

İkiz gebeliklerde koryon ve amniyon tiplerinin dağılımı

Rahime Nida Ergin¹, Murat Yayla²

¹Bahçeşehir Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İstanbul

²International Hospital Kadın Hastalıkları ve Doğum Bölümü, İstanbul

Özet

Amaç: Birinci trimester rutin taramalarında ikiz gebeliklerdeki koryon ve amniyon kesesi tiplerinin dağılımının saptanması ve bunların gebeliğin doğal veya yardımcı üreme tekniği kökenli olması ile ilgisinin araştırılması amaçlandı.

Yöntem: Rutin birinci trimester taraması sırasında incelenen ikiz gebelikler retrospektif olarak değerlendirilmeye alındı. İkizler doğal ve yardımcı üreme tekniği (YÜT) sonucu elde edilmiş olmalarına göre gruplandırıldı. YÜT-doğal gebelik olma durumları bilinmeyen ve koryon-amniyon bilgileri eksik veya şüpheli olgular değerlendirme dışı bırakıldı. Sonografik koryonite ayırımında klasik lambda ve T belirtirlerinin varlığı esas alındı. Amniyon zarının fetüsler arasında hiç gözlenmemesi monoamniyotik ikizlik olarak tanımlandı.

Bulgular: On dört yıllık süreçte toplam 286 ikiz gebelik olgusu değerlendirilmeye uygun bulundu. Ortalama anne yaşı 30.47 ± 5.07 yıl, sonografinin yapıldığı ortalama gebelik haftası 12.23 ± 0.70 hafta idi. Tüm ikizlerin %83.2'sinde çift, %16.7'sinde tek plasenta varlığı saptandı. İkiz gebeliklerin %54.5'i (n=156) YÜT gebeliği, %45.5'i ise doğal gebelikti. Doğal ikizlerin %67.7'si diamiyotik dikoryonik, %27.7'si diamiyotik monokoryonik ve %4.6'sı monoamniyotik monokoryonik iken, YÜT ikizlerinin %96.2'si diamiyotik dikoryonik, %3.2'si diamiyotik monokoryonik ve %0.6'sı monoamniyotik monokoryonik olarak belirlendi. YÜT ikizleri ile doğal ikizlerin koryonite dağılımları arasında istatistiksel anlamlı farklılık bulunduğu saptandı (p<0.05).

Sonuç: Doğal ikizlerde monokoryonik yapıya daha fazla rastlanmaktadır. Bu gebeliklerin takiplerinde erken ve doğru tanı monokoryonik plasentasyon ile ilgili sorunlara yine erken ve doğru yaklaşılmasına temel oluşturabilir.

Anahtar sözcükler: İkiz, yardımcı üreme teknikleri, koryon, amniyon, ilk trimester ultrasonografi.

Abstract: The distribution of chorion and amnion types in twin pregnancies

Objective: Our aim was to determine the distribution of chorion and amnion sac types in twin pregnancies during the routine screening procedures during the first trimester, and to investigate their relevance with pregnancy being natural or by assisted reproductive technology.

Methods: Twin pregnancies analyzed during routine first trimester screening were evaluated retrospectively. The twins were grouped according to their conception types which are natural birth and by assisted reproductive technologies (ART). The cases which have missing or suspicious information about chorion-amnion types and with unknown conditions for pregnancies whether they were by ART or naturally were excluded from the study. In the sonographic chorionicity distinction, the presence of classic lambda and T signs was considered. The unavailability of amniotic membrane among fetuses was defined as monoamniotic twin.

Results: During 14 years, 286 twin pregnancies were considered as appropriate cases to analyze. Mean maternal age was 30.47 ± 5.07 years, and mean week of gestation during sonography was 12.23 ± 0.70 . Double placentas were found in 83.2% of all pregnant women, and single placenta in 16.7% of all pregnant women. While 54.5% (n=156) of twin pregnancies were ART pregnancies, 45.5% of them were natural pregnancies. It was determined that 67.7% of natural twins were diamniotic dichorionic, 27.7% of them were diamniotic monochorionic and 4.6% of them were monoamniotic monochorionic while 96.2% of ART pregnancies were diamniotic dichorionic, 3.2% of them were diamniotic monochorionic and 0.6% of them were monoamniotic monochorionic. There was statistically significant difference between ART twins and natural twins in terms of chorionicity distributions (p<0.05).

