

# Trombofilia e infertilità

Marco Palumbo, Marta Fauzia

CENTRO DI FISIOPATOLOGIA DELLA RIPRODUZIONE UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI CATANIA

---

## ABSTRACT

{ITA} Si definisce trombofilia la tendenza al tromboembolismo arterioso e/o venoso determinata da cause congenite o acquisite del sistema della coagulazione o della fibrinolisi. Dal 1965, anno in cui è stata identificata la prima causa di trombofilia congenita, ovvero il deficit di antitrombina, abbiamo assistito ad una sostanziale evoluzione della trombofilia stessa e dall'iniziale idea di condizione patologica monogenica, si è dimostrato che la trombofilia in realtà è una malattia poligenica e complessa che coinvolge potenzialmente centinaia di polimorfismi e mutazioni rare, nonché multipli fattori acquisiti e scatenanti. Molte volte l'esistenza di uno stato trombofilico è un riscontro laboratoristico prima che clinico poiché, anche se è presente un'alterazione dell'equilibrio del sistema coagulativo verso uno stato protrombotico, vi sono numerosi meccanismi compensatori che mantengono il soggetto del tutto asintomatico. Affinché si sviluppi la manifestazione trombotica, è in genere necessario che nello stesso individuo coesistano più fattori trombofilici. Oggi, la trombofilia viene ritenuta possibile responsabile di sterilità e viene presa in considerazione quando si escludono altre cause di sterilità femminile o dopo ripetuti fallimenti di PMA. I meccanismi attraverso cui determina sterilità sono diversi: da un lato, porta ad una vascolarizzazione perifollicolare inadeguata che si traduce in danno ipossico e riduzione della qualità oocitaria; dall'altro, altera a livello uterino il processo di vascolarizzazione necessario per il successo della gravidanza e quindi ostacola l'impianto embrionale. Inoltre, recenti studi hanno dimostrato che il pattern trombofilico responsabile di alterazioni microcircolatorie, può influire nell'alterare la neoangiogenesi luteale.

{ENG} Thrombophilia is defined as the tendency to arterial and/or venous thromboembolism determined by inherited or acquired causes of coagulation system or fibrinolysis. Since 1965, when antithrombin deficiency was identified as the first cause of inherited thrombophilia, we have assisted in a substantial evolution of thrombophilia. From the original monogenic view, it has been demonstrated that thrombosis is a polygenic and complex disorder that involves potentially hundreds of polymorphisms and rare mutations, as well as multiple acquired and triggering factors. Many times the existence of a thrombophilic state is a laboratory definition before clinical because, even if there is an alteration of the balance of the coagulation system to a prothrombotic state, there are many compensatory mechanisms which maintain the subject totally asymptomatic. In order to develop the thrombotic event, it is generally necessary that coexist in the same individual of more thrombophilic factors. Today, thrombophilia is considered possible responsible for infertility and it is taken into account when you exclude other causes of female infertility or after repeated failures to PMA. The mechanisms through which it determines sterility are different: on the one hand, leads to an inadequate vascularization perifollicular which results in hypoxic damage and reduction of oocyte quality; on the other hand, it alters, at uterine level, the vascularization process necessary for a successful pregnancy and then it inhibits the embryonic implantation. Furthermore, recent studies have shown that the thrombophilic pattern, responsible for microcirculatory alterations, can alter the luteal neoangiogenesis.

---

## INTRODUZIONE

**D**al 1965, anno in cui è stata identificata la prima causa di trombofilia congenita, ovvero il deficit di antitrombina, abbiamo assistito ad una sostanziale evoluzione della trombofilia stessa.

Dall'iniziale idea di condizione patologica monogenica, si è dimostrato che la trombofilia in realtà è una malattia poligenica e complessa che coinvolge potenzialmente centinaia di polimorfismi e mutazioni rare, nonché multipli fattori acquisiti e scatenanti [1].

