

Bibliografie

1. Ahn A.H., Kunkel L.M. The structural and functional diversity of dystrophin // Nature Genet.-1993.-Vol.3.-P.283-291.
2. Baumbach L.L., Chamberlain J.S., Ward P.A., Farwell N.J., Caskey C.T. Molecular and clinical correlations of deletions leading to Duchenne and Becker muscular dystrophies. // Neurology.- 1989.- Vol.39.- P.465-474.
3. Bosco, P.; Gueant-Rodriguez, R. M.; Anello, G.; Barone, C.; Namour, F.; Caraci, F.; Romano, A.; Romano, C.; Gueant, J. L. : Methionine synthase (MTR) 2756 (A-G) polymorphism, double heterozygosity methionine synthase 2756 AG/methionine synthase reductase (MTRR) 66 AG, and elevated homocysteinemia are 3 risk factors for having a child with Down syndrome. Am. J. Med. Genet. 121A, , 2003, c. 219-224.
4. F Muntoni, P Gobbi, C Sewry, T Sherratt, J Taylor, S K Sandhu, S Abbs, R Roberts, S V Hodgson and M Bobrow. Deletions in the 5' region of dystrophin and resulting phenotypes // Journal of Medical Genetics 1994;31:843-847; doi:10.1136/jmg.31.11.843
5. Mariska Klerk, MSc; Petra Verhoef, PhD; Robert Clarke, MD; Henk J. Blom, PhD; Frans J. Kok, PhD; Evert G. Schouten, MD, PhD; and the MTHFR Studies Collaboration Group JAMA. 2002;288:2023-2031.
6. Mattson M.P., Shea T.B. Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. Trends Neurosci 2003; 26: 137-146.].
7. Sacară V., Analiza molecular-genetică și clinică a familiilor cu distrofie musculară progresivă forma Duchenne în populația Republicii Moldova. (Autoreferat al tezei de doctor în științe medicale). Chișinău 2000
8. Спиридонова М.Г. и др. // Генетика, Т.40, №5, 2004 – с.704 – 708
9. Сакарэ В.К. //Молекулярно-генетические особенности миодистрофии Дюшенна/Беккера в Республике Молдова., Россия, Москва, Генетика, 2008, том 44, №10, С.1404-1409.

ROLUL FACTORILOR GENETICI ȘI NEGENETICI ÎN AVORTURILE SPONTANE RECURRENTE

(revista literaturii)

Elena Platon, Igor Cemortan, Svetlana Capcelea, Ludmila Rotaru

Catedra de Biologie moleculară și Genetică umană USMF “Nicolae Testemițanu”

Summary

The role of genetic and non-genetic factors in recurrent miscarriages (review)

Recurrent miscarriages (RM) are a devastating reproductive problem affecting ~1-2% of couples wishing children. Genetic factors appear to be highly associated with reproductive loss. The causes of RM are multiple, including chromosomal abnormalities, thrombophilia, metabolic disorders, anatomical causes and immune factors. Recently, research has generated interest in genetic markers for RM such as skewed X-chromosome inactivation and human leukocyte antigen-G polymorphisms. This complex reproductive disorder requires a multidisciplinary approach since such a number of factors may require evaluation and management.

Rezumat

Avorturile recurente (AR) reprezintă o problemă devastatoare reproductivă ce afectează ~1-2% din cuplurile care doresc copii. Factorii genetici par să fie frecvent asociați cu eșecurile reproductive. Cauzele AR însă sunt multiple, incluzând anomalii cromozomiale, trombofilia, boli metabolice, disfuncțiile endocrine, defecte anatomice, infecțiile și factori imunologici. Cercetările recente au evidențiat un interes sporit în identificarea markerilor genetici pentru AR, așa ca inactivarea preferențială a unui cromozom X și polimorfismele HLA. O astfel de

problemă reproductivă complexă necesită o abordare multidisciplinară în vederea evaluării și managementului factorilor etiologici.

