

UNIVERZITA KARLOVA
3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



DISERTAČNÍ PRÁCE
MUDr. Lubomír Hašík

Praha 1. 9. 2022

MUDr. Lubomír Hašík

UNIVERZITA KARLOVA
3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA



DISERTAČNÍ PRÁCE

Průkaz akutní interfetální transfuze u monochoriálních dvojčat

Demonstration of Acute Interfetal Transfusion of Monochorionic Twins

Školitel: prof. MUDr. Ladislav Krofta, CSc., MBA

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

Praha 1. 9. 2022

MUDr. Lubomír Hašík

Poděkování

Na úvod této práce bych velmi rád poděkoval vedení Ústavu pro péči o matku a dítě, jmenovitě doc. MUDr. Jaroslavu Feyereislovi, CSc. a prof. MUDr. Ladislavu Kroftovi, CSc., MBA za významnou pomoc a podporu v průběhu mého postgraduálního studia. Není samozřejmostí vytvoření pracovních, materiálních i časových podmínek pro studium v takovém rozsahu, jaké mi bylo umožněno. Současně patří velký dík všem kolegům z oddělení Centra prenatální diagnostiky a Centra fetální medicíny ÚPMD, referujícím externím kolegům za systematickou a svědomitou práci především v rámci centralizace péče o vícečetná těhotenství, díky níž bylo možné data potřebná k práci získat. V neposlední řadě velmi děkuji své rodině za toleranci a podporu v průběhu mého studia.

Seznam zkratek:

ACM	Arteria cerebri media
FFTR	Feto-fetální transfuze
CFM	Centrum fetální medicíny
ÚPMD	Ústav pro péči o matku a dítě
IVF	In vitro fertilizace
A-A	Arterio-arteriální
V-V	Veno-venózní
A-V	Arterio-venózní
BPO	Bipolární pupečnicková okluze
BW	Birth weight (porodní hmotnost)
CNS	Centrální nervová soustava
DC	Dichoriální
IUD	Intrauterine death (nitroděložní úmrtí)
sIUD	Single intrauterine death (úmrtí jednoho z plodů)
diUD	Double intrauterine death (úmrtí obou plodů)
LMP	Last menstruation period (poslední menstruace)
MC	Monochoriální
MCDA	Monochoriální diamniální
MCMA	Monochoriální monoamniální
MoM	Multiple of Median (násobek mediánu)
NND	Neonatal death (neonatální úmrtí)
OR	Odds ratio
PCI	Proximal cord insertion (blízká inzerce pupečnicků)
PI	Pulsatility index (index pulzatility)
PSV	Peak systolic velocity (maximální průtoková rychlost)
sFGR	Selective fetal growth restriction (selektivní fetální růstová restrikce)
TAPS	Twin anemia polycytemie sequence (sekvence anémie polycytemie)

TRAP	Twin reversed arterial perfusion (reverzní arteriální tok mezi MC dvojčaty)
TTTS	Twin to twin transfusion syndrome (transfuzní syndrom mezi MC dvojčaty)

Klíčová slova: vícečetná těhotenství, monochoriální dvojčata, akutní interfetální transfuze, transfuzní syndrom, placentární vaskulární anastomózy, nitroděložní odúmrť.

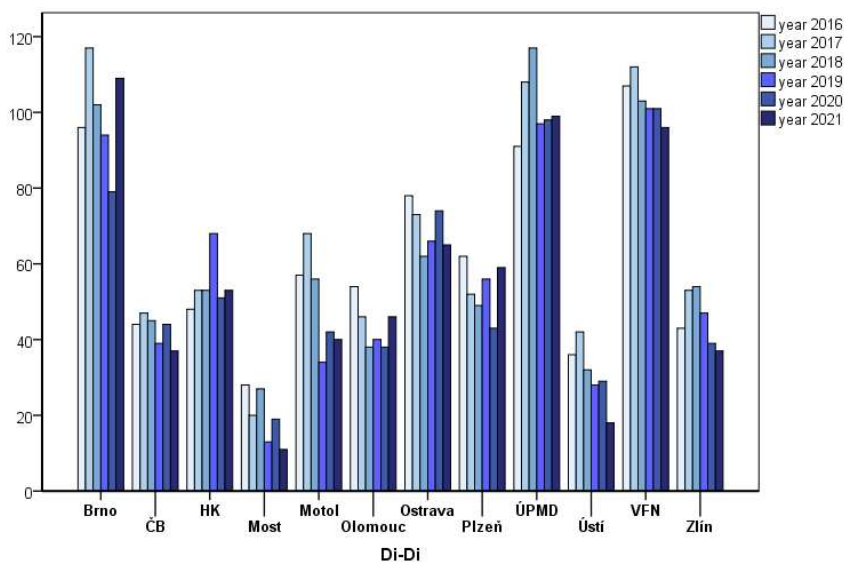
OBSAH

1	ÚVODNÍ SLOVO.....	9
2	PROBLEMATIKA VÍCEČETNÝCH TĚHOTENSTVÍ	11
2.1	Embryogeneze dvojčat.....	13
2.2	Komplikace monochoriálních vícečetných těhotenství.....	20
2.2.1	Specifické komplikace monochoriálních dvojčat.....	23
2.2.1.1	Twin to twin transfusion syndrome (TTTS).....	23
2.2.1.2	Twin anemia-polycythemia sequence (TAPS).....	27
2.2.1.3	Selektivní fetální růstová restrikce (sFGR).....	28
2.2.1.4	Twin reversed arterial perfusion (TRAP).....	33
2.3	Mortalita monochoriálních dvojčat	34
2.4	Charakteristika placent monochoriálních dvojčat.....	36
2.4.1	Embryogeneze fetoplacentární jednotky	36
2.4.2	Tvorba choriální cirkulace	41
2.4.3	Interfetální anastomózy	42
2.4.3.1	Arterio-arteriální anastomózy	43
2.4.3.2	Arterio-venózní anastomózy	46
2.4.3.3	Veno-venózní anastomózy	47
2.4.4	Inzerce a vzdálenosti pupečnicků	48
2.5	Nitroděložní úmrtí u monochoriálních dvojčat.....	50
2.5.1	Příčiny nitroděložního odúmrťi specifické pro monochoriální dvojčata ..	51
2.5.2	Selektivní nitroděložní úmrtí v jednotlivých obdobích gravidity	54
2.5.3	Riziko neurologického postižení pro přeživší plod	56
2.6	Management rizikových monochoriálních těhotenství.....	58
3	CÍLE A HYPOTÉZA DISERTAČNÍ PRÁCE	60
3.1	Tvorba simulačního modelu akutní FFTR.....	60
3.2	Stanovení prediktorů akutní FFTR.....	61
4	METODIKA POUŽITÁ V RÁMCI DISERTAČNÍ PRÁCE.....	64
4.1	Charakteristika souboru	64
4.2	Placentární studie: metodika přípravy placentární tkáně	63
4.3	Placentární studie: metodika kanylace cév pahýlu pupečnicků	63
4.4	Placentární studie: metodika simulace akutní FFTR.....	64
4.5	Použité statistické metody	65
5	VÝSLEDKY	66

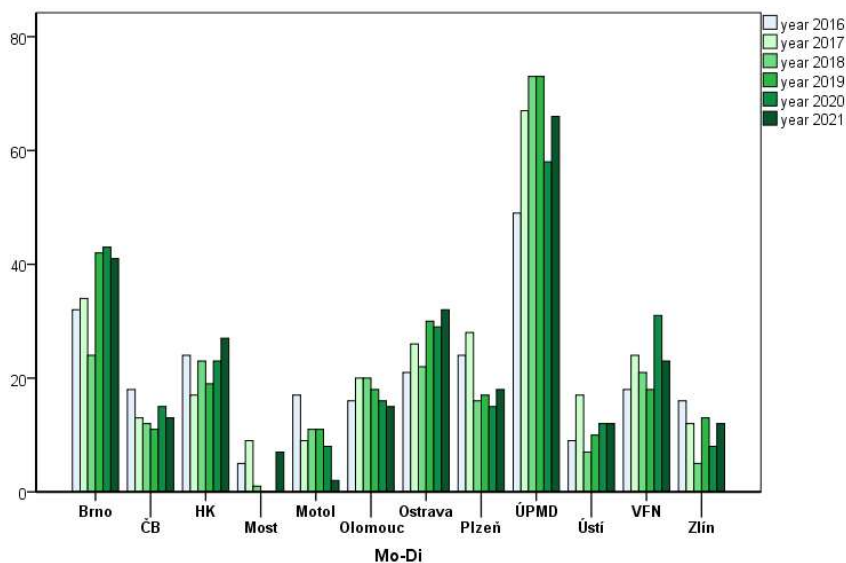
6	DISKUSE	69
7	ZÁVĚR.....	74
8	SOUHRN	76
9	SUMMARY	78
10	PŘÍLOHY	81
10.1	Obrázky týkající se studie	81
10.2	Tabulky týkající se studie	85
10.3	Grafy týkající se studie	89
10.4	Seznam obrázků, tabulek a grafů.....	97
10.5	Seznam použité literatury	104
10.6	Publikované práce.....	118

1 Úvodní slovo

Projekt *in vitro* simulace akutní feto-fetální transfúze (FFTR) monochoriálních dvojčat a současně též téma předložené disertační práce vznikly v souvislosti s činností Centra fetální medicíny (CFM) Ústavu pro péči o matku a dítě (ÚPMD). Projekt CFM byl zahájen v roce 2012 s cílem vybudovat pracoviště centralizující případy prenatálních komplikací s nutností intrauterinního operačního řešení pro Českou a Slovenskou republiku. Skupinou s největším potenciálem prenatálního operačního intrauterinního řešení jsou vícečetná těhotenství, především monochoriální (MC) dvojčata. Od samého počátku CFM ÚPMD spolupracovalo s jedním z největších světových perinatologických center realizující intrauterinní intervence na těhotné děloze v belgické Lovani. Systematickou činností nově otevřeného pracoviště, detailní analýzou dat, jejich prezentací a spoluprací s ostatními perinatologickými a prenatálně diagnostickými centry nejenom v České republice ale i na Slovensku, se podařilo koncentrovat do ÚPMD rizikové případy MC dvojčat. V současné době koncentruje naše pracoviště nejvíce MC dvojčat z celé České republiky (Graf 1, Graf 2).



Graf 1: Přehled porodů dichoriálních dvojčat v jednotlivých perinatologických centrech v České republice. Zdroj: MUDr. Petr Velebil, CSc.



Graf 2: Přehled porodů monochoriálních dvojčat v jednotlivých perinatologických centrech v České republice. Zdroj: MUDr. Petr Velebil, CSc.

Součástí praktického výcviku lékařů v provádění intrauterinních intervencí byla postnatální analýza placent MC dvojčat, která se stala základem pro projekt simulace FFTR. Analýzy placentární angioarchitektury výrazně přispěly k získání orientace v průběhu intrauterinních operací a společně se znalostí klinických průběhů MC gravidit byly tyto poznatky zcela esenciální pro další práci centra a redukci komplikací.

Aktuálně není známa studie, která by přímo určovala základní riziko akutní FFTR u jednotlivých typů MC dvojčat. Současné práce zabývající se tématikou akutní FFTR vycházely pouze z retrospektivních klinických údajů proběhlých případů transfuzí in vivo a jejich následků. Proto byl vypracován koncept in vitro simulace akutní FFTR u MC placenty.

Cílem disertační práce je hodnocení rizika akutní FFTR na základě analýzy choriální angioarchitektury u MC dvojčat za pomoci in vitro simulačního modelu.

2 Problematika vícečetných těhotenství

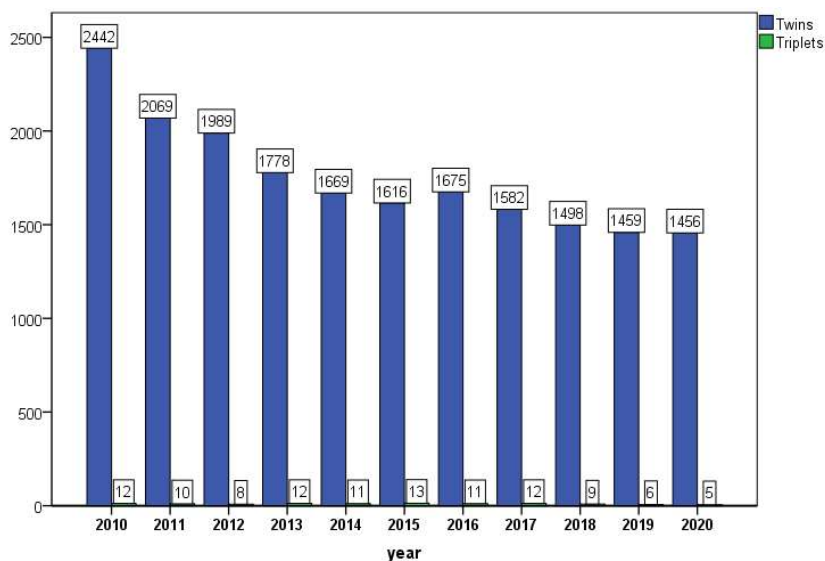
Výskyt dvojčetných gravidit, jako zcela dominantního zástupce vícečetných těhotenství, celosvětově narůstá, v mnoha centrech se podílí 2-3 % všech porodů (1,2).

Dvojčetná těhotenství obecně představují oproti jednočetným graviditám zvýšená rizika mateřských a fetálních komplikací (3). Z mateřských komplikací to jsou především: 3x vyšší mateřská mortalita, 2-3x vyšší riziko gestóz a vyšších peripartálních krevních ztrát (4). Perinatální mortalita a morbidita dvojčat je 3 -7x vyšší než u jednočetných těhotenství. Je dána především pěti až deseti násobným rizikem předčasného porodu a s ním spojených perinatálních komplikací (5,6). Mezi hlavní komplikace spojené s předčasným porodem patří syndrom respirační tísně, nekrotizující enterokolitida, intraventrikulární krvácení a sepse (7-9).

Kromě obecných rizik existují specifická rizika daná chorionicitou. MC dvojčata jsou více ohrožena než dvojčata dichoriální (DC) (10). Perinatální mortalita MC dvojčat je 2x vyšší než u DC a 4x vyšší než je u jednočetných gravidit. Mezi běžné komplikace patří předčasný porod, fetální růstová restrikce anebo úmrtí jednoho dvojčete (SIUD) (11,12). Incidence vrozených vývojových vad je u MC dvojčat 6 %, u DC 3 % a u jednočetných těhotenství 2 %. Chromozomální aberace se vyskytují v 85 % případů u jednoho z plodů (diskordantní vývojové vady), asi 15 % se vyskytuje u obou plodů (konkordantní vývojové vady) (2).

Dvojčetná těhotenství nejsou v lidské populaci vzácností. Vyskytují se celosvětově přibližně v počtu 1:80 živě narozených dětí, což prakticky znamená, že každý 40. novorozenec pochází ze dvojčat (13). Relativně stabilní počty zaujímají MC dvojčata, zatímco velká variabilita existuje ve skupině DC dvojčat. Prevalence spontánně vzniklých dvojčetných těhotenství je v různých částech světa rozdílná. Pohybuje se v rozmezí počtu od 6 na 1000 porodů v oblasti Asie, přes 10-20 na 1000 porodů v Evropě a do 40 na 1000 porodů dvojčetných gravidit v Africe (13-15). Mezi lety 1980 až 2006 došlo k nárůstu dvojčetných gravidit o více jak 60 % a

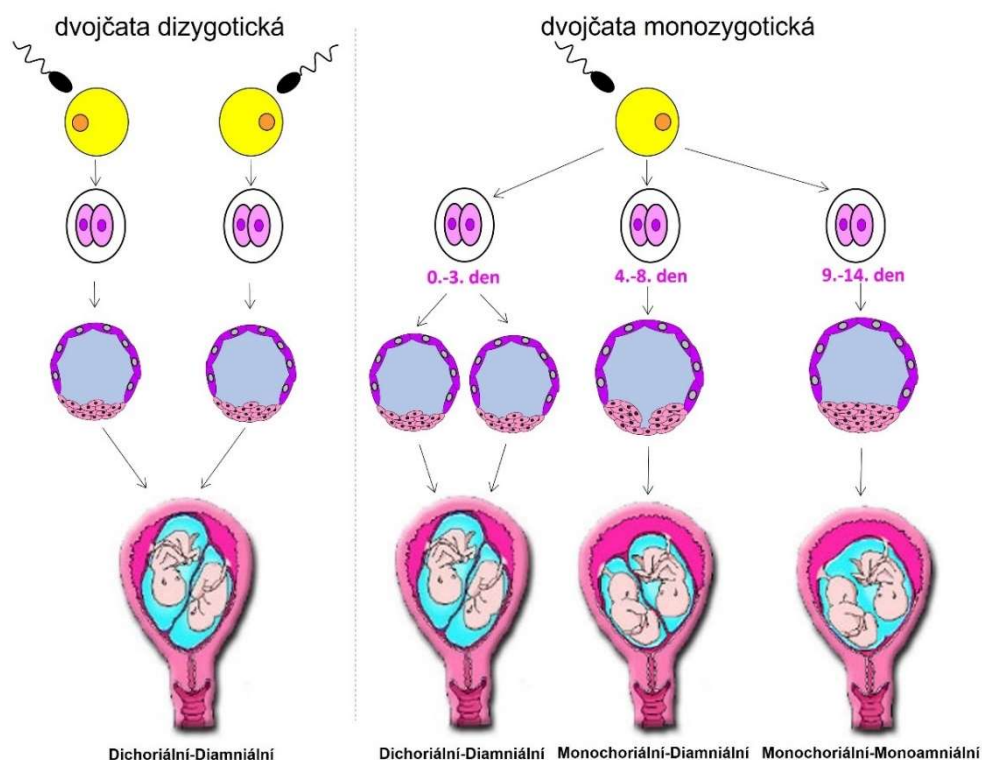
v současnosti narození dvojčat reprezentuje 4 % všech živě rozených novorozenců (16). Za posledních třicet let lze v ekonomicky vyspělých zemích pozorovat dramatický nárůst vícečetných gravidit. Například v Anglii a Walesu došlo mezi lety 1975 až 2002 k nárůstu počtu dvojčat o 50 %, v Nizozemí za stejné období dokonce o 90 % (17). Zásadní roli sehrály dva faktory. Prvním faktorem je stoupající věk rodiček (16-18). Druhým faktorem jsou techniky in vitro fertilizace (IVF) a s ní spojené metody asistované reprodukce (20). Česká republika kopíruje, co se vícečetných těhotenství týče, trendy ekonomicky vyspělých zemí. V roce 2010 činil medián porodů vícečetných těhotenství v rámci Evropy 16.8 ‰. Česká republika měla v uvedeném roce nejvíce vícečetných gravidit z 27 sledovaných evropských zemí. Na 1000 porodů se narodilo 21 dvojčat (včetně mrtvorozených). Zajímavé je rovněž věkové rozložení českých žen rodících dvojčata. Nejvíce dvojčat v roce 2010 porodily ženy starší 35 let (21,22). Od roku 2010 lze v České republice pozorovat pokles porodů dvojčat a z aktuálně dostupných dat včetně roku 2020 tato sestupná tendence trvá (Graf 3). Lze předpokládat, že pokles vícečetných gravidit v České republice souvisí s poklesem počtu transferovaných embryí u žen podstupujících léčbu sterility. V rámci Evropy existují velké rozdíly, co se týče legislativy, metod úhrad a sociálně-kulturních zvyklostí ve vztahu k asistované reprodukci (23). Jednoznačně lze však v rámci klinické praxe center reprodukční medicíny zaznamenat trend k transferu pouze jednoho embrya.



Graf 3: Trend porodů dvojčat (twins) a trojčat (triplets) v České republice za časové období 11 let (2010-2020). Zdroj: MUDr. Petr Velebil, CSc.

2.1 Embryogeneze dvojčat

Vícečetná těhotenství lze posuzovat jednak dle zygotity, tedy podle počtu oplozených vajíček, a dále pak z pohledu chorionicity. Chorionicita se týká počtu samostatných placentárních jednotek. V případě dvouvaječných (dizygotických) dvojčat, kdy jsou dvě vajíčka oplodněna dvěma spermii, je situace prostá. Každý z plodů se vyvíjí ve svých zárodečných obalech, amniu a choriu a gravidita je vždy dichoriální diamniální (Obr. 1), jedinci mají izolované placentární systémy a jsou geneticky rozdílní.



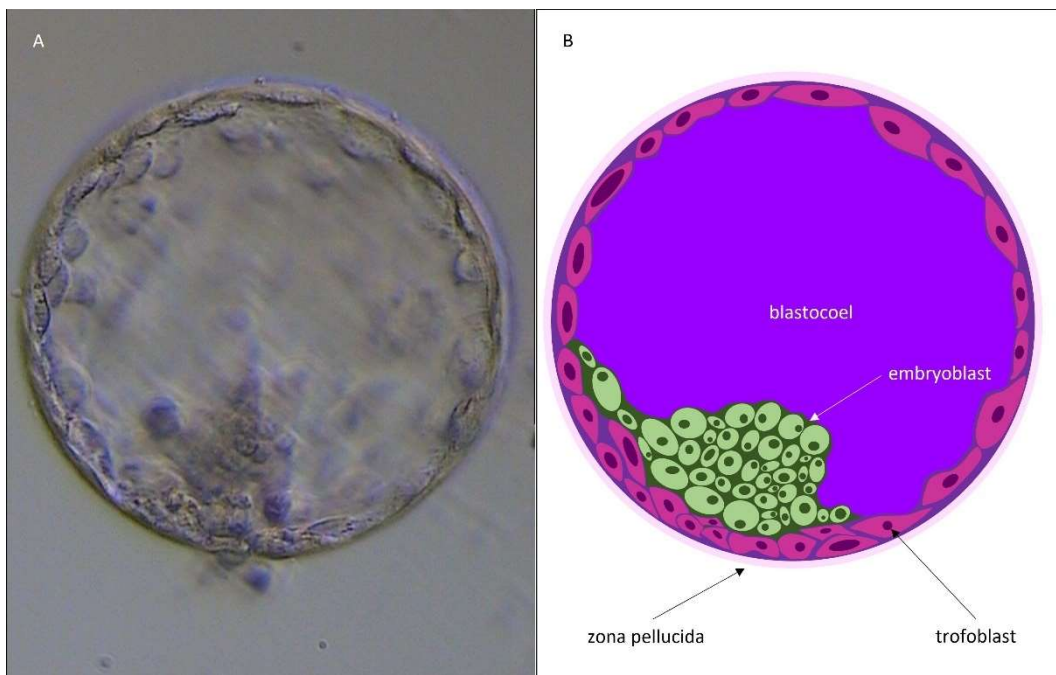
Obr. 1: Rozdělení dvojčat s ohledem na zygotitu a chorionicitu. Dizygotická dvojčata, vznikající oplozením dvou vajíček dvěma spermii, jsou vždy dichoriální diamniální. V případě monozygotických dvojčat rozhoduje o chorionicitě časový interval od oplození do rozdělení společného embryonálního základu. V případě monozygotických dichoriálních diamniálních dvojčat se embryonální základ štěpí ještě před formováním blastocysty. V případě monochoriálních diamniálních dvojčat se embryonální základ štěpí preimplantačně na úrovni blastocysty. V případě monochoriálních monoamniálních dvojčat se materiál dělí po implantaci. Vlastní ilustrace.

V případě jednovaječných (monozygotických) dvojčat je situace složitější. Tato vznikají po oplození jednoho vajíčka jednou spermii. Vzniklá zygota se nijak neliší od zygoty jednočetné gravidity (Obr. 2a). Pro správné pochopení vzniku možných variant jednovaječných dvojčat je vhodné zmínit jednotlivé preimplantační fáze embryonálního vývoje. V průběhu 48 hodin po fertilizaci dochází u jednočetné gravidity k množení buněk embrya a 72 hodin od oplození je embryo tvořeno 8 buňkami (Obr. 2b, c). Dalším překotným buněčným dělením se 96 hodin od oplození formuje útvar, který je v rámci embryogeneze označován jako morula (Obr. 2d). Ve fázi moruly se embryo nachází stále mimo dutinu děložní.

V rámci dalšího embryonálního vývoje se morula diferencuje v blastocystu. K této transformaci dochází přibližně 120 hodin po oplození, kdy se morula dostává do oblasti dutiny děložní. Zona pellucida, která se nachází na povrchu moruly, se stává propustnou pro vodu, která vstupuje do lumen moruly. Výsledkem je přeskupení buněk (blastomer), formování velkých mezibuněčných prostorů a vznik blastocysty (Obr. 3). Blastocysta niduje do deciduálně změněného endometria šestý den po oplození.



Obr. 2: **A)** Zygota 18 hodin po oplození. Uvnitř zygoty jsou patrné dvě prvojádra a pólové tělísko. **B)** Čtyřbuněčné embryo 48 hodin od oplození. Jednotlivé buňky se označují jako blastomery. **C)** Osmibuněčné embryo 72 hodin od oplození. **D)** Blastoméry embrya se intenzivně mitoticky dělí, tento proces (rýhování) dává vzniknout 96 hodin od oplození útvaru, který je označován jako morula. Vrstva obalující morulu se nazývá zona pellucida, jedná se o glykoprotein. Obrazová dokumentace pochází z Centra asistované reprodukce ÚPMD.



Obr. 3: A) Blastocysta 120 hodin po oplození. Blastocysta se diferencuje z moruly poté, co je tato transportována do dutiny děložní. **B)** Uvnitř blastocysty se vytváří souvislá dutina, kterou označujeme jako blastocoel. Blastomery se diferencují do dvou základních skupin buněk. Trofoblast, který obklopuje embryo po jeho obvodu, a embryoblast, který reprezentuje vnitřní buněčnou masu, ze které se vyvíjí vlastní embryo. Obrazová dokumentace pochází z centra asistované reprodukce ÚPMD, vlastní kolorace.

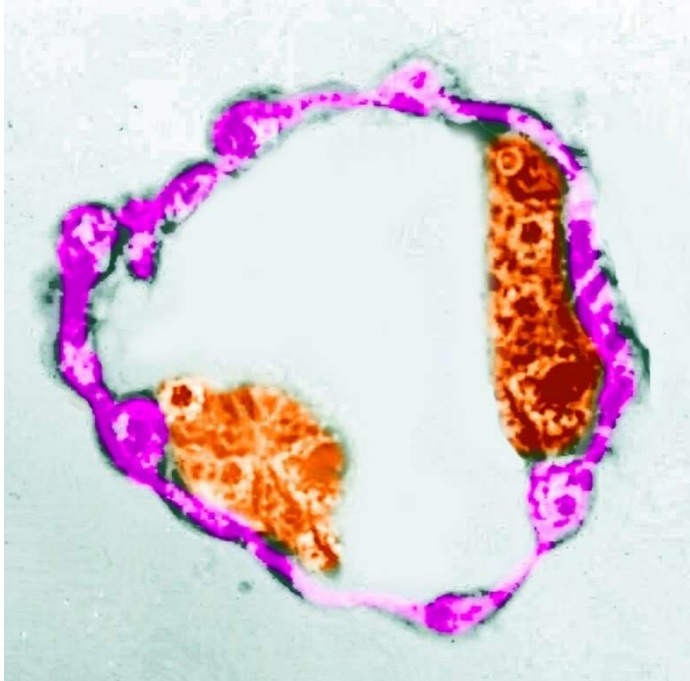
Předpokladem pro zdárnou nidaci do deciduálně změněného endometria je proces, při kterém se blastocysta zbaví své zóny pellucidy. Tento proces je označován v anglosaském písemnictví jako hatching (Obr. 4). Česká literatura pracuje s termínem "líhnutí".



Obr. 4: Hatching zony pellucidy. Základní předpoklad pro vytvoření kontaktu mezi trofoblastem a deciduálně transformovaným endometriem je uvolnění embrya z glykoproteinového obalu zony pellucidy. Obrazová dokumentace pochází z Centra asistované reprodukce ÚPMD.

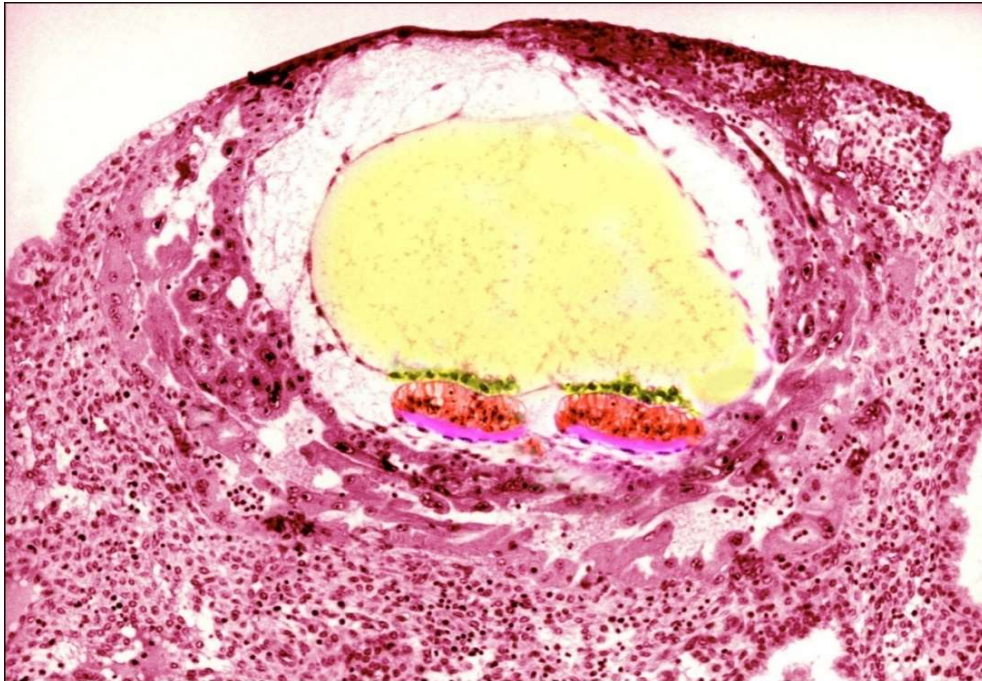
Placentární architektura MC dvojčat naznačuje embryonální stadium, ve kterém došlo k rozdělení iniciálního embrya. Vzniklí jedinci jsou téměř vždy geneticky identičtí. Pokud se embryo rozdělí před diferenciací blastomer na zevní (trofoblast) a vnitřní (embryoblast) vrstvu buněk, tedy ještě před formováním blastocysty, to znamená během prvních tří až čtyř dnů po oplození, jsou výsledkem dvě samostatné blastocysty a výsledná MZ dvojčata jsou dichoriální diamniální.

Pokud se masa buněk embryoblastu blastocysty rozdělí ještě v preimplantační fázi na dvě skupiny, budou MZ dvojčata monochoriální diamniální. Na časové ose od oplození k tomuto jevu dochází mezi čtvrtým až osmým dnem (Obr. 5).

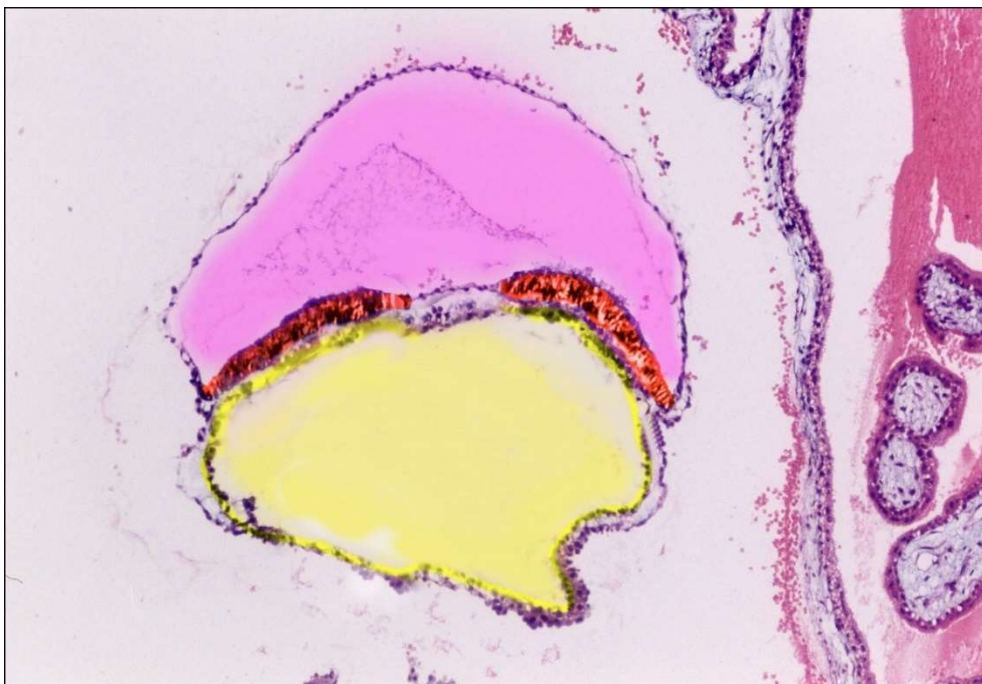


Obr. 5: Blastocysta s diferenciací blastomer do vrstvy trofoblastu a dvou izolovaných skupin embryoblastů. Jedná se o preimplantační stav detekovaný náhodně v rámci histologického zpracování materiálu po hysterektomii. Uvedená obrazová dokumentace pochází z materiálu prof. MUDr. J.E. Jiráska, DrSc. Koloraci provedl pan profesor osobně.

V případě, že k dělení embryoblastu dojde v postimplantačním blastocystovém období, tedy mezi osmým až čtrnáctým dnem po oplození, jsou výsledná monozygotická dvojčata monochoriální monoamniální (Obr. 6, Obr. 7).



Obr. 6: Postimplantační nález monochoriálních monoamniálních dvojčat. Jedná se o náhodný nález v rámci histologického zpracování materiálu po hysterektomii. Uvedená obrazová dokumentace pochází z materiálu prof. MUDr. J.E. Jiráska, DrSc. Koloraci provedl pan profesor osobně.



Obr. 7: Postimplantační nález monochoriálních monoamniálních dvojčat. Jedná se o náhodný nález v rámci histologického zpracování materiálu po hysterektomii. Uvedená obrazová dokumentace pochází z materiálu prof. MUDr. J.E. Jiráska, DrSc. Koloraci provedl pan profesor osobně. Dělení po 14. dnu embryogeneze již nemůže proběhnout v celém rozsahu a dává vzniknout srostlicím (24). Níže uvedená Tab. 1 shrnuje jednotlivé

varianty dělení monozygotických dvojčat včetně četností zastoupení v populaci (24).

dělení embrya	chorionicita	amnionicita	četnost v populaci (%)
0.-4. den	dichoriální	diamniální	30
4.-8. den	monochoriální	diamniální	67
8.-14. den	monochoriální	monoamniální	2
>14. den	monochoriální	monoamniální	< 1

Tab. 1: Typy monozygotických dvojčat s ohledem na den dělení společného embryonálního základu a frekvence jednotlivých typů v populaci.

Techniky používané v rámci asistované reprodukce mohou mít vliv na dělení embrya. V případě suboptimální komunikace mezi blastomery vyvíjejícího se embrya, například na podkladě snížené teploty mezi 0.-3. dnem po fertilizaci, se tyto mohou rozdělit ve dva embryonální základy a vyústit ve vznik dvou samostatných blastocyst. Metoda intracytoplazmatické injekce spermie či asistovaný hatching mohou mít za následek abnormální proces hatchingu, který může vést k disekci trofektodermu a vytvoření dvou samostatných blastocyst.

