

# **O ESTUDO DE GÊMEOS**

**Bernardo Beiguelman**

**Professor Titular da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP (Aposentado)**

**Professor Visitante do Instituto de Ciências Biomédicas da USP**

**Pesquisador 1-A do CNPq**

**Este livro é dedicado à memória do  
Dr. Luciano Heitor Beiguelman,  
meu amado filho.**

### **Agradecimentos**

**Para a preparação deste livro recebi o apoio irrestrito dos Professores Henrique Krieger e Erney Plessmann de Camargo, que me proporcionaram um ambiente de grande estímulo intelectual na Unidade de Epidemiologia Genética do Departamento de Parasitologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Sua edição eletrônica não teria sido possível sem a colaboração técnica despreendida e generosa do Sr. Cassiano Pereira Nunes, da Dra. Rubiani de Cassia Pagotto e do Dr. Ricardo de Godoi Mattos Ferreira .**

# ÍNDICE

## INTRODUÇÃO

### CAPÍTULO 1. BIOLOGIA DA GEMELARIDADE

- Ovogênese e ovulação
- A fecundação do ovócito
- A formação do embrião
- A formação de gêmeos
- A formação de teratópagos
- Gêmeos monozigóticos discordantes quanto ao sexo
- Superfecundação heteropaternal
- A razão de sexo dos gêmeos
- Fatores que influenciam o nascimento de gêmeos
- O quimerismo nos gêmeos dizigóticos
- Duração da gestação
- Peso e estatura ao nascer
- Índice de Apgar
- Mortalidade perinatal

### CAPÍTULO 2. O DIAGNÓSTICO DA ZIGOSIDADE

- Emprego de caracteres monogênicos
  - O genótipo dos gêmeos e de seus pais é conhecido
  - O genótipo dos pais é conhecido, mas não o dos gêmeos
  - Somente se conhece o fenótipo dos pais e dos gêmeos
  - Não se conhece o genótipo ou o fenótipo dos genitores dos gêmeos
- Impressões dígito-palmares e diagnóstico da zigosidade
- O método diferencial de Weinberg
- A organização de um cadastro de gêmeos

### CAPÍTULO 3. O ESTUDO DE CARACTERES QUANTITATIVOS EM GÊMEOS

- O coeficiente de correlação intraclasse
- A comparação de caracteres quantitativos em gêmeos
- A investigação da herdabilidade de caracteres quantitativos em gêmeos

### CAPÍTULO 4. O ESTUDO DE CARACTERES QUALITATIVOS EM GÊMEOS

## INTRODUÇÃO

Vinte e cinco anos antes da redescoberta dos trabalhos do pai da Genética (Gregor Johann Mendel, 1822-1884), Francis Galton (1822-1911), que lançou as bases da Biometria, já participara à *Anthropological Society of London* que os gêmeos podem ser estudados com a finalidade de avaliar a contribuição do que ele chamou de *natura* e *nurtura* na determinação dos caracteres quantitativos (Galton, 1876). Esse binômio passou, mais tarde, a ser designado por *genótipo* e *ambiente*, mas o princípio lógico estabelecido por Galton para o estudo de gêmeos com a finalidade de investigar a participação do genótipo na variação fenotípica permaneceu, basicamente, o mesmo.

De acordo com esse princípio, os fatores do ambiente que afetam as diferenças intrapar dos gêmeos monozigóticos, oriundos de um único zigoto, seriam comparáveis aos que afetam as diferenças intrapar dos gêmeos dizigóticos, os quais, do mesmo modo que os pares de irmãos nascidos sucessivamente, são oriundos de dois zigotos. Ainda de acordo com ele, o valor das diferenças intrapar nos dois tipos de gêmeos poderiam servir para estimar a importância relativa do genótipo e do ambiente na determinação dos caracteres.

A partir do trabalho inicial de Galton, o estudo de gêmeos cresceu muito e passou a constituir uma especialidade, geralmente denominada **Gemelologia** (do latim, *gemellus* = gêmeo; *logus* = estudo). Ela é, também, chamada de Didimologia por alguns autores de língua inglesa, mas esse termo tem pouca adesão, talvez porque, em grego, *dídimos* é usado, indiferentemente, com o significado de gêmeos e de testículos.

Até o presente, o objetivo da maior parte dos trabalhos de pesquisa a respeito de gêmeos continua sendo o estabelecido por Galton. Menor número de pesquisadores dedicaram-se ao estudo da própria natureza dos nascimentos gemelares, isto é, à biologia da gemelaridade, trazendo, desse modo, contribuições importantes inclusive para a compreensão da biologia da reprodução humana. Nas páginas seguintes procurar-se-á abordar esses dois campos de estudo dos gêmeos.

# CAPÍTULO 1. BIOLOGIA DA GEMELARIDADE

## OVOGÊNESE E OVULAÇÃO

A gametogênese feminina, isto é, a ovogênese, é muito precoce na espécie humana, quando comparada à época de início da gametogênese masculina, pois ela se dá no período fetal, enquanto a espermatogênese somente se inicia na puberdade. Assim, por volta do sétimo mês de gestação, as células sexuais femininas estão no final da prófase I do processo meiótico, isto é, são todas *ovócitos de primeira ordem* (Ohno *et al.*, 1962). Cada um dos ovócitos se apresenta rodeado por *células foliculares*, as quais produzem um polipeptídeo de baixo peso molecular, que tem a capacidade de inibir a meiose (Tsafiriri *et al.*, 1976).

É por isso que se os ovócitos de primeira ordem não estiverem rodeados completamente por células foliculares, eles não sofrerão a inibição da meiose, terminarão a prófase I e alcançarão a metáfase I. Isso, entretanto, os levará à degenerescência, em decorrência da prematuridade desse processo (Jirásek, 1976). A continuação da meiose na ovogênese, isto é, a *maturação do ovócito*, somente terá condições de ocorrer em ovócitos de folículos ovarianos maduros, pouco tempo antes de eles sofrerem ruptura. Tais folículos são denominados *folículos de Graaf*, em homenagem ao médico holandês Regnier de Graaf (1641-1673), que os descreveu pela primeira vez em 1672, pensando que eles eram os óvulos. Foi somente em 1827 que, graças à sua miopia, Karl Ernst von Baer (1792-1876), um naturalista estoniano, conseguiu visualizar, a olho nu, o ovócito dentro do folículo, onde ele é encontrado rodeado por células foliculares, as quais constituem a chamada *corona radiata*. Essas células também costumam ser designadas por células do *cumulus*, por fazerem parte do *cumulus oophorus* que é a estrutura que mantém o ovócito no interior do folículo ovariano (Fig.1.1).

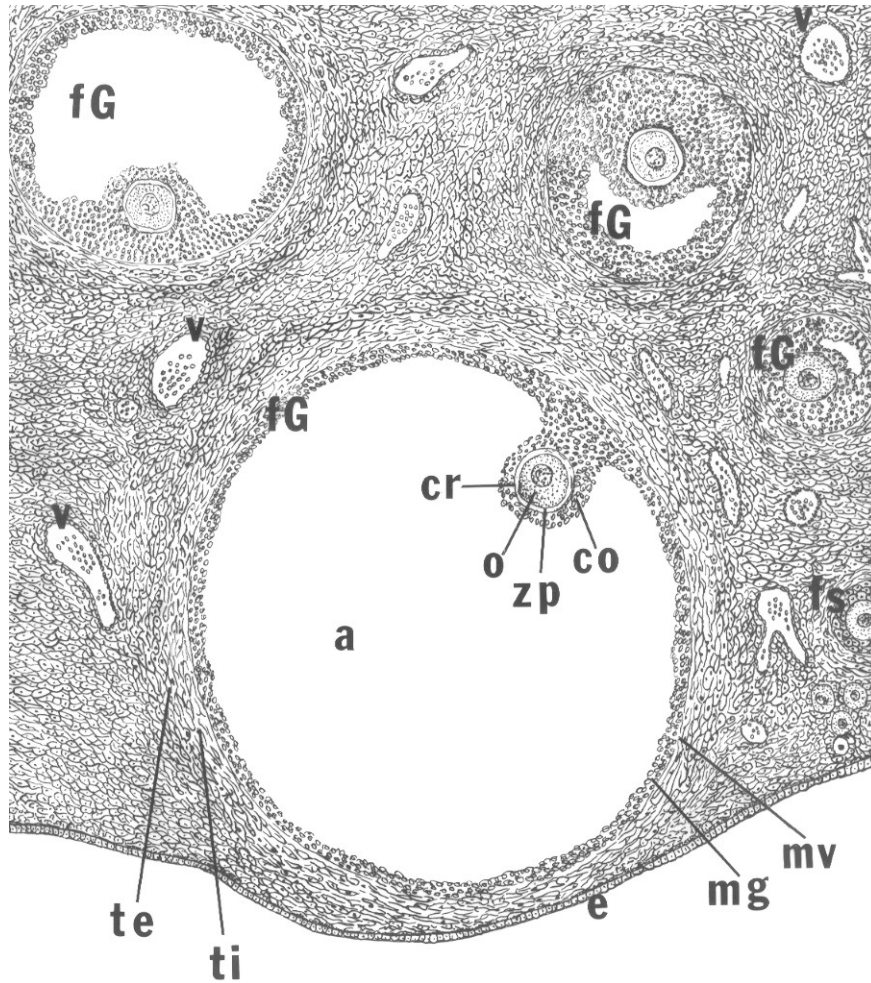


Fig. 1.1 Secção histológica de um ovário humano. (Desenho esquemático adaptado de Huettner, 1957).

*a*-antro; *co*-cumulus oophorus; *cr*-corona radiata; *e*-epitélio; *fG*-folículo de Graaf; *fs*-folículo secundário; *mg*-membrana granulosa; *mv*-membrana vítrea; *o*-ovócito de primeira ordem; *te*-teca externa; *ti*-teca interna; *v* = vaso sanguíneo; *zp*-zona pelúcida.

Durante o intervalo entre o término de uma menstruação e o início de outra (*ciclo menstrual*) é normal que somente um dos folículos de Graaf de um dos ovários atinja grau de maturidade maior do que os outros. O ovócito de primeira ordem desse folículo passa, então à fase de maturação, isto é, termina a prófase I, passando, sucessivamente, pela metáfase I, anáfase I e telófase I. Por estar com o núcleo muito deslocado para a periferia, tem-se que, durante a telófase I, o citoplasma do ovócito de primeira ordem divide-se desigualmente, com a geração de duas células de tamanho bem diferente, o *ovócito de*

*segunda ordem*, com tamanho semelhante à célula original (cerca de 0,14 mm), e uma célula pequena, a ele aderida (*primeiro polócito* ou *primeiro corpúsculo polar*).

O ovócito de segunda ordem se apresenta envolvido por uma camada extracelular, denominada *zona pelúcida* (do latim, *pellucida* = transparente), a qual inclui três glicoproteínas importantes, designadas por ZP1, ZP2 e ZP3 (Rankin e Dean, 2000).. Durante o crescimento folicular, a zona pelúcida, que é uma barreira para impedir a entrada de espermatozóides de um animal de outra espécie (Rudak *et al.*, 1978), é atravessada por finas projeções emanadas das células do *cumulus*. Esse complexo *cumulus*-ovócito serve de comunicação entre o ovócito e o *cumulus oophorus*, para a passagem de íons e pequenas moléculas (Gilula *et al.*, 1978).

O ovócito de segunda ordem inicia, então, a meiose II, enquanto se rompe o folículo de Graaf maduro que o contém, sendo esse ovócito em metáfase II, juntamente com o primeiro polócito e a *corona radiata*, expelido para o pavilhão de uma das trompas uterinas. Essas trompas também são chamadas de *trompas de Falópio*, em homenagem a Gabriele Fallopio (1523-1562), anatomista e cirurgião italiano, que foi o primeiro a descrever os ovidutos humanos. Esse fenômeno da expulsão do óvulo para uma das trompas, denominado *ovulação*, tem a duração de alguns minutos e não decorre de um aumento da pressão hidrostática dentro do folículo, mas da ação de enzimas proteolíticas, que fluem do antro para as tecas do folículo (Channing e Tsafiriri, 1977).

A supressão da ação do inibidor meiótico produzido pelas células foliculares está associada à regulação hormonal do ciclo menstrual. Ao ter início um novo ciclo menstrual, isto é, logo depois que termina uma menstruação, aumenta o nível de *hormônio folículo-estimulante* (FSH) produzido pela hipófise. Em resposta ao FSH, um grupo de folículos de Graaf intensifica seu crescimento e aumenta, gradativamente, a produção de *estrógenos*. Antes da ovulação, porém, o aumento da produção de estrógenos deixa de ser gradativo, para atingir um pico.

Por existir um mecanismo de retroalimentação negativo entre os níveis de estrógeno e o FSH, tem-se que, à medida que aumenta o nível de estrógenos diminui o nível de FSH. Um outro hormônio produzido pela hipófise, o *hormônio luteinizante* (LH) tem, ao contrário do FSH, uma retroalimentação positiva com os estrógenos, de modo que, à medida que aumenta o nível de estrógenos também aumenta o nível de LH e é o aumento

acentuado do nível de LH durante o período pré-ovulatório que elimina o estímulo inibitório da meiose, por determinar a ruptura do complexo ovócito-*cumulus* e diminuir no ovócito a concentração do fosfato de adenosina, também chamado de ácido 5- adenílico ou AMP cíclico (Shoham *et al.*, 1993). Se, entretanto, o ovócito for retirado do folículo, juntamente com o *cumulus oophorus*, a sua maturação ocorrerá, apesar da ausência de LH, porque o processo inibitório da meiose cessa quando o ovócito está fora do ambiente folicular (Gómez *et al.*, 1993).

### **A FECUNDAÇÃO DO OVÓCITO**

Se o ovócito de segunda ordem, liberado para o pavilhão de uma das trompas, não for fecundado, ele degenerará, juntamente com o primeiro polócito (Whittingham, 1979). Durante muito tempo acreditou-se que o ovócito permanecia fecundável por um período de apenas 10 a 12 horas, após as quais perdia essa capacidade. Entretanto, as técnicas de fertilização *in vitro* permitiram constatar que os ovócitos podem ser mantidos por até 36 horas sem perder a capacidade de serem fecundados (Dandekar *et al.*, 1991).

No caso de ocorrer a fecundação, a penetração do espermatozóide no ovócito se dará enquanto ele está na trompa. Em todos os mamíferos estudados são bem poucos os espermatozóides que, em condições naturais, estão próximos ao ovócito no momento da fertilização *in vivo* (Yanagimachi, 1994). Por isso, não é mais aceita a explicação de que, para os espermatozóides atravessarem a *corona radiata*, seria necessário um número elevado deles, a fim haver grande liberação de enzimas proteolíticas, que propiciariam o afastamento das células que rodeiam o ovócito. O que se sabe, ao certo, é que os espermatozóides devem estar íntegros e *capacitados* para atravessar os espaços intercelulares da *corona radiata*, a fim de que um deles consiga penetrar no ovócito de segunda ordem.

Até o presente não se conhecem as bases moleculares da capacitação dos espermatozóides, isto é, das alterações funcionais que os tornam candidatos a fecundar um ovócito. Sabe-se, entretanto, que ela resulta da remoção ou da alteração de proteínas que revestem os espermatozóides, e que são oriundas do epidídimo e do fluido seminal. A capacitação dos espermatozóides, que tem como principal consequência o aumento da sua motilidade, ocorre naturalmente no interior dos dutos femininos, por influência do muco



cervical, mas ela pode ser feita *in vitro* de modo muito fácil (Yanagimachi, 1994).

