

Mechanizmy powstawania ciąży bliźniaczych dwuzygotycznych. Częstość występowania oraz czynniki predysponujące

Mechanisms of twin dizygotic pregnancies formation. Prevalence and predisposing factors

© GinPolMedProject 4 (26) 2012

Artykuł poglądowy/Review article

WITOLD MALINOWSKI

Katedra Pielęgniarstwa Położniczo-Ginekologicznego
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Witold Malinowski

Adres do korespondencji/Address for correspondence:

Witold Malinowski

Katedra Pielęgniarstwa Położniczo-Ginekologicznego
Pomorski Uniwersytet Medyczny w Szczecinie
ul. Żołnierska 48, 71-210 Szczecin
e-mail: witold05@op.pl

Statystyka/Statistic

Liczba słów/Word count	2674/3245
Tabele/Tables	2
Ryciny/Figures	0
Piśmiennictwo/References	66

Received: 17.08.2012

Accepted: 18.10.2012

Published: 10.12.2012

Streszczenie

Pierwszą na świecie powszechną rejestrację urodzeń dzieci rozpoczęto w krajach nordyckich w XVII wieku. W Szwecji i Finlandii została oficjalnie wprowadzona w 1749 roku. Od tego momentu możemy w tych krajach oceniać częstość występowania ciąży bliźniaczych. Okazało się, że odsetek ciąży bliźniaczych był względnie stały aż do końca XIX wieku. Począwszy od 1900 roku, w większości krajów europejskich i USA zaczęto odnotowywać zmniejszanie się częstości występowania ciąży bliźniaczych. Trend ten utrzymywał się aż do końca lat 70. XX wieku, od kiedy to obserwuje się tendencję odwrotną, która trwa aż do dnia dzisiejszego.

Słowa kluczowe: ciąża bliźniacza dwuzygotyczna; występowanie; mechanizm powstawania

Summary

The first universal birth registry of children was initiated in Nordic countries in the 17th century. In Sweden and Finland it was officially introduced in 1749. Since then, the prevalence of twin pregnancies has been estimated in these countries. It turned out that the proportion of twin pregnancies was relatively constant until the end of the 19th century. Since 1900, the decreasing occurrence of twin pregnancies has been recorded in most European countries and the US. This trend remained present until the end of the 1970s, when a reverse tendency was observed and lasts until today.

Key words: twin dizygotic pregnancy; prevalence; mechanism of formation

WSTĘP

W XIX wieku, szkocki położnik dr James Matthews Duncan z Edinburgh, prawdopodobnie jako pierwszy wysnuł hipotezę, że występują dwa rodzaje bliźniąt: dwujajowe (dwuzygotyczne - DZ) i jednojajowe (jednozygotyczne - JZ), a ich etiologia jest całkowicie odmienna [1,2].

Bliźnięta DZ powstają w wyniku zapłodnienia dwóch oddzielnych komórek jajowych przez dwa osobne plemniki tworząc już od samego początku dwa oddzielne i różne genetycznie embriony (średnio posiadają 50% wspólnych genów). Rozwijające się wówczas płody (mogą być tej samej bądź odmiennej płci) nazywamy bliźniętami dwujajowymi lub dwuzygotycznymi (DZ) [3]. Urodzone z ciąży bliźniaczej dwuzygotycznej noworodki nie są do siebie bliźniaczo podobne. Podobieństwo ich można przyrównać do istniejącego pomiędzy rodzeństwem urodzonym w tej samej rodzinie, ale z dwóch oddzielnych ciąż.

Natomiast bliźnięta JZ powstają w wyniku zapłodnienia pojedynczej komórki jajowej przez jeden plemnik z następowym podziałem pierwotnie pojedynczej zygoty na dwie identyczne genetycznie struktury embrionalne. Podział ten może dokonać się w ciągu pierwszych 14. – 16. dni od zapłodnienia. Rozwijające się w takiej ciąży bliźnięta (zawsze tej samej płci) określamy jako jednojajowe lub jednozygotyczne (JZ). Dla podkreślenia ich dużego podobieństwa, nazywa się je również bliźniętami „prawdziwymi” lub „identycznymi”. Fenotypowo bliźnięta te są bardzo podobne (posiadają 100% wspólnych genów), chociaż nie identyczne, bowiem niektóre geny odziedziczone od rodziców nie zawsze zachowują się w ten sam sposób i czasem wykazują inną aktywność u każdego z nich [4]. Przyjmuje się, że powstanie bliźniąt jednozygotycznych jest dziełem czystego przypadku. Nie mają na to wpływu ani dziedziczność, ani też czynniki wewnętrzne i zewnętrzne. Częstość ich występowania jest względnie stała i wynosi około 0,4% ogółu porodów. Pośród urodzonych bliźniąt przez kobiety rasy białej stosunek dwuzygotycznych do jednozygotycznych wynosi jak 3:1. [4,5]. W wyniku naturalnego poczęcia, każda kobieta rasy białej ma zatem około 1% szansę urodzenia bliźniąt DZ i 0,4% JZ. Częstsze występowanie bliźniąt JZ u ludzi niż u zwierząt pozostaje nadal nie wyjaśnione.

CZĘSTOŚĆ WYSTĘPOWANIA CIAŻ BLIŹNIACZYCH

Jeszcze przed 30. laty powstanie ciąży wielopłodowych było wyłącznie wynikiem naturalnego poczęcia. Względnie niska i stała częstość ich występowania sprawiała, że stanowiły one zaledwie ciekawostkę położniczą. Jak wynika bowiem z reguły Hellina [6] częstość występowania samoistnych ciąż wielopłodowych maleje w postępie geometrycznym wraz z liczbą jednocześnie rozwijających się płodów ($1:n^{x-1}$), gdzie n = częstość występowania ciąży bliźniaczej (1: 80 po-

INTRODUCTION

In the 19th century, a Scot obstetrician dr James Matthews Duncan from Edinburgh, possibly as the first person in the world, conjectured that there are two types of twins: dizygotic twins (dizygotic - DZ) and monozygotic twins (monozygotic - MZ), and their etiology is totally different [1,2].

Dizygotic twins are created as a result of fertilisation of two separate egg cells by two distinct spermatozoons, forming from the very start two separate and genetically different embryos (on average they consists of 50% of common genes). The then developing foetuses (of the same or different sex) are called biovular or dizygotic dizygotic (DZ) [3]. The infants born from twin dizygotic pregnancy are not identical. Their likeness may be compared to the one existing between siblings born in the same family, but coming from two separate pregnancies.

On the other side, monozygotic twins MZ are formed as a result of fertilization of a single egg cell by one spermatozoon with a following division of an initially single zygote to two genetically identical embryonal structures. This division may take place during the first 14 – 16 days from fertilisation. The twins developing in such pregnancy (always of the same sex) are defined as monozygotic (MZ). In order to underline their big similarity, they are also called ‘genuine’ or ‘identical’ twins. Phenotypically speaking, these twins are very similar (they have 100% mutual genes), although they are not identical, as some genes inherited from the parents do not always behave in the same way and sometimes they demonstrate a different activity [4]. It is assumed that the creation of monozygotic twins comes by sheer chance. It is neither influenced by inheritance, nor external and internal factors. The frequency of their occurrence is relatively constant and amounts to around 0,4% of the total number of births. Among white mothers’ twins, the ratio of dizygotic to monozygotic pregnancies is 3:1. [4,5]. As a result of natural birth, each woman of white race has a 1% chance to give birth to twins DZ and 0,4% MZ. The higher prevalence of MZ twins in people than in animals still remains unexplained.