È un fattore di rischio per malattie cardiovascolari, come la trombosi venosa profonda [2], eventi tromboembolici [3] e di-

sordini della riproduzione, come aborti ricorrenti [4,5] e fallimenti ricorrenti dell'impianto [6].

## TROMBOFILIA

**S**i definisce trombofilia la tendenza al tromboembolismo arterioso e/o venoso determinata da cause congenite o acquisite (tabella 1) del sistema della coagulazione o della fibrinolisi. La prima causa di trombofilia congenita, la carenza congenita di Antitrombina III, è stata descritta nel 1965 in Norvegia in una famiglia caratterizzata dalla comparsa di trombosi venose ed embolie polmonari che tendevano a recidivare in giovani di ambedue i sessi. Si è dovuto attendere 16

anni per individuare altre cause; nel 1981 e poi nel 1984 negli Stati Uniti sono state individuate la carenza di Proteina C e la carenza di Proteina S, trasmesse con modalità autosomica dominante come la carenza di Antitrombina III. Più recentemente, gruppi Svedesi, Olandesi e Italiani hanno dimostrato che ben il 30-50% dei casi di trombofilia congenita erano associati alla resistenza plasmatica all'azione anticoagulante della Proteina C Attivata, determinata da una mutazione nel gene del fattore V (generalmente conosciuta come Fattore V di Leiden, dalla città dove è stata descritta). Inoltre, nel 20-30% dei casi, una mutazione puntiforme della protrombina è ritenuta responsabile dello stato di ipercoagulabilità. Infine, una causa importante e frequente di trombofilia è l'iperomocisteinemia, congenita o acquisita [7].

I geni coinvolti nella genesi della trombofilia sono molteplici ed appare evidente come mutazioni di geni differenti siano associate a diverse manifestazioni cliniche, così come riportato nella tabella 2. Inoltre, precisiamo che le mutazioni geniche dei fattori anticoagulanti sono solitamente associate ad una perdita di funzione, al contrario di quelle dei fattori procoagulanti che, di solito, si associano ad un guadagno di funzione e sono più diffuse nella popolazione generale.

#### MUTAZIONI DEL F5 R506Q (FATTORE V LEIDEN) E DEL F2 G20210A

**I**l fattore V attivato è un cofattore essenziale per l'attivazione della protrombina (fattore II) a trombina. Il suo effetto procoagulante è normalmente inibito dalla Proteina C attivata che scinde il fattore V attivato in tre parti. Un sito di taglio è localizzato nell'aminoacido arginina alla posizione 506 [8,9].

La mutazione R506Q (G1691A) del fattore V è il fattore di rischio protrombotico prevalente nella popolazione caucasica (3-7%); molto rara in popolazioni native africane e asiatiche [10]. Nella maggior parte dei casi viene trasmessa come carattere autosomico dominante; raramente si tratta di una mutazione accidentale.

La mutazione in questione avviene a livello della tripletta nucleotidica che codifica per l'arginina in 506 (nucleotide 1691), con sostituzione di una G (guanina) con una A (adenina), comporta la sostituzione dell'arginina con un altro aminoacido, la glutammina, che impedisce il taglio da parte della Proteina C attivata. Ne consegue, nei test di laboratorio, una resistenza alla

proteina C attivata (APC) associata ad una maggiore attività procoagulante del fattore V attivato che predispone alla trombosi, soprattutto a livello placentare durante la gravidanza [11]. Recentemente sono state individuate altre due mutazioni del fattore V associate a trombofilia.

La prima, H1299R, consiste nella sostituzione di una adenina con una guanina in posizione nucleotidica 4070 nell'esone 13. Tale sostituzione implica, a livello proteico, l'inserimento di una arginina al posto di una istidina in posizione aminoacidica 1299.

La seconda, Y1702C, consiste nella sostituzione di una adenina con una guanina in posizione 5279 del gene e comporta a livello proteico la sostituzione di una tirosina con un residuo di cisteina in posizione 1702 del fattore V della coagulazione. Evidenze genetiche, strutturali e funzionali supportano ad oggi l'associazione della mutazione Y1702C del Fattore V con un rischio aumentato di 3-4 volte di sviluppare eventi trombotici [12].