Conclusion: Monochorionic structure is observed more frequently in natural twins. In the follow-up of these pregnancies, early and accurate diagnosis may be the basis of early and accurate approach for the issues related with monochorionic placentation.

Keywords: Twin, assisted reproductive technologies, chorion, amnion, first trimester ultrasonography.



Giriş

İkiz gebeliklerde gebeliğin erken döneminde hangi tipte koryon bulunduğu ortaya konması, gebeliğin takibi ve bazı özgün fetal risklerin koryon tipine göre artış gösteriyor olmasından dolayı önemlidir.^[1-9] Literatürdeki mevcut az sayıdaki çalışmalara göre doğal ikiz gebeliklerde koryon yapısı kabaca 2/3 dikoryyonik, 1/3 monokoryyonik olma eğilimindedir.^[4,5,10-13] IVF gebeliklerinin genelinde monokoryyonik ikizlere rastlanma oranı daha düşük orandadır.^[4,12]

Mevcut çalışmada ikiz gebeliklerdeki koryon ve amniyon tipi dağılımlarını bulmayı ve bu dağılımın gebeliğin yardımcı üreme tekniği (YÜT) ile veya doğal yoldan elde edilmiş olmasına göre değişiklik gösterip göstermediğini saptamayı amaçladık.

Yöntem

Retrospektif olarak Mart 2000 ve Temmuz 2014 tarihleri arasında birinci trimester ultrasonografi taraması yapılmış doğal ve YÜT ikiz gebelikleri değerlendirmeye alındı. YÜT-doğal gebelik olma durumları bilinmeyen ve koryon-amniyon bilgileri eksik veya şüpheli olanlar değerlendirme dışı bırakıldı.

Koryon tipleri gebeliğin 11 ile 13. haftaları arasında yapılan ultrasonografi incelemesinde ikizler arası zar tabanına doğru uzanan koryonik dokunun varlığı ya da yokluğuna göre tespit edildi. Zarlar arasında doku varlığının gözlenmesi “lambda (λ) belirtisi veya ikiz tepe be-

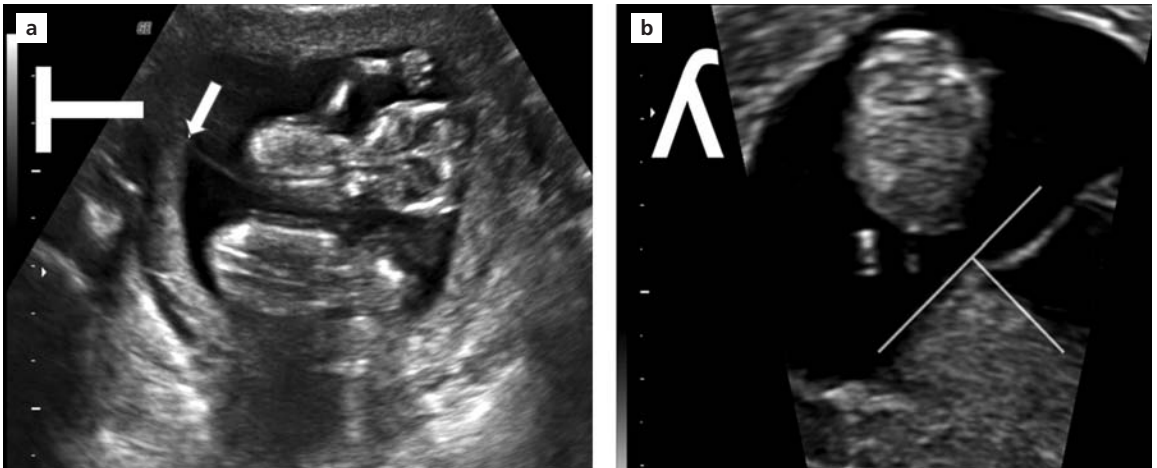
lirtisi” yani dikoryyonik plasantasyon tipi, zarlar arasında doku yokluğu ise “T belirtisi” yani monokoryyonik tip plasantasyon olarak nitelendirildi. Diğer bir ifade ile ikizler arası zar ile dış kenar arasındaki bileşkenin dik açı oluşturması “T belirtisini” ifade eder. Yine ikizler arası zara kama şeklinde uzanan koryon tabakasının görüntüsü nispeten kavisli bir görünüm ile lambda şeklinde görülür (**Şekil 1**).^[13,14] İkizleri ayıran bir zarın görülmemesi de monoamniyotik gebelik için bir kriterdir.