Introducere

Avorturile spontane (AS) reprezintă o problemă medicală frecventă. Circa 15% cupluri vor trece prin experiența unui AS. În aceste condiții probabilitatea producerii a trei avorturi consecutive, definiția clasică ginecologică pentru termenul de avort recurent (AR), este de 1-2% (Brigham, 1999; Lejeune V, 2006), iar după alte surse chiar 5% (Sierra S, Stephenson M, 2006). Datele empirice demonstrează că existența în anamneză a unui AS crește riscul de recurență pentru sarcinile următoare de la 12% pînă la 24% după un AS, 32% după trei AS și pînă la 53% după șase și mai multe AS (Clifford et al., 1997).

Factorii ce cresc riscul de recurență a AR sunt:

- pierderea unui făt cu cariotip normal (Ogasawara et al., 2000);
- pierderile în trimestrul II și III;
- nașterea prematură în anamneză;
- problemele de infertilitate (Warburton and Strobino, 1987);
- vîrsta maternă avansată (Clifford et al., 1997; Nybo Anderson et al., 2000).

Conform unui studiu din Danemarca, din toate sarcinile raportate între anii 1978 și 1992, rata medie a AS a fost de 13,5%, variind în funcție de vîrsta maternă de la 8,9% între 20-24 ani, 50% la 42 de ani și pînă la 75% din sarcini la cele peste 45 de ani (Nybo Anderson et al., 2000). O creștere similară a riscului a fost raportată într-un studiu combinat din SUA și Canada, cu o dublare a ratei AS la femeile după 40 de ani (Clifford et al., 1997).

Cauzele cunoscute ale AR sunt complexe și multiple, totuși 30-50% din cazuri rămîn inexplicabile (Herz-Picciotto and Samuels, 1998). Astfel este evidentă necesitatea unei abordări multidisciplinare în evaluarea tuturor cuplurilor cu AR pentru identificarea cauzei implicate și stabilirea unei strategii adecvate de rezolvare a problemei.

Tabel 1. Incidența factorilor etiologici implicați în producerea AR

| Etiologia | Incidența (%) | Referințe |
|--|---------------|--|
| Factori genetici | 2.6–7.7 | Stray-Pedersen (1984), Orvieto et al. (1991) |
| Factori anatomici | 15.4–27 | Stray-Pedersen (1984), Orvieto et al. (1991) |
| Incopetența cervicală | 9–12 | |
| Sept uterin | pînă la 16,8 | |
| Leiomatoma uterină | pînă la 18 | |
| Infecțiile | < 1 | Stray-Pedersen (1984), Orvieto et al. (1991) |
| Factori endocrini | 5.1–35 | Stray-Pedersen (1984), Orvieto et al. (1991) |
| Disfuncții tiroidiene | 1.7 | |
| Deregulari a fazei luteale | 5–35 | |
| Factori imunologici | ~40 | Stray-Pedersen (1984), Orvieto et al. (1991) |
| Avorturi inexplicabile | 30–50 | Stray-Pedersen (1984), Orvieto et al. (1991) |
| Factori poluanți ai mediului | – a | Parazzini et al. (1991), Rock and Zacur (1983) |
| Factori psihogenetici | – a | Rock and Zacur (1983) |
| Endometrioza | – a | Dicker et al. (1992) |
| Ovare polichistice și hipersecreția LH | – a | Van Hooff et al. (1993) |

a – deoarece acești factori influențează doar riscul AR, incidența lor exactă nu se cunoaște.