La protrombina (fattore II) è una glicoproteina vitamina k-dipendente sintetizzata dal fegato; si trova in forma solubile nel sangue e, ove vi è un danno a livello dei vasi sanguigni,

#### Stati trombofilici congeniti

- » Mutazione MTHFR (C677T;A1298C)
- » Mutazione FV (G1691A (Leiden);H1299R)
- » Mutazione FII (G20210A)
- » Polimorfismo β-fibrinogeno (G455A)
- » Polimorfismo FXIII (V34L)
- » Polimorfismo PAI-1 (4G/5G)
- » Polimorfismo HPA-1 (a/b)
- » Polimorfismo ACE (Ins/Del)
- » Deficit di ATIII
- » Deficit di Prot C
- » Deficit di Prot S

#### Stati trombofilici acquisiti

- » Sindrome da anticorpi antifosfolipidi
- » Iperomocisteinemia
- » In associazione con stimoli fisiologici o farmacologici (gravidanza, uso di estrogeni, stati post-operatori, traumi, immobilizzazione, età avanzata)
- » In associazione con altre condizioni cliniche (tumori e chemioterapia antitumorale, sindrome nefrosica, iperviscosità, diabete, iperlipidemia, insufficienza cardiaca, PTT)

Tabella 1: Fattori congeniti e acquisiti della trombofilia.

Recidive	Deficit AT III	Deficit Proteina C	Deficit Proteina S	Mutazione F5 (G1691A)	Mutazione F2 G20210A	Elevati livelli F XIII
Prevalenza nella popolazione generale	0.02 %	0.2 %	0.03 – 0.13 %	3 – 7 %	0.7 – 4 %	In base ai livelli di cut-off scelti
Rischio relativo primo evento trombotico	5 – 10	4 – 6.5	1 - 10	3 - 5	2 - 3	5
Rischio relativo eventi trombotici ricorrenti	1.9 – 2.6	1.4 – 1.8	1.0 – 1.4	1.4	1.4	1.3 – 6.7
Rischio relativo trombosi arteriosa	Nessuna associazione	Associazione non consistente	Associazione non consistente	1.3	0.9	3.1
Rischio relativo complicanze ostetriche	1.3 – 3.6	1.3 – 3.6	1.3 – 3.6	1.0 – 2.6	0.9 – 1.3	1.1 – 1.2

Tabella 2: Prevalenza della trombofilia e rischi relativi stimati per le varie manifestazioni cliniche.

viene convertita dal complesso protrombinasi in trombina, una serinproteasi chiave nel processo di coagulazione.

La prevalenza della mutazione del gene del fattore II è elevata nella popolazione generale con stime che vanno dal 0.7% al 4% nelle popolazioni caucasiche; si eredita come carattere autosomico dominante.

Le regioni 5' e 3'UT dei geni sono associate con la regolazione dell'espressione genica, quindi si può ipotizzare che la transizione nucleotidica G20210A nella regione UT 3' del gene della protrombina potrebbe portare ad un aumento della sua espressione. Non vi è, tuttavia, alcuna prova diretta a sostegno di questa ipotesi (Poort et al.1996).

Alternativamente, e forse ancora più probabilmente, l'allele 20210A può essere in linkage disequilibrium con una variazione di un'altra sequenza sconosciuta, che, a sua volta, è direttamente legata all'aumentato rischio trombotico. Anche se il linkage disequilibrium è un caso, l'allele 20210 rimane un marker valido per valutare l'aumento del rischio trombotico.

#### MUTAZIONI DEI FATTORI ANTICOAGULANTI (ATIII; PC; PS)

**I**l deficit dei fattori anticoagulanti, antitrombina III (ATIII), proteina C (PC) e proteina S (PS), è legato a più di 100 mutazioni nei rispettivi geni (SERPINC1, PROC e PROS1). La loro prevalenza nella popolazione europea è bassa, 0,02% per AT, 0,2-0,4% per PC e 0,03 -0,13% per il deficit di PS [13].