A capacitação do espermatozóide, entretanto, não é suficiente para que ele penetre no ovócito. Para isso ainda é necessário que o acrossomo, localizado distalmente na cabeça do espermatozóide e envolvendo parcialmente o núcleo (Fig.2.1), entre em atividade, havendo ruptura das membranas plasmática e acrossômica, com a liberação de enzimas proteolíticas de natureza lissômica (*reação acrossômica*). A reação acrossômica parece ser induzida pela zona pelúcida do ovócito e pelas células do *cumulus* (Hoshi *et al.*, 1993).

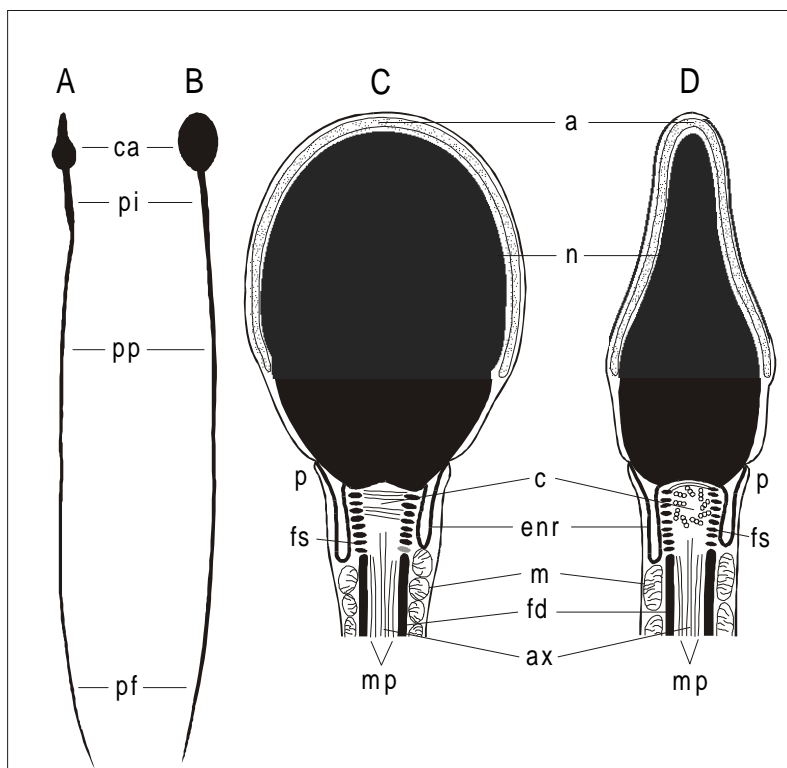


Fig. 2.1 Esquema do espermatozóide humano observado ao microscópio comum (A, B) e ao microscópio eletrônico (C, D). Em A e D o espermatozóide é observado em secção de perfil, e em B e C ele é observado de frente.

*a*-acrossomo; *ax*-axonema; *c*-centríolo; *ca*-cabeça; *enr*-envoltório nuclear redundante; *fd*-fibras densas; *fs*-fibras segmentadas; *m*-mitocôndrios; *mp*-microtúbulos periféricos; *n*-núcleo; *p*- pescoço ou peça de conexão; *pi*-peça intermediária; *pf*-peça final; *pp*-peça principal.

Depois que um espermatozóide perfura a zona pelúcida e atravessa a membrana do ovócito de segunda ordem, a zona pelúcida torna-se impermeável à custa de um material produzido na superfície ovular. Essa impermeabilização da zona pelúcida evita, pois, a entrada de outros espermatozóides, o que provocaria poliploidia (Dandekar e Talbot, 1992). A cauda do espermatozóide somente se desprende quando ele está dentro do citoplasma do

ovócito. O núcleo do espermatozóide aumenta de volume, passando a ser denominado *pronúcleo masculino* e seus cromossomos se duplicam, cada qual formando duas cromátides. O núcleo do ovócito, por sua vez, que está deslocado para a periferia, completa a meiose II. Essa localização assimétrica faz com que da meiose II resulte um *óvulo* e uma célula com pouco citoplasma, que fica entre a zona pelúcida e o óvulo, a qual é denominada *segundo polócito* ou *segundo corpúsculo polar*, porque o primeiro polócito é resultado da meiose I. (Fig.3.1). O núcleo do óvulo passa, então, a ser denominado pronúcleo feminino.

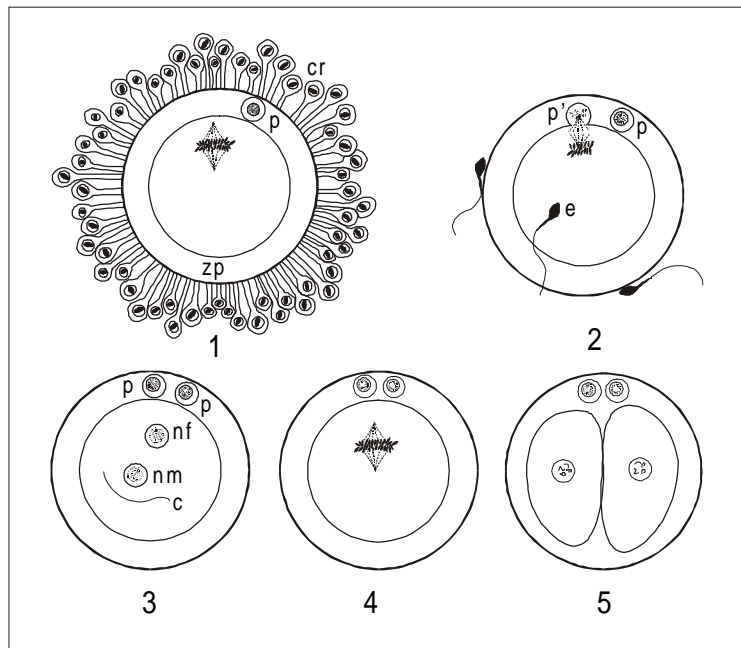


Fig.3.1 A fecundação do ovócito na espécie humana.

1. ovócito de segunda ordem em metáfase II, no momento em que é expelido do folículo, com primeiro polócito (*p*), zona pelúcida (*zp*) e rodeado de células foliculares da *corona radiata* (*cr*), que desaparecem uma dois dias depois da ovulação; 2. entrada de um espermatozóide (*e*) no ovócito de segunda ordem e formação do segundo polócito (*p'*); 3. óvulo com o pronúcleo feminino (*nf*), o pronúcleo masculino (*nm*) e a cauda do espermatozóide (*c*) em seu citoplasma; 4. zigoto em metáfase; 5. os dois primeiros blastômeros.

A *singamia*, isto é, a união do material dos pronúcleos masculinos se faz pela migração desses núcleos para o centro do óvulo e, no caso da espécie humana, pela dissolução das membranas nucleares, sem que elas formem lóbulos e os pronúcleos se interpenetrem, como em outras espécies de mamíferos. Na espécie humana as membranas simplesmente desagregam (Yanagisawa, 1994), os dois conjuntos haplóides (paterno e materno) de cromossomos duplicados e condensados se prendem ao fuso formado entre os

centríolos, sendo importante assinalar que as fibras do fuso começam a irradiar a partir do centríolo introduzido no ovócito pelo espermatozóide. Aqui parece interessante lembrar que, ao descrever, em 1876, a formação que irradiava da região do pronúcleo masculino no momento em que ele ia se unir com o pronúcleo feminino, Oscar Hertwig (1849-1922) mencionou que, naquela ocasião, “surgira, para completar o fenômeno, um sol dentro do ovo”, indicando, assim, de uma forma poética, o aparecimento de uma força natural maior que a simples soma de duas células (Weidling, 1991).

A prática de fertilização assistida, com injeção intracitoplasmática do espermatozóide, permitiu demonstrar que a capacidade fecundante do espermatozóide depende, também, da condensação do seu material nuclear, porque a integridade do DNA está associada à condensação. De fato, nos espermatozóides com material nuclear bem condensado, a proporção daqueles com DNA fragmentado é significativamente mais alta (25%) do que naqueles em que o DNA está descondensado (6%) (Lopes *et al.*, 1998), sendo interessante assinalar que a compactação do DNA dos espermatozóides difere da observada nas células somáticas. Assim, nos espermatozóides o DNA não se apresenta rodeando as histonas e formando solenóides, porque, durante a espermatogênese, as histonas são substituídas por protaminas, ricas em arginina, serina e cisteína, e, em vez de solenóides, o DNA dos espermatozóides se apresenta compactado como se fosse uma rosquinha. Essa compactação se dá à custa da oxidação dos grupos sulfidríla das protaminas (os grupos -SH passam a -S-S-) durante o período de maturação dos espermatozóides no epidídimo. Depois de fertilizar o ovócito, a descompactação do DNA se faz pelo efeito redutor do glutatião sobre os grupos sulfidríla oxidados (Ward, 1993).

## **A FORMAÇÃO DO EMBRIÃO**

Na espécie humana a singamia não produz um novo núcleo, pois o material cromossômico do zigoto entra diretamente na metáfase da divisão mitótica, da qual resultam duas células denominadas *blastômeros* (do grego, *blastós* = broto; *meros* = parte), que continuam a se dividir por mitoses sucessivas. Até o estágio de dezesseis células o processo de celularização ou clivagem do zigoto tem continuidade numa das trompas de Falópio e é considerado *holoblástico* (do grego, *hólos* = completo) porque, além de os

blastômeros se dividirem completamente, as células resultantes são, aproximadamente, do mesmo tamanho (Fig. 4.1 a-d). Tanto o estágio de oito quanto o de dezesseis blastômeros são denominados *mórula* (do latim, *morum* = amora; *ula* é um diminutivo) e é à custa dos movimentos peristálticos das trompas de Falópio e dos batimentos ciliares do epitélio que forra esses dutos que a mórula é levada em direção ao útero.

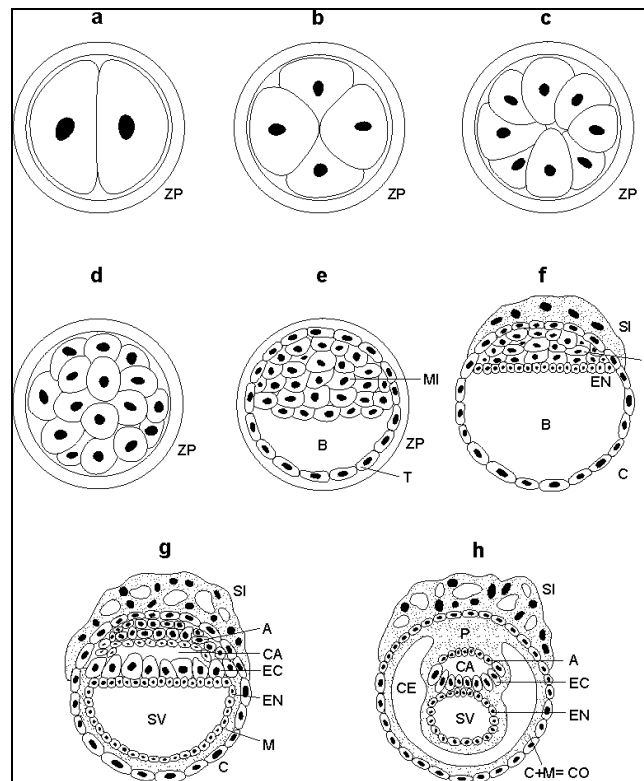


Fig. 4.1 Primeiros estágios da segmentação do zigoto e desenvolvimento do blastocisto. *a-d* – segmentação, durante os quatro primeiros dias, para a produção da mórula; *e* – blastocisto livre, no quinto dia; *f* – blastocisto no início de sua implantação, no oitavo dia; *g, h* - principais alterações ocorridas no blastocisto a partir da segunda semana. A-âmnio; B- blastocele; C- citotrofoblasto; CA- cavidade amniótica; CE- celoma extra-embriônico; CO- córion; EC- ectoderme primitiva ou epiblasto; EN- endoderme primitiva ou hipoblasto; M- mesoderme; MI- massa celular interna; N- nódulo embrionário; P- pedículo embrionário; SI- sincitiotrofoblasto; SV- saco vitelino; T- trofoblasto; ZP- zona pelúcida;

As observações feitas em mórulas de camundongos e de seres humanos revelam que, normalmente, o DNA dos mitocôndrios paternos podem ser detectados, no máximo, até a fase de oito células, sendo, pois, essa a razão pela qual os mamíferos herdam somente os mitocôndrios maternos. Na espécie humana, a persistência do DNA mitocondrial paterno está associada a alterações que provocam aborto espontâneo ou óbito precoce (Houshmand

*et al.*, 1997; Cummins *et al.*, 1998; St John *et al.*, 2000). É curioso que, em cruzamentos interespecíficos de camundongos (*Mus musculus* × *Mus spretus*) o DNA mitocondrial paterno não é destruído, sendo detectado em todos os recém-nascidos. Isso sugere que no citoplasma dos ovócitos existe um mecanismo espécie-específico que reconhece e elimina os mitocôndrios do espermatozóide (Kaneda *et al.*, 1995). É também durante a mórula de oito blastômeros que os produtos gênicos maternos desaparecem do citoplasma dessas células. Em outras palavras, desse momento em diante é o genoma do zigoto que é ativado e passa a controlar o desenvolvimento do futuro ser.

Quando a mórula está prestes a chegar ao útero, suas células começam a se diferenciar numa camada periférica, a *trophoderme* ou *trofoblasto* (do grego, *trofé* = nutrição), a qual rodeia o conjunto de blastômeros do interior, a *massa celular interna*. Por volta do quinto ao sexto dia, desenvolve-se no interior da massa celular interna uma cavidade cheia de um líquido aquoso denominada *blastocèle* (do grego, *cóilos* = oco). Na espécie humana e em outros mamíferos esse estágio do desenvolvimento do zigoto recebe o nome de *blastocisto* (Fig. 4.1 e). Quando o blastocisto chega ao útero, o que acontece entre o quinto e o sétimo dia após a fertilização, ele se liberta da zona pelúcida, que desaparece, e começa a aumentar de volume. Até essa eclosão do blastocisto o zigoto celularizado só havia sofrido aumento de superfície, mas não de volume, em razão das clivagens sucessivas que determinam a produção de blastômeros.

Por volta do oitavo ou nono dia após a fertilização do ovócito tem início o fenômeno da *nidação* do blastocisto na mucosa uterina, a partir de sua aderência. à superfície do endométrio, rica em uma secreção viscosa produzida sob o estímulo da progesterona. Essa aderência é seguida da proliferação intensa da trofoderme em contato com a mucosa uterina. Produz-se, assim, um sincício, denominado *sinciotrofoblasto*, com grande atividade citolítica sobre as células do endométrio, resultando dessa atividade o afundamento do blastocisto na mucosa uterina. Ao redor do blastocisto forma-se um meio que lhe serve de nutrição, o *embriótrofo*, o qual é rico em detritos celulares, restos de capilares e fibrina.

