

## Trabajos Originales

# Estudio cromosómico en abortos espontáneos

Silvia Castillo Taucher<sup>1,2</sup>, Ana María Fuentes Soto<sup>1</sup>, Alejandro Paulos Millanao<sup>1</sup>,  
Eduardo de la Rosa Rebaza.<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Sección Citogenética, Laboratorio Clínico, Clínica Alemana de Santiago, Chile. <sup>2</sup>Sección Genética, Hospital Clínico Universidad de Chile. <sup>3</sup>Sección Citogenética, Laboratorio Clínico, Pontificia Universidad Católica de Chile.

## RESUMEN

Aproximadamente 15% de todos los embarazos clínicos terminan en aborto espontáneo. La causa más frecuente de aborto espontáneo es una anomalía cromosómica fetal, tal como una trisomía autosómica, monosomía X y poliploidía. Desde mayo de 1991 hasta febrero de 2013 hemos realizado 2.416 estudios citogenéticos en restos de aborto en la Sección Citogenética del Laboratorio Clínico de Clínica Alemana de Santiago, Chile. Deseamos compartir la información sobre la distribución de los hallazgos en estos estudios, así como difundir la estrategia que hemos implementado desde febrero de 2010 con estudio de varias sondas de hibridación in situ con fluorescencia (FISH) en aquellos casos en que el cultivo no ha progresado, lo que permite entregar alguna información importante respecto a la presencia o ausencia de ciertas alteraciones cromosómicas en todos los estudios.

**PALABRAS CLAVE:** *Aborto espontáneo, citogenética, aneuploidía, FISH*

## SUMMARY

Approximately 15% of all clinical pregnancies end in spontaneous abortion. The most common cause of spontaneous abortion is a fetal chromosomal abnormality, such as an autosomal trisomy, monosomy X and polyploidy. From May 1991 until February 2013 we performed 2,416 cytogenetic studies in abortion tissues in the Cytogenetics Unit of the Clinical Laboratory Clínica Alemana de Santiago. We want to share information about the distribution of the findings in these studies, and want to disseminate the strategy we have implemented since February 2010 with multiple probes study of fluorescence in situ hybridization (FISH) in cases where the tissue culture had not progressed, allowing to provide some important information regarding the presence or absence of certain chromosomal abnormalities in all studies.

**KEY WORDS:** *Spontaneous abortion, cytogenetics, aneuploidy, FISH*

## INTRODUCCIÓN

El aborto espontáneo es la complicación más frecuente del embarazo. Entre 10 a 15% de todos los embarazos clínicamente reconocidos resulta en un aborto espontáneo (1). Alrededor de un 5% de todas las parejas enfrentará pérdida reproductiva

recurrente, es decir, dos o más abortos espontáneos (2,3). La mitad de los abortos del primer trimestre son causados por anomalías cromosómicas fetales diagnosticadas por técnicas convencionales; el 20% de los abortos del 2° trimestre tiene una alteración citogenética.

Los estudios citogenéticos han mostrado que

la mayoría de estas alteraciones son anomalías cromosómicas numéricas (86%) y una minoría por alteraciones cromosómicas estructurales (6%) y mosaicismo cromosómico (8%) (4-7). Algunas anomalías cromosómicas frecuentes a la concepción, como la trisomía 16, nunca sobreviven a término.

Se cree que la mayoría de las anomalías cromosómicas detectadas en pérdidas espontáneas ocurre de novo y resulta de errores aleatorios producidos durante la gametogénesis y el desarrollo embrionario. El riesgo de una trisomía fetal aumenta a mayor edad materna. Debido a que la edad promedio de las mujeres en su primer embarazo ha aumentado en forma importante en las últimas décadas, es probable que aumente la frecuencia de la trisomía fetal.

En mujeres con aborto recurrente, las anomalías cromosómicas también son frecuentes, pero la proporción del problema es menos clara. La mayoría de los abortos ocurre en padres cromosómicamente normales. Las anomalías cromosómicas balanceadas están presentes en alrededor de 2 a 5% de los pacientes con aborto recurrente.

En revisiones de la literatura se ha encontrado una prevalencia entre 45 y 49% de anomalías cromosómicas en el material abortado, con una falla de 21% en el cultivo. El espectro de alteraciones revela un 86 a 91% de anomalías numéricas, un 6% de anomalías estructurales y un 6 a 8% de otras alteraciones como mosaicismo, o dobles o triples trisomías (8-10).