Cauze anatomice

Tradițional defectele anatomice la mamă (asociate cu pierderile din trimestrul II de sarcină) și tulburările fazei luteale (pierderile I trimestru) au fost sugerate ca fiind cele mai frecvente cauze a AR, totuși datele despre frecvența acestora în populația normală nu permite

stabilirea unei corelații clare. Dintre defectele anatomice implicate cel mai frecvent au fost raportate anomaliile uterine, variații specifice a nedezvoltării Mulleriene, cu formarea unui uter bicorn, septat sau didelfic. Defecte structurale ale uterului au fost raportate în 15-30% din femeile cu AR, comparativ cu 0,5-2% din cele cu un uter normal (Stirrat, 1990; Makino, 1994). Sonohisterografia femeilor cu cel puțin două AS a relevat anomalii intrauterine în 50% cazuri (Keltz, 1997), sugerând o corelație cauzală. Corecția chirurgicală a anomaliilor uterine ar putea fi o opțiune rezonabilă după excluderea altor cauze a AR. Un studiu arată că ~70-85% din pacientele cu AR supuse corecției chirurgicale fie pentru un uter septat, fie bicorn au dat naștere unor copii viabili în sarcinile lor ulterioare (March and Israel, 1987). Astfel recunoașterea unei anomalii anatomice tratabile de regula previne precăutarea altor cauze.

Cauze endocrine

Problemele endocrine materne au fost sugerate ca fiind asociate cu AR. Progesteronul produs de corpul galben este esențial pentru procesul de implantare și menținerea ulterioară a sarcinii pînă la 8 săptămâni de gestație, cînd placenta devine funcțională. Deficitul de progesteron în faza luteină (LPD) este considerat de unii cercetători a fi responsabil de 20-40% din AS precoce (Daya et al., 1988; Check, 1994). Diagnosticul de LPD este stabilit de regula empiric, dar cere prezența biopsiei histologice endometriale în afara fazei, ideal în 2 din 3 cicluri menstruale consecutive. Alte studii au raportat ca pacientele cu AR și LPD devin însărcinate după urmarea unui tratament substitutiv cu progesteron, deși nu este o regulă (Ogasawara, 1997), în timp ce meta-analiza grupurilor de control au găsit terapia cu progesteron nu mai bună decît placebo (Goldstein et al., 1989). De asemenea, examenul USG a relevat ovare polichistice de la 44% la 56% dintre femeile cu AR, în comparație cu 20% din grupul de control (Johnson and Pearce, 1990; Clifford, 1994). Ovarele polichistice sunt asociate cu concentrația bazală crescută a hormonului luteinizant (Johnson and Pearce, 1990). Supresia pituitară cu bromocriptină reduce riscul AS la femeile cu această problemă.

Factorii genetici

Factorii genetici pot include în măsură egală mutații genice izolate, cât și anomalii cromozomiale parentale. În general ~50% din AS sunt cauzate de anomalii cromozomiale la făt (Eiben *et al.*, 1990). Iar la femeile cu AR 56.6% din produșii avortați au prezentat un cariotip anormal, cele mai frecvente fiind trisomia 16, 21, 22 și alți autozomi (cu excepția autozomilor 1, 5, 6, 11, 12, 19), trisomii duble, monosomia X și 21, triploidii și tetraploidii, anomalii structurale neechilibrate, mai rar echilibrate (Nagaishi M. *et al.*, 2004). Conform unui alt studiu frecvența AS la femei cu AR a fost de 67% în cazul produșilor avortați cu cariotip normal și 30% cu cariotip anormal (Morikawa M, Yamada H *et al.*, 2004). Riscul AS repetate pentru sarcinile următoare este totuși mai mare în cazul unui avort precedent citogenetic normal, sugerînd implicarea și altor factori în AR.

Numeroase studii au arătat că ~5-15% din cuplurile ce au suferit trei și mai multe avorturi unul din parteneri este purtător a unei anomalii cromozomiale echilibrate, în comparație cu mai puțin de 0,55% din populația generală (Fryns and Van Buggenhout, 1998). Aceste rearanjamente cromozomiale sunt de două ori mai frecvente la femeile ce au în anamneză AS (Simpson and Bombard, 1987). Rearanjamentele cromozomiale la bărbați ar putea fi asociate mai frecvent cu infertilitatea (Maier, 1987). Nașterea unor descendenți anormali este de cca. 4 ori mai probabilă în cazul mamei purtătoare de rearanjament cromozomial (Boue and Gallano, 1984).

