

# Abortamento recorrente de causa imunológica: avaliação de um protocolo de investigação e tratamento

Recurrent abortion due to immunologic causes: evaluation of an investigation and treatment protocol

Ricardo Barini, Egle Couto, Sara T. Ribeiro, Sofia R. Leiber, Simone C. Batista, João Luiz Pinto e Silva

## RESUMO

*São apresentados resultados de protocolo de investigação diagnóstica e tratamento do aborto recorrente de causa imunológica. Estima-se que até 60 % das pacientes que não apresentam nenhuma alteração clínica identificável sejam portadoras de perturbações aloimunes associadas ao aborto. Uma das alternativas terapêuticas é a imunização com linfócitos do parceiro. Foram revisados os resultados de 116 pacientes seguidas no Departamento de Tocoginecologia da UNICAMP. As mulheres foram avaliadas segundo minucioso protocolo de investigação das causas de aborto recorrente conhecidas (genética, hormonal, uterina e infecciosa), imunológicos auto-ímmunes (síndrome do anticorpo antifosfolípídico, auto-anticorpos anômalos) e aloimunes (prova cruzada por microlinfocitotoxicidade e cultura mista de linfócitos). As que apresentavam prova cruzada negativa e índice de inibição menor que 50% na cultura mista de linfócitos foram tratadas com duas imunizações intradérmicas de concentrado de linfócitos de seus maridos. Foram estimuladas a engravidar se os exames de controle demonstrassem prova cruzada positiva e cultura mista com inibição superior a 50%. Quando este regime não resultou em mudança significativa foram tratadas novamente com concentrado de linfócitos de seus maridos, associado ou não a um doador não-aparentado. Com esta abordagem terapêutica 81% tiveram evolução gestacional favorável.*

**PALAVRAS CHAVE:** Aborto recorrente. Imunologia da reprodução. Linfócitos. Imunidade celular. Infertilidade.

## Introdução

O termo aloimunidade refere-se a diferenças imunológicas entre indivíduos da mesma espécie. Em 1966, Clarke & Kirby<sup>4</sup>, formularam a hipótese de que a disparidade antigênica materno-fetal fosse

benéfica para o desenvolvimento do embrião. Desde então, a aloimunidade tem sido associada ao aborto recorrente de causa desconhecida, que se estima acometer de 40 a 60% dos casais investigados<sup>22, 30</sup>.

A histocompatibilidade materno-fetal pode induzir a um distúrbio na interação entre mãe e feto por impedir a produção de fatores humorais e celulares de origem materna, essenciais para a vitalidade do embrião e o sucesso da gestação.

O sistema composto pelas células T e B processa e apresenta os antígenos aos linfócitos. As células T originam as células citotóxicas específicas. As células B diferenciam-se em células produtoras de anticorpos específicos. Cada tipo de célula do

Departamento de Tocoginecologia - Disciplina de Obstetrícia  
Faculdade de Ciências Médicas UNICAMP .

Laboratório Cultura de Tecidos Hemocentro/FCM/UNICAMP  
Correspondência:

Ricardo Barini

Rua Alexander Fleming 101 Cidade Universitária Zeferino Vaz  
CEP 13092-340 Campinas SP

Caixa Postal 6030 CEP 13083-970

FAX/FONE: 019/2394161

sistema imune tem uma superfície de adesão diversa. Quando um antígeno processado é apresentado à célula T, ele é associado fisicamente a marcadores de superfície celular derivados de um grupo de genes, o Complexo Principal de Histocompatibilidade, conhecido como CPH. O CPH humano é localizado no braço curto do cromossomo 6 e codifica os antígenos HLA (*Human Leucocyte Antigens*).

Na implantação do ovo, seria esperado que os antígenos HLA de origem paterna estimulassem o sistema imune materno. Entretanto, isto não acontece pela não-expressão do HLA no sinciciotrofoblasto, sugerindo que este seja imunologicamente inerte mas com importante papel de proteção, juntamente com imunomodulação ativa do sistema imune materno.