2.2 Komplikace monochoriálních vícečetných těhotenství

Monochoriální komponenta reprezentuje zvýšený stupeň rizik v rámci vícečetných gravidit. Podíl MC dvojčat tvoří 20 % všech dvojčetných těhotenství. Riziko úmrtí mezi prvním trimestrem a 24. týdnem je přibližně 12%, což je 6x vyšší ve srovnání s 2% rizikem úmrtí u DC dvojčat. Tento poměr v neprospěch MC dvojčat zůstává po celou další dobu gravidity. Riziko těhotenské ztráty MC dvojčat je 5x vyšší než u DC dvojčat a až 10x vyšší než u jednočetných gravidit. Nezanedbatelné je rovněž riziko předčasného porodu, které je před 32. týdnem gestace u MC dvojčat 2x

vyšší než u dvojčat DC a 10x vyšší ve srovnání s jednočetnou graviditou (24).

Příčiny vyššího výskytu patologií u monochoriálních dvojčat lze hledat ve třech oblastech. První vyplývá z vícečetné gravidity jako takové. Riziko preeklampsie je až 3x vyšší u vícečetné gravidity bez ohledu na chorionicitu. Vysoké riziko předčasného porodu u vícečetných gravidit je dáno zvýšenou distenzí dělohy v kombinaci s ostatními rizikovými faktory předčasného porodu (25).

Další skupina patologií vyplývá z principu rozdělení zárodečného materiálu v průběhu embryogeneze. Výskyt morfologických vrozených vývojových vad je 2-4x častější u dvojčat monozygotických než u dvojčat dizygotických. U monochoriálních monoamniálních vícečetných gravidit je četnost vývojových vad ještě vyšší, dosahuje 20-25 % a u srostlic se setkáváme se strukturálními abnormalitami prakticky u 100 % případů (26). Za možnou příčinu této teratogenity se pokládá nerovnoměrné rozdělení množství buněk směřující k jednomu a druhému zárodku. Za možné se pokládá také rozdělení embrya až po tzv. časné polarizaci buněk – buňky „levé“ a „pravé“. Není tedy pravdou, že se vrozená vývojová vada vyskytuje vždy u obou plodů. To se týká jen vrozených vad hereditárních. V praxi se setkáváme častěji s vrozenými vadami jen u jednoho z dvojčat. Hovoříme o diskordantních vývojových vadách, které představují přibližně 80 % vývojových vad u MC dvojčat. Konkordantní vady se vyskytují u obou plodů a představují 20 % vad. Nejčastější typem postižení jsou vývojové vady centrálního nervového systému následované srdečními vadami. Ostatní vývojové vady jsou méně časté.

Třetí skupina patologií je již zcela specifická pro monochoriální dvojčata a je dána společně sdíleným placentárním oběhem (27-29). DC dvojčata mají zcela oddělený a nezávislý oběhový placentární systém, zatímco asi 95 % MC dvojčat vykazuje povrchové cévní placentární anastomózy, spojující oba oběhy (30). Tato skutečnost je zodpovědná za některé typické komplikace u monochoriálních dvojčat, jako je: a) syndrom interfetální transfuse (TTTS: twin-to-twin transfusion syndrome), b) sekvence anémie-

polycytemie (TAPS: twin anemia polycythemia sequence), c) sekvence TRAP (TRAP: twin reversed arterial perfusion). Interfetální vaskulární anastomózy jsou různého kalibru od zanedbatelných až po masivní, vysokokapacitní. Charakter cévního spojení ovlivňuje klinický průběh MC gravidity. Rozlišujeme spojky veno-venózní (V-V), arterio-venózní (A-V) a arterio-arteriální (A-A). Průběh gravidity a vývoj obou plodů je dán tím, jak rovnoměrně plody sdílí společný parenchym placenty, zároveň ale také počtem, typem a kapacitou placentárních anastomóz (31).










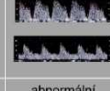



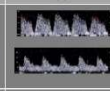

Anastomózy jsou zároveň příčinou dalšího specifického rizika MC gravidit, tím je akutní FFTR. Pokud z jakéhokoliv důvodu dojde k nitroděložnímu úmrtí jednoho z plodů (sIUUD), má pokles arteriálního tlaku v cirkulaci mrtvého plodu a vzniklý tlakový gradient za následek přestup náplně řečiště vitálního plodu přes interfetální anastomózy do řečiště plodu mrtvého. Akutní FFTR následně vede k exsanguinaci přeživšího plodu. Míra a rychlost transfúze je podmíněna opět charakteristikou cévních spojek. Jsou-li anastomózy nečetné, nevelkého kalibru, dojde k trombotizaci řečiště mrtvého plodu dříve a přeživší plod je do určité míry ochráněn. K úmrtí druhého plodu (dIUUD) při intrauterinní smrti plodu prvního dochází v 15 %. Ovšem i v případě přežití dochází k nevratné neurologické alteraci až ve 26 % případů (32). Riziko akutní FFTR je klíčovým faktorem, který ovlivňuje přístup k vedení gravidity a plánování jejího ukončení (33).

Různá forma komplikací nastává až ve 20 % jednovaječných vícečetných gravidit (34). Při počtu porodů okolo 100 000 ročně se v České republice narodí na 300 monochoriálních dvojčat. Vzhledem k výše uvedenému lze předpokládat 60 komplikací MC gravidit ročně.

2.2.1 Specifické komplikace monochoriálních dvojčat

2.2.1.1 Twin to twin transfusion syndrome (TTTS)

TTTS je chronická forma feto-fetální transfuze postihující asi 9-12 % MC dvojčat (35). Historicky byl TTTS diagnostikován po porodu na základě neonatálních kritérií, která zahrnovala růstovou diferencí 15-20 % spojenou s rozdílnou koncentrací hemoglobinu. Hranice tehdy byla stanovena 5 g/dl. Následná studie Wenstroma et al. stanovila, že pro diagnostiku TTTS by měla být opuštěna jakákoli kombinace hmotnosti a výše zmíněných historických neonatálních parametrů (36). V dnešní době se TTTS diagnostikuje prenatálně ultrazvukovým vyšetřením. Syndrom vzniká obvykle ve druhém trimestru těhotenství a diagnóza je založena na přítomnosti tzv. oligo-polyhydramniové sekvence (TOPS-twins oligo-polyhydramnion sequence). Pro diagnostiku TTTS platí následující ultrazvuková kritéria: a) dvojčetné těhotenství je diagnostikováno jako monochoriální, b) současný výskyt, a tedy kombinace oligohydramnia u jednoho a polyhydramnia u druhého dvojčete. Plod s oligohydramniem je označen jako donor, plod s polyhydramniem recipient. Dvojčetné těhotenství, které splňuje výše uvedená kritéria, je klasifikováno jako dvojčetné MC těhotenství s TTTS a další klasifikace je hodnocena dle Quintera a kol. (37). Níže uvedená Tab. 2 uvádí přehled hodnocení jednotlivých stupňů TTTS dle Quintera.

Stupeň TTTS	donor				Recipient			
	depo plodové vody	močový měchýř	cirkulace	hydrops	depo plodové vody	močový měchýř	cirkulace	hydrops
Stage I	 oligohydramnion DVP≤2 cm	 je s náplní	normální doppler	není přítomen	 polyhydramnion DVP>8 cm DVP>10 cm	 je s náplní	normální doppler	není přítomen
Stage II	oligohydramnion DVP≤2 cm	 bez náplně	normální doppler	není přítomen	polyhydramnion DVP>8 cm DVP>10 cm	 je s náplní	normální doppler	není přítomen
Stage III	oligohydramnion DVP≤2 cm	 bez náplně	 abnormální doppler	není přítomen	polyhydramnion DVP>8 cm DVP>10 cm	 je s náplní	 abnormální doppler	není přítomen
Stage IV	oligohydramnion DVP≤2 cm	 bez náplně	 abnormální doppler	není přítomen	polyhydramnion DVP>8 cm DVP>10 cm	 je s náplní	 abnormální doppler	 je přítomen
Stage V	Stage I-IV + nitroděložní úmrtí							

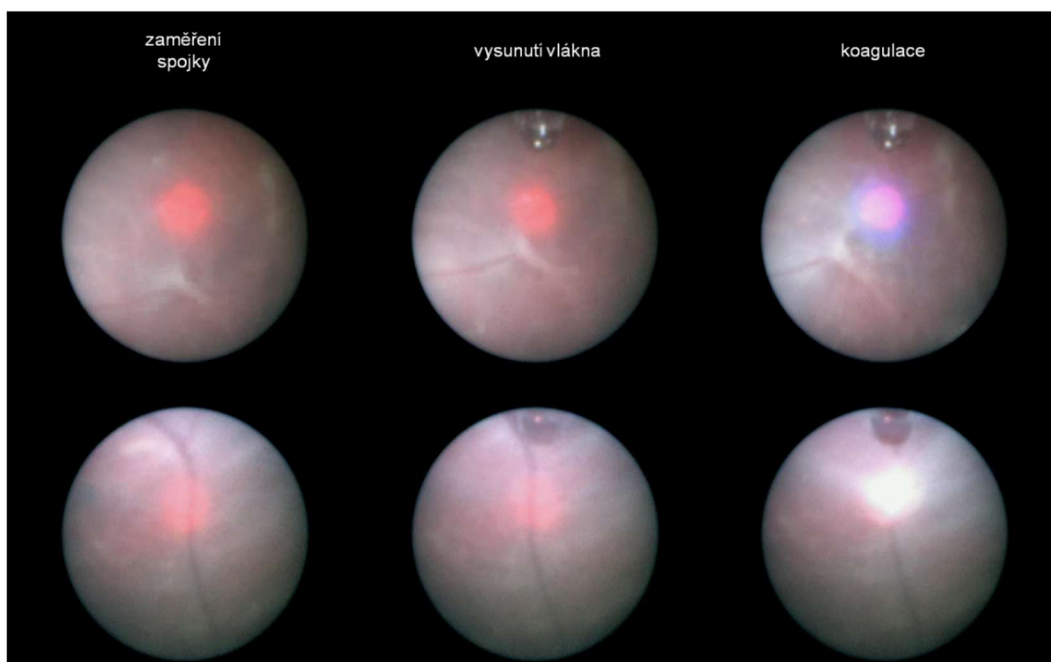
Tab. 2: Klasifikace TTTS dle Quintera (1999). Diferencujeme celkem pět stupňů. K intrauterinní intervenci jsou indikována stadia II.-IV.

Stadium I je definováno jako oligo-polyhydramniová sekvence s rozdílem maximálního volného depa plodové vody donora 1 cm před 20. gestačním týdnem a 2 cm po 20. gestačním týdnu. U recipienta musí být současně polyhydramnion o velikosti 8 cm před 20. gestačním týdnem, respektive 10 cm po tomto období. Stádium II je progresivnější stav s absencí náplně močového měchýře u donora. Onemocnění stadia III nepřímo značí postupné kardiální selhávání z oběhového přetížení, především recipienta. Projevuje se patologickými dopplerovskými ukazateli v žilním řečišti (ductus venosus, umbilikální véna). Onemocnění stadia IV značí pozdní kardiální selhávání projevující se hydropsem plodu, opět především u recipienta. Úmrtí jednoho nebo obou plodů je klasifikováno jako V. stupeň.

Patofyziologickým podkladem TTTS je chronická fetofetální transfuze na podkladě arterio-venózních (A-V) placentárních anastomóz (38). Vzhledem k histologické skladbě těchto cévních spojení je tok pomalý, dle některých výpočtů přibližně 10-15 ml/den. Nejedná se o akutní typ FFTR. Základní léčebnou modalitou je intrauterinní intervence – laserová ablace

placentárních spojek. Peroperační nález koagulace arterio-venózních placentárních anastomóz je patrný na Obr. 8.

Chyba! Nenalezen zdroj odkazů. demonstruje porozenou MC placentu po nástřihu interfetálních anastomóz, kde byla provedena laserová ablace spojek pro TTTS v místě vaskulárního ekvátoru.



Obr. 8: Peroperační nález s vizualizací A-V placentárních anastomóz. Vizualizace a zaměření A-V anastomózy (vlevo), vysunutí optického vlákna (uprostřed) a koagulace anastomózy (vpravo).



Obr. 9: Monochoriální placenta po laserové ablaci placentárních spojek pro TTTS. Peroperačně koagulováno 12 AV anastomóz, nebyla přítomna žádná AA anastomóza. Koagulační linie odpovídá průběhu vaskulárního ekvátoru.

2.2.1.2 Twin anemia-polycythemia sequence (TAPS)

TAPS je svým způsobem pomalejším typem TTTS. Diagnostickým kritériem však není množství plodové vody, hydratace a oběhové přetížení plodů, ale Dopplerovské měření PSV (peak systolic velocity) v arteria cerebri media (MCA) obou plodů. Charakter PSV odráží rheologické vlastnosti krve, především její hustotu, která je přímo úměrná množství erytrocytů v dané objemové jednotce a tím pádem i fetálního hemoglobinu v krvi donora a recipienta. Nepřímo tak poukazuje na anémii, respektive polycytemii plodů. K té dochází podobně jako při klasické formě TTTS díky přítomnosti A-V anastomóz mezi donorem a recipientem. Na rozdíl od klasického transfuzního syndromu jsou však spojky málo kapacitní, nízkokalibrové a solitární. Při této velmi pomalé transfuzi pomocí drobných A-V anastomóz dochází k vyrovnávání noncelulární krevní složky transfundované krve a nepozorujeme tak výrazné rozdíly v množství plodové vody donora a recipienta (39). V posledních letech byla stanovena diagnostická kritéria pro TAPS na základě víceúrovňového evaluačního procesu (40):

- Prenatální
 - Kombinace elevace PSV v MCA $> 1,5$ MoM u jednoho plodu a současně $< 0,8$ MoM u druhého plodu
 - Rozdíl $\geq 1,0$ MoM v PSV MCA plodů
- Postnatální
 - Rozdíl v koncentracích hemoglobinu ≥ 80 g/l
 - Rozdíl v poměru retikulocytů plodů $\geq 1,7$

TAPS se rozvíjí buď primárně nebo iatrogeně po laserovém zákroku pro TTTS. Některé koagulované anastomózy mohou po výkonu totiž zcela nebo částečně rekanalizovat a umožnit transfuzi ve smyslu TAPS. Některé práce uvádí komplikaci TAPS po intrauterinní intervenci pro TTTS mezi 10-15 % (40,41). Primární TAPS se rozvíjí zpravidla až po 26. týdnu gestace a to v 5 % MC dvojčetných gravidit. Řešením TAPS je dle závažnosti a

gestačního stáří porod nebo, podobně jako při TTTS, laserová ablace placentárních anastomóz (41).

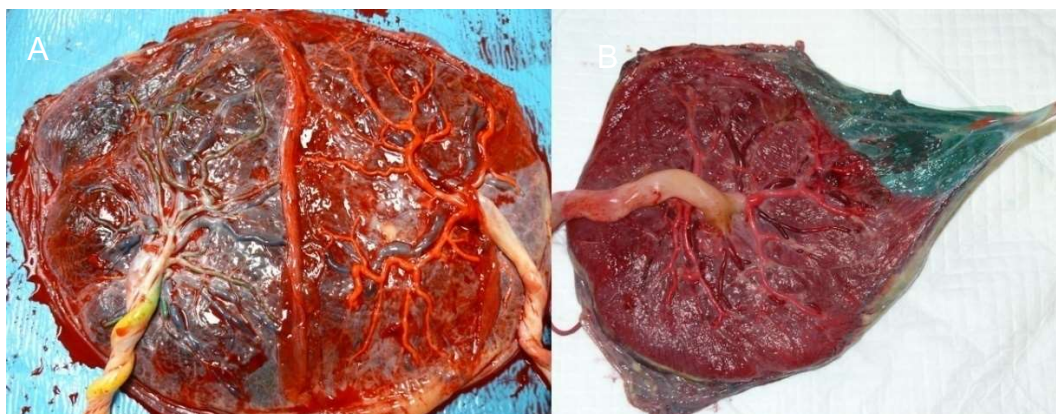
2.2.1.3 Selektivní fetální růstová restrikce (sFGR)

Selektivní fetální růstová restrikce (sFGR-selective fetal growth restriction) u MC dvojčat je patologickým stavem, při němž dominuje opoždění v růstu jednoho nebo obou plodů. Klasifikace sFGR u dvojčat se postupem doby měnily. Původní kritéria odhadované váhy alespoň jednoho z plodů pod 10. percentilem a rozdíl mezi plody 25 % byla rozšířena. Nejnovější klasifikace poruchy růstu u DC i MC dvojčat vznikla v roce 2019 na základě víceúrovňového evaluačního procesu (Delphi procedure) (42). Platí primární a sekundární kritéria stanovení diagnózy pro DC a MC dvojčata. K diagnóze sFGR je třeba jedno primární nebo kombinace 2 sekundárních u DC a 3 sekundárních kritérií u MC dvojčat. Níže uvedená Tab. 3 udává přehled primárních a sekundárních kritérií pro jednotlivé typy dvojčat.

kritérium	chorionicita	
	monochoriální dvojčata	dichoriální dvojčata
primární	EFW < 3.pt.	EFW < 3.pt.
sekundární	EFW < 10.pt. AC < 10.pt. UA PI > 95.pt. rozdíl váhy mezi plody > 25%	EFW < 10.p UA PI > 95.p rozdíl váhy mezi plody > 25%

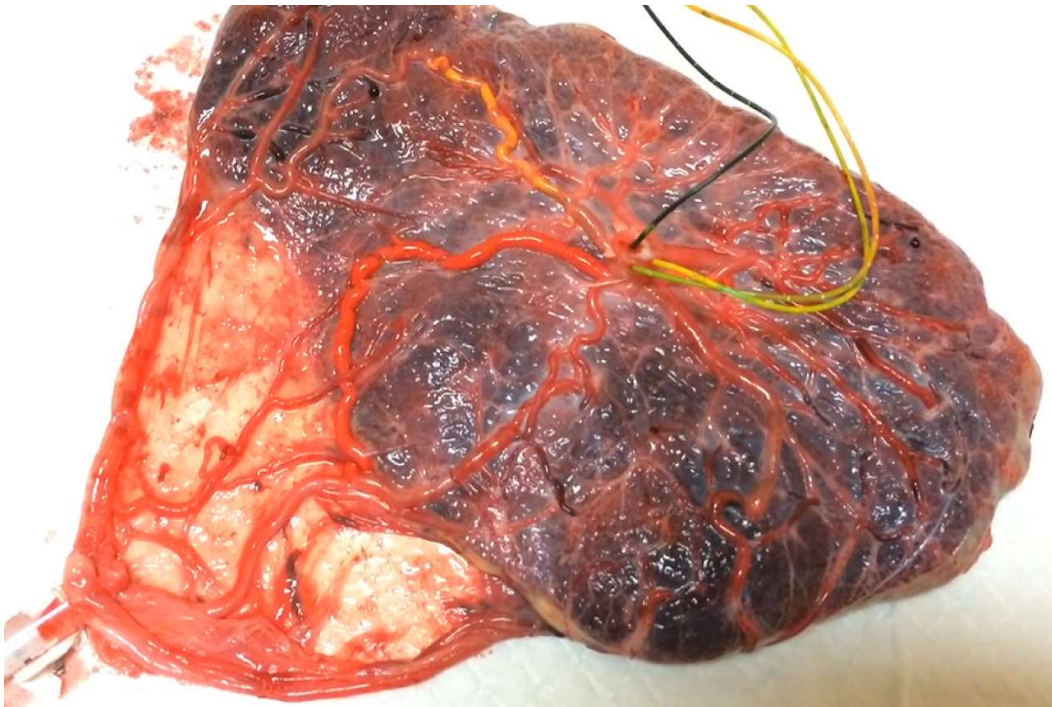
Tab. 3: Diagnostická kritéria sFGR u DC a MC dvojčat. Zkratky: EFW (Estimated fetal weight - váhový odhad plodu), AC (abdominal circumference - obvod trupu plodu), UA (umbilical artery -umbilikální arterie), PI (pulsatility index - index pulzatility) (42).

V závislosti na autorech je uváděn výskyt sFGR mezi 10-20 % MC vícečetných gravidit. Patofyziologickým podkladem je nerovnoměrné rozložení placentární plochy mezi oběma plody (43-45). Obr. 10 demonstruje případ rovnoměrného a nerovnoměrného rozdělení společného parenchymu placenty u monochoriálních diamniálních dvojčat.



Obr. 10: A) Monochoriální diamniální placenta u jednovaječných dvojčat s normálním průběhem těhotenství. Společný placentární parenchym je rozdělen na dvě téměř identická teritoria. Vaskulární ekvátor je lokalizován ve středu placenty a téměř se shoduje s průběhem úponu obalů. **B)** Monochoriální diamniální placenta u jednovaječných dvojčat s komplikovaným průběhem těhotenství sFGR. Je zřetelné nerovnoměrné rozdělení společného placentárního parenchymu v neprospěch jednoho z plodů. Plod s sFGR začal vykazovat sonografické známky restrikce v 18. týdnu gestace. Rodiče se rozhodli pro expektativní přístup. Ve 28. týdnu bylo nutné těhotenství ukončit. Zeleně kolorovaná část monochoriální placenty zobrazuje teritorium plodu se sFGR.

Některé nálezy disproporčního dělení parenchymu placenty mohou mít extrémní rozsah a plod se sFGR existuje pouze díky tzv. rescue (viz níže) anastomózám (Obr. 11). Pro výsledný klinický obraz ovšem i zde hraje zásadní roli přítomnost a kalibr těchto anastomóz. Kapacitní A-A spojky mohou nerovnoměrné rozdělení placenty modifikovat. V některých případech se dá hovořit o protektivní funkci u menšího z plodů (Obr. 11), zároveň ovšem stále představují riziko pro přeživší plod v případě nitroděložního úmrtí druhého plodu.

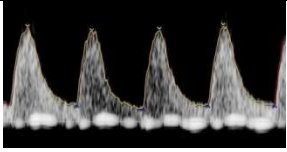
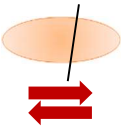
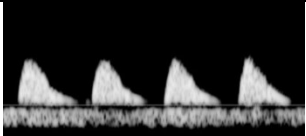
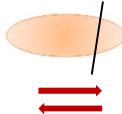
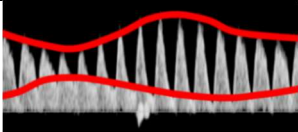
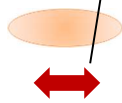


Obr. 11: MC placenta s klinickým průběhem sFGR. Patrná výrazná disproporce placentárních ploch, rescue A-A anastomóza (červené barvivo) s monopodiálním větvením a velamentózním úponem pupečníku menšího z plodů.

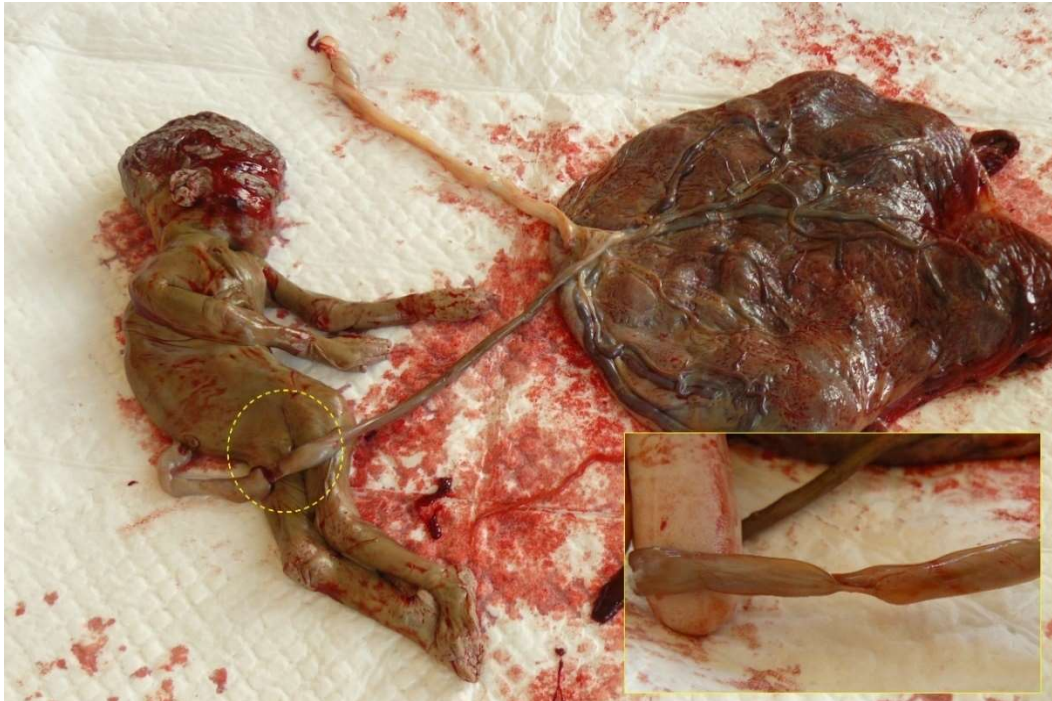
Péče o MC gravidity se sFGR se opírá o klasifikaci, která byla publikována v roce 2007 pracovní skupinou Gratacos a kol. (46). Autoři upravují přístup k těhotenství se sFGR podle charakteristik dopplerovského toku v umbilikální arterii menšího z plodů. Problematiku zjednodušeně shrnuje Tab. 4.

V případě, že dochází k rozvoji sFGR před hranicí viability nebo v období periviabilním, nepředstavuje porod adekvátní řešení z důvodu extrémní prematurity. Tehdy je na místě zvažovat intrauterinní intervenci. Možnosti jsou dvě. Variantou je „obětovat“ menší plod ve prospěch doposud lépe vyvíjejícího se plodu. V tomto případě provádíme intrauterinní fetální výkon typu bipolární pupečnickové okluze (BPO). Jedná se o selektivní fetocidu plodu postiženého sFGR. Při této variantě je pravděpodobnost nekomplikovaného pokračování těhotenství s jedním vitálním plodem do přijatelného gestačního stáří vysoká, zpravidla okolo 90 %. Obr. 12

demonstruje ukázkou placentární tkáně po BPO u případu MC dvojčat komplikovaných sFGR.

typ	flow v umbilikální arterii plodu se sFGR	placentární anastomózy	prognóza	ukončení gravidity
Typ I	 <p>zvýšený PI v umbilikální arterii, tok je homogenní</p>	 <p>ano, kapacitní, (protektivní funkce)</p>	dobrá	po 34. týdnu
Typ II	 <p>patologický tok v umbilikální arterii (nulový/reverzní tok), tok je homogenní</p>	 <p>ano, méně (chybí protektivní funkce)</p>	špatná	do 32. týdne
Typ III	 <p>proměnlivý tok v rozmezí patologie - fyziologie, jedná se o projev přítomné hemodynamicky významné A-A anastomózy</p>	 <p>ano, velmi kapacitní, A-A způsobující nestabilitu systému</p>	špatná	do 32. týdne

Tab. 4: Klasifikace sFGR u MC dvojčat do tří typů na základě dopplerovského vyšetření v umbilikální arterii plodu se sFGR. Zkratky: PI - index pulzatility, A-A - arterio-arteriozní anastomóza.



Obr. 12: MC placenta s klinickým průběhem sFGR. Ve 23. gestačním týdnu byla provedena bipolární okluze pupečnicku plodu se sFGR pro reversní tok v umbilikální arterii typ III. Těhotenství bylo ukončeno ve 34. týdnu gestace (33+4) pro FGR druhého plodu.

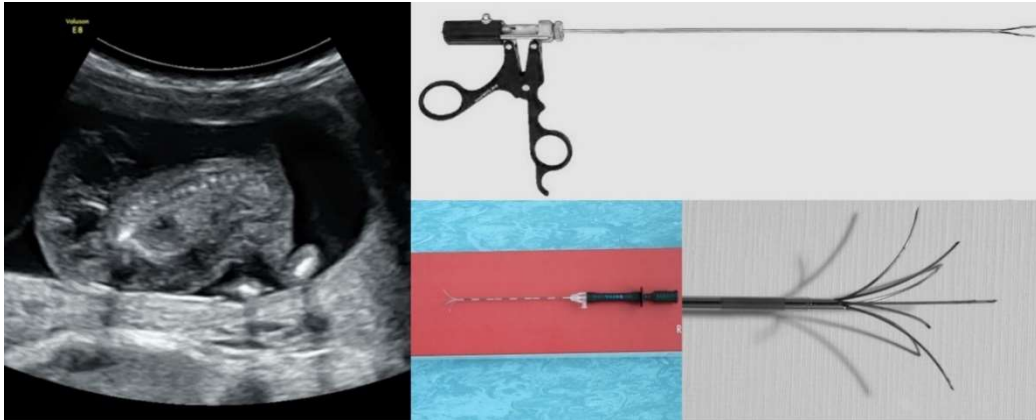
Ne vždy je však aktivní fetocida přijatelnou variantou pro rodiče. Tehdy možným výkonem zůstává, podobně jako u TTTS, laserová dichorionizace placenty. Koagulací placentárních anastomóz redukuje riziko vzniku a průběhu akutní FFTR v případě úmrtí plodu se sFGR (47-49). Plody jsou však následně odkázány jen na svoji teritoriální část placenty. Některé práce uvádí horší neurologické výsledky u plodů po laserové dichorionizaci placenty (50).

Většinou se skladba anastomóz podobá placentám u dvojčat s fyziologickým průběhem a jediným patofyziologickým procesem je nerovnoměrné rozdělení placentární tkáně mezi oba plody. Nacházíme zde většinou širokou povrchovou A-A anastomózu a několik A-V anastomóz s různým průběhem. U placent s nerovnoměrným rozložením ploch bývá často marginální nebo velamentózní úpon pupečnicku, výlučně u menšího z plodů.

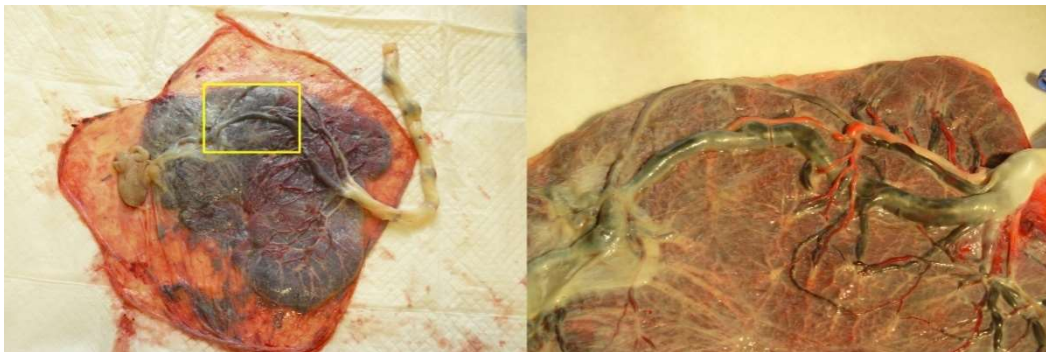
Často jsme svědky kombinace obou doposud zmíněných patologických stavů, TTTS a sFGR (51). Diagnóza by se měla držet uvedených pravidel pro obě jednotky. Oba zmíněné fetální výkony jsou v principu použitelné. Řešení jsou volena individuálně s preferencí korekce TTTS, dále dle stupně závažnosti, gestačního stáří, technických podmínek a v neposlední řadě také přání rodičů.

2.2.1.4 Twin reversed arterial perfusion (TRAP)

Jednotka TRAP je zvláštním stavem, kdy na normálně se vyvíjejícím dvojčeti parazituje mnohočetně malformovaný plod. Často je bez horní části těla a vlastního srdce (acardius amorphus). Za rozvojem této situace je nutno i zde hledat příčinu v placentárních anastomózách již v časných fázích gravidity. Klíčovou roli hraje masivní A-A anastomóza od normálně se vyvíjejícího dvojčete k postiženému plodu (52). Je-li tato spojka dostatečně kapacitní, vede k obrácení směru oběhového systému u parazitického dvojčete. Horní polovina těla se prakticky nevyvíjí, pouze jsou patrné deformované dolní končetiny a část trupu. Strukturálně normální dvojče (tzv. pump twin) postupně kardiálně selhává s rizikem nitroděložního odúmrť, často v období první poloviny druhého trimestru. Řešením je přerušení toku v pupečnicku parazitického dvojčete. Za metodu volby je považována radiofrekvenční ablace nebo bipolární okluze pupečnicku postiženého plodu (Obr. 13). Úspěšnost přežití zdravého plodu je přes 80 %. Obrázek 14 demonstruje nález placenty po vaginálním porodu plodu ve 39. týdnu gestace, kdy v 17. týdnu byla provedena radiofrekvenční ablace pro TRAP.



Obr. 13: Vlevo ultrazvukový obraz postiženého plodu – acardius amorphus. Vpravo intrauterinní instrumentárium pro řešení komplikací TRAP sekvence, nahoře bipolární kleště k okluzi pupečníku postiženého plodu, dole radiofrekvenční jehla k termální ablacii torza postiženého plodu.



Obrázek 14: Monochoriální placenta těhotenství komplikovaného TRAP sekvencí. Patrná masivní A-A a V-V anastomóza způsobující pasivní výživu postiženého plodu zdravým plodem principem obrácené cirkulace. Vlevo částečně resorbovaný postižený plod, u kterého byla provedena radiofrekvenční ablace v první polovině druhého trimestru. Následoval indukovaný porod v termínu.

2.3 Mortalita monochoriálních dvojčat

Z celkového počtu případů nitroděložního úmrtí u MC dvojčat lze ve 29,5 % detekovat souvislost s komplikací typu TTTS nebo sFGR. U 70,5 % jsou případy IUD kategorizovány jako neočekávané.

Monochoriální monoamniální (MCMA) dvojčata jsou pak nejrizikovější podskupinou. Za těmito riziky stojí spojená placentární angioarchitektura. Mortalita jednoho nebo obou plodů se vyskytuje u 5,8 % dvojčat (53). Přežití

jednoho plodu je paradoxně menší (2,5 %) než úmrtnost obou plodů (3,8 %) a liší se dle gestačního stáří. V rozmezí 24.-30. týdne těhotenství se vyskytuje 4,3 % případů, ve 31.-32. týdnu 1,0 % a ve 33.-34. týdnu 2,2 %. Incidence neonatální úmrtnosti se u MCMA dvojčat pohybuje kolem 2,6 % pod 30. gestačním týdnem, po 30. týdnu gestace pouze 0,6 % (54). Po 31. týdnu těhotenství byly všechny případy IUD u MCMA gravidit uzavřeny jako neočekávané a nikoli jako následek chronického stavu, který lze potenciálně identifikovat in utero. U skupiny hospitalizovaných MCMA byla incidence IUD 3,0 %, kde sIUD a dIUD byly zastoupeny v 1,9 % a 1,6 %. U skupiny ambulantně sledovaných MCMA se IUD vyskytlo u 7,4 %, z toho sIUD a dIUD bylo u 2,4 % a 5,3 % případů. Ambulantní režim prakticky 2x zvyšuje pravděpodobnost IUD oproti hospitalizaci. U hospitalizované skupiny bylo 27,9 % IUD způsobeno TTTS nebo sFGR, zatímco 62,1 % bylo neočekávaných. Odpovídající údaje u ambulantní skupiny byly 12,0 % a 88,0 % (55).

