

Dzieci urodzone z zarodków przechowywanych w stanie zamrożenia przez 10 lat. Analiza 5 przypadków

Children born from frozen embryos stored for 10 years – analysis of 5 cases

Krzysztof Papis^{1,2}, Piotr Lewandowski¹, Jan Karol Wolski^{1,3}, Katarzyna Koziół¹

¹ Przychodnia Lekarska Novum, Warszawa, Polska

² Zakład Embriologii Doświadczalnej Instytutu Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN, Jastrzębiec, Polska

³ Klinika Nowotworów Układu Moczowego, Centrum Onkologii – Instytut im. M. Skłodowskiej-Curie, Warszawa, Polska

Streszczenie

W kontekście naukowej i legislacyjnej debaty dotyczącej kriokonserwacji zarodków człowieka w Polsce przedstawiamy 5 udokumentowanych przypadków wieloletniego (przez okres 8-11 lat), skutecznego przechowywania zarodków zakończonego urodzeniem dzieci przez ich biologiczną matkę lub przez matkę adopcyjną.

W opisanych przypadkach diagnozowano różne przyczyny niepłodności. Zastosowano różne metody hormonalnej stymulacji. Zamrażane były zarodki w różnych stadiach rozwoju po hodowli in vitro trwającej 2, 3 lub 4 dni, przy udziale różnych środków osłaniających. W efekcie przeprowadzonych kriotransferów urodziły się zdrowe, prawidłowo rozwinięte dzieci. Przedstawione dane potwierdzają wcześniejsze międzynarodowe doniesienia o możliwości wieloletniego przechowywania (najdłuższy znany przypadek to 19 lat) zamrożonych zarodków bez uszczerbku dla ich zdolności życiowych.

W świetle tych danych nie znajdujemy biologicznych czy medycznych przesłanek do ustawowego ograniczania okresu przechowywania kriokonserwowanych zarodków. Tym samym, skoro zamrożone zarodki nie są skazane na biologiczną degradację a ich prenatalna adopcja jest absolutnie realną możliwością, nie widzimy podstaw do prawnego ograniczania stosowania metody kriokonserwacji w leczeniu niepłodności.

Słowa kluczowe: **zapłodnienie pozaustrojowe / transfer zarodków / kriokonserwacja / transfer zamrożonych zarodków / długoterminowe przechowywanie zarodków /**

Adres do korespondencji:

Katarzyna Koziół,
Przychodnia Lekarska „nOvum”
ul. Bociania 13, 02-807 Warszawa, Polska
tel. +48 22 899 33 30, fax. +48 22 899 33 49;
e-mail: kkoziol@novum.com.pl,

Otrzymano: 16.08.2012
Zaakceptowano do druku: 10.09.2013

Krzysztof Papis, et al. Dzieci urodzone z zarodków przechowywanych w stanie zamrożenia przez 10 lat.

Abstract

Faced with a scientific and legal debate on human embryo cryopreservation in Poland we show 5 documented clinical cases of successful thawing and transfer of embryos cryopreserved for a long period of time (8-11 years), resulting in successful delivery by the biological or the recipient mother.

Cases described include different patients with different infertility diagnoses, subjected to different hormonal stimulation treatments. Different oocyte fertilization methods were performed, and the obtained embryos were frozen after 2, 3 or 4 days of in vitro culture using methods employing various cryoprotective agents and freezing curves. As a result of performed thawing and transfer procedures normal, healthy babies were born.

Our results are consistent with the international reports on successful long-term storage of embryos, (including the longest known period of over 19 years) resulting in no detectable reduction of the developmental potential after thawing.

In light of data shown here, we do not see any medical or biological reasons for legally-regulated limitation of the period of frozen embryo storage. Moreover, if frozen, long-term stored embryos are not threatened by destruction and if prenatal adoption is a real, clinically documented option, we fail to see any reason for legal limitations of embryo cryopreservation in human infertility treatment.

**Key words: in vitro fertilization and embryo transfer (IVF-ET) /
cryopreservation / frozen embryo transfer / long-term storage /**

Kriokonserwacja zarodków stosowana jest w medycynie wspomaganego rozwoju od prawie 30 lat. Pierwsze sukcesy w postaci ciąży a wkrótce potem dziecka urodzonego po transferze zamrożonych zarodków pojawiły się w latach 1983 i 1984 [1, 2]. Szacuje się, że od tej pory urodziło się na świecie ponad milion takich dzieci. Także w Polsce, wraz z rozwojem klinik zapłodnienia pozaustrojowego wprowadzono metodę zamrażania zarodków. Jako pierwsza zastosowała ją klinika Akademii Medycznej w Białymstoku. W warszawskiej Przychodni Lekarskiej „nOvum” kriokonserwację zarodków wprowadzono od początku jej działalności, tj. od 1995 r. Pierwsze dzieci (bliźnięta) pochodzące z zarodków zamrożonych w tym ośrodku w 1996 r. przyszły na świat w lipcu 1997 r. Do chwili obecnej uzyskano w „nOvum” ponad 2,5 tys. ciąż klinicznych i ponad 2,4 tys. urodzonych dzieci po transferze zarodków kriokonserwowanych.