PREVALENCE OF TWIN PREGNANCIES

Still 30 years ago, multiple pregnancies were resulting solely from natural conception. Their relatively low and constant prevalence made that they constituted only an interesting obstetric detail. As it results from Hellin rule [6], the prevalence of idiopathic multiple pregnancies decreases in geometric progression together with the number of simultaneously developing foetuses ($1:n^{x-1}$), where n = prevalence of twin pregnancy (1: 80 births), and x = number of simultaneously developing foetuses.

rodów), a x = liczba jednocześnie rozwijających się płodów. Według jego obliczeń, w populacji kobiet białych bliźnięta rodzą się raz na 80 porodów, trójczki 1:80² (1:6 400), czworaczki 1: 80³ (1:512 000), pięcioczki jak 1:80⁴ (1:410 00 000), sześcioczki 1: 80⁵ (1:33 000 000 000) itd.

Pierwszą na świecie powszechną rejestrację urodzeń dzieci rozpoczęto w krajach nordyckich w XVII wieku i była ona odnotowywana w rejestrach kościelnych. W Szwecji i Finlandii została oficjalnie wprowadzona w 1749 roku [7]. Od tego momentu możemy tam również oceniać częstość występowania ciąży bliźniaczych. Okazało się, że ich odsetek był względnie stały aż do końca XIX wieku. Począwszy od 1900 roku, w większości krajów europejskich i USA zaczęto odnotowywać zmniejszanie się częstości występowania ciąży bliźniaczych. Trend ten utrzymywał się aż do końca lat 70. XX wieku, od kiedy to obserwuje się tendencję odwrotną, która trwa aż do dnia dzisiejszego [8-12].

W chwili obecnej jedna na 30 osób mieszkających w Europie i USA ma brata bliźniaka lub siostrę bliźniaczkę [12]. Najmniejszą szansę na posiadanie bliźniąt mają mieszkańcy Azji (tylko 1 osoba na 70), a naj-

According to his calculations, among the population of white women, twins are born once in 80 births, triplets 1:80² (1:6 400), quadruplets 1: 80³ (1:512 000), quintuplets 1:80⁴ (1:410 00 000), sextuplets 1: 80⁵ (1:33 000 000 000) etc.

The first universal birth registry of children started in the 17th century in Nordic countries and it was recorded in church registries. In Sweden and Finland it was officially introduced in 1749 [7]. Since then, the prevalence of twin pregnancies is possible to estimate. It turned out that their proportion was relatively constant until the end of the 19th century. Starting with the year 1900, a decrease in the prevalence of twin pregnancies was reported in most European countries and the US. This tendency remained present until the end of the 1970s, when a reverse tendency came out and is being observed until nowadays [8-12].

Nowadays, one in 30 people living in Europe and the US has a twin brother or sister [12]. Inhabitants of Asia are the least probable to have twins (only 1 person in 70), and the highest probability of having twins is in Nigeria, where 1 person in 12 is a twin brother or sister [14]. So, depending on the world region, there

Tab. 1. Średnia częstość występowania ciąży bliźniaczych na 1000 porodów w latach 1925-29, 1972-76 i 1995-99 [13]

Kraj	Średni odsetek bliźniąt		
	1925-1929	1972-1976	1995-1999
Austria	12.16	9.04	12.08
Czechy	12.46	9.34	13.32
Dania	15.87	9.55	17.98
Anglia i Walia	-	9.86	14.26
Finlandia	14.49	11.01	15.69
Francja	10.74	9.22	14.24
Niemcy	11.93	9.48	14.90
Irlandia	12.14	12.07	13.24
Izrael	-	10.03	17.40
Włochy	11.90	9.40	11.22
Holandia	13.36	10.08	17.22
Norwegia	14.50	9,29	15.81
Szwecja	14.48	8.52	15.47
Szwajcaria	12.68	8.90	12.94

Tab. 1. The average prevalence of twin pregnancies in 1000 births in the years 1925-29, 1972-76 and 1995-99 [13]

Country	Average proportion of twins		
	1925-1929	1972-1976	1995-1999
Austria	12.16	9.04	12.08
Tcheque Republic	12.46	9.34	13.32
Danemark	15.87	9.55	17.98
England and Wales	-	9.86	14.26
Finland	14.49	11.01	15.69
France	10.74	9.22	14.24
Germany	11.93	9.48	14.90
Ireland	12.14	12.07	13.24
Israel	-	10.03	17.40
Italy	11.90	9.40	11.22
The Netherlands	13.36	10.08	17.22
Norway	14.50	9,29	15.81
Sweden	14.48	8.52	15.47
Switzerland	12.68	8.90	12.94

większą Nigerii, gdzie 1 osoba na 12 jest członkiem pary bliźniąt [14]. Tak więc w zależności od regionu świata stwierdza się różnice w częstości występowania ciąży wielopłodowych. Bulmer [15] w latach 70. XX wieku dokonał podziału geograficznego świata na trzy duże regiony: Europę z Północną-Afryką, subsaharyjską Afrykę oraz Azję. Najwyższy odsetek ciąży wielopłodowych odnotowywał wśród ludności zamieszkującej obszar subsaharyjskiej Afryki (23 na 1000 ciąży), a najniższy w Azji (5-6 na 1000 ciąży). W 1988 roku Little [16] w zależności od różnic w występowaniu ciąży bliźniaczych również dokonał podziału świata na 3 okręgi: z odsetkiem niskim, pośrednim i wysokim. Do grupy pierwszej, z odsetkiem ciąży bliźniaczych sięgającym od 2 do 7 na 1000 ciężarnych, zaliczył takie kraje jak Hawaje, Japonię i Tajwan, do grupy drugiej (9 - 20 na 1000 ciąży ogółem) większość krajów Afryki Północnej, Ameryki, Azji, Oceanii i Europy, a do grupy trzeciej (z odsetkiem ciąży bliźniaczych >20 na 1000 porodów) pozostałe kraje Afryki, zwłaszcza Nigerię, Seszele, Republikę Południowej Afryki i Zimbabwe. W chwili obecnej, najwyższy odsetek ciąży bliźniaczych (od 33 do nawet 66.5 na 1000 rodzących) stwierdza się u kobiet ze szczepu Yoruba, który zamieszkuje obszary Południowo-Zachodniej Nigerii i Wschodniej części Beninu [17,18]. Interesujący jest fakt, że kobiety z innego nigeryjskiego plemienia Hausa zamieszkujące północną część Nigerii mają znacznie niższy odsetek ciąży bliźniaczych - „zaledwie” 19,4 na 1000 urodzeń [17].