V případě plánovaného porodu MCMA dvojčat na 34. týden gestace je ve 37,8 % nutno těhotenství ukončit předčasně pro spontánní nástup předčasné děložní činnosti, odtok plodové vody nebo abnormální CTG nálezy. V případě stanovení termínu porodu na 32. týden gestace vyvstane potřeba ukončit graviditu před uvedeným termínem v 18,5 % případů (z identických indikací jako ve 34. týdnu). Mezi 32.-34. gestačním týdnem se indikace k časnějšímu ukončení objeví v 34,7 %. Podle typu použitého prenatalního managementu bylo riziko neplánovaného porodu 44,9 % u hospitalizované a 42,3 % u ambulantně vedené skupiny těhotných. U skupiny hospitalizovaných těhotenství bylo 22,7 % předčasných porodů spontánních a 44,9 % s abnormálními CTG záznamy. Odpovídající údaje u skupiny těhotenství vedených ambulantně bylo v 16,4 % a 16,7 % případů (54-56).

Celkový výskyt IUD u MCMA těhotenství je přibližně 6 %. K většině ztrát plodu dochází před 30. gestačním týdnem, zatímco riziko úmrtí ve 31.-32. a 33.-34. týdnu gestace bylo významně nižší (1 % a 2 %). Většina IUD byla neočekávaná, což stále vyzývá k nastavení optimálního managementu o

tato riziková těhotenství. Výskyt IUD jednoho nebo obou plodů vedených při hospitalizaci byl 3 % ve srovnání se 7 % v režimu ambulantním (55).

2.4 Charakteristika placent monochoriálních dvojčat

Vzhledem k výše uvedenému je patrné, že placentární angioarchitektura určuje klinický průběh a případná rizika daného typu MC vícečetné gravidity. Hlavními činiteli v tomto ohledu jsou typ, délka, průměr, počet interfetálních anastomóz a rozdělení placentárního parenchymu. Uvedené faktory určují samotné riziko akutní FFTR v případě úmrtí jednoho z plodů. Mezi základní typy anastomóz patří povrchové arterio-arteriální (A-A), veno-venózní (V-V) a hluboké arterio-venózní (A-V) či veno-arteriální (V-A) anastomózy (57). Vzácně se vyskytující hluboké A-A a V-V anastomózy nejsou z hlediska klinického průběhu či rizika akutní FFTR významné.

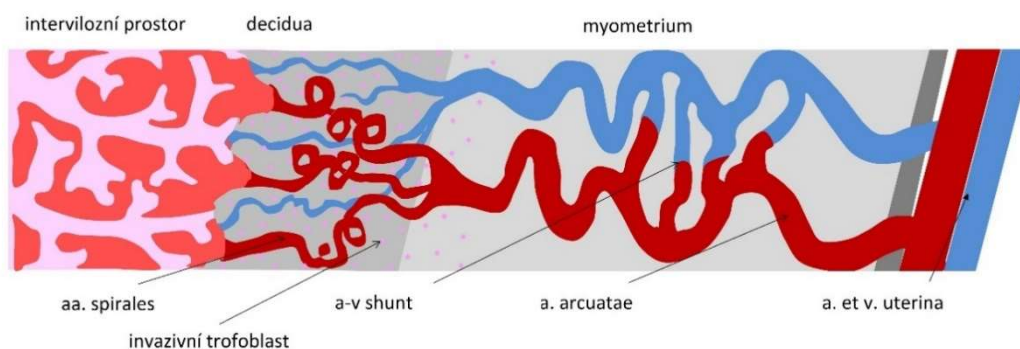
2.4.1 Embryogeneze fetoplacentární jednotky

Základní předpoklad, který musí být splněn pro zdárnou nidaci do deciduálně změněného endometria, je hatching zóny pellucidy. V důsledku destrukční aktivity syncytiotrofoblastu, pokrývajícího její povrch, dochází následně k intersticiální implantaci blastocytu. Výživa je v tomto období zajišťována mateřskou krví, která zárodek omývá (58). Od 11. do 16. dne po oplodnění se formují primární choriové klky. Od 21. dne po oplodnění začíná v klcích cirkulovat fetální krev (59). Po 8. týdnu degenerují klky pokrývající původně celý povrch choria, zachovány zůstanou pouze v kruhové oblasti chorion frondosum proti decidua basalis. Zde se vytváří definitivní diskovitá placenta. Choriový klk je pokryt vrstvou syncytiotrofoblastu, pro jehož buňky je charakteristická bazofilní cytoplazma s množstvím ribozomů a jader, pod ním je nesouvislá vrstva cytotrofoblastu (60). Cytotrofoblast (Langhansovy buňky) je tvořen kubickými buňkami s kulatým jádrem a chromofobní cytoplazmou. Uvnitř je klk vyplněn primárním mezodermem s Hofbauerovými buňkami (primitivní makrofágy)

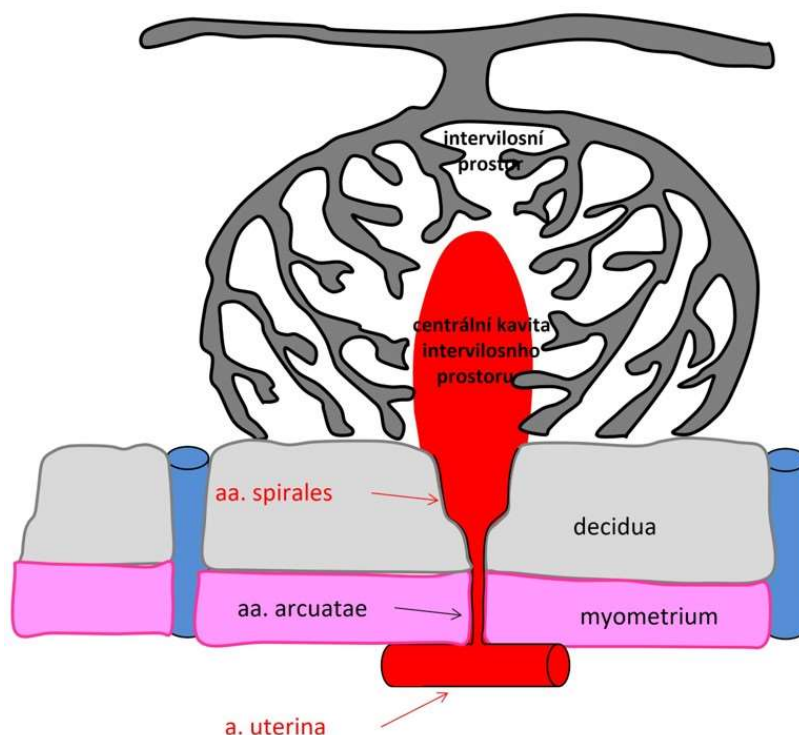
a sítí kapilár (61). Během 4.-5. měsíce se placentární disk rozdělí do 15-20 kotyledonů a dojde k definitivním změnám v histologické stavbě klků. Vyzríváním placenty pomalu mizí cytotrofoblast, diferencují se cévy a makrofágy. V době porodu tvoří placenta diskovitý útvar o hmotnosti odpovídající 15-20 % hmotnosti plodu. Povrch choriových klků je 10-14 m² (62).

Fetální a mateřský oběh v placentě vytváří protiproudový systém. Z fetální strany proudí krev do placenty dvěma umbilikálními arteriemi, které se dělí do radiálních placentárních arterií. Ty se větví v choriové ploténce a dále přecházejí v kapilární síť terminálních klků. Obdobně se spojují tenkostěnné žilky, které odvádějí krev cestou jedné vena umbilicalis do ductus venosus plodu (59-61). Na maternální straně krev tryská otvory v bazální ploténce z obloukových větví spirálovitých děložních arterií a omývá placentární klky (Obr. 15). V důsledku konverze spirálních arterií se krev pod tlakem 70-80 torrů (9,3-10,6 kPa) vlévá do intervilózního prostoru (Obr. 16). V intervilózním prostoru tlak klesá až na 10 torrů (1,3 kPa). Krev se vrací dilatovanými žíly v decidua basalis (63). Tento typ placenty se nazývá hemochoriální. Její difúzní bariéra je tvořena pouze vrstvou syncytiotrofoblastu, jeho bazální membránou a stěnou fetálních kapilár. Ve třetím trimestru je uteroplacentární průtok krve na maternální straně 500-700 ml/min, tj. 100 ml/min/100 g hmotnosti placenty, z toho 75-80 ml/min zásobuje myometrium. Na fetální straně je průtok 50 ml/min/100 g. Průtok je přímo závislý na hemodynamických parametrech plodu. Prostaglandiny E ve fyziologických koncentracích působí vazodilatačně, prostaglandiny F vazokonstrikčně (64-69). Sympatické a-adrenergní podněty (noradrenalin) vyvolávají pokles uteroplacentárního průtoku, b-adrenergní stimulace má minimální vliv. Při děložních kontrakcích průtok klesá vlivem vzestupu cévní rezistence (70). Mimatělní oběh do extraembryonálních membrán zahrnuje dva oběhy: sekundární žloutkový váček (vitelinní oběh) a definitivní placenta (choriový nebo pupečnickový oběh). Z nich se jako první rozvíjí vitelinní oběh a jeho funkce je časově srovnatelná s morfogenezí srdce (71, 72).

V mezenchymu žloutkového vaku lze identifikovat kapilární síť od 5. gestačního týdne. Venózní drenáž je přes oblast vyvíjejících se jater do sinus venosus. Velikost těchto kapilár zůstává pod rozlišením standardního ultrazvukového zobrazení během biologické funkce sekundárního žloutkového vaku. In utero byly studovány pouze větší cévy na vitelinálním vývodu pomocí barevného dopplerovského zobrazení ke konci prvního trimestru, kdy již tato struktura není funkční. Žloutkový váček vykazuje degenerativní změny od 10. týdne těhotenství, což naznačuje, že jeho involuce u normálních těhotenství je spíše spontánním jevem než výsledkem mechanické komprese expandující amniové dutiny (73). Při časném zániku plodu se žloutkový váček zvětšuje a stává se méně denzním v důsledku edému těsně před nebo bezprostředně po zástavě akce srdeční plodu. Tyto variace ve velikosti a vzhledu žloutkového vaku jsou spíše důsledkem abnormálního vývoje nebo odúmrťi plodu než primární příčinou selhání časného těhotenství. Biologické funkce lidského žloutkového vaku nebyly doposud detailně studovány.



Obr. 15: V průběhu I. trimestru endovaskulární extravilózní buňky trofoblastu migrují do lumen spirálních arterií. Buňky intersticiálního trofoblastu migrují skrze endometriální stroma, penetrují cévní stěnu zvenku. Invaze stěny spirálních arterií vede k jejich fyziologické konverzi. Vlastní ilustrace, jako předloha použita publikace: Burton GJ. Rheological and Physiological Consequences of Conversion of the Maternal Spiral Arteries for Uteroplacental Blood Flow during Human Pregnancy, Placenta 2009.



Obr. 16: Schematické zobrazení vyústění konvertované spirální arterie do intervillozního prostoru. V důsledku konverze spirálních arterií se krev pod nízkým tlakem vlévá do intervillozního prostoru. Zde tlak klesá až na 10 torrů (1,3 kPa). Krev se vrací dilatovanými žilami v decidua. Vlastní ilustrace, jako předloha použita publikace: Burton GJ. Rheological and Physiological Consequences of Conversion of the Maternal Spiral Arteries for Uteroplacental Blood Flow during Human Pregnancy, Placenta 2009.

Nedávná data RNA-Seq naznačují prostřednictvím konzervace transkriptů napříč živočišnými druhy, že pravděpodobně slouží pro transport živin do plodu v průběhu časně gestace. Zejména transkripty kódující proteiny zapojené do manipulace a metabolismu cholesterolu jsou jedny z nejčastějších. Cholesterol je nezbytný pro tvorbu buněčných a organelových membrán, a tím i pro replikaci buněk, ale je také nezbytným kofaktorem pro signální molekuly, které hrají kritickou roli během morfogeneze. Kromě transportu makronutrientů a mikronutrientů exprimuje žlutkový váček také mnoho transportérů ATP-binding cassette (ABC), které mohou hrát důležitou roli při ochraně vyvíjejícího se embrya během kritického období organogeneze prostřednictvím odlivu environmentálních toxinů a xenobiotik (74-79).

Kolem 5. týdne gestace lze pozorovat znaky choriové cirkulace v mezenchymu placentárních klků. Hemangioblastické shluky se diferencují a dávají vzniknout rozsáhlé síti kapilár ležících převážně těsně pod trofoblastickou bazální membránou. Počet kapilárních profilů na průřez klků a procento vilózního stromatu obsahujícího kapiláry se neustále zvyšuje od 6. do 15. týdne těhotenství. Rané kapiláry mají relativně nízké pokrytí pericyty, což naznačuje, že jsou plastické a schopné remodelace (80-82). Ke konci prvního trimestru dochází k rozsáhlé přestavbě tvořící se definitivní placenty. Klky se zpočátku vyvíjejí přes celý gestační vak, ale počínaje přibližně 8. týdnem těhotenství začnou klky nad povrchovým pólem ustupovat a tvoří hladké membrány neboli chorion laeve. Regrese je spojena s progresivním nástupem mateřského arteriálního oběhu do placenty, nejprve na periferii a poté ve zbytku placenty. Tento proces je zprostředkován migrací extravilózních trofoblastických buněk do placentárního řečiště a modulován lokálně vysokou úrovní oxidačního stresu v klcích (83). V souladu s touto teorií ztrácejí junkční komplexy mezi endoteliálními buňkami tvořícími kapiláry v regresivních klcích svou integritu a z klků se stávají avaskulární hypocelulární shluky. Události v této fázi vývoje hrají klíčovou roli určení konečné velikosti a tvaru placenty, což může ovlivnit vývoj srdce plodu. Nadměrná nebo asymetrická regrese klků může vést k více elipsoidním placentám nebo excentrické inzerci pupečníku s horší placentární funkcí (84).

Analýza dopadu těchto změn na odpor cévního řečiště je složitá. V případě centrálního úponu pupečníku, je větvení arterií převážně dichotomické, zatímco když je inzerce excentrická nebo velamentózní, dominuje monopodiální obrazec větvení. Matematické modelování ukazuje, že ztráty odporu jsou nejmenší v místě monopodiálních větvení, a proto může být tento vzor upřednostněn pro zajištění rovnoměrné distribuce krevního toku, v případě relativně velkých vzdáleností přes choriovou desku k funkční placentární tkáni, kterou je třeba překonat. U většiny placent je však vzor větvení kombinací těchto dvou typů, což ztěžuje predikci vaskulární impedance cévního řečiště. Tvorba periferních částí vilózních větvení,

intermediálních a terminálních klků se exponenciálně zvyšuje přibližně od 20. týdne těhotenství. Fetální kapilární síť se vyvíjí úměrně a v termínu zahrnuje přibližně 550 m kapilár a obsahuje 35 ml fetální krve. Klky jsou uspořádány do 30–40 fetálních lalůčků, z nichž každý je zásobován mateřskou krví spirální arterií a představuje nezávislou mateřsko-fetální výměnnou jednotku (85-88).

Uvnitř terminálních klků je mnoho spojení mezi jednotlivými kapilárami. Tato spojení vytvářejí řadu zdánlivě paralelních okruhů a je možné, že se proudění pohybuje různými směry v různých časech podle místních tlakových rozdílů. Matematický model naznačuje, že směr toku kapilární sítě má malý dopad na efektivitu difúzní výměny. V průběhu jejich délky dochází k lokalizovaným dilatacím fetálních kapilár, označovaných jako sinusoidy, zejména v místech ostrých ohybů. Předpokládá se, že sinusoidy slouží ke snížení odporu uvnitř kapilární smyčky, a tím zajišťují rovnoměrnou perfusi v klku nebo sérii klků. Mohou však mít i jiné funkce, neboť sinusoidy přivádějí vnější stěnu své kapiláry do těsného kontaktu s vnitřním povrchem trofoblastického epitelu kryjícího klky, který je lokálně ztenčený. V důsledku toho je vilózní membrána oddělující mateřský a fetální oběh extrémně oslabená a tato místa, označovaná jako vaskulosyncytiální membrány, jsou nejdůležitějšími místy pro difúzní výměnu. Místní zvětšení kapilární průřezové plochy také vede ke zpomalení rychlosti proudění (89, 90). Všechny tyto změny probíhají pod povrchem choria a nemají zásadní vliv na cévy povrchové, které jsou základem akutní FFTR.

2.4.2 Tvorba choriální cirkulace

Embryonální vývoj srdce začíná ve fázi primitivní trubice a první kontrakce jsou pozorovány po 22 dnech (začátek 5. gestačního týdne). Primární srdce vytváří aktivitu dříve, než se vyvine převodní systém a kompetentní chlopnový mechanismus. Primitivní bilaterální aorty, z nichž každá se skládá z ventrální a dorzální části, se spojí během 4. embryonálního týdne (6. týden gestace) a vytvoří jedinou definitivní sestupnou aortu. Pupečnickové tepny se napojují na primitivní dorzální aortu (91-93).

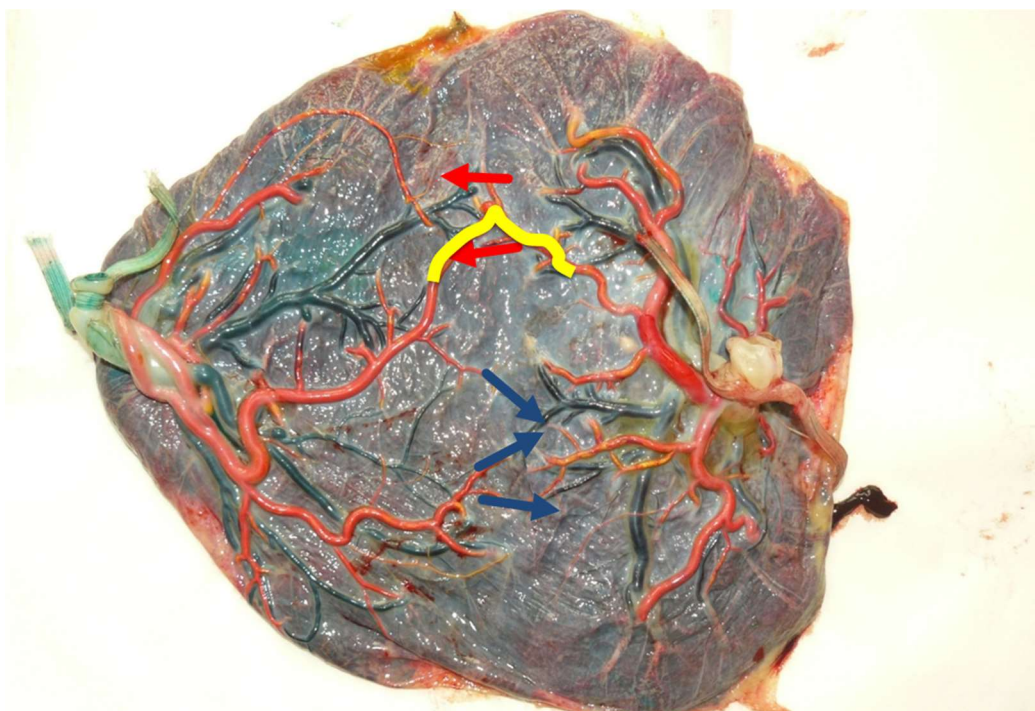
I když je uvnitř primárních klků viditelná rozsáhlá kapilární síť, existuje jen málo důkazů o účinné choriové cirkulaci během prvního trimestru. Kapiláry zůstávají malého kalibru a jsou vyplněny velkými fetálními erytrocyty s jádry pocházejícími ze sekundárního žloutkového váčku, které jsou zde hustě nahromaděny v ostrůvcích. Přítomnost jader způsobuje, že erytrocyty jsou méně deformovatelné než jejich zralé formy, a proto má krev vysokou viskozitu. Primitivní erytrocyty se vyznačují přítomností embryonálních globinů s vysokou afinitou ke kyslíku. V době kolem 8. gestačního týdne, kdy začíná ve fetálních játrech definitivní erytropoéza, počet červených krvinek s jádry klesá a dochází k přechodu na fetální globiny. Stejně tak opakovaná pozorování embryí v této fázi vývoje odhalují, že spojení mezi sestupnou aortou a umbilikální cirkulací je extrémně úzké. Původně to bylo Cornerem interpretováno, že tyto dva oddělené oběhy omezují průtok krve do placenty a případně tak chrání tvořící se srdce před vysokým odporem placentární cirkulace. Oddělení obou cirkulací během prvních 2 měsíců těhotenství podporuje koncept, že vyvíjející se embryo a jeho placenta jsou chráněny před nadměrnou expozicí kyslíku během citlivého období organogeneze. Kombinace anatomických a fyziologických bariér poskytuje embryu to, co je nezbytně nutné pro jeho vývoj (94,95).

Choriový oběh se vyvíjí progresivně během třetího měsíce těhotenství a časově se shoduje se vznikem arteriálního přítoku do intervilózního prostoru placenty. Není známo, jak je začátek těchto dvou cirkulací koordinován, ale jeden z faktorů může být změna tlakových rozdílů přes membránu klků po expanzi intervilózního prostoru, související zvýšení okysličení nebo změny v lokální produkci cytokinů nebo hormonů v sekundárním trofoblastu (96).

2.4.3 Interfetální anastomózy

U více jak 95 % MC placent jsou přítomny cévní anastomózy (Obr. 17). Tyto anastomózy jsou obecně dvou typů: a) povrchové anastomózy leží na povrchu choriové ploténky jako přímá komunikace mezi dvěma fetálními cirkulacemi, jedná se o A-A nebo V-V anastomózy, obcházejí systém

kotyledonů a umožňují obousměrný tok mezi plody, b) hluboké A-V anastomózy představují fetální cévní zásobení sdíleného kotyledonu, s arteriálním zásobením od jednoho dvojčete k venózní drenáži druhého. Jedná se tedy o hluboký jednosměrný, z hlediska FFTR chronický, pomalý tok, který je podkladem pro TTTS a TAPS. Přítomnost A-A anastomózy je protektivním faktorem TTTS a TAPS, protože jako nízkorezistentní systém umožňuje hemodynamickou rovnováhu při interfetální transfuzi (30,31,34,97).



Obr. 17: Monochoriální diamniální placenta placenta s fyziologickým průběhem těhotenství. Patrné několik A-V anastomóz s protichůdným průběhem (modré a červené šipky). Kompenzační A-A anastomóza (žlutá linie) vyrovnávající rozdílné tlaky obou fetoplacentárních oblastí.

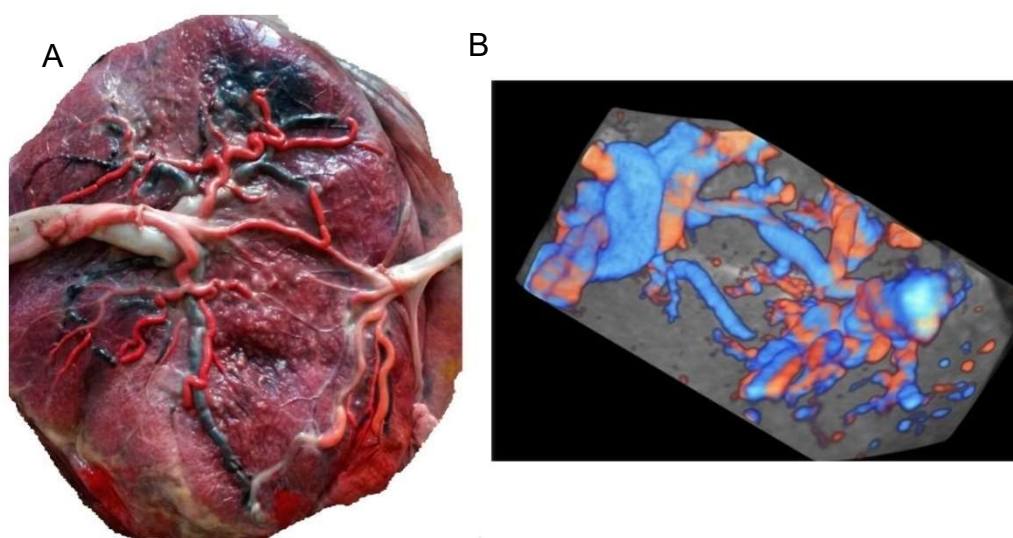
2.4.3.1 Arterio-arteriální anastomózy

Jedná se o povrchový, interfetální, nízkorezistentní vaskulární systém, který velmi rychle reaguje na změny tlaků obou cévních systémů plodů. Vzhledem k uvedeným vlastnostem vyplývá z přítomnosti A-A anastomóz několik zásadních klinických důsledků pro oba plody (98). Prvním je ochranný efekt proti TTTS. TTTS je chronický proces pomalé interfetální

transfuze pomocí A-V anastomóz. Jelikož se jedná o hluboký systém s vyšším odporem a pomalou dynamikou, povrchový rychlý nízko rezistentní systém A-A anastomóz tuto nerovnováhu eliminuje a stabilizuje náplň cirkulace mezi plody (99). Druhým důsledkem je riziko akutní FFTR v případě výrazné difference hodnot krevního tlaku mezi plody. K této může dojít při těžké bradykardii jednoho z plodů či asystolii u jednoho z plodů. V tomto případě, podobně jako u „spojených nádob“, dochází k přesunu významné části náplně cirkulace od jednoho plodu k druhému. Tento proces je pro svoji rychlost označován jako akutní FFTR. Je běžnými diagnostickými metodami obtížně predikovatelný. Důsledky jsou pro oba plody fatální, od neurologického postižení přeživšího plodu po antenatální úmrtí obou plodů (100,101).

Třetí faktor plynoucí z přítomnosti A-A anastomóz je parciálně protektivní vliv na progresi sFGR. Zastoupení A-A anastomózy ve skupině sFGR je s více jak 90% nejvyšší. V tomto ohledu mnohdy slouží A-A anastomóza jako tzv. „rescue“ anastomóza, která je většinou ve směru od většího plodu (často s vyšším arteriální tlakem) k plodu menšímu (Obr. 11). Menší plod tak dostává z hlediska vaskulárního objemu malou, ale nutričně významnou část krve od většího z plodů a snižuje tak důsledky nerovnoměrného rozložení placentární tkáně. Přítomnost „rescue“ A-A anastomózy může umožnit přežití plodu sFGR s výraznou placentární disproporcí za hranicí třetího trimestru. Robustní data, která by porovnávala velikost placentárních ploch, dynamiku ultrazvukových parametrů u MC dvojčat nejsou k dispozici a studie jsou prakticky velice obtížně proveditelné. Rescue A-A anastomóza je často vysokokapacitní s monopodiálním typem větvení, které preferuje dominantní kmenový typ proudění s nízkými ztrátami toku danými odporem postranních větví k zabezpečení nejkratší efektivní vzdálenosti od zdroje (Obr. 11). Tato skutečnost představuje z hlediska rizika vzniku akutní FFTR podskupinu se sFGR nejrizikovější. Vysokokapacitní, nízko odporové A-A anastomózy jsou přítomny téměř vždy (102). Samotný průsvit A-A anastomózy velmi úzce přímo souvisí se vzdáleností pupečnicků. S kratší

vzdáleností obou pupečnicků významně stoupá průsvit A-A anastomózy, a tím i riziko akutní FFTR. V 97 % je nález A-A anastomózy solitární (103). Vzhledem k solitárním nálezům A-A anastomóz v rámci jedné placenty lze do určité míry analyzovat významnost a dynamiku tohoto interfetálního vaskulárního spojení. Velocimetrické dopplerometrické zobrazování bylo využito k měření objemového průtoku u různých cév plodu v děloze (104). Anastomózy A-A lze antenatálně zobrazit s využitím barevného nebo power dopplerovského vyšetření s citlivostí 85 % (Obr. 18).



Obr. 18: **A)** Vlevo monochoriální placenta se širokou A-A anastomózou zodpovědná za typ III flow sFGR. **B)** Vpravo 3D ultrazvuková prenatalní rekonstrukce stejné placenty s patrnou bidirekční A-A anastomózou.

Průtok v A-A anastomóze je často bidirekční (105). Kvantifikace průtoku v obou směrech a následné odečtení jednoho od druhého by mělo indikovat čistý průtok mezi dvěma plody. Z longitudinálních analýz lze následně odvodit informace o tom, jak se interfetální průtok mění v čase nebo během gestace. Průtok A-A anastomózou je reflexí jednosměrného protiproudu vytvořeného nerovnováhou v A-V anastomózách.

Přestože se absolutní jednosměrný průtok A-A anastomózou během gestace zvyšuje, zůstává průtok vztažený na hmotnostní jednotku fetoplacentární tkáně (v závislosti na gestačním stáří) téměř beze změn. K případnému nárůstu jednosměrného toku v průběhu gestace dochází

s nárůstem průměru cévy. Jako příklad lze uvést nárůst průměru z 2 na 2,8 mm za přítomnosti konstantní rychlosti krve (0,01 m/s). Uvedené zvětšení průměru má za následek dvojnásobné zvýšení průtoku. V případě stacionárního průměru se docílí identického nárůstu průtoku navýšením rychlosti toku krve o 100 %. Za normálních okolností dochází v průběhu gestace k nárůstu fetálního krevního tlaku a průměru cév, toto má za následek zvýšení průtoku anastomózou. Průměr cévy ve 28. týdnu gestace dosahuje hodnoty 2,2 mm (0,9–2,9). Medián zvýšení průměru A-A anastomózy během dvoutýdenního intervalu činil 0,2 mm (0-0,3 mm) (104).

2.4.3.2 Arterio-venózní anastomózy

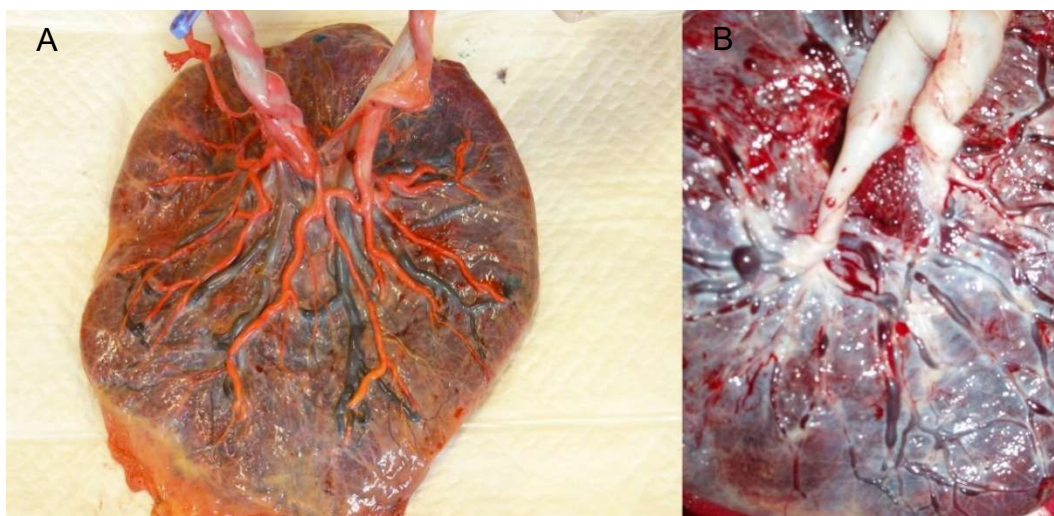
Jedná se o nejčastější typ interfetálních anastomóz MC placent. Spojení je tvořeno kombinací cév v rámci kotyledonu s tlakovým gradientem směřujícím od arterie k véně. Tlak dosahuje hodnot kolem 10 torrů (106). Vzhledem k výrazně vyššímu odporu oproti A-A anastomózám je i přes tlakový gradient rychlost transfuze obvykle mnohem pomalejší a pohybuje se kolem 15 ml za 24 hodin dle velikosti anastomóz (od 10 do 25ml/ 24 hod) (107). Tato nerovnováha je velmi dobře kompenzována mnohem rychlejší kompenzační A-A anastomózou. Průměrný počet A-V anastomóz na jednu placentu je 2,5 (27-29). Tyto anastomózy často bývají v protichůdných směrech, proto existuje nekonečné množství kombinací a výsledný směr a rychlost pomalé transfuze je dán jejich vzájemným odečtením. Toto měření je v praxi prakticky nemožné, bylo použito v několika jednotlivých případech. Matematické modely výsledné transfuze při fyziologickém průběhu MC gravidity ukázaly, že výsledná pomalá transfuze pomocí A-V anastomóz je kompenzována stejnou jednostrannou transfuzí (v opačném směru) pomocí A-A anastomóz. Tak je udržení stabilní hemodynamický stav obou plodů. V případě absence kompenzační A-A anastomózy je vytvořen základní předpoklad pro rozvoj TTTS (přechod většího objemu A-V anastomózou: 15 ml / 24 hod) a TAPS (přechod nižšího objemu A-V anastomózou: 3-5 ml / 24 hod) (108).

2.4.3.3 Veno-venózní anastomózy

V-V jsou nejvzácnějším typem MC placentárních vaskulárních spojení. Vyskytují se, podobně jako A-A anastomózy, solitárně a přibližně u každé desáté MC placenty. Oproti A-A anastomózám spojují prakticky tlakově srovnatelná prostředí. Pokud existuje nepatrný rozdíl žilního tlaku u plodu (například recipienta v rámci oběhového přetížení u TTTS), tak je tento rozdíl ve smyslu akutní FFTR oproti A-A anastomózám prakticky nevýznamný. Krevní tlak v umbilikální véně/pupečníku je kolem 5mmHg. Pokud tento zanedbatelný rozdíl tlaků existuje, rozloží se tento rozdíl velmi jednoduše v placentárním řečišti s minimálním podílem na interfetální transfuzí. Přítomnost V-V anastomóz minimálně zvyšuje riziko progresse TTTS, nicméně konkrétní patofyziologický proces nebyl doposud objasněn (109-111).

2.4.4 Inzerce a vzdálenosti pupečnicků

Blízký úpon pupečnicků (PCI - proximal cord insertion) je v několika studiích vztahován k vyššímu riziku morbidity i mortality MC dvojčat (112) (Obr. 19). Prevalence PCI v různých podskupinách MCDA placent je nízká (0-4 %), zatímco v podskupině MCMA placent jsou PCI poměrně časté (53 %). Vysvětlením může být pozdější oddělení buněk blastocysty ve srovnání s MCDA dvojčaty. V rámci blízkého úponu pupečnicků byl zaznamenán významně vyšší počet A-A (100 %) a V-V (56 %) anastomóz. Charakter těchto anastomóz je prakticky vždy vysokokapacitní s minimální rezistencí a interfetální vzdáleností, takže riziko akutní FFTR je téměř 100 % (Obr. 20). Vzhledem k velkému kalibru cév je hemodynamický stav u obou plodů často nestabilní, protože významná část srdečního výdeje směřující do placenty ve třetím trimestru, je vedena primárně do této široké nízkorezistentní A-A anastomózy.



Obr. 19: A) MCDA placenta (po odstranění plodových obalů) s blízkými úpony pupečnicků. Patrné masivní a vzájemně se křížící A-A i V-V vaskulární spojení obou plodů. Vlevo při simulaci viditelné současné barvení obou placentárních ploch prokazující okamžitou interfetální transfuzi. **B)** MCDA placenta dvojčetné gravidity s nekomplikovaným průběhem. Ve 33. gestačním týdnu v rámci běžné kontroly diagnostikován mrtvý plod B. Následoval porod plodu A s těžkou anémií.