Ultrasonografi incelemeleri (Voluson 730 Expert TM; GE Healthcare, Milwaukee, WI, ABD ve Philips HDI 4000 ultrasound system; Philips Medical Systems, Best, Hollanda) 2/5 mHz ve 7/9 mHz probalar ile transabdominal veya transvaginal olarak yapıldı.

İstatistik analizleri bir serbest yazılım olan PSPP istatistik programı (Plaff B, Darrington J. GNU PSPP. Version 0.7.8. 2011. Free Software Foundation, Boston, MA, ABD) kullanılarak yapıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak tanımlandı.

Bulgular

Toplam 286 ikiz gebelik olgusu değerlendirmeye alındı. Ortalama anne yaşı 30.47 ± 5.07 yıl idi. Annelerin ortalama gebelik sayısı 1.60 ± 1.13 , ortalama parite 1.36 ± 0.80 idi. Koryon tipinin değerlendirildiği ortalama gebelik haftası 12.23 ± 0.70 hafta, ortalama CRL ölçümü 61.61 ± 10.51 mm olarak belirlendi. Dâhil edilen ikiz gebeliklerin %54.5’inde ($n=156$) YÜT uygulanmıştı. YÜT

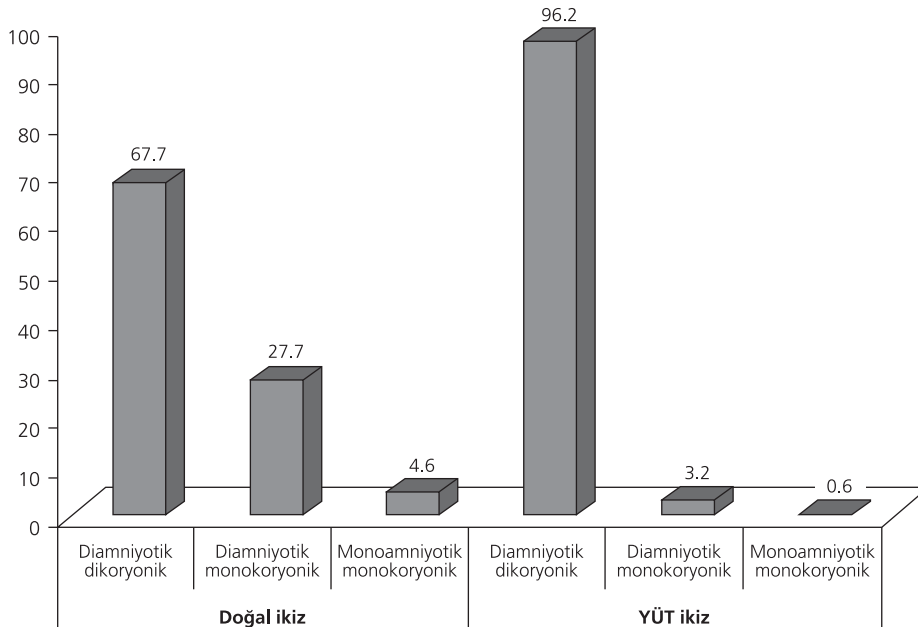


Şekil 1. (a) T belirtisi: İkizler arası zar ile dış kenar arasındaki bileşkenin dik açı oluşturması (ok). (b) Lambda belirtisi: İkizler arası membrana kama şeklinde uzanan koryonun ters lambda harfi görüntüsü.