W Europie, w ostatnim stuleciu obserwuje się wyraźne wahania w częstości występowania ciąży bliźniaczych. W latach 1925-1929 w większości krajów europejskich odnotowano zbliżony odsetek do tego, jaki istniał na początku XX. wieku, w latach 1972-1976 stwierdzono ogólny spadek narodzin bliźniąt, a w latach 1995-1999 wyraźny wzrost (tab.1.). Sumując te trendy, można stwierdzić, że w pierwszej połowie XX. wieku, aż do 1960 roku, częstotliwość porodów bliźniąt nie ulegała zasadniczym zmianom. Od tego momentu, odsetek porodów bliźniąt zaczął powoli, ale istotnie zmniejszać się, osiągając minimalny poziom w dekadzie lat 1970 - 1980, a następnie wzrastać osiągając ponownie w 1990 poziom z pierwszej połowy wieku [13]. Wyjątek stanowi tu okres Pierwszej Wojny Światowej i kilka lat po jej zakończeniu, kiedy to w niektórych krajach zaobserwowano szczyt powstawania ciąży bliźniaczych. Miał on różną intensywność i w zależności od kraju występował w różnym czasie. Zmiany te dotyczyły przede wszystkim takich państw jak Francja, Niemcy i Włochy. Np. we Francji odsetek ciąży bliźniaczych powoli wzrastał z 10,5/1000 w 1900 roku do 11,5/1000 w 1914 roku, a następnie w czasie I Wojny Światowej gwałtownie zwiększył się, osiągając najwyższy odsetek 13,6/1000 w roku 1919, czyli rok po zawieszeniu broni. W następnych latach szybko powrócił do stanu sprzed wojny [11/1000 porodów ogółem] [13,19].

are differences in the prevalence of multiple pregnancies. In the 1970s, Bulmer [15] made a geographic division of the world into three big regions: Europe and North-Africa, Sub-Saharan Africa and Asia. He recorded the highest proportion of multiple pregnancies among the population living in the Sub-Saharan region of Africa (23 to 1000 pregnancies), and the lowest in Asia (5-6 to 1000 pregnancies). In 1988, Little [16], depending on the differences in prevalence of twin pregnancies, has also divided the world into 3 areas: regions with low, middle and high percentage of twin pregnancies. The first group, with the proportion of twin pregnancies oscillating between 2 and 7 on 1000 pregnancies, included countries as Hawaii, Japan and Taiwan; the second group (9 - 20 on 1000 pregnancies in total) most countries of North Africa, America, Asia, Oceania and Europe, and the third group (with the proportion of twin pregnancies >20 on 1000 childbirths) the remaining countries of Africa, especially Nigeria, the Seychelles, the Republic of South Africa and Zimbabwe. At present, the highest proportion of twin pregnancies (from 33 to even 66.5 on 1000 pregnant women) is found in women from the Yoruba tribe, who lives in south-western Nigeria and east Benin [17,18]. An interesting fact is that women from another tribe, the Hausa tribe, living in the northern part of Nigeria, have a significantly lower proportion of twin pregnancies - ‘only’ 19,4 to 1000 births [17].

In Europe, in the previous century, distinct oscillations in the prevalence of twin pregnancies were observed. Between 1925 and 1929, in most European countries, we recorded a proportion close to the one existing at the beginning of the 20th century. Between 1972-1976 a general decrease in twin pregnancies was reported, however between 1995 and 1999 a significant increase was recorded (tab.1.). To sum up these tendencies, we may state that in the first part of the 20th century until 1960, the prevalence of twin pregnancies did not undergo significant changes. Since then, the proportion of twin childbirths started to decrease slowly, but significantly, reaching a minimal level in the decade from 1970 to 1980, and then to increase reaching again in 1990 the level similar to the one in the first part of the century [13]. An exception to this is the period of World War I and several years after its end, when twin pregnancies reached their peak in some countries. It varied as for intensity and country, and occurred in a different period. The changes concerned mainly such countries as France, Germany and Italy. For example, in France, the proportion of twin pregnancies slowly increased from 10,5/1000 in 1900 to 11,5/1000 in 1914, and then during WWI it violently increased, reaching the highest proportion of 13,6/1000 in 1919, that is a year after ceasefire. In the following years, it rapidly returned to the state before the war [11/1000 childbirths in total] [13,19].

W pierwszych latach XXI. wieku pomiędzy poszczególnymi krajami Europy utrzymują się dość istotne różnice w częstości występowania ciąży bliźniaczych. W 2003 roku średni odsetek porodów bliźniąt wyniósł dla całej Europy 16,4 na 1000 rodzących, przy czym w Luksemburgu i Portugalii 11 na 1000, a w Danii, Grecji i Holandii 20 na 1000 [2,11]. Ponieważ na całym świecie bliźnięta JZ występują zazwyczaj ze stałą częstością wynoszącą około 4 na 1000 porodów [20], to obserwowane różnice w częstości występowaniu ogółu ciąży bliźniaczych dotyczą bliźniąt DZ.

Reasumując, można przyjąć, że w Europie poczynając od północy ku południowi obserwuje się stopniowe zmniejszanie odsetka ciąży bliźniaczych. Według europejskich standardów odsetek urodzonych bliźniąt jest najniższy wśród społeczności romańskiej, średni wśród Słowian, relatywnie wysoki wśród ludności germańskiej, a najwyższy wśród Nordyckiej, włączając w to Finów [13].

W ostatnich trzech dekadach na świecie obserwuje się wyraźny wzrost częstości występowania ciąży bliźniaczych. Przyczyn tego zjawiska upatrywane są przede wszystkim w coraz szerszym i bardziej skutecznym stosowaniu sztucznych metod prokreacji (ART), a więc zapłodnienia pozaustrojowego (IVF), docytoplazmatycznego podania plemnika (ICSI), wewnątrzmacicznej inseminacji (IUI) i indukcji owulacji (OI) [21-23]. Nie są to jednak jedyne przyczyny. Lambalk i wsp. [24] wykazali, że obserwowany w Holandii w latach 1995-2002 wzrost odsetka urodzonych bliźniąt o odmiennej płci (bliźnięta DZ) był spowodowany głównie naturalnym ich poczęciem (56%), a nie zastosowaniem sztucznych metod prokreacji (ICSI / IVF -35%, OI / IUI - 9%). Podobnie było w USA, gdzie w 2003 roku największą liczbę urodzonych bliźniąt stanowiły ciąży powstałe w wyniku naturalnego poczęcia (60,1%), podczas gdy po indukcji owulacji i domacicznej inseminacji 31,6%.

W chwili obecnej na świecie obserwowane jest dalsze narastanie częstości porodów bliźniąt. W USA w 2009 roku na każde 30 urodzonych dzieci 1 było bliźnięciem w porównaniu do 1 na 53 w 1980 roku. Pomiędzy rokiem 1980 a 2009 częstość ciąży bliźniaczych zwiększyła się tam z 18,9 do 33,3 na 1000 porodów (wzrost o 76%) [12]. Odsetek ten zwiększał się o ponad 2% rocznie. Istnieją więc przypuszczenia, że w 2050 roku, co druga ciąża może być wielopłodową. Czekają nas zatem prawdziwa „epidemia” ciąży wielopłodowych [25].