Obr. 20: MCDA placenta s blízkým úponem pupečnicků a masivní A-A a V-V interfetální anastomózou. Fáze přípravy placenty předcházející kanylaci pupečnicků nutnou k simulaci akutní FFTR. Vaskulární řečiště obou ploch zbaveno koagul, odstraněna amniální vrstva.

Vzdálenost úponů pupečnicků je dobře měřitelná pomocí ultrazvukových diagnostických metod. PCI je často spojován s nehomogenním (sinusoidním) typem III flow u případů sFGR, kde je riziko akutní FFTR při diferencii tlaků v cirkulacích velmi vysoké, prakticky se rovná 100 % (113).

2.5 Nitroděložní úmrtí u monochoriálních dvojčat

Incidence sIUD u MC dvojčat se po 20. týdnu těhotenství odhaduje až na 6,2 % (114). Tato komplikace se může objevit v kterémkoli trimestru s potenciálně závažnými následky. V mnoha případech k tomu dochází v prvním trimestru, někdy dokonce před prvním ultrazvukovým vyšetřením („syndrom mizejícího dvojčete“), což přispívá k definování přesné prevalence této události. V případě sIUD se potenciálně zvyšuje riziko mortality i perinatální morbidity u přeživšího dvojčete.

Hlavním rizikem morbidity a mortality MC dvojčat je společná placenta. Monochorionicita a jí doprovázející angioarchitektura spojených cirkulací u MC dvojčat je zodpovědná za nitroděložní úmrtí. Míra ztrát spojená s MCMA dvojčaty dosahuje až 30-50 % (115). V případě sIUD jednoho z dvojčat existuje 40-50% riziko úmrtí nebo neurologického poškození u dvojčat v důsledku rozvoje akutní FFTR (116).

I intenzivně sledovaná, fyziologicky probíhající gravidita s MCDA dvojčaty má po 24. týdnu nezanedbatelné riziko IUD (4,6 % těhotenství a 3,3 % plodů). Po 32. týdnu je prospektivní riziko IUD 1:23 těhotenství (117).

Gestační stáří a chorionicita, při níž k sIUD došlo, jsou důležitými faktory určující prognózu pro druhý plod. Není prokázáno, že by selektivní ztráta v prvním trimestru měla zásadní následky pro přeživší dvojče. Nicméně ve druhém a třetím trimestru jsou rizika mnohem vyšší (118).

Po sIUD je riziko úmrtí dvojčat u MC těhotenství 15 % (95 % CI 9,1-20,9) a u DC dvojčat 3 % (95 % CI 0,3-5,7). Přeživší MC dvojče má po sIUD pětikrát vyšší pravděpodobnost úmrtí ve srovnání se sIUD u DC dvojčat (OR 5,24, 95 % CI 1,75-15,7) (119).

2.5.1 Příčiny nitroděložního úmrtí specifické pro monochoriální dvojčata

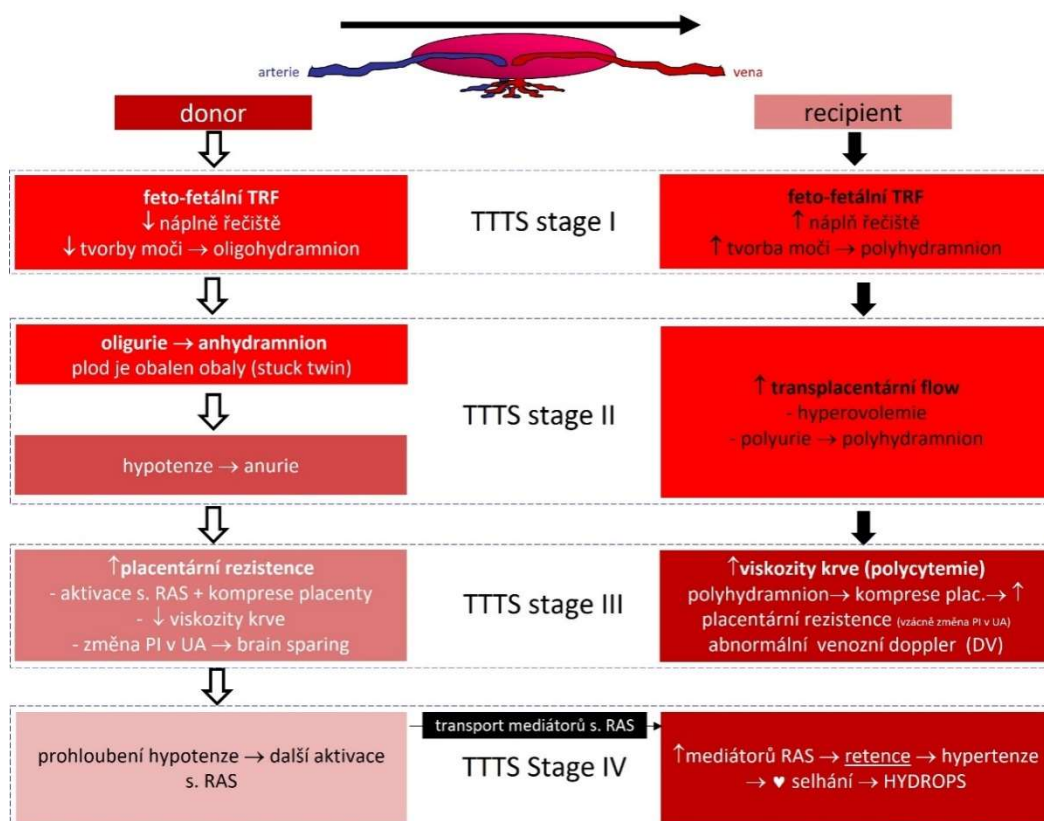
Faktory s možným důsledkem sIUD lze diferencovat do tří základních skupin: fetální, mateřské a iatrogenní. Níže uvedená Tab. 5 udává přehled jednotlivých příčin.

faktor	příčina
fetální	chromozomální anomálie strukturální anomálie pupečnickové komplikace placentární komplikace infekce
mateřský	hypertenzní onemocnění trombofilní stavy diabetes
iatrogenní	selektivní fetocida komplikace intrauterinních operací

Tab. 5: Přehled faktorů, které mohou mít za následek sIUD u MC dvojčat.

Mezi nejčastější příčiny patří přítomnost strukturálních a chromozomálních vrozených vad a sFGR v kombinaci s velamentózní inzercí pupečníku. U MCMA dvojčat jsou to pupečnickové komplikace. Nedávné epidemiologické studie naznačují, že riziko časných IUD mezi 18. a 24. týdnem je často spojeno s koexistujícími patologiemi jako je například TRAP sekvence (120). Chorionicita, jak bylo popsáno dříve, má důležitý vliv na četnost a výsledek IUD u MC těhotenství s významně vyšší četností oproti DC graviditě (121). MC dvojčata měla dvojnásobně zvýšené riziko IUD a úmrtí obou plodů. K úmrtí obou plodů došlo u 70 % před 24. týdnem (119). Spojená placentární cirkulace je zodpovědná za typické komplikace MC dvojčat (TTTS, TAPS) a je největším predisponujícím rizikem pro IUD (122,123). U TTTS vede nevyvážený jednosměrný arterio-venózní zkrat k

čistému přenosu krve z jednoho dvojčete na druhé. Donor se stává hypovolemickým, což má za následek snížení srdečního výdeje a zvýšení periferní vaskulární rezistence. To vyvolává tkáňovou hypoxii, acidózu a vzestup produkce erythropoetinu. Recipient je hypervolemický s oběhovým přetížením a polyhydramniem, má významné riziko srdeční dysfunkce (Obr. 21). Oba plody jsou vystaveny vysokému riziku IUD, zvláště u recipienta. TAPS se může objevit spontánně nebo iatrogeně po insuficientní laserové operaci pro TTTS. Mortalita spojená s TAPS je mnohem nižší než TTTS; prenatální cerebrální léze se však mohou vyskytnout sekundárně následkem těžké anémie nebo polycytemie (123).



Obr. 21: Sekvence patofyziologických změn u MC dvojčat s TTTS.

Riziko IUD u dvojčete se sFGR závisí na odhadované diskordanci růstu plodu a přítomnosti abnormálního fetoplacentárního průtoku krve. Riziko úmrtí plodu se sFGR u DC těhotenství se blíží riziku s identickou diagnózou u jednočetných těhotenství. Z tohoto důvodu jsou doporučení pro

management DC gravidity se sFGR podobná jako u jednočetných těhotenství. MC dvojčetné těhotenství představuje zvláštní situaci, protože sFGR se může vyskytovat v kombinaci s TTTS až v 50 % případů. U sFGR dochází k nerovnoměrnému sdílení placenty a je spojeno se 14 % úmrtí alespoň jednoho dvojčete (124). Bylo také prokázáno, že čím větší je diskordance placentárního podílu, tím větší je riziko neonatálního úmrtí. K novorozeneckému úmrtí nedošlo při rozdílu placentární ploch do 15,1 %. Novorozenecká úmrtnost se zvýšila na 23 % v případě, že rozdíl dosahoval 63,2 % (125). Prognózu u MC těhotenství dále komplikuje typ toku v umbilikální arterii u plodu se sFGR. Typ II s perzistentní absencí nebo reverzním end-diastolickým průtokem v umbilikální arterii u menšího z plodů byl spojen s prenatálními komplikacemi až v 90 % (126,127). Byla také prokázána souvislost s nástupem nulového endiastolického průtoku v umbilikální arterii a porodem u MC a DC těhotenství (21,7 vs. 14,4 dnů) (128). Tato paradoxní diference je dána pravděpodobně přítomnou rescue A-A anastomózou. Přítomnost placentárních A-A anastomóz může přispět k udržení výživy a růstu strádajícího plodu. U typu III (nehomogenní /intermitentní/ chybějící nebo reversní end diastolický průtok) bylo pozorováno náhlé úmrtí plodu v 15 % (129), zatímco typ I (s pozitivní endiastolickým tokem) má nejlepší prognózu s intrauterinní mortalitou 2-4 % (128,130).

Frekvence malformací u DC dvojčat je podobná jako u jednočetných těhotenství, zatímco u MC dvojčat je dvakrát až třikrát vyšší, ačkoli skutečnou incidenci je obtížné posoudit, protože většina studií neposuzovala zygotitu (131). Anomální dvojče má vyšší riziko sIUD u MC i DC dvojčetných těhotenství.

Iatrogenní sIUD je důsledek kontrolované selektivní fetocidy, kterou indikujeme u komplikace MC dvojčat s infaustní prognózou nebo technických obtížích neumožňujících spolehlivě realizovat dichorionizaci placenty laserovým paprskem. Selektivní fetocida aplikací chloridu draselného intrakardiálně je dnes již dobře zavedeným postupem u DC gravidit. Výkon je spojen s úmrtím druhého plodu v 7,5 % (132). U

monochoriálních těhotenství nelze kvůli vaskulárním anastomózám použít tuto konvenční techniku (133). Úmrtí druhého plodu může nastat v důsledku transfuze chloridu draselného do jeho teritoria nebo akutní exsanguinací do fetoplacentárního prostoru mrtvého plodu. Proto jsou bipolární koagulace a intrafetální radiofrekvenční ablace preferovanými metodami pro zamezení exsanguinace. Po laserové terapii TTTS je přežití alespoň jednoho dvojčete 85 % (134) s nižším přežitím u donora (60 %) než u recipienta (70 %) (135). Mateřské faktory, jako jsou hypertenzní onemocnění v těhotenství a diabetes, jsou také spojeny s vyšší mírou intrauterinního úmrtí, většinou se jedná o úmrtí obou plodů (114).

2.5.2 Selektivní nitroděložní úmrtí v jednotlivých obdobích gravidity

Syndrom mizejícího dvojčete je situace původně ultrazvukově prokázané dvojčetné gravidity v embryonální periodě prvního trimestru, kdy při následné kontrole s odstupem 2-4 týdnů identifikujeme pouze jeden vitální plod. Skutečný počet situací mizejících dvojčat je obtížné určit, ale může dosahovat až 29 % (115). Chorionicita je opět důležitým faktorem, přičemž prognóza pro MC dvojčata je obecně špatná a je spojena s vysokým rizikem ztráty celého těhotenství (136). Důkazy jsou však mnohdy rozporuplné. Nebyla zjištěna časná morbidita při srovnávání skupiny přeživších dvojčat z těhotenství „mizejícího dvojčete“ s jednočetnými těhotenstvími do 1 roku věku (137).

Selektivní nitroděložní úmrtí u MC dvojčat ve druhém nebo třetím trimestru je složitou situací z hlediska rozhodování o předčasném porodu v rámci zájmu zachování přeživšího plodu nebo zvolení konzervativního řešení s určitým rizikem morbidity a mortality.

Existují dvě varianty negativních následků sIUD: transchoriální embolizace s koagulopatií a hemodynamická nestabilita s exsanguinací. Tyto jsou specifické pro MC graviditu.

Benirschke (115) v roce 1961 poprvé vyslovil hypotézu, že průchod „tromboplastického materiálu“ z mrtvého dvojčete do druhého plodu prostřednictvím placentárních anastomóz může vyvolávat diseminovanou intravaskulární koagulaci (DIC). Není jednoznačný konsensus, zda trombotické změny vznikly v důsledku transfuze trombofilních látek z mrtvého dvojčete nebo v rámci hemodynamických změn u přeživších plodů. Výsledná DIC může způsobit infarkty a cystické změny v renálním, plicním, jaterním, slezinném a neurologickém systému plodu (138). Výsledná arteriolární okluze způsobuje poškození cílových orgánů; to bylo prokázáno jak angiograficky, tak pitevními údaji (4).

Akutní exsanguinaci přeživšího plodu do cirkulace mrtvého plodu díky existenci placentárních anastomóz ("tzv back bleed ") jako první navrhl Fusi a kol. v roce 1991 (139). Jedná se o základní příčinu morbidity a mortality po sIUD u MC dvojčat. Přeživší plod je ohrožen hypoperfuzí, hypotenzí a fetální anémií, které následně způsobují tkáňovou hypoxii, acidózu a poškození, zejména v centrálním nervovém systému. Nicolini a kol. (140) popsali osm plodů s sIUD, s analýzou krve méně než 24 hodin před a méně než 24 hodin po sIUD. U čtyři z pěti těhotenství u obou plodů nebyla před sIUD prokázána anémie (hematokrit 33–40 %), nicméně všichni přeživší odebraní do 24 hodin po smrti jejich dvojčete anemičtí byli (hematokrit 17–29 %) (140). Podobně Okamura a kol. (141) získali fetální krev od pěti MC dvojčat, která přežila sIUD. Všech pět novorozenců bylo anemických, zvláště když k intrauterinnímu úmrtí došlo do 24 hodin po odběru vzorků. Jednomu dvojčeti byl odebrán vzorek před a po smrti dvojčete a koncentrace hemoglobinu klesla z 15 na 10 g/l. U všech pěti přeživších plodů bylo prokázáno intrakraniální postižení. Bajoria a kol. (142) studovali výsledky dvojčetných těhotenství komplikovaných sIUD ve vztahu k vaskulární anatomii MC placenty. Bylo zjištěno, že u dvojčat bez TTTS měla přítomnost povrchové A-A nebo V-V anastomózy vyšší incidenci IUD, fetální anémie a neurologického postižení. Předpokládali, že tyto anastomózy umožňují rychlý přenos krve z živého plodu do mrtvého plodu, což způsobuje následné neurologické poškození nebo úmrtí druhého z plodů.

To je v rozporu s tromboembolickou teorií, protože gradient je takový, že tromboembolický materiál nemohl proudit z oběhu mrtvého plodu k přeživšímu. Naopak příznivý výsledek byl pozorován u vícečetných obousměrných A-V anastomóz. Protože žádné z těchto dvojčat nemělo při narození významnou anémii a všechna měla normální neurologický vývoj, byla vyslovena hypotéza, že A-V/V-A kanály s opačně směřovaným průtokem krve umožňují dosažení relativně ustáleného hemodynamického stavu (142).

2.5.3 Riziko neurologického postižení pro přeživší plod

Riziko vzniku dětské mozkové obrny u dvojčat je mnohem vyšší v situaci sIUD pro přeživší plod než v případě přežití obou plodů. Odds Ratio (OR) pro vznik dětské mozkové obrny je 6,3 (95 % CI 3,1-12,8) (144). Podobně Luu a Vohr odhadli pravděpodobnost dětské mozkové obrny u dvojčat na 1,8 % (95 % CI 1,3-2,4), pokud oba plody přežijí. V případě sIUD je OR pro vznik handicapu 9,5 % (95 % CI 3,6-19,6 %) (145). Systematický přehled Hillmana (143) ze sedmi randomizovaných kontrolovaných studií, které zahrnovaly 126 těhotenství, ukázaly, že míra neurologického postižení po sIUD byla 26 % u MC těhotenství a 2 % u DC těhotenství. Nelson a Ellenberg zjistili, že kromě četnosti mozkové obrny se u přeživších dvojčat se sIUD zvýšila také incidence nefebriálních křečí (5,0 % u sIUD oproti 0,8 %, pokud obě dvojčata přežila). Nebyl prokázán rozdíl v hodnotách inteligenčního indexu (146). Whitfield a kol. porovnávali identické kohorty a naopak prokázali významné snížení kognitivních funkcí u skupiny po sIUD (147).

Laserové ablace placentárních spojek pro TTTS ovlivňují neurologický výsledek MC dvojčat. Mnoho studií ukázalo, že fetoskopická laserová ablace snižuje riziko neurologických abnormalit ve srovnání se sériovou amnioredukcí, v případě přežití obou plodů. Amnioredukce má 16-33% riziko mírných neurologických komplikací (definovaných jako drobné neurologické deficity s celkově dobrou prognózou a klinicky normálním

poporodním průběhem) ve srovnání se 7.2-11 % po laserových zákrocích. Riziko rozvoje závažných neurologických abnormalit (definovaných jako závažné neurologické postižení vedoucí k trvalé invaliditě) po amnioredukci je udáváno v rozmezí 7-26 %. Po laserové ablaci je riziko udávané v rozsahu 6-11 % (148). Baneck a kol. porovnávali 24 kojenců narozených po sIUD s 65 kojenci, kde obě dvojčata přežila. Obě skupiny podstoupily laser pro TTTS. Nebyl prokázán rozdíl v neurologickém postižení (149). Podobně Graef a kol. porovnali 31 dvojčat po sIUD se 136 kojenci s přežitím obou plodů po laserové terapii TTTS a nezjistili žádný významný rozdíl v neurologické morbiditě (148).

O'Donoghue a kol. porovnávali těhotenství, u kterých byla provedena kontrolovaná fetocida pomocí BPO s těhotenstvími, u kterých došlo spontánně k sIUD. Nižší výskyt mozkových postižení bylo u jedinců, kteří přežili kontrolovanou intervenci ve skupině okluzí (2,6 %) ve srovnání se skupinou, kde došlo k nekontrolovanému úmrtí plodu (22,2 %) (150). Systematický přehled Rossiho a kol. prokázal, že postnatální neurologické postižení je srovnatelné u skupiny s přežitím jednoho a obou plodů po laserové terapii TTTS (OR 0,67, 95 % CI 0,18-2,49) (151). Uvedená data podpořila koncept, že formy intrauterinních zákroků jako jsou BPO a laserové ablace placentárních anastomóz u gravidit s rizikem IUD významně snižují morbiditu a mortalitu.

Ve srovnání s pozdními gestačními týdny druhého a třetího trimestru těhotenství je časná selektivní ztráta formou kontrolované fetocidy méně riziková z hlediska závažné neurologické morbidity. Pokud se sIUD vyskytne před 28. týdnem těhotenství, významně se zvyšuje riziko dIUD a neonatálního úmrtí u MC dvojčat ve srovnání s těhotenstvími, u kterých se sIUD vyskytla po 28. týdnu. Dále, pokud k inzultu dojde před 28. týdnem těhotenství, je pravděpodobnější, že povede k rozvoji multicystické encefalomalacie postihující bílou hmotu mozkovou nebo krvácení do parenchymu. Šedá hmota mozková je častěji poškozena v případech sIUD blíže termínu (150). Arteriální trombóza má za následek leukomalácii,

následovanou fází aktivity glií a makrofágů s tvorbou cystických lézí tvořící základ multicystické encefalomalacie (116).

U přeživších dvojčat sIUD byly popsány tři typy patologií tkáně mozku (116). Jsou to hypoxicko-ischemické léze bílé hmoty, které se obvykle vyskytují v oblasti zásobené arterií cerebri media vedoucí k porencefalii, multicystické encefalomalácii, mikrocefalii a hydrocefalii. Dalším typem změn jsou hemoragické léze. Tyto jsou izolované nebo v kombinaci s ischemickými změnami. Mohou vést k posthemorhagickému hydrocefalu. Třetím typem jsou anomálie sekundární vztažené k vaskulárním lézím, které zahrnují defekty neurální trubice, končetinové anomálie a hypoplazie zrakového nervu.

Mezi ostatní orgánová postižení, která byla popsána u dvojčat jako následek sIUD, patří renální kortikální nekróza, unilaterální poškození ledviny, atrézie tenkého střeva, gastroschíza, aplasia cutis a terminální infarkt končetiny (152). Tyto situace jsou však relativně vzácné.

2.6 Management v případě úmrtí jednoho z plodů monochoriálních těhotenství

Základní informací, která hraje roli při volbě postupu po nitroděložním úmrtí jednoho z plodů u dvojčat, je chorionicita. Po 20. týdnu nelze chorionicitu s jistotou určit. V takovém případě lze využít určení pohlaví plodů. Pokud je pohlaví shodné, mělo by se považovat za MC graviditu. V některých případech je pomocná ultrazvuková fotodokumentace z embryonální a časně fetální periody spolu s měřením přepážky za jasně daných ultrazvukových nastavení a podmínek. Přepážka tenčí než 1,1 mm je spojována s MC graviditou, šíře přepážky nad 1,1mm je brána jako DC. Mohou být užitečná dopplerovská měření se zaměřením na anémii přeživšího plodu, zejména maximální systolické rychlosti ACM (152, 153). Základním úkolem vyšetřujícího při posouzení stavu MC gravidity se sIUD je posouzení stavu cirkulace u živého plodu. Pokud je vyloučena fetální anémie, pak je klinicky významná exsanguinace nepravděpodobná a prognóza je s největší pravděpodobností příznivá (153). Pokud je plod

anemický, lze zvážit podání intrauterinní transfuze. Tato by měla být podána do 24 hodin (154). Dále je indikován pravidelný ultrazvuk CNS plodu ve 14-ti denních intervalech, se zaměřením na intra a paraventrikulární oblasti CNS. U 121 přeživších MC dvojčat se u šesti (4,9 %) vyvinul abnormální ultrazvukový obraz s odstupem 1–2 týdnů po sIUD (150).

Po nitroděložním odúmrťí není často jasná doba, kdy se neurologický inzult stává patrným pomocí diagnostických ultrazvukových metod či magnetické rezonance. Glenn navrhl, že magnetické rezonance mozku plodu by měla být provedena co nejdříve po sIUD k identifikaci akutního poranění a poté opakována 2 týdny po úmrtí k detekci subakutních nebo chronických následků intrakraniálního poranění (156). Child a spol. prokázali, že prenatální magnetická rezonance detekovala o 23 % více anomálií, které nebyly zachyceny ultrazvukovým vyšetřením (157). Magnetická rezonance byla provedena v průměru 3,42 týdne po sIUD. Detekce abnormálního nálezu CNS u plodů 3–4 týdny po sIUD byla 6,6 % (150). Tyto práce podporují další studie, které zjistily, že kavitace v „lézích“ nastává 2 a více týdnů po sIUD. Atrofie mozku dokonce o týdny později, proto by magnetická rezonance mozku měla být provedena alespoň po 3 týdnech po sIUD (114). Jak bylo popsáno dříve, přeživší dvojče může být anemické a může být vystaveno riziku poškození sekundární hypoxií a acidémií v důsledku velkých hemodynamických změn ve smyslu hypovolemie, následkem akutní FFTR do fetoplacentárního oběhu mrtvého plodu. Odběr fetální krve během 24–48 hodin po sIUD umožnil kromě krevního obrazu určit acidobazickou rovnováhu přeživšího plodu (115). V několika studiích byla popsána aplikace intrauterinní transfuze anemickým plodům, nicméně efekt snižující morbiditu je kontroverzní (155,158,159).

3 Cíle a hypotéza disertační práce

Předložená práce je věnována problematice jednovaječných dvojčat sdílející jednu placentu. Společné sdílení jednoho placentárního parenchymu a cirkulace dvěma plody vytváří podmínku pro rozvoj specifických komplikací, které postihují až 20 % MC dvojčat. Sdílená cirkulace je důvodem, proč je v případě úmrtí jednoho plodu ohrožen i plod druhý. Míra ohrožení přeživšího plodu se pohybuje v rozsahu psychomotorického handicapu až k nitroděložnímu úmrtí. Těhotenství, které je komplikované nitroděložním úmrtím, představuje pro každou ženu životní katastrofu, která má své medicínské, psychické, sociální a konečně i ekonomické konsekvence. Řada MC těhotenství je následkem technik asistované reprodukce.

Z pohledu preventivní medicíny představují prenatálně diagnostické metody sledování MC dvojčat sekundární prevenci. Snahou je zavést takové postupy, které selektují rizikovou kohortu, a v případě rozvoje komplikace je řeší.

Práce si klade za cíl simulaci akutní FFTR prostřednictvím in vitro modelu a na základě analýzy vlastních modelových dat a pozorování doplnit současný stav vědění o rizicích vzniku a průběhu akutní FFTR u MC dvojčat. Byly stanoveny následující specifické cíle:

3.1 Tvorba simulačního modelu akutní FFTR

V této části jsme se zaměřili na možnost simulace akutní FFTR na kohortě placent získaných porodem monochoriálních těhotenství s fyziologickým průběhem. Průběh simulace probíhal v následujících bodech:

- příprava a zpracování MC placenty po porodu
- kanylace pupečnickových cév
- kolorace (barvení) choriálních cévních struktur nástřikem
- technologie plnění placentárního řečiště s cílem simulace akutní FFTR

3.2 Stanovení prediktorů akutní FFTR

V této části jsme se zaměřili, za pomoci analýzy angioarchitektury MC placent, na určení faktorů majících vliv na vznik a rychlost průběhu akutní FFTR. Důraz byl kladen na následující oblasti:

- kvantifikace placentárních teritorií mezi plody
 - umístění pupečnicků
 - kvantifikace jednotlivých typů anastomóz
 - četnost průkazu a rychlost akutní FFTR
 - vztah mezi inzercí pupečnicků a choriální angioarchitekturou
- v rámci tohoto bodu jsme si stanovili následující nulové hypotézy u placent s prokázanou akutní FFTR
- H_0 : průměr A-A anastomózy neovlivní akutní FFTR
 - H_0 : délka A-A anastomózy neovlivní akutní FFTR
 - H_0 : vzdálenost inzerce úponu pupečnicku neovlivní akutní FFTR

4 Metodika použitá v rámci disertační práce

4.1 Charakteristika souboru

Studie probíhala v období mezi lednem 2015 a prosincem 2018. Placenty byly vyšetřeny v rámci prospektivní studie gravidit MC dvojčat, které podstoupily I. trimestrální screeningové vyšetření v Ústavu pro péči o matku a dítě v Praze. V tomto terciárním perinatologickém centru proběhne přes 5000 porodů ročně a probíhá zde centralizace vícečetných gravidit z České republiky. Za časové období realizace studie zde porodilo 263 MC těhotenství. Návrh studie byl schválen vědeckou a etickou komisí. Písemný souhlas byl získán od všech účastnic, které splnily kritéria pro zařazení.

Do simulace akutní FFTR byly zahrnuty pouze placenty z nekomplikovaných průběhů MC gravidit se dvěma živě narozenými novorozenci. Sledované sonografické parametry nevykazovaly v průběhu těhotenství patologické odchylky. Ultrazvuková vyšetření byla prováděna ve dvoutýdenních intervalech. Všechny MC placenty po fetoskopických zákrocích, případy s nitroděložním odúmrtním plodu, vrozenými abnormalitami (včetně TRAP sekvencí) a závažným poškozením placentární tkáně (narušení tkáně, defekty choriové ploténky, jeden nebo oba pupečníky příliš krátké nebo utržené), mnohočetnými perforacemi choriových cév z postnatálních odběrů krve anebo pro technickou nemožnost kanylace byly ze studie vyloučeny. Informace o výsledku těhotenství, gestačním věku při porodu a porodní hmotnosti obou plodů byly vyplněny do navržené datové matice.

Ultrazvuková diagnostika a management: Data byla zaznamenávána prospektivně a vkládána do databáze pro následnou analýzu. Základem každého ultrazvukového vyšetření bylo hodnocení dynamiky růstu, dopplerovských parametrů umbilikální arterie, fetálního žilního systému a arterie cerebri media. Měřilo se také nejhlubší vertikální depo plodové vody u každého dvojčete.

4.2 Placentární studie: metodika přípravy placentární tkáně

Všechny placenty byly analyzovány do 48 hodin po porodu. U 63 (64 %) placent proběhla analýza bezprostředně po porodu, u 17 (17 %) a u 19 (19 %) do 24 a 48 hodin po porodu. Materiál byl skladován ve vodotěsné nádobě bez fixace v chladničce při 4 °C. Z choriového povrchu byly odstraněny amniové membrány, pupečníky byly zkráceny pod svorkami a z pupečnicků vytlačena krev a koagula.

Naší interní analýzou takto skladované placentární tkáně nebyly zjištěny žádné významné histopatologické změny v souvislosti s uchováváním placent do 48 hodin. Zaměřili jsme se na přítomnost autolytických změn, které by mohly ovlivnit především cévy choria. Stejná část placenty byla analyzována ihned po porodu, následně pak po 24 a 48 hodinách (Obr. 22). Vzorky určené k pozdější analýze po 24 a 48 hodinách byly až do vyšetření skladovány bez fixace v histologických boxech v lednici při teplotě 4 °C. Naše histopatologické nálezy, které jasně nevykazují zásadní změny v placentární tkáni, potvrdily i další studie prokazující nezávislost změn na podmínkách skladování (164-166).

4.3 Placentární studie: metodika kanylace cév pahýlu pupečnicků

Pahýl pupečnicku byl pro obě tepny kanylován 3,5 Fr katétre a 4 Fr katétre pro žílu (Vygon, Francie). Cévy byly propláchnuty fyziologickým roztokem při pokojové teplotě s konečnou insuflací krevních cév vzduchem za použití injekční stříkačky pro kompletní evakuaci krve a sraženin. Před aplikací barviva byly všechny makroskopicky viditelné placentární cévy průsvitné bez krve a sraženin (Obr. 23). Standardně byl jako zástupce přeživšího plodu ohroženého akutní FFTR vybrán pupečnickový pahýl, kterému náležela větší placentární plocha. Druhý pahýl představoval pupečník mrtvého plodu. 20 ml uzavřená odběrová část injekční stříkačky byla připevněna k pahýlu k měření objemu případné transfuze. Pár infuzních setů spojených se 100 ml fyziologického roztoku v kombinaci s 10

ml histologického barviva (Davidson Marking system, Bradley Product Inc., USA) byl fixován dohromady pomocí mechanické rtuťové manžety tonometru.

4.4 Placentární studie: metodika simulace akutní FFTR

Celý systém byl napojen na již připravené, kanylované umbilikální arterie. Kanylovaná pupeční žíla byla naplněna po simulaci aFFTR pouze pro vizualizaci žilní vaskulární oblasti. Tonometr byl natlakován až na 30-40 mm Hg k simulaci středního arteriálního tlaku odpovídajícímu druhému a třetímu trimestru. Tyto tlaky představují již známé hodnoty střední arteriální krve plodu v těchto obdobích gravidity (167,168). Současně se spustil časovač. Pozitivní nález akutní FFTR byl stanoven jako množství převyšující 1 ml barviva, které vyteklo z pahýlu pupečníku do sběrné části stříkačky simulující mrtvý plod. Čas měřený v sekundách byl zastaven v době náplně 1 ml barviva, jak je znázorněno na obrázku 24. Ve všech těchto pozitivních případech transfuze dále pokračovala. Po každé simulaci akutní FFTR byly dále analyzovány velikosti placentárních ploch a vaskulární anatomie choria. Všechny simulace byly provedeny autorem práce (L.H.). Analýza vaskulární architektury, placentárních ploch a charakter úponů pupečnicků byla provedena pomocí softwaru Image JFX (2015). Všechny injikované placenty byly elektronicky ukládány. Snímky s vysokým rozlišením byly pořízeny kolmo k povrchu placenty za standardních podmínek. Placentární plochy každého plodu byly dány okraji ohraničenými náplní cév barvivem. Placentární plochy byly vyjádřeny jako procento celkové plochy. Měření A-V, A-A a V-V anastomóz bylo provedeno v místě, kde byl vizuální kontrolou stanoven vaskulární ekvátor. Marginální úpon pupečníku byl definován do 1 cm od okraje placenty. Velamentózní úpon byl lokalizován mimo placentární tkáň (169).

Výstupní data: Byly zaznamenány následující anatomické placentární proměnné: počet a typ anastomóz, vzdálenost mezi úpony pupečnicků, typ inzerce pupečnicků (paracentrální, marginální, velamentózní) a velikost placentární plochy pro každý plod. Bylo vypočteno referenční rozmezí (5. a

10. percentil) pro vzdálenost mezi inzercí pupečnicků v průběhu gestace mezi 25. a 38. gestačním týdnem. Směr toku v A-V anastomózách nebyl analyzován. Rozdíl placentárních ploch byl vypočten vydělením plochy povrchu větší části placenty plochou menší části placenty. Významná placentární disproporce byla definována jako rozdíl placentární plochy o 25 % a více. Významná váhová disproporce byla identifikována jako rozdíl v porodní hmotnosti 25 %, vypočítaná pomocí následujícího vzorce: $(\text{birth weight (BW) většího novorozence} - \text{BW menšího novorozence}) / \text{BW většího novorozence} \times 100 \% (170)$.

4.5 Použité statistické metody

Statistická analýza byla provedena pomocí softwaru SPSS (verze 13.0, SPSS Inc. Chicago, IL). Zpracovány byly základní epidemiologické, ultrazvukové a placentární kvalitativní i kvantitativní charakteristiky. Pro spojité, normálně rozdělené proměnné jsme použili Studentův t-test. Pro spojité, nenormálně distribuované proměnné byly použity neparametrické testy (Wilcoxon-Mann-Whitney test). Pro testování symetrie v kontingenční tabulce s dichotomickými proměnnými jsme použili Fischerův exaktní test. Pro všechny testy byla hodnota $P < 0,05$ považována za statisticky významnou. Byla porovnána placentární angioarchitektura s prokázanou akutní FFTR a bez akutní FFTR, byly vypočítány OR a použita multivariabilní logistická analýza.

5 Výsledky

Do studie bylo zahrnuto celkem 105 MC placent, ve všech případech se jednalo o MCDA dvojčetné gravidity. Šest z nich nebylo možné analyzovat z důvodu porušení tkáně, defektů choriové plotny, příliš krátkého nebo utrženého pupečníku, perforace choriových cév a pro technické potíže spojené s nemožností kanylace. Analýza se týkala v konečném počtu 99 případů. Tabulka 6 a 7 shrnuje základní demografické, porodnické, neonatální a placentární charakteristiky analyzované kohorty.