olgularının %90.4'ünde (n=141) IVF, %9.6'sında (n=15) sadece ovülasyon indüksiyonu uygulanmıştı. Genel olarak ikiz popülasyonun %83.2'i diamniyotik dikoryyonik, %14.3'ü diamniyotik monokoryyonik ve %2.4'ü monoamniyotik monokoryyonik idi. Doğal ikizlerin %67.7'si diamniyotik dikoryyonik, %27.7'si diamniyotik monokoryyonik ve %4.6'sı monoamniyotik monokoryyonik iken YÜT ikizlerinin %96.2'si diamniyotik dikoryyonik, %3.2'si diamniyotik monokoryyonik ve %0.6'sı monoamniyotik monokoryyonik olarak belirlendi (Şekil 2). Monokoryyonik plasentasyon YÜT ikizlerinde %3.8 iken, doğal ikizlerde daha yüksek olarak (%32.3) karşımıza çıktı. Monokoryyonik plasentasyon istatistiksel anlamlı olarak doğal gebeliklerde yaklaşık 9 kat daha fazla görülmekteydi. YÜT ve doğal ikizler koryonisite yönünden değerlendirildiğinde dağılımlarının istatistiksel anlamlı farklılık gösterdiği saptandı ($p<0.05$). YÜT alt gruplarına bakıldığında IVF olgularının %95.7'si diamniyotik dikoryyonik, %3.5'i diamniyotik monokoryyonik ve %0.7'si monoamniyotik monokoryyonik iken sadece ovülasyon indüksiyonu uygulanan ikizlerinin tamamı diamniyotik dikoryyonik olarak belirlendi. Koryon sayısı dağılımı YÜT alt gruplarına bakıldığında istatistiksel anlamlı farklılık göstermemekteydi.

Tartışma

İkiz gelişiminde amniyon ve koryon tipi zigot bölünmesinin/ayırışmanın zamanlamasına göre belirlenmektedir. Zigot bölünmesinin morula evresinde 1-3. günler arasında olması ile yani iç hücre kümesinin ve herhangi bir farklılaşmanın oluşmasından önceki bir bölünme, 2 ayrı koryon, amniyon ve plasentalı 2 embriyo (diamniyotik dikoryyonik) meydana gelir. Zigot bölünmesinin blastokist evresinde 4-8 gün arasında iç hücre kümesinin gelişmesinden sonra erken blastokist evresinde bölünme ile 1 plasenta ve 1 koryonlu ancak 2 farklı amniyonlu 2 embriyo (diamniyotik monokoryyonik) gelişir. İmplantasyon 8-13. günler arasında embriyonik disk oluştuktan sonra bölünmesi gerçekleşirse, amniyonun çoktan gelişmiş olması nedeni ile monoamniyotik monokoryyonik gebelik oluşur.^[15] Dikoryyonik ya da monokoryyonik olma mekanizmasına yönelik olmaktan çok yakın ilişkili olduğu dizigot veya monozigot olma durumlarının incelendiği çalışmalarda pek çok faktör araştırılmıştır ancak henüz mekanizma tam olarak bilinmemektedir.^[16-30] Aile çalışmalarında dizigot anne bebeklerinde dizigot olma olasılığı (1/58) babanın dizigot olması durumuna (1/116) göre 2 kat daha siktir.^[16] Bu nedenle genetik faktörlerin daha çok sorumlu olduğuna inanılan dizigot ikiz gebelik-



Şekil 2. Doğal ve YÜT ikizlerinde koryonisite dağılımı.