Cele mai frecvente aberații cromozomiale observate sunt translocațiile reciproce sau Robertsoniene (Neri *et al.*, 1983), care predispun la gameți genetic neechilibrați și feteși neviabili. Fryns și Van Buggenhout (1998) au raportat ca dintre anomaliile cromozomiale observate la cupluri cu două și mai multe sarcini pierdute, 2/3 erau translocații autozomale echilibrate, cu incidența acestor translocații în acest grup fiind de 30 ori mai mare decît în populația generală. Studiile cuplurilor identificate ca purtători de translocații cromozomiale echilibrate indică că 80% dintre sarcinile lor se termină cu avort și doar 16% cu nașterea unui nou-născut sănătos. Riscul lor de a avea un copil anormal cu o anomalie cromozomială neechilibrată este relativ joasă (~ 4-6%) (Neri *et al.*, 1983). Totuși, doar 1/3 din aceste avorturi

sunt urmarea unui cariotip fetal anormal, asociat cu un rearanjament parental, astfel purtatorii de translocării sunt expuși unui risc crescut pentru alte tipuri de aneuploidii (Warburton and Strobino, 1987). Rata crescută a avorturilor, dar rata joasă a anomaliilor viabile, trebuie luate în considerație la consilierea unei sarcini în evoluție, la evaluarea riscului și la efectuarea unui diagnostic prenatal la acești pacienți. Tipul cromozomilor implicați în aceste translocării de asemenea influențează datele statistice. De exemplu, purtatorii translocării Robertsoniene 21/21 (ex., 45, XX, der(21/21)(q10;q10)) vor pierde jumătate din sarcinile lor din cauza monosomiei 21, în timp ce toți nou-născuții vii vor suferi de sindromul Down.

Inversiile cromozomiale au fost identificate în ~ 0.3% din AR (Maier, 1987) și prezintă un risc de la 4 la 8% pentru nașterea unui copil cu anomalii (Boue and Gallano, 1984). Acest risc depinde foarte mult de tipul inversiei, astfel inversiile paracentrice aproape în toate cazurile produc gameți neviabili (cu cromozomi acentrici sau dicentrici), spre deosebire de cele pericentrice. Cele mai frecvente inversii umane raportate sunt inv(9)(p12q13) și inv(2)(p11q12) sunt puțin probabil să fie asociate cu avorturi sau descendenți cu anomalii, deoarece bucla de inversie creată conține heterocromatină, în care crossing-overul este supresat.

Raporturile unor laboratoare citogenetice (Sachs et al., 1985; Wu et al., 1992 etc.) sugerează că mozaicismele crs.X cu procentaj mic sunt cele mai frecvente printre indivizii fenotipic normali ce au fost cariotipați în urma unei anamneze de AR vs. cei evaluați pentru alte indicații. Deși nu toate studiile sprijină această idee, dovezi despre implicarea aneuploidiilor cromozomilor sexuali au fost observate de asemenea în evaluarea cromozomială a spermatozoizilor (Rubio et al., 1999), relevând disomia X în ~ 0,8-1% în sperma bărbaților cu anamneză de AS vs. 0,4% în grupul de control.

Prezența patologiei ereditare cu viabilitate joasă în familie de asemenea se poate asocia cu AR. Cel mai frecvent e cazul patologiei X-linkate dominante, așa ca incontinența pigmenti, sindromul Rett sau sindromul Aicardi, unde fatușii de sex masculin sunt neviabili și doar cei de sex feminin supraviețuiesc. Inactivarea preponderentă a unui anumit crs.X (peste 90%) a fost observat la femeile cu anamneza de AR (Lanasa, Sangha et al., 1999) care probabil sunt rezultatul unui crs.X purtător a unei mutații de tip deleție. Analiza inactivării crs.X într-o familie a ajutat să identifice deleția în gena factorului de coagulare VIII. Toate femeile cu un crs.X deletat au arătat "inactivarea preferențială" a acestuia și creșterea statistică semnificativă a AS (Pegoraro et al., 1997).