Têm sido detectados antígenos HLA classe I não-clássicos em células de citotrofoblasto extraviloso e em linhagem de células derivadas de coriocarcinoma<sup>9</sup> denominados HLA-G. Estes induzem a produção de anticorpos anti-HLA-G e anticorpos antiidiotípicos anti-anti-HLA-G detectados em fase inicial de gestações que evoluem normalmente<sup>24, 29</sup>. Estas observações sugerem a participação de uma rede de anticorpos antiidiotípicos na modulação da resposta aloimune materno-fetal, que culmina com atividade supressora do organismo materno em relação ao feto<sup>24</sup>. Sugere-se a interação entre os antígenos HLA-G do trofoblasto e os linfócitos grandes granulares natural *Killer* (NK-like) (CD3<sup>-</sup> CD56<sup>+</sup> CD16<sup>-</sup>) presentes no endométrio, determine o grau de invasibilidade do endométrio pelo trofoblasto, o que em última análise influenciaria o desenvolvimento da gravidez desde o princípio. O domínio alfa-1 da molécula HLA-G solúvel se liga a receptores específicos nas células NK, inibindo sua atividade e evitando a rejeição do embrião. Inibição inadequada das células NK pode culminar em aborto, passando por problemas de nutrição responsável pelos óbitos fetais e retardo de crescimento intra-útero e inclusive se associar à hipertensão gestacional<sup>12</sup>.

A proposta terapêutica utilizando-se imunização da mulher com linfócitos do parceiro ou de doador, surgiu da observação de que pacientes submetidos a transfusões sanguíneas seriadas apresentavam menor rejeição de aloenxertos renais<sup>27</sup>. Também se constatou uma redução da incidência de abortos em animais por imunização prévia com células esplênicas paternas<sup>2</sup>. Após a identificação da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida, a imunização com células do parceiro passou a ser a forma mais

utilizada nesta abordagem, em detrimento da utilização de células de doador desconhecido.

Mowbray publicou em 1985<sup>20</sup> o resultado do primeiro estudo duplo-cego aleatório comparando o efeito da imunização da mulher com linfócitos do parceiro versus linfócitos autólogos. Foi observado melhora estatisticamente significativa nos resultados reprodutivos, no grupo tratado com imunização com células do parceiro. Desde então, inúmeros estudos, aleatórios ou não, têm relatado divergência em relação à eficácia da imunização com linfócitos<sup>19</sup>. Em 1994<sup>23</sup>, um estudo de meta-análise sobre a imunoterapia com linfócitos do parceiro concluiu que esta abordagem terapêutica beneficiaria de 8 a 10% das mulheres tratadas.

Entre as publicações sobre os resultados da imunoterapia com imunização com linfócitos, há evidências de que as mulheres portadoras de aborto recorrente primário tem maiores benefícios que os outros grupos<sup>3 1</sup>.

A literatura médica recente a respeito da imunoterapia para aborto têm se concentrado na utilização da imunoglobulina humana intravenosa<sup>6, 21</sup>. Sugere-se que esta medicação reduza a atividade das células NK deciduais<sup>26</sup>, efeito semelhante àquele conseguido com a imunização com linfócitos do parceiro<sup>11</sup>.

O objetivo deste estudo foi avaliar os resultados do protocolo de imunização com linfócitos do parceiro ou de doador em mulheres com aborto recorrente, atendidas no Ambulatório de Aborto Recorrente do Departamento de Tocoginecologia da UNICAMP, entre dezembro de 1993 a julho de 1997.

## Material e métodos

Foram revistos retrospectivamente os dados de 182 pacientes com história de três ou mais abortos espontâneos consecutivos e/ou com dois abortos e idade acima de 35 anos. Destas, 116 engravidaram depois de submetidas à investigação e tratamentos descritos abaixo.

Todas seguiram protocolo de investigação para etiologias associadas a aborto recorrente. Realizaram-se dosagens seriadas de progesterona na segunda fase do ciclo menstrual, T3, T4, TSH, glicemia de jejum, biópsia de endométrio, pesquisa para *Chlamydia* e micoplasma na secreção cérvico uterina, exames sorológicos para sífilis, toxoplasmose, citomegalovírus, listeriose, brucelose e cariótipo do casal. Todas foram submetidas a

histerossalpingografia, pesquisa de fator antinúcleo, anti-DNA, células LE, anticorpo anticardiolipina e fator anticoagulante lúpico.