O processo de nidação termina quando o epitélio da mucosa uterina cicatriza sobre o blastocisto e, nessa ocasião, o sinciotrofoblasto já não é mais apenas uma formação localizada em um dos polos do blastocisto, mas um grande sincício lacunoso, que envolve

toda trofocotoderme celularizada que lhe deu origem, a qual passa a ser denominada *citotrofocotoderme* ou *citotrofoblasto* (Fig. 4.1 f-h). O sinciciotrofoblasto é o precursor da placenta, a qual fica bem delimitada somente a partir do terceiro mês de gestação. O esquema da circulação placentária é esboçado pelo sinciciotrofoblasto quando este, graças à sua atividade proteolítica destrói os capilares da mucosa uterina, que passam a se abrir em suas lacunas (Fig. 5.1-1,2). Na Fig. 5.1 também fica claro que, na placenta, as correntes sangüíneas materna e fetal são distintas e feitas em vias circulatórias diferentes, de sorte que parece lógico falar em circulação placentária materna e circulação placentária fetal. Ao invadir a mucosa uterina, o sinciciotrofoblasto estabelece, pois, entre o ser em gestação e sua mãe uma conexão de algum modo semelhante à de um enxerto heterólogo em um receptor, com a diferença que, durante a gestação, existe uma separação entre a circulação fetal e materna.

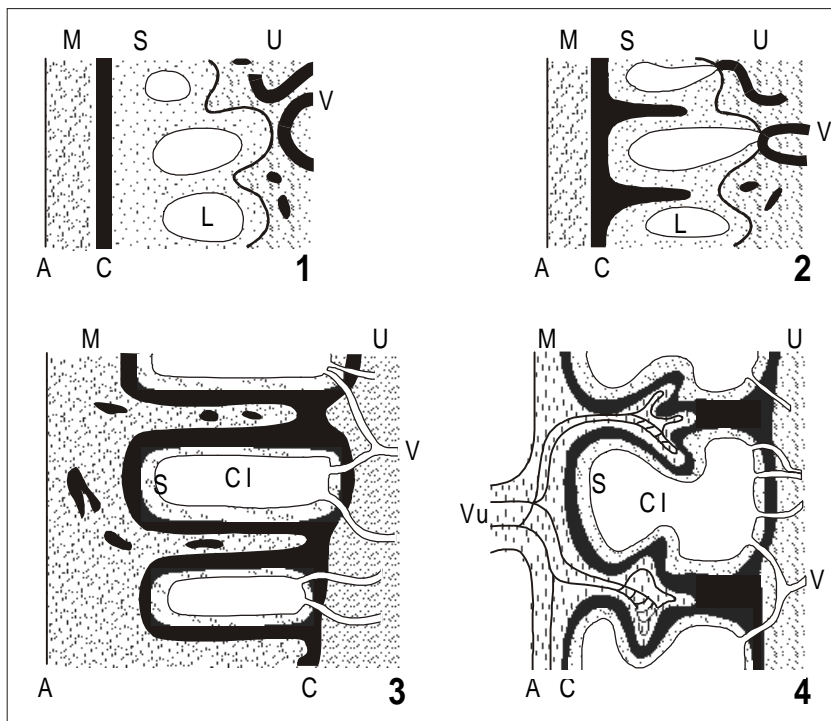


Fig.5.1 Diversos estágios evolutivos das vilosidades placentárias.

A-âmnio; C-citotrofoblasto; CI-câmara intervilosa; L-lacuna; M-mesênquima; S-sinciotrofoblasto; U-mucosa uterina; V-capilares da mucosa uterina; VU- capilares umbílico-alantoideanos.

A nidação do blastocisto é feita, normalmente, na área mediana ou superior do útero, mas existem situações de exceção, as quais, dependendo das complicações que, eventualmente, causam, podem requerer a interrupção da gravidez, pois podem provocar

óbito materno (Maruri e Azziz, 1993). Quando a nidação do blastocisto se dá fora da cavidade uterina, ela é denominada *gravidez ectópica* e, dependendo do local de implantação do blastocisto, ela será dita *tubária*, na maioria dos casos (98%) ou *abdominal*, *uterina inferior*, *pélvica* ou *ovariana*, nos casos restantes (Fig. 6.1). A frequência de implantações por gravidez ectópica é da ordem de 1% nos Estados Unidos e da ordem de 2% em São Paulo, mas ela tende a diminuir em consequência da vulgarização do uso de aparelhos de ultra-sonografia de boa resolução, que permitem o diagnóstico precoce dessa alteração (Franchi-Pinto, 1996).

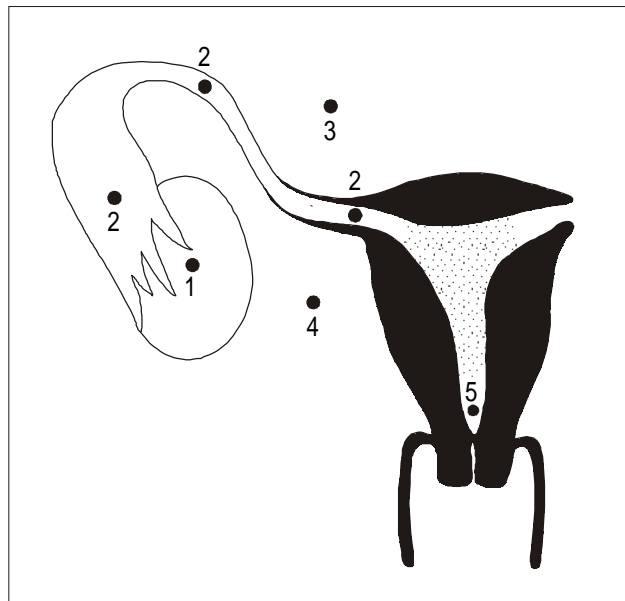


Fig.6.1 Áreas de nidação do blastocisto. Em pontilhado assinalou-se a área normal. As áreas de nidação anômala foram numeradas de 1 a 5. 1-ovárica; 2-tubária; 3-abdominal; 4-pélvica; 5-uterina inferior, que pode produzir placenta prévia.

No oitavo ou nono dia após a fertilização, o blastocisto apresenta a massa celular interna concentrada em um de seus polos, sendo ela, por isso, também denominada *nódulo embrionário* (do grego, *embriéin* = inchar dentro). Nessa ocasião, as células da massa celular interna que limitam a blastocele se diferenciam, sendo essa camada denominada *hipoblasto* ou *endoderme primitiva* (Fig. 4.1 f). Enquanto a nidação prossegue, a massa celular interna sofre maiores alterações ao aparecer em seu interior uma cavidade, a *cavidade amniótica*, cujo assoalho é constituído por células altas que formam a camada denominada *epiblasto* ou *ectoderme primitiva*. A abóbada dessa cavidade tem nome especial (*âmnio*), mas também é de origem ectodérmica. O hipoblasto e o epiblasto formam

uma placa circular achatada, que é chamada, por isso, de *disco embrionário*(Fig. 4.1 g).

O hipoblasto, por sua vez, prolifera formando uma camada que forra a blastocele, a qual passa a se denominar *saco vitelino primitivo* que, ao contrário do que ocorre nos vertebrados inferiores, não contém vitelo. Além disso, essa endoderme primitiva produz uma camada de tecido conjuntivo frouxo, um mesênquima, denominado *mesoderme ou mesoblasto extra-embrionário*, que acaba por envolver o saco vitelino e o âmnio. As lacunas formadas nesse mesênquima, depois de unidas constituem o *celoma extra-embrionário*, cuja continuidade é interrompida pelo *pedículo embrionário*, que é o local onde a mesoderme extra-embrionária não sofre separação em duas camadas (Fig. 4.1 h). A parte do mesênquima que fica aderida ao citotrofoblasto constitui, junto com ele, o *córion*.

No início da terceira semana de gestação o epiblasto se diferencia, então, em três *folhetos embrionários*, denominadas *ectoderme*, *mesoderme* e *endoderme*. É nessa ocasião que o disco embrionário passa a constituir o embrião propriamente dito, a partir do qual se desenvolverá o futuro ser humano, e a tendência atual é denominar de *gástrula* a esse estágio de desenvolvimento.

## **A FORMAÇÃO DE GÊMEOS**

Se no momento da ovulação forem expelidos dois ovócitos, ao invés de um, e se ambos forem fecundados, os zigotos resultantes darão origem a gêmeos dizigóticos (DZ). Esses gêmeos, em média, não apresentam maior similaridade genética entre si do que pares de irmãos gerados sucessivamente porque, tanto os pares DZ quanto os pares de irmãos sucessivos são oriundos de pares de zigotos distintos. Os pares DZ são, por isso, considerados como irmãos da mesma idade e, em consequência, também denominados gêmeos fraternos (do latim, *frater* = irmão).

Por terem origem biovular, os pares DZ podem ter o mesmo sexo, isto é, serem ambos do sexo masculino (MM) ou ambos do sexo feminino (FF) ou, ainda, discordantes quanto ao sexo (MF). Nem sempre, porém, os pares DZ apresentam duas placentas distintas, pois, em decorrência de uma eventual proximidade excessiva dos locais de implantação dos blastocistos que dão origem aos gêmeos DZ, as placentas podem, aparentemente, fundir-se em uma única. Quando isso acontece, somente o exame microscópico na região de união das placentas mostrará a presença da chamada *zona T*, composta de quatro lâminas (um âmnio de cada lado e dois córions no meio). Entre os dois



córios será possível observar a presença do trofoblasto e vilosidades coriônicas atrofiadas (Benirschke, 1994).

Um outro tipo de gêmeos, os pares monozigóticos (MZ), é formado no período entre um e 14 dias depois da fertilização, quando um único zigoto sofre desenvolvimento irregular, dando origem a dois indivíduos que são considerados idênticos do ponto de vista genético, pois possuem o mesmo patrimônio genético, visto que são oriundos de uma única célula-ovo ou zigoto. Os gêmeos MZ são do mesmo sexo, isto é  $MZ_{MM}$  ou  $MZ_{FF}$ , e, freqüentemente são denominados *gêmeos idênticos*, apesar de essa denominação não ser muito apropriada, visto que a identidade, aqui, se refere ao genótipo e não ao fenótipo, havendo casos em que os pares MZ apresentam grandes diferenças fenotípicas.

Segundo Benirschke (1994), cerca de 30% dos pares MZ se originam da separação dos blastômeros num período muito precoce, isto é, até o terceiro dia após a fecundação, quando o zigoto segmentado ainda está no estado de mórula. Em consequência disso, formam-se dois blastocistos e os gêmeos resultantes mostrarão, ao nascer, dois córios, dois âmnios (diamnióticos dicoriônicos) e, dependendo da proximidade dos locais em que estavam implantados no útero, duas placentas bem separadas ou unidas (Fig. 7.1- 1).

Os outros 70% de pares MZ são o resultado de alterações que ocorrem entre o quarto até o 14<sup>o</sup> dia após a fecundação do ovócito. Essas alterações podem provocar a divisão da massa celular interna (Fig. 7.1-2), o que propicia o nascimento de gêmeos com dois âmnios e um córion (diamnióticos monocoriônicos) e uma placenta. No caso de essas alterações serem mais tardias, elas provocam a divisão do disco embrionário (Fig. 7.1-3), disso resultando o nascimento de gêmeos com um único âmnio e um único córion (monoamnióticos monocoriônicos) e placenta única. Essas alterações tardias também podem provocar uma repartição desigual do material embrionário e, por conseguinte, a produção de maiores diferenças entre os pares MZ.

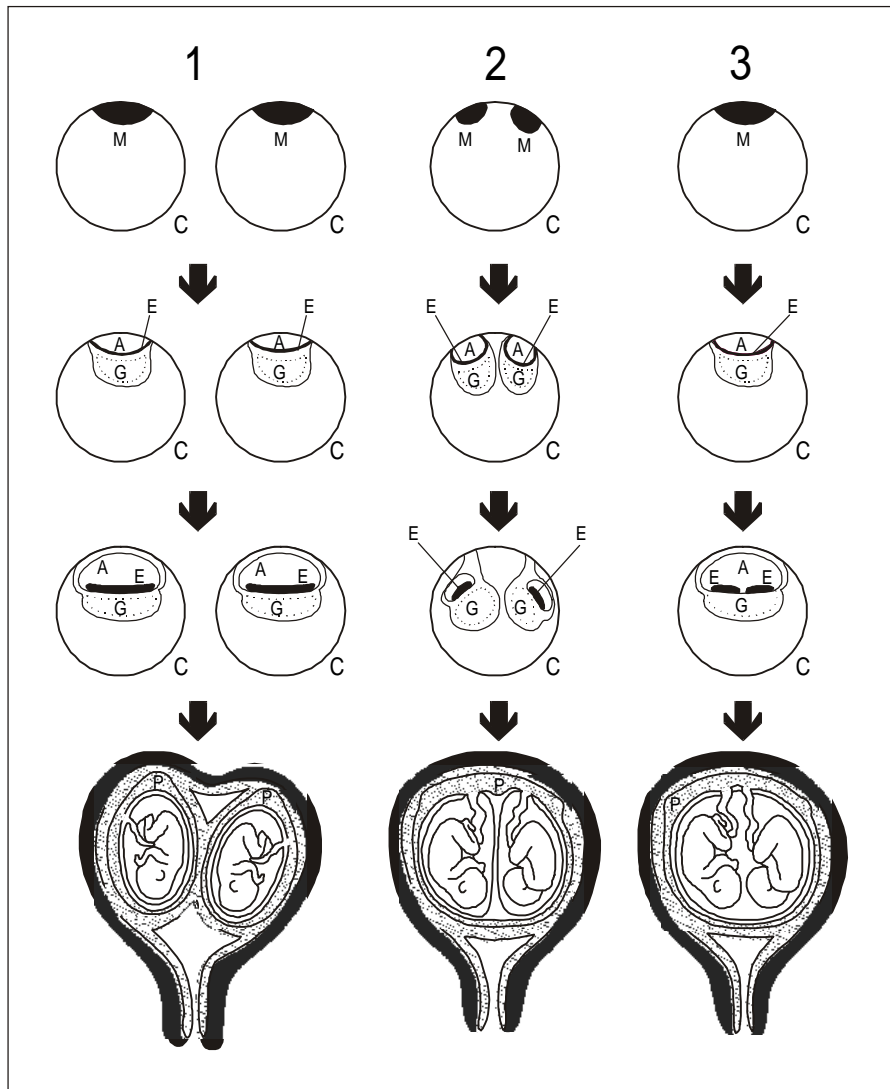


Fig.7.1 Formação de gêmeos monozigóticos: 1. por produção de dois blastocistos, em consequência da separação precoce dos blastômeros; 2. por divisão da massa celular interna; 3. por divisão do disco embrionário.  
A-cavidade amniótica; C-córon; E-disco embrionário; G-saco vitelino; M-massa celular interna; P-placenta.

As maiores diferenças entre os elementos de um par MZ, ocorrem naqueles que são monocoriônicos, porque neles é mais provável a manifestação da *síndrome da transfusão entre gêmeos idênticos*, em consequência de anastomoses placentárias artério-venosas, que podem permitir o estabelecimento de um fluxo sanguíneo preferencial de um gêmeo para outro. O feto receptor passa a ser hipervolêmico e a produzir um excesso de fluido amniótico, enquanto o doador, ao contrário, se torna hipovolêmico e com pouca quantidade de fluido amniótico. Se a síndrome da transfusão entre os gêmeos MZ se iniciar antes de 26

semanas de gestação haverá alto risco de mortalidade fetal. Atualmente o melhor recurso para enfrentar essa situação é a interrupção da comunicação circulatória placentária pela utilização de laser durante fetoscopia (Ville *et al.*, 1992).