La técnica de cariotipo es el gold standard para diagnosticar las anomalías cromosómicas en el genoma y tiene una alta especificidad. Sus desventajas son su resolución limitada, que dificulta o imposibilita que se detecte un síndrome de microdelección o microduplicación, o un reordenamiento citogenético muy sutil. Es un examen con un procedimiento laborioso, que requiere de varios días de trabajo, y de alto costo. Existe la posibilidad de falla en el cultivo en alrededor de 20% de las muestras y de contaminación con células maternas.

La técnica de hibridación in situ con fluorescencia (FISH) puede ser realizada directamente en las células interfásicas, eliminando los requerimientos de cultivo celular, y sus problemas asociados. Sus limitaciones son que indica presencia o ausencia o número de copias exclusivamente de los segmentos elegidos para esta determinación, de manera que puede haber alteraciones cromosómicas numéricas o estructurales que no sean diagnosticadas.

El objetivo de esta comunicación es compartir la información sobre la distribución de los hallazgos en estos estudios, así como difundir la estrategia que hemos implementado desde febrero de 2010 con estudio de varias sondas de hibridación in situ con fluorescencia (FISH) en aquellos casos en que

el cultivo no ha progresado, lo que permite entregar alguna información importante respecto a la presencia o ausencia de ciertas alteraciones cromosómicas en todos los estudios.

## MATERIAL Y MÉTODO

Estudio de revisión desde el 6 de marzo de 1989 al 5 de enero de 2013. Se han procesado un total de 15.586 muestras para exámenes citogenéticos en la Sección Citogenética del Laboratorio Clínico de Clínica Alemana de Santiago de Chile. Desde el 18 de mayo de 1991 se empezó a procesar muestras de restos de aborto, a la fecha, en un total de 2.416 muestras, se han obtenido cromosomas para análisis del cariotipo en 2.110 (87,3%) y en 306 (12,7%) no se obtuvo crecimiento celular ni proliferación mitótica. Desde febrero de 2010 se realiza FISH para los cromosomas sexuales X e Y, y para los autosomas 13, 16, 18, 21 y 22 a todos los restos de aborto en los que no se obtienen cromosomas para análisis. En 66 muestras analizadas no se obtuvo resultado en 2, y se encontró alteraciones numéricas por FISH en 22 muestras (34% de 64).

## RESULTADOS

En 2.416 estudios citogenéticos, se obtuvo resultados en 2.110; normales en 1.154 (54,7%) y alterados en 956 (45,3%) estudios. De los exámenes citogenéticos normales, el 98,4% (1.135 casos) fue 46,XX o 46,XY, en 1,6% (19 casos) se encontró líneas 46,XY y 46,XX.

Los resultados de FISH en 64 casos de falla del cultivo revelaron resultados normales en 42 casos (65,6%) y alterados en 22 casos (34,4%). Las alteraciones correspondían a 6 casos de triploidía (27,2%), 5 casos de monosomía X (22,7%), 5 casos de trisomía 13 (22,7%), 2 casos de trisomía 21 (9,1%), 2 casos de trisomía 22 (9,1%), 1 caso de trisomía 16 (4,6%) y 1 caso de trisomía 18 (4,6%).

En la Tabla I se observa los resultados de los estudios cromosómicos, 43,5% alterados y predominantemente aberraciones numéricas. En la Tabla II se observa la distribución de las alteraciones estructurales y su distribución según el tipo. La Tabla III muestra las alteraciones robertsonianas observadas en abortos espontáneos, algunas con trisomías 13, 14 o 21 y un 30% aparentemente balanceadas. La Tabla IV revela el resultado de las alteraciones recíprocas, destaca que un 75% de ellas sea aparentemente balanceadas. En la Tabla V se observa la variedad de alteraciones estructurales desbalanceadas, que bien pudieran sumarse a las anteriores. En la Tabla VI se aprecian estudios con dos o más alteraciones estructurales. Es importante mencionar la indicación perentoria de estudio citogenético a la pareja ante estos hallazgos. En la

**Tabla I**  
**RESULTADO DE EXÁMENES CITOGENÉTICOS**  
**EN ABORTOS ESPONTÁNEOS**

Cariotipo	n	%
Normal	1.154	54,7
Total alterados	956	45,3
Alteraciones numéricas	907	94,9
Alteraciones estructurales	49	5,1
Total	2.110	100,0