Průměrný věk těhotných s MCDA graviditou činil 31,2 let (Graf 4). Medián jejich BMI dosahoval hodnoty 24,5 kg/m² (Graf 5). Po technikách asistované reprodukce otěhotnělo 15 (15,2 %) žen. Medián gestačního týdne porodu byl 35,0. V 87 (87,9 %) případech bylo těhotenství ukončeno v období stanovené doporučeným postupem pro MC dvojčata, což svědčí pro nekomplikovanou kohortu MC gravidit. U jednoho (1,0 %) případu byl důvodem předčasný odtok plodové vody a v 11 (11,1 %) případech předčasný nástup děložní činnosti (graf 6). V 99 % byl porod ukončen císařským řezem. Medián porodní hmotnosti u menšího novorozence činil 1885,6 g a u většího 2075 g (graf 7), s průměrným váhovým rozdílem 9,3 %. Průměrná plocha placenty většího plodu byla 55 % a u menšího 45 %. Celkové zastoupení paracentrálních, marginálních a velamentózních úponů pupečníku bylo 66 %, 31 % a 3 % případů. U menších placentárních ploch byl výrazně vyšší podíl marginálních a velamentózních úponů pupečníků (Graf 8).

Vzdálenost mezi inzercí pupečníků se pohybovala od 1 do 30 cm. Referenční rozsah pro vzdálenost mezi inzercemi pupečníků v průběhu gestace mezi 25. a 38. týdnem byl vypočten podle rovnice: Vzdálenost (cm) = 17,045 - 0,00366 x gestační věk (GA) (týdny) ($R^2 = 1,371E-06$ P = 0,99). Křivka proložení SD byla následující: SD (cm) = 14,53 - 0,256 x gestační věk (GA) (týdny) ($R^2 = 0,019$ P = 0,173). 5. a 10. percentil v průběhu gestace mezi 25. a 38. gestačním týdnem byly vypočteny pomocí rovnice: a) pro 5. percentil: -11,435 + 0,499 x gestační věk (GA) (týdny) hodnota K 1,96

(rozsah od 1 cm do 7,5 cm), b) pro 10. percentil = $-1,55 + 0,324 \times \text{gestační věk (GA) (týdny)}$. Hodnota K 1,28 (výťažnost v rozmezí od 6,56 cm do 10,8 cm). Graf 9 zobrazuje 5.- 95. percentil pro vzdálenost mezi inzercemi pupečnicků MCDA dvojčat mezi 25.- 38. týdnem gestace.

Interfetální anastomózy jsme prokázali u 95 (96,0 %) MC placent. V Přítomnost anastomóz A-A, V-V a A-V byla prokázána v 78 (78,8 %), 16 (16,2 %) a 88 (88,9 %) a případů (tab. 7). Grafy 10-12 demonstrují kategorie počtu jednotlivých typů anastomóz na jednu placentu. Nejpočetněji byly zastoupeny A-V anastomózy.

Tab. 8 prezentuje jednotlivé charakteristiky placentární angioarchitektury ve vztahu s přítomností nebo absencí akutní FFTR. Celkem bylo prokázáno 49/99 (49,5 %) případů akutní FFTR a medián doby transfuze 1ml činil 30 sekund (18,8-46,3). Medián průměru A-A anastomóz u prokázané a neprokázané akutní FFTR byl 2,0 mm, respektive 1,0 mm. S rostoucím průměrem cévy se riziko akutní FFTR významně zvyšovalo. Prokázaná akutní FFTR byla prokázána u 8,2 % (4/49), 30,6 % (15/49) a 61,2 % (30/49) A-A anastomóz s průměrem $\leq 0,5$ mm, $>0,5-1,5$ mm a $> 1,5$ mm (graf 13). Přítomnost A-A anastomózy o průměru $>1,5$ mm je spojena s rozvojem akutní FFTR s OR 44,2 (95 % CI 5,54-352,39) (tabulka 9). Zamítli jsme tedy H_0 , že průměr A-A anastomózy neovlivní akutní FFTR Medián délky A-A anastomóz v MC placentách s prokázanou a neprokázanou aFFTR byl 18,0 cm a 21,0 cm (.078). Graf 14 zobrazuje vztah mezi jednotlivými kategoriemi délky A-A anastomózy a prokázanou akutní FFTR na kohortě placent s přítomnými A-A anastomózami. Rozdíl v zastoupeních je statisticky nevýznamný (.099). Přítomnost A-A anastomózy s délkou kratší než 7 cm je spojena s rozvojem akutní FFTR s OR 22,3 (95 % CI 2,37-208,78). Délka A-A anastomózy v rozmezí 7-23 cm je naopak spojena s nižší šancí pro rozvoj akutní FFTR (OR 3,1 /95 % CI 1,02-9,46/) (Tab. 9). Zamítli jsme tedy H_0 , že délka A-A anastomózy neovlivní akutní FFTR

V-V anastomózy byly zastoupeny v podstatně menším množství ve srovnání s A-A a A-V anastomózami. Jsou častěji přítomné ve skupině

s prokazatelnou akutní FFTR (81,3 % vs. 18,8 %). Jejich přítomnost je však spojena s rozvojem akutní FFTR s OR 5,7 (95 % CI 1,49-21,35) (Tab. 9).

Nejčastějším typem anastomóz byly A-V anastomózy, které se na rozvoji akutní FFTR podílejí jen s OR 1,8 (95 % CI 0,50-6,70) (Tab. 9).

Vzdálenost inzercí pupečnicků ve skupině s prokázanou akutní FFTR byla významně kratší, 14,7 cm vs. 19,1 cm (.002). Na základě provedené analýzy a určení percentilů pro vzdálenost inzercí pupečnicků mezi 25.-38. týdnem gestace (graf 9) vychází 5. percentil vzdálenosti inzercí pro celé uvedené období na 5 cm. Dále pak 10. percentil odpovídá 10 cm. Graf 15 zobrazuje vztah mezi kategoriemi vzdálenosti inzerce pupečnicků MCDA dvojčat a prokázanou akutní FFTR. Rozdíl v zastoupeních je statisticky významný (.006). Vzdálenosti pupečnicku \leq 5. nebo \leq 10. percentil je spojeno s OR 12,6 (95 % CI 1,54-102,41) respektive 9,6 (95 % CI 2,074-44) rozvoje akutní FFTR. Závislost mezi kategoriemi percentilů vzdáleností pupečnicků a průměrem a délkou A-A anastomózy v MCDA placentách s nekomplikovaným průběhem gestace vykazoval statisticky významnou závislost (Graf 16, Graf 17). Zamítli jsme tedy H_0 , že vzdálenost inzerce úponu pupečnicku neovlivní akutní FFTR.

6 Diskuse

Předložená studie popisuje in vitro simulační model akutní FFTR v případě sIUD jednoho z MCDA dvojčat. Potvrzuje předpoklad přímé závislosti akutní FFTR na placentární angioarchitektuře zvláště pak na přítomnosti A-A a V-V anastomóz. Angioarchitektura MCDA placenty významně souvisí s místy pupečnickových inzercí. Pokud se mezi 25.-38. týdnem gestace inzerce pupečnicků MCDA dvojčat nachází pod 5. percentilem vzdálenosti pro dané gestační stáří je tento stav spojen s vysokou pravděpodobností přítomnosti A-A anastomóz, které v případě sIUD vedou k rychlému rozvoji akutní FFTR.

V rámci studie proveditelnosti našeho in vitro simulačního modelu akutní FFTR jsme řešili otázku časového intervalu, jak dlouho lze porozenou placentu pro simulaci využít. V některých případech porod probíhal v nočních hodinách a nebylo technicky možné simulaci realizovat bezprostředně po porodu. Všechny placenty byly vyšetřeny v časovém období 0-48 hodin po porodu. Nejprve jsme museli nalézt odpověď na otázku, zda pozdější hodnocení nemůže představovat možné riziko histologických změn v povrchových cévách choria a ovlivnit tak porovnatelnost naměřených výsledků a věrohodnost práce. Námi provedené histopatologické analýzy vaskulárního ekvátoru s vaskulárními anastomózami o průměru od 0,2 do 3 mm neprokázaly povrchové vaskulární změny v uvedených cévách v časovém intervalu 0, 24 a 48 hodin od porodu. Navíc analýza opakovaných simulací pro obě varianty s pozitivními a negativními výsledky byla se stejnými výsledky za 0, 24 a 48 hodin. Tyto výsledky jsou v souladu se studiiemi analýz histologických placentárních změn a skladování. Tyto práce neprokázaly žádné změny na cévních strukturách placenty během 48 hodin (163-165). Luminární abnormality kmenových endoteliálních buněk, tj. multifokální kmenové vilózní nebo rozsáhlé obliterace, začínají po 48 hodinách, respektive po 14 dnech (165).

V námi sledované kohortě 99 MCDA placent s nekomplikovaným průběhem těhotenství jsme prokázali prevalenci interfetálních anastomóz 96 % (95/99). Tento údaj je v souladu s publikovanými injekčními studii, které udávají, že u 95-100 % MC placent jsou povrchové anastomózy přítomny (28,30,171). Námi popsána prevalence jednotlivých typů anastomóz je rovněž v souladu s pracemi, které popisují, že A-A, V-V a A-V anastomózy jsou přítomny u 80 %, 20 % a 95 % nekomplikovaných těhotenství MC dvojčat (31).

Základním předpokladem pro simulaci přítomnosti aFFTR u MCDA placenty je přítomná interfetální vaskulární anastomóza. Ani v jednom případě ze čtyř placent, které neměly prokazatelnou interfetální anastomózu jsme neprokázali přesun barviva do teritoria druhého plodu. Z celkového počtu 95 placent s anastomózou jsme akutní FFTR prokázali u 49/95 (51,6 %) případů. Medián doby transfuze 1ml činil 30 sekund (18,8-46,3). Z uvedené skutečnosti vyplývá, že individuální angioarchitektura musí hrát roli v pravděpodobnosti rozvoje akutní FFTR. Nestačí samotná přítomnost interfetálních anastomóz.

V námi testovaném in vitro modelu byla existence A-A anastomózy nezbytným předpokladem pro průkaz akutní FFTR. Průměr anastomózy ve skupině s akutní FFTR byl dvojnásobný ve srovnání s kohortou bez FFTR (2,0 vs. 1,0 mm). 61,2 % všech A-A anastomóz placent s prokázanou akutní FFTR mělo průměr anastomózy větší než 1,5 mm. Pravděpodobnost sledovaného jevu stoupá s průměrem A-A anastomózy. V případě průměru A-A anastomózy $\geq 1,5$ mm byla akutní FFTR prokazatelná u 94,7 %. Tento údaj se shoduje s pozorováním Zhaa a kol. (112). Šance rozvoje akutní FFTR u MCDA placenty s A-A anastomózou o průměru $>1,5$ mm v případě sIUD je 44,2krát zvýšena (tab. 9). Šíře A-A anastomózy do určité míry souvisí s její délkou. Zjistili jsme, že MCDA placenty s nekomplikovaným průběhem těhotenství, prokázanou akutní FFTR a s povrchovými A-A anastomózami o délce menší než 7 cm mají šanci rozvoje FFTR v případě sIUD 22,3krát vyšší.

Vzhledem k výše uvedené skutečnosti by bylo výhodné znát prenatalně situaci ohledně A-A anastomóz u MC placent. Ultrazvuková diagnostika A-A anastomóz u MC dvojčat je možná. Vyžaduje však kvalitní technické zázemí a zkušeného sonografistu. Naproti tomu vzdálenost úponů pupečnicku je měřitelná relativně snadno. Nízká vzdálenost inzercí pupečnicků představuje nepřímý rizikový faktor pro riziko FFTR v případě sIUD (112,105).

V námi sledovaném souboru porozených MCDA dvojčat se 5. percentil vzdálenosti inzercí pupečnicků pro 25.-38. gestační týden pohyboval od 1 cm do 7,5 cm (graf 9). První studie stanovující referenční rozsah pro vzdálenost mezi úpony pupečnicku v průběhu gestace u MC dvojčat byla publikována v roce 2015 (112). Zhao a kol. definoval blízkou inzerci pupečnicků jako vzdálenost nižší než 5. percentil. V jeho studii se vzdálenost inzercí pupečnicků pod 5. percentilem pohybovala v rozmezí 3,3 - 4,0 cm napříč jednotlivými gestačními týdny. Naše rozdílná mezní hodnota může souviset s velikostí vzorku, gestačním věkem a vyloučením MC placent s komplikacemi. Z grafu 9 je zřejmé, že pro ukončený 36. gestační týden, kdy by měla být MC dvojčata porozena, odpovídá 5. percentil vzdálenost inzercí 5 cm, což je hodnota velice blízká výše zmíněné práci. Zhao a kol. navrhl ve své práci fixní nastavení rizikové vzdálenosti inzercí na 4 cm. Tato hodnota však nebyla odvozena z detailnější statistické analýzy, ale vycházela z předběžných dat a empirie. Z praktického hlediska a pro rutinní klinickou práci se jeví použití fixní mezní vzdálenosti inzercí pupečnicků výhodnější než hodnocení daného parametru v závislosti na gestačním stáří. V našem souboru byl průměr hodnot proximálních inzercí 3,2 cm. S ohledem na tuto hodnotu navrhuje v souladu s prací Zhaa, označit za rizikovou vzdálenost inzercí 4 cm. V případě, že pracujeme s hodnotou 4 cm byli jsme schopni prokázat ve 100 % MCDA placent s průkaznou akutní FFTR přítomnost A-A anastomóz. V případě V-V a A-V anastomóz jsme tento nález nepozorovali. Placenty s inzercí pupečnicku pod 5. percentilem měly V-V a A-V anastomózy přítomné v 45,5 %, resp. 81,8 %.

Naše studie prokázala nízký počet V-V anastomóz (16,2 %) což je v souladu s jejich sníženou prevalencí v jiných studiích (28 %) (110). V-V anastomózy, stejně jako A-A anastomózy, jsou povrchové s potenciálním obousměrným průtokem krve (103). Na rozdíl od arteriálního systému vykazuje žilní oběh za normálních podmínek nízkotlaký gradient. Mnoho studií neprokazuje souvislost mezi V-V anastomózami a zvýšenou perinatální mortalitou, ačkoli Denbow a kol. zmínil jejich negativní roli při akutní FFTR. Námi určené OR 5,7 rozvoje akutní FFTR u MCDA placenty s V-V pravděpodobně demonstruje potencující účinek V-V anastomóz s dominantní vlivem A-A anastomóz. Tyto výsledky podporují pozorování publikované Denbowem a kol. (28). Uvedl souvislost mezi V-V anastomózami a sníženým perinatálním přežitím. Autoři spekulují, že změny ve fetálním žilním tlaku mohou vést k urychlení shuntingu krve přes placentu v přítomnosti A-A anastomóz.

Prevalence A-V anastomóz v našem souboru byla 88,9 %. Jednosměrné A-V anastomózy jsou nejčastější interfetální vaskulární anastomózou ze všech klinických podtypů monochoriálních dvojčat. Představují klinické pozadí pro TTTS a TAPS a způsobují chronické interfetální transfuze s přibližně 5 ml a 15 ml/24 hodin pro TAPS a TTTS (173-175). V naší studii jsme zjistili, že přítomnost A-V anastomóz stanoví OR rozvoje akutní FFTR u MCDA dvojčat v případě sIUD na hodnotu 1,8. Možným vysvětlením, proč A-V anastomózy zásadně nepřispívají nárůstu akutní FFTR, je potřeba vysokotlakého gradientu na kapilární úrovni, který je nutný k zajištění průtoku krve A-V anastomózou.

Náš metodický přístup k in vitro simulaci akutní FFTR má několik limitací, nicméně se domníváme, že by se mohlo jednat o velice reálný model použitelný k odhadu rizik akutní FFTR na podkladě angioarchitektury MCDA placent. První limitací je absence reziduálního odporu v pupečníku a těle mrtvého plodu. Proto také předpokládáme a data z mnoha prací tomu také nasvědčují, že reziduální tělesný a cévní odpor pupečníku a placenty v důsledku možného cévního spasmu a trombotizace u mrtvého plodu redukuje skutečnou exsanguinaci. Za druhé, kontinuální aplikace středního

arteriálního tlaku místo pulzního toku zředěného histologického barviva při pokojové teplotě nemá stejné reologické vlastnosti jako fetální krev. Kontinuální tok naředěné histologické barvy přesně neodráží skutečný stav in vivo, ale tato skutečnost by neměla být rozhodující pro stanovení potenciálního rizika akutní FFTR. Histologické barvy navíc detailně zobrazují preferenční průtok placentárními cévami s nízkou rezistencí. Za třetí limitací je absence mateřského oběhu. Vzhledem k tomu, že akutní transfuze probíhá v povrchové vrstvě placentárních cév velkého kalibru, je nepravděpodobné, že by eliminace hluboké fetomaternální oblasti hrála zásadní roli v průkazu aFFTR.

Studie představila popis in vitro modelu, kde byly prezentovány potenciální vaskulární rizikové faktory akutní FFTR u nekomplikovaných MCDA dvojčat. Mezi klíčové rizikovými faktory pro aFFTR patří přítomnost povrchových A-A s nízkou rezistencí a blízké inserce pupečníku. MC placenty se insercí pupečníku pod 5. percentilem mají vysokou pravděpodobnost přítomnosti vysokokapacitní nízko rezistentní anastomózy A-A. Na základě stávajících znalostí je vhodné použít pevnou mezní hodnotu vzdálenosti insercí pupečníků. Tato odpovídá 4 cm. Uvedené poznatky jsou klíčové pro lepší pochopení mechanismu akutní FFTR u případů MCDA dvojčat s příhodou SIUD a lze je pravděpodobně aplikovat i na MCMA dvojčata. Závěry předložené studie by mohli být využity v rámci diskuse o optimálním načasování porodu u jinak nekomplikovaného průběhu MCDA dvojčat.

7 Závěr

MC dvojčata představují specifickou rizikovou kategorii dvoučetných těhotenství co se týče incidence a typu možných komplikací. Vedle běžných komplikací, které můžeme pozorovat u dvojčat DC, jako příklad lze uvést vrozené vývojové vady, které jsou u MC dvojčat dvojnásobně častější, jsou tato dále zatížena pro MC dvojčata specifickými komplikacemi. Tyto nejsou až tak vzácné a mohou postihovat až 20 % případů MC dvojčat. Komplikace vázané na MC placentární komponentu jsou velice specifické, co se týče jejich řešení. Mohou vést ke kompromitaci jednoho z plodů s následným rizikem nitroděložního úmrtí. Nitroděložní úmrtí jednoho z plodů MC gravidity, a to je pro tuto skupinu dvojčat charakteristické, má zásadní vliv na druhý přežívající plod. Spektrum možných obtíží se široké. Od nulového negativního ovlivnění, přes abnormální psychomotorický postnatální vývoj až po nitroděložní úmrtí. S ohledem na techniky asistované reprodukce a metody preimplantační diagnostiky lze očekávat, že se počty MC dvojčat jistě nebudou snižovat, spíše naopak. Z tohoto důvodu je problematika selekce rizikových MC dvojčat velice aktuální včetně hledání nových neinvazivních prenatalně diagnostických postupů, které možná rizika detekují s předstihem.

Cílem práce bylo představit in vitro model simulace akutní FFTR, která pokud nekontrolovaně nastane, má za následek výrazně nepříznivý perinatálního outcome.

Akutní FFTR se liší od chronické transfuze klinicky známé u MC dvojčat jako TTTS či TAPS. Odlišnost spočívá v rychlosti transfuze a odlišnosti klinického průběhu. Zatímco chronický průběh transfuze, pokud je správně a včas diagnostikován je rovněž většinou dobře řešitelný vybranými typy intrauterinních intervencí. Oproti tomu je akutní FFTR situace náhlá, probíhá v krátkém časovém intervalu po události sIUD a často k ní dochází u MC gravidity se zcela nekomplikovaným průběhem. Řešení pomocí dostupných intrauterinních intervencí je obtížné a důsledky mohou být katastrofální.

Základním patofyziologickým předpokladem vzniku akutní FFTR je přítomnost A-A anastomózy. Ty většinou bývají solitární, přibližně v 5% zdvojené. Jedná se o nízko rezistentní cévní anastomózy choria, které spojují obě arteriální řečiště plodů. Jednotlivé zastoupení A-A anastomóz se liší v závislosti na typu komplikací MC dvojčat. Nejvyšší zastoupení je u typu III sFGR, kdy se A-A anastomózy vyskytují ve 100 % případů. U typu I a II sFGR se A-A anastomózy vyskytují v 85 %. Nejnižší výskyt, 20 % a 0 % je udáván u TTTS a TAPS. U MC gravidity s nekomplikovaným průběhem se vyskytují v 52 %. Vzhledem k výše uvedenému musí zákonitě existovat i rozdílné riziko rozvoje akutní FFTR pro tyto jednotlivé subtypy MC gravidit. Nejvyšší zastoupení u všech MC dvojčat mají A-V anastomózy, které se vyskytují v průměrném počtu 3,5 na jednu MC placentu, jejich vzájemný poměr mezi jednotlivými subtypy je přibližně stejný. Vzhledem k rozdílným tlakům jsou zodpovědné za pomalou transfuzi, která je přibližně u 15 ml za 24 hodin u TTTS a 5 ml za 24 hodin u TAPS. Pokud se A-V anastomózy vyskytují samostatně, existuje reálné riziko těchto syndromů v závislosti na převažujícím směru. Většinou jsou ale kompenzovány přítomnou A-A anastomózou, která brání jejich rozvoji a vyskytuje se u více jak 85 % všech placent s fyziologickým průběhem. Tomu odpovídá i frekvence 10-15 % výskytu případů TTTS.

Nejmenší klinický význam mají V-V anastomózy. Jejich klinický význam je sporný. Na rozdíl od A-A spojují nízkotlaká řečiště obou plodů s podobnými tlaky. Nemají protektivní efekt vůči rozvoji TTTS. V našem souboru vykazuje jejich přítomnost vyšší riziko rozvoje akutní FFTR. Tento efekt je maskován současnou přítomností A-A anastomózy u blízkých úponů pupečnicků.

Inzerce pupečnicků, a především jejich vzájemná vzdálenost, určuje charakter interfetálního vaskulárního spojení. Platí nepřímý vztah, čím kratší vzdálenost, tím významnější A-A anastomóza. V naší studii odpovídal 5. percentil interumbilikální vzdálenosti mezi 25.-36. gestačním týdnem pěti centimetrům. Významná skupina MCDA placent vykazovala přítomnost vysokokapacitní A-A anastomózu při vzdálenostech ≤ 5 cm. Ve snaze sjednotit naše data s publikovanými literárními údaji s cílem stanovit jednu

senzitivní vzdálenost inzercí pupečnicků, lze uvažovat o 4 cm pro celé těhotenství. Při této hodnotě vzdálenosti inzercí 100 % MCDA placent našeho souboru mělo významnou A-A anastomózu. Dalším faktorem určující charakter A-A spojení je typ inzerce pupečnicků. U plodů s marginálním a velamentózním úponem pupečnicků často nalzáme dominantní tzv. rescue A-A anastomózu. Ta bývá přítomna typicky u případů sFGR I. a II. typu. Tato anastomóza na jednu stranu zajišťuje transport živin a O₂ menšího z plodů pomocí reziduálního zásobení od většího plodu (tzv. rescue anastomóza), na druhou stranu bývá příčinou akutní FFTR v případě s IUD. V případě kombinace rescue anastomózy s marginálním či velamentózním pupečnickovým úponem vykazuje A-A anastomóza často monopodiální větvení preferující kmenový tok, což dále potencuje riziko akutní FFTR.

Placentární plochy určují především váhový potenciál obou plodů a pouze nepřímo a v malé míře se podílejí na průběhu akutní FFTR. Při nerovnoměrném rozložení placentárních ploch je často průběh gravidity charakteru sFGR s nejvyšším zastoupením A-A anastomóz, často v kombinaci s marginálním či velamentózním úponem pupečnicku.

Předložená studie má, na základě zjištěných výsledků, potenciál vyselektovat skupinu těhotných žen s nekomplikovaným průběhem těhotenství, které by mohly profitovat z intenzivnějšího sledování mezi 30.-36. týdnem gestace nebo jsou vhodné k dřívějšímu ukončení mezi 32.-34. týdnem gestace.

8 Souhrn

Předloženou práci bylo možné realizovat díky činnosti Centra fetální medicíny Ústavu pro péči o matku a dítě a díky spolupráci s perinatologickými a prenatalně diagnostickými centry v České republice a na Slovensku, která pacientky do našeho zařízení odesílají. I když vícečetná těhotenství představují, co se týče procentuální zastoupení

v České republice malou skupinu, v roce 2020 se dvojčata podílela na celkovém počtu živě rozených dětí 1,34 %. Jedná se o kohortu, která je díky vysoké incidenci mateřských fetálních a neonatální komplikací extrémně důležitá. MC dvojčata reprezentující pouhých 20 % všech dvojčetných těhotenství jsou však spojena s násobně vyššími riziky než dvojčata DC. Stěžejním místem předložené studie je MC placenta jejíž cirkulace je sdílená dvěma plody a je zdrojem specifických typů komplikací. Hlavním cílem bylo vytvoření simulačního modelu pro in vitro simulaci akutní FFTR, která pokud proběhne, může výrazně negativně ovlivnit průběh a výsledek celého těhotenství. Pomocí námi vypracovaného simulačního modelu jsme byli schopni nalézt odpovědi na některé otázky týkající se vztahu angioarchitektury MC placenty a rizika vzniku akutní FFTR. Interfetální anastomózy jsme prokázali u 96,0 % MC placent, kdy zastoupení A-A, V-V a A-V anastomóz dosahovalo 78,8, 16,2 a 88,9 %. Celkem bylo prokázáno 49,5 % případů akutní FFTR s mediánem doby transfuze 1ml 30 sekund. (18,8-46,3). Přítomnost A-A anastomózy o průměru >1,5 mm je spojena s rozvojem akutní FFTR s OR 44,2 (95 % CI 5,54-352,39). Medián délky A-A anastomóz v MC placentách s prokázanou akutní FFTR byl 18,0 cm. Přítomnost A-A anastomózy s délkou kratší než 7 cm je spojena s rozvojem akutní FFTR s OR 22,3 (95 % CI 2,37-208,78). Délka A-A anastomózy v rozmezí 7-23 cm je naopak spojena s nižší šancí pro rozvoj akutní FFTR (OR 3,1 /95 % CI 1,02-9,46/). V-V anastomózy byly zastoupeny v podstatně menším množství ve srovnání s A-A a A-V anastomózami. Jsou častěji přítomné ve skupině s prokazatelnou akutní FFTR (81,3 % vs. 18,8 %). Jejich přítomnost je však spojena s rozvojem akutní FFTR s OR 5,7 (95 % CI 1,49-21,35). A-V anastomózy byly zastoupeny nejčastěji, tyto se na rozvoji akutní FFTR podílejí jen s OR 1,8 (95 % CI 0,50-6,70). Vzdálenost inzercí pupečnicků ve skupině s prokázanou akutní FFTR byla významně kratší, 14,7 cm vs. 19,1 cm. Na základě provedené analýzy a určení percentilů pro vzdálenost inzercí pupečnicků mezi 25.-36. týdnem gestace vychází 5. percentil vzdálenosti inzercí pro celé uvedené období na 5 cm. Vzdálenosti

pupečníku \leq 5. percentil je spojeno s OR 12,6 (95 % CI 1,54 – 102,41) rozvoje akutní FFTR.

Studie představila popis in vitro modelu, kde byly prezentovány potenciální vaskulární rizikové faktory akutní FFTR u nekomplikovaných MCDA dvojčat. Uvedené poznatky jsou klíčové pro lepší pochopení mechanismu akutní FFTR u případů MCDA dvojčat. Případ akutní FFTR se může rozvinout v případě komplikované průběhu MC dvoučetné gravidity po nitroděložním úmrtí kompromitovaného plodu. Tyto stavy by však měly být včas detekovány na základě opakovaných (14 dnů) sonografických kontrol. MC gravidita s rizikem by následně měla být řešena formou vhodné intrauterinní intervence s cílem zabránit nekontrolované sIUD s následnou akutní FFTR. U nekomplikovaných MC dvojčat mohou být závěry předložené studie využity v rámci diskuse o optimálním načasování porodu na základě jednoduše detekovaného sonografického parametru jakým je vzdálenost inzerce pupečnicků.

9 Summary

The dissertation presents a pilot study demonstrating in vitro simulation of the process of acute fetofetal transfusion of monochorionic twins. The simulation was performed on MC placentas in connection with a known clinical course. The study was performed on MC twins with a physiological course. The primary objective of the study was to determine the basal risk of aFFTR for this subgroup. Secondary objectives were the determination of basal risks for other subtypes of MC twins, analysis of the placental vascular net with a focus on interfetal anastomoses, placental areas, and the nature of umbilical cord attachments, including their mutual distance. The acute type of interfetal transfusion differs fundamentally from the chronic one, which is typical for the TTTS and TAPS subgroup not only in the representation of the transfusions but also in clinical course, reversibility, and type of anastomoses that each type of transfusion causes.

The main pathophysiological basis of aFFTR is AA anastomosis. The presence of this vascular junction varies between subgroups of MC twins and largely determines their clinical course. Due to the different proportions of AA anastomoses in individual subtypes of MC pregnancies, the risk of aFFTR also differs. AA anastomosis also has a protective effect and a certain compensatory ability to balance the pressure differences of the fetoplacental areas of both fetuses due to its low-resistant nature. The third feature of AA anastomoses is a rescue anastomosis for the smaller fetuses in the case of sFGR.

The baseline risk of aFFTR for the physiological course of MC pregnancies was 49.5 %. with a median transfusion time of 1 ml 30 seconds (18.8-46.3 s). The mean diameter of AA anastomoses in proven and absent aFFTR was 2.0 mm and 1.0 mm, respectively. The risk of aFFTR increased significantly with increasing vessel diameter. The presence of AA anastomoses > 1.5 mm in diameter was associated with interfetal transfusion with OR 44.2. The length of anastomoses was not statistically significant in terms of aFFTR. On the contrary, as the distance decreases, the risk increased significantly.

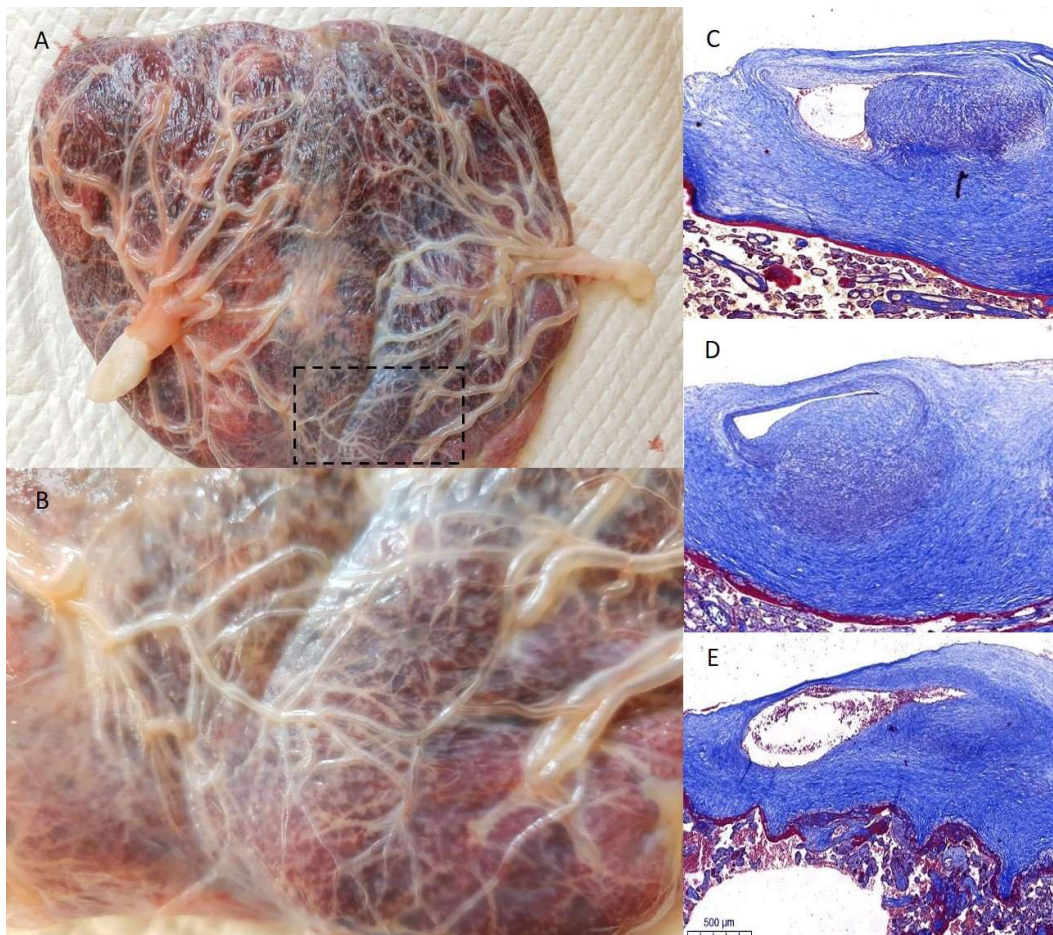
The overall proportion of paracentral, marginal, and velamentous insertions of the umbilical cords was 66 %, 31 %, and 3 % of cases. Close umbilical cord attachment was determined to be 4 cm (5th percentile) and showed almost 100% risk of aFFTR. The close attachment of the umbilical cords was indirectly related to the diameter of the AA anastomoses. The presence of AA, VV, and AV anastomoses was in 88.9 %, 78.8 %, and 16.2 % of cases. AV and VV anastomoses, in contrast to AA anastomoses, do not significantly increase the risk of aFFTR. Placental areas determine the clinical diagnosis of sFGR, however, they indirectly influence the risk of aFFTR by a higher risk of sIUD of a smaller fetus and a higher proportion of solitary rescue AA anastomoses. Thus, this subgroup is primarily the most vulnerable in terms of aFFTR.

