

WIESŁAW KURLEJ

## GENETYCZNE ASPEKTY ANATOMICZNO-ANTROPOLOGICZNEGO BADANIA PŁODÓW Z CIAŻ MNOGICH

W odróżnieniu od badań anatomiczno-antropologicznych bliźniąt w okresie postnatalnym, analogiczne badania w okresie prenatalnym prowadzone są od niedawna [Gedda 1961]. Badania te prowadzono na nielicznej, wyselekcjonowanej grupie bliźniaczych płodów japońskich, bez wiarygodnego ustalenia ich zygotyczności. W Polsce nie prowadzono obserwacji w tym zakresie, a przecież badania takie mogą wnieść wiele nowych informacji w dziedzinie badań morfologicznych bliźniąt. Dotyczy to zwłaszcza narządów wewnętrznych, które opracowywano sporadycznie i w stopniu ograniczonym. Badania te mogą się również przyczynić do lepszego poznania topografii narządów, ich budowy oraz zróżnicowania międzyosobniczego i płciowego oraz do kontynuowania i rozwijania anatomii populacyjnej zapoczątkowanej przez Lothera [Bergman 1975]. Mogą być pomocne w dziedzinie badań podstawowych nad płodami (określenie wieku), a także mogą stanowić podstawę do badań genetycznych człowieka.

W związku z zapoczątkowaniem badań nad płodami z ciąży mnogich, zasygnalizujemy podstawowe problemy anatomiczno-antropologicznego badania płodów bliźniaczych. Podamy również wskazówki metodyczne dotyczące gromadzenia i opracowywania materiału badawczego. Ma to znaczenie w ujednoczeniu badań, koniecznym ze względu na niezbędną wymianę uzyskiwanych wyników. Związane to jest przede wszystkim z trudnościami występującymi przy gromadzeniu większej liczby płodów bliźniaczych przez jedną placówkę badawczą, a tylko opracowywanie większej grupy bliźniąt sprostać może stawianym wymogom w tego rodzaju badaniach. Również w większości badań nad bliźniętami, poruszających zagadnienia genetyki człowieka, nie są zachowane odpowiednie warunki wymagane w metodyce badań bliźniąt. Niedopełnienie tych warunków zmniejsza wartość prac i doprowadza często do niesłusznych wniosków [Martynowa, Rywkin 1971, Sawicki 1980].

## USTALENIE ZYGOTYCZNOŚCI BLIŹNIĄT

Określenie zygotyczności bliźniąt jest najważniejszym problemem wstępnym przy opracowywaniu płodów z ciąży mnogich. Na podstawie badań błon płodowych, cech grupowych krwi i innych cech morfologicznych badanych bliźniąt, można z dużym prawdopodobieństwem diagnozować ich zygotyczność [Hulanicka 1974]. Dokładna ocena budowy łożyska jest, z przyczyn technicznych (kontrastowanie naczyń, badania histologiczne), trudna do przeprowadzenia. Wystarczy określić, czy płody mają wspólną kosmówkę i jedną owodnię, by stwierdzić na tej podstawie czy są one monozygotyczne czy dizygotyczne. Byłoby to znacznym ułatwieniem, gdyż można diagnozować w ten sposób 80% płodów monozygotycznych, a tylko pozostałe poddać dalszym dokładnym badaniom. Nie ma jednak odpowiedniego zarządzenia na oddziałach położniczych o obowiązkowym badaniu błon płodowych przy urodzeniu, dlatego wstępna ocena zygotyczności bliźniąt opiera się w zasadzie wyłącznie na badaniach serologicznych krwi. Określenie zygotyczności, na podstawie badań morfologicznych cech zewnętrznych (wielocechowe podobieństwa i różnice), jest przydatne zasadniczo w diagnozowaniu osobników dorosłych. W przypadku płodów nie może być zastosowane, ze względu na trudności związane z zaklasyfikowaniem do odpowiedniej kategorii badanych cech, w małym stopniu jeszcze ukształtowanych w okresie płodowym i zmieniających się w ciągu dalszego ich rozwoju. Niemniej jednak, opracowywanie cech morfologicznych, charakterystycznych w okresie płodowym i zarodkowym, takich jak np. przebieg układu włosów ciała człowieka [Bożilow i in. 1973], jest zagadnieniem otwartym. Z drugiej strony, diagnoza zygotyczności bliźniąt na podstawie cech morfologicznych może być dokonywana tylko w przypadku dużej liczby niezależnych cech i może być czynnością pomocniczą przy weryfikowaniu hipotez genetycznych. Wydaje się, że badania narządów wewnętrznych płodów bliźniaczych przyczynić się mogą do określenia zygotyczności bliźniąt w dalszym etapie badań, natomiast we wstępnym opracowaniu płodów decydują badania serologiczne krwi. Badania te powinny być oparte na jak największej liczbie układów grupowych. W przypadku różnic w jednej grupie krwi lub cechach surowicy, których fenotypy determinowane są przez geny o całkowitej penetracji, płody mogą być uznawane jako dizygotyczne. Gdy badane grupy krwi wykazują zgodność, Wysłouchowa i Orczykowska-Świątkowska [1969] proponują obliczać względne szanse dizygotyczności ze względu na częstości genów charakterystyczne dla populacji polskiej. Przy zgodności stosowanych przez te autorki markerów, można stwierdzić z dużym prawdopodobieństwem ( $p=0,9684$ ), że bliźnięta są monozygotyczne. W przypadku płodów poronionych odsetek ten może się nieco różnić, gdyż niektórzy autorzy [Osborne,