A pesquisa do fator aloimune se fez pela tipagem HLA do casal, cultura mista de linfócitos com identificação de fator inibidor no soro materno na resposta celular materna contra linfócitos do parceiro tratados com mitomicina (CML) e reação de prova cruzada por microlinfocitotoxicidade (PC). Foi considerado como causa aloimune quando em CML a capacidade do soro da paciente em inibir a resposta autóloga aos linfócitos do parceiro foi menor 50% e/ou quando a prova cruzada entre o soro da paciente e linfócitos do parceiro foi negativa. Nestes casos, o parceiro foi submetido a sorologias para hepatite B e C e para o vírus da imunodeficiência adquirida humana (HIV). Os exames imunológicos e o preparo das vacinas linfocitárias foram realizados pelo Laboratório de Cultura de Tecidos e Histocompatibilidade do Hemocentro UNICAMP.

A imunização terapêutica foi preparada com uma concentração de  $80 \times 10^6$ /ml linfócitos e realizada por via intradérmica na face anterior do antebraço materno, em duas ocasiões com intervalo de quatro a seis semanas entre uma e outra. Seis semanas após a última imunização colheu-se nova amostra de sangue para PC e CML. Foi considerada resposta adequada inibição autóloga maior que 50% na CML e PC positiva contra linfócitos B e T do parceiro. As que não responderam a este protocolo foram submetidas a sequência de dois reforços de imunização com células paternas e repetiu-se os exames de PC e CML para reavaliação da resposta e considerados favoráveis os parâmetros já descritos.

As pacientes que não responderam ao segundo tratamento foram submetidas a duas imunizações com células de doador não aparentado, comprovadamente não portador de hepatite B e/ou C e do vírus da imunodeficiência adquirida humana (HIV) e células do marido, com o mesmo intervalo que o esquema inicial. Seis semanas após a última imunização foram repetidos o PC e a CML.

A partir do resultado positivo dos exames PC e CML, foram liberadas para engravidar. Foram orientadas para uso de ácido fólico (5 mg/dia) e progesterona (100 mg/dia) a partir da segunda fase do ciclo. O ácido fólico foi mantido até a 12ª semana de amenorréia e a progesterona aumentada para 200 mg/dia com a confirmação da gravidez e mantida até a 16ª semana de amenorréia. Foram realizados quatro reforços de imunização na

gravidez, a partir da sexta semana de amenorréia, a cada seis semanas.

As pacientes que já apresentavam resultado de PC positivo e CML com inibição maior ou igual a 50% na primeira avaliação, foram liberadas para engravidar e submetidas a imunoterapia com linfócitos do parceiro durante a gestação da mesma maneira que as que foram submetidas ao tratamento pré gestacional. Foram tratadas com heparina por via subcutânea em doses profiláticas desde a segunda fase do ciclo pré concepcional até a 34ª semana de amenorréia.

Os dados obtidos foram computados e analisados no programa EPI INFO- 6, programa de domínio público, distribuído pelo "Center of Diseases Control"- Atlanta, USA.

## Resultados

A idade média das pacientes foi de  $30,9 \pm 4,4$  anos, (intervalo de 21 a 42 anos), o número de gestações anteriores ao tratamento foi em média de  $3,8 \pm 1,6$  (intervalo 2 a 12). O número médio de abortos anteriores foi de  $3,5 \pm 1,5$  (intervalo 2 a 12). A classificação diagnóstica foi de aborto recorrente primário em 84,1%, secundário em 14,3% e não-classificável em 1,6%.

As Tabelas 1 e 2 mostram os resultados da investigação de fator aloimune pré e pós-Tratamento. As Tabelas 3 e 4 mostram os resultados da PC e da CML após o tratamento de reforços com imunização de leucócitos do parceiro e/ou doador não aparentado. Observar que todas as pacientes tiveram a viragem da PC para positivo após a imunização de reforço ou de doador, ao passo que três pacientes mantiveram resultados da cultura mista de linfócitos com inibição inferior a 50%, mesmo após a imunização com doador.

Nas Tabelas 5 e 6, estão expressos os resultados da investigação de outros fatores associados. Na Tabela 7, estão expressos os dados de incompetência ístmico cervical identificados por histerossalpingografia.

O cariótipo feminino foi normal em 81 de 83 pacientes e o masculino em 78 de 80 parceiros. Houve dois resultados positivos de infecção, um para *Chlamydia* e outro para micoplasma. Estes estão expressos na Tabela 8.

Durante o período de seguimento ocorreram 116 gestações dentre as 189 mulheres tratadas (61% do total), cujos resultados estão expressos na Tabela 9.