CZYNNIKI WPŁYWAJĄCE NA POWSTANIE CIAŻY BLIŹNIACZEJ DWUZYGOTYCZNEJ

Powstanie każdej ciąży bliźniaczej DZ uwarunkowane jest obecnością co najmniej 4 czynników:

- wystąpienia polioowulacji,
- zdolności do zapłodnienia większej liczby komórek jajowych,
- możliwości zagnieżdżenia w endometrium więcej niż jednego embrionu,

At the beginning of the 21st century, there are quite important differences in the prevalence of twin pregnancies between specific European countries. In 2003, the average proportion of twin childbirths was 16,4 to 1000 of pregnant women for entire Europe, whereas in Luxembourg and Portugal 11 to 1000, and in Denmark, Greece and the Netherlands 20 to 1000 [2,11]. As worldwide monozygotic twins occur usually with constant frequency amounting to about 4 to 1000 childbirths [20], the reported differences in the prevalence of all twin pregnancies concern dizygotic twins.

To sum up, we may assume that in Europe, starting from the north to the south, there is a gradual decrease in the proportion of twin pregnancies. According to European standards, the proportion of twins is the lowest among Latin countries, medium range among Slavic people, relatively high among Germanic people, and the highest among Nordic people, including Finns [13].

In the last three decades, we observe a significant increase in the prevalence of twin pregnancies worldwide. The reasons for that reside mainly in: a wider and more effective use of artificial reproduction technologies (ART), and so in vitro fertilization (IVF), Intracytoplasmic Sperm Injection (ICSI), intra uterine insemination (IUI) and ovulation induction (OI) [21-23]. These are, however, not the only reasons. Lambalk et al. [24] proved that the increase of the proportion of twins born and from different sex (dizygotic twins) observed in the Netherlands between 1995-2002 was due mainly to natural conception (56%), and not by way of application of artificial reproduction technologies (ICSI / IVF -35%, OI / IUI - 9%). It was similar in the US, where in 2003, the highest number of twins were pregnancies resulting from natural conception (60,1%), whereas the percentage reached 31,6% after ovulation induction and intrauterine insemination.

At present, worldwide, we observe a further increase in the prevalence of twin pregnancies. In US, in 2009, 1 to 30 born children was a twin in comparison to 1 to 53 in 1980. Between 1980 and 2009, the prevalence of twin pregnancies increased there from 18,9 to 33,3 on 1000 childbirths (increase by 76%) [12]. This proportion was increasing by more than 2% yearly. It is supposed that in 2050, every other pregnancy may be a multiple pregnancy. So, we await a real ‘epidemy’ of multiple pregnancies [25].

FACTORS AFFECTING TWIN DIZYGOTIC PREGNANCY FORMATION

The creation of each dizygotic pregnancy is conditioned by the presence of at least 4 factors:

- polyovulation,
- capacity to fertilize a bigger number of egg cells,
- possibility to nest more than one embryo in the endometrium,

■ istnienia warunków dla rozwoju w jamie macicy kilku embrionów jednocześnie.

Jednym z niezbędnych warunków dla powstania ciąży bliźniaczej DZ jest wystąpienie zjawiska polioowulacji. W przeszłości uważano, że naturalna polioowulacja jest wynikiem wzrostu w surowicy krwi kobiety stężenia hormonów gonadotropowych (FSH) [26]. W warunkach naturalnych wzrost ich stężenia mógł być spowodowany nadmierną wrażliwością gruczołu przysadkowego na działanie hormonu podwzgórzowego (GnRH) lub wzrostem sekrecji GnRH. Folikulostymulina (FSH), z powodu jej bezpośredniego wpływu na komórki ziarniste pęcherzyka, zwłaszcza w odniesieniu do wzrostu aktywności aromatazy i rekrutacji pęcherzyków jajnikowych, miała prowadzić do jednoczesnego rozwoju dwóch lub większej liczby pęcherzyków Graffa i wywołania polioowulacji, czyli warunku niezbędnego dla powstania ciąży wielopłodowej [15,27-30]. Przesłanki takie były oparte na przeprowadzonych w latach 70. XX wieku badaniach, które donosiły o stwierdzeniu wyższego stężenia FSH w surowicy krwi kobiet, które urodziły bliźnięta w porównaniu do matek dzieci z ciąż pojedynczych [31,32]. Przeprowadzone jednak później badania nie wykazały statystycznie istotnej różnicy w stężeniu FSH pomiędzy tymi dwoma grupami kobiet [33]. Obecnie uważa się, że wystąpienie polioowulacji jest w dużej mierze zależne od stężenia we krwi kobiety insulinopodobnego czynnika wzrostu - IGF (*insulin-like growth factor*) [30,34]. IGF jest proteiną wykazującą duże podobieństwo do insuliny, wydzielaną przez wątrobę w odpowiedzi na działanie hormonu wzrostu. Wyróżnia się dwa rodzaje: IGF-I i IGF-II. Powoduje ona wzrost wrażliwości jajników na FSH, a tym samym zwiększa liczbę owulacji [35]. Wykazano także, że IGF nasila proliferację komórek ziarnistych, zmniejsza apoptozę, poprawia steroidogenezę i promuje powstawanie zatok pęcherzykowych [30,36]. Niektóre badania sugerują również, że IGF może pomagać embrionom przeżyć we wczesnym okresie rozwoju [37].

Wykazano również, że insulinopodobny czynnik wzrostu (IGF), ma duży wpływ na wzrastanie wewnątrzmaciczne płodu. Rickard i wsp. [38] stwierdzili, że noworodki, które zostały urodzone przed i po ciąży bliźniaczej charakteryzują się większą masą urodzeniową o średnio 134.07g i 226.41g w porównaniu z tymi, które zostały urodzone przez matki nieposiadające bliźniąt. Sugeruje to, że IGF odgrywa istotną rolę zarówno w indywidualnej skłonności do wystąpienia ciąży bliźniaczej, jak i we wzrastaniu wewnątrzmacicznym płodu.

W badaniach na zwierzętach wykazano, że u krów, które urodziły bliźnięta stężenie w surowicy IGF jest 1,5- 2 razy wyższe niż u tych, które odbyły pojedynczy poród [39,40]. Stwierdzono również, że po podaniu IGF zwiększa się steroidogeneza, natomiast apoptoza ulega zahamowaniu. Ponadto, nawet wówczas, gdy stężenie FSH pozostaje takie samo, to podanie zwierzę-

■ the presence of conditions for the development of several embryos at the same time in the uterine cavity.

One of the essential conditions for the creation of twin pregnancy DZ is polyovulation. In the past, polyovulation was considered to result from the increase of gonadotropic hormones (FSH) in woman's blood serum [26]. In natural conditions, the increase of their concentration may be caused by excessive sensitivity of pituitary gland to the action of hypothalamic hormone (GnRH) or an increase in the secretion of GnRH. Folliculostimuline (FSH), due to her direct influence on juxtglomerular cells of the follicle, especially with reference to the increase of aromatase activity and recruitment of egg follicles, was supposed to lead to a simultaneous development of two or a bigger number of Graff follicles and inducing polyovulation, that is a condition necessary for the creation of multiple pregnancy [15,27-30]. Such premises were based on researches carried out in the 1970s. The researches were reporting a higher concentration of FSH in blood serum in women who gave birth to twins in comparison to mothers of children from monozygotic pregnancies [31,32]. The researches carried out later on, however, have not showed statistically significant difference in FSH concentration between the two groups of women [33]. At present, it is considered that polyovulation depends in great part on the concentration of IGF (*insulin-like growth factor*) in blood [30,34]. IGF is a proteine showing a big similarity to insuline, secreted by the liver in response to the action of growth hormone. We differentiate two types of IGF: IGF-I and IGF-II. This causes an increase in the sensitivity of ovaries to FSH, and so it increases the number of ovulations [35]. IGF was also proved to intensify the proliferation of juxtglomerular cells, decrease apoptosis, improve steroidogenesis and promote the creation of follicle sinuses [30,36]. Some researches suggest as well that IGF may help the embryos to survive in the early development period [37].