lerde yapılan genetik araştırmalarda, fertilitte ve over fonksiyonunda önemli olan GDF6 ve kromozom 3p25'de peroksizom proliferatör aktive reseptör geni PPRAG gibi genlerdeki mutasyonlar sorumlu tutulmuştur.^[17,18] Anne yaşı ve parite ile dizigot ikiz olma olasılığı artmaktadır.^[19-21] Birinci gebelikteki %1.3 olasılık, 4. gebelikte %2.7'ye yükselmektedir.^[19] Oral kontraseptif kullanımı ve folik asit kullanımının da dizigot ikiz oluşumunu etkilediği öne sürülmüştür.^[22] Çalışmamız YÜT ile elde edilen gebelikleri bu yönde sorgulamadığından serimizdeki dağılımı etkileyen faktörleri ayırt edemedik.

Monozigot dolayısı ile monokoryonik ikiz gelişim mekanizmalarında genetikten ziyade pek çok çevresel faktörün etkili olabileceği çeşitli çalışmalarda öne sürülmüştür. Monokoryonik ikiz gelişiminde paritenin ve anne yaşının monozigot sıklığında etkili olmadığı gösterilmiştir.^[23] YÜT olgularında monozigot gelişim mekanizmaları olarak gonadotropinler ile over stimülasyonu, zona manipülasyonu, ICSI/AH ile zonadaki yapay kesi ve o noktadan blastomer herniasyonu varlığı, blastomer transferi, uzun süreli kültür ile zona sertleşmesi, kültür ortamının sub-optimal olması ve embriyo kültür ortamı gibi faktörler sorumlu tutulmuştur.^[24-30] Konvansiyonel IVF ile gonadotropinler ile over stimülasyonu uygulanan IVF hastaların karşılaştırıldığı klinik bir çalışmada monozigot ikiz oranın over stimülasyonu uygulanan hastalarda 2 kat fazla görüldüğü saptanmıştır. Bu oran artışından zona pellucida yapısındaki gonadotropin nedenli değişimler sorumlu tutulmuştur.^[24] Sorumlu tutulan mekanizmaya göre ovülasyon indüksiyonunun zona pellucida'yı sertleştirilmesi esnasında zayıf noktaların oluşması ve bu noktalardan blastokistlerin herniye olarak ikiz oluşturması şeklindedir.^[24] Yine bu çalışmada, zona pellucida yapısındaki değişimler ile 5. gün embriyo transferi kombinasyonunun da monozigot oranının artışından sorumlu olabileceği vurgulanmıştır.^[24] Benzer bir mekanizma ile ICSI/AH ile zona pellucida'nın yapay kesi esnasında ve o noktadan blastomer herniasyonu sonucu monozigot ikiz gelişebilmektedir.^[25,26] Embryo transfer zamanlaması (5 günlük embriyo) da monozigot gelişim riski açısından ICSI/AH'den bağımsız bir risk faktörü olarak saptanmıştır.^[26] Burada esas olarak bölünmenin 4-8. günler arası olması durumunda monozigot gelişim olacağından, 5. gün embriyo transferi bölünmeye neden olmaktan ziyade, bölünme olur ise monozigot olmasını sağlamaktadır.^[26] Manipülasyon uygulanmayan blastokist embriyo transferlerinde de monozigot gelişim oranı yüksek bulunmuştur.^[27,28] Yine başka bir hipotez kültür ortamına daha du-

yarlı olan iç hücre kitlesinin bölgesel apoptoza uğrayarak iki kutuplu iç hücre kitlesi oluşturarak monozigot gelişimine neden olduğu şeklindedir.^[29] Kültür ortamında uzamış süre, kültür ortamı ile içeriği ve ilgili laboratuvar deneyiminin de monozigot gelişim riski üzerine etkili olabileceği vurgulanmıştır.^[30] Ancak dondurma işleminin monozigot sıklığında etkili olmadığı gösterilmiştir.^[31]