Estima-se que cerca de 22% dos pares MZ mostram uma diferença de 35% ou mais de hemoglobina. Se o gêmeo que recebe menos hemoglobina nascer com uma diferença de peso igual ou superior a 300 g em relação ao gêmeo mais pesado, ele, freqüentemente, terá quociente de inteligência (QI) inferior ao que nasceu com mais peso (Munsinger, 1977). A hipótese de que a síndrome da transfusão entre gêmeos idênticos é a responsável pela diferença de QI entre os pares MZ encontra apoio no fato de tal diferença não ocorrer entre os gêmeos DZ, mesmo quando o peso ao nascer desses gêmeos diferiu em 300 g ou mais, porque nesses gêmeos as circulações fetais quase nunca estão conectadas.

Dos comentários feitos a respeito da placenta pode-se concluir que ela tem pouco valor para o diagnóstico da zigosidade ao nascimento, pois as placentas dos gêmeos DZ podem se apresentar aparentemente unidas, além do que, os pares MZ diamnióticos dicoriônicos (cerca de 30%) apresentam duas placentas. Já a presença de um único âmnio ou de um único córion serve para rejeitar a hipótese de dizigosidade, apesar de a presença de dois córions ou de dois âmnios não servirem para excluir a hipótese de monozigosidade.

Dentre os partos múltiplos, os de trigêmeos são menos freqüentes que os de gêmeos, sendo mais raros, ainda, os de quadrigêmeos e de quártuplos. Muito esporadicamente assinala-se o nascimento de um número de gêmeos superior a cinco, mas não há registro confiável de que tenham sobrevivido. A exemplo do que ocorre com os pares de gêmeos, tem-se que a origem dos trigêmeos, tetragêmeos e quártuplos pode ser monozigótica ou resultar de mais de uma célula-ovo. Assim, por exemplo, no caso de trigêmeos, eles podem ser trizigóticos, dizigóticos ou monozigóticos se oriundos, respectivamente, de três zigotos, dois zigotos ou de um único zigoto. A Fig. 8.1 mostra, esquematicamente, os vários tipos de trigêmeos e tetragêmeos quanto à sua zigosidade.

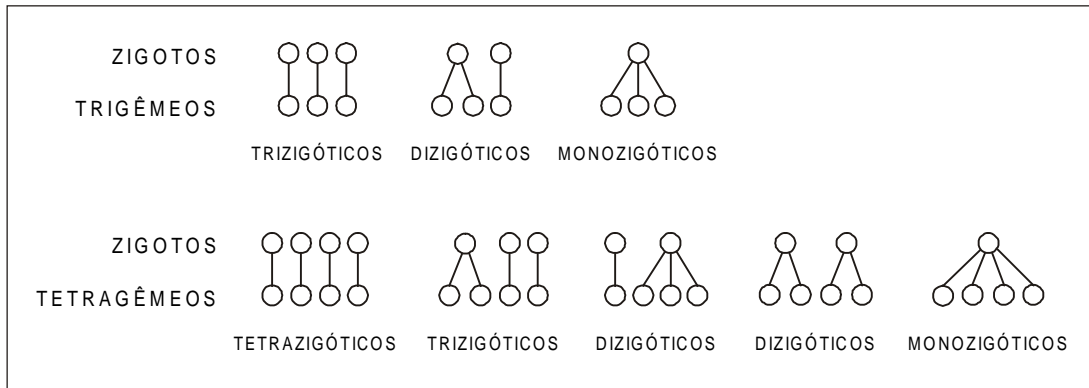


Fig.8.1 Representação esquemática dos vários tipos possíveis de trigêmeos e tetragêmeos quanto à sua zigosidade.

### A FORMAÇÃO DE TERATÓPAGOS

Se a separação do material embrionário for incompleta durante a formação de um par MZ, os gêmeos resultantes poderão apresentar-se ligados por intermédio de uma estrutura comum, que permitirá a comunicação de seus sistemas circulatórios. Tais tipos de gêmeos são denominados *teratópagos*, o que não é um termo muito apropriado pois, em grego, *téras* = monstro; *pagos* = unido, mas é a designação mais freqüentemente utilizada para indicar a união física de gêmeos, que já foi notada inclusive em trigêmeos e em quadrigêmeos (Schinzel *et al.*, 1979).

Dentre os fatores associados à formação de teratópagos, destaca-se a história de tireoideopatia e de tratamento para infertilidade das gestantes. Na Hungria notou-se também uma associação entre o nascimento de teratópagos e o uso freqüente de esteróides sexuais no início da gestação (International Clearinghouse for Birth Defects Monitoring Systems, 1991).

Na imprensa leiga os teratópagos são, geralmente, chamados de *irmãos siameses*, em alusão a um caso que ganhou repercussão mundial no século dezenove, e que dizia respeito a um par de gêmeos ligados entre si por uma ponte que ia da cartilagem ensiforme até o umbigo comum a ambos. Esses gêmeos nasceram no Sião (atual Tailândia), em 1811, e faleceram nos Estados Unidos da América do Norte, em 1874, onde residiram a partir de 1829. O óbito de um desses gêmeos (Chang) foi consequência de pneumonia. O outro (Eng), de acordo com o relato de parentes, faleceu vítima de violento terror, algumas horas depois da morte do irmão, enquanto aguardava a vinda do médico que deveria proceder a separação cirúrgica dos corpos. A autópsia desses irmãos revelou que a ligação entre eles

continha tecido hepático, que unia o fígado de Chang ao de Eng.

Na literatura sobre gêmeos que nascem unidos existem abundantes exemplos de pares ligados por outras partes do corpo, com duplicação total ou parcial dos órgãos. Tais gêmeos são classificados em três grandes grupos, conforme a ligação entre eles seja feita pela parte inferior do corpo (*teratópagos catadídimos*, do grego, *cata* = para baixo), por uma parte superior (*teratópagos anadídimos*, do grego, *ana* = para cima), ou apenas por uma região mediana do corpo (*teratópagos anacatadídimos*) (Fig. 9.1). Nem sempre, porém, os gêmeos teratópagos constituem um par com o mesmo desenvolvimento, pois um dos gêmeos pode apresentar desenvolvimento rudimentar. Nesse caso, o menos desenvolvido recebe a denominação de *parasitário*.

Cada um desses grupos admite subclassificações, de acordo com o tipo de união dos gêmeos. Assim, dentre os teratópagos catadídimos, aqueles que apresentam duas faces em uma cabeça ligada a um único corpo são denominados *diprósopos* (do grego, *prósopon* = rosto) ou com *cabeça de Janus*, em alusão à divindade romana simbolizada em portões e arcos por uma cabeça com duas faces, uma das quais, geralmente, barbada e a outra glabra.

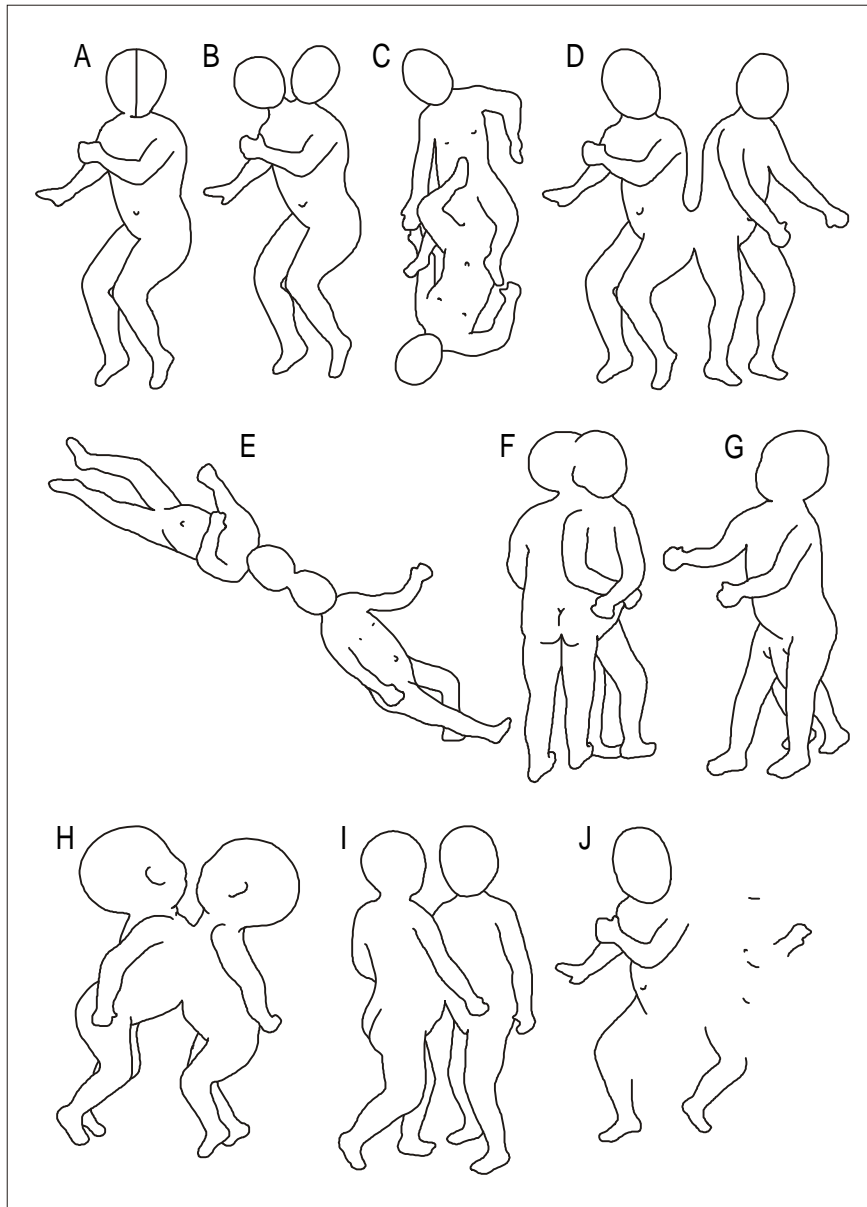


Fig. 9.1 Teratópagos catadídimos (A-D), anadídimos (E-G) e anacatadídimos (H-J).  
 A-diprósopos; B-dicéfalos; C-isquiópagos; D-pigópagos; E-craniópagos; F-sincéfalos;  
 G-dípigos; H-teratópagos; I-onfalópagos; J-raquípagos.

Os que apresentam duas cabeças ligadas a um único corpo são denominados *dicéfalos* (do grego, *kefalé* = cabeça). Atualmente, porém existe a tendência de não considerar os dicéfalos como resultantes de separação incompleta de gêmeos MZ, mas de uma divisão da região que forma a cabeça do embrião, o que daria origem a dois pólos cefálicos em um único corpo (International Clearinghouse for Birth Defects Monitoring Systems, 1991). Os *isquiópagos* (do grego, *ísquion* = quadril), por sua vez, são os gêmeos ligados pelas margens inferiores da região sacrococcigeana, mantendo as colunas vertebrais em sentidos

opostos, segundo um mesmo eixo. Quando os gêmeos estão ligados pela superfície pósterolateral da região sacro-coccigeana, eles são denominados *pigópagos* (do grego, *pigé* = nádega).(Fig. 9.1 A-D).

Os teratópagos anadídimos congregam os *craniópagos*, que são ligados por uma região da abóbada craniana, os *sincéfalos*, ligados pela face, e os *dípigos*, que apresentam duas cinturas pélvicas e quatro membros inferiores ligados a um tronco e cabeça únicos (Fig. 9.1 E-G).

Finalmente, os teratópagos anacatadídimos incluem os gêmeos *toracópagos*, que apresentam parte da região torácica em comum, os *onfalópagos* (do grego, *onfalós* = umbigo) que, como os irmãos siameses Cheng e Eng, mencionados acima, são unidos por uma ponte de tecido que vai desde o umbigo até a cartilagem xifóide, e os *raquípagos*, que são unidos pela coluna vertebral em qualquer área acima da região sacro-coccigena. (Fig. 9.1 H-J). Os toracópagos e os onfalópagos são, também, freqüentemente denominados de *irmãos xifópagos* em alusão ao esterno e apêndice xifóide (do grego, *xífos* = espada).

As estatísticas internacionais a respeito dos teratópagos mostram que 51% desses gêmeos são do tipo anacatadídimo, a maioria (72%) toracópagos. Os teratópagos catadídimos correspondem a 32% e mostram maioria de dicéfalos (61%), enquanto os anadídimos constuem 12% dos casos, sendo os 5% restantes parasitários (International Clearinghouse for Birth Defects Monitoring Systems, 1991). Esses levantamentos mostram, ainda, que a natimortalidade é bastante alta entre os teratópagos (47%), mas é importante assinalar, aqui, que a definição de natimorto é, infelizmente, muito variável, pois nem todos os países consideram como natimortos os óbitos de recém-nascidos com mais de 500g, o que corresponde a uma idade gestacional entre 20 e 22 semanas. Assim, por exemplo, na Noruega já são considerados como natimortos os conceptos cujo óbito ocorreu após a 16<sup>a</sup> semana. Muitos desses óbitos, portanto, seriam classificados como abortos no Brasil.

Na América Latina, a incidência de teratópagos foram obtidas por Castilla e colaboradores (1988), com base em observações feitas a respeito de 1.714.952 recém-nascidos no período entre 1967 a 1986 em 95 maternidades de 11 países (Argentina, Bolívia, Brasil, Chile, Colômbia, Costa Rica, Equador, Paraguai, Peru, Uruguai e Venezuela). De acordo com esses autores, a incidência de teratópagos nas populações latinomaericanas pode ser estimada em 1:75.000, já que, entre os recém-nascidos

estudados, eles detectaram 23 desses gêmeos (1 diprósopo, 3 dicéfalos, 1 isquiópago, 5 pigópagos, 3 sincéfalos, 9 toracópagos e 1 onfalópago).

A separação cirúrgica dos toracópagos, que são os teratópagos mais freqüentes e melhor estudados do ponto de vista clínico-cirúrgico e radiológico, tem suscitado grandes debates entre médicos e teólogos de diversas religiões, tendo em vista os problemas éticos implicados em grande número de casos. De fato, uma alta proporção desses gêmeos apresenta um coração muito complexo (62%) ou apenas duplicação dos ventrículos (13%). Em conseqüência disso, somente nos casos em que há dois corações independentes (25%), uma intervenção cirúrgica para separar os toracópagos pode dar esperança de sobrevivência aos dois elementos do par. Nos casos restantes, tal intervenção significa, obrigatoriamente, a morte de um desses gêmeos para que o outro, eventualmente, se salve.