**Tabla II**  
**RESULTADO DE ALTERACIONES**  
**ESTRUCTURALES EN ABORTOS**  
**ESPONTÁNEOS**

Cariotipo	Casos	%
Total alterados	956	45,3
Alteraciones numéricas	907	94,8
Alteraciones estructurales	49	5,1
Alteraciones robertsonianas	15	30,6
Alteraciones recíprocas	8	16,3
Otras alteraciones estructurales	26	53,1
Total	49	100,0

**Tabla III**  
**RESULTADO DE 15 ALTERACIONES ROBERTSONIANAS EN ABORTOS ESPONTÁNEOS**

Alteración cromosómica	Tipo de alteración	Casos
46,XXoXY,+13,der(13;14)(q10;q10)	trisomía 13	3
46,XX,+14,der(14;14)(q10;q10)	trisomía 14	1
46,XXoXY,+14,der(13;14)(q10;q10)	trisomía 14	3
45,XX,der(13;14)(q10;q10)	balanceada	1
45,XX,der(14;21)(q10;q10)	balanceada	1
45,XX,der(15;21)(q10;q10)	balanceada	1
44,XX,der(15;22)(q10;q10)	balanceada	2
46,XXoXY,+21,der(21;21)(q10;q10)	trisomía 21	3

**Tabla IV**  
**RESULTADO DE 8 ALTERACIONES**  
**RECÍPROCAS EN ABORTOS ESPONTÁNEOS**

Alteración cromosómica	Tipo de alteración
46,XY,t(2;18)(q14;p11.2)	balanceada
45,XX,der(4)t(4;13)(p15;q12),-13	desbalanceada
46,XX,der(4)t(1;4)(q12;q35)	desbalanceada
46,XX,t(5;22)(q15;p11)	balanceada
46,XX,t(5;22)(q15;p12)	balanceada
46,XX,t(6;16)(p23;q23)	balanceada
46,XX,t(7;10)(p15;q22)	balanceada
46,XX,t(7;9)(q21.2;q34)	balanceada

Tabla VII se observa la distribución de las alteraciones numéricas, es probable que las más representadas sean en general algo más viables. En la Tabla VIII se aprecian los cariotipos de monosomía X y sus variantes. En la Tabla IX se ven los resultados poliploides en las pérdidas estudiadas. En la Tabla X se observa la coexistencia de dos o más alteraciones numéricas. En la Tabla XI se observan las alteraciones combinadas numéricas y estructurales.

## DISCUSIÓN

Es de indiscutible valor determinar la contribución genética a la pérdida reproductiva en el análisis de muestras de tejido de abortos espontáneos. La prevalencia de alteraciones cromosómicas en abortos espontáneos es alrededor de 50%.

**Tabla V**  
**RESULTADO DE OTRAS 22 ALTERACIONES DESBALANCEADAS ESTRUCTURALES EN ABORTOS ESPONTÁNEOS**

Alteración cromosómica	Casos	Alteración cromosómica	Casos
46,XX,del(1)(q11)	1	46,XY/47,XY,+3q	1
46,XX,add(5)(p15.3)	1	46,XX,del(6)(p22.3)	1
46,XX,del(6)(q23)	2	46,XX,der(6)t(6;16)mat	1
46,XY,der(7)(q31)	1	46,XY,del(8)(p12)	1
46,XY,der(8)add(p23)	1	46,XX,i(8)(q10)	1
46,XX,inv(8)	1	46,XX,9p+	1
46,XX,idic(9)(p26)	1	46,XY,del(10)(q24)	1
46,XX,del(11)(q23)	1	46,XX,del(13)(q)	1
46,XY,add(15)(q24)	1	46,XY,add(15)(p11.2)	1
47,XX,+der(22)del(22)(q13.1)	1	46,XY,add(22)(p)	1
46,XX,der(22)add(q12)	1		

**Tabla VI**  
**RESULTADO DE 4 ESTUDIOS CON DOS O MÁS ALTERACIONES ESTRUCTURALES EN ABORTOS ESPONTÁNEOS**

Alteración cromosómica
46,XY,del(1)(q11.1),der(4)add(4)(q31)/46,XY,der(4)add(4)(q31)/46,XY
46,XY,t(5;7)(p15.3;p13),t(9;10)(p13;q26)
46,XY,der(7)t(7;5;14)(q11.23;p11;q13)pat
46,XX,add(13)(p11)/46,XX,der(13;14)(q10;q10),+14/46,XX

Hay opiniones divergentes en relación a la utilidad del cariotipo del aborto para la práctica clínica de rutina. No habría una clara relevancia para decisiones médicas, sin embargo un resultado de un examen genético puede proveer información para la mujer o la pareja implicada.