Ülkemizde yapılmış olan çok merkezli yaklaşık 70.000 canlı doğumun değerlendirildiği epidemiyolojik bir çalışmada ikiz doğum prevalansı 18.6/1000 saptanmış olup bunların %75'inde YÜT uygulandığı tespit edilmiştir.^[32] İkizlerde koryon tipinin gebeliğin erken döneminde belirlenmesi, ikiz gebeliğin takibinde ve dolaylı olarak maternal sağlık açısından önemlidir. Koryon tipine göre o tipe özgü fetal komplikasyonlar daha sık görülmektedir.^[1-9] Yakın tarihli koryon tipine göre yapılmış olan bir meta-analizde, bir fetusun ölümünün diğer fetusun ölümüne neden olma riskinin monokoryoniklerde dikoryoniklere göre 5 kat fazla olduğu gösterilmiştir.^[6] Benzer şekilde ülkemizde yapılan ikiz çalışmalarında genel perinatal mortalite binde 107 ve ikiz kayıpsız doğum şansı %85 olarak belirlenmiş olup doğal ve YÜT gebelikler arasında fetal neonatal mortaliteler açısından fark saptanmamıştır.^[7,8] Yine ülkemizde yapılan başka bir çalışmada ikiz gebeliklerde koryon tipine göre perinatal mortalite dikoryoniklerde %6, monokoryoniklerde %14 oranında daha yüksek saptanmıştır.^[9]

Yukarıda özetlenen nedenler ile RCOG (The Royal College of Obstetricians and Gynaecologists) çalışması olan rehberde de önerildiği gibi çoğul gebeliklerde amniyon ve koryon tipinin mümkün olan her koşulda erken dönemde tanımlanması önemlidir.^[33] Biz de araştırmamızı gebeliğin 11-14. haftaları arasında, rutin tarama döneminde yaparak ileride karşılaşılabilecek koryon sayı karışlıklarını en alt seviyede tutmayı amaçladık.

Bir ikiz çalışmasında doğal ya da IVF olma durumundan bağımsız olarak ikizlerin %29'u monokoryonik ve %71 dikoryonik olarak bildirilmiştir.^[4] Başka bir çalışmadaki olgularda koryon dağılımı doğal ikiz gebeliklerde %72 dikoryonik, %28 monokoryonik iken, IVF olgularında %96 dikoryonik %4 monokoryonik saptanmıştır.^[5] Ülkemizde yapılmış olan çalışmalarda benzer şekilde doğal ya da IVF olma durumundan bağımsız olarak ikizlerin dikoryonik ikiz oranı %64-85 aralığında, monokoryonik ikiz oranı %15-36 aralığında bildirilmiştir.^[9-11]

Bizim çalışmamızda doğal ikizlerin yaklaşık üçte birinde monokoryonik tipte koryon görüldürken, YÜT ikizlerde bu oran yaklaşık %4 olarak saptanmıştır.

Büyük çoğunluğunu ikiz gebeliklerin oluşturduğu (%72) çoğul gebeliklerde koryon tipi dağılımın incelendiği diğer bir çalışmada doğal çoğul gebeliklerde monokoryoniklerin oranı %28.2 ve YÜT çoğul gebeliklerde %5.4 (YÜT ikizlerinde %5) olduğu gösterilmiştir.^[12] Yine koryon tipinin ultrasonografik olarak belirlenmesi tekniğinde erken dönem lambda belirtisinin yardımını ortaya koyan öncü çalışmada genel olarak ikiz gebeliklerde %22 monokoryonik tipte koryon saptandığı belirtilmiştir.^[13] Bizim çalışmamızdaki sonuçlar bu çalışmaya oldukça yakın oranlar göstermiştir. Çalışmamızda monokoryonik tip doğal ikizlerde YÜT ikizlerine göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek oranda bulundu.