Data obtained from in vitro simulations of acute fetofetal transfusion show that sFGR type III has the highest risk with 100 % basal risk, followed by

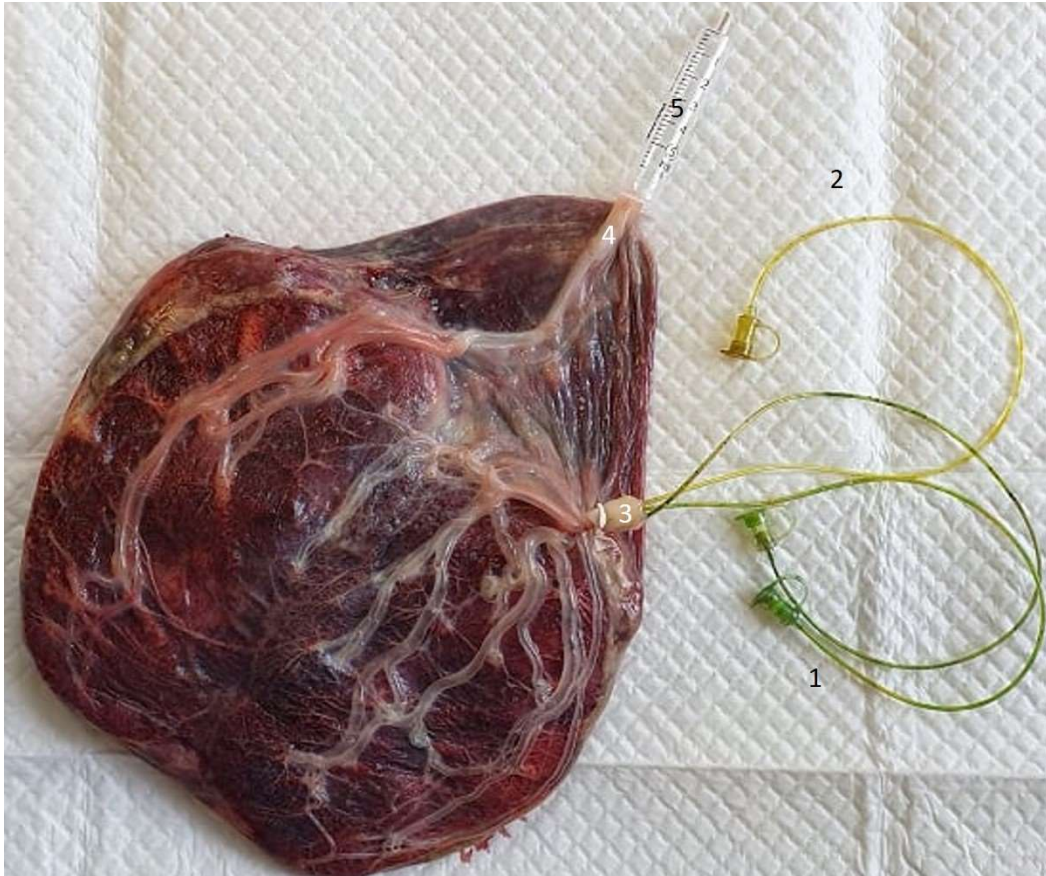
sFGR types I and II, physiological course, TTTS, and TAPS with corresponding risks of aFFTR in 60 %, 49.5 %, 20 %, 0 %. The measured data agree with studies describing the consequences of sIUD, which, however, mostly did not stratify the clinical subtypes of MC twins. These data help to understand the process of acute fetofetal transfusion and thus determine the risks for individual subgroups of MC twins in the case of sIUD. Fortunately, the real risk of morbidity and mortality for the surviving fetus is reduced by several factors reflecting the fetoplacental condition of the dead fetus. The objectives of the study could serve as a basis for the development of guidelines not only for monochorionic pregnancies.

10 Přílohy

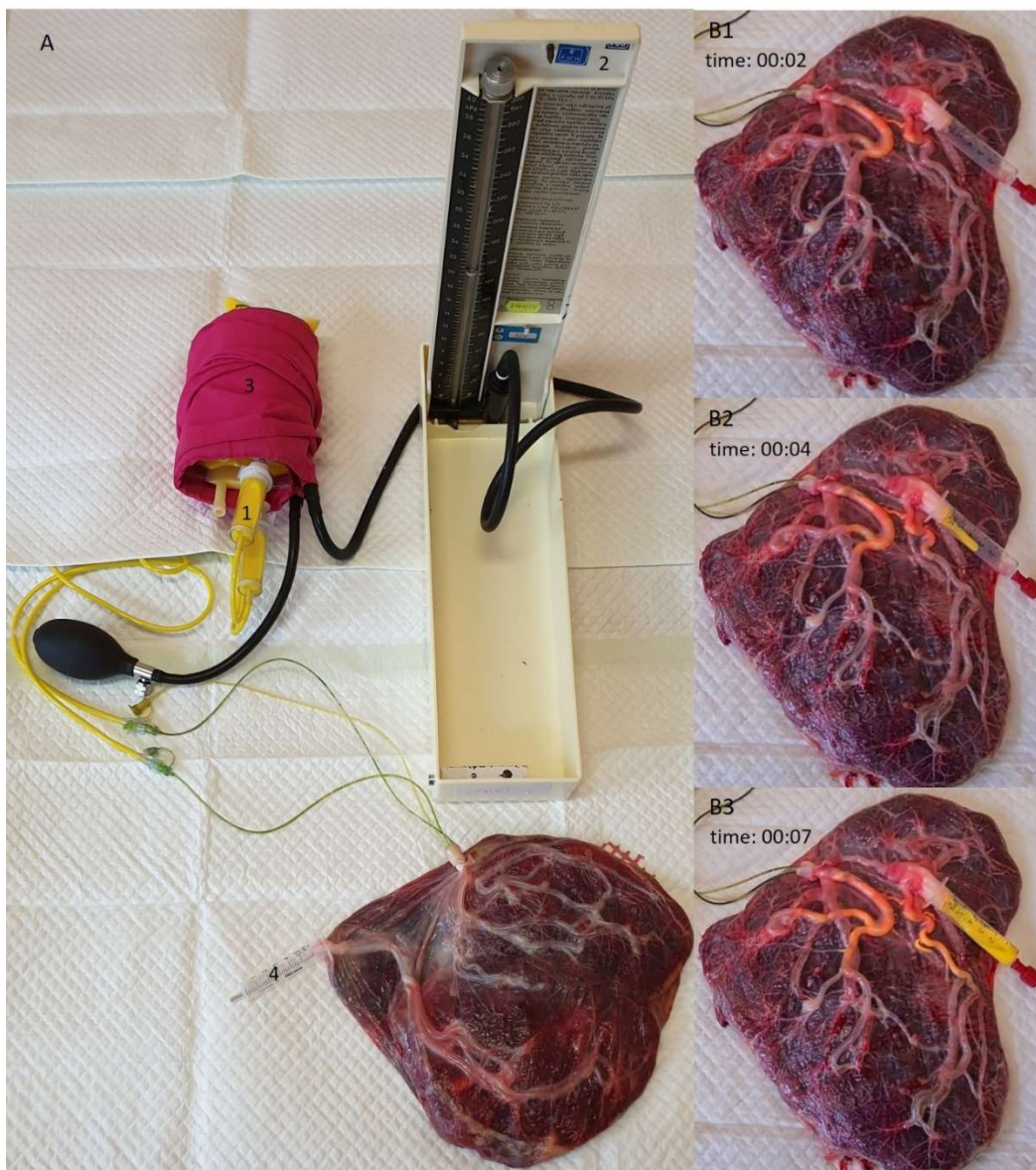
10.1 Obrázky týkající se vlastní studie



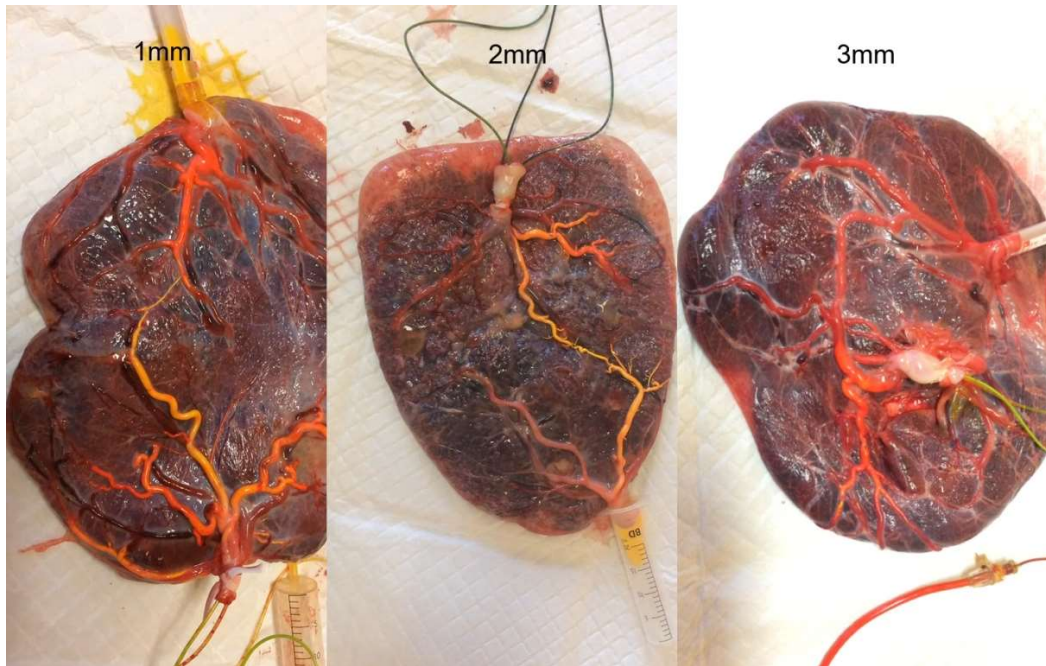
Obr. 22: A) Makroskopický vzhled porozené MC diamniální placenty před odběrem vzorků pro hodnocení případných autolytických změn. Placenta je zbavena plodových obalů s proplachem cévního systému. B) Detail placenty, kde byla provedena biopsie za účelem histologické analýzy interfetálních povrchových anastomóz. C-E) Mikroskopický snímek barvený modrým trichromem. Povrchové cévní anastomózy placenty zpracované bezprostředně po porodu (C), po 24 (D) a 48 hodinách (E). Modře se zobrazuje pojivová tkáň obklopující arterii. Žádný ze vzorků nevykazoval autolytické cévní změny v průběhu 48 hodin.



Obr. 23: Postup přípravy placenty před simulací (I). Z choriového povrchu byly odstraněny obaly, pupečníky byly zkráceny a vytlačena přebytečná krev nebo sraženiny. Pahýl pupečníku byl kanylován 3,5 Fr (1) katétrem pro obě arterie a 4 Fr (2) katétrem pro žílu. Kanylovaný pahýl pupečníku (3) reprezentoval živý plod ohrožený aFFTR. Druhý pahýl (4) se sběrnou částí injekční stříkačky (5) představuje pupečník mrtvého plodu. Cévy choria byly propláchnuty fyziologickým roztokem při pokojové teplotě.



Obr. 24: Průběh simulace (II) – simulační sestava pro aFFTR. A) Dvojice spojených infuzních setů se 100 ml fyziologického roztoku a 10 ml histologického barviva (1) fixovány navzájem pomocí manžety (3) mechanického rtuťového tonometru (2) a připojeny ke kanylovaným umbilikálním arteriím. Tento pupeční pahýl představuje živý plod ohrožený aFFTR. Uzavřená sběrná část stříkačky (4) o objemu 6 ml byla fixována ke druhému pupečnímu pahýlu pro měření objemu možné transfuze. B1-B3) Tonometr byl tlakován na 30-40 mm Hg pro simulaci středního arteriálního tlaku pro druhý a třetí trimestr. Současně byla spuštěna časomíra. Pozitivní nález aFFTR byl definován při naplnění 1ml barviva do sběrné části stříkačky. V konkrétním případě trvala aFFTR 7 sekund.



Obrázek 25: MC placenty s rozdílnou šíří A-A anastomóz a pozitivní simulací aFFTR: A) A-A anastomóza 1mm, B) A-A anastomóza 2mm, C) A-A anastomóza 3mm.

10.2 Tabulky týkající se studie

Charakteristiky sledovaného souboru	
Mateřské	
věk matky (roky)	31.2±5.6
BMI (kg/m ²)	24.5 (22.1-29.4)
asistovaná reprodukce: IVF/ICSI	15/99 (15.2)
Perinatální data	
gestační stáří v době porodu (týdny)	35.0 (33-36)
příčina porodu: iatrogenní v termínu	87/99 (87.9)
PPROM	1/99 (1.0)
spontánní nástup předčasného porodu	11/99 (11.1)
Císařský řez	98/99 (99)
Neonatální data	
Porodní váha menšího z plodů (g)	1885.6±498.1
Porodní váha většího z plodů (g)	2075.2±478.6
Váhový rozdíl (%)	9.3 (4.9-14.8)
Podíl váhové disproporce ≥25%	5/99 (5.1)

Tab. 6: Demografické a perinatální charakteristiky kohorty MC dvojčat s fyziologickým průběhem. Charakteristiky jsou uvedeny jako průměr +/- SD pro normálně rozdělené proměnné, medián a interkvartilové rozmezí pro proměnné s nenormálním rozdělením. Kategorické proměnné byly prezentovány jako celkový počet (procento ve skupině).

Charakteristiky sledovaného souboru	
Placentární data	
Větší placentární plocha (%)	55.0 (51.0 - 60.0)
Úpon pupečíku: paracentrální	86 / 99 (89.6)
marginální	13 / 99 (13.1)
velamentózní	0 / 99 (0)
Menší placentární plocha (%)	45.0 (40.0 - 49.0)
Úpon pupečnicku: paracentrální	43 / 99 (43.4)
marginální	50 / 99 (50.6)
velamentózní	6 / 99 (6.1)
Průměrný rozdíl placentárních ploch	1.2 (1.0 -1.5)
Podíl placent s rozdílem plochy >1.5	21 / 99 (21.2)
Vzdálenost pupečnicků (cm):	16.9 ± 7.2
≤ 5 th centil	11 (11.1)
≤ 10 th centil	5 (5.1)
> 10 th centil	83 (83.8)
Choriovaskulární charakteristika	
Počet přítomných anastomóz	95/ 99 (96.0)
Typ anastomóz: A-A	78 / 99 (78.8)
A-V	88 / 99 (88.9)
V-V	16 / 99 (16.2)
Počet A-A anastomóz na placentu:	0.9±0.7
0	21 / 99 (21.2)
1	71 / 99 (71.7)
≥2	7 / 99 (7.1)
Počet V-V anastomóz na placentu:	0.2±0.4
0	83 / 99 (83.8)
1	16 / 99 (16.2)
Počet A-V anastomóz na placentu:	4 (2-6)
0	11 / 99 (11.1)
1-6	69 / 99 (69.7)
≥7	19 / 99 (19.2)

Tab. 7: Placentární a choriovaskulární charakteristiky kohorty monochoriálních dvojčat s fyziologickým průběhem. Charakteristiky jsou uvedeny jako průměr +/- SD pro normálně

rozdělené proměnné, medián a interkvartilní rozmezí pro proměnné s nenormálním rozdělením. Kategorické proměnné byly prezentovány jako celkový počet (procento ve skupině).

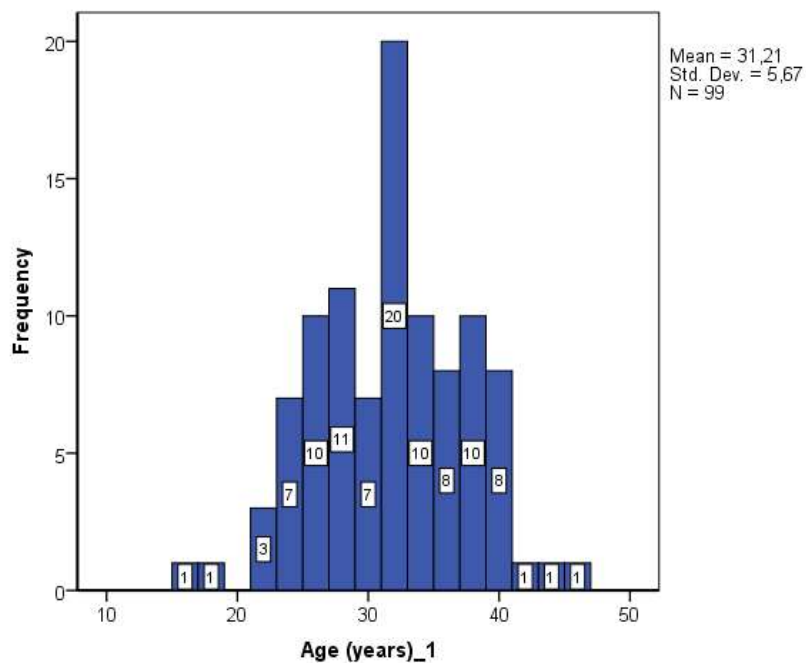
Charakteristika choriovaskulární anatomie ve vztahu k aFFTR			
	Přítomnost akutní fetó-fetální transfuze		p
	ano	ne	
Simulace aFFTR	49 / 99 (49.5)	50 / 99 (50.5)	
Čas aFFTR (s)	30 (18.8-46.3)	0	.000 [†]
Arterio-arteriální anastomózy			
přítomnost	49 / 78*(62.8)	29 / 78*(37.2)	.000 [‡]
počet: 0	0 / 49 (0)	21 / 50 (42.0)	
1	45 / 49 (91.8)	26 / 50 (52.0)	.000 [‡]
≥2	4 / 49 (8.2)	3 / 50 (6.0)	
průměr (mm)	2.0 (1.0-2.9)	1.0 (0.5-1.0)	.000 [†]
kategorie: ≤ 0.5	4 / 49 (8.2)	11 / 29 (37.9)	
> 0.5-1.5	15 / 49 (30.6)	17 / 29 (58.6)	.000 [‡]
> 1.5	30 / 49 (61.2)	1 / 29 (3.4)	
délka (cm)	18.0 (7.0-22.0)	21.0 (14.0-25.0)	.078 [†]
kategorie: < 4	9 / 49 (18.4)	0 / 29 (0.0)	
4-10	4 / 49 (8.2)	4 / 29 (13.8)	.099 [‡]
10-20	13 / 49 (26.5)	9 / 29 (31.0)	
> 20	23 / 49 (46.9)	16 / 29 (55.2)	
Veno-venózní anastomózy			
přítomnost	13 / 16* (81.3)	3 / 16* (18.8)	.005 [‡]
počet: 0	36	47	
1	13	3	.005 [‡]
≥ 2	0	0	
Arterio-venózní anastomózy			
Přítomnost	45 / 88* (51.1)*	43 / 88* (48.9)*	.525 [‡]
Vzdálenost pupečnicků (cm)	14.7 (±7.9)	19.1 (±5.79)	.002 [*]

Tab. 8: Simulace akutní FFTR in vitro. Charakteristiky jsou uvedeny jako průměr +/- SD pro normálně rozdělené proměnné, medián a interkvartilní rozmezí pro proměnné s nenormálním rozdělením. Kategorické proměnné byly prezentovány jako celkový počet (procento ve skupině). †Mann-Whitneyho test, ‡Chi-kvadrát test, *T-test, *počet placent s A-A anastomózami, *počet placent s V-V anastomózami, * počet placent s A-V anastomózami.

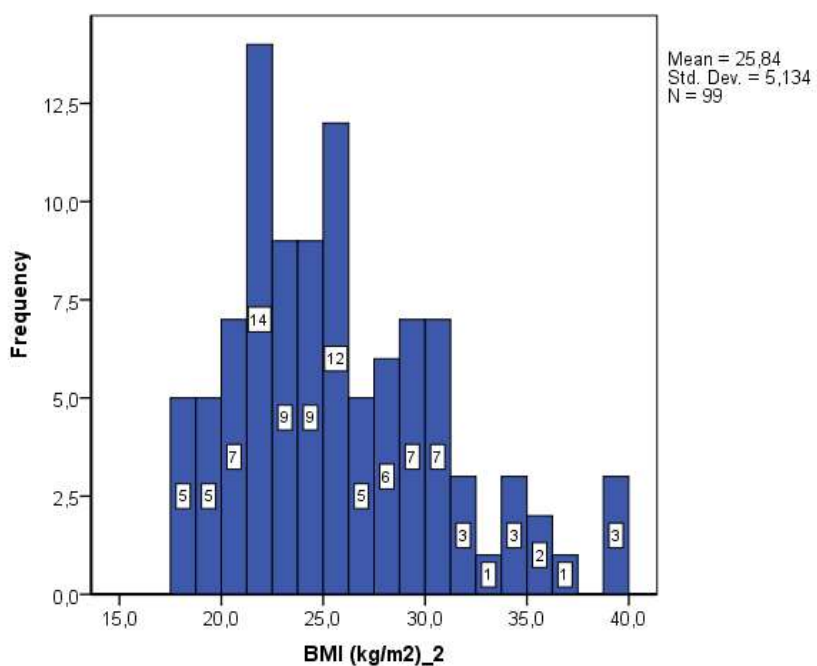
Nezávislá proměnná	OR	Odds Ratio 95% Interval	p
Angioarchitektura			
průměr A-A anastomóz >1.5 mm	44.2	5.54-352.39	.000
délka A-A anastomóz < 7 cm	22.3	2.37-208.78	.007
≥ 7-23 cm	3.1	1.02-9.46	.046
Přítomnost AV anastomóz	1.8	0.50-6.70	.361
Přítomnost VV anastomóz	5.7	1.49-21.35	.011
Vzdálenost pupečnicků			
≤ 5 th centil	12.6	1.54-102.41	.018
≤ 10 th centil	9.6	2.04-44.97	.004

Tab. 9: Logistická regrese pro rozvoj aFFTR ve vztahu k placentární angioarchitektuře a vzdálenosti úponů pupečnicku MCDA dvojčat.

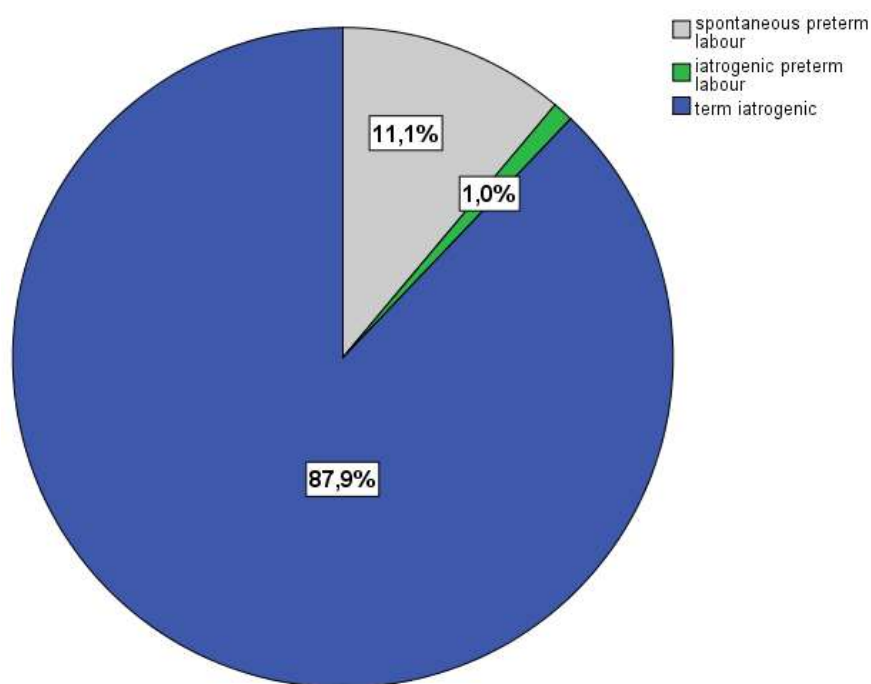
10.3 Grafy týkající se vlastní studie



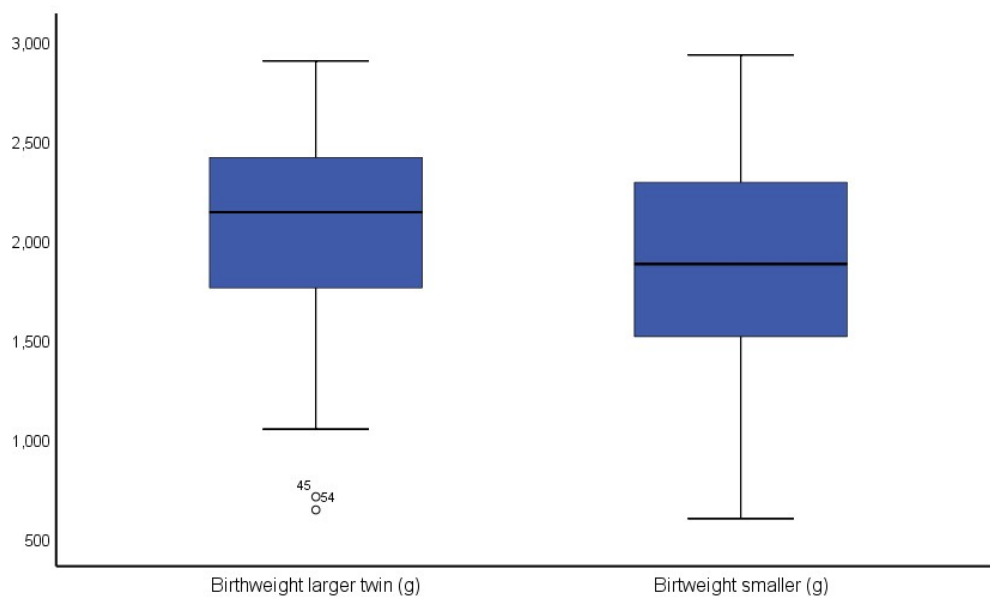
Graf 4: Histogram zobrazující věk žen s MCDA dvojčaty, jejichž placenty byly v rámci studie následně analyzovány.



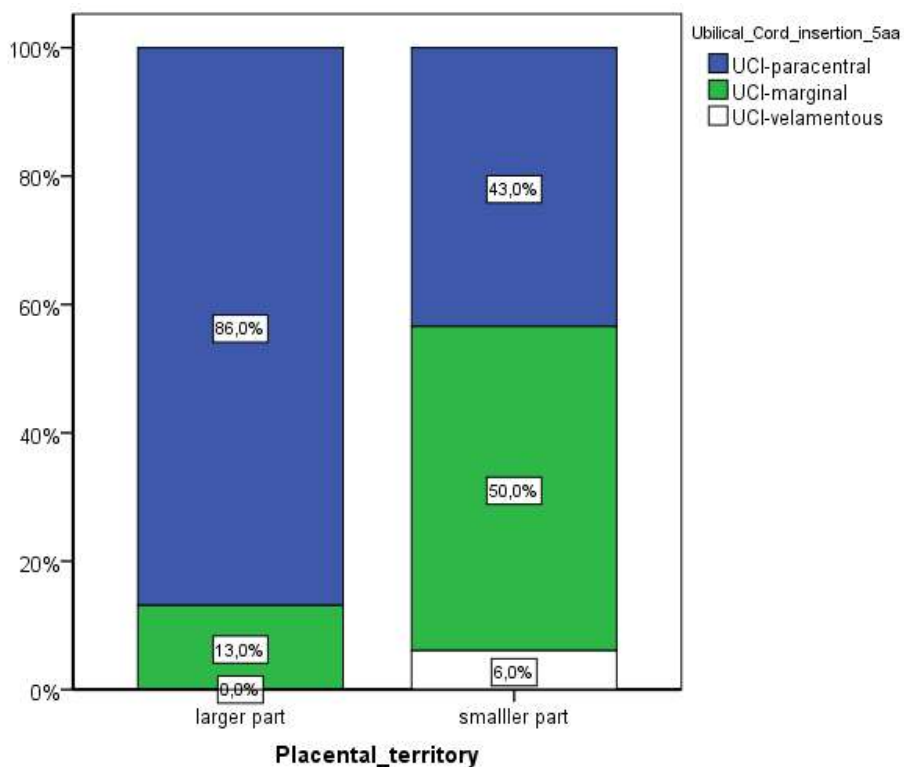
Graf 5: Histogram zobrazující BMI žen s MCDA dvojčaty, jejichž placenty byly v rámci studie následně analyzovány.



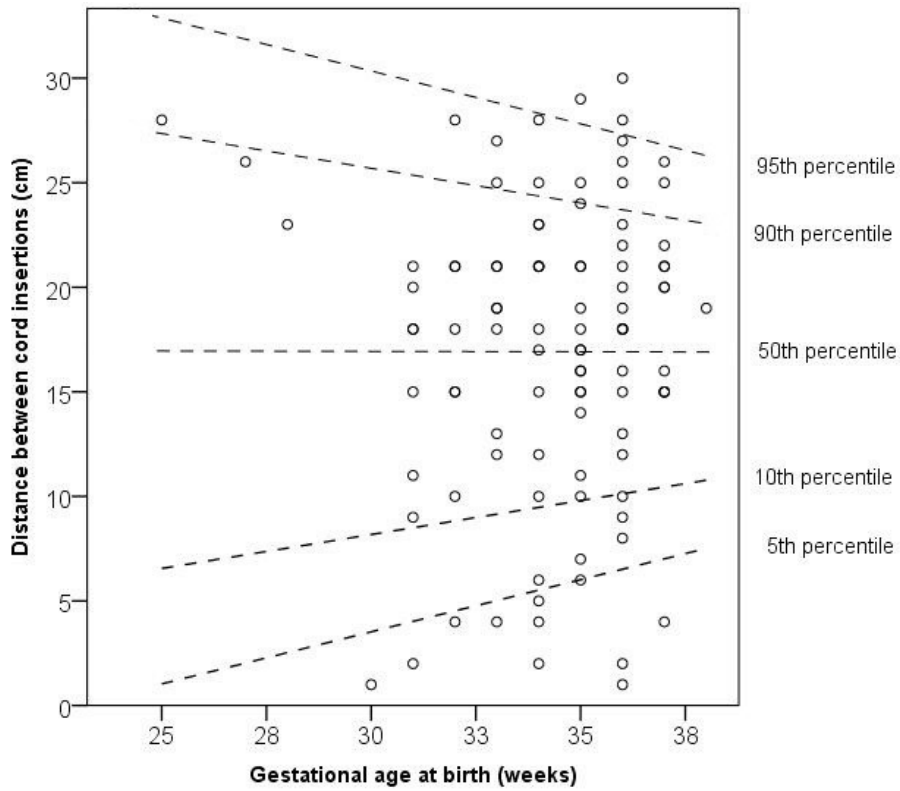
Graf 6: Koláčový graf demonstující indikace k ukončení MCDA těhotenství. V 87,9% případů byly gravidity ukončeny v souladu s doporučenou praxí (term. iatrogenic). V 11,1% případů nastala předčasná děložní činnost a v 1,0% případů došlo k předčasnému odtoku plodové vody.



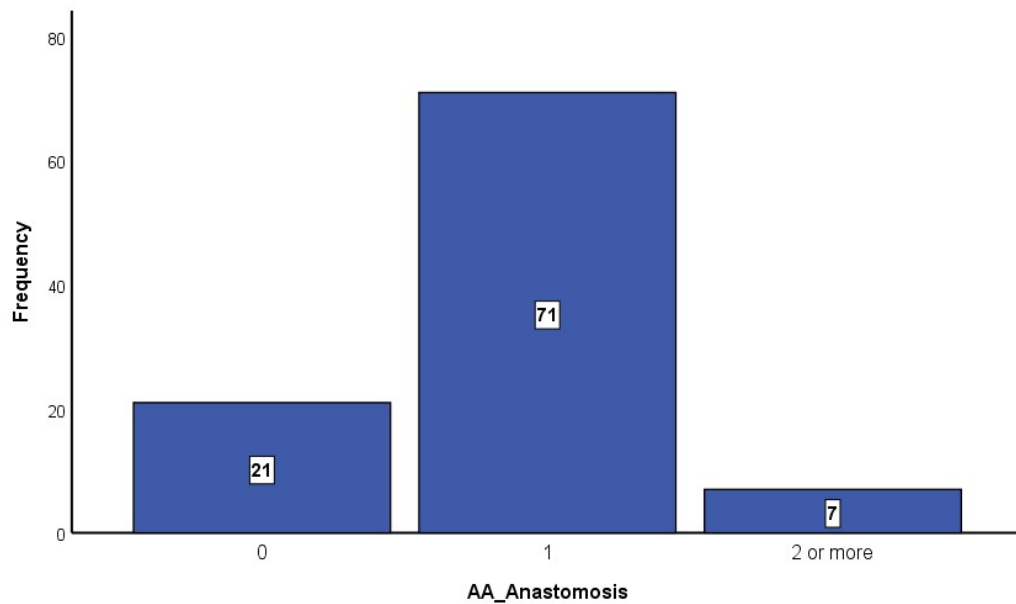
Graf 7: Krabicový graf zobrazující porodní hmotnosti většího (larger) a menšího (smaller) dvojčete. Rozdíl hmotností je statisticky významný (T-test, .001).



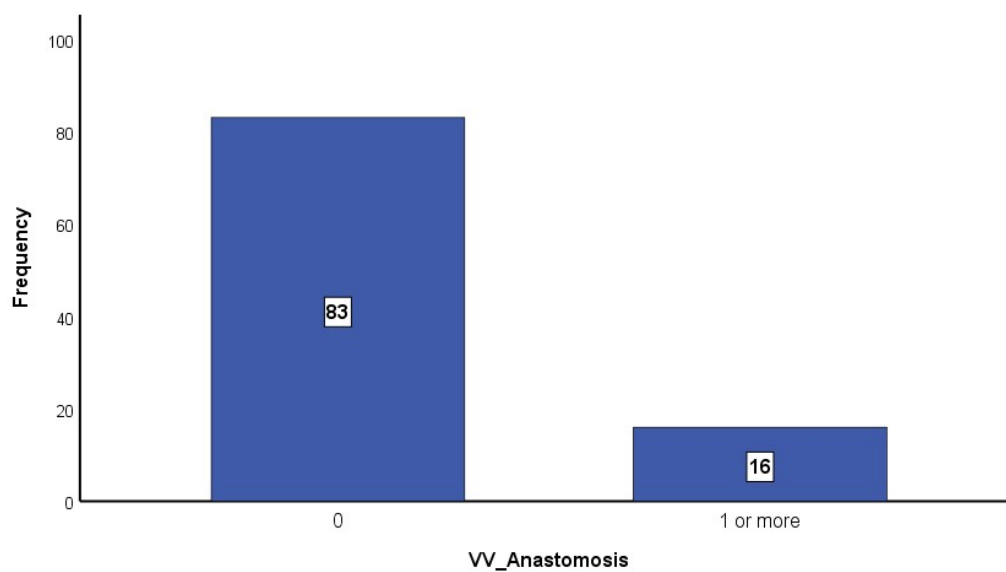
Graf 8: Porovnání zastoupení jednotlivých typů inzerce pupečnicků v rámci většího a menšího placentárního teritoria. Rozdíl v zasoupeních je statisticky významný (Mann-Whitney test, <.001)



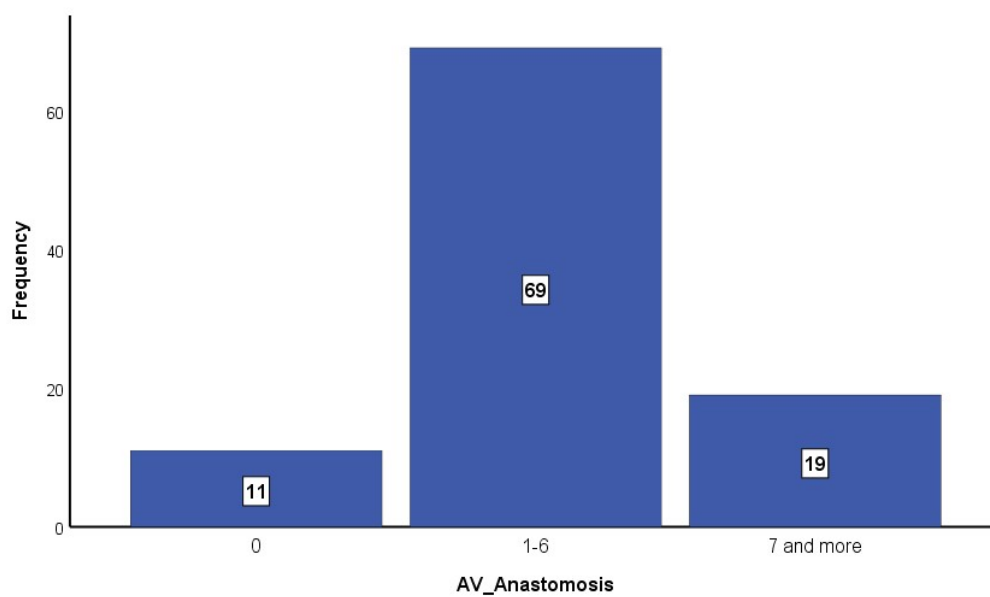
Graf 9: Zobrazení umístění 5.- 95. percentilu pro vzdálenost mezi inzercemi pupečnicků MCDA dvojčat mezi 25.- 38. týdnem gestace.



