aslında diğer trombofilik genetik risk faktörleri açısından riskli olabilirler. Sonuç olarak, TGK'ların trombofiliye bağlı genetik alt yapısı araştırılırken, pıhtılaşmadan sorumlu diğer genetik nedenler, genler arası ilişkiler, anne ve babanın genetik katkısı, fetal genotipin etkisi ve etnik farklılıklar göz önünde bulundurulmalıdır.

## Kaynaklar

1. Carp H, Salomon O, Seidman D, Dardik R, Rosenberg N, Inbal Aida. Prevalence of genetic markers for thrombophilia in recurrent pregnancy loss. *Hum Reprod* 2002; 17: 1633- 1637.
2. Bick RL, Hoppensteadt D. Recurrent miscarriage syndrome and infertility due to blood coagulation protein/platelet defects: A review and update. *Clin App Thromb Hemost* 2005; 11: 1- 13.
3. 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. *Hum Reprod* 2000; 15: 458-462.
4. Pauer HU, Voig-Tschitschwitz T, Hinney B, et al. Analyzes of three common thrombophilic gene mutations in German women with recurrent abortions. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2003; 82: 942- 947.
5. Den Heijer M, Graafsma S, Lee SY, et al. Homocysteine levels-before and after methionine loading--in 51 Dutch families. *Eur J Hum Genet* 2005 13: 753- 762.
6. Kujovich JL. Thrombophilia and pregnancy complications. *Am J Obstet Gynecol* 2004; 191:412- 424.
7. Tepeli E, Müslümanoğlu MH, Uludağ A, Atlı E, Uzun D, Artan S. Eskişehir ilinde idiyo patik tekrarlayan gebelik kayıpları ile Metilentetrahidrofolat redüktaz (MTHFR) C677T ve A1298C polimorfizmleri arasındaki ilişki. *Osmangazi Tıp Dergisi* 2007; 29:1-11.
8. Sarig G, Younis JS, Hoffman R, Lanir N, Blumenfeld Z, Brenner B. Thrombophilia is common in women with idiopathic pregnancy loss and is associated with late pregnancy wastage. *Fertil Steril* 2002; 77:342-347.
9. Kutteh WH, Park VM, Deitcher SR. Hypercoagulable state mutation analysis in white patients with early first-trimester recurrent pregnancy loss. *Fertil Steril* 1998; 71: 1048-1053.
10. Kalkanli S, Ayyildiz O, Tiftik N, et al. Factor V Leiden Mutation in venous Thrombosis in Southeast Turkey. *Angiology* 2006; 57: 193-196.
11. Greer IA. Thrombophilia: implications for pregnancy outcome. *Thromb Res* 2003; 109:73-81.
12. Goodman CS, Coulam CB, Jeyendran RS, Vida AA, Roussev R. Which thrombophilic gene mutations are risk factor for recurrent pregnancy loss? *Am J Rep Immunol* 2006; 56:230-236.
13. Ayyıldız O, Kalkanlı S, Batun S, et al. Prothrombin G20210A gene mutation with LightCycler polymerase chain reaction in venous thrombosis and healthy population in the southeast of Turkey. *Heart Vessels* 2004;19: 164-166.
14. Sazcı A, Ergul E, Kaya G, Kara I. Genotype and allele frequencies of the polymorphic methylenetetrahydrofolate reductase gene in Turkey. *Cell Biochem Funct* 2005; 23:51-54.
15. Sotiriadis A, Vartholomatos G, Pavlou M, et al. Combined thrombophilic mutations in women with unexplained recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol* 2007; 57:133- 141.
16. Preston FE, Rosendaal FR, Walker ID, et al. Increased fetal loss in women with heritable thrombophilia. *Lancet* 1996; 348: 913-916.
17. Brenner B. Clinical management of thrombophilia-related placental vascular complications. *Blood* 2004; 103:4003-4009.
18. Jauniaux E, Farquharson RG, Christiansen OB, Exalto N. Evidence-based guidelines for the investigation and medical treatment of recurrent miscarriage. *Human Reprod* 2006; 21:2216-2222.
19. Altintas A, Pasa S, Akdeniz N, et al. Factor V Leiden and G20210A prothrombin mutations in patients with recurrent pregnancy loss: data from the southeast of Turkey. *Ann Hematol* 2007; 86:727-731.