Tabel 2. **Boli monogenice asociate cu avorturi spontane**

| Patologia | Modul de transmitere |
|---------------------------|--|
| Sindrom. Aicardi | X-linkat dominant |
| Chondrodysplasia punctata | X-linkat dominant |
| Hipoplazia dermală focală | X-linkat dominant |
| Incontinenți pigmenti | X-linkat dominant |
| Sindrom orofaciodigital | X-linkat dominant |
| Osteogenesis imperfecta | Autosomal recesiv |
| Sindrom Rett | X-linkat dominant |
| Talasemia majoră | Autosomal recesiv |
| Sindrom Wildervanck | X-linkat dominant sau poligenic, sex-limitat |

Factorii imunologici

Prezența anticorpilor (Ac) autoimuni cu sau fără alte stigmată ale bolilor autoimune reprezintă un factor de risc în AR. Nivelul crescut a Ac antifosfolipidici (în lupus anticoagulant) și Ac anticardiolipinici au fost raportate la femeile cu anamnestic avortiv (Brown, 1991; Creagh et al., 1991). Ambele clase enumerate de Ac produc o incidență crescută a evenimentelor trombotice cunoscând tromboze și infarcte placentare (Brown, 1991). Deși prezența acestor Ac pot provoca un avort în orice trimestru de sarcină, majoritatea lor se produc tardiv (Love and Santoro, 1990).

Sindromul antifosfolipidic (OMIM, 107320) se caracterizează prin formarea unui spectru de Ac direcționați împotriva componentelor celulare fosfolipidice, tromboza arterială și venoasă, AR, trombocitopenie imună în absența bolii reumatice a țesutului conjunctiv, care poate prezenta agregare familială (Parke et al., 1986; Mackie et al., 1987; Matthey et al., 1989) fiind cel mai probabil cu transmitere dominantă (Goel et al., 1999). Ac antifosfolipidici au fost detectați la 16% paciente cu trei și mai multe AS vs. 7% în grupul de control și doar 3% din femeile ce nu raportase vreodată o sarcină (Parke et al., 1986). Creagh et al. (1991) au raportat incidența femeilor cu lupus anticoagulant sau cardioliipinic de 7/35 și 6/35 respectiv, în grupul cu mai mult de două AS vs. 1/31 și 0/31 în grupul cu două și mai puține AS. O creștere a Ac antinucleari în ser a fost detectată la femeile cu istoric avortiv, chiar și atunci când avortul fusese explicat prin alte cauze (deficiențe ale fazei luteale sau anatomice) (Creagh et al., 1991). Unele studii au dovedit eficiența corticosteroizilor, heparinei, aspirinei și terapiei cu Ig în prevenirea avortului la femeile cu Ac autoimuni (Festin et al., 1997; Greaves, 1999; Wechsles et al., 1999).

Tabel 3. Factorii ce produc tulburări vasculare în placentă

| | |
|----------------------|--|
| Ac autoimuni | Anticardioliipinici, Lupus anticoagulant, Sdr. antifosfolipidic Lupus eritematos sistemic |
| Factori de coagulare | Factor V Leiden, Factor XII, Proteina C, Protrombina |
| Boli metabolice | Hiperhomocisteinemia, Deficiența metilen tetrahidrofolat reductazei |
| Factori genetici | Cariotipul 45,X |

Deficiența factorului XII a fost raportată la 9,4% femei cu AR vs. 0% în grupul de control într-un studiu (Gris, 1999), asociat cu AR și de alte grupuri de cercetători (Braulke et al., 1993; Yamada et al., 2000). Studii mai recente au asociat mutațiile în genele factorului V și protrombinei cu avorturile tardive de etiologie neclară și alte complicații ale sarcinii legate de apariția trombozelor (Kupfermanc et al., 1999; Martinelli et al., 2000). Un alt studiu indică prezența mutațiilor în gena factorului V Leiden și rezistența asociată la proteina C activată cu o incidență de 7-44% la femeile cu anamneză avortivă vs. 1,6-6% în grupul de control (Foka et al., 2000; Younis, 2000). Deficiența factorului V este de asemenea asociată cu pre-eclampsia, abrupțion placentară, retard de creștere fetală, avort tardiv și moartea intrauterină a fătului (Bonnar, 1998).