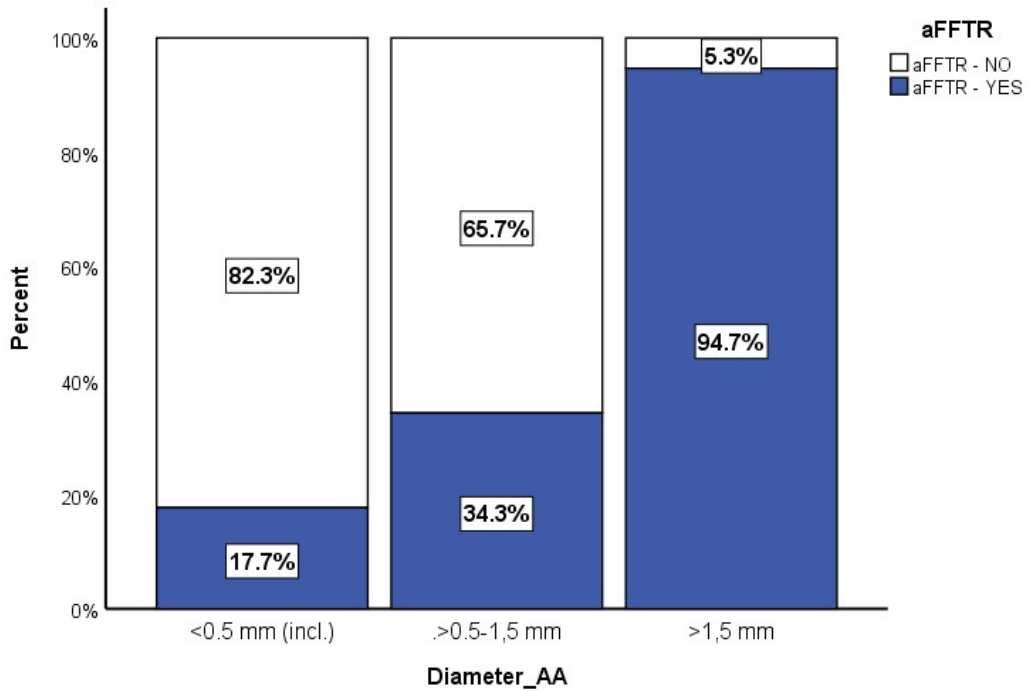
Graf 10: Kategorie počtu AA anastomóz naplacentu.



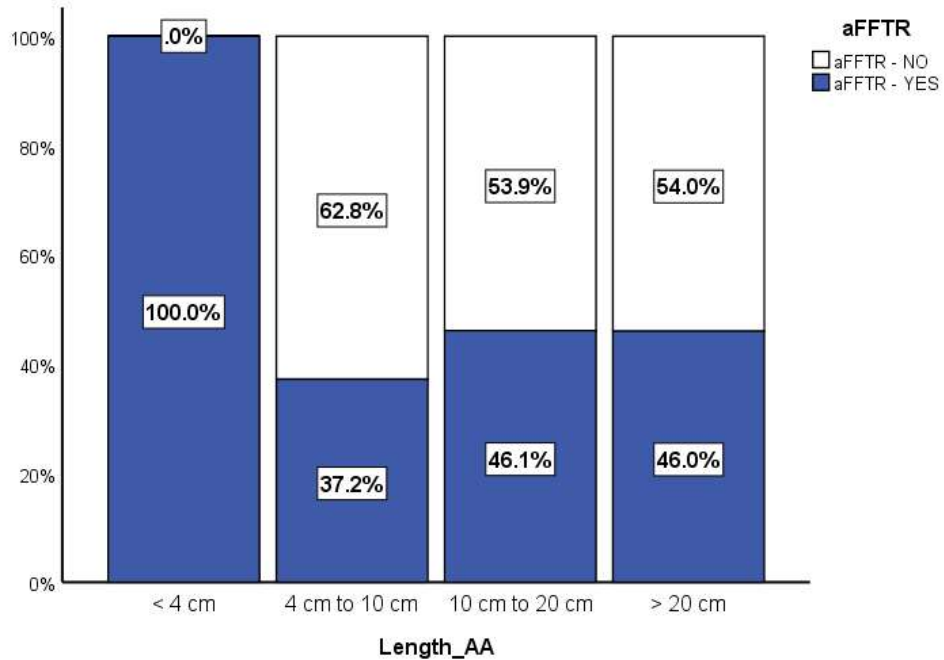
Graf 11: Kategorie počtu VV anastomóz na placentu.



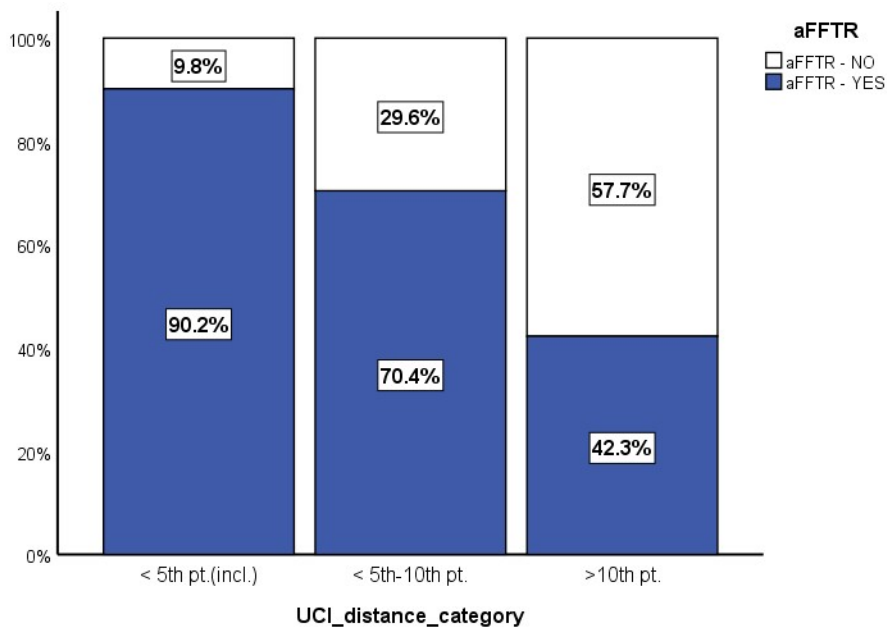
Graf 12: Kategorie počtu A-V anastomóz na placentu.



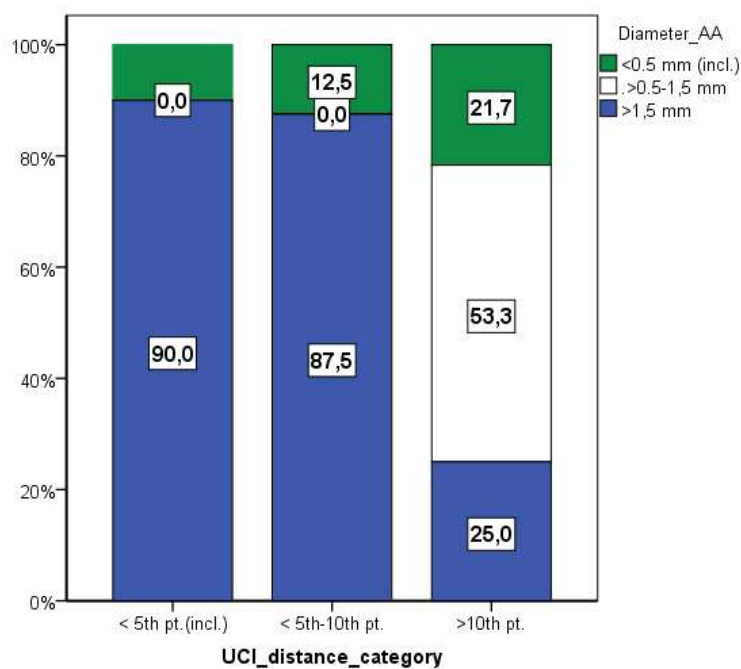
Graf 13: Sloupcový graf zobrazující vztah mezi kategoriemi průměrů A-A anastomózy a prokázanou akutní FFTR na kohortě placent s přítomnými A-A anastomózami (n=78). Rozdíl v zasoupeních je statisticky významný (Chi-Square test, <.001)



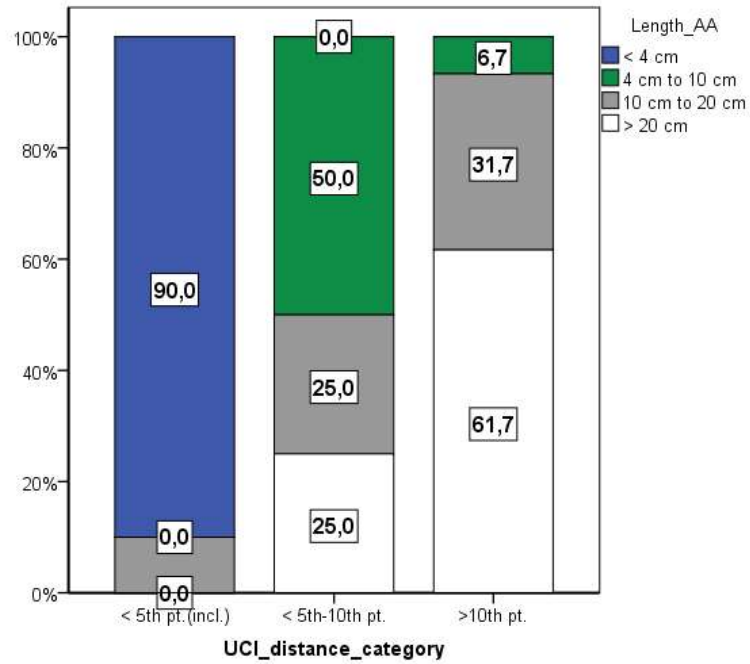
Graf 14: Sloupcový graf zobrazující vztah mezi kategoriemi délky A-A anastomózy a prokázanou akutní FFTR na kohortě placent s přítomnými A-A anastomózami (n=78). Rozdíl v zastoupeních je statisticky nevýznamný (Chi-Square test, .099)



Graf 15: Sloupcový graf zobrazující vztah mezi kategoriemi vzdálenosti inzerce pupečnicků a prokázanou akutní FFTR. Kategorii odpovídají 5. percentilu, rozmezí 5.-10. percentilu a úponu nad 10. percentilem. Rozdíl v zasoupeních je statisticky významný (Chi-Square test, .006).



Graf 16: Sloupcový graf zobrazující vztah mezi kategoriemi vzdálenosti inzerce pupečnicků a kategoriemi průměrů A-A anastomózy u MCDA placent s nekomplikovným průběhem. Rozdíl v zasoupeních je statisticky významný (Chi-Square test, .000).



Graf 17: Sloupcový graf zobrazující vztah mezi kategoriemi vzdálenosti inserce pupečnicků a kategoriemi délky A-A anastomózy u MCDA placent s nekomplikovným průběhem. Kategorie odpovídají 5. percentilu, rozmezí 5.-10. percentilu a úponu nad 10. percentilem. Rozdíl v zasoupeních je statisticky významný (Chi-Square test, .000).

10.4 Seznam obrázků, tabulek a grafů

Obrázky

Obr.1: Rozdělení dvojčat s ohledem na zygozitu a chorionicitu. Dizygotická dvojčata, vznikající oplodněním dvou vajíček dvěma spermii, jsou vždy diochoriální diamniální. Oba jedinci jsou geneticky rozdílní. V případě monozygotických dvojčat rozhoduje o chorionicitě časový interval od oplození do rozdělení společného embryonálního základu. V případě monozygotických dichoriálních diamniálních dvojčat se embryonální základ štěpí ještě před formováním blastocysty. V případě monochoriálních diamniálních dvojčat se embryonální základ štěpí preimplantačně na úrovni blastocysty. V případě monochoriálních monoamniálních dvojčat se materiál dělí po implantaci.

Obr.2: A) Zygota 18 hodin po oplodnění. Uvnitř zygoty jsou patrné dvě prvojádra a pólové tělísko. **B)** Čtyřbuněčné embryo 48 hodin od oplodnění. Buňky se označují jako blastomery. **C)** Osmibuněčné embryo 72 hodin od oplodnění. **D)** Blastomery embrya se intenzivně mitoticky dělí, tento proces je rovněž označován jako rýhování a dává vzniknout 96 hodin od oplození útvaru, který je označován

Obr.3: Blastocysta, 120 hodin od oplození. Blastocysta se diferencuje z moruly poté, co je tato transportována do dutiny děložní. Zona pellucida se stává prostupnou pro vodu a dochází k přeskupování a diferenciaci blastomer. Uvnitř blastocysty se vytváří souvislá dutina, kterou označujeme jako blastocoel. Blastomery se diferencují do dvou základních skupin buněk. Trofoblast, který obklopuje embryo po jeho obvodu a embryoblast, který reprezentuje vnitřní buněčnou masu, ze které se vyvíjí vlastní embryo.

Obr.4: Hatching zona pellucida. Základní předpoklad pro vytvoření kontaktu mezi trofoblastem a deciduálně transformovaným endometriem je uvolnění embrya z glykoproteinového obalu zona pellucida.

Obr.5: Jedna blastocysta s diferenciací blastomer do jedné vrstvy trofoblastu a rozdělením blastomer do dvou izolovaných skupin embryoblastů. Jedná se o preimplantační stav. Uvedená obrazová dokumentace pochází z materiálu prof.

MUDr. J.E. Jiráska. DrSc. Koloraci provedl pan profesor osobně. Jednalo se o náhodný nález v rámci histologického zpracování materiálu po hysterektomii.

Obr.6: Postimplantační nález monochoriálních diamniálních dvojčat. Uvedená obrazová dokumentace pochází z materiálu prof. MUDr. J.E. Jiráska. DrSc. Koloraci provedl pan profesor osobně. Jednalo se o náhodný nález v rámci histologického zpracování materiálu po hysterektomii.

Obr.7: Postimplantační nález monochoriálních monoamniálních dvojčat. Uvedená obrazová dokumentace pochází z materiálu prof. MUDr. JE. Jiráska. DrSc. Koloraci provedl pan profesor osobně. Jednalo se o náhodný nález v rámci histologického zpracování materiálu po hysterektomii.

Obr. 8: Peroperační nález s vizualizací AV placentárních anastomóz. Vizualizace a zaměření AV anastomózy (vlevo), vysunutí optického vlákna (uprostřed) a koagulace anastomózy (vpravo)

Obr. 9: Monochoriální placenta po laserové ablaci placentárních spojek pro TTTS. Peroperačně koagulováno 12 AV anastomóz, nebyla přítomna žádná AA anastomóza.

Obr. 10: A) Monochoriální diamniální placenta u jednovaječných dvojčat s nekomplikovaným průběhem těhotenství. Společný placentární parenchym je rozdělen na dvě téměř identická teritoria. Vaskulární ekvátor je lokalizován ve středu placenty a téměř se shoduje s průběhem úponu obalů. **B)** Monochoriální diamniální placenta u jednovaječných dvojčat s komplikovaným průběhem těhotenství sFGR. Je zřetelné nerovnoměrné rozdělení společného placentárního parenchymu v neprospěch jednoho z plodů. Plod s sFGR začal vykazovat sonografické známky restrukci v 18. týdnu gestace. Rodiče se rozhodli pro expektativní přístup. Ve 28. týdnu bylo nutné těhotenství ukončit. Zeleně kolorovaná část monochoriální placenty zobrazuje teritorium plodu s sFGR.

Obr. 11: MC placenta s klinickým průběhem sFGR. Patrná výrazná disproporce placentárních ploch, rescue AA anastomóza (červené barvivo) s monopodiálním větvením a velamentozním úponem pupečníku menšího z plodů.

Obr. 12: MC placenta s klinickým průběhem sFGR. Ve 23. gestačním týdnu byla provedena bipolární okluze pupečníku plodu s sFGR pro reversní tok v umbilikální arterii typ III. Těhotenství bylo ukončeno ve 34. týdnu gestace (33+4) pro FGR druhého plodu.

Obr. 13: Vlevo ultrazvukový obraz postiženého plodu – acardius amorphus. Vpravo intrauterinní instrumentárium pro řešení komplikací TRAP sekvence, nahoře bipolární kleště k okluzi pupečníku postiženého plodu, dole radiofrekvenční jehla k termální ablacii torza postiženého plodu.

Obr. 14: Monochoriální placenta těhotenství komplikovaném TRAP sekvencí. Patrná masivní AA a VV anastomóza způsobující pasivní výživu postiženého plodu zdravým plodem principem obrácené cirkulace. Vlevo částečně resorbovaný postižený plod, u kterého byla provedena radiofrekvenční ablace v první polovině druhého trimestru, porod v termínu.

Obr. 15: Schematické znázornění větvení a. uterina myometriem až na úroveň intervilózního prostoru (trofoblastu). Vlastní ilustrace, jako předloha použita publikace: Burton GJ. Rheological and Physiological Consequences of Conversion of the Maternal Spiral Arteries for Uteroplacental Blood Flow during Human Pregnancy Placenta 2009.

Obr. 16: Schematické zobrazení vyústění konvertované spirální arterie do intervilózního prostoru. V důsledku konverze spirálních arterií se krev pod tlakem 70-80 torrů (9,3-10,6 kPa) vlévá do intervilózního prostoru. V intervilózním prostoru tlak klesá až na 10 torrů (1,3 kPa). Krev se vrací dilatovanými žilami v decidua. Vlastní ilustrace, jako předloha použita publikace: Burton GJ. Rheological and Physiological Consequences of Conversion of the Maternal Spiral Arteries for Uteroplacental Blood Flow during Human Pregnancy Placenta 2009.

Obr. 17: Monochoriální diamniální placenta placenta s fyziologickým průběhem těhotenství. Patrné několik A-V anastomóz s protichůdným průběhem (modré a červené šipky). Kompenzační A-A anastomóza (žlutá linie) vyrovnávající rozdílné tlaky obou fetoplacentárních oblastí.

Obr. 18: Vlevo monochoriální placenta se širokou AA anastomózou zodpovědná za typ III flow sFGR. Vpravo 3D ultrazvuková prenatální rekonstrukce stejné placenty s patrnou bidirekční AA anastomózou.

Obr. 19: Monochoriální placenta s blízkými úpony pupečnicků. Patrné masivní a vzájemně se křížící se AA i VV vaskulární spojení obou plodů. Vlevo při simulaci viditelné současné barvení obou placentrálních ploch prokazující okamžitou interfetální transfuzi. Vpravo identický úpon pupečnicků.

Obr. 20: Monochoriální placenta s blízkým úponem pupečnicků a masivní AA a VV interfetální anastomózou. Fáze přípravy placenty předcházející kanylaci pupečnicků nutnou k simulaci aFFTR. Vaskulární řečiště obou ploch zbaveno koagul, odstraněna amniální vrstva.

Obr. 21: Sekvence změn u MC dvojčat s TTTS.

Obr. 22: A) Makroskopický vzhled porozené monochoriální diamniální placenty před odběrem vzorků pro hodnocení případných autolytických změn. Placenta je zbavena plodových obalů s proplachem cévního systému. **B)** Detail placenty, kde byla provedena biopsie za účelem histologické analýzy interfetálních povrchových anastomóz. **C-E)** Mikroskopický snímek barvený modrým trichromem. Povrchové cévní anastomózy placenty zpracované bezprostředně po porodu (C), po 24 (D) a 48 hodinách (E). Modře se zobrazuje pojivová tkáň obklopující arterii. Žádný ze vzorků nevykazoval autolytické cévní změny v průběhu 48 hodin.

Obr. 23. Postup přípravy placenty před simulací (I). Z choriového povrchu byly odstraněny amniové membrány, pupečnický byly zkráceny a vytlačena přebytečná krev nebo sraženiny. Pahýl pupečnicku byl kanylován 3,5 Fr (1) katétreem pro obě arterie a 4 Fr (2) katétreem pro žílu. Kanylovaný pahýl pupečnicku (3) reprezentoval živý plod ohrožený aFFTR. Druhý pahýl (4) se sběrnou částí injekční stříkačky (5) představuje pupečnick mrtvého plodu. Cévy choria byly propláchnuty fyziologickým roztokem při pokojové teplotě.

Obr. 24. Průběh simulace (II) – simulační sestava pro aFFTR. A) Dvojice spojených infuzních setů se 100 ml fyziologického roztoku a 10 ml histologického barviva (1) fixovány navzájem pomocí manžety (3) mechanického rtuťového tonometru (2) a připojeny ke kanylovaným umbilikálním arteriím. Tento pupeční pahýl představuje živý plod ohrožený aFFTR. Uzavřená sběrná část stříkačky (4) o objemu 6 ml byla fixována ke druhému pupečnímu pahýlu pro měření objemu

možné transfuze. B1-B3) Tonometr byl natlakován na 30 a 40 mmHg pro simulaci středního arteriálního tlaku pro druhý a třetí trimestr. Současně byla spuštěna časomíra. Pozitivní nález aFFTR byl definován při naplnění 1ml barviva do sběrné části stříkačky. V konkrétním případě trvala aFFTR 7 sekund.

Obr. 25: MC placenty s rozdílnou šíří A-A anastomóz a pozitivní simulací aFFTR: **A)** A-A anastomóza 1mm, **B)** A-A anastomóza 2mm, **C)** A-A anastomóza 3mm.

Tabulky

Tab. 10: Typy monozygotických dvojčat s ohledem na den štěpení společného embryonálního základu a frekvence v populaci.

Tab. 2: Klasifikace TTTS dle Quintera (1999).

Tab. 3: Diagnostická kritéria sFGR u DC a MC dvojčat. Zkratky: EFW (Estimated fetal weight - váhový odhad plodu), AC (abdominal circumference - obvod trupu plodu), UA (umbilical artery -umbilikální arterie), PI (pulsatility index - index pulzatility).

Tab. 11: Klasifikace sFGR u MC dvojčat do tří typů na základě dopplerovského vyšetření v umbilikální arterii plodu se sFGR. Zkratky: PI-index pulzatility, A-A – arterio-arteriozní anastomosa.

Tab. 5: Přehled faktorů, které mohou mít za následek sIUD u monochoriální dvoučetné gravidity.

Tab. 6: Demografické a perinatální charakteristiky kohorty monochoriálních dvojčat s fyziologickým průběhem. Charakteristiky jsou uvedeny jako průměr +/- SD pro normálně rozdělené proměnné, medián a interkvartilní rozmezí pro proměnné s nenormálním rozdělením. Kategorické proměnné byly prezentovány jako celkový počet (procento ve skupině).

Tab. 7: Placentární a choriovaskulární charakteristiky kohorty monochoriálních dvojčat s fyziologickým průběhem. Charakteristiky jsou uvedeny jako průměr +/- SD pro normálně rozdělené proměnné, medián a interkvartilní rozmezí pro proměnné s nenormálním rozdělením. Kategorické proměnné byly prezentovány jako celkový počet (procento ve skupině).

Tab. 8: Simulace akutní fetu-fetální transfuze in vitro. Charakteristiky jsou uvedeny jako průměr +/- SD pro normálně rozdělené proměnné, medián a interkvartilní

rozmezí pro proměnné s nenormálním rozdělením. Kategorické proměnné byly prezentovány jako celkový počet (procento ve skupině). †Mann-Whitneyho test, ‡Chi-kvadrát test, *T-test, †počet placent s A-A anastomózami, ‡ počet placent s V-V anastomózami, ‡ počet placent s A-V anastomózami.

Tab. 9: Logistická regrese pro rozvoj aFFTR ve vztahu k placentární angioarchitektuře a vzdálenosti úponů pupečníku MCDA dvojčat.

Grafy:

Graf 1: Přehled porodů dichoriálních dvojčat v jednotlivých perinatologických centrech v České republice. Zdroj: MUDr. Petr Velebil CSc.

Graf 2: Přehled porodů monochoriálních dvojčat v jednotlivých perinatologických centrech v České republice. Zdroj: MUDr. Petr Velebil CSc.

Graf 3: Trend porodů dvojčar (twins) a trojčat (triplets) v České republice za časové období 11 let (2010-2020). Zdroj: MUDr. Petr Velebil CSc.

Graf 4: Histogram zobrazující věk žen s MCDA dvojčaty, jejichž placenty byly v rámci studie následně analyzovány.

Graf 5: Histogram zobrazující BMI žen s MCDA dvojčaty, jejichž placenty byly v rámci studie následně analyzovány.

Graf 6: Koláčový graf demonstrující indikace k ukončení MCDA těhotenství. V 87,9% případů byly gravidity ukončeny v souladu s doporučenou praxí (term. Iatrogenic). V 11,1% případů nastala předčasná děložní činnost a v 1,0% případů došlo k předčasnému odtoku plodové vody.

Graf 7: Krabicový graf zobrazující porodní hmotnosti většího (larger) a menšího (smaller) dvojčete. Rozdíl hmotností je statisticky významný (T-test, .001).

Graf 8: Porovnání zastoupení jednotlivých typů inzerce pupečníků v rámci většího a menšího placentárního teritoria. Rozdíl v zastoupeních je statisticky významný (Mann-Whitney test, <.001)

Graf 9: Zobrazení umístění 5.- 95. percentilu pro vzdálenost mezi inzercemi pupečníků MCDA dvojčat mezi 25.- 38. týdnem gestace.

Graf 10: Kategorie počtu AA anastomóz na placentu.

Graf 11: Kategorie počtu VV anastomóz na placentu.

Graf 12: Kategorie počtu A-V anastomóz na placentu.

Graf 13: Sloupcový graf zobrazující vztah mezi kategoriemi průměrů A-A anastomózy a prokázanou akutní FFTR na kohortě placent s přítomnými A-A anastomózami (n=78). Rozdíl v zasoupeních je statisticky významný (Chi-Square test, <.001)

Graf 14: Sloupcový graf zobrazující vztah mezi kategoriemi délky A-A anastomózy a prokázanou akutní FFTR na kohortě placent s přítomnými A-A anastomózami (n=78). Rozdíl v zasoupeních je statisticky nevýznamný (Chi-Square test, .099)

Graf 15: Sloupcový graf zobrazující vztah mezi kategoriemi vzdálenosti inserce pupečnicků a prokázanou akutní FFTR. Kategorie odpovídají 5. percentilu, rozmezí 5.-10. percentilu a úponu nad 10. percentilem. Rozdíl v zasoupeních je statisticky významný (Chi-Square test, .006).

Graf 16: Sloupcový graf zobrazující vztah mezi kategoriemi vzdálenosti inserce pupečnicků a kategoriemi průměrů A-A anastomózy u MCDA placent s nekomplikovným průběhem. Rozdíl v zasoupeních je statisticky významný (Chi-Square test, .000).

Graf 17: Sloupcový graf zobrazující vztah mezi kategoriemi vzdálenosti inserce pupečnicků a kategoriemi délky A-A anastomózy u MCDA placent s nekomplikovným průběhem. Kategorie odpovídají 5. percentilu, rozmezí 5.-10. percentilu a úponu nad 10. percentilem. Rozdíl v zasoupeních je statisticky významný (Chi-Square test, .000).

10.5 Seznam použité literatury

- 1 ANANTH, C.V. et al. Epidemiology of twinning in developed countries. *Semin Perinatol.* 2012 Jun; 36(3), p 156–61.
- 2 CHAUHAN, S.P. et al. Twins: prevalence, problems, and preterm births. *Am J Obstet Gynecol.* 2010 Oct, 203(4), p 305–15.
- 3 HALL, J.G. Twinning. *Lancet.* 2003, Aug 30, 362(9385), p 735–43.
- 4 ZIPORI, Y. et al. Advanced maternal age and perinatal outcome in twin pregnancies: a meta-analysis. *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2020, Sep 16 33(18), p 3193–9.
- 5 BUCA, D. et al. Neonatal Morbidity of Monoamniotic Twin Pregnancies: A Systematic Review and Meta-analysis. *Am J Perinatol.* 2020, Jul 28
- 6 D'ANTONIO, F. et al. Perinatal mortality, timing of delivery and prenatal management of monoamniotic twin pregnancy: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2019, Feb 1, 53(2), p 166–74.
- 7 GRATACOS, E. et al. Prevalence of neurological damage in monochorionic twins with selective intrauterine growth restriction and intermittent absent or reversed end-diastolic umbilical artery flow. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2004 Aug;24(2): p 159–63.
- 8 SILEO, GF. Perinatal outcomes of twin pregnancies complicated by late twin-twin transfusion syndrome: A systematic review and meta-analysis. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2021, May 1;100(5): p 832–42.
- 9 KARSIDAG, AYK, et al. Brain damage to the survivor within 30 min of co-twin demise in monochorionic twins. *Fetal Diagnosis and Therapy.* 2005. Mar-Apr 2005;20(2): p 91-5
- 10 MACKIE, FL et al. Early prognostic factors of outcomes in monochorionic twin pregnancy: systematic review and meta-analysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2018 Nov 1, 219(5), p 436–46.
- 11 MAHONY et al. Fetal death in twins. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2011 Nov;90(11), p 1274–80.
- 12 CHEONG-SEE F et al. Prospective Risk of Stillbirth and Neonatal Complications in Twin Pregnancies: Systematic Review and Meta-analysis. *BMJ,* 2016 Sep 6;354: p 43-53
- 13 NYLANDER, P. Frequency of multiple births. *Human multiple reproduction.* London: W B Saunders, 1975: p87–98.

- 14 KIELY, JL, KIELY, B. Epidemiological trends in multiple births in the United States, 1971–1998. *Twin Res* 2001; 4: 131–33.
- 15 MURPHY, M, Hey K. Twinning rates. *Lancet* 1997; 349: p 1398–99.
- 16 MARTIN J.A et al. Births: final data, *Natl Vital Stat Rep*, 2002, Dec 18; 5 (2), 1-102.
- 17 MACFARLANE, A, BLONDEL, B. Demographic trends in Western European countries. In: Blickstein I, Keith LG, editors. *Multiple Pregnancy : Epidemiology , Gestation & Perinatal Outcome*, 2nd edn. London: Taylor & Francis; 2005. p. 11-21.
- 18 KULKARNI, AD, Kissin DM, Adashi EY. Fertility treatments and multiple births in the United States. *New England journal of medicine*. 2014;370(11):1070-1.
- 19 BLONDEL B, Kaminski K, Trends in the occurrence, determinants, and consequences of multiple births. *Seminars in perinatology* 2002;26(4):239-49.
- 20 DICKEY RP. The relative contribution of assisted reproductive technologies and ovulation induction to multiple births in the United States 5 years after the Society for Assisted Reproductive Technology/American Society for Reproductive Medicine recommendation to limit the number of embryos transferred. *Fertility and Sterility* 2007;88: p 1554-1561
- 21 HEINO A, Gissler, M, Hindori-Mohangoo, AD et al. Variations in multiple birth rates and impact on perinatal outcomes in Europe. *PLOS ONE* 2016;11(3):p 1-15.
- 22 ČSÚ – Demografická ročenka České republiky 2002-2012. 2012.
- 23 KUPKA MS, Ferraretti AP, de Mouzon J et al. Assisted reproductive technology in Europe, 2010: results generated from European registers by ESHRE. *Hum Reprod* 2014;29(10):p 2099-113.
- 24 HALL J.G. Twinning, *Developmental biology IV: The Lancet*, vol 362, August 30, 2003, 735-743
- 25 ZEITLIN J, Szamotulska K, Drewniak N et al. Preterm birth time trends in Europe: a study of 19 countries. *BJOG* 2013;120(11): p 1356-65
- 26 GLINIANALA, S.V., J. Rankin, and C. Wright, Congenital anomalies in twins: a register-based study. *Hum Reprod*, 2008. 23(6): p. 1306-11.

- 27 BAJORIA R, Wigglesworth J, Fisk NM. Angioarchitecture of monochorionic placentas in relation to the twin-twin transfusion syndrome, *Am J Obstet Gynecol*, 1995 Mar;172(3): p 856-63.
- 28 DENBOW, ML, et al. Placental angioarchitecture in monochorionic twin pregnancies: Relationship to fetal growth, fetofetal transfusion syndrome, and pregnancy outcome. *Am J Obstet Gynecol*. 1995. Mar;172(3): p856-63
- 29 HACK, K et al. Placental Characteristics of Monochorionic Diamniotic Twin Pregnancies in Relation to Perinatal Outcome. *Placenta*. 2008. 2008 Nov;29(11):p 976-81
- 30 LEWI, L. Monochorionic twin placentas: Complications of the shared circulation. *Twin Res Hum Genet*. 2012
- 31 ZHAO, DP, et al. Prevalence, size, number and localization of vascular anastomoses in monochorionic placentas. *Placenta*. 2013;34(7):p 589–93.
- 32 SIMOES, T, et al. Prospective risk of intrauterine death of monochorionic-diamniotic twins. *Am J Obstet Gynecol*. 2006 Jul;195(1):134–9.
- 33 SAITO K, et al. Perinatal outcome and management of single fetal death in twin pregnancy: A case series and review. *J Perinat Med*. 1999;27(6): p 473-7.
- 34 LEWI L, Deprest J, Hecher K. The vascular anastomoses in monochorionic twin pregnancies and their clinical consequences. *Am J Obstet Gynecol*. 2013. Jan;208(1):p 19-30.
- 35 BEN-AMI et al., Monochorionic diamniotic in vitro fertilization twins have a decreased incidence of twin-to-twin transfusion syndrome. *Fertil Steril*. 2016 Mar 1;105(3): p 729–33.
- 36 DANSKIN F.H, Neilson J.P., Twin to twin transfusion syndrome: what are appropriate diagnostic criteria? *Am J Obstet Gynecol*, 1989, 161, 365-369
- 37 QUINTERO RA, et al. Staging of twin-twin transfusion syndrome. *J Perinatol*. 1999;19(8 PART. 1):550–5.
- 38 LOPRIORE E, et al. Assessment of Feto-fetal Transfusion Flow Through Placental Arterio-venous Anastomoses in a Unique Case of Twin-to-Twin Transfusion Syndrome. *Placenta*. 2007, Feb-Mar 2007;28(2-3): p 209-11
- 39 DE VILLIERS S, et al. Arterio-arterial vascular anastomoses in monochorionic twin placentas with and without twin anemia-polycythemia sequence. *Placenta*. 2012, Mar;33(3):p 227-9

- 40 KATLAN, D.C, Consensus diagnostic criteria and monitoring of twin anemia-polycythemia sequence: Delphi procedure, *Ultrasound Obstet Gynecol*, 2020, 56, 3, p 388-394.
- 41 FAVRE, R, et al. Vascular pattern in monochorionic placentas with spontaneous TAPS and TTTS with residual anastomoses after laser: A case-control study. *Prenat Diagn*. 2013; 2013 Oct;33(10): p 979-82.
- 42 KHALIL, A, et al. Consensus definition and essential reporting parameters of selective fetal growth restriction in twin pregnancy: a Delphi procedure. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2019; 2019 Jan;53(1):p 47-54
- 43 TOWNSEND R. et al., Perinatal outcome of monochorionic twin pregnancy complicated by selective fetal growth restriction according to management: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2019 Jan 1;53(1):p 36–46
- 44 MACKIE FL, Rigby A, Morris RK, Kilby MD. Prognosis of the co-twin following spontaneous single intrauterine fetal death in twin pregnancies: a systematic review and meta-analysis. *Int J Obstet Gynaecol*. 2019;126(5):p 569–78.
- 45 D’ANTONIO, F, et al. Weight discordance and perinatal mortality in twin pregnancy: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2018 Jul 1;52(1):p 11–23.
- 46 GRATACOS, E, et al. A classification system for selective intrauterine growth restriction in monochorionic pregnancies according to umbilical artery Doppler flow in the smaller twin. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2007 Jul;30(1): p 28–34.
- 47 ERENEL, H, et al. Sudden fetal death of a co-twin as a complication of intrafetal laser surgery and placenta examination with dye. *Case Reports Perinat Med*. 2017;6(2).
- 48 GRATACOS, E, et al. Prevalence of neurological damage in monochorionic twins with selective intrauterine growth restriction and intermittent absent or reversed end-diastolic umbilical artery flow. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2004; Aug;24(2):159-63
- 49 D’ANTONIO, F, et al. Perinatal mortality, timing of delivery and prenatal management of monoamniotic twin pregnancy: systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2019 Feb 1;53(2):166–74.
- 50 SUETERS M, Oepkes D. Diagnosis of twin-to-twin transfusion syndrome, selective fetal growth restriction, twin anaemia-polycythaemia sequence, and

- twin reversed arterial perfusion sequence. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2014 Feb 1;28(2):215–26.
- 51 ERENEL, Het al. Sudden fetal death of a co-twin as a complication of intrafetal laser surgery and placenta Case Reports in Perinatal Medicine, vol. 6, no. 2, 2017
- 52 SHEK, NWM, Hillman SC, Kilby MD. Single-twin demise: Pregnancy outcome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2014;28(2):249–63.
- 53 HILLMAN, SC, Morris RK, Kilby MD. Single twin demise: consequence for survivors. *Semin Fetal Neonatal Med.* 2010 Dec;15(6):319-26.
- 54 SHEK NW, Hillman SC, Kilby MD. Single-twin demise: pregnancy outcome. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2014 Feb;28(2):249-63.
- 55 BAJORIA R, Wee LY, Anwar S, Ward S. Outcome of twin pregnancies complicated by single intrauterine death in relation to vascular anatomy of the monochorionic placenta. *Hum Reprod.* 1999;14(8):2124–30.
- 56 LOPRIORE E, et al. Accurate and Simple Evaluation of Vascular Anastomoses in Monochorionic Placenta using Colored Dye. *J Vis Exp.* 2011, Sep 5, 55: e3208
- 57 JONES, C. J., and Jauniaux, E. (1995). Ultrastructure of the materno-embryonic interface in the first trimester of pregnancy. *Micron* 26, 145–173.
- 58 GITTENBERGER-DE GROOT, et al. Embryology of the heart and its impact on understanding fetal and neonatal heart disease. *Semin. Fetal Neonatal Med.* 2013, 18, 237–244.
- 59 PEREDA, J., and Niimi, G. (2008). Embryonic erythropoiesis in human yolk sac: two different compartments for two different processes. *Microsc. Res. Tech.* 71, 856–862.
- 60 MAKKIKALIO, K, First trimester uterine, placental and yolk sac haemodynamics in pre-eclampsia and preterm labour. *Hum Reprod.* 2004,19, 729–733.
- 61 JAUNIAUX, E, et. al. Development of the secondary human yolk sac: correlation of sonographic and anatomic features. *Hum. 1991 Reprod.* 6, 1160–1166.
- 62 JAUNIAUX, E, et al. Onset of maternal arterial bloodflow and placental oxidative stress; a possible factor in human early pregnancy failure. *Am. J. Pathol.* 157, 2111–2122.

- 63 HARRIS, L. K. (2010). Review: trophoblast-vascular cell interactions in early pregnancy: how to remodel a vessel. *Placenta* 31 (Suppl.), 93–98
- 64 HUSTIN, J., et al. Anatomical studies of the uteroplacental vascularisation in the first trimester of pregnancy. *Trophob. Res.* 1988, 3, 49–60
- 65 JAUNIAUX, E, et al. Invivo measurement of intrauterine gases and acid-base values in early human pregnancy. *Hum. Reprod.*, 1999, 14, 2901–2904
- 66 JAUNIAUX, E, et al. Physiological implications of the materno-fetal oxygen gradient in uman early pregnancy. *Reprod. Biomed.* 1993, Online 7, 250–253.
- 67 LOQUET, P., Blood velocity waveforms and placental vascular formation. *Lancet* 2, 1988, 1252–1253
- 68 MAKKIKALIO, K., Jouppila, P., Räsänen, J. Human fetal cardiac function during the first trimester of pregnancy. *Heart* 1999, 91, 334–338.
- 69 JAUNIAUX, E, et al. The human first trimester gestational sac limits rather than facilitates oxygen transfer to the foetus—a review. *Placenta* 24 (Suppl. A), S86–S93.
- 70 LINASK, K. Changes in vitelline and utero-placental hemodynamics: implications for cardiovascular development. *Front. Physiol.* 2014, 5:390.
- 71 KWEE, L, et al. Defective development of the embryonic and extraembryonic circulatory systems in vascular cell adhesion molecule (VCAM-1) deficient mice. *Development* , 1995, 121, 489–503.
- 72 GULBIS, B, et al. Protein and enzyme patterns in the fluid cavities of the first trimester gestational sac: relevance to the absorptive role of the secondary yolk sac. *Mol. Hum. Reprod.* 1989, 4, 857–862.
- 73 LEWIS, P.M., et al. Cholesterol modification of sonic hedgehog is required for longrange signaling activity and effective modulation of signaling by Ptc1. *Cell* ,2001, 105, 599–612.
- 74 CHARNOCK-JONES. Placental vascular morphogenesis. *Baillieres. Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2000, 14, 953–968.
- 75 APLIN, J.D., Hemangioblastic foci in human first trimester placenta: distribution and gestational profile. *Placenta*, 2015, 36, 1069–1077
- 76 BURTON, G. J., and Jauniaux, E. Oxidative stress. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* 2011, 25, 287–299.

- 77 BURTON, G. J., Jauniaux, E., and Charnock-Jones, D. S. The influence of the intrauterine environment on human placental development. *Int. J. Dev. Biol.* 2004, 54, 303–312.
- 78 DEMIR, R., et al. Fetal vasculogenesis and angiogenesis in human placental villi. *Acta Anat.* 1989, 136, 190–203.
- 79 JAUNIAUX, E, et al. Doppler ultrasound features of the developing placental circulations: correlation with anatomic findings. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2001, 166, 585–587.
- 80 LEES, C., et al. Placental nitric oxide production and umbilical artery vascular impedance in early pregnancy. *Obstet. Gynecol.* 1998, 91(5 Pt 1), 761–765.
- 81 JAUNIAUX, E, et al. Development of the early placenta: a morphometric study. *Placenta* 12, 1991, 269–276.
- 82 JONES, C. J., and Jauniaux, E. Ultrastructure of the materno-embryonic interface in the first trimester of pregnancy. *Micron* 26, 1995, 145–173.
- 83 JACKSON, M. R., Mayhew, T. M., and Boyd, P. A. Quantitative description of the elaboration and maturation of villi from 10 weeks of gestation to term. *Placenta* 13, 1992, 357–370.
- 84 JIRKOVSKA, M et al. Three-dimensional arrangement of the capillary bed and its relationship to microrheology in the terminal villi of normal term placenta. *Placenta* 29, 892–897.
- 85 ZHANG, E. C., et al. Placental vessel adaptation during gestation and to high altitude: changes in diameter and perivascular cell coverage. *Placenta* 23, 751–762.
- 86 SALEEMUUDIN, A., et al. Obstetric and perinatal complications in placentas with fetal thrombotic vasculopathy. *Pediatr. Dev. Pathol.* 13, 459–464.
- 87 MITRA, S. C et al. Placental vessel morphometry in growth retardation and increased resistance of the umbilical artery Doppler flow. *J. Matern. Fetal Med.* 9, 282–286.
- 88 MAKIKALIO, K. First trimester uterine, placental and yolk sac haemodynamics in pre-eclampsia and preterm labour. *Hum. Reprod.* 19, 729–733.
- 89 PLITMAN, M et al. Computational modeling of the structure-function relationship in human placental terminal villi. *J. Biomech.* 49, 3780–3787.
- 90 COLLINS, P. (2016). “Early embryonic circulation,” in *Grays Anatomy*, ed S. Standring (Philadelphia, PA: Elsevier), 200–204

- 91 DOUBILET, et al. Outcome of pregnancies with rapid embryonic heart rates in the early first trimester. *Am. J. Roentgenol* 175, 67–69.
- 92 DOUBILET, et al. Outcome of first-trimester pregnancies with slow embryonic heart rate at 6-7 weeks gestation and normal heart rate by 8 weeks at US. *Radiology* 236, 643–646
- 93 JAUNIAUX, E., Physiological implications of the materno-fetal oxygen gradient in human early pregnancy. *Reprod. Biomed. Online* 7, 250–253.
- 94 MANNING, L. R et al. Gel filtration of dilute human embryonic hemoglobins reveals basis for their increased oxygen binding. *Anal. Biochem.* 519, 38–41.
- 95 SALEEMUDIN, A., et al. (2010). Obstetric and perinatal complications in placentas with fetal thrombotic vasculopathy. *Pediatr. Dev. Pathol.* 13, 459–464
- 96 LEWI, L, et al. Placental sharing, birthweight discordance, and vascular anastomoses in monochorionic diamniotic twin placentas. *Am J Obstet Gynecol.* 2007;
- 97 LIPA, M, et al. Vascular anastomoses in intrauterine growth in monochorionic twins. *J Perinat Med.* 2020 Jul 28;48(6):539-543
- 98 VILLIERS, D, et al. Arterio-arterial vascular anastomoses in monochorionic twin placentas with and without twin anemia-polycythemia sequence. *Placenta.* 2012 Mar;33(3):227-9.
- 99 DENBOW, ML, et al. Determinants of flow along arterio-arterial anastomoses in monochorionic placentae by dynamic computer modelling of chorionic plate vasculature. *Prenat Diagn.* 2006 May;26(5):433-42.
- 100 GEMERT, MJ, et al. Polyhydramnios and arterio-arterial placental anastomoses may beneficially affect monochorionic twin pregnancies. *Phys Med Biol.* 2001 Mar;46(3):N57-63.
- 101 DENBOW, ML, et al. Colour Doppler energy insonation of placental vasculature in monochorionic twins: absent arterio-arterial anastomoses in association with twin-to-twin transfusion syndrome. *Br J Obstet Gynaecol.* 1998 Jul;105(7):760-5.
- 102 NIKKELS, PG, et al. Pathology of twin placentas with special attention to monochorionic twin placentas. *J Clin Pathol.* 2008 Dec;61(12):1247-53.

- 103 UMUR, A, et al. Monochorionic twins and twin-twin transfusion syndrome: the protective role of arterio-arterial anastomoses. *Placenta*. 2002 Feb-Mar;23(2-3):201-9.
- 104 TAYLOR, MJ, et al. Doppler detection of arterio-arterial anastomoses in monochorionic twins: feasibility and clinical application. *Hum Reprod*. 2000 Jul;15(7):1632-6.
- 105 DIEHL, W, et al. Placental vascular anastomoses visualized during fetoscopic laser surgery in severe mid-trimester twin-twin transfusion syndrome. *Placenta*. 2001 Nov;22(10):876-81.
- 106 WIJNGAARD, VD, et al. A mathematical model of twin-twin transfusion syndrome with pulsatile arterial circulations. *Am J Physiol – Regul Integr Comp Physiol*. 2007;
- 107 KONNO, H, Murakoshi T, Matsushita M. The roles of superficial anastomoses in twin-twin transfusion syndrome. *Placenta*. 2019 Jul;82:5-9.
- 108 LOPRIORE, E, et al. Quantification of feto-fetal transfusion rate through a single placental arterio-venous anastomosis in a monochorionic twin pregnancy. *Placenta*. 2009 Mar;30(3):223-5
- 109 ZHAO, DP, et al. The role of veno-venous anastomoses in twin-twin transfusion syndrome. *Placenta*. 2014 May;35(5):334-6.
- 110 ZHAO, DP et al. Veno-venous anastomoses in twin-twin transfusion syndrome: A multicenter study. *Placenta*. 2015 Aug;36(8):911-4.
- 111 VILLIERS, D, et al. Correlation between veno-venous anastomoses, TTTS and perinatal mortality in monochorionic twin pregnancies. *Placenta*. 2015 May;36(5):603-6.
- 112 ZHAO, DP, Peeters SH, Middeldorp JM, Klumper FJ, Duan T, Oepkes D, Lopriore E. Monochorionic placentas with proximate umbilical cord insertions: definition, prevalence and angio-architecture. *Placenta*. 2015 Feb;36(2):221-5.
- 113 ESBACH, SJ, et al. Intermittent absent and reversed umbilical artery flows in appropriately grown monochorionic diamniotic twins in relation to proximate cord insertion: A harmful combination? *Prenat Diagn*. 2020 Sep;40(10):1284-1289.
- 114 ONG, S, et al. Single twin demise: consequences to the survivor. In: Kilby MD, Baker P, Critchley H, editors. *Multiple pregnancy*. RCOG Press; 2006. pp. 149–65.

- 115 National Institute for Health and Clinical Excellence. Multiple pregnancy: management of twin and triplet pregnancies in the antenatal period. NICE Clinical Guidance 129; September 2011.
- 116 MURPHY, KW. Intrauterine death in a twin: implications for the survivor. In: Ward RH, Whittle M, editors. Multiple pregnancy. RCOG Press; 1995. pp. 218–30.
- 117 KILBY, MD, et al. Outcome of twin pregnancies complicated by a single intrauterine death: a comparison with viable twin pregnancies. *Obstet Gynecol* 1994;84:107–9.
- 118 DIAS T, et al. Pregnancy outcome of monochorionic twins: does amnionicity matter? *Twin Res Hum Genet* 2011;14:586–92.
- 119 KAUFMANN, HK, et al. Natural history of twin gestation complicated by in utero fetal demise: associations of chorionicity, prematurity, and maternal morbidity. *Fetal Diagn Ther* 2003;18:442–6.
- 120 McPHERSON, JS, et al. Impact of chorionicity on risk and timing of intrauterine demise in twin pregnancies. *Am J Obstet Gynecol* 2012;207:190.e1–6.
- 121 DUDELY, DK, D'ALTON, ME. Single fetal death in twin gestation. *Semin Perinatol* 1986;10:65–72.
- 122 PALUDETTO, R. Neonatal complications specific to twin (multiple) births (twins transfusion syndrome, intrauterine death of co-twin). *J Perinat Med* 1991;19 (Suppl. 1):246–51.
- 123 SLAGHEKKE, F, et al. Twin anaemia-polycythaemia sequence: diagnostic criteria, classification, perinatal management and outcome. *Fetal Diagn Ther* 2010;27:181–90.
- 124 O'BRIEN, WF, et al. Birth weight in twins: an analysis of discordancy and growth retardation. *Obstet. Gynecol* 1986;67:483–6.
- 125 ERRKOLA, R, et al. Growth discordancy in twin pregnancies: a risk factor not detected by measurements of biparietal diameter. *Obstet Gynecol* 1985;66:203–6.
- 126 TAN, TY, YEO, GS. Intrauterine growth restriction. *Curr Opin Obstet Gynecol* 2006;23:456–60.
- 127 GRATACOS, E, et al. Prevalence of neurological damage in monochorionic twins with selective intrauterine growth restriction and intermittent absent or

- reversed end-diastolic umbilical artery flow. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004;24:159–63.
- 128 CHANG, YL, et al. Clinical outcome and placental territory ratio of monochorionic twin pregnancies and selective intrauterine growth restriction with different types of umbilical artery Doppler. *Prenat Diagn* 2009;29:253–6.
- 129 KENNELLY, SM, STURGISS, SM. Management of small-for-gestational-age twins with absent/reversed end diastolic flow in the umbilical artery: outcome of a policy of daily biophysical profile (BPP). *Prenat Diagn* 2007;27:77–80.
- 130 ISHII, K, et al. Perinatal outcome of monochorionic twins with selective intrauterine growth restriction and different types of umbilical artery Doppler under expectant management. *Fetal Diagn Ther* 2009;26:157–61.
- 131 RUSTICO, MA, et al. Managing twins discordant for fetal anomaly. *Prenat Diagn* 2005;25:766–71.
- 132 EVANS, MI, et al. Selective termination of for structural, chromosomal and Mendelian anomalies: international experience. *Am J Obstet Gynecol* 1999;171:90–4.
- 133 NICOLINI, U, POBLETE, A. Single intrauterine death in monochorionic twin pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999;14:297–301
- 134 ROSSI, AC, D'Addario V. The efficacy of Quintero staging system to assess severity of twin-twin transfusion syndrome treated with laser therapy: a systematic review with meta-analysis. *Am J Perinatol* 2009;26:537–44.
- 135 ROSSI, AC, D'ADDARIO, V. Comparison of donor and recipient outcomes following laser therapy performed for twin-twin transfusion syndrome: a meta-analysis and systematic review of literature. *Am J Perinatol* 2009;26:27–32.
- 136 MALINOVSKI, W, et al. The case of monochorionic twin gestation complicated by intrauterine demise of one fetus in the first trimester. *Twin Res Hum Genet* 2005;8:262–6.
- 137 ANAND, D, PLATT, MJ, PHAROAH, POD. Comparative development of surviving co-twins of vanishing twin conceptions, twins and singletons. *Twin Res Hum Genet* 2007;10:210–5.
- 138 CLEARY-GOLDMAN, J, D'ALTON, M. Management of single fetal demise in a multiple gestation. *Obstet Gynecol Surv* 2004;59: 285–98.

- 139 FUSI, L, et al. Acute twin-twin transfusion: a possible mechanism for brain-damaged survivors after intrauterine death of a monochorionic twin. *Obstet Gynecol* 1991;78:517–20.
- 140 NICOLINI, U, et al. Fetal blood sampling immediately before and within 24 hours of death in monochorionic twin pregnancies complicated by single intrauterine death. *Am J Obstet Gynecol* 1998;179:800–3.
- 141 OKAMURA, K, et al. Funipuncture for evaluation of hematologic and coagulation indices in the surviving twin following co-twin's death. *Obstet Gynecol* 1994;83:975–8.
- 142 BAJORIA, R, et al. Outcome of twin pregnancies complicated by single intrauterine death in relation to vascular anatomy of the monochorionic placenta. *Hum Reprod* 1999;14:2124–30.
- 143 HILLMAN, SC, MORRIS, RK, KILBY, MD. Co-twin prognosis after single intrauterine fetal death: a systematic review and metaanalysis *Obstet Gynecol* 2011;118:928–40.
- 144 BONELIE, SR, CURRIE, D, CHALMERS, J. Comparison of risk factors for cerebral palsy in twins and singletons. *Dev Med Child Neurol* 2005;47:587–91.
- 145 LUU, TM, Vohr B. Twinning on the brain: the effect on neurodevelopmental outcomes. *Am J Med Genet C* 2009;151:142–7.
- 146 NELSON, KB, et al. Childhood neurological disorders in twins. *Paediatr Perinat Ep* 1995;9:135–45.
- 147 WHITFIELD, KE, et al. Does intact pair status matter in the study of African American twins? The Carolina African American twin study of aging. *Exp Aging Res* 2003;29:407–23.
- 148 GRAEF, C, et al. Long-term neurodevelopmental outcome of 167 children after intrauterine laser treatment for severe twin-twin transfusion syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2006;194:303–8.
- 149 BANEK, CS, et al. Long-term neurodevelopmental outcome after intrauterine laser treatment for severe twin-twin transfusion syndrome. *Am J Obstet Gynecol* 2003;188:876–80.
- 150 O'DONOGHUE, K, et al. Transfusional fetal complications after single intrauterine death in monochorionic multiple pregnancy are reduced but not prevented by vascular occlusion. *BJOG* 2009;116:804–12.

- 151 ROSSI, AC, et al. Neurodevelopmental outcomes after laser therapy for twin-twin transfusion syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol* 2011;118:1145–50.
- 152 LEWI, L, DEPREST, J. Fetal problems in multiple pregnancy. In: James DK, Steer PJ, Weiner CP, et al., editors. *High risk pregnancy management options*. Saunders Elsevier; 2005. pp. 535–9.
- 153 SENAT, M, V. et al. The value of middle cerebral artery peak systolic velocity in the diagnosis of fetal anaemia after intrauterine death of one monochorionic twin. *Am J Obstet Gynecol* 2003;189:1320–4.
- 154 Senat MV, Bernard JP, Loizeau S, et al. Management of single fetal death in twin-to-twin transfusion syndrome: a role for fetal blood sampling. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2002;20:360–3.
- 155 Child A, Norton M, Barkovich J, et al. Intracranial MRI findings in the surviving fetus after a co-twin demise. *Am J Obstet Gynecol* 2007;197:178.
- 156 TANAWATTANACHAROEN, S. et al. Intrauterine rescue transfusion in monochorionic multiple pregnancies with recent single intrauterine death. *Prenat Diagn*, 2001;21:274–8.
- 157 KLEINMAN, J, C. et al. Comparison of infant mortality among twins and singletons: United States 1960 and 1983, *Am. J. Epidemiol.* 1991 Jan 15;133(2):133-43
- 158 PHAOROAH, P, O, D. et al. Consequences of in-utero death in a twin pregnancy, *Lancet*. 2000 Sep 23;356(9235):1108
- 159 LANNA, M, M. et al. Color-dye injection of monochorionic placentas and correlation with pregnancy complications, *Placenta*. 2015 Oct;36(10):1095-9.
- 160 INKLAAR, M, J. et al. Cerebral injury in monochorionic twins with selective intrauterine growth restriction: A systematic review, *Prenat. Diagn*. 2014 Mar;34(3):205-13
- 161 PAEPE, M.E. et al. Placental markers of twin-to-twin transfusion syndrome in diamniotic-monochorionic twins: A morphometric analysis of deep artery-to-vein anastomoses, *Placenta*. 2010 Apr;31(4):269-76.
- 162 BAJORIA, R. et al. Angioarchitecture of monochorionic placentas in relation to the twin-twin transfusion syndrome, *Am J Obstet Gynecol*, 1995 Mar;172(3):856-63

- 163 T.K. Boyd, The placenta in intrauterine demise, *APMIS*. 2018 Jul;126(7):621-625
- 164 GARROD, A. et al. Duration and method of tissue storage alters placental morphology - Implications for clinical and research practice, *Placenta*. 2013 Nov;34(11):1116-9.
- 165 BURTON N, J. et al. Optimising sample collection for placental research, *Placenta*. 2014 Jan;35(1):9-22.
- 166 STRUIJK, P, C. et al. Blood pressure estimation in the human fetal descending aorta, *Ultrasound Obstet. Gynecol.* 32 (2008) 673–681.
- 167 KISERUD, T. Physiology of the fetal circulation, *Semin. Fetal Neonatal Med.* 2005, Dec;10(6):493-503.
- 168 LOPRIORE, L. et al. Velamentous cord insertion and unequal placental territories in monochorionic twins with and without twin-to-twin-transfusion syndrome, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2007, Feb;196(2):159.e1-5.
- 169 HARTLEY, R, S. et al. Size-discordant twin pairs have higher perinatal mortality rates than nondiscordant pairs, *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 2002. Nov;187(5):1173-8
- 170 PAEPPE D. et al. Demonstration of placental vascular anatomy in monochorionic twin gestations, *Pediatr Dev Pathol.* 2002 Jan-Feb;5(1):37-44
- 171 BAJORIA, R, WIGGLESWORTH, J., FISK N. Angio-Architecture of Monochorionic Placentae in Relation To the Feto-Fetal Transfusion Syndrome, *Am J Obs. Gynecol.* 1994.
- 172 DENBOW, N, B. et al. Derivation of rate of arterio-arterial anastomotic transfusion between monochorionic twin fetuses by Doppler waveform analysis, *Placenta*. 2004, Aug;25(7):664-70
- 173 SAU, A. et al. Antenatal detection of arteriovenous anastomoses in monochorionic twin pregnancy, *Int. J. Gynecol. Obstet.* 2008, Jan;100(1):56-9.
- 174 MURAKOSHI, K. et al. In vivo endoscopic assessment of arterioarterial anastomoses: insight into their hemodynamic function , *J. Matern. Neonatal Med.* 2009, Oct;14(4):247-55
- 175 HACK, K et al. Placental Characteristics of Monoamniotic Twin Pregnancies in Relation to Perinatal Outcome, *Placenta*, 2009, Jan;30(1):62-5.

10.6 Publikované práce

HANÁČEK, Jiří; HEŘMAN, Hynek; KŘEPELKA, Petr; HAŠLÍK, Lubomír; BRANDEJSOVÁ, Anna; KROFTA, Ladislav. Gravidita v jizvě po císařském řezu. *Česká gynekologie*. 2022, 87(3), 193-197. ISSN 1210-7832. e-ISSN 1805-4455.

HAŠLÍK, Lubomír; VOJTĚCH, Jiří; HANULÍKOVÁ, Petra; KŘEPELKA, Petr; FEYEREISL, Jaroslav; KROFTA, Ladislav. In vitro simulation of acute fetofetal transfusion in case of single intrauterine fetal death in monochorionic twins. *Placenta*. 2021, 111(August), 26-32. ISSN 0143-4004. e-ISSN 1532-3102. DOI: [10.1016/j.placenta.2021.05.004](https://doi.org/10.1016/j.placenta.2021.05.004). IF: 3.287/2021.

DOLNÁ, Zdenka; HAŠLÍK, Lubomír; FRYDRYCH, Jaromír; DRAHOŇOVSKÝ, Jan; HANÁČEK, Jiří. Porovnání ultrazvuku a magnetické rezonance v diagnostice hluboké infiltruující endometriózy. *Gynekologie a porodnictví*. 2020, 4(3), 149-153. ISSN 2533-4689.

HAŠLÍK, Lubomír; DRAHOŇOVSKÝ, Jan; HANÁČEK, Jiří; DOLNÁ, Zdenka; KROFTA, Ladislav; HEŘMAN, Hynek; FEYEREISL, Jaroslav. Ultrazvukové "soft markery" v diagnostice hluboké pánevní endometriózy. *Gynekologie a porodnictví*. 2020, 4(3), 146-148. ISSN 2533-4689.

HAŠLÍK, Lubomír; KROFTA, Ladislav; VOJTĚCH, Jiří; HANULÍKOVÁ, Petra; POCK, Radovan; HEŘMAN, Hynek; STRAŇÁK, Zbyněk; FEYEREISL, Jaroslav. Výsledky intrauterinních intervencí Centra fetální medicíny ÚPMD za šestileté období (2012-2018). *Gynekologie a porodnictví*. 2019, 3(2), 84-87. ISSN 2533-4689.

HANULÍKOVÁ, Petra; HAŠLÍK, Lubomír. Diferenciální diagnostika ovariálních tumorů. *Gynekologie a porodnictví*. 2018, 2(2), 98-102. ISSN 2533-4689.

POCK, Radovan; STRAŇÁK, Zbyněk; VOJTĚCH, Jiří; HAŠLÍK, Lubomír; FEYEREISL, Jaroslav; KROFTA, Ladislav. Bronchopulmonary Sequestration with Fetal Hydrops in a Monochorionic Twin Successfully Treated with Multiple Courses of Betamethasone. *AJP Reports*. 2018, 8(4), e359-e361. ISSN 2157-6998. e-ISSN 2157-7005. DOI: [10.1055/s-0038-1676339](https://doi.org/10.1055/s-0038-1676339).

BĚHÁVKOVÁ, Kateřina; KROFTA, Ladislav; MACKOVÁ, Kateřina; VOJTĚCH, Jiří; HAŠLÍK, Lubomír; POCK, Radovan; HYMPÁNOVÁ, Lucie; KUČEROVÁ, Magdaléna; HEŘMAN, Hynek; STRAŇÁK, Zbyněk; FEYEREISL, Jaroslav. Analýza případů monochoriálních dvojčat porozených v Ústavu pro péči o matku a dítě ve čtyřletém období (2012-2015). *Česká gynekologie*. 2017, 82(3), 180-189. ISSN 1210-7832. e-ISSN 1805-4455.

BĚHÁVKOVÁ, Kateřina; KROFTA, Ladislav; MACKOVÁ, Kateřina; VOJTĚCH, Jiří; HAŠLÍK, Lubomír; POCK, Radovan; VELEBIL, Petr; STRAŇÁK, Zbyněk; FEYEREISL, Jaroslav. Epidemiologie dvojčat ve vyspělých zemích. *Gynekologie a porodnictví*. 2017, 1(1), 6-9. ISSN 2533-4689.

BERKA, Ivan; ŠEBKOVÁ, Sylva; FEYEREISLOVÁ, Simona; ŠČAMBUROVÁ, Jaroslava; HAŠLÍK, Lubomír; STRAŇÁK, Zbyněk. Anestezie a analgezie plodu při intervencích in utero. *Anesteziologie a intenzivní medicína*. 2017, 28(5), 275-281. ISSN 1214-2158. e-ISSN 1805-4412.

DVOŘÁK, Vladimír; VOJTĚCH, Jiří; HAŠLÍK, Lubomír; KROFTA, Ladislav; FEYEREISL, Jaroslav. Monochoriální dvojčata - specifika a komplikace. *Gynekologie a porodnictví*. 2017, 1(2), 74-79. ISSN 2533-4689.

HAŠLÍK, Lubomír; KROFTA, Ladislav; VOJTĚCH, Jiří; POCK, Radovan; HANULÍKOVÁ, Petra; HEŘMAN, Hynek; FEYEREISL, Jaroslav. Mrtvorozenost: mnoho vykonáno, mnohem více je třeba ještě udělat. *Gynekologie a porodnictví*. 2017, 1(4), 203-206. ISSN 2533-4689.

POCK, Radovan; VOJTĚCH, Jiří; DVOŘÁK, Vladimír; HAŠLÍK, Lubomír; HANULÍKOVÁ, Petra; HEŘMAN, Hynek; STRAŇÁK, Zbyněk; KROFTA, Ladislav; FEYEREISL, Jaroslav. Monochoriální dvojčata - průvodce graviditou. *Gynekologie a porodnictví*. 2017, 1(3), 146-152. ISSN 2533-4689.

STRAŇÁK, Zbyněk; KROFTA, Ladislav; HAAK, Lucia A.; VOJTĚCH, Jiří; HAŠLÍK, Lubomír; RYGL, Michal; PÝCHA, Karel; FEYEREISL, Jaroslav. Antenatal assessment of liver position, rather than lung-to-head ratio (LHR) or observed/expected LHR, is predictive of outcome in fetuses with isolated left-sided congenital diaphragmatic hernia. *Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*. 2017, 30(1), 74-78. ISSN 1476-7058. e-ISSN 1476-4954. DOI: [10.3109/14767058.2016.1163539](https://doi.org/10.3109/14767058.2016.1163539). IF: 1.493/2017.

VOJTĚCH, Jiří; HAŠLÍK, Lubomír; POCK, Radovan; BĚHÁVKOVÁ, Kateřina; MACKOVÁ, Kateřina; HANULÍKOVÁ, Petra; HEŘMAN, Hynek; KROFTA, Ladislav. Selektivní fotoredukce u monochoriálních gravidit komplikovaných vrozenou vývojovou vadou jednoho z plodů: management a výsledky péče. *Česká gynekologie*. 2017, 82(5), 345-350. ISSN 1210-7832. e-ISSN 1805-4455.

KÖNIGOVÁ, Dita; POCK, Radovan; HAŠLÍK, Lubomír; VOJTĚCH, Jiří; KROFTA, Ladislav; FEYEREISL, Jaroslav. Současný pohled na chirurgické řešení spina bifida aperta. *Postgraduální medicína*. 2016, 18(4), 314-318. ISSN 1212-4184.

KROFTA, Ladislav; HAŠLÍK, Lubomír; VOJTĚCH, Jiří; POCK, Radovan. Základní principy sonografické diagnostiky dvojčat. *Gynekologie a porodnictví*. 2016, 1(1), 40-46. ISSN 2533-4689.

STUDNIČKOVÁ, Martina; VOJTĚCH, Jiří; VELEBIL, Petr; MARKOVÁ, Ivana; HAŠLÍK, Lubomír; KROFTA, Ladislav; ĽUBUŠKÝ, Marek. Komplikace vícečetného těhotenství. *Postgraduální medicína*. 2016, 18(4), 375-380. ISSN 1212-4184.

FRÜHAUF, Filip; DVOŘÁK, Martin; HAAK, Lucia A.; HAŠLÍK, Lubomír; HERBOLTOVÁ, Petra; CHALOUPOKOVÁ, B.; KOŽNAROVÁ, Jana; KUBEŠOVÁ, Barbora; LUKÁČOVÁ, Ivana; MAREK, Radim; NEUMANNOVÁ, Helena; PESCHOUT, Roman; PŘIBYL, Vít; SEDLÁKOVÁ, Iva; SMAŽINKA, Martin; SVOBODOVÁ, Pavla; VANČO, Marcel; VLASÁK, Pavel; WEINBERGER, Vít; ZIKÁN, Michal; FISCHEROVÁ, Daniela. Ultrazvukový staging karcinomu endometria - doporučená metodika vyšetření. *Česká gynekologie*. 2014, 79(6), 466-476. ISSN 1210-7832. e-ISSN 1805-4455.

ĽUBUŠKÝ, Marek; KROFTA, Ladislav; HAŠLÍK, Lubomír; MARKOVÁ, Ivana. *Doporučená ultrazvuková vyšetření v těhotenství*. 1. vyd. Praha: Mladá fronta, 2014. 158 s. ISBN 978-80-204-3083-0.

ĽUBUŠKÝ, Marek; KROFTA, Ladislav; HAŠLÍK, Lubomír; MARKOVÁ, Ivana. Podrobné hodnocení morfolgie plodu při ultrazvukovém vyšetření ve 20.-22. týdnu těhotenství: doporučený postup. *Česká gynekologie*. 2014, 79(2), 169-170, 87. ISSN 1210-7832. e-ISSN 1805-4455.

VOJTĚCH, Jiří; HAŠLÍK, Lubomír; KROFTA, Ladislav; FEYEREISL, Jaroslav. Riziková dvojčetná gravidita. Základy ultrazvukové diagnostiky a

predikce rizikových skupin dvojčetných gravidit v prvním trimestru. *Postgraduální medicína*. 2014, 16(5), 470-473. ISSN 1212-4184.

WEINBERGER, Vít; DVOŘÁK, Martin; HAAK, Lucia A.; HAŠLÍK, Lubomír; HERBOLTOVÁ, Petra; CHALOUPKOVÁ, B.; KOŽNAROVÁ, Jana; KUBEŠOVÁ, Barbora; LUKÁČOVÁ, Ivana; MAREK, Radim; NEUMANNOVÁ, Helena; PESCHOUT, Roman; PŘIBYL, Vít; SEDLÁKOVÁ, Iva; SMAŽINKA, Martin; SVOBODOVÁ, Pavla; VANČO, Marcel; VLASÁK, Pavel; FISCHEROVÁ, Daniela; ZIKÁN, Michal. Ultrazvukový staging karcinomu děložního hrdla - návrh standardního postupu. *Česká gynekologie*. 2014, 79(6), 447-455. ISSN 1210-7832. e-ISSN 1805-4455.

VOJTĚCH, Jiří; ZMRHALOVÁ, Barbora; HAŠLÍK, Lubomír; MELICHAROVÁ, Lucie; KRČMÁŘ, Michal; HEŘMAN, Hynek; KROFTA, Ladislav; FEYEREISL, Jaroslav. Obezita a maternální morbidita. *Postgraduální medicína*. 2013, 15(1), 20-23. ISSN