Existe consenso sobre que la mayoría de las alteraciones cromosómicas se detectan utilizando el cariotipo convencional. Sin embargo, existen dos grandes problemas asociados al cultivo de los tejidos de restos de aborto: falla en el crecimiento y/o contaminación microbiológica del cultivo y también contaminación del cultivo con células maternas. Ésta última se revela por una preponderancia de sexo femenino entre las muestras con cariotipo normal y por el fenómeno común de encontrar una línea celular 46,XX además de una con cariotipo anormal.

**Tabla VII**  
**RESULTADO DE 540 ALTERACIONES NUMÉRICAS EN ABORTOS ESPONTÁNEOS**

Cariotipo	Casos	%
47,XXoXY, +1	1	0,2
47,XXoXY, +2	17	3,1
47,XXoXY, +3	6	1,1
47,XXoXY, +4	5	0,9
47,XXoXY, +5	6	1,1
47,XXoXY, +6	3	0,6
47,XXoXY, +7	10	1,9
47,XXoXY, +8	11	2
47,XXoXY, +9	13	2,4
47,XXoXY, +10	17	3,1
47,XXoXY, +11	6	1,1
47,XXoXY, +12	1	0,2
47,XXoXY, +13	62	11,5
47,XXoXY, +14	30	5,6
47,XXoXY, +15	42	7,8
47,XXoXY, +16	128	23,7
47,XXoXY, +17	8	1,5
47,XXoXY, +18	25	4,6
47,XXoXY, +19	7	1,3
47,XXoXY, +20	8	1,5
47,XXoXY, +21	53	9,8
47,XXoXY, +22	74	13,7
47,XXX	1	0,2
47,XXY	4	0,7
45,XY,-21	2	0,4
Total	540	100

**Tabla VIII**  
**RESULTADO DE 45,X Y VARIANTES EN 114**  
**ABORTOS ESPONTÁNEOS**

Cariotipo	Casos	%
45,X	104	91,2
45,X/46,XX	8	7
45,X/46,XY	1	0,9
45,X/46,X,i(X)(q10)	1	0,9
Total	114	100

**Tabla IX**  
**RESULTADO DE TRIPLOIDÍA Y TETRAPLOIDÍA**  
**EN 182 ABORTOS ESPONTÁNEOS**

Cariotipo	Casos	%
69,XXX	52	28,6
69,XXY	87	47,8
69,XYY	8	4,4
Triploidía	7	3,8
Tetraploidía	28	15,4
Total	182	100

**Tabla X**  
**RESULTADO DE 37 ESTUDIOS CON DOS O MÁS ALTERACIONES NUMÉRICAS**  
**EN ABORTOS ESPONTÁNEOS**

Alteración cromosómica	Casos	Alteración cromosómica	Casos
45,X/47,XX,+5	1	45,X/46,X,+7	1
47,X,+9,+16	1	45,X/46,X,+17	1
47,XX,+2/48,XX,+16,+21	1	47,XX,+7/47,XX,+14	1
47,XY,+9/47,XX,+12	1	48,XXY,+14	1
47,XX,+20/48,XXX,+20	1	46,XY,-13,+22/46,XY	1
47,XY,+22/48,XY,+22,+22	1	47,XX,+D/47,XX,+G	1
48,XX,+10,+21	1	48,XX,+13,+17	1
48,XX,+13,+18	1	48,XX,+13,+21	1
48,XX,+16,+22	1	48,XX,+9,+17	1
48,XY,+12,+14	1	48,XY,+13,+15	1
48,XY,+14,+22	1	48,XY,+15,+20	1
48,XY,+16,+21	1	48,XY,+18,+21	1
48,XY,+19,+22	1	48,XY,+8,+18	1
48,XYY,+21	1	49,XXXY,+9	1
69,XXY/70,XXXY	1	69,XXX/70,XXX,+3	1
70,XXXX	2	70,XXX,+12	1
70,XXY,+14	1	70,XYY,+15	1
70,XXY,+15	1	73,XXXX,+8,+11,+14	1

Una gran ventaja de disponer de estudio de FISH para aquellos casos en que no prospera el cultivo celular, permite entregar resultados concretos sobre algunas anomalías más prevalentes (11,12). La utilización del examen de FISH con un panel de sondas para los cromosomas 13, 16, 18, 21, 22, X e Y, permite detectar aproximadamente el 70% de todas las alteraciones cromosómicas encontradas por cariotipo, aún cuando no provee resultados para todos los cromosomas. Schearer y

cols (13), encontraron una tasa total de anomalías de 47% en estos tejidos de abortos espontáneos cuando se combinaron los resultados del panel de FISH con los estudios cromosómicos en 4.189 muestras.