Un alt factor trombofilic implicat în AR este hiperhomocisteinemia asociată și cu apariția infarctului miocardic la adult (Ray, 1999; Nelen, 2000). Recent au fost raportate date despre asocierea polimorfismului C-T homozigot la nivelul nucleotidului 677 în gena metilen tetrahidrofolat reductazei (MTHFR) care produce o variantă termolabilă a enzimei și nivelul scăzut al folatului seric, hiperhomocisteinemie și avort precoce (Lissak, 1999; Durnwald et al., 2000). Combinarea deficienței serice de folat și hiperhomocisteinemie a fost raportată ca factor ce duce la deficiența de vascularizare a vililor corionici (Nelen, 2000), posibil de remediat cu doze mari de acid folic (5mg/zi) și piridoxina (Quere, 1998).

În unele centre testarea pentru mutațiile în genele factorului V, protrombinei și MTHFR au fost acceptate ca teste curente de evaluare a pacientelor cu avorturi.

Lipsa diferențelor între complexe majore de histocompatibilitate (HLA), a fost propus ca factor ce previne formarea Ac blocați fapt ce protejează fătul de rejecție maternă și producerea avortului (Ober et al., 1999; Scott, 2000).

Patologia materna

La unele femei AR sunt urmarea patologiei materne. Orice boala care poate diminua fluxul de sânge placentar-uterin pot fi cauza unui AS. Acestea includ HTA maternă, lupusul eritematos sistemic (LES), DZ insulino-dependent, anemia falciformă, patologia renală cu HTA, traume materne severe și consumul de cocaină. Disfuncțiile tiroidiene la fel sunt asociate cu risc avortiv (Vaquero et al., 2000). Alte studii au arătat o asociere între prezența Ac antitiroidieni la femeile eutiroidice și AR (Bussen and Steck, 1997; Lazarus and Kokandi, 2000). Femeile care la rândul lor au fost expuse la dietilstilbestrol *in utero*, de asemenea prezintă o incidență crescută de

AS, sarcini ectopice și nașteri premature, probabil ca urmare a anomaliilor congenitale uterine și tubale induse de expunerea în decursul dezvoltării (Kaufman et al., 2000).

Pe parcursul sarcinii și postpartum, LES se asociază cu o serie de remisii și exacerbări cu un risc de 20-40% de exacerbare. Dacă boala este în remisie la momentul concepției, rata supraviețuirii fetale este bună (~85%) (Georgiou et al., 2000), dar totuși mai mică în comparație cu femeile neafectate. Totuși, dacă LES este activ în perioada sarcinii, rata supraviețuirii fetale scade la 50-75% datorită complicațiilor ca HTA și tromboze placentare (Petri and Allbritton, 1993). Unele boli reumatice ale țesutului conjunctiv produc Ac în circulație, ca Ro (SS-A) și La (SS-B) ce trec bariera placentară producând bloc cardiac (Buyon and Winchester, 1990).

În cazurile femeilor diabetice anomaliile congenitale majore la făt prezintă o incidență de trei ori mai mare, dar un control excelent al sarcinii poate reduce considerabil incidența malformațiilor (Greene, 1999). Detectarea precoce, controlul minuțios, monitorizarea fetală și a HTA sunt factorii cheie în reducerea ratei mortalității perinatale asociate cu diabetul matern.