de George 1957, Socha 1966] sugerują, iż istnieje selekcja prenatalna, skierowana przeciwko niezgodnym grupom dizygotycznym, dlatego zgodne grupy dizygotyczne występują w większym procencie niż można oczekiwać z obliczeń teoretycznych. Niemniej jednak inni badacze [Selvin 1970, Wilson 1970] nie potwierdzają powyższych stwierdzeń. Jakikolwiek błąd w określeniu zygotyeczności doprowadza do sztucznego obniżenia wskaźników charakteryzujących rolę genotypowych czynników, a w konsekwencji do błędnych wyobrażeń o rzeczywistych prawidłowościach występujących u bliźniąt. W przypadku badania płodów należy więc opracowywać liczne grupy osobników w poszczególnych przekrojach wieku, by zwiększyć względne szanse prawdopodobieństwa trafnej diagnozy zygotyeczności bliźniąt. We wstępnym opracowywaniu płodów bliźniaczych wystarczy określić dyskryminacyjnie dwie skrajne grupy płodów pod względem ich zygotyeczności i na ich podstawie przeprowadzać dalsze badania. Określenie grup monozygotycznych i dizygotycznych na podstawie cech serologicznych krwi, a następnie analiza cech morfologicznych (wewnętrznych) w obrębie powyższych grup, mogą dać wyniki dające się zastosować w diagnozowaniu zygotyeczności płodów bliźniaczych już utrwalonych, mających dotychczas charakter muzealny.

Analizę serologiczną należy przeprowadzić w oparciu o pobraną krew (surowica, skrzepy z serca i aorty) w ilości około 1 cm<sup>3</sup> od nieutrwalonych jeszcze płodów. Badania te należy wykonać w wyspecjalizowanych placówkach, określających rutynowo co najmniej cztery układy grupowe krwi. Należy zwrócić uwagę na fakt, że dochodzi często do wymieszania krwi między bliźniętami w związku z istniejącymi połączeniami tętniczymi i żylnymi w obrębie popłodu. Zjawisko to może wpływać na tolerancję pomiędzy bliźniętami dizygotycznymi w życiu wewnątrzmacicznym i rzutować myląc na uzyskiwane wyniki badań serologicznych.

#### OPRACOWYWANIE MATERIAŁÓW PŁODOWYCH Z CIAŻ MNOGICH

Po ustaleniu zygotyeczności bliźniąt, dalsze postępowanie w przypadku gromadzenia płodów z ciąży mnogich (utrwalanie, zbieranie dokumentacji, standaryzacja badań) nie powinno odbiegać od założeń metodycznych podanych przez Bożyłowa i Sawickiego [1980]. Proponowane przez nich postępowanie można przedstawić skrótowo w punktach: 1) ustalenie przyczyny poronienia, 2) określenie wieku chronologicznego, 3) znalezienie u każdego osobnika cech niezmiennających się z wiekiem, cech o znanym modelu dziedziczenia, lub takich, o których wiadomo, że są silnie zdeterminowane genetycznie, 4) trafny wybór cech pomiarowych i opisowych przy opracowywaniu konkretnego za-

gadnienia, 5) ustalenie cech morfologicznych najbardziej trafnych dla oceny rozwoju organizmu oraz ustalenie definicji tych cech (korzystnie, gdy są to cechy łatwo dostępne u osobników dorosłych), 6) ocena różnego rodzaju błędów pomiarowych, 7) wybór właściwych metod statystycznych dla opisu i porównania rozwoju badanych cech oraz testowania istotności statystycznej stwierdzonych zjawisk, 8) wybór dokumentacji wyników badań i ich publikacji, który umożliwiłby łatwe komasowanie danych i zapewnił porównywalność wyników różnych prac.