It was also proved that insulin-like growth factor (IGF) significantly influences the intra uterine increase of the foetus. Rickard et al. [38] stated that newborns who were born before and after the twin pregnancy are characterized by a bigger body mass at birth for about 134.07g and 226.41g in comparison to those who were born to mothers not having twins. This suggests that IGF plays a significant role both in the individual tendency to twin pregnancy prevalence as well as in the intra uterine increase of the foetus.

The studies in animals proved that in cows that gave birth to twins, the concentration of IGF in serum was 1,5- 2 times higher than in those who had a singleton pregnancy [39,40]. It was also stated that after IGF administration, there is an increase of steroidogenesis, whereas apoptosis is inhibited. Moreover, even when FSH concentration remains the same, IGF administration causes an increase in the prevalence of poly-

tom IGF powoduje wzrost częstości polioowulacji [41], a dodanie do hodowli IGF zwiększa liczbę embrionów, które przeżyły do stadium blastocysty [37,42]. Uważa się, że w tym stadium embriogenezy może to być zależne od zwiększenia masy komórek wewnętrznych po podaniu IGF.

Inne badania wykazały, że produkcja inhibin i follistatin w hodowli komórek ziarnistych jest wprost proporcjonalna do wysokości stężenia IGF [43]. Przy danym stężeniu FSH, częstość polioowulacji wzrasta, kiedy dodatkowo podane jest IGF [44]. Może to wyjaśniać mechanizm wzbudzenia u niepłodnych kobiet superowulacji po podaniu IGF. Wydaje się również, że dzięki IGF redukcja jajnikowej apoptozy [30,45] daje szansę na uzyskanie więcej niż 1 pęcherzyka dobrej jakości w tym samym cyklu jajnikowym.

Prawdopodobieństwo powstania spontanicznych ciąży bliźniaczych DZ może być zadeterminowane zarówno przez wrodzoną zdolność do zwiększonej biosyntezy endogennej IGF, jak i przez nabyty zależny od rodzaju diety wzrost jej stężenia. Ciężarne z uwarunkowanym genetycznie najwyższym średnim stężeniem IGF (Afrykanki) mają najwyższy odsetek ciąży bliźniaczych, podczas gdy te z najniższym odsetkiem bliźniąt (Japonki) mają obniżone stężenie IGF, jak i u weganek, u których stwierdza się niski odsetek bliźniąt, spowodowany rodzajem diety (tab.2.).

W chwili obecnej, nie jest jeszcze ostatecznie ustalone czy FSH, czy IGF jest podstawowym czynnikiem determinującym występowanie DZ bliźniąt. Przedstawione powyżej wyniki badań wydają się podtrzymywać hipotezę, że to właśnie IGF jest głównym czynnikiem determinującym szansę kobiet na posiadanie spontanicznych bliźniąt DZ [47]. Wydaje się, że odsetek ciąży bliźniaczych jest bezpośrednio uzależniony od wrodzonego lub nabytego stężenia IGF, który wpływa na modyfikację wrażliwości jajnika na działanie FSH, a także od pośredniego wpływu FSH i GH na aktywność IGF. IGF jest w dużej mierze odpowiedzialne za kontrolę produkcji nasienia i jego charakterystykę. Promuje dojrzewanie spermatozoa, prawidłową steroidogenezę i utrzymywanie prawidłowej męskiej funkcji reprodukcyjnej [48,49]. W jądrach IGF modyfikuje działanie FSH [50]. Tak, jak u płci żeńskiej hormon wzrostu może indukować w jądrach wzrost miejscowej syntezy IGF [51]. Nic zatem dziwnego, że mężczyźni z podwyższonym stężeniem IGF posiadają wysoką

owulacji [41], and adding it to OGF breeding it increases the number of embryos that survived up to the stage of blastocyst [37,42]. It is considered that in this stadium of embriogenesis, this may depend on the increase of internal cells' mass after IGF administration.

Other researches showed that the production of inhibines and follistatins in the breeding of juxtaglomerular cells is proportional to IGF concentration [43]. For a given FSH concentration, the prevalence of polyovulation increases on administration of an additional IGF [44]. This may explain the mechanism of inducing superovulation in infertile women after IGF administration. It also seems that thanks to IGF, the reduction of ovary apoptosis [30,45] gives a chance to obtain more than one follicle of good quality in the same ovary cycle.

The possibility of creating spontaneous twin pregnancies DZ may be determined both by innate ability to increased endogenic biosynthesis IGF, and the acquired increase of its concentration, depending on the type of diet. Pregnant women with genetically conditioned highest average IGF concentration (African women) has the highest proportion of twin pregnancies, whereas those with the lowest proportion of twins (Japanese women) have a reduced IGF concentration. The same with vegans, who are reported to have a low proportion of twins, which is due to the type of diet applied (tab.2.).

At present, it has not yet been established whether FSH or IGF is the basic factor determining the prevalence of dizygotic pregnancies. The results of researches presented above seem to support the hypothesis that IGF is exactly the main factor determining the chances of women to have dizygotic twins spontaneously [47]. It seems that the percentage of twin pregnancies depends directly on the innate or acquired IGF concentration, which influences the modification of ovary's sensitivity to FSH action, as well as on the indirect influence of FSH and GH on IGF activity. IGF is in great part responsible for the control of the semen production and its characteristics. It promotes the maturation of the spermatozoa, correct steroidogenesis and the maintenance of correct male reproductive function [48,49]. In the testicles, IGF modifies FSH action [50]. The same as in females, the growth hormone may induce in the testicles the increase of local synthesis of IGF [51]. So, it is not surprising that men with increased IGF concentration have a high semen quality and are

Tab. 2. Stężenie IGF w surowicy kobiety a częstość występowania ciąży bliźniaczych wśród mieszkank Kalifornii [45,46]

Rasa	Stężenie IGF w surowicy ^(a)	Odsetek ciąży bliźniaczych (%)
Czarna	1,0	1,32
Biała	0,77	1,1
Żółta	0,72	0,72

(a) – stężenie względne u rasy czarnej przyjęto z 1.0

Tab. 2. IGF concentration in the serum of women and the prevalence of twin pregnancies among inhabitants of California [45,46]

Race	IGF concentration in serum ^(a)	Proportion of twin pregnancies (%)
Black	1,0	1,32
White	0,77	1,1
Yellow	0,72	0,72

(a) – relative concentration in black race was taken from 1.0

jakość nasienia i znacząco częściej są ojcami bliźniąt [52,53]. Natomiast niskie stężenie IGF były znajdowane u nieplodnych mężczyzn, zwłaszcza u tych z małą liczbą plemników [54]. Podobnie, mężczyźni z obniżoną płodnością rzadziej są ojcami bliźniąt DZ [55]. Rasa czarna ma najwyższy odsetek bliźniąt na świecie [6,47], biała pośrednie, a żółta najniższe. Ponieważ funkcja nasienia jest zależna od koncentracji IGF, to można założyć, że nasienie z wyższą jakością reprodukcyjną posiadają mężczyźni rasy czarnej. Przeprowadzone badania potwierdziły te założenia, ponieważ w przypadku, gdy inne czynniki były jednakowe, to obecność najwyższego stężenia IGF-1 w surowicy stwierdzano u mężczyzn rasy czarnej, w porównaniu z żółtą i białą. Fakt ten może wskazywać na istnienie genetycznego podłoża tego fenomenu.

Powszechnie wiadomo, że aby powstała ciąża wielopłodowa wielozygotyczna to poliowulacji musi towarzyszyć nie tylko możliwość zapłodnienia wielu komórek jajowych, ale także skuteczna implantacja i rozwój większej liczby embrionów. Wiadomo również, że pod względem biologicznym zagnieżdżenie embrionu w doczesnej jest wynikiem wzajemnego oddziaływania na siebie zarodka i endometrium. Wydaje się zatem logiczne, że w tym procesie oba te czynniki odgrywają istotną rolę. Matorras i wsp. [56] wykazali, że zagnieżdżenie się jednego embrionu ułatwia zagnieżdżenie następnego lub następnych. Ponadto sugeruje się, że u płodnych kobiet, w stosunku do nieplodnych, endometrium jest lepiej przygotowane do implantacji i że ta „podatność” stanowi niezbędny warunek dla zagnieżdżenia się i dalszego rozwoju embrionu [56]. Można zatem przyjąć, że u kobiet posiadających bliźnięta endometrium jest bardziej „podatne” na zagnieżdżenie nie tylko jednego, ale także wielu dodatkowych embrionów. Grubość endometrium może być odbiciem stężenia hormonów i ich wpływu na organizm matki. Z badań nad zastosowaniem IVF w leczeniu niepłodności wiadomo, że dla przeprowadzenia skutecznego transferu zarodka i jego implantacji konieczne jest uzyskanie przez endometrium odpowiedniej grubości [57]. Wykazano istnienie liniowej zależności pomiędzy grubością endometrium mierzoną w dniu poprzedzającym podanie hCG, a odsetkiem powstałych ciąż po zastosowaniu procedury IVF [58]. Najwyższy ich odsetek uzyskiwano wówczas, gdy grubość endometrium wynosiła > 11mm. Wykazano, że embriony dobrej jakości posiadają wysoki potencjał zarówno do implantacji, jak i dalszego rozwoju. [50-61]. Jakość zarodków oceniana możliwością zamrożenia ich nadmiaru, odgrywa istotną rolę w zwiększeniu szans na powstanie ciąży bliźniaczej.

Według Lambersa i wsp. [59], zarówno dobrej jakości embriony, jak i grube endometrium oraz młody wiek kobiety pozwalają na jednoczesną skuteczną implantację wielu zarodków i w konsekwencji rozwój ciąży wielopłodowej. Zaobserwowano istnienie związku pomiędzy czynnikiem męskim a możliwością po-

significantly more often fathers of twins [52,53]. On the other side, low concentrations of IGF were found in infertile men, especially in those with a small number of spermatozoa [54]. Similarly, men with decreased fertility are more rarely fathers of twins DZ [55]. The black race is reported to have the highest proportion of twins in the world [6,47]; the white race can be found in the medium range, whereas the yellow race is in the lowest position. As the function of the semen depends on IGF concentration, we may assume that men from the black race have the semen with the highest reproductive quality. The carried out researches confirmed these assumptions as, whereas the other factors were identical, the presence of the highest concentration of IGF-1 in the serum was stated in men from the black race, in comparison to the yellow and white race. This fact may indicate the existence of a genetic background for this phenomenon.

It is widely known that in order to create a multi-zygotic and multiple pregnancy, polyovulation should be accompanied by not only the possibility to fertilize many egg cells, but also effective implantation and the development of a greater number of embryos. It is also known that biologically speaking, the nesting of an embryo results from mutual impact of the embryo and the endometrium. It seems logical that in this process, both factors play an essential role. Matorras et al. [56] proved that the nesting of one embryo facilitates the next one or ones. It is also suggested that in fertile women, in comparison to the infertile ones, the endometrium is better prepared for implantation and that this ‘susceptibility’ constitutes an essential condition for the nesting and further embryo development [56]. So, we may assume that in women having twins, endometrium is more ‘susceptible’ for nesting of not only one, but also many additional embryos. The thickness of the endometrium may also reflect the concentration of hormone and their influence on the organism of the mother. As it results from researches over the application of IVF in the treatment of infertility, in order to conduct an effective transfer of the embryo and its implantation, it is necessary for the endometrium to be of an appropriate thickness [57]. It was proved that there is a linear dependency between the thickness of endometrium measured on the day preceding the administration of hCG and the proportion of pregnancies coming into existence after the application of the IVF procedure [58]. The highest proportion was obtained when the thickness of the endometrium was > 11mm. It was proved that good quality embryos have a high potential both for implantation and for further development [50-61]. Embryo quality estimated by means of the possibility of freezing their excessive number plays an important role in the increase of chances for twin pregnancies.

According to Lambers et al. [59], both embryos of good quality and thick endometrium and the young age of the woman allow for a simultaneous implantation of many embryos and as a result for an effective implan-

wstania ciąży wielopłodowej. W grupie nieplodnych par nieplodność ze strony mężczyzny jest głównie wynikiem niskiej jakości nasienia. Ponadto, w większości przypadków u par z męskim czynnikiem nieplodności, u partnerek nie stwierdzano nieplodności [62]. Z tych też powodów, u tych par, w przypadku zastosowania procedur IVF, kobiety mają większą szansę nie tylko na powstanie ciąży pojedynczej, ale także wielopłodowej [63].

Powstanie ciąży wielopłodowej wymaga nadzwyczajnych możliwości reprodukcyjnych [20]. Bulmer donosi, że odsetek bliźniąt pośród braci ojca bliźniąt wyniósł 16,7/1000 żywych urodzeń, podczas gdy pośród braci matki bliźniąt zaledwie 10,0/1000 [15]. Ostatnio wykazano, że DZ bliźnięta rodzą się częściej w parach, w których mężczyzna posiada nasienie wysokiej jakości, definiowane poprzez zwiększoną liczbę plemników i ich ruchliwość, a także prawidłową budowę morfologiczną [64]. Zwiększona ruchliwość plemników wykazywała dodatnią korelację z liczbą posiadanych dzieci i krótszym okresem czasu do pojawienia się pierwszej ciąży [65]. Stwierdzono ponadto, że im wyższy był indeks liczba/ruchomość plemników, tym większe były szanse na poczęcie bliźniąt [66]. Natomiast im dłuższy był okres czasu od chwili rozpoczęcia prokreacji do momentu zajścia w ciążę, tym szanse na poczęcie bliźniąt były mniejsze [65].