### **GÊMEOS MONOZIGÓTICOS DISCORDANTES QUANTO AO SEXO**

Os gêmeos MZ são sempre do mesmo sexo, mas existem casos muito excepcionais que, por isso, mereceram registro na literatura pertinente. Assim, Turpin *et al.* (1961) e Dallapiccola *et al.* (1985) descreveram gêmeos MZ *heterocarióticos*, isto é, gêmeos MZ com cariótipos diferentes, que eram discordantes quanto ao sexo, porque compostos por um indivíduo do sexo masculino com cariótipo normal (46,XY) e por outro, do sexo feminino, com síndrome de Turner (45,X), em conseqüência de perda de um cromossomo Y no início do desenvolvimento embrionário. Também já foram descritos pares MZ heterocarióticos discordantes quanto ao sexo, em que o gêmeo do sexo masculino tinha cariótipo normal 46,XY, ao passo que o do sexo feminino era um mosaico 45,X/46,XY (Schmidt *et al.*, 1976; Arizawa *et al.*, 1988). O caso mais curioso foi relatado por Edwards *et al.* (1966) a respeito de um par MZ heterocariótico em que o gêmeo do sexo feminino era um mosaico 45,X/46,XY e o masculino tinha cariótipo 45,X. Sabendo-se, entretanto, que, para o desenvolvimento de testículos, é essencial a presença de um cromossomo Y no carótipo, pode-se supor que, na realidade, pelo menos no início de seu desenvolvimento, o gêmeo do sexo masculino teria sido, igualmente, mosaico 45,X/46,XY.

Casos mais raros, de gêmeos MZ que, apesar de apresentarem cariótipo idêntico, isto é de serem *isocarióticos*, eram discordantes quanto ao sexo, foram descritos por alguns autores. Assim, Karp *et al.* (1975) e Reindollar *et al.* (1987) descreveram discordância em



relação ao sexo em pares MZ com mosaicismo 45,X/46,XY. Fujimoto *et al.* (1991), por sua vez, assinalaram um caso de gêmeos MZ discordantes quanto ao sexo que eram mosaicos 45,X/46,X,*idic*(Y), ao passo que Kurosawa *et al.* (1992) descreveram essa discordância em um par MZ com mosaicismo 45,X/47,XY. Nesses casos, a explicação mais plausível para a discordância quanto ao sexo é a de distribuição desigual na linhagem germinativa de células com cariótipo 45,X e daquelas exibindo pelo menos um cromossomo Y, indutor do desenvolvimento de testículos.

### **SUPERFECUNDAÇÃO HETEROPATERNA**

Um parto múltiplo pode ser o resultado da fertilização de dois ou mais ovócitos expelidos simultaneamente, mas pode resultar, também, de *superfecundação*, isto é, da fecundação de ovócitos emitidos em ovulações sucessivas durante um único ciclo menstrual. No caso de mulheres monogâmicas é impossível saber se um parto múltiplo resultou de poliovulação ou de superfecundação. Sabe-se, porém, que a superfecundação existe, em decorrência de observações sobre *superfecundação heteropaterna*, isto é, casos de mulheres com mais de um parceiro sexual, as quais geraram gêmeos com pais diferentes, isto é, gêmeos dizigóticos que eram, de fato, meio-irmãos. Apesar de esses casos serem pouco mencionados na literatura pertinente (Sorgo, 1973; Terasaki *et al.*, 1978; Spielmann & Kühnl, 1980; Phelan *et al.*, 1982; Wenk *et al.*, 1986, 1992), é possível que sua frequência esteja em ascensão nas sociedades modernas, que propiciam aumento da frequência de parceria sexual múltipla e concomitante, com conseqüente aumento da frequência de coitos, que parecem induzir ovulação secundária (James, 1984; Forrest e Singh, 1990).

### **A RAZÃO DE SEXO DOS GÊMEOS**

As observações de alguns autores favoreceram a conclusão de que a razão de sexo dos gêmeos é menor do que a dos recém-nascidos de parto único, isto é, nasceriam menos gêmeos do sexo masculino (Stocks, 1952; Barr e Stevenson, 1961; Susanne e Corbisier, 1969; Czeizel, 1974; Araujo e Salzano, 1975; James, 1975; Bertranpetit e Marin, 1988; Beiguelman e Villarroel-Herrera, 1992). Essa conclusão não é, entretanto, apoiada por dados de outros autores (Pedreira *et al.*, 1959; Rola-Janicki, 1974).

Um amplo estudo a respeito da razão de sexo em gêmeos, realizado por Beiguelman, Franchi-Pinto, Dal Colletto e Krieger (1995), levando em conta 1385 pares nascidos durante o período entre 1984 a 1993, além de mostrar que a diferença entre a razão de sexo dos gêmeos (101,7 meninos: 100 meninas) e a observada nos recém-nascidos de parto único (104,5 meninos: 100 meninas) foi pequena, serviu para realçar um aspecto bastante curioso a respeito da variação anual da razão de sexo.

De fato, esse estudo conseguiu demonstrar que, ao contrário da pequena variação anual da razão de sexo dos recém-nascidos de parto único, a variação observada nos gêmeos foi muito grande, talvez por causa da proporção variável de pares MZ. Por causa de sua identidade genética, que lhes confere o mesmo sexo, os pares MZ poderiam distorcer os resultados em pequenas amostras de gêmeos, já que uma variação aleatória poderia provocar um excesso de meninos ou, ao contrário, de meninas. Esses resultados sugerem, pois, que os estudos sobre a razão de sexo de gêmeos, mormente os que se referem a amostras pequenas, levem sempre em conta a possibilidade de os dados estarem distorcidos por causa dos gêmeos MZ.

## **FATORES QUE INFLUENCIAM O NASCIMENTO DE GÊMEOS**

O nascimento de gêmeos DZ depende, evidentemente, da ocorrência de poliovulação, a qual, por sua vez, depende do nível de hormônio folículo-estimulante (FSH). O nível de FSH, por sua vez, depende de causas genéticas, sendo mais alto em mulheres negróides do que em caucasóides, além do que as mães de gêmeos possuem, em média, nível mais elevado de FSH do que as de parto único (Nylander, 1981). A produção de FSH está, ainda, correlacionada ao tamanho da hipófise, cujo peso máximo é atingido aos 40 anos de idade (Milham, 1964).

Essas informações explicam, pois, o fato de o nascimento de gêmeos DZ ser influenciado pela raça, sendo as mulheres negróides as mais predispostas ao nascimento de DZ, seguidas das caucasóides e das mongolóides, nessa ordem. Também deve ser, por isso, que o nascimento de gêmeos DZ depende da idade materna e, antes do advento de métodos anticoncepcionais eficientes, era mais comum em mulheres muito fecundas, ou seja, com maior paridade. Essas mulheres não davam à luz gêmeos DZ por uma questão probabilística, isto é, não era porque o maior número de filhos aumentava a probabilidade

de nascimento de gêmeos, e sim porque a poliovuulação está associada a maior fecundidade. Nessa época, as mães de gêmeos DZ mostravam vantagem reprodutiva em relação às outras mães por necessitarem menos tempo de acasalamento para a concepção do que as outras mulheres (Allen e Schachter, 1971). Antes do uso de anovulatórios orais, essas mulheres seriam responsáveis pelo aumento da incidência de gêmeos em períodos de aumento da frequência de coitos, como foram os períodos de pós-guerra (Jeanneret e MacMahon, 1962; Elwood, 1973; Brackenridge, 1977; Parisi e Caperna, 1982).

Por estar a idade materna correlacionada ao número de filhos, poder-se-ia supor que a correlação entre a incidência de gêmeos DZ e a paridade fosse, na realidade, consequência da correlação entre a incidência desses gêmeos e a idade materna. Entretanto, já se demonstrou que a incidência de gêmeos DZ está correlacionada positivamente com a paridade, *independentemente* da idade das mães (Bulmer, 1959; Nylander, 1981; Chen *et al.*, 1987; Picard *et al.*, 1989; Allen e Parisi, 1990).

Em um estudo feito por Franchi-Pinto (1996), que incluiu 763 mães de gêmeos nascidos no período entre 1984 e 1993, em Campinas, SP, foi possível constatar que a proporção de pares DZ gerados por aquelas que tinham paridade inferior a 4 (52,1%), isto é, mulheres que antes do parto tiveram 0, 1, 2 ou 3 filhos era significativamente menor do que a de pares DZ gerados por mães de gêmeos com paridade igual ou superior a 4 (68,4%). A Tabela 1.1, por sua vez, demonstra que a incidência de pares DZ aumenta com a idade materna e que nas mulheres negróides essa incidência é maior do que nas caucasóides, qualquer que seja o grupo etário tomado para comparação.

Tabela 1.1 Incidência do total de gêmeos e dos pares DZ por mil partos e segundo o grupo etário entre os filhos de 25.932 parturientes caucasóides e 4.962 negróides atendidas na Maternidade de Campinas (Campinas, SP).

Grupo etário	C a u c a s ó i d e s			N e g r ó i d e s		
	Partos	Gêmeos	DZ	Partos	Gêmeos	DZ
<20	2.689	5,9	0,7	838	10,8	4,8
20-25	8.360	8,6	4,3	1.634	13,4	11,0
25-30	7.526	11,5	8,2	1.304	17,6	10,7
≥30	7.357	18,1	13,3	1.186	23,6	18,5

É por isso que a diminuição da idade materna e da paridade, em consequência do amplo uso de métodos anticoncepcionais eficientes na limitação da prole, bem como a diminuição da proporção de mães negróides em certas populações, têm sido usadas para explicar a queda da incidência de gêmeos DZ (Moraes, Beiguelman e Krieger, 1989; Beiguelman e Villarroel-Herera, 1993; Beiguelman, Franchi-Pinto, Krieger e Magna, 1996). Em Campinas, SP, por exemplo, a idade média das mães, que era estimada em 26,4 anos no período de 1925 a 1949, baixou para 24,9 anos no período de 1984 a 1993. Nesses mesmos períodos o número médio de partos decresceu de 3,02 para 1,94. No concernente à composição étnica da população, constatou-se que, nessa cidade, a proporção de mães negróides diminuiu bastante no período entre 1925 e 1965, ao passar de 24% para 9,6%. Sabendo-se que, em Campinas, a incidência de pares DZ, era estimada em 15,2 por mil partos no período entre 1925 e 1929, sendo reduzida a um valor quase quatro vezes inferior (4,1 por mil partos) nos anos de 1990 a 1994, é, pois, bastante plausível atribuir essa redução à ação conjunta da diminuição da idade materna, da paridade e da proporção de mães negróides na população.

Parisi e Caperna (1982) sugeriram que, em decorrência do *stress* sofrido pelas pessoas que vivem em grandes aglomerados urbanos, seria possível ocorrer a diminuição da concentração e da qualidade espermática. Esse fenômeno, aliado aos distúrbios da ovulação sofrido pelas mulheres, também por causa desse *stress*, poderia ser, pois, incluído entre os fatores capazes de diminuir a incidência de gêmeos DZ.

As sugestões de que também existiriam fatores genéticos capazes de influenciar o nascimento de gêmeos DZ são antigas (Lewis *et al.*, 1996). Assim, já em 1909, Weinberg havia sugerido que a tendência hereditária à gestação de gêmeos DZ é transmitida por

intermédio das mães e que ela seria provavelmente recessiva. Um estudo genealógico feito em mórmons falou a favor da hipótese de transmissão recessiva (Wyshak e White, 1965), enquanto que, em oposição, o estudo de ocorrência espontânea de gêmeos DZ em genealogias feito por Meulemans *et al.* (1996) falou a favor de herança dominante monogênica.

O trabalho de Busjahn *et al.* (2000), entretanto, foi contrário à possibilidade de existência de efeito materno e, segundo esses autores, a dizigosidade dependeria de um gene do cromossomo 3 (PPARG), que codifica o receptor ativado do proliferador de peroxisoma (PPAR $\gamma$ ), o qual influencia efeitos relacionados à insulina, ao metabolismo de lipídios e à massa corporal, que são importantes para o processo de crescimento. De acordo com Busjan *et al.* (2000) esse gene contribuiria para a sobrevivência intrauterina dos gêmeos DZ, entre os quais a perda fetal é sabidamente alta. De fato, estima-se que cerca de 40% das gestações de gêmeos DZ resultam em parto único (Landy e Keith, 1998) e, em casos de fertilização assistida, cerca de 30% das implantações múltiplas de embriões resultam em parto único (Kelly *et al.*, 1991).

Outra demonstração da participação de fatores genéticos no nascimento de gêmeos DZ foi dada por Hasbargen *et al.* (2000), os quais demonstraram que as mulheres que possuem o alelo determinador da deficiência de redutase de metilenotetra-hidrofolato (MTHFR) têm menor probabilidade de gerar gêmeos DZ. Nas gestações gemelares a demanda de ácido fólico fica muito aumentada. Por ser a deficiência de MTHFR responsável pela pouca produção de 5-metiltetra-hidrofolato e elevação da concentração plasmática de homocisteína, o alelo que a causa essa deficiência diminui a probabilidade de gestação gemelar. De acordo com Hasbargen *et al.* (2000), a frequência desse alelo em parturientes de recém-nascidos únicos foi 30%, enquanto que em mães de gêmeos essa frequência foi, praticamente, a metade (16%).

O emprego de técnicas de fertilização assistida, para ajudar casais com problemas de esterilidade, tem aumentado a frequência de nascimento de gêmeos DZ porque, essas técnicas incluem tratamento que estimula a súper-ovulação. Considerando que, regra geral, no Brasil, somente as camadas economicamente mais favorecidas da população têm acesso à fertilização assistida, a qual ainda é muito cara, é evidente que a frequência de partos gemelares na população não sofre muita influência dessa prática. Entretanto, em

maternidades que atendem a mulheres daquelas camadas sociais mais favorecidas, a frequência de nascimento de pares DZ é altíssima, chegando nos últimos anos à notável incidência de 19,5 por mil partos, quando na maior parte da população ela não ultrapassa 5,5 por mil. Do mesmo modo, a incidência de trigêmeos nessas maternidades (2,13 por mil partos) é extraordinariamente alta, quando se sabe que, em geral, essa incidência não ultrapassa 0,2 por mil partos (Colleto, Segre e Beiguelman, 2001).

Bem mais difícil do que detectar os fatores que determinam a poliovulação, que é a condição *sine qua non* para o nascimento de gêmeos DZ, é o reconhecimento de fatores que influenciam a gestação de pares MZ. A hipótese mais plausível para explicar o nascimento de pares MZ é a diminuição da motilidade tubária e(ou) as alterações da mucosa do endométrio e(ou) do epitélio tubário, que são fatores capazes de retardar a implantação do embrião na mucosa uterina. De fato, o retardamento experimental da ovulação em coelhos, entre os quais não ocorre monozigosidade, foi capaz de induzi-la (Bomsel-Helmreich e Papiernik-Berkhauer, 1976). Além disso, as fêmeas dos tatus da família *Dasypodidae*, nas quais o retardamento da implantação do embrião é uma característica constitucional, sempre dão origem, em cada ninhada, de 4 a 6 pares de gêmeos do mesmo sexo, por serem todos MZ. A popularidade dessa observação foi, inclusive, registrada pelo grande zoólogo brasileiro Rodolfo von Ihering (1953), ao recolher a seguinte quadra originária do Rio Grande do Sul:

“O tatu mais a mulita  
É a lei da sua criação:  
Sendo macho não pode ter irmã,  
Quando fêmea não pode ter irmão.”