L'Antitrombina III (AT III), membro della superfamiglia degli inibitori delle serinproteasi (serpine), è il più importante inibitore fisiologico della trombina (fattore II) ma inibisce anche altre serinproteasi, facenti parte del sistema della coagulazione, come i fattori IXa, Xa, XIa e XIIa. Il deficit di AT III è un disordine ereditario, trasmesso con modalità autosomica dominante, di cui se ne conoscono due tipi: il tipo I, più comune, è un deficit quantitativo caratterizzato da livelli plasmatici di AT III inferiori al 50% rispetto al normale; il tipo II, è un deficit funzionale caratterizzato da livelli plasmatici di AT III nel range della normalità ma con funzionalità compromessa a causa di un'anomalia del sito reattivo (Tipo II variante RS) o del sito legante l'eparina (Tipo II variante HBS).

La Proteina C (PC) è una glicoproteina vitamina k-dipendente, sintetizzata dal fegato. La PC è attivata dal complesso trombina/trombomodulina, proteoglicano di membrana dell'endotelio vasale, presente sulla superficie endoteliale; inoltre, il legame della PC col suo recettore endoteliale (EPCR), una proteina transmembrana di tipo I altamente espressa sull'endotelio dei grandi vasi, ne migliora 10 volte l'attivazione. Dopo essere stata liberata dall'EPCR, la Proteina C attivata (APC) può legarsi al suo principale cofattore, la Proteina S, assieme al quale esplica la sua azione anticoagulante, ovvero impedisce la formazione della trombina (la trombina inibisce se stessa) attraverso l'inibizione dei fattori della coagulazione Va e VIIIa. Il deficit di PC è un disordine ereditario, trasmesso con modalità autosomica dominante, di cui se ne conoscono due tipi: il tipo I, più comune e dovuto ad una ridotta sintesi o ridotta stabilità della PC, è un deficit quantitativo caratterizzato da una riduzione dell'attività della PC e dei livelli antigenici in egual misura; il tipo II, è un deficit qualitativo legato alla sintesi di molecole anomale di PC e caratterizzato da una riduzione maggiore

dell'attività della PC rispetto a quella dei livelli antigenici.

La Proteina S (PS) è una glicoproteina vitamina k-dipendente sintetizzata dal fegato e riscontrata anche nelle cellule endoteliali e nelle piastrine. La PS circola in forma libera (40%), con attività di cofattore della PCA nell'inibizione dei fattori Va e VIIIa, e legata alla proteina di fase acuta legante il C4b (60%), senza svolgere la suddetta attività. Inoltre può inibire i complessi protrombinasi e tenasi, indipendentemente. Il deficit di PS è un disordine ereditario, trasmesso con modalità autosomica dominante, di cui ne sono stati descritti tre tipi: il tipo I, è un deficit quantitativo caratterizzato da una riduzione dei livelli ematici della PS totale e libera; il tipo II, è un deficit qualitativo, molto raro e difficile da diagnosticare, caratterizzato da una riduzione dell'attività della PS, con normali livelli ematici della PS totale e libera; il tipo III, è un deficit quantitativo caratterizzato da una riduzione dei livelli della PS libera, con livelli normali della PS totale.

#### TROMBOFILIA E FERTILITÀ

**O**ggi, la trombofilia viene ritenuta possibile responsabile di sterilità e viene presa in considerazione quando si escludono altre cause di sterilità femminile o dopo ripetuti fallimenti di PMA [14,15].

La gravidanza è un fattore di rischio significativo per il tromboembolismo venoso, con un tasso di trombosi venosa di circa 1:1000 gravidanze [16]. Questo è legato alla combinazione di stasi venosa e ipercoagulabilità plasmatica, visto che fisiologicamente in gravidanza si hanno modificazioni dei fattori anti e procoagulanti e dei fattori fibrinolitici; ciò sembra essere rilevante nel ridurre il rischio di emorragia durante la gravidanza e il parto. Tuttavia, la tromboembolia venosa (TEV) resta la causa più comune di morte materna durante la gravidanza e il post-partum.