Tabela 1 - Prova cruzada nos períodos pré e pós-imunização.

Resultado	Pré-imunização		Pós-imunização	
	n	%	n	%
negativo	102	88,5	27	23,5
positivo	14	11,5	89	76,5
Total	116	100,0	116	100

Tabela 2 - Inibição da resposta autóloga em cultura mista de linfócitos (CML) nos períodos pré e pós-imunização.

Inibição CML	Pré-imunização		Pós-imunização	
	n	%	n	%
≤ 50%	97	83,8	82	28,5
> 50%	19	16,2	34	71,4
Total	116	100	116	100

Tabela 3 - Prova cruzada após imunização de reforço com linfócitos do parceiro e/ou doador.

Resultado	Pré-imunização		Pós-imunização	
	n	%	n	%
negativo	9	88,5	0	0
positivo	25	11,5	15	100
Total	34	100,0	15	100

Tabela 4 - Inibição da resposta autóloga em cultura mista de linfócitos (CML) pós-imunização de reforço e/ou doador.

Inibição CML	Pré-imunização		Pós-imunização doador	
	n	%	n	%
≤ 50%	15	45,5	3	27,3
> 50%	19	55,5	8	72,7
Total	34	100	11	100

Tabela 5 - Distribuição de pacientes segundo o resultado da pesquisa de auto anticorpos.

Fatores avaliados	Positivo		Total
	N	N	
anti-DNA	01	75	76
fator anti-núcleo	05	79	84
fator anticoagulante lúpico	03	46	49
anticorpo anti-cardiolipina	04	72	76
células LE	0	65	65
anti-Ro	0	37	37
anti-La	0	34	34

Tabela 6 - Investigação hormonal.

Avaliação	Normal		Anormal		Total
	n	%	n	%	
progesterona na fase lútea	25	86,2	4	13,8	29
função tireoideana	40	95,2	2	4,8	42
biópsia de endométrio	29	70,7	12	29,3	41
glicemia de jejum	51	98,1	1	1,9	52

Tabela 7 - Investigação de incompetência ístmico-cervical.

Histerossalpingografia	n	%
Sem sinais de incompetência	61	77,2
Com incompetência ístmico-cervical	18	22,8
Total	79	100,0

Tabela 8 - Investigação do fator infeccioso para a infertilidade.

Agente infeccioso	Positivo		Negativo	
	n	%	n	%
Sífilis	1	0,9	106	99,1
Citomegalovírus	2	3,8	51	96,2
Toxoplasmose	0	0	92	100,0
Listeriose	2	4,3	45	95,7
Brucelose	1	1,6	63	98,4
<i>Chlamydia</i>	0	0	36	100,0
Micoplasma	4	11,1	32	88,9

Tabela 9 - Resultados gestacionais após tratamento

Forma de término da gestação	n	%
Aborto	23	19,8
Gravidez em evolução >20 semanas	26	22,4
Parto a termo	67	57,8
Total	116	100,0

## Discussão

A identificação das causas ou dos fatores associados ao aborto recorrente, bem como sua terapêutica tem sido tema controverso. Há quem sugira que não há terapêutica específica necessária além do seguimento minucioso e suporte emocional ao casal<sup>28</sup> e outros que sugerem a existência de fatores imunológicos tão ou mais importantes que aqueles tradicionalmente referidos como determinantes do aborto recorrente<sup>20</sup>.

Consideramos fundamental que a investigação e tratamento do aborto recorrente deva se pautar em avaliação sistemática de todos os fatores

descritos para o aborto recorrente e cada um deles abordado individualmente para a terapêutica.

Nessa casuística identificamos frequência de alterações da fase lútea semelhante à descrita na maioria das publicações, bem como em relação a fatores uterino, infecioso e genético não abordados neste trabalho<sup>18</sup>.

Observamos que a identificação de fatores associados ao aborto não atingiu metade dos casos se a avaliação aloimune é excluída da propedêutica concordando com a literatura<sup>18</sup>.

Vários testes imunológicos têm sido investigados como marcadores potenciais do risco de recorrência do aborto<sup>25</sup>. Nesta categoria enquadram-se a PC e a CML<sup>14</sup>. Pode-se observar que a frequência de PC positiva se elevou de 16,2% previamente ao tratamento para 71,4 % depois da série de duas imunizações. Nenhuma mulher permaneceu com PC negativa após a imunoterapia com linfócitos do parceiro e/ou doador, e apenas três mantiveram resposta de inibição autóloga abaixo dos 50% do ponto de corte da CML. Isto demonstra a alta eficácia da imunoterapia empregada neste protocolo em induzir resposta imune celular nas pacientes em relação a seus companheiros.