W miarę możliwości należałoby uwzględnić również inne niż genetyczne cechy rodziców poronionych płodów [Wolański 1972]. Nasuwa się jednak pytanie, jak opracowywać materiały płodów bliźniaczych, żeby uzyskać informacje o rozwoju i dziedziczeniu jak największej liczby cech. Rozwiązanie postawionego problemu można przeprowadzić: 1) wyodrębnione grupy płodów z ciąży mnogich poddając je odrębnemu opracowaniu, 2) przy okazji badań nad płodami z ciąży pojedynczych, dotyczących zmienności kształtów, struktur, wymiarów i topografii określonych narządów i układów. Pierwszy ze sposobów jest właściwy ze względów metodycznych i korzystny z uwagi na bezpośredni wgląd do badanego materiału oraz ze względu na odpowiednią dokumentację. Nastęrcza jednak wiele trudności związanych z małą liczebnością płodów bliźniaczych w dysponowanych zbiorach i koniecznością prowadzenia badań w zbyt szerokim zakresie. W drugim przypadku wymagane są dodatkowe badania na płodach z ciąży mnogich, nie będące przedmiotem bezpośredniej pracy autora, a opracowany materiał na płodach z ciąży mnogich nie może być włączony do badań przeprowadzanych na płodach z ciąży pojedynczych, ze względu na dystrofię wewnątrzmaciczną. Dlatego proponujemy, by płody z ciąży mnogich znajdujące się w poszczególnych placówkach badawczych i gromadzone nadal przy okazji prowadzonych badań przekrojowych na materiale płodowym odpowiednio zabezpieczyć, by nadawały się do odrębnego opracowania w przyszłości. Należy również zebrać dokładną dokumentację tych płodów oraz wykonać niezbędne pomiary antropometryczne, zgodnie ze wskazówkami podanymi przez Bożiłow a i Sawickiego [1980], łącznie z określeniem ich zygotyczności. Pełna dokumentacja dotycząca tych płodów winna być odesłana do koordynującej placówki badawczej, gdzie wszystkie materiały z całego kraju byłyby zewidencjonowane.

Z chwilą osiągnięcia liczebności upoważniającej do podjęcia analizy zgromadzonego materiału, należy zorganizować konferencję okrągłego stołu, na której obecni byłiby wszyscy zainteresowani tą problematyką. Głównym zadaniem konferencji byłoby sformułowanie, przedstawienie, omówienie, przedyskutowanie i rozdysponowanie na wszystkie zainteresowane ośrodki tematów proponowanych prac. Korzyści uzyskane

z tego typu postępowania to przede wszystkim możliwość opracowania interesującego tematu na liczny, ogólnopolskim materiale, a także, co nie jest bez znaczenia, zakresy badawcze poszczególnych ośrodków nie będą się ze sobą pokrywały. Zakład Anatomii Prawidłowej we Wrocławiu, który rozpoczyna badania z tego zakresu, a także jako główny koordynator badań dotyczących płodów w ogóle (zgodnie z postanowieniami X Zjazdu PTA) również i w tym przypadku mógłby koordynować wymianę informacji zebranych na płodach z ciąż mnogich. Należy zwrócić uwagę na fakt, że wiele par bliźniąt płodowych zostało włączonych do badań rozwojowych prowadzonych na płodach z ciąż pojedynczych. Dlatego uzyskane dane trzeba wyłączyć z opracowywanych zagadnień i publikować je jako odrębne prace materiałowe, udostępniając w ten sposób materiały z ciąż bliźniaczych badaczom zajmującym się tą problematyką. W przypadku małej liczby płodów bliźniaczych w materiałach przekrojowych, uzyskane dane nie będą się nadawały do odrębnego opracowania, dlatego zgodnie z powyższymi postulatami należałoby przesłać je do koordynującej placówki badawczej, gdzie byłyby opracowane łącznie z innymi materiałami dotyczącymi tego samego tematu, z uwzględnieniem wszelkich praw autorskich.