Concluzii

1. AR sunt frecvente, fiind atestate la 1-5% din toate cuplurile ce își doresc copii.
2. Cauzele AR sunt extrem de heterogene (genetice, anatomice, endocrine, trombofilia, boli metabolice, infecțiile și factori imunologici), deseori fiind asociați mai mulți factori de risc la același cuplu.
3. Orice cuplu care a suferit deja un AS are un risc de 24% de a se repeta evenimentul nefericit.
4. Una din cauzele majore ale AR ușor de confirmat sau exclus sunt prezența unei anomalii cromozomiale la unul din parteneri sau la produsul de concepție.
5. Evaluarea cauzelor AS trebuie să includă neapărat teste clinice, paraclinice, endocrine, cariotiparea cuplurilor, histeroscopia pentru identificarea anomaliilor uterine anatomice, evaluarea trombofiliei (Ac anticardiolipinici, lupus anticoagulant, activitatea proteinei C, activitatea proteinei S, mutațiile pentru factorul II și V Leiden).
6. Managementul cuplului cu AR trebuie neapărat să includă consiliere la medicul genetician pentru estimarea riscului de recurență și asigurarea unei monitorizări adecvate a situației pentru fiecare cuplu în parte.

Bibliografia

1. Carlo Bulletti, Carlo Flamigni and Evaldo Giacomucci (1996) Reproductive failure due to spontaneous abortion and recurrent miscarriage. *Human Reproduction Update* 2, 118–136.
2. Bessho T, Sakamoto H, Shiotani T, Komori S and Koyama K (1995) Fetal loss in the first trimester after demonstration of cardiac activity: relation of cytogenetic and ultrasound findings. *Human Reproduction* 10, 2696–2699.
3. Bricker L and Farquharson RG (2002) Types of pregnancy loss in recurrent miscarriage: implications for research and clinical practice. *Human Reproduction* 17, 1345–1350.
4. Horne AW, Alexander CI. (2005) Recurrent miscarriage. *J Family Planning Reproduction Health Care*. 31(2), 103-7.
5. Li TC, Iqbal T, Anstie B, Gillham J, Amer S, Wood K and Laird S (2002) An analysis of the pattern of pregnancy loss in women with recurrent miscarriage. *Fertil Steril* 78, 1100–1106.
6. Lejeune V. (2006) Early recurrent spontaneous abortion: How to take care in 2006? *Gynécologie Obstétrique & Fertilité* 34(10), 927-37.
7. Mayumi S.-O., Kyoko N., Tamao N., Yukio H. and Yasuhiko O. (2006) Complement as a predictor of further miscarriage in couples with recurrent miscarriages. *Human Reproduction* Vol.21, No.10, 2711–2714.
8. Mamoru M.¹, Hideto Y.^{1,2}, Emi H. K.¹, Shigeki S.¹, Takashi Y.¹ and Hisanori M.¹ (2004) Embryo loss pattern is predominant in miscarriages with normal chromosome karyotype among women with repeated miscarriage. *Human Reproduction* 19(11), 2644-2647.

9. Morikawa M, Yamada H, Kato EH, Shimada S, Yamada T, Minakami H (2004) Embryo loss pattern is predominant in miscarriages with normal chromosome karyotype among women with repeated miscarriage. *Hum Reprod.* 19(11), 2644-7.
10. Nagaishi M, Yamamoto T, Inuma K, Shimomura K (2004) Chromosome abnormalities identified in 347 spontaneous abortions collected in Japan. *J Obstet Gynaecol Res.* 30(3), 237-41.
11. Ogasawara M, Aoki K, Okada S and Suzumori K (2000) Embryonic karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages. *Fertil Steril* 73, 300–304.
12. Sugiura-Ogasawara M, Ozaki Y, Sato T, Suzumori N and Suzumori K (2004) Poor prognosis of recurrent aborters with either maternal or paternal reciprocal translocation. *Fertil Steril* 81, 367–373.
13. Stephenson MD (2006) Management of recurrent early pregnancy loss. *J Reprod Med* 51(4), 303-10.