La aneuploidía fetal es la causa más importante de aborto antes de las 10 semanas de gestación. Al menos 50 a 60% de todas las pérdidas están asociadas a alteraciones citogenéticas, siendo las más frecuentes las trisomías, seguidas de las poliploidías y

**Tabla XI**  
**RESULTADO EN ABORTOS DE 34 ESTUDIOS**  
**CON DOS O MÁS ALTERACIONES**  
**COMBINADAS**  
**(NUMÉRICAS Y ESTRUCTURALES)**

Alteración cromosómica	Casos
44,X,-7,-10,+mar	1
45,X/45,X,t(13;21)(q22;q22)	1
47,XX,+3/48,XX,+3,+der(10q),+16	1
48,XX,del(5)(p14),+9,+16	1
48,XX,+13,der(14;15)(q10;q10),+14,+16	1
47,XX,-20,+mar1,+mar2	1
70,XXX,+mar	1
69,XXX,der(22)	1
45,X/45,X,del(6)(q21),+17,-20	1
45,X/45,X,add(22)(p11.1)	1
47,XY,t(3;5)(q10;q19),+18	1
47,XY,t(6;8)(q23;q21.2),+21	1
47,XXoXY,+mar	18
46,XY/47,XY,+mar	2
68,XX,der(Y;21)(q10;q10)/69,XXY	1
69,XXX/69,XXX,del(1)(q10)	1

la monosomía X. La mayoría de las aneuploidías en el humano se generan de errores en la primera división meiótica del oocito, que se inicia prenatalmente y no se completa hasta la ovulación. Sólo un 7% de las trisomías fetales se han demostrado de origen en errores meióticos paternos. La edad materna avanzada resultaría en una escasez relativa de oocitos en un estado óptimo de maduración, dada una reserva limitada de oocitos en la mujer (14).

La pérdida reproductiva recurrente, definida como la pérdida de dos o más gestaciones antes de las 20 semanas (American Society of Reproductive Medicine, 2008) tiene una incidencia entre 1 a 5% de la población en edad reproductiva. Hay causas conocidas, como factores genéticos parentales, anomalías anatómicas, anticuerpos antifosfolípidos, y más controversialmente, enfermedades endocrinas y trombofilias. Las evaluaciones habituales no encuentran la etiología en el 50% de los casos. Para ellos, se estima una probabilidad de un nacimiento vivo de aproximadamente 70-75%.

Los factores que influyen el éxito de un embarazo futuro incluyen edad materna, número de pérdidas anteriores, y análisis genético de los productos de las pérdidas. Las mujeres con un nacido previo vivo o una pérdida aneuploide tienen menos

pérdidas subsecuentes comparadas con mujeres sin hijos vivos o con abortos euploides.

Sobre los 35 años, hay una tasa aumentada de errores meióticos en el desarrollo de los oocitos con más aneuploidías embrionarias. La tasa de pérdidas en mujeres bajo 35 años es 14% comparada con 40% sobre 40 años. Las aneuploidías embrionarias serían la causa primaria de pérdidas reproductivas esporádicas relacionadas a la edad.

Debido a la potencial importancia del cariotipo embrionario en el pronóstico futuro de nuevos embarazos, es una parte importante de la evaluación de la pérdida reproductiva.

En alrededor de 4% de parejas con abortos recurrentes uno de ellos presenta ya sea una translocación recíproca balanceada, en la cual hay un intercambio de dos segmentos terminales de cromosomas diferentes, o una translocación robertsoniana, en la que hay una fusión céntrica de dos cromosomas acrocéntricos. Los portadores de translocaciones recíprocas balanceadas son fenotípicamente normales, pero 50 a 70% de sus gametos y sus embriones son desbalanceados, por una segregación anormal en la meiosis. El riesgo reproductivo conferido por reordenamientos cromosómicos es dependiente del tipo de reordenamiento y de si es portado por la mujer o su pareja varón. La tasa de recién nacidos vivos en parejas con una anomalía cromosómica estructural que conciben naturalmente, es más alta (50 a 65%) que aquella lograda después de fertilización in vitro y tamizaje genético preimplantacional (29 a 38%) (14-16).