Należy opracowywać dostatecznie liczne grupy płodów monozygotycznych i dizygotycznych jednocześnie, gdyż efektywna zgodność niektórych interesujących cech w parach bliźniąt monozygotycznych może być błędnie interpretowana. Należy również zwrócić uwagę na proporcje opracowywanych bliźniąt monozygotycznych i dizygotycznych. Bliźniąt dizygotycznych powinno być od 3 do 4 razy więcej niż monozygotycznych. Zmniejszenie tego stosunku do 2 lub 1 oraz wartości mniejszych wskazuje na stosowanie niezadowolających metod zbierania materiału [Martynowa, Rywkin 1971].

#### ZNACZENIE BADAŃ PŁODÓW Z CIAŻ MNOGICH

Badania płodów z ciąż mnogich mogą zapewnić ustalenie niezależnych, nie zmieniających się z wiekiem cech o znanym modelu dziedziczenia, lub takich które są silnie zdeterminowane genetycznie. Badania płodów bliźniaczych mogą umożliwić dość wierne przedstawienie prawidłowości biologicznych i przyczynić się do rozwiązania podstawowego problemu w badaniach nad płodami, jakim jest opracowywanie materiałów przekrojowych w zastępstwie materiałów ciągłych. Warunkiem bowiem tego zastępstwa jest to, ażeby poszczególne zbiory osobników, reprezentujące kolejno po sobie następujące etapy rozwoju, były identyczne pod względem składu genetycznego (podobnie identyczny jest genotyp pojedynczego osobnika w trakcie całego rozwoju).

Bliźnięta dizygotyczne różnią się od zwykłych braci-siostr jednocześnie poczęcia i rozwoju, co oznacza, że mają w okresie płodowym wspólne warunki środowiskowe. Dlatego, jeżeli zostaje zauważona różnica między bliźniętami dizygotycznymi tej samej płci, dotycząca jakiegokolwiek prawidłowej lub patologicznej cechy, to wynika ona z różnego genetycznego podłoża ich rozwoju. W mniejszym stopniu na różnice między bliźniętami dizygotycznymi wpływa środowisko wewnątrzmaciczne, różnie oddziaływające na oba płody. Brak różnic między bliźniętami dizygotycznymi traktuje się jako wskaźnik wysokiej zmienności fenotypowej danej cechy i jej dużą zależność od warunków środowiskowych. Podobieństwo bliźniąt monozygotycznych może być uwarunkowane nie tylko podobieństwem genotypów, ale i wspólnymi warunkami życia wewnątrzmacicznego. Różnice między bliźniętami monozygotycznymi należy złożyć na karb czynników środowiska wewnątrzmacicznego (różne położenie i odżywianie zarodków w macicy), można określić w ten sposób wpływ czynników środowiskowych na rozwój człowieka. Zaznaczyć należy, że środowisko wewnątrzmaciczne, różnie oddziaływające na oba płody w ciąży bliźniaczej, wpływa różnicująco podobnie w przypadku bliźniąt dizygotycznych i monozygotycznych.

W przypadku płodów bliźniaczych zdarza się, że jeden z osobników reprezentuje rozwój normalny, natomiast rozwój drugiego jest nieprawidłowy (stwierdzić to można nie tylko na podstawie widocznych anomalii i wad). Patologiczny rozwój jednego z bliźniąt może być bezpośrednią przyczyną poronienia. Spostrzeżenia te mogą się przyczynić do oddzielenia grup, w których osobnicy reprezentują rozwój normalny, od grup, w których płody uległy selekcji ze względu na nieprawidłowy rozwój (nie zawsze o wyraźnych cechach patologicznych). Selekcję tę można przeprowadzić tylko przy użyciu dużych grup płodów bliźniaczych o ustalonej zygotyczności. Oczywiście należy uwzględnić również to, że rozwój osobników w ciążach mnogich różni się nieznacznie od rozwoju w ciążach pojedynczych, z uwagi na dystrofię wewnątrzmaciczną. Wydaje się jednak, że krzywe rozwojowe konstruowane na podstawie płodów z ciąż mnogich powinny się różnić nieznacznie (przesunięciem tempa rozwoju) od analogicznych linii indywidualnych sporządzonych na podstawie płodów z ciąż pojedynczych.