Pomimo wieloletnich światowych i krajowych pozytywnych doświadczeń dotyczących zamrażania zarodków oraz szerokiego wykorzystywania ich kriokonserwacji w praktyce klinicznej leczenia niepłodności, w obiegu publicznym wciąż pojawiają się kontrowersje lub przynajmniej wątpliwości dotyczące zarówno skuteczności jak i potrzeby stosowania tej procedury. Tymczasem badania nad optymalnym modelem procedur zapłodnienia pozaustrojowego prowadzą do wniosku o korzystnym wpływie procedur wykorzystujących kriokonserwację zarodków i ich transfer na ogólny efekt terapeutyczny. Praktyczne stosowanie kriokonserwacji nadliczbowych zarodków (a tym samym – ograniczenie liczby zarodków „świeżych”, podawanych w cyklu stymulowanym), pozwala na uzyskanie porównywalnie wysokiego, skumulowanego odsetka ciąż i/lub urodzonych dzieci przy jednoczesnym obniżeniu odsetka ciąż mnogich [3].

Duży niepokój środowiska medycznego budzą zatem wątpliwości i wywodzące się z nich konkluzje zespołów parlamentarnych, pracujących w naszym kraju nad uregulowaniem prawnym sfery zapłodnienia pozaustrojowego.

Pojawiają się nieuzasadnione z medycznego punktu widzenia postulaty o całkowitym zakazie stosowania kriokonserwacji zarodków. Pojawiają się również wątki o konieczności limitowania okresu przechowywania zarodków w ciekłym azocie ze względu na ich pogarszającą się żywotność. Tymczasem w światowym piśmiennictwie coraz częściej spotyka się prace o nieszkodliwości długotrwałego przechowywania zarodków człowieka [4, 5, 6] jak też zarodków innych gatunków ssaków [7, 8].

Maksymalny okres przechowywania zamrożonych zarodków człowieka opisany w piśmiennictwie wynosił 19 lat i 7 miesięcy [9]. Częściej spotykane są raporty o udanym transferze zarodków przechowywanych przez okres 7-13 lat [10, 11, 12, 13, 14]. W Przychodni „nOvum” również uzyskano wiele przypadków ciąż i urodzone zdrowe dzieci rozwinięte z zarodków zamrożonych 9-11 lat wcześniej. Opis i analiza kilku z nich jest przedmiotem niniejszego opracowania.

Przypadek I

Pacjentka leczona od czerwca 2000 r. w wieku 27 lat z niepłodnością spowodowaną niedrożnością prawego jajowodu (stan po laparotomii) z towarzyszącym czynnikiem męskim. Stymulowana w długim protokole (Nafarelin, Pharmacia, WlkBrytania; Humegon, Organon, Holandia; Metrodin, Serono, Włochy; Profasi, Serono, Włochy) poddana została zabiegowi punkcji jajników, w trakcie której uzyskano 8 oocytów, w tym 7 dojrzałych (M II).

Po zapłodnieniu metodą docytoplazmatycznej iniekcji plemnika (ICSI) uzyskano 4 zarodki. Pacjentce podano w drugiej dobie hodowli 2 zarodki czterekomórkowe, z których rozwinęła się ciąża bliźniacza. W 35 tygodniu ciąży urodziły się zdrowe dwuzygotyczne bliźnięta. Pozostałe 2 czterekomórkowe zarodki zamrożono w osłonie 1,5 molowego roztworu dimetylosulfotlenku (DMSO) stosując długi okres powolnego schładzania (do -80°C). Po 9 latach i 8 miesiącach od dnia punkcji zarodki rozmrożono

Krzysztof Papis, et al. Dzieci urodzone z zarodków przechowywanych w stanie zamrożenia przez 10 lat.

z szybkością 8-10°C/min, a po usunięciu DMSO w osłonie sacharozy poddano 12-godzinnej hodowli (przez noc). W momencie transferu zarodki rozwinięte były do stadium 6 i 8 komórek. W wyniku kriotransferu w cyklu naturalnym wspomaganym podaniem HCG (Pregnyl, Organon, Holandia) w celu wywołania owulacji, uzyskano pojedynczą ciążę zakończoną w 37 tygodniu urodzeniem zdrowego dziecka (3780/56).

Przypadek II

Pacjentka w wieku 30 lat leczona w przychodni od lipca 2000 r. po 2 wcześniejszych cyklach stymulacji z rozpoznaniem niepłodności spowodowanej niedrożnością jajowodów (stan po ciąży pozamaciczej). Stymulacja wg długiego protokołu (Nafarelin, Gonal F, Serono, Włochy; Profasi).

W wyniku punkcji uzyskano 13 komórek jajowych, z których 11 wykazało cechy prawidłowego zapłodnienia (2 przedjądrza) w 18 godzin po inseminacji *in vitro*. W czwartej dobie po punkcji podano pacjentce 2 zarodki w stadium moruli, uzyskując ciążę bliźniaczą zakończoną poronieniem w 17 tygodniu. Pozostałe zarodki zamrożono w osłonie DMSO. Po ok. 6 latach rozmrożono 3 zarodki, a następnego dnia podano 1 zarodek w stadium blastocysty, drugi rozwijający się zarodek zamrożono ponownie. Trzeci zarodek nie wykazywał potencjału rozwojowego i po kilku dniach dalszej hodowli obumarł. Uzyskano pojedynczą ciążę i urodzenie zdrowego dziecka w 38 tygodniu (4000/61). Po kolejnych 4 latach pacjentkę przygotowano do kriotransferu w cyklu stymulowanym (Cytrynian Clomifenu, Egis Pharmaceuticals plc., Węgry; Pregnyl, Organon, Holandia). W marcu 2010 r. tj. w sumie po 9 latach i 8 miesiącach od punkcji, rozmrożono kolejne 3 zarodki, z których, jak poprzednio podano 1 w stadium blastocysty. Drugi zarodek zamrożono ponownie, a trzeci podobnie jak poprzednio, nie wykazywał potencjału rozwojowego. Również i w tym przypadku uzyskano pojedynczą ciążę zakończoną urodzeniem zdrowego (3800/57) dziecka w 39 tygodