

# DIAGNOSI DI CORIONICITÀ NELLA GRAVIDANZA GEMELLARE. CONTROVERSIE, ACQUISIZIONI E NOSTRA ESPERIENZA

Alessandro Grignaffini; Moira Angeloni; Gilda Patria; Salvatore Gizzo;  
Tito Silvio Patrelli; Alberto Bacchi Modena; Giovanni Battista Nardelli

Università degli Studi di Parma - Dipartimento di Scienze Ginecologiche, Ostetriche e di Neonatologia – Sezione di Ginecologia ed Ostetricia

*Indirizzo per corrispondenza:* Prof. Alessandro Grignaffini

Università degli Studi di Parma

Viale Gramsci n° 14, 43100 Parma (PR) IT

tel: +39 0521702437; fax: +39 0521290508; e-mail: [alessandro.grignaffini@unipr.it](mailto:alessandro.grignaffini@unipr.it)

## ABSTRACT

Accurate determination of zygosity and chorionicity is essential in on twin pregnancies, and especially in clinical management of themselves. The twin pregnancies account for 1 to 2% of all pregnancies, of which 66% dizygotic. 33% are monozygotic and most frequently related to pregnancies achieved through assisted reproductive techniques. In our retrospective study we examined 80 twin pregnancies (78 bigemina and 2 triplets), whereas gestational age, mode of delivery, a possible indication for caesarean section, fetal presentation at delivery. Infants were examined: the number of live births, sex, weight, Apgar score, pH, any treatment (oxygen therapy, resuscitation and transfer to intensive care). The purpose of the study was a comparison of monochorionic pregnancies and bichorionic in terms of how out-fetal-neonatal. Analysis of data shows that the pPROM has affected 32% of our sample, regardless of chorionicity, IUGR 11.2% of all pregnancies studied (5% of bicoriali, 30% of monochorionic), neonatal outcome with respect to weight (less than 1000 grams) was different between bichorionic and monochorionic (3-4% vs. 15%), Apgar minutes I and V, pH of cord blood and other pregnancy-induced diseases has not been found to be statistically significant. Although you can try a vaginal birth because in certain circumstances (Twins PP cephalic, absence of maternal and fetal complications, reasons for the patient), it is preferable to plan an elective caesarean section or elective induction of labor at 37 weeks in pregnancies bichorionic and at 36 weeks in monochorionic.

**Key words:** *twin pregnancy; chorionicity; neonatal outcome*

## RIASSUNTO

Una determinazione accurata della zigosità e corionicità è essenziale in qualsiasi studio sulle gravidanze gemellari e nel management clinico-assistenziale delle stesse. Le gravidanze gemellari rappresentano l'1-2% di tutte le gravidanze, di cui il 66% dizigotiche. Il 33% sono monozigotiche e più frequentemente correlate a gravidanze ottenute mediante da tecniche di riproduzione assistita. Nel nostro studio retrospettivo abbiamo esaminato 80 gravidanze gemellari (78 bigemine e 2 trigemine), considerando l'epoca gestazionale, la modalità del parto, l'eventuale indicazione al taglio cesareo, le presentazioni fetali al momento del parto. Dei neonati sono state esaminate: il numero di nati vivi, il sesso, il peso, l'indice di APGAR, il pH, gli eventuali trattamenti (Ossigeno terapia, rianimazione e trasferimento in terapia intensiva). Scopo dello studio è stato un confronto fra le gravidanze monocoriali e bicoriali in termini di out-come fetoneonatale. Dall'analisi dei dati si evince che la pPROM ha interessato il 32% del nostro campione, indipendentemente dalla corionicità, l'IUGR l'11.2% del totale delle gravidanze studiate (5% delle bicoriali, il 30% delle monocoriali), l'outcome neonatale rispetto al peso (inferiore di 1000 gr) era diverso tra bicoriali e monocoriali (3-4% vs 15%), Apgar I e V minuto, pH del sangue cordonale e le altre malattie gravidanza-indotte non sono risultate essere statisticamente significative. Pur se possibile provare un parto per via vaginale in talune circostanze (I gemelli in PP cefalica, assenza di complicanze materne e fetali, motivazione della paziente), è preferibile programmare un taglio cesareo elettivo o un'induzione elettiva del parto a 37 settimane nelle gravidanze bicoriali ed a 36 settimane in quelle monocoriali.

**Parole chiave:** *gravidanza gemellare; corionicità; outcome neonatale*

## INTRODUZIONE

Le gravidanze gemellari rappresentano l'1-2% di tutte le gravidanze. Per due terzi sono dizigotiche e per un terzo monozigotiche. Tutti i gemelli dizigoti ed un terzo dei monozigoti sono bicoriali. Perciò, poco più del 20% di tutte le gravidanze gemellari è monocoriale. (1)

### Definizione

I gemelli dizigoti derivano dalla fecondazione di due distinti ovociti operata da due spermatozoi, mentre i monozigoti, della fecondazione di un singolo ovocita con formazione di un solo zigote. L'uovo così fecondato, in uno stadio precoce dello sviluppo, si divide in due masse cellulari che si accrescono indipendentemente, in modo tale che ciascuna di esse possa generare un individuo completo. Ne consegue che il destino di questo tipo di gemellarità dipende necessariamente dal momento in cui interviene la causa determinante, ovvero la divisione dello zigote, cioè dal tempo che intercorre tra la fecondazione e la divisione dello stesso. Lagravidanza monozigotica si verifica più frequentemente nelle gravidanze multifetali che originano da tecniche di riproduzione assistita, facendo ipotizzare che il prematuro e parziale distacco dei blastomeri dalla zona pellucida sia una delle cause della gemellarità monozigotica. La gravidanza gemellare monozigotica sarà bicoriale-biamniotica se la divisione dello zigote avviene entro il quarto giorno post concezionale. Infatti in tale fase l'inner cell mass, o embrioblasto, non si è ancora formato, così come le cellule destinate a formare il trofoectoderma non sono ancora definite. In questo caso avremo due distinte placente, eventualmente fuse tra loro, due sacchi coriali e due membrane amniotiche che avvolgono i rispettivi embrioni. Se la divisione dell'embrione avviene tra il quarto e l'ottavo giorno di sviluppo, la placentazione sarà monocoriale biamniotica. In questo caso l'inner cell mass si è formato, si sono ben definite le cellule destinate a formare il trofoectoderma ed è presente la cavità blastocelica. Osserveremo una sola placenta, un sacco coriale e due membrane amniotiche. Nella gravidanza gemellare monocoriale monoamniotica che rappresenta il 5% di tutte le gravidanze monocoriali, la divisione dell'embrione avviene dopo l'ottavo giorno di sviluppo. E' presente il disco embrionario didermico ed il celoma extraembrionario. Si osserva una cavità amniotica singola con una singola placenta da cui originano due cordoni ombelicali inseriti molto

vicini l'uno all'altro. (2,4)

Nell'1% circa delle gravidanze gemellari monoamniotiche i gemelli sono congiunti. (3,5) La gemellarità dizigotica è più frequente nelle donne di età superiore a 35 anni per l'aumento dei livelli di gonadotropine che si verifica in quest'età e sembra essere ereditaria in alcune famiglie. E' frequentemente determinata dalla somministrazione di farmaci induttori dell'ovulazione. (6,7)

### Diagnosi di corionicità, di amnionicità e di zigosità

La mancanza di precise informazioni patogenetiche e lo scarso potere risolutivo della diagnostica per immagini ha reso molto difficile, in passato, la conoscenza del tipo di placentazione o di zigosità di una gravidanza plurima.

La diagnosi di corionicità, amnionicità e zigosità non sempre è di agevole determinazione. Le difficoltà sono legate all'epoca di gestazione in cui si effettua la diagnosi, all'apparecchio ecografico utilizzato, al BMI della paziente.

La diagnosi ecografica di corionicità raggiunge attualmente un'affidabilità del 95% circa, con il vantaggio di essere innocua, non invasiva e ripetibile, pur con la limitazione di essere metodica operatore-dipendente. Ciò avviene grazie al riconoscimento di "markers" specifici quali il numero delle placente, il numero delle membrane amniocoriali, lo spessore del setto interamniotico e la ricerca del segno "lambda". Quest'ultimo corrisponde alla duplicazione dei foglietti coriali nel punto di inserzione placentare. Il sesso dei gemelli infine, se discordante, permetterà la diagnosi differenziale di zigosità. (8,9,10,11)

La monozigosità può essere determinata con certezza solo se si è sicuri che la gravidanza è monocoriale. La dizigosità può essere asserita solo in presenza di bicoorialità con sessi diversi.

Nel primo trimestre è facile differenziare la gestazione bicoriale da quella monocoriale perchè il sepimento che differenzia i due sacchi è ben visibile. Non altrettanto semplice è differenziare la gestazione monocoriale biamniotica da quella monocoriale monoamniotica. La via ecografica transvaginale è da prediligere in epoche gestazionali precoci, allorquando visualizzando il numero di sacchi vitellini presenti nella camera oculare si potrà agevolmente distinguere una gravidanza gemellare monocoriale monoamniotica da una biamniotica.

Nel secondo e nel terzo trimestre, per riconoscere l'am-

nionicità di una gravidanza gemellare in presenza di placente fuse si deve ricorrere alla determinazione del sesso fetale. In caso di sesso concordante bisogna valutare lo spessore del setto amniotico. Detta valutazione è puramente visiva e soggettiva, operatore-dipendente.

Nel secondo e nel terzo trimestre, la mancata visualizzazione della membrana che separa i feti non deve far porre diagnosi di monoamnionicità se questa non è stata già evidenziata nel primo trimestre.

Per stabilire con sufficiente sicurezza la diagnosi di amnionicità, di corionicità e di zigosità è opportuno seguire iter diagnostici differenti in relazione all'epoca di gestazione nella quale si effettua l'esame ecografico.

Nel primo trimestre di gestazione, si dovrà considerare innanzitutto il numero di camere gestazionali (se sono due parleremo di placentazione bicoriale). Poi sarà necessario valutare il numero di embrioni in ciascuna camera gestazionale, se osserviamo due embrioni si tratta di una gravidanza gemellare monocoriale ed è importante valutarne l'amnionicità.

Se in una singola camera gestazionale si osservano due embrioni vivi ma un solo sacco vitellino si tratterà con certezza di gravidanza gemellare monocoriale monoamnionica. In presenza di un solo sacco vitellino e di due embrioni bisognerà accertarsi con ripetuti controlli che i gemelli non siano congiunti. E' solo intorno alla 10a - 12a settimana di gestazione che potrà essere posta con certezza la diagnosi di gemellarità congiunta stabilendo, nella maggior parte dei casi, il tipo di congiunzione fetale.

Diverso è invece l'iter diagnostico se l'osservazione ecografica di una gravidanza bigemina avviene dopo la 16a settimana di gestazione.

L'esame ecografico inizierà dall'osservazione del fenotipo sessuale fetale. Se i genitali sono discordanti ed i feti presentano placente distinte con setto interamniotico spesso, la gemellarità è dizigotica. Se i genitali fetali sono dello stesso genere bisogna osservare la placenta. Se si repertano due placente ben separate, la gemellarità è bicoriale biamniotica. Se la placenta sembra essere unica si devono valutare la presenza e le caratteristiche del setto che divide le camere gestazionali. Se il setto interamniotico esiste ed è spesso, si tratta di gravidanza bicoriale biamniotica ed in tal caso non si tratta di placenta unica, ma di placente contigue o fuse. Se il setto è sottile si tratta di gravidanza monocoriale biamniotica. Se il setto non esiste, si deve essere molto cauti prima di asserire che si tratta di gravidanza monocoriale monoamnionica. Infatti in presenza di oligoidramnios di un feto, le membra-

ne amniotiche adese al feto stesso non sono visibili.

### **Complicanze associate alle gravidanze gemellari.**

L'indice di mortalità perinatale per le gravidanze gemellari è tre volte superiore rispetto alle gravidanze singole ed i maggiori rischi sono legati alla monocorialità, alla maggiore frequenza e precocità del parto pretermine e al difetto di crescita. È ampiamente dimostrato che anche la morbilità perinatale è più frequente nelle gravidanze multiple. Infatti i bambini nati da gravidanze plurime includono ben il 23% di tutti i bambini nati con basso peso alla nascita, con un rischio relativo di peso alla nascita < 1500 grammi di dieci volte superiore rispetto al rischio dei nati da gravidanze singole. (12,13,14,15)

Il rischio di avere almeno un neonato con danni cerebrali da gravidanza multipla è rispettivamente dell'1,5% per le bigemine, dell'8% per le trigemine e del 42,9% per le gravidanze quadrigemine (16,17)

Accanto ai rischi fetali già evidenziati, la gravidanza gemellare può presentare complicazioni materne di variabile gravità. Nel primo trimestre di gravidanza si è

**Tabella 1:** frequenza delle complicanze riscontrate nella gravidanza gemellare (da aa.vv.)

Complicanze nella gravidanza gemellare	Frequenza %
Presentazione anomala	~ 40 %
Parto pretermine	~ 50%
Vanishing twin	~ 20 %
Iperensione materna	~ 15 %
IUGR	~ 30 %
Emorragia postpartum	~ 15 %
Preeclampsia	~ 15 %
Polidramnios	~ 10 %
Oligoidramnios severo	~ 8 %
Anomalie congenite	~ 10 %
Patologie accidentali del cordone	~ 2 - 10 %
Distacco di placenta	~ 2 %
Morte di un gemello (II o III trimestre)	~ 0.5 - 7 %
Sindrome trasfuso-trasfusore	~ 1 - 2 %
Gemello acardico	~ < 1 %
Gemelli congiunti	~ < 1 %

**Tabella 2:** PATOLOGIE PREGESTAZIONALI

Pregresse patologie	Gravidanze plurime	
	n.	%
Totale gravide con patologie pregestazionali	17	21,2
Enucleazione cisti ovarica	6	7,5
Obesità e ipertensione	2	2,5
VDL operativa per endometriosi IV stadio	2	2,5
VDL gravidanza tubarica	2	2,5
Annessiectomia monolaterale	2	2,5
MEF	2	2,5
Miomectomia intramurale	1	1,2

clampsia si manifestano più frequentemente in corso di gravidanza gemellare. Le gestanti gemellari primigravide presentano un rischio cinque volte maggiore di sviluppare preeclampsia, mentre le gestanti multi-gravide hanno un rischio dieci volte superiore a quello delle gravidanze singole. Il rischio di ipertensione gestazionale sembra essere più elevato in caso di gemellarità monozigotica.

Infine l'emorragia del postpartum è più frequente nella gravidanza gemellare e sembra essere dovuta sia alla maggiore superficie di inserzione placentare che alla sovradistensione uterina con aumentata tendenza all'atonia.

Accanto alle cause descritte, un fattore importante nel determinismo delle complicazioni materne e fetali in corso di gravidanza gemellare potrebbe essere la placentazione anomala che avrebbe conseguenze ancor

**Tabella 3:** PATOLOGIE GESTAZIONALI

Patologie	Gravidanze plurime		Gravidanze monooriali		Gravidanze bicoriali		Gravidanze tricoriali		p
	n.	%	n.	%	n.	%	n.	%	
Gravidanze con patologie gestazionali	45	56,2	15	75	29	50	1	50	NS
RPM < 36° settimana	26	32,5	6	30	19	32,7	1	50	NS
IUGR	9	11,2	6	30	3	5,2	0	0	p=S
MPP	7	8,7	2	10	5	8,6	0	0	NS
MSP	3	3,7	1	5	2	3,4	0	0	NS
Iipertensione gestazionale	3	3,7	2	10	1	1,7	0	0	NS
Preeclampsia	3	3,7	2	10	1	1,7	0	0	NS
MEF di un gemello	2	2,5	1	5	1	1,7	0	0	NS
Colestasi intaepatica gravidica	2	2,5	1	5	1	1,7	0	0	NS
Sospetta corioamniotite	1	1,2	0	0	1	1,7	0	0	NS
Oligoidramnios	1	1,2	1	5	0	0	0	0	NS
Diabete gestazionale	1	1,2	0	0	1	1,7	0	0	NS
HELLP syndrom	1	1,2	0	0	1	1,7	0	0	NS

soliti riscontrare un'aumentata prevalenza di neurovegetosi, con nausea e vomito, a causa dei livelli elevati di gonadotropina corionica ed un'aumentata tendenza all'aborto spontaneo rispetto alla gravidanza singola. L'anemia è più frequente correlata ad un più cospicuo aumento del volume plasmatici e conseguente emodiluizione. Anche l'ipertensione gestazionale e la pree-

più importanti di quelle che si verificano in corso di gravidanza singola, per la necessità di assicurare l'apporto metabolico a più feti.

Si può quindi dedurre che la gravidanza multipla è una gravidanza ad alto rischio, con una pervisione di entità di rischio tanto maggiore quanto maggiore è il numero di concepiti. (Tabella 5)

## MATERIALI E METODI

Lo studio, di tipo retrospettivo, ha preso in considerazione i parti plurimi espletati presso la Clinica Ostetrica dell'Università degli Studi di Parma nell'arco temporale di 18 mesi.

Abbiamo esaminato 80 gravidanze gemellari su un totale di 3811 parti, di cui 78 casi di gravidanza bigemina e 2 di gravidanza trigemina.

Dei 78 casi di gravidanza bigemina 20 sono gravidanze monocoriali e 58 sono bicoriali.

Di ciascuna paziente sono state considerate l'età, l'etnia, la parità, l'insorgenza spontanea o medicalmente assistita della gravidanza.

Dell'anamnesi familiare e patologica remota sono state considerate patologie pregestazionali che potevano influenzare l'andamento della gravidanza multipla ed eventuali patologie insorte nel corso della gravidanza.

E' stata inoltre segnalata l'epoca della diagnosi di corionicità.

Del parto è stata considerata l'epoca, la modalità del parto, l'eventuale indicazione al taglio cesareo, le presentazioni fetali al momento del parto.

Dei neonati sono state esaminate: il numero di nati vivi, il sesso, il peso, l'indice di APGAR, il pH, gli eventuali trattamenti (assistenza al neonato con ossigeno, rianimazione e trasferimento in TIN-terapia intensiva neonatale-).

Lo scopo dello studio è stato un confronto fra le gravidanze monocoriali e le gravidanze bicoriali in termini di out-come fetoneonatale.

Il programma statistico utilizzato per lo studio è stato: Abramson, J.H. WINPEPI (PEPI for Windows)

## RISULTATI

Il nostro campione rappresenta il 2% di tutti i parti espletati presso la Clinica Ostetrica dell'Università degli Studi di Parma (80/3811).

Nell'ambito delle gravidanze plurime il 97.5% erano gravidanze bigemine il 2.5% gravidanze trigemine.

Il 77.5% del nostro campione era costituito da donne italiane, di cui il 70% nullipare. Il 90% di queste gravidanze è insorto spontaneamente; nel 97.5% dei casi la diagnosi di corionicità era stata posta durante l'ecografia ostetrica del I trimestre.

L'anamnesi patologica remota generale ed ostetrica non presentava a considerare, nel nostro campione, dati estremamente significativi (Tabella 2)

La rottura prematura pretermine delle membrane ha interessato il 32% del nostro campione, indipendentemente dalla corionicità, la IUGR l'11.2% del totale delle gravidanze studiate.

Stratificando ulteriormente il nostro dato, abbiamo riscontrato che solo il 5% delle bicoriali presentava restrizione di crescita, quasi in linea con le gravidanze non gemellari, mentre il 30% delle monocoriali era affetto da IUGR. Questa differenza è risultata statisticamente significativa.

Altre malattie per la gravidanza sono state prese in considerazione, non risultando statisticamente rilevanti i risultati ottenuti. (Tabella 3)

Il 60% del nostro campione ha partorito ad un'epoca inferiore alle 36 settimane, l'80% delle monocoriali ed il 52% delle bicoriali. Entrambe le gravidanze trigemine si sono concluse prima delle 36 settimane. (Tabella 4)

L'out-come neonatale valutato per peso alla nascita

**Tabella 4:** epoca del parto

Epoca (in settimane)	Gravidanze plurime		Gravidanze monocoriali		Gravidanze bicoriali		Gravidanze tricoriali		p
	n.	%	n.	%	n.	%	n.	%	
<28	4	5	2	10	1	1,7	1	50	NS
28-32	9	11,3	2	10	7	12,1	0	0	NS
32-36	35	43,7	12	60	22	37,9	1	50	NS
≤36	48	60	16	80	30	51,7	2	100	p=S
>36	32	40	4	20	28	48,3	0	0	p=S
Epoca media	34 sett + 6 gg		33 sett + 6 gg		35 sett + 1 gg		30 sett + 2 gg		

si è rivelato statisticamente significativo tra monocoriali e bicoriali: il 15% dei gemelli monocoriali presentava un peso inferiore ai 1000 grammi, solo il 3-4% dei gemelli bicoriali, invece, aveva un peso inferiore ai 1000 gr (Tabella 5)

gemellari che nel Regno Unito nel 1980-85 incideva per il 28%, mentre nel 2000 per il 59%. (18)

Un recente studio condotto su oltre 8000 nascite ha dimostrato infatti che un taglio cesareo programmato ridurrebbe del 75 % il rischio di morte perinatale fetale

**Tabella 5:** peso neonatale

Peso	Totale neonati		Neonati gravidanze monocoriali		Neonati gravidanze bicoriali		Neonati gravidanze tricoriali		P
	n.	%	n.	%	n.	%	n.	%	
<1000	11	6,8	6	15	4	3,4	1	16,7	p=S
1000-1800	32	19,7	6	15	24	20,7	2	33,3	NS
1800-2500	73	45,1	21	52,5	49	42,2	3	50	NS
>2500	46	28,4	7	17,5	39	33,7	0	0	NS
Peso medio	2100 gr.		1949 gr.		2241 gr.		1503 gr.		

L'indice di APGAR al I e al V minuto, i valori di pH ottenuti mediante emogasanalisi su cordone ombelicale non presentano differenze significative tra il gruppo dei gemelli bicoriali vs monocoriali.

## DISCUSSIONE

La gravidanza gemellare rappresenta, ancora oggi, nonostante i notevoli progressi che la medicina materno-fetale ha compiuto in termini di acquisizioni diagnostiche e di opzioni terapeutiche, un banco di prova considerevole per l'eterogeneità di condizioni patologiche ad essa connesse, sia materne che fetali.

Infatti, per citare solo una complicanza fetale rilevante, è sufficiente pensare che il rischio di paralisi cerebrale è otto volte maggiore nella gravidanza bigemina e 47 volte maggiore nella gravidanza trigemina rispetto alla gravidanza singola. (17) Ciò rende particolarmente importante lo studio della gestione, del timing e delle modalità del parto in queste particolari gravidanze.

Non c'è dubbio che la corionicità abbia un'influenza determinante, come si evince anche dal nostro studio in relazione, ad esempio, al parametro peso alla nascita del feto.

Le questioni ancora aperte relative alla modalità del parto nella gravidanza gemellare rappresentano un avvincente argomento di ricerca per ridurre il rischio di morte fetale nei travagli gemellari. Un'indagine conoscitiva del Royal College dimostra un notevole incremento nel ricorso al taglio cesareo nelle gravidanze

nelle gravidanze gemellari a termine. (19) Attualmente è in corso un trial multicentrico randomizzato controllato in Canada per definire quanto realmente pianificare un taglio cesareo possa ridurre la mortalità perinatale.

Per ciò che concerne il timing del parto nelle gravidanze gemellari ancor di più vi è controversia in letteratura, specialmente in considerazione dell'accresciuto rischio di mortalità fetale nelle gravidanze gemellari monocoriali. (20,21)

Per quanto riguarda questo aspetto, quando il primo gemello è in presentazione cefalica, non vi sono altre complicazione della gravidanza e vi è motivazione da parte della paziente, può essere pianificato un parto vaginale.

La nostra pratica suggerisce, in ogni caso, la programmazione di un taglio cesareo elettivo/induzione elettiva del parto a 37 settimane nelle gravidanze bicoriali ed a 36 settimane in quelle monocoriali

In definitiva pare opportuno sottolineare che:

- È necessario determinare la corionicità nel primo trimestre
- È opportuno offrire alla paziente controlli ecografici ravvicinati per diagnosticare precocemente segni di TTS e IUGR
- Seguire queste gravidanze in centri di riferimento, soprattutto se vi sono segni precoci di complicanze
- Offrire alla paziente un timing predefinito per il parto

## BIBLIOGRAFIA

1. Ohm Kyvik K, Derom C. Data collection on multiple births—establishing twin registers and determining zygosity. *Early Hum Dev* 2006; 82:357–63.
2. Denbow ML, Fisk NM. Chorionicity and twins. *Current Obstetrics & Gynaecology* 1996;6:212-19
3. Pajkrt E, Jauniaux E. First-trimester diagnosis of conjoined twins. *Prenat Diagn* 2005;25:820–826.
4. Machin GA. Definitive methods of zygosity determination in twins: relevance to problems in the biology of twinning. *Acta Genet Med Gemellol.* 1990;39(4):459-71.
5. Fitzgerald EJ, Toi A, Cochlin DL. Conjoined twins. Antenatal ultrasound diagnosis and a review of the literature. *Br J Radiol.* 1985 Nov;58(695):1053-6.
6. Miura K, Niikawa N. Do monochorionic dizygotic twins increase after pregnancy by assisted reproductive technology? *J Hum Genet.* 2005;50(1):1-6.
7. Toledo MG. Is there increased monozygotic twinning after assisted reproductive technology? *Aust N Z J Obstet Gynaecol.* 2005 Oct;45(5):360-4.
8. Alhamdan D, Bora S, Condous G. Diagnosing twins in early pregnancy. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2009 Aug;23(4):453-61.
9. Bessis R & Papiernik E. Echographic imagery of amniotic membranes in twin pregnancies. *Prog Clin Biol Res.* 1981;69A:183–187.
10. Bora SA, Papageorghiou AT, Bottomley C et al. Reliability of transvaginal ultrasonography at 7–9 weeks' gestation in the determination of chorionicity and amnionity in twin pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2008 Oct; 32(5):618–621.
11. Hill LM, Chenevey P, Hecker J et al. Sonographic determination of first trimester twin chorionicity and amnionity. *J Clin Ultrasound* 1996 Jul–Aug; 24(6):305–308.
12. Alvarez M, Berkowitz R. Multifetal gestation. *Clin Obstet Gynecol.* 1990 Mar;33(1):79-87.
13. Lee YM, Wylie BJ, Simpson LL, D'Alton ME. Twin chorionicity and the risk of stillbirth. *Obstet Gynecol.* 2008 Feb;11:301-8.
14. Bornstein E, Proudfit CL, Keeler SM. Prematurity in twin pregnancies. *Minerva Ginecol.* 2009 Apr;61(2):113-26.
15. Resnik R., Intrauterine growth restriction, *Obstet Gynecol.* 2002; 99: 490–496.
16. Yokoyama Y, Shimizu T, Hayakawa K. Prevalence of cerebral palsy in twins, triplets and quadruplets. *Int J Epidemiol.* 1995 Oct;24(5):943-8.
17. Petterson B, Nelson KB, Watson L et al. Twins, triplets, and cerebral palsy in births in Western Australia in the 1980s. *BMJ* 1993;307(6914):1239– 43.
18. Thomas J, Paranjothy S. National Sentinel Caesarean Section Audit Report. London7 Clinical Effectiveness Support Unit, RCOG; 2001.
19. Smith GC, Shah I, White IR et al. Mode of delivery and the risk of delivery-related perinatal death among twins at term: a retrospective cohort study of 8073 births. *BJOG* 2005;112(8):1139 – 44.
20. Feldman GB. Prospective risk of stillbirth. *Obstet Gynecol* 1992;79(4):547 – 53.
21. Barigye O, Pasquini L, Galea P et al. High risk of unexpected late fetal death in monochorionic twins despite intensive ultrasound surveillance: a cohort study. *PLoS Med* 2005;2(6):172.