PODSUMOWANIE

W podsumowaniu można stwierdzić, że ciążę bliźniacze DZ występują wówczas, gdy kobieta wykazuje zdolność do podwójnej owulacji, a jej partner posiada wysokiej jakości nasienie, niezbędne dla zapłodnienia obu uwolnionych komórek jajowych. Prawdopodobnie odpowiedzialny jest za to wzrost stężenia IGF zarówno w surowicy krwi kobiety, jak i mężczyzny. Podczas, gdy wzrost odsetka bliźniąt DZ tłumaczy się podwyższonym stężeniem IGF w jajnikach to nie jest zrozumiałe, dlaczego wpływa to także na częstość występowania bliźniąt JZ.

tation of many embryos and finally for the occurrence of multiple pregnancy. The relation between the male factor and the possibility for multiple pregnancy prevalence was also observed. In the group of infertile couples, the infertility on the side of the man results mainly from the low quality of the semen. Moreover, in most cases, in couples with male infertility, the female partners were not diagnosed with infertility [62]. As a result, in those couples, in case of IVF procedures application, the women have a bigger chance not only for singleton pregnancy, but also the multiple one [63].

The development of multiple pregnancy requires exceptional reproductive possibilities [20]. Bulmer reports that the proportion of twins among the brothers of the twins' father was 16,7/1000 of life births, whereas among brothers of the twins' mother only 10,0/1000 [15]. Lately, it has been proved that DZ twins are more frequently born in couples where the man has a high quality semen, defined by an increased number of spermatozoa and their mobility, and a correct morphological structure [64]. The increased mobility of spermatozoa showed a positive correlation with the number of children and a shorter period to the appearance of first pregnancy [65]. Moreover, it was stated that the higher the index number/mobility of sperm cells, the greater were the chances for giving birth to twins [66]. On the other side, the longer was the period from beginning procreation to the moment of conception, the lower were the chances for twin pregnancies [65].

CONCLUSION

As a summary, we may state that twin pregnancies DZ occur when a woman show a capacity for double ovulation, and her partner has a high quality semen, essential for the fertilization of two released egg cells. Probably, the IGF concentration is responsible for that, both in the woman and man's blood serum. Whereas the increase in the proportion of twins DZ may be explained by an increased IGF concentration in the ovaries, it is not quite clear why this influences the prevalence of monozygotic twins.

Piśmiennictwo / References:

1. **Dunn PM.** James Matthews Duncan (1826-90) and the dynamics of labour. *Archives of Disease in Childhood* 1997;76:F140-F142.
2. **Hall JG.** Twinning. *Lancet* 2003;362:735-743.
3. **Hoekstra C, Zhao ZZ, Lambalk CB, et al.** Dizygotic twinning. *Hum Reprod Update* 2008;14:37-47.
4. **Bomse-Helmreich O, Al Mufti W.** The mechanism of monozygosity and double ovulation. In: Multiple pregnancy—Keith LG, Papiernik E, Keith DM, Luke B, eds. (1995) 1st edn. London, UK: The Parthenon Publishing Group. 25-40. **Dunn PM.** James Matthews Duncan (1826-90) and the dynamics of labour. *Archives of Disease in Childhood* 1997;76:F140-F142
5. **Baldwin JV.** Pathology of Multiple Pregnancy. Springer-Verlag New York Inc. 1994:9-28.
6. **Hellin D.** Die ursache der Multipartitat. Seitz und Schauer, Munchen 1985.
7. **Eriksson A.** Variations in the human twinning rate. *Acta Genet Med Gemellol* 1962;12:242-250.
8. **Derom R, Orlebeke J, Eriksson A et al.** Thierry M. The epidemiology of multiple births in Europe. In: Multiple pregnancy—Keith LG, Papiernik E, Keith DM, Luke B, eds. 1st edn. London: The Parthenon Publishing Group 1995:145-162.
9. **Eriksson AW, Abbott C, Kostense PJ, Fellman JO.** Secular changes of twinning rates in Nordic populations. *Acta Genet Med Gemellol* 1995;44:141-162.

10. **Imaizumi Y.** Demographic trends in Japan and Asia. In: Blickstein I, Keith LG, Keith DM, editors. *Multiple Pregnancy, epidemiology, gestation & perinatal outcome*, 2 ed. London: Taylor & Francis. 2005;33–38.
11. **Macfarlane A, Blondel B.** Demographic Trends in Western European Countries. In: *Multiple Pregnancy—Blickstein I, Keith LG, Keith DM, eds.* 2nd edn. London and New York: Taylor and Francis Group. 2005:11–21.
12. **Martin JA, Hamilton BE, Osterman MJK.** Three Decades of Twin Births in the United States, 1980–2009. *NCHS Data Brief* 2012;80:1-8.
13. **Pison G, D'Addato AV.** Frequency of Twin Births in Developed Countries. *Twin Res Hum Genet* 2006;9:250–259.
14. **Hoekstra C, Zhao ZZ, Lambalk CB, et al.** Dizygotic twinning. *Hum Reprod Update* 2008;14:37–47.
15. **Bulmer MG.** *The Biology of Twinning in Man* (1970) Oxford, UK: Oxford Clarendon Press.
16. **Little J.** Descriptive epidemiology. In: *Twinning and twins—MacGillivray I, Campbell DM, Thompson B, eds.* New York: John Wiley and Sons. 1988:37–66.
17. **Nylander PP.** Ethnic differences in twinning rates in Nigeria. *J Biosoc Sci* 1971;3:151–157.
18. **Nylander PP.** Causes of high twinning frequencies in Nigeria. *Prog Clin Bio Res* 1978;24:35–43.
19. **Pison G, Couvert N.** The frequency of twin births in France. The triple influence of biology, medicine and family behaviour. *Population E*, 2004;59,765–794.
20. **Tong S, Caddy D, Short RV.** Use of dizygotic to monozygotic twinning ratio as a measure of fertility. *Lancet* 1997;349:843–845.
21. **Fausser BC, Devroey P, Macklon NS.** Multiple birth resulting from ovarian stimulation for subfertility treatment. *Lancet* 2005;365:1807–1816.
22. **Martin JA, Hamilton BE, Sutton PD et al.** Births: final data for 2003. *Natl Vital Stat Rep* 2005;54:1–116.
23. **Tandberg A, Bjorge T, Bordahl PE, Skjaerven R.** Increasing twinning rates in Norway, 1967–2004: the influence of maternal age and assisted reproductive technology (ART). *Acta Obstet Gynecol Scand* 2007; 86:833–839.
24. **Lambalk CB, Schats R, Bleker OP et al.** Meerling-zwangerschappen; epidemiologie en beleid. *Ned Tijdschr Geneeskde* 2004;148:448–450.
25. **Newman RB, Luke B.** *Multifetal pregnancy: A handbook for care of the pregnant patient.* Philadelphia, PA: Lippincott William & Wilkins. 2000.
26. **Campana MA, Roubicek MM.** Maternal and neonatal variables in twins: an epidemiological approach. *Acta Genet Med Gemellol* 1996;45:461–469.
27. **Lambalk CB, Boomsma DI, De Boer L et al.** Increased levels and pulsatility of follicle-stimulating hormone in mothers of hereditary dizygotic twins. *J Clin Endo Metab* 1998;83:481–486.
28. **Lambalk CB, De Koning CH, Braat DD.** The endocrinology of dizygotic twinning in human. *Mol Cell Endo* 1998;145:97–102.
29. **Martin NG, Olsen ME, Theile H et al.** Pituitary-ovarian function in mothers who have had two sets of dizygotic twins. *Fertil Steril* 1984;41:878–880.
30. **Speroff L, Fritz MA.** *Clinical Gynecologic Endocrinology and Infertility.* Seventh edition. Philadelphia, Lippincott, Williams & Wilkins, 2005:173,200–204, 221, 368–369.
31. **Nylander PP.** Pituitary gonadotropins and multiple births in Nigeria. *Acta Genet Med Gemellol* 1974; 22: 198–201.
32. **Soma H, Takayama M, Kiyokawa T.** Serum gonadotropin levels in Japanese women. *Obstet Gynecol* 1975;46:311–312.
33. **Gilfillan CP, Robertson DM, Burger HG et al.** The control of ovulation in mothers of dizygotic twins. *J Clin Endocrinol Metab* 1996;81:1557–1562.
34. **Armstrong DT, Xia P, de Gannes G et al.** Differential effects of insulin-like growth factor-1 and follicle-stimulating hormone on proliferation and differentiation of bovine cumulus cells and granulosa cells. *Biol Reprod* 1996;54:331–338.
35. **Khamisi F, Roberge S, Yavas Y et al.** Recent discoveries in physiology of insulin-like growth factor-1 and its interaction with gonadotropins in folliculogenesis. *Endocrine* 2001;16:151–165.
36. **Mao J, Smith MF, Rucker EB et al.** Effect of epidermal growth factor and insulin-like growth factor I on porcine preantral follicular growth, antrum formation, and stimulation of granulosa cell proliferation and suppression of apoptosis in vitro. *J Anim Sci* 2004; 82:1967–1975.
37. **Kurzawa R, Glabowski W, Wenda-Rożewicka L.** Evaluation of mouse preimplantation embryos cultured in media enriched with insulin-like growth factors I and II, epidermal growth factor and tumor necrosis factor alpha. *Folia Histochem Cytobiol* 2001;39:245–251.
38. **Ricard IJ, Prentice AM, Fulford AJC, Lummaa V.** Twinning propensity and offspring in utero growth covary in rural African women. *Biol Lett* 2012;8:67–70.
39. **Armstrong DG, McEvoy TG, Baxter G et al.** Effect of dietary energy and protein on bovine follicular dynamics and embryo production in vitro: associations with the ovarian insulin-like growth factor system. *Biol Reprod* 2001;64:1624–1632.
40. **Echternkamp SE, Roberts AJ, Lunstra DD et al.** Ovarian follicular development in cattle selected for twin ovulations and births. *Journal of Animal Science.* 2004;82:459–471.
41. **Zhao H, Ivic L, Otaki JM et al.** Functional Expression of a Mammalian Odorant Receptor. *Science* 1998; 279:237–242.
42. **Sirisathien S, Hernandez-Fonseca HJ, Brackett BG.** Influences of epidermal growth factor and insulin-like growth factor-I on bovine blastocyst development in vitro. *Anim Reprod Sci* 2003;77:21–32.
43. **Glister C, Tannetta DS, Groome NP, Knight PG.** Interactions between follicle-stimulating hormone and growth factors in modulating secretion of steroids and inhibin-related peptides by nonluteinized bovine granulosa cells. *Biol Reprod* 2001;65:1020–1028.
44. **Zhao H, Luo L, Liu Y.** Experimental study on the role of insulin-like growth factor-I in ovulation induction. *Zhong F Chan* 1998;33:219–221.
45. **Pollard R.** Ethnic comparison of twinning rates in California. *Hum Biol.* 1995;67:921–931.
46. **Yanowski JA, Sovik KN, Nguyen TT, Sebring NG.** Insulin-like growth factors and bone mineral density in African American and White girls. *J Pediatr* 2000; 137:826–832.
47. **Steinman G.** Mechanisms of twinning VII: effect of diet and heredity on the human twinning rate. *J Reprod Med* 2006;51:405–410.