Quindi, la gravidanza stessa è caratterizzata da uno stato di lieve ipercoagulabilità e conseguente aumento del rischio trombotico (5-6 volte maggiore rispetto a donne della stessa età non gravide); questo può essere aggravato dalla presenza di uno stato trombofilico ereditario o acquisito [17].

Molte volte l'esistenza di uno stato trombofilico è un riscontro laboratoristico prima che clinico poiché, anche se è presente un'alterazione dell'equilibrio del sistema coagulativo verso uno stato protrombotico, vi sono numerosi meccanismi compensatori che mantengono il soggetto del tutto asintomatico [18]. Affinché si sviluppi la manifestazione trombotica, è in genere necessario che nello stesso individuo coesistano più fattori trombofilici; alcuni di questi, specie quelli congeniti, sono frequenti nella popolazione generale, e, quindi, vi è un'elevata possibilità che coesistano fra di loro o con i fattori trombofilici acquisiti, rompendo così l'equilibrio coagulativo e portando alle manifestazioni cliniche. La trombofilia può essere causa di sterilità per diversi motivi: da un lato, porta ad una vascolarizzazione perifollicolare inadeguata che si traduce in danno ipossico e riduzione della qualità ovcitaria; dall'altro, altera a livello uterino il processo di vascolarizzazione necessario per il successo della gravidanza e quindi ostacola l'impianto embrionale [19]. Inoltre, recenti studi hanno dimostrato che il pattern trombofilico responsabile di alterazioni microcircolatorie può influire nell'alterare la neoangiogenesi luteale [20].

## TROMBOFILIA E QUALITÀ OVOCITARIA

L'ovocita è il risultato della gametogenesi, un processo complesso che nella donna ha inizio già nella vita embrionale e si completa ciclicamente ogni mese.

Durante il suo sviluppo, l'ovocita si trova all'interno di un follicolo che evolve da follicolo primario a secondario o vescicoloso fino a diventare preovulatorio o maturo; la vascolarizzazione aumenta contestualmente allo sviluppo ovocitario e follicolare, infatti ad ogni ciclo ovarico si forma un nuovo supporto vascolare, a partire da vasi preesistenti, attraverso il rimodellamento di un plesso primitivo.

La maturazione dei follicoli preovulatori richiede lo sviluppo di una microvascolarizzazione adeguata, ovvero sufficiente per una distribuzione di livelli appropriati di ormoni, lipoproteine leganti il colesterolo e O<sub>2</sub>, infatti la qualità ovocitaria è sensibile al danno ipossico.

Pertanto, è stato suggerito che le mutazioni trombofiliche, responsabili di un'inappropriata vascolarizzazione perifollicolare, determinano ipossia intrafollicolare con conseguente riduzione del metabolismo e del pH intracellulare; questo da un lato porta a una riduzione della capacità di fertilizzazione, dall'altro ad un incremento dell'incidenza dei disordini citoplasmatici e cromosomici con produzione di embrioni con blastomeri multinucleati e con limitate capacità di sviluppo [21].

## TROMBOFILIA E DIFFICOLTÀ ALL'IMPIANTO

L'impianto è quel processo per mezzo del quale l'embrione aderisce alla mucosa uterina, penetra nel suo epitelio e, quindi, avanza più profondamente raggiungendo la circolazione materna nella zona ove si formerà la placenta. Nella maggior parte dei casi avviene lungo la linea mediana dell'utero, sulla parete posteriore, e si realizza in un tempo limitato e collocato in un periodo ben preciso del ciclo mestruale, la cosiddetta "finestra endometriale": un periodo compreso tra il 20° e il 24° giorno circa, in un presunto ciclo di 28 giorni. Nel sito d'impianto, un'adeguata invasione trofoblastica necessita la presenza di un equilibrio, finemente regolato, tra coagulazione, anticoagulazione e fibrinolisi. Questo equilibrio può essere alterato dalla presenza di mutazioni genetiche trombofiliche; in particolare, alcuni ricercatori hanno trovato una correlazione tra trombofilia ereditaria e perdita della gravidanza prima dell'impianto [22,23] e dopo l'impianto [24-26], mentre altri non sono stati in grado di confermare tale connessione [27].