Essa hipótese para justificar o nascimento de gêmeos MZ também encontra apoio numa observação epidemiológica a respeito da incidência desses gêmeos, que era constante em todas populações, variando entre 3 e 4 por mil, e que passou a aumentar naquelas em que o uso de anovulatórios orais foi vulgarizado (Bressers *et al.*, 1987; Beiguelman, Franchi-Pinto, Krieger e Magna, 1996). As indicações que permitem supor serem os anovulatórios orais os responsáveis pelo aumento da incidência de pares MZ decorrem do conhecimento de que a depressão da motilidade tubária, bem como as alterações das mucosas do endométrio e tubária, estão incluídas entre os efeitos residuais do uso desses

anticoncepcionais (Bressers *et al.*, 1987). Por outro lado, também é freqüente o retardamento da ovulação no primeiro ciclo menstrual após a suspensão do uso de anovulatórios orais (Pinkerton, 1976). O uso desses anticoncepcionais poderia, pois, ser responsabilizado pelo aumento da incidência de pares MZ, pois eles contribuiriam para o retardamento da implantação do embrião, o que, como foi demonstrado experimentalmente, é um fator importante da monozigosidade. A predominância de pares MZ entre as mães muito jovens que dão à luz gêmeos (Tabelas 1.1 e 2.1) encontraria uma explicação na irregularidade do ciclo menstrual entre elas.

Tabela 2.1 Porcentagem de pares MZ em 1306 partos gemelares segundo o grupo etário das mães (Beiguelman, Franchi-Pinto, Dal Colletto & Krieger, 1995).

Idade	No. de gêmeos	MZ
< 20	77	66,2
20 – 25	289	55,7
25 – 30	444	43,7
30 – 35	339	39,2
35 – 40	123	38,2
≥40	34	41,1

No concernente a influências genéticas na indução de predisposição ao nascimento de gêmeos MZ, existem evidências de que mulheres gêmeas MZ têm maior probabilidade de gerar esse tipo gêmeos, mas a investigação de um efeito paterno semelhante em favor do nascimento desses gêmeos mostrou resultado negativo (Lichtenstein *et al.*, 1998). Em outras palavras, se existir um componente genético que favorece a divisão do embrião para a produção de gêmeos MZ, esse componente se expressa apenas nas mães e não nos zigotos.

A fertilização assistida também tem favorecido o aumento da incidência de gêmeos MZ por razões que ainda não são claras. Esse fenômeno foi atribuído principalmente à delgadeza e(ou) micromanipulação da zona pelúcida (Alikani *et al.*, 1994). Entretanto, Sills *et al.* (2000) não observaram diferença na proporção de gêmeos MZ nascidos de fertilização *in vitro* sem o emprego e com o emprego dessa manipulação. Além disso, deve-se lembrar que Derom *et al.* (1987) já haviam notado aumento da taxa de nascimento de gêmeos MZ por simples indução da ovulação.

## O QUIMERISMO NOS GÊMEOS DIZIGÓTICOS

Durante a vida intra-uterina dos pares DZ é possível a ocorrência de anastomoses placentárias devido à proximidade das placentas, e, assim, haver trocas de células circulatórias nucleadas entre os gêmeos. Por ser essa troca de células feita antes do desenvolvimento da imunocompetência, cria-se entre os gêmeos um estado de tolerância imunológica permanente, de modo que eles se desenvolvem como *quimeras*, isto é, como indivíduos nos quais coexistem populações celulares geneticamente diferentes, pois são originárias de zigotos distintos. Em consequência dessa tolerância imunológica, em tais tipos de gêmeos não ocorrerá rejeição de enxertos recíprocos eventualmente feitos neles. Em macacos bugios que, freqüentemente, dão origem a gêmeos DZ, demonstrou-se tolerância de enxertos recíprocos de pele por mais de um ano (Porter, 1968), em decorrência de seu quimerismo. Em gêmeos DZ bovinos a tolerância desses enxertos também é a regra (Rogers e Allen, 1955). Essas observações abalaram profundamente a idéia, divulgada por muito tempo, de que a aceitação de enxerto recíproco de pele em gêmeos humanos serviria para rejeitar a hipótese de que eles seriam DZ.

A existência de quimerismo em gêmeos DZ já vinha sendo demonstrada desde a década de 50, com a constatação, em alguns deles, de uma heterogeneidade na população de hemácias quanto aos grupos sanguíneos (Race e Sanger, 1975). Assim, verificou-se a existência de casos em que um dos indivíduos do par, ou ambos, apresentavam uma população de hemácias do grupo O e outra do grupo A ou B, ou ainda, populações diferentes de hemácias quanto aos grupos sanguíneos do sistema Rh. Entretanto, a demonstração citogenética da existência desse fenômeno foi feita, pela primeira vez, em 1963, por Chown e colaboradores, que constataram nas culturas de leucócitos de um par DZ em que os gêmeos eram discordantes quanto ao sexo, que 30% das células da menina apresentavam cariótipo masculino (46,XY), enquanto que 22% das células do menino mostravam cariótipo feminino (46,XX).

Até o presente não existe uma explicação para o fato de que, tanto nos humanos quanto nos macacos bugios, os gêmeos DZ discordantes quanto ao sexo e com placenta aparentemente única e, portanto, com possibilidade de trocas celulares durante a vida intra-uterina, não apresentam um fenômeno semelhante ao que se observa no gado bovino, em



carneiros, cabras e porcos, isto é, que as gêmeas de machos possam desenvolver-se como *fêmeas maninhas* (do latim ibérico, *manan* = estéril). Tais fêmeas que, em inglês, são denominadas *freemartins*, possuem genitais externos femininos, mas são estéreis por possuírem ovários atrofiados, sem córtex, além do que, o útero e as trompas são pouco desenvolvidos.

Durante muitos anos, a maninhez foi interpretada como sendo uma conseqüência de influências hormonais do feto masculino sobre o feminino. Entretanto, tal explicação foi derrubada pela demonstração de que a testosterona injetada nos fetos é incapaz de reduzir os derivados dos dutos de Müller, que dão origem às trompas, útero e parte superior da vagina, e não afeta o desenvolvimento dos ovários (Jost *et al.*, 1963). Passou-se, por isso, a pensar que a mistura de células masculinas e femininas pudesse condicionar o efeito que era atribuído, anteriormente, aos hormônios (Goodfellow *et al.*, 1965; Herschler e Fechheimer, 1967). Essa hipótese, contudo, também teve que ser rejeitada quando se verificou não ser possível demonstrar, de modo regular, o encontro de células com cromossomos sexuais XY nem nas gônadas, nem em outros tecidos sólidos de fêmeas maninhas. Além disso, essa hipótese não explica o fato de, nos seres humanos e nos bugios, as células com cromossomos XY não terem atuação nas gêmeas que apresentam quimerismo.

Outra hipótese que teve de ser afastada foi a de que, nos seres humanos e nos bugios, a fusão das vilosidades coriônicas nos gêmeos dizigóticos com placenta aparentemente única poderia ocorrer mais tardiamente do que no gado bovino, o que livraria os primeiros da atuação precoce de agentes exteriores sobre suas gônadas. Entretanto, de acordo com Benirschke (1972), a fusão das vilosidades nos bugios ocorre antes da angiogênese e, à época da diferenciação genital, as anastomoses interplacentárias já estão bem estabelecidas. O problema, portanto, continua sem solução.

## **DURAÇÃO DA GESTAÇÃO**

Os gêmeos nascem com menos semanas de gestação que os recém-nascidos de parto único. Num estudo feito em Campinas, SP, com 640 pares de gêmeos (504 nascidos de mães caucasóides e 136 de mães negróides) e 1119 recém-nascidos de parto único (924 de mães caucasóides e 195 de mães negróides) Beiguelman, Franchi-Pinto e Magna (1997)

verificaram que o grupo racial das mães não teve influência sobre a idade gestacional dos recém-nascidos, o que também já havia sido observado por Luke *et al.* (1991) nos Estados Unidos. Essa similaridade permitiu estudar os gêmeos e os nascidos de parto único sem distinção de raça e constatar que, em média, os gêmeos tiveram idade gestacional de 36,6 semanas, ao passo que a idade gestacional dos nascidos de parto único foi de 39,5 semanas, o que dá uma diferença média de três semanas a menos para os partos gemelares. Esses valores são muito semelhantes às estimativas obtidas na Europa em diferentes épocas e países (McKewon e Record, 1952; Powers, 1973; Gedda *et al.*, 1981; Bonnelykke *et al.*, 1987).

A duração das gestações únicas é considerada normal quando o nascimento se dá no período entre 37 e 42 semanas completas de amenorréia, isto é, de ausência de menstruação (*recém-nascidos a termo*). Quando esse tempo de gestação é inferior a 37 semanas completas de amenorréia, os recém-nascidos são considerados *prematuros* ou *recém-nascidos pré-termo*. Se a duração da gestação for igual ou superior a 42 semanas completas de amenorréia, o recém-nascido será dito *pós-termo*.

Se esse critério, consagrado para os partos únicos, for estendido aos partos gemelares, a proporção de gêmeos classificados como prematuros passa a ser altíssima. De fato, nos gêmeos brasileiros a proporção de partos gemelares com menos de 37 semanas completas de amenorréia foi de 45%, enquanto que nos partos únicos a proporção de prematuros não atingiu 10%. Nos gêmeos brasileiros a proporção de partos a termo (37 a 42 semanas) foi de 53%, enquanto entre os partos únicos essa proporção atingiu 81%. A proporção de pós-maturidade (42 semanas ou mais) entre os gêmeos foi de apenas 2%, enquanto entre os partos únicos foi de 9,5%. Aqui é interessante assinalar que essas proporções são muito semelhantes às observadas nos Estados Unidos (Keith, 1994) e na Grã Bretanha (Buckler e Buckler, 1987).

Papiernik *et al.* (1985), conseguiu diminuir a proporção de gêmeos pré-termo para 34%, após submeter as gestantes a um programa especial de cuidados pré-natais. Entretanto, não são poucos os que consideram que a prematuridade dos gêmeos não é um fenômeno patológico, mas mera consequência mecânica da distensão excessiva e eretismo da musculatura uterina, e do aumento da mobilidade fetal (Benirschke e Kim, 1973; Gedda *et al.*, 1981). Gedda *et al.* (1981) consideraram provável que as gestações gemelares

estejam associados com o aumento da produção fetal de proteínas com efeito oxitócicomimético.

Um trabalho realizado por Beiguelman, Dal Colletto, Franchi-Pinto e Krieger (1998), levando em conta o desenvolvimento intra-uterino de 1.158 pares de gêmeos nascidos em três maternidades brasileiras, mostrou que, em comparação com a taxa de crescimento de fetos únicos, a taxa de crescimento fetal dos gêmeos é retardada, independentemente do nível sócio-econômico da população examinada. Entretanto, a idade gestacional em que começa esse atraso parece estar relacionada ao nível econômico das mães, pois entre as mais pobres o atraso do crescimento fetal começa mais cedo. Em qualquer situação, porém, depois de 28 semanas de gestação, o crescimento dos fetos femininos foi levemente, mas consistentemente, inferior aos dos fetos masculinos.

## **PESO E ESTATURA AO NASCER**

Em decorrência do menor tempo médio de gestação, os gêmeos apresentam menor peso e menos estatura ao nascer que os recém-nascidos de parto único. Assim, por exemplo, um estudo feito em Campinas, SP, por Beiguelman e Franchi-Pinto (2000) permitiu constatar em recém-nascidos vivos do sexo masculino, que 711 gêmeos mostraram peso médio de  $2331 \pm 616$  g, enquanto 750 nascidos de parto único pesaram, em média,  $3212 \pm 527$ . Entre os recém-nascidos do sexo feminino a diferença foi da mesma ordem de grandeza, pois 728 gêmeas pesaram, em média,  $2246 \pm 611$  g, enquanto as nascidas de parto único tiveram peso médio de  $3127 \pm 477$  g. Quando esses recém-nascidos foram distribuídos em apenas duas classes de peso (menos de 2500 g, o que é considerado *peso baixo ao nascer*, e com 2500 g ou mais), constatou-se que a proporção de crianças com menos de 2500 g foi impressionantemente mais alta nos gêmeos (61%) do que nos recém-nascidos de parto único (7,9%). Ao promover a distribuição dos recém-nascidos em uma classe inferior a 1500 g (*peso muito baixo ao nascer*) e com 1500 g ou mais, praticamente 10% dos gêmeos foram classificados na primeira classe, enquanto que, praticamente, apenas 1% dos recém-nascidos de parto único foram incluídos entre os recém-nascidos de peso muito baixo.

Em outro estudo, também realizado em Campinas, SP (Beiguelman, Franchi-Pinto e Magna, 1997), pôde-se observar que a estatura média entre os recém-nascidos do sexo

masculino foi de  $45,1 \pm 3,3$  cm para os 671 gêmeos analisados e  $48,6 \pm 2,2$  cm para os 750 nascidos de parto único. Entre os do sexo feminino, verificou-se que 712 gêmeas mediram  $44,6 \pm 3,2$  cm, ao passo que as 765 nascidas de parto único tiveram  $47,9 \pm 2,4$  cm de estatura. Ao serem distribuídos em duas classes de estatura (menos de 44 cm e com 44 cm ou mais), a proporção de crianças com menos de 44 cm também foi significativamente mais alta nos gêmeos (28%) do que nos recém-nascidos de parto único (3%).

Os dados a respeito do peso de recém-nascidos em Campinas, SP, são semelhantes aos verificados em outras populações brasileiras (Araújo e Salzano, 1975) ou na África do Sul (Essel e Opai-Tetteh, 1994). Entretanto, tanto o peso quanto a estatura dos recém-nascidos brasileiros, gêmeos ou não, foram menores do que os constatados em recém-nascidos da Europa, Estados Unidos e Israel (Armitage *et al.*, 1967; Gedda *et al.*, 1981; Alfieri *et al.*, 1987; Ramos-Arroyo *et al.*, 1988; Blickstein e Weissman, 1990; Voorhorst *et al.*, 1993).

De acordo com Luke (1996), o menor peso ao nascer associado à menor idade gestacional dos gêmeos resulta em efeito benéfico para eles. Assim, nos Estados Unidos, a menor taxa de óbitos fetais em gêmeos foi observada naqueles com 2500 a 2800 g ao nascimento e idade gestacional de 36 a 37 semanas, enquanto a menor taxa de óbito entre os recém-nascidos de parto único ocorreu entre aqueles que apresentaram 3700 a 4000 g ao nascimento e idade gestacional de 40 a 41 semanas. As observações de Luke (1996) concordam com as anteriores de Gedda *et al.* (1981), que afirmaram ser o peso baixo de gêmeos ao nascer uma entidade distinta do peso de recém-nascidos de parto único, por afetarem diferentemente o crescimento e a sobrevivência das crianças. Gedda *et al.* (1981) também recomendaram que, na análise da relação entre o peso ao nascer e a mortalidade perinatal, os dados a respeito dos gêmeos e dos nascidos de parto único deveriam ser avaliados separadamente e não em conjunto, como, geralmente, se faz.

## **ÍNDICE DE APGAR**

Em 1953, Virginia Apgar propôs um método para avaliar o estado clínico dos recém-nascidos por intermédio de um índice, que representa a soma de vários achados. Esse método foi idealizado, originalmente, para ser empregado um minuto após o

nascimento (Apgar de 1 min.). Posteriormente, porém, passou-se a empregá-lo pelo menos mais uma vez, cinco minutos após o nascimento (Apgar de 5 min.).