Mevcut çalışmaların da açıkça gösterdiği gibi koryon tipinin erken dönemde ortaya konması maternal ve fetal sağlık ve takip açısından çok önem taşımaktadır. Genel olarak, ikizlerde koryon dağılımının doğal gebelik ve IVF gebelik süreçlerine göre nasıl bir dağılım gösterdiğinin saptandığı bu çalışma, literatürdeki çalışmalar ile oran olarak farklılık gösterse de genel olarak doğal ikiz gebelik sürecinde monokoryonik tipin daha sık görülme eğiliminde olduğu çalışmamızca da teyit edilmiştir.

Sonuç

Doğal ikizler ve YÜT ikizleri koryon dağılımları yönünden farklılık gösterirler. Bunun sonucu olarak doğal ikizlerde monokoryonik plasantasyon ile monoamniyotik amniyon yapısına YÜT ikizlerine göre daha fazla rastlanmaktadır. Koryon ve amniyon dağılımının özellikle doğal ikizlerde erken dönemde belirlenmesi bu ikizlerdeki takip planlamasının daha doğru yapılmasına olanak sağlayacaktır.

Çıkar Çakışması: Çıkar çakışması bulunmadığı belirtilmiştir.

Kaynaklar

- Hack KE, Derks JB, Elias SG, Franx A, Roos EJ, Voerman SK, et al. Increased perinatal mortality and morbidity in monochorionic versus dichorionic twin pregnancies: clinical implications of a large Dutch cohort study. *BJOG* 2008;115:58-67.
- Barigye I, Pasquini L, Galea P, Chambers H, Chappell L, Fisk NM. High risk of unexpected late fetal death in monochorionic twins despite intensive ultrasound surveillance: a cohort study. *PLoS Med* 2005;2:e172.
- Huber A, Diehl W, Bregenzer T, Hackelöer BJ, Hecher K. Stage-related outcome in twin-twin transfusion syndrome treated by fetoscopic laser coagulation. *Obstet Gynecol* 2006;108:333-7.
- Chauhan SP, Shields D, Parker D, Sanderson M, Scardo JA, Magann EF. Detecting fetal growth restriction or discordant growth in twin gestations stratified by placental chorionicity. *J Reprod Med* 2004;49:279-84.
- Sperling L, Kiil C, Larsen LU, Brocks V, Wojdemann KR, Qvist I, et al. Detection of chromosomal abnormalities, congenital abnormalities and transfusion syndrome in twins. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2007;29:517-26.
- Hillman SC, Morris RK, Kilby MD. Co-twin prognosis after single fetal death: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2011;118:928-40.
- Yayla M, Baytur Y. Çok merkezli çoğul gebelik çalışması 2 – İkizlerde perinatal mortalite. *Perinatoloji Dergisi* 2009;17:8-17.
- Yayla M, Ergin RN, Baytur Y. Çok merkezli çoğul gebelik çalışması IV – Spontan ikizlerdeki mortalitenin yardımıyla üreme teknikleriyle gebe kalanlardaki ikizler ile karşılaştırılması. *Perinatoloji Dergisi* 2011;19:1-5.
- Yıldırım G, Gül A, Aslan H, Erol O, Güngördük K, Ceylan Y. İkiz gebeliklerde koryoniseninin neonatal ve maternal sonuçlara etkisi. *J Turk Soc Obstet Gynecol* 2007;4:178-83.
- Erdemoğlu M, Kale A, Akdeniz N, Yalınkaya A, Özcan Y, Yayla M. Çoğul gebeliklerin retrospektif analizi. *Perinatoloji Dergisi* 2005;13:213-7.
- Üstün Y, Engin Y, İltemir C, Cengiz B, Koç A, Cengiz L. Çoğul gebeliklerde obstetrik ve perinatal sonuçlar. *MN-Klinik Bilimler & Doktor* 2002;8:506-9.
- Chow JS, Benson CB, Racowsky C, Doubilet PM, Ginsburg E. Frequency of a monochorionic pair in multiple gestations: relationship to mode of conception. *J Ultrasound Med* 2001;20:757-60.
- Sepulveda W, Sebire NJ, Hughes K, Odibo A, Nicolaides KH. The lambda sign at 10-14 weeks of gestation as a predictor of chorionicity in twin pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1996;7:421-3.
- Finberg HJ. The "twin peak" sign: reliable evidence of dichorionic twinning. *J Ultrasound Med* 1992;11:571-7.
- Blickstein I, Keith LG. On the possible cause of monozygotik twinning: lessons from the 9-banded armadillo and from assisted reproduction. *Twin Res Hum Genet* 2007;10:394-9.
- White C, Wyshak G. Inheritance in human dizygotic twinning. *N Engl J Med* 1964;271:1003-5.
- Palmer JS, Zhao ZZ, Hoekstra C, Hayward NK, Webb PM, Whiteman DC, et al. Novel variants in growth differentiation factor 9 in mothers of dizygotic twins. *J Clin Endocrinol Metab* 2006;91:4713-6.
- Busjahn A, Knoblauch H, Faulhaber HD, Aydin A, Uhlmann R, Tuomilehto J, et al. A region on chromosome 3 is linked to dizygotic twinning. *Nat Genet* 2000;26:398-9.
- Pettersson F, Smedby B, Lindmark G. Outcome of twin birth. Review of 1,636 children born in twin birth. *Acta Paediatr Scand* 1976;65:473-9.
- Rao TV. Maternal age, parity, and twin pregnancies. *Prog Clin Biol Res* 1978;24:99-103.
- Beemsterboer SN, Homburg R, Gorter NA, Schats R, Hompes PG, Lambalk CB. The paradox of declining ferti-