Mentre il meccanismo attraverso cui le mutazioni dei geni della trombofilia influenzano la frequenza di aborto spontaneo ricorrente si pensa essere correlato a fenomeni coagulativi a livello dei vasi placentari [28], i meccanismi coinvolti nel fallimento dell'impianto sembrano riguardare gli effetti dell'ipofibrinolisi nella migrazione trofoblastica [28-29].

Durante l'impianto, l'invasione trofoblastica determina la degradazione della matrice extracellulare, favorita dalle metalloproteinasi della matrice (MMP) [22][30]. L'espressione delle MMP sul sito d'impianto è stimolata dalla serinproteasi, plasmina. Quindi, l'impianto del trofoblasto dipende dalla produzione controllata di plasmina da parte del plasminogeno, un processo regolato dagli attivatori del plasminogeno (PA) e dagli inibitori degli attivatori (PAI).

Il PAI-1 è il principale inibitore del PA e quindi della fibrinolisi. L'alta espressione del PAI-1 si associa con l'inibizione della conversione del plasminogeno a plasmina e quindi ipofibrinolisi successiva. L'ipofibrinolisi come risultato della presenza dell'allele 4G del gene del PAI-1 sembra essere un fattore di rischio per il fallimento dell'impianto perché limita l'invasione trofoblastica [6]. Inoltre, per il miglioramento del tasso d'impianto, appare essere un fattore determinante una buona ossigenazione a livello follicolare. Pertanto, è stato suggerito che le mutazioni trombofiliche da un lato determinano un aumento dei fenomeni coagulativi a livello dei vasi placentari con comparsa di aborti spontanei ricorrenti, dall'altro riduzione dei processi di fibrinolisi con conseguente alterata migrazione trofoblastica e successivi fallimenti dell'impianto.

## TROMBOFILIA E DEFICIT DELLA FUNZIONE LUTEALE

Dopo l'ovulazione si assiste ad un processo attivo di neoangiogenesi e di invasione vascolare che porta alla formazione di una struttura riccamente vascolarizzata, qual è il corpo luteo, a partire da una struttura avascolare, qual è il follicolo [31]. Questo avviene perché alla perdita dell'integrità strutturale della membrana basale, che nel follicolo separa la teca dalla granulosa, segue l'espansione dei capillari della teca nello strato originariamente avascolare della granulosa [32;33]. L'intensa angiogenesi, entro un breve periodo, è seguita o dalla regressione controllata dell'albero microvascolare, in un ciclo non fertile, o dal mantenimento e dalla stabilizzazione della nuova vascolarizzazione, in un ciclo fertile [34]. Alla luce di quanto esposto appare chiaro che i fattori che regolano l'angiogenesi luteale svolgono un ruolo estremamente importante nella funzionalità del corpo luteo e di seguito nella fertilità. Quindi, la trombofilia può ritenersi causa di una possibile alterazione del corpo luteo visto che, essendo responsabile di alterazioni del microcircolo, interviene nel processo di neoangiogenesi luteale.

## CONCLUSIONI

Dai dati presenti in letteratura si può affermare che il pattern trombofilico può essere causa di infertilità, soprattutto nelle pazienti che hanno una storia di infertilità inspiegata o dopo ripetuti fallimenti di PMA.