Dysponując licznym materiałem można uzyskać informacje o odziedziczalności badanych cech oraz można ustalić jaki jest udział wariacji genetycznej i wariacji środowiskowej w całkowitej wariacji fenotypowej danej cechy. Przez analizę składu genetycznego poszczególnych przekrojów rozwojowych populacji można sprawdzić czy w badanym materiale występują czynniki powodujące poronienia płodów. Badania płodów z ciąż mnogich mogą się przyczynić do ustalenia wieku kalendarzowego osobników, najbardziej uniwersalnego kryterium przy wy-

odrębnianiu poszczególnych przekrojów rozwojowych, na podstawie różnic zaawansowania w rozwoju obu prawidłowo rozwijających się bliźniąt. Opracowując płody z ciąży mnogich być może uda się ustalić cechy wewnętrzne organizmu o małej zmienności indywidualnej i międzyosobniczej oraz płciowej, natomiast o dużej zmienności z wiekiem. Na tej podstawie można będzie z dużą dokładnością określić wiek chronologiczny płodów.

Badania nad płodami bliźniaczymi mogą się przyczynić do zaplanowania badań nad mikroewolucyjnymi zmianami populacji i do oceny czynników cywilizacyjnych, w tym i praktyki medycznej, wpływających na te zmiany. Badania w tej dziedzinie leżą więc w interesie morfologów, a także wielu innych specjalistów.

Powyższe tezy nie wyczerpują wszystkich problemów, celem ich jest jedynie zasygnalizowanie najważniejszych aspektów badań w zakresie anatomii rozwojowej opartych na płodach z ciąży mnogich.

#### PISMIENNICTWO

- Bergman P., 1975, *Uwagi o możliwościach badań genetycznych w anatomii człowieka*, Kosmos, A2, 157.
- Bożiłow W., Rajchel Z., Skarżyńska T., 1973, *Badania nad typami owłosienia płodów ludzkich*, Referat wygłoszony na konferencji antropologicznej we Wrocławiu.
- Bożiłow W., Sawicki K., 1980, *Metody badań zmienności cech anatomicznych człowieka podczas rozwoju prenatalnego i okołoporodowego*. Wrocław.
- Gedda L., 1961, *Twins in History and Science*, Springfield.
- Hulanicka B., 1974, *Metody diagnozy zygotywności bliźniąt*, Mat. i Pr. Antrop., 88, 3.
- Martynowa R. P., Rywkin I. A., 1971, *Badania bliźniąt w genetyce medycznej*. [w:] *Problemy genetyki medycznej* (red. W. P. Eiroimson, A. Horst). Warszawa.
- Osborne R. H., de George F. V., 1957, *Selective survival in dizygotic twins in relation to the ABO blood groups*. Am. J. Hum. Genet., 9, 321.
- Sawicki K., 1980, *Stopień zróżnicowania niektórych elementów środowiska i trybu życia w obrębie par bliźniąt*. Praca doktorska, Wrocław.
- Selvin S., 1970, *Twin zygosity, Diagnoses by blood group antigens*. Hum. Heredity, 20, 540.
- Socha W., 1966, *Z zagadnień serologicznego zróżnicowania populacji*, Warszawa.
- Wilson R. S., 1970, *Blood typing and twin zygosity*. Hum. Heredity, 20, 30.
- Wolański N., 1972, *Czynniki rozwoju człowieka*, Warszawa.
- Wysłouchowa B., Orczykowska-Świątkowska Z., 1969, *The diagnosis of twin zygosity on the basis of blood group studies*. Acta Med. Pol., 10, 187.

GENETIC ASPECTS OF MORPHOLOGICAL EXAMINATION OF FETUSES  
FROM MULTIPLE PREGNANCIES

by WIESŁAW KURLEJ

In contrast to numerous anatomic-anthropometric examinations of twins during their postnatal life analogical examinations dealing with prenatal period are conducted only recently. In Poland no such examinations have been conducted at all. Investigations based on observation of twin fetuses are of a great importance especially for elucidation of determinants of growth of internal organs hitherto dealt with only in a limited and irregular way.

The author in relation to the start of examination of twin fetuses in Poland gives a brief review of problems pertaining to such a study together with some comments of methodological nature concerning collection and elaboration of twin material. It is important for unification of examinations conducted of necessity by various researchers in various institutions. Twin fetuses are hard to obtain in larger quantities and numerous materials are necessary for properly conducted meaningful investigations. Those may be obtained by centralizing collection of data obtained in course of other investigations by various persons.