- ty but increasing twinning rates with advancing maternal age. *Hum Reprod* 2006;2:1531-2.
22. Ericson A, Källén B, Aberg A. Use of multivitamins and folic acid in early pregnancy and multiple births in Sweden. *Twin Res* 2001;4:63-6.
 23. Bortolus R, Parazzini F, Chatenoud L, Benzi G, Bianchi MM, Marini A. The epidemiology of multiple births. *Hum Reprod Update* 1999;5:179-87.
 24. Schachter M, Raziell A, Friedler S, Strassburger D, Bern O, Ron-El R. Monozygotic twinning after assisted reproductive techniques: a phenomenon independent of micromanipulation. *Hum Reprod* 2001;16:1264-9.
 25. Talansky BE, Gordon JW. Cleavage characteristics of mouse embryos inseminated and cultured after zona pellucida drilling. *Gamete Res* 1988;21:277-87.
 26. Skiadass CC, Missmer SA, Benson CB, Gee RE, Racowsky C. Risk factors associated with pregnancies containing a monochorionic pair following assisted reproductive technologies. *Hum Reprod* 2008;23:1366-71.
 27. Sheiner E, Har-Vardi I, Potashnik G. The potential association between blastocyst transfer and monozygotic twinning. *Fertil Steril* 2001;75:217-8.
 28. Behr B, Fisch JD, Racowsky C, Miller K, Pool TB, Milki AA. Blastocyst-ET and monozygotic twinning. *J Assist Reprod Genet* 2000;17:349-51.
 29. Ménéz YJ, Sakkas D. Monozygotic twinning: is it related to apoptosis in the embryo? *Hum Reprod* 2002;17:247-8.
 30. Moayeri SE, Behr B, Lathi RB, Westphal LM, Milki AA. Risk of monozygotic twinning with blastocyst transfer decreases over time: an 8-year experience. *Fertil Steril* 2007;87:1028-32.
 31. Blickstein I, Jones C, Keith LG. Zygotic-splitting rates after single-embryo transfers in in vitro fertilization. *N Engl J Med* 2003;348:2366-7.
 32. Yayla M, Baytur Y. Çok merkezli çoğul gebelik çalışması 1 – Epidemiyoloji. *Perinatoloji Dergisi* 2008;16:1-8.
 33. The Royal College of Obstetricians and Gynaecologists (RCOG). Management of monochorionic twin pregnancy. Green-top Guideline No. 51; 2008.