La trombofilia può avere un ruolo importante sullo sviluppo follicolare, sulla qualità ovocitaria e sulle possibilità d'impianto. Studi più approfonditi in questo settore potranno aiutarci a comprendere ancor meglio i meccanismi alla base della qualità follicolare e ovocitaria, e a sviluppare nuovi protocolli che tengano conto di questi fattori nella selezione ovocitaria. I criteri per la selezione ovocitaria sono affidati sia al biologo, per una valutazione morfologica e biochimica degli ovociti, sia all'ecografista, per lo studio morfologico e vascolare dei follicoli. Oggi, nelle donne trombofiliche sottoposte a tecniche di PMA, si utilizza un approccio terapeutico basato sull'utilizzo di eparina a basso peso molecolare, acido acetilsalicilico, acido folico e complesso della vitamina B, in modo da ridurre lo stato ipercoagulativo così da migliorare la qualità ovocitaria, aumentare le possibilità d'impianto e ridurre le complicanze della gravidanza.

{BIBLIOGRAFIA}

1. Corral J, Vicente V. *Hematology* 2012; 1:163-6.
2. Sartori MT, Danesin C, Saggiorata G, Tormene D, Simioni P, Spiezia L, et al. The PAI-1 gene 4G/4G polymorphism in deep vein thrombosis in patients with inherited thrombophilia. *Clin Appl Thromb Hemost* 2003; 9:299-307.
3. Lindhoff-Last E, Luxembourg B. Evidence-based indications for thrombophilia screening. *VASA* 2008; 37:19-30.
4. Coulam CB, Jeyendran RS, Fishel LA, Roussev RG. Multiple thrombophilic gene mutations rather than specific gene mutations are risk factors for recurrent miscarriage. *Am J Reprod Immunol* 2006; 55:360-368.
5. 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; 56:230-236.
6. Coulam CB, Jeyendran RS, Fishel LA, Roussev RG. Multiple thrombophilic gene mutations are risk factors for implantation failure. *Reproductive Biomedicine Online* 2006; 12:322-327.
7. Pier Mannuccio Mannucci, Dipartimento di Medicina Interna, Università degli Studi di Milano e Centro Emofilia e Trombosi Angelo Bianchi Bonomi, IRCCS Ospedale Maggiore di Milano. *Trombofilie congenite e acquisite* 2010.
8. Elizabeth Varga. Inherited Thrombophilia, key points for genetic counseling. *Journal of Genetic Counseling* 2007; Vol. 16, No. 3.
9. Saskia Middeldorp and Astrid van Hylckama Vlieg. Does thrombophilia testing help in the clinical management of patients. *British Journal of Haematology* 2008; 143:321-335.
10. Rees DC The population genetics of factor V Leiden (Arg506Gln). *British Journal of Haematology* 1996; 95:579-586.
11. Sedano S, Gaffney G, Mortimer G, Lyons M, Cleary B, Murray M, Maher M. Activated Protein C Resistance (APCR) and placental fibrin deposition. *Placenta* 2008; 29:833-837.
12. *Genetica Medica, Trombofilia ereditaria*. 2010 Biodiversity.
13. Sarah A. Bennett, Catherine N. Bagot and Roopen Arya. Pregnancy loss and thrombophilia: the elusive link. *British Journal of Haematology* 2012; 157:529-542.
14. Toth B, Wurfel W, Germeyer A, Hirv K, Makrigiannakis A, Strowitzki T. Disorder of implantation – are there diagnostic and therapeutic options? *Journal of Reproductive Immunology* 2011; 90:117.
15. Casadei L, Puca F, Privitera L, Zamaro V, Emidi E, Infertility Center, Section of Gynecology and Obstetrics, Department of Surgery, Tor Vergata University Hospital, Rome, Italy. Inherited thrombophilia in infertile women, implication in unexplained infertility. *Fertility and Sterility* 2010; Vol.94, No.2 pp.123.
16. Greer IA: The challenge of thrombophilia in maternal-fetal medicine. *N Engl J Med* 2000; 342:424-425.