A positividade da prova cruzada de inibição autóloga na CML nas tratadas com células de doador foram considerados como resultados satisfatórios em relação às células do companheiro, independente do resultado da reatividade da paciente em relação ao doador não-aparentado. Este dado é importante para demonstrar que o aumento relativo de compartilhamento de antígenos HLA demonstrado em casais com aborto recorrente<sup>17</sup> dificulta o reconhecimento antigênico entre os parceiros. Sugere-se que este é uma das dificuldades que a mulher apresenta em reconhecer a manifestação truncada do HLA placentário, conforme referido acima como HLA-G.

Há dados indicando que o sucesso da imunoterapia depende, tanto do tamanho do inóculo, como do grau de compatibilidade HLA e que a soroconversão é menos frequente em casais que compartilham mais de um antígeno HLA<sup>19</sup>. No grupo de pacientes que analisamos esta dificuldade foi vencida pelo uso de um coadjuvante da imunização, neste caso o doador não-aparentado. Quanto ao inóculo há várias abordagens possíveis e há dados que sustentam que a via intradérmica resulte em soroconversão com inóculos menores e menos desconfortáveis para a implementação terapêutica<sup>8</sup>.

Quanto aos auto-anticorpos, nossos dados diferem da literatura, particularmente no que tange aos anticorpos anti-fosfolípides e aqueles dirigidos

contra componentes nucleares como o fator antinúcleo. Observamos que há baixa frequência de positividade de ambas as classes de anticorpos relacionados com a síndrome antifosfolípida, também observado por Couto<sup>7</sup> mas não por Costa et al<sup>5</sup> entre nós. Vários estudos têm chamado a atenção para estes anticorpos como causa da redução da fertilidade destas mulheres, tanto em aborto recorrente como em perdas em programas de fertilização assistida (FIV-ET)<sup>10</sup>.

Na presença dos anticorpos antifosfolípidos a associação aspirina em baixas doses e heparina<sup>15</sup> propicia bons resultados gestacionais, especialmente quando instituída desde o período pré-concepcional<sup>16</sup>. Contudo, parece ser independente da terapêutica a manutenção dos níveis circulantes dos anticorpos, sabendo-se que as pacientes que evoluem com nova interrupção apresentam ascensão dos títulos e as que mantêm ou apresentam queda nos níveis têm melhores resultados gestacionais<sup>16</sup>. A imunoglobulina intravenosa tem sido sugerida como alternativa terapêutica para estes casos, associada ou não ao fator aloimune<sup>13</sup>.

A controvérsia a respeito da eficácia da imunoterapia no tratamento dos abortos recorrentes de causa imunológica está longe de ser esclarecida. Em séries não-controladas, a taxa de nascidos vivos em pacientes tratadas com linfócitos do parceiro variou de 50 a 83%<sup>19</sup>. Em estudos randomizados o resultado é conflitante. Publicação avaliando por meta-análise vários relatos a respeito da imunoterapia<sup>31</sup> refere que se incluídos apenas dados resultantes de estudos randomizados, 68% das mulheres imunizadas com linfócitos do parceiro deram à luz um filho vivo na gestação índice, comparado com 61% de nascidos vivos em mulheres controles não tratadas.

Previamente ao tratamento, estas pacientes tiveram 340 gestações, com uma taxa de aborto de 87,9 %. Após a terapia com imunização por linfócitos do parceiro, ocorreram 116 gestações, com uma taxa de aborto de 19,8%.

Consideramos este resultado satisfatório, levando-se em conta o risco de recorrência de novo aborto neste grupo, ainda que não se trate de estudo aleatorizado duplo-cego para esclarecer a real eficácia terapêutica da imunoterapia com linfócitos do parceiro.

Os dados obtidos parecem indicar que a imunização com linfócitos do parceiro é eficiente em melhorar a resposta imunológica materna às células paternas. O tratamento imunoterápico com células paternas melhora os resultados gestacionais.