O índice de Apgar leva em conta cinco sinais que podem ser facilmente determinados e que não interferem com os cuidados que o recém-nascido necessita (frequência cardíaca, esforço respiratório, irritabilidade reflexa, tônus muscular e cor da pele). Cada um desses sinais é subclassificado em três resultados que recebem nota zero, um ou dois, de modo que a soma dessas notas dá um total (índice de Apgar), que pode variar de zero a 10. As notas são as seguintes:

- 1) *Frequência cardíaca*: 0 = nenhum batimento pode ser visto, sentido ou ouvido; 1 = menos de 100 batimentos por minuto; 2 = mais de 100 batimentos por minuto.
- 2) *Esforço respiratório*: 0 = apnéia após o nascimento; 1 = todos os tipos de esforços respiratórios; 2 = choro forte.
- 3) *Irritabilidade reflexa* : 0 = ausência de resposta; 1 = movimentos faciais; 2 = caretas, tosse e espirro.
- 4) *Tônus muscular*: 0 = flacidez muscular completa; 1 = alguns movimentos de flexão de membros; 2 = movimentação ativa dos membros e resistência à extensão.
- 5) *Cor da pele*: 0 = cianose; 1 = cianose somente das extremidades; 2 = cor da pele rosada.

O índice 10 indica que o estado clínico do recém-nascido é considerado excelente, mas os índices de Apgar de 7 a 9 também são aceitos como bom prognóstico de baixo risco de complicações respiratórias ou do desenvolvimento neuropsicomotor. Índices de 4 a 6 indicam asfixia moderada, o que requer algum tipo de ressuscitação para o recém-nascido. Índices entre 3 e zero indicam estado grave e estão associados a alto risco de óbito e paralisia cerebral (Fanaroff e Martin, 1992).

Se o índice de Apgar de 5 min for menor do que 7, o recém-nascido passa a ser reavaliado em intervalos de 5 minutos até que haja normalização clínica (Fanaroff e Martin, 1992), porque a correlação entre o desenvolvimento neurológico e o índice de Apgar aumenta à medida que aumenta o tempo decorrido entre o nascimento e o exame do recém-nascido (Grothe e Rütgers, 1985; Committee on Fetus and Newborn, 1986).

Um estudo feito em Campinas, SP, por Franchi-Pinto, Dal Colletto, Krieger e Beiguelman (1999) a respeito do índice de Apgar de 604 pares de gêmeos mostrou que

aqueles que nascem em primeiro lugar apresentam, em média, melhor estado clínico do que os gêmeos que nascem em segundo lugar. De fato, entre os primeiros a proporção de índices de Apgar de 1 min inferiores a 7 (17,5%) foi significativamente menor do que aquela observada entre os gêmeos nascidos em segundo lugar (29,8%). Em qualquer caso, a proporção de índices de Apgar de 1 min. inferior a 7 foi significativamente maior nos gêmeos do que em 1522 conceptos únicos nascidos na mesma maternidade (9,2%).

## **MORTALIDADE PERINATAL**

Os óbitos *perinatais* incluem os *natimortos*, isto é, os conceptos com peso superior a 500 g ou com mais de 22 semanas completas de gestação que, ao nascimento, não manifestam qualquer sinal vital, e os *óbitos neonatais precoces*, isto é, os conceptos que nascem com vida, mas que vão a óbito na primeira semana após o nascimento (Belitzky *et al.*, 1978). Em decorrência dos avanços terapêuticos, as causas de natimortalidade de origem materna, como diabetes mellitus, pré-eclâmpsia e isoimunização, tendem a ser menos freqüentes, dando lugar ao predomínio da natimortalidade de origem fetal, geralmente decorrente da prematuridade.

Em todas as populações humanas estudadas, a taxa de mortalidade perinatal de gêmeos é maior do que a de nascidos de parto único (Lumme e Saarikoski, 1988; Chen *et al.*, 1992; Keith, 1994). No Brasil, essa situação não é diferente. De fato, ao analisar dados a respeito de 116.699 partos (1.062 gemelares e 115.637 únicos) ocorridos no período entre 1984 e 1996 na maior maternidade da cidade de Campinas, SP, Beiguelman e Franchi-Pinto (2000) constataram que, a despeito da baixa incidência de nascimentos gemelares (9 por mil partos), as taxas de óbitos neonatais precoces (55 por mil recém-nascidos) e de natimortos (19 por mil recém-nascidos) entre os gêmeos foram responsáveis por 10,7% dos óbitos neonatais precoces e 3,5% dos natimortos. Em relação aos recém-nascidos de parto único (8,4 óbitos neonatais precoces e 10 natimortos por mil nascimentos), as probabilidades de mortalidade neonatal precoce e de natimortalidade foram, respectivamente, 6,5 e 1,9 vezes maior. A taxa de óbitos perinatais dos recém-nascidos do sexo masculino foi mais alta do que a dos recém-nascidos do sexo feminino tanto entre os gêmeos quanto entre os nascidos de parto único.

No concernente ao período crítico para os óbitos perinatais precoces, os dados desse trabalho contradisseram observações feitas em outras populações, nas quais se considera que esse período está limitado ao primeiro dia após o nascimento (Barr e Stevenson, 1961; Doherty, 1988), visto que, em Campinas, tal período crítico abrangeu os três primeiros dias após o nascimento tanto no caso dos gêmeos quanto no dos recém-nascidos de parto único (Beiguelman e Franchi-Pinto, 2000). Além disso, ficou claro que a mortalidade perinatal incidiu mais freqüentemente nos pares masculinos (MM), os quais foram seguidos pelos pares femininos (FF), sendo menos freqüentes nos pares discordantes quanto ao sexo (MF).

Não é fácil explicar essa distribuição. Assim, se a maior vulnerabilidade dos conceptos masculinos fosse a causa do maior número de óbitos nos gêmeos MM, dever-se-ia esperar que os pares MF tivessem mais óbitos do que os FF, o que não ocorreu. Por outro lado, se os pares MZ, que são, reconhecidamente, mais vulneráveis do que os DZ (Chen *et al.*, 1992), fossem a causa de maior mortalidade, dever-se-ia esperar equivalência da taxa de óbitos entre os pares MM e FF, o que também não ocorreu. Em vista disso, parece plausível supor que o gradiente de óbitos perinatais na seqüência MM>FF>MF decorra de uma associação de três fatores, a saber: maior vulnerabilidade dos conceptos masculinos, monozigosidade e concordância de óbitos perinatais, isto é, o óbito de um dos elementos do par poderia facilitar a ocorrência do óbito do outro elemento.

Outra constatação feita nesse trabalho é que a taxa de óbitos perinatais vem decrescendo em Campinas, tanto nos gêmeos quanto nos nascidos de parto único, podendo essa tendência ser atribuída à melhoria da assistência pré- e perinatal nessa cidade, que conta com duas Faculdades de Medicina de alto nível. É curioso, porém, que o decréscimo de óbitos perinatais está sendo feito de modo mais acentuado nos recém-nascidos do sexo feminino.

## REFERÊNCIAS

- Alfieri, A., Gatti, I. & Alfieri, A.C. Weight and height growth in twins and children born in the last decade. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 36: 209-211, 1987.
- Alikani, M., Noyes, N., Cohen, J. & Rosenwaks, Z. Monozygotic twinning in the human is associated with the zona pellucida architecture. *Human Reprod.* 9: 1318-1321, 1994.
- Allen, G. & Schechter, J. Ease of conception in mothers of twins. *Soc. Biol.* 18: 18-27, 1971.
- Allen, G. & Parisi, P. Trends in monozygotic twinning rates by maternal age and parity. Further analysis of Italian data, 1949-1985, and rediscussion of US data, 1964-1985. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 39: 317-328, 1990.
- Apgar, V. A proposal for a new method of evaluation of the newborn infant. *Anesth. Analg.* 32: 260-267, 1953.
- Araujo, A.M. & Salzano, F.M. Parental characteristics and birth weight in a Brazilian population. *Hum. Biol.* 47: 37-43, 1975.
- Araujo, A.M. & Salzano, F.M. Congenital malformations, twinning and associated variables in a Brazilian population. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 24: 31-39, 1975.
- Arizawa, M., Suehara, N., Takemura, T. & Nakayama, M. Monozygotic twins discordant for sex. *Acta Obstet. Gynecol. Jap.* 40: 1479-1482, 1988.
- Armitage, P., Boyd, J.D., Hamilton, W.J. & Rowe, B.C. A statistical analysis of a series of birth-weights and placental weights. *Hum. Biol.* 39: 430-444, 1967.
- Barr, A. & Stevenson, A.C. Stillbirths and infant mortality in twins. *Ann. Hum. Genet.* 25: 131-140, 1961.
- Beiguelman, B. & Villarroel-Herrera, H.O. Sex ratio of twins in a southeastern Brazilian population. *Braz. J. Genet.* 15:707-711, 1992.
- Beiguelman, B. & Villarroel-Herrera, H.O. Factors influencing the decline of twinning incidence in a southeastern Brazilian population. *Braz. J. Genet.* 16: 793-801, 1993.
- Beiguelman, B. & Franchi-Pinto, C. Perinatal mortality among twins and singletons in a city in southeastern Brazil. *Genet. Mol. Biol.* 23: 15-23, 2000.



- Beiguelman, B., Franchi-Pinto, C. & Magna, L.A. Biological and social traits associated with twinning among Caucasoids and Negroids. *Braz. J. Genet.* 20: 311-318, 1997.
- Beiguelman, B., Franchi-Pinto, C., Dal Colletto, G.M. & Krieger, H. Annual variation of sex ratio in twin births and in singletons in Brazil. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 44: 163-168, 1995.
- Beiguelman, B., Franchi-Pinto, C., Krieger, H. & Magna, L.A. Twinning rate in a southeastern Brazilian population. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 45: 317-324, 1996.
- Beiguelman, B., Dal Colleto, G.M., Franchi-Pinto, C. & Krieger, H. Birth weight of twins. 1. The fetal growth patterns of twins and singletons. *Genet. Mol. Biol.* 21: 151-154, 1998.
- Belitzky, R., Fescina, R.E. & Ucieda, F. Definiciones y terminologias aplicables al periodo perinatal. Recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud y modificaciones de la F.I.G.O. *Publicación Científica del CLAP 757*: 136-147, 1978.
- Benirschke, K. Chimerism, mosaicism and hybrids. *Proc. 4<sup>th</sup> Int. Cong. Hum. Genet., Excerpta Medica*, Amsterdam: 212-231, 1972.
- Benirschke, K. Multiple gestation, incidence, etiology and inheritance. Em *Maternal fetal medicine-principles and practice*. Creasy, R.K. & Resnik, R. (Eds.), 3<sup>a</sup>. ed., Saunders, Philadelphia, 1994.
- Benirschke, K. & Kim, C.K. Multiple pregnancy. *N. Engl. J. Med.* 288: 1329-1336, 1973.
- Bertranpetit, J. & Marin, A. Demographic parameters and twinning: a study in Catalonia, Spain. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 37: 127-135, 1988.
- Blickstein, I. & Weissman, A. Birth weight discordancy in male-first pairs of unlike-sexed twins. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 162: 661-663, 1990.
- Bomsel-Helmreich, O. & Papiernik-Berkhauer, E. Delayed ovulation and monozygotic twinning. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 25: 73-76, 1976.
- Bonnelykke, B., Sogaard, J. & Nielsen, J. Seasonality in twin birth rates. Denmark, 1936-1984. *J. Epidemiol. Community Health* 41: 338-343, 1987.
- Brackenridge, C.J. The secular variation of Australian twin births over fifty years. *Ann. Hum. Biol.* 4: 559-564, 1977.
- Bressers, W.M.A., Eriksson, A.W., Kostense, P.J. & Parisi, P. Increasing trend in the monozygotic twinning rate. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 36: 397-408, 1987.
- Buckler, J.M.H. & Buckler, J.B. Growth characteristics in twins and higher order multiple births. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 36: 197-208, 1987.

- Bulmer, M.G. The effect of parental age, parity and duration of marriage on the twinning rate. *Ann. Hum. Genet.* 23: 454-458, 1959.
- Busjahn, A., Knoblauch, H., Faulhaber, H.D., Aydin, A., Uhlmann, R., Tuomilieto, J., Kaprio, J., Jedrusik, P., Januszewicz, A., Strelau, J., Schuster, H., Luft, F.C. & Muller-Myshok, B. A region of chromosome 3 is linked to dizygotic twinning. *Nat Genet* 26: 398-399, 2000.
- Castilla, E.E., Lopez-Camelo, J.S., Orioli, I.M., Sánchez, O. & Paz, J.E. The epidemiology of conjoined twins in Latin America. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 37: 111-118, 1988.
- Channing, C.P. & Tsafiriri, A. Mechanism of action of luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone on the ovary *in vitro*. *Metabolism* 26: 413-468, 1977.
- Chen, C.J., Lin, T.M., Chang, C. & Cheng, Y.J. Epidemiological characteristics of twinning rates in Taiwan. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 36: 335-342, 1987.
- Chen, C.J., Wang, C.J., Yu, M.W. & Lee, T.K. Perinatal mortality and prevalence of major congenital malformations of twins in Taipei City. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 41: 197-203, 1992.
- Chown, B., Lewis, M. & Bowman, J.M. A pair of newborn blood chimeric twins. *Transfusion* 3: 494- 495, 1963.
- Colletto, G.M.D.D., Segre, C.A. & Beiguelman, B. Twinning rate in a sample of a Brazilian hospital with a high standard of reproductive care. *São Paulo Medical J.* 119: 216-219, 2001.
- Committee on Fetus and Newborn. American Academy of Pediatrics. *Pediatrics* 78:1148-1149.
- Cummins, J.M., Wakayama, T. & Yanagimachi, R. Fate of microinjected spermatid mitochondria in the mouse oocyte and embryo. *Zygote* 6 : 213-222, 1998.
- Czeizel, A. Unexplainable demographic phenomena of multiple births in Hungary. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 22 (Suppl.): 214-218, 1974.
- Dallapiccola, B., Stomeo, C., Ferranti, G., Di Lecce, A. & Purpura, M. Discordant sex in one of three monozygotic triplets. *J. Med. Genet.* 22: 6-11, 1985.
- Dandekar, P.V. & Talbot, P. Perivitelline space of mammalian oocytes: extracellular matrix of unfertilized oocytes and formation of a cortical granule envelope following fertilization. *Mol. Reprod. Dev.* 31: 135-143, 1992.