17. Pabinger Ingrid, Clinical Division of Haematology and Haemostaseology, Department of Internal Medicine I, Medical University of Vienna, Austria. Thrombophilia and its impact on pregnancy. *Thrombosis Research* 2009; 123, Suppl. 3, S16-S21.
18. Buchholz T, Thaler CJ. Inherited thrombophilia: impact on human reproduction. *AJRI* 2003; 50:20-32
19. Hussein S. Qublan, Suhair S. Eid, Hani A. Ababneh, Zouhair O. Amarin, Aiman Z. Smadi, Farakaid F. Al-Khafaji e Yousef S. Khader. Acquired and inherited thrombophilia: implication in recurrent IVF and embryo transfer failure. *Human Reproduction* 2006; Vol.21, No.10 pp.2694-2698.
20. Paoletti AM, Perseo M, Batzella E, Cabiddu E, Cornacchia S, D'Alterio M, Fancello P, Indelicato M, Lai MC, Neri M, Marrotto MF, Pilloni M, Orrù M, Melis GB, Zedda P. La fase luteale nella fisiologia e nella abortività: ruolo della secrezione luteale. *Bollettino di ginecologia endocrinologica* 2012; vol 6: 56-63.
21. Gruttadauria R., Trusso M., *Angiogenesi, Fenomeno dell'angiogenesi, Monografia*.
22. Aflalo ED, Sod-Moriah UA, Potashnik G, Har-Vardi I. Differences in the implantation rates of rat embryos developed in vivo and in vitro: possible role for plasminogen activators. *Fertility and Sterility* 2004; 1:780-785.
23. Grandone E, Colaizzo D, Lo Bue A et al. Inherited thrombophilia and in vitro fertilization implantation failure. *Fertility and Sterility* 2001; 76:201-202.
24. Reznikoff-Etievan MF, Cayol V, Carbonne B et al. Factor V Leiden and G20210A prothrombin mutations are risk factors for very early recurrent miscarriage. *British Journal of Obstetrics and Gynecology* 2001; 108:1251-1254.
25. Pihusch R, Buchholz T, Lohse P et al. Thrombophilic gene mutations and recurrent spontaneous abortion: prothrombin mutation increases the risk in the first trimester. *American Journal of Reproductive Immunology* 2001; 46:124-131.
26. Finan RR, Tamim H, Ameen G et al. Prevalence of factor V G1691A (factor V-Leiden) and prothrombin G20210A gene mutations in a recurrent miscarriage population. *American Journal of Hematology* 2002; 71:300-305.
27. Kutteh WH, Park VM, Deitcher SR. Hypercoagulable state mutation analysis in white patients with early first-trimester recurrent pregnancy loss. *Fertility and Sterility* 1999; 71:1048-1053.
28. Many A, Schrieber L, Rosner S et al. Pathologic features of the placenta in women with severe pregnancy complications and thrombophilia. *Obstetrics and Gynecology* 2001; 98:1041-1044.
29. Coulam CB, Jeyendran RS, American Society for Reproductive Medicine. Thrombophilic gene polymorphism are risk factors for unexplained infertility. *Fertility and Sterility* 2009; Vol.91, No.4, Supplement.
30. Chung HW, Wen Y, Ahn JJ et al. Interleukin-1 beta regulates urokinase plasminogen activator (u-PA), u-PA receptor, soluble u-PA receptor, and plasminogen activator inhibitor-1 messenger ribonucleic acid expression in cultured human endometrial stromal cells. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 2001; 86:1332-1340.

31. Duncan WC. The human corpus luteum: remodelling during luteolysis and maternal recognition of pregnancy. *Rev Reprod* 2000; 5: 12-17.
32. Reynolds LP et al. Angiogenesis in the corpus luteum *Endocrine* 2000; 12: 1-9.
33. Stouffer RL et al. Regulation and action of angiogenic factors in the primate ovary. *Arch Med Res* 2001; 32:567-575
34. Fraser HM and Wulff C., Medical Research Council Human Reproductive Sciences Unit, Centre for Reproductive Biology, Department of Obstetrics and Gynaecology of the University of Ulm, Germany, *Reproductive Biology and Endocrinology* 1: 88, Published online 2003 Angiogenesis in the corpus luteum, PubMed Central, (2003).