## Summary

Results on investigation and immune treatment for recurrent abortion are presented. Up to 60% of patients who are free of any clinical identifiable cause for abortion are believed to have alloimmune abnormalities. One of the suggested therapies for this condition is paternal lymphocyte immunization. We present the result of 116 pregnancies followed at the Departamento de Tocoginecologia UNICAMP. Patients were thoroughly evaluated for causes of recurrent abortion mentioned in the literature (genetics, hormones, uterine abnormalities and infections), for autoimmune (antiphospholipid syndrome, abnormal autoantibodies) and for alloimmune causes (crossmatch by microlymphocytotoxicity and mixed lymphocyte culture). Patients who presented negative crossmatch and lower than 50% inhibition in mixed lymphocyte culture were treated with two concentrated intradermal paternal lymphocyte immunizations. Women were stimulated to attempt pregnancy with a positive crossmatch and higher than 50% inhibition in mixed lymphocyte culture. Women whose immune status did not change with this treatment were immunized again with paternal lymphocytes associated or not to a third party donor. We report that 81% of the women treated with this protocol had good pregnancy outcome.

**KEY WORDS:** Recurrent abortion. Reproductive immunology. Lymphocytes. Cellular immunity. Infertility.

### Agradecimentos:

A Marcos Matias Motta e Carolina Taddeo M. dos Santos, alunos da graduação e bolsistas de Iniciação Científica (CNPq), pelo levantamento dos dados e na manutenção do arquivo das pacientes atendidas no Ambulatório de Reprodução Humana - Aborto Recorrente

## Referências bibliográficas

1. Carp HJ, Toder V, Torchinsky, Portuguese S, Lipitz S, Gazit E, Mashiach S. Allogenic leukocyte immunization after five or more miscarriages. Recurrent Miscarriage Immunotherapy Trialists Group. **Hum Reprod** 1997; **12**: 250-5.
2. Chaouat G, Kieger N, Wegmann TG. Vaccination against spontaneous abortion in mice. **J Reprod Immunol** 1983; **5**:389-392.
3. Christiansen OB, Mathiesen O, Husth M, Lauritsen JG, Grunnet N. Placebo-controlled trial of active immunization with third party leukocytes in recurrent miscarriage. **Acta Obstet Gynecol Scand** 1994; **73**:261-8.
4. Clarke B, Kirby DR. Maintenance of histocompatibility polymorphism. **Nature** 211:999-1000.
5. Costa HLFF, Moura MD, Ferriani, RA, Aneschi MIS, Barbosa JE. Prevalence of anti-cardiolipin antibody in habitual aborters. **Gynecol Obstet Invest** 1993; **36**:221-225.
6. Coulam CB. Immunotherapy with intravenous immunoglobulin for treatment of recurrent pregnancy loss: American experience. **Am J Reprod Immunol** 1994; **32**: 286-9 TI.
7. Couto E, Barini R, Pinto e Silva JL, Moraes DRLP, Carvalho LMF. Anticardiolipin antibody in recurrent spontaneous aborting and fertile women. **São Paulo Med J In press**
8. Daya S, Gunby J. The effectiveness of allogeneic leukocyte immunization in unexplained primary recurrent spontaneous abortion. Recurrent Miscarriage Immunotherapy Trialists Group [see comments]. Comment in: **Am J Reprod Immunol** 32:257-60, 1994. **Am J Reprod Immunol**. 1994; **32**: 294-302.
9. Ellis AS, Sargent IL, Redman, CW., McMichael AJ. Evidence for a novel HLA antigen found on Human extravillous trophoblast and a choriocarcinoma cell line. **Immunology** 1986; **95**:595-601.
10. Geva E, Amit A, Lerner, Geva, L, Lessing JB. Autoimmunity and reproduction **Fertil Steril** 1997; **67**: 599-611.
11. Higuchi K, Aoki K, Kimbara T, Hosoi N, Yamamoto T, Okada H. Suppression of natural killer cell activity by monocytes following immunotherapy for recurrent spontaneous abortions. **Am J Reprod Immunol** 1995; **33**: 221-227.
12. King A, Loke YW. On the nature and function of Human uterine granular lymphocytes. **Immunol Today** 1991; **12**:432.
13. Kiproff DD, Nachtigall RD, Weaver RC, Jacobson A; Main EK, Garovoy MR. The use of intravenous immunoglobulin in recurrent pregnancy loss associated with combined alloimmune and autoimmune abnormalities. **Am J Reprod Immunol** 1996; **36**: 228-34.
14. Komlos L, Vardimon D, Notmann J, Ben-Rafael Z, Hart J, Klein T, Levinsky Halbrecht I. Mixed maternal-paternal lymphocyte cultures before and after immunotherapy for recurrent spontaneous abortions. **Am J Reprod Immunol** 1996; **35**: 30-3.
15. Kutteh WH. Antiphospholipid antibody-associated recurrent pregnancy loss: treatment with heparin and low-dose aspirin is superior to low-dose aspirin alone. **Am J Obstet Gynecol** 1996; **174**:1584-9.
16. Kwak JY, Barini R, Gilman-Sachs A, Beaman KD, Beer AE. Down-regulation of maternal antiphospholipid antibodies during early pregnancy and pregnancy outcome. **Am J Obstet Gynecol** 1994; **171**: 239-46.