## CONCLUSIONES

Al evaluar posibles factores responsables de pérdida reproductiva, el estudio citogenético del aborto es crucial y relevante para establecer un pronóstico. Aunque no todas las pérdidas requieren análisis cromosómico, se recomienda el estudio cuando éste pueda afectar el manejo clínico. Las pacientes con pérdida reproductiva recurrente tienen altos grados de ansiedad y depresión, esta información puede servir para hacer un cierre emocional del evento y para no buscar estudios o tratamientos innecesarios. La aneuploidía es la causa más frecuente de aborto, considerando todas las otras combinadas. Aquellas parejas con una alteración cromosómica en la pérdida, aún con edad materna avanzada, tienen una buena probabilidad de un hijo vivo en sus embarazos subsecuentes.

## REFERENCIAS

1. Rai R., Regan L. Recurrent miscarriage. *Lancet* 2006;368:601-11.
2. Stephenson M, Kutteh W. Evaluation and management of recurrent early pregnancy loss. *Clin Obstet Gynecol* 2007;50:132-45.

3. Jaslow CR, Carney JL, Kutteh WH. Diagnostic factors identified in 1020 women with two versus three or more recurrent pregnancy losses. *Fertil Steril* 2010;93:1234-43.
  4. Hassold T, Chiu D. Maternal age-specific rates of numerical chromosome abnormalities with special reference to trisomy. *Hum Genet* 1985;70:1-17.
  5. García Alonso López A, Bermejo Huerta S, Hernández Galván R, Ayala Posadas R, González del Ángel A, Grether González P. Diagnóstico citogenético en aborto espontáneo del primer trimestre. *Ginecol Obstet Mex* 2011;79:779-84.
  6. Salazar UA, Álamos BC, Arriagada AM, Selman CE. Estudio citogenético en 677 casos de aborto espontáneo. *Rev ANACEM* 2011;5:74-7.
  7. Quiroga de Michelena M, Díaz A, Pañedes D, Rodríguez O, Quispe E, Klein E. Estudio cromosómico en el aborto espontáneo y su aplicación clínica. *Rev Per Ginecol Obstet* 2007;53:124-9.
  8. Sullivan AE, Silver RM, Lacoursiere DY, Porter TF, Branch DW. Recurrent fetal aneuploidy and recurrent miscarriage. *Obstet Gynecol* 2004;104:784-8.
  9. Ogasawara M, Aoki K, Okada S, Suzumori K. Embryonic karyotype of abortuses in relation to the number of previous miscarriages. *Fertil Steril* 2000;73:300-4.
  10. Carp HJ. Recurrent miscarriage: genetic factors and assessment of the embryo. *Isr Med Assoc J* 2008;10:229-31.
  11. Lebedev N, Ostroverkhova NV, Nikitina TV, Sukhanova NN, Nazerenko SA. Features of chromosomal abnormalities in spontaneous abortion cell culture failures detected by interphase FISH analysis. *Eur J Hum Genet* 2004;12:513-20.
  12. Jobanputra V, Esteves C, Sobrino A, Brown S, Kline L, Warburton D. Using FISH to increase the yield and accuracy of karyotypes from spontaneous abortion specimens. *Prenat Diagn* 2011;31:755-9.
  13. Shearer BM, Thorland EC, Carlson AW, Jalal SM, Ketterling RP. Reflex fluorescent in situ hybridization testing for unsuccessful product of conception cultures: a retrospective analysis of 5555 samples attempted by conventional cytogenetics and fluorescent in situ hybridization. *Genet Med* 2011;13:545-52.
  14. van den Berg MMJ, van Maarle MC, van Wely M, Goddijn M. Review. Genetics of early miscarriage. *Biochim Biophys Acta* <http://www.sciencedirect.com/science/journal/09254439/1822/122012:1822:1951-9>.
  15. Marquard K, Westphal LM, Milki AA, Lathi RB. Etiology of recurrent pregnancy loss in women over the age of 35 years. *Fertil Steril* 2010;94:1473-6.
  16. Branch DW, Gibson M, Silver RM. Recurrent miscarriage. *N Engl J Med* 2010;363:1740-7.
-