48. **Glander HJ, Kratzsch J, Weisbrich C, Birkenmeier G.** Insulin-Like Growth Factor-I and alpha-Macroglobulin in Seminal Plasma Correlate with Semen Quality. *Hum Reprod* 1996;11:2454-2460.
49. **Hendricks DM, Kouba AJ, Lackey BR et al.** Identification of Insulin-Like Growth Factor I in Bovine Seminal Plasma and Its Receptor on Spermatozoa: Influence on Sperm Motility. *Biol Reprod* 1998;59:330-337.
50. **Spiteri-Grech J, Nieschlag E.** The role of growth hormone and insulin-like growth factor I in the regulation of male reproductive function. *Horm Res* 1992;38 Suppl 1:22-7.
51. **Breier BH, Vickers MH, Gravance CG, Casey PJ.** Therapy with growth hormone: major prospects for the treatment of male subfertility? *Endocrinol J* 1998;45 Supplement S53-S60.
52. **Aitken RJ.** Sperm function tests and fertility. *Int J Androl* 2006;29:69-75.
53. **Yilmaz A, Davis ME, Simmen RC.** Estimation of (co)variance components for reproductive traits in Angus beef cattle divergently selected for blood serum IGF-I concentration. *J Anim Sci* 2004;82:2285-92.
54. **Colombo JB, Naz RK.** Modulation of insulin-like growth factor-I in the seminal plasma of infertile men. *J Androl* 1999;20:118 -125.
55. **Richiardi L, Akre O, Montgomery SM et al.** Fecundity and twinning rates as measures of fertility before diagnosis of germ-cell testicular cancer. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:145-147.
56. **Matorras R, Matorras F, Mendoza R et al.** The implantation of every embryo facilitates the chances of the remaining embryos to implant in an IVF programme: a mathematical model to predict pregnancy and multiple pregnancy rates. *Hum Reprod* 2005;20:2923-2931.
57. **Kovacs P, Matyas S, Boda K, Kaali SG.** The effect of endometrial thickness on IVF/ICSI outcome. *Hum Reprod* 2003;18:2337-2341.
58. **Al-Ghamdi A, Coskun S, Al-Hassan S et al.** The correlation between endometrial thickness and outcome of in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) outcome. *Reprod Biol Endocrinology* 2008;6:37-41.
59. **Lambers MJ, Mager E, Goutbeek J et al.** Factors determining early pregnancy loss in singleton and multiple implantations. *Hum Reprod* 2007;22:275-279.
60. **Lambers MJ, Roek S, Lutikhof L et al.** A family history of twinning in relation to multiple implantation. *Human Reproduction* 2008;23:889-893.
61. **Thurin A, Hardarson T, Hausken J et al.** Predictors of ongoing implantation in IVF in a good prognosis group of patients. *Hum Reprod* 2005;20:1876-1880.
62. **Bhattacharya S, Hamilton MP, Shaaban M et al.** Conventional in-vitro fertilisation versus intracytoplasmic sperm injection for the treatment of non-male-factor infertility: a randomised controlled trial. *Lancet* 2001; 357:2075-2079.
63. **Lintsen AM, Eijkemans MJ, Hunault CC et al.** Predicting ongoing pregnancy chances after IVF and ICSI: a national prospective study. *Hum Reprod* 2007; 22: 2455-2462.
64. **Asklund C, Jensen TK, Jørgensen N et al.** Twin pregnancy possibly associated with high semen quality. *Hum Reprod* 2007;22:751-755.
65. **Basso O, Christensen K, Olsen J.** Fecundity and twinning. A study within the Danish National Birth Cohort. *Hum Reprod* 2004;19:2222-2226.
66. **Hargreave TB, Elton RA.** Fecundability rates from an infertile male population. *Br J Urol* 1986;58:194-197.