17. Leiber S, Batista S, Peseroli LBL, Barini R. Fenotipagem HLA em casais com história de aborto recorrente. **Braz J Genet** 1997; 20 : 241
18. Maione S, Lamberti L, Alovisi C, Armellino F. Retrospective study of couples with a history of recurrent spontaneous abortion. **Acta Eur Fertil** 1995; 26: 95-100.
19. Marelli G, Parazzini F, Acaia B, Bocciolone L, Bontempelli M, Faden D, Fedele L, Maffei A, Radici E, Illeni M T: Immunotherapy and recurrent abortion: a randomized clinical trial. **Hum Reprod** 1994; 9: 1247-49.
20. Mowbray SF, Gibbons C, Lidell H, Reginald PW, Underwood JL, Beard RW. Controlled trial of treatment of recurrent spontaneous abortion by immunization with paternal cells. **Lancet** i: 1985; 941-943.
21. Mueller-Eckhardt G. Immunotherapy with intravenous immunoglobulin for prevention of recurrent pregnancy loss: European experience. **Am J Reprod Immunol** 1994; 32: 281-285.
22. Ober CL, Hauck WW, Kostyu DD, O'Brien E, Elias S, Simpson JLL, Mantin A. Adverse effects of Human leukocyte antigen-DR sharing on fertility: a cohort study in a Human isolate. **Fertil Steril** 1985; 44:227.
23. Recurrent Miscarriage Immunotherapy Trialists Group: Worldwide collaborative observational study and meta-analysis on allogenic leukocyte immunotherapy for recurrent spontaneous abortion. **Am J Reprod Immunol** 1994; 32:55-72
24. Reed E, Beer AE, Hutcherson H, King DW, Sucio-Focca N. The alloantibody response of pregnant women and its suppression by soluble HLA antigens and anti-idiotypic antibodies. **J Reprod Immunol** 1991; 20:115-128.
25. Roussev RG, Kaider BD, Price DE, Coulam CB. Laboratory evaluation of women experiencing reproductive failure. **Am J Reprod Immunol** 1996; 35: 415-20.
26. Ruiz JE, Kwak JY, Baum L, Gilman-Sachs A, Beaman KD, Kim YB, Beer A E: Intravenous immunoglobulin inhibits natural killer cell activity in vivo in women with recurrent spontaneous abortion. **Am J Reprod Immunol** 1996; 35:370-375.
27. Sollinger HW, Burlingham WJ, Sparks EMF, Glass NR, Belzer FO. Donor specific transfusions in unrelated and related HLA mismatched donor recipient combinations. **Transplantation** 1984; 38:612-614.
28. Stray-Pederson B, Stray-Pederson S. Etiologic factors and subsequent reproductive performance in 195 couples with a prior history of habitual abortion. **Am J Obstet Gynecol** 1984; 148:142.
29. Sucio-Focca N, Reed E, Rohowsky C: Antiidiotypic antibodies to anti-HLA receptors induced by pregnancy. **Proc Natl Acad Sci USA** 1983; 80:830.
30. Thomas M L, Harger J H, Wagener D K, Rabin, B S, Gill T J III: HLA sharing and spontaneous abortion in humans. **Am J Obstet Gynecol** 1985; 151: 1053-1058.
31. Worldwide collaborative observational study and meta-analysis on allogenic leukocyte immunotherapy for recurrent spontaneous abortions. Recurrent Miscarriage Immunotherapy Trialist Group. **Am J Reprod Immunol** 1994; 32:155-72.