- Dandekar, P.V., Martin, M.C. & Glass, R.H. Maturation of immature oocytes by coculture with granulose cells. *Fertil. Steril.* 55: 95-99, 1991.
- Derom, C., Vlietinck, R., Derom, R., Van den Berghe, H. & Thiery, M. Increased monozygotic twinning rate after ovulation induction. *Lancet I*: 1236-1238, 1987.
- Doherty, J.D.H. Perinatal mortality in twins, Australia, 1973-1980:II- maternal age, lethal congenital malformations and sex. *Acta Genet.Med. Gemellol.* 37: 321-329, 1988.
- Edwards, J.H., Dent, T. & Kahn, J. Monozygotic twins of different sex. *J. Med. Genet.* 3: 117-123, 1966.
- Elwood, J.M. Changes in the twinning rate in Canada 1926-1970. *Brit. J. Prev. Soc.Med.* 27: 236-241, 1973.
- Essel, J.K. & Opai-Tetteh, E.T. Twin birth-weight discordance in Transkey. *S. Afr. Med. J.* 84: 69-71, 1994.
- Fanaroff, A.A. & Martin, R.J. *Neonatal-perinatal Medicine: Diseases of the fetus and infant.* 5a. ed., vol.2, Mosby-Yearbook, New York, NY, USA, 1992.
- Forrest, J.D. & Singh, S. The sexual and reproductive behavior of American women, 1982-1988. *Fam. Plann. Perspect.* 22: 206-214, 1990.
- Franchi-Pinto, C. *Incidência, sazonalidade, razão de sexo e outros aspectos da biologia da gemelaridade.* Tese de Doutorado, UNICAMP, 1996.
- Fujimoto, A., Boelter, W.D., Sparkes, R.S., Lin, M.S. & Battersby, K. Monozygotic twins of discordant sex both with 45,X/46,X,idic(Y) mosaicism. *Am. J. Med. Genet.* 41: 239-245, 1991.
- Galton, F. The history of twins, as a criterion of the relative powers of nature and nurture. *Royal Anthropol. Inst. of Great Britain and Ireland*, 6: 391-406, 1876, cf. Munsinger, 1977, *op. cit.*
- Gedda,L., Brenci, G. & Gatti, I. Low birth weight in twins versus singletons: separate entities and different implications for child growth and survival. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 30: 1-8, 1981.
- Gilula, N.B., Epstein, M.L. & Beers, W.H. Cell-to-cell communication and ovulation: a study of the cumulus-oocyte complex. *J. Cell. Biol.* 78: 58-75, 1978.
- Gómez, E., Tarín, J.J. & Pellicer, A. Oocyte maturation in humans: the role of gonadotropins and growth factors. *Fertil. Steril.* 60: 40-46, 1993.
- Goodfellow, S.A., Strong, S.J. & Stewart, J.S.S. Bovine freemartins and true hermaphroditism. *Lancet I*: 1040-1041, 1965.

- Grothe, W. & Rüttgers, H. Twin pregnancies: an 11-year review. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 34: 49-58, 1985.
- Hasbargen, U. Lohse, P. Thaler, C. J. The number of dichorionic twin pregnancies is reduced by the common MTHFR 677C-->T mutation. *Hum. Reprod.* 15: 2659-2662, 2000.
- Herschler, M.S. & Fechheimer, N.S. The role of sex chromosome chimerism in altering sexual development of mammals. *Cytogenetics* 6: 204-212, 1967.
- Hoshi, K., Sugano, T., Endo, C., Yoshimatsu, N., Yanagida, K. & Sato, A. Induction of the acrosome reaction in human spermatozoa by human zona pellucida and effect of cervical mucus on zona-induced acrosome reaction. *Fertil. Steril.* 60: 149-153, 1993.
- Houshmand, M., Holme, E., Hanson, C., Wennerholm, U.B. & Hamberger, L. Is paternal mitochondrial DNA transferred to the offspring following intracytoplasmic sperm injection? *J. Assist. Reprod. Genet.* 14: 223-227, 1997.
- Huettner, A.F. *Fundamentals of comparative embryology of the vertebrates*. MacMillan Co., N.York, 1957.
- Ihering, R. von *Da vida dos nossos animais*. Editora Rotermond, São Leopoldo, RS, 3<sup>a</sup>. ed., 1953.
- Imaizumi, Y. & Inouye, E. Analysis of multiple birth in Japan. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 28: 107-124, 1979
- International Clearinghouse for Birth Defects Monitoring Systems. Conjoined twins- an epidemiological study based on 312 cases. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 40: 325-335, 1991.
- Jablon, S., Neel, J.V., Gershowitz, H. & Atkinson, G.F. The NAS-NRC twin panel: methods of construction of the panel, zygosity diagnosis, and proposed use. *Am. J. Hum. Genet.* 19: 133-161, 1967.
- James, W.H. Sex ratio in twin births. *Ann. Hum. Biol.* 2: 365-378, 1975.
- James, W.H. Coitus-induced ovulation and its implications for estimates of some reproductive parameters. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 33: 547-555, 1984.
- Jeanneret, O. & MacMahon, B. Secular changes in rates of multiple births in the United States. *Am. J. Hum. Genet.* 14: 410-425, 1962.
- Jirásek, J.E. Principles of reproductive embryology. Em Simpson, J.L.- *Disorders of sexual differentiation*. Academic Press, Nova York, Cap. 2: 51-110, 1976.

- Jost, A., Chodkiewicz, M. & Mauleon, P. Intersexualité du foetus de veau par des androgènes. Comparison entre l'hormone foetale responsable du free-martinisme et l'hormone testiculaire adulte. *C.R. Acad. Sci., Paris*, 236: 274-276, 1963.
- Kaneda, H., Hayashi, J., Takahama, S., Taya, C. Lindahl, K.F. & Yonekawa, H. Elimination of paternal mitochondrial DNA in intraspecific crosses during early mouse embryogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 4542-4546, 1995.
- Karp, L., Bryant, J.I., Tagatz, G., Giblett, E. & Fialkow, P.J. The occurrence of gonadal dysgenesis in association with monozygotic twinning. *J. Med. Genet.* 12: 70-78, 1975.
- Kelly, M.P. Molo, M.W., Maclin, V.M., Binor, Z., Rawlins, R.G. & Radwanska, E. Human chorionic gonadotropin rise in normal and vanishing twin pregnancies. *Fertil. Steril.* 56: 221-224, 1991.
- Keith, L. Mortality and morbidity among twins: recent observations from the United States. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 43: 25-31, 1994.
- Kurosawa, K., Kuromaru, R., Imaizumi, K., Nakamura, Y., Ishikawa, F., Ueda, K. & Kuroki, Y. Monozygotic twins with discordant sex. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 41: 301-310, 1992.
- Landy, H.J. & Keith, L.G. The vanishing twin: a review. *Hum Reprod. Update* 4: 177-183, 1998.
- Lewis, C.M., Healey, S.C. & Martin, N.G. Genetic contribution to DZ twinning. *Am J. Med. Genet.* 61: 237-246, 1996.
- Lichtenstein, P., Kallen, B. & Koster, M. No paternal effect on monozygotic twinning in the Swedish Twin Registry. *Twin Res.* 1: 212-215, 1998.
- Lopes, S., Jurisicova, A. & Casper, R.F. Gamete-specific DNA fragmentation in unfertilized human oocytes after intracytoplasmic sperm injection. *Human Reprod.* 13: 703-708, 1998.
- Luke, B., Witter, F.R., Abbey, H., Feng, T., Namnoum, A.B., Paige, D.M. & Johnson, T.R.B. Gestational age-specific birthweights of twins versus singletons. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 40: 69-76, 1991.
- Lumme, R.H. & Saarkoski, S.V. Perinatal deaths in twin pregnancy: a 22-year review. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 37: 47-54, 1988.
- Maruri, F. & Azziz, R. Laparoscopic surgery for ectopic pregnancies: technology assessment and public health implications. *Fertil. Steril.* 59: 487-498, 1993.

- McKewon, T. & Record, R.G. Observations on foetal growth of multiple pregnancy in Man. *J. Endocrinol.* 5: 387-401, 1952.
- Meulemans, W.J., Lewis, C.M., Boomsma, D.I., Derom, C.A., Van den Berghe, H., Orlebeke, J.F., Vlietinck, R.F. & Derom, R. M. Genetic modeling of dizygotic twinning in pedigrees of spontaneous dizygotic twins. *Am. J. Med. Genet.* 61: 258-263, 1996.
- Milham Jr., S. Pituitary gonadotrophin and dizygotic twinning. *Lancet* 2: 566, 1964.
- Moraes, M.H.B. de, Beiguelman, B. & Krieger, H. Decline of twinning rate in Brazil. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 38: 57-63.
- Munsinger, H.- The identical-twin transfusion syndrome: A source of error in estimating IQ resemblance and heritability. *Ann. Hum. Genet.* 40: 307-321, 1977.
- Nylander, P.P.S. The inheritance of DZ twinning. A study of 18.737 maternities in Ibadan, Western Nigeria. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 19: 36-39, 1970.
- Nylander, P.P.S. The factors that influence twinning rates. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 30: 189-202, 1981.
- Ohno, S., Klinger, H.P. & Atkin, N.B. Human oogenesis. *Cytogenetics* 1: 42-51, 1962.
- Parisi, P. & Caperna, G. Twinning rates, fertility and industrialization: a secular study. Em Bonné-Tamir, B. (Ed.) *Human Genetics, Part A: The unfolding genome*. Alan R. Liss, N.York: 375-394, 1982.
- Papiernik, E., Mussy, M.A., Vial, M. & Richard, A. A low rate of perinatal deaths for twin births. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 34: 201-206, 1985.
- Pedreira, C.M., Peixoto, L.I.S. & Ito-Rocha, L.M.G. Estudo da gemelaridade na população de Salvador, Bahia. *Anais da I Reunião Brasil. Genét. Hum.* (Curitiba): 137-140, 1959.
- Phelan, M.C., Pellock, J.M. & Nance, W.E. Discordant expression of fetal hydantoin syndrome in heteroparental dizygotic twins. *N. Engl. J. Med.* 307: 99-101, 1982.
- Picard, R., Fraser, D., Hagay, Z.J. & Leiberman, J.R. Twinning in southern Israel; secular trends, ethnic variation and effects of maternal age and parity. *Europ. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 33: 131-139, 1989.
- Pinkerton, G.D., Carey, H.M. Ost-pill anovulation. *Med. J. Austr.* 1: 220-222, 1976.

- Porter, P. Chimerism and immunological tolerance: a consequence of fraternal twinning in the marmoset. *Diss. Abstr.* 29, 479 B: 601, 1968, cf. Benirschke, 1972 *op. cit.*
- Powers, W.F. Twin pregnancy, complications and treatment. *Obstet. Gynecol.* 42: 795-808, 1973.
- Race, R.R. & Sanger, R. *Blood groups in Man*. Blackwell Scient. Publ., Oxford, 6<sup>a</sup>. ed., 1975.
- Ramos-Arroyo, M.A., Ulbright, T.M., Yu, P.-L. & Christian, J.C. Twin study: relationship between birth weight, zygosity, placentation, and pathologic placental changes. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 37: 229-238, 1988.
- Rankin, J. & Dean, J. The zona pellucida: using molecular genetics to study the mammalian egg coat. *Rev. Reprod.* 5: 114-121, 2000.
- Reindollar, R.H., Byrd, J.R., Hahn, D.H., Haseltine, F.P. & McDonough, P.G. A cytogenetic and endocrinologic study of monozygotic isokaryotic 45,X/46,XY twins discordant for phenotypic sex: mosaicism versus chimerism. *Fertil. Steril.* 47: 626-633, 1987.
- Rogers, B.O. & Allen, G. Intolerance of dizygotic human twins to reciprocal skin homografts. *Science* 122: 158, 1955.
- Rola-Janicki, A. Multiple births in Poland in 1949-1971. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 22: (Suppl.): 202-209, 1974.
- Rudak, E., Jacobs, P. & Yanagimachi, R. Direct analysis of human spermatozoa. *Nature* 274: 911-913, 1978.
- Schinzel, A.A., Smith, O.W. & Miller, J.R. Monozygotic twinning and structural defects. *J. Pediatr.*, 95:921-930, 1979.
- Schmidt, R., Sobel, E.H., Nitowsky, H.M., Dar, H. & Allen, F.H. Monozygotic twins discordant for sex. *J. Med. Genet.* 13: 64-79, 1976.
- Shoham, Z., Jacobs, H.J. & Insler, V. Luteinizing hormone: its role, mechanism of action, and detrimental effect when hypersecreted during the follicular phase. *Fertil. Steril.* 59: 1153-1161, 1993.
- Sills, E.S., Moomjy, M., Zaninovic, N., Veeck, L.L., McGee, M., Palermo, G.D. & Rosenwaks, Z. Human zona pellucida micromanipulation and monozygotic twinning frequency after IVF. *Hum Reprod.* 15:890-895, 2000.
- Sorgo, G. Das problem der superfœcundatio in Vaterschaftsgutachten. *Beitr. Gerichtl. Med.* 30: 415-421, 1973.

- Spielmann, W. & Kühnl, P. The efficacy of modern blood group genetics with regard to a case of probable superfecundation. *Hematol. Hung.* 13: 75-85, 1980.
- St John, J., Sakkas, D., Dimitriadi, K., Barnes, A., Maclin, V., Ramey, J., Barratt, C. & De Jonge, C. Failure of elimination of paternal mitochondrial DNA in abnormal embryos. *Lancet* 355: 200, 2000.
- Stocks, P. Recent statistics of multiple births in England and Wales. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 1: 8-13, 1952.
- Susanne, C. & Corbisier, J.V. Les naissances gémellaires en Belgique (1960-1961). *Acta Genet. Med. Gemellol.* 18: 294-320, 1969.
- Terasaki, P.I., Gjertson, D., Bernoco, D., Perdue, S., Mickey, M.R. & Bond, J. Twins with two different fathers identified by HLA. *N. Engl. J. Med.* 299: 590-592, 1978.
- Tsafiriri, A., Pomerantz, S.H. & Channing, C.P. Inhibition of oocyte maturation by porcine follicular fluid: partial characterization of the inhibitor. *Biol. Reprod.* 14: 511-516, 1976.
- Turpin, R., Lejeune, J., Lafourcade, J., Chigot, P.L. & Salmon, C. Présomption de monozygotisme en dépit d'un dimorphisme sexuel: sujet masculin XY e sujet neutre haplo X. *C. R. Acad. Sci. Paris* 252: 2945-2946, 1961.
- Ville, Y., Hecher, K., Ogg, D., Warren, R. & Nicolaidis, K. Successful outcome after Nd:YAG laser separation of chorioangiopagus-twins under sonoendoscopic control. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2: 42-431, 1992
- Voorhorst, F.J., Bouter, L.M., Bezemer, P.D. & Kurver, P.H.J. Maternal characteristics and expected birt weight. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 50: 115-122, 1993.
- Ward, W.S. Deoxyribonucleic acid loop domain tertiary structure in mammalian spermatozoa. *Biol. Reprod.* 48: 1193-1201, 1993.
- Watson, P. & Campbell, D.M. Preterm deliveries in twin pregnancies in Oxford. *Acta Genet. Med. Gemellol.* 35: 193-199, 1986.
- Weidling, P.J. *Darwinism and social Darwinism in imperial Germany: The contribution of the cell biologist Oscar Hertwig (1849-1922)*. G, Fischer Verlag, Stuttgart, 1991.
- Weinberg, W. *Arch. Rass. Ges. Biol.* 6: 28, 1909, cf. Busjahn *et al.*, 2000, *op. cit.*
- Wenk, R.E., Brooks, M. & Houtz, T. Heteropaternal dizygotic twinning evidence of human superfecundation. *Lab. Med.* 17: 526-528, 1986.
- Wenk, R.E., Houtz, T., Brooks, M. & Chiafari, F.A. How frequent is heteropaternal superfecundation? *Acta Genet. Med. Gemellol.* 41: 43-47, 1992.



Whittingham, D.G. In-vitro fertilization, embryo transfer and storage. *Brit. Med. Bull.* 35: 105-111, 1979.

Wyshak, G. & White, C. Genealogical study of human twinning. *Am. J. Public Health Nations Health* 55: 1586-1593, 1965.

Yanagimachi, R. Mammalian fertilization. In *The Physiology of Reproduction*, 2<sup>nd</sup> ed. Ed. por Knobil, E. & Neill, J.D., Raven Press, Ltd., New York, Cap. 5: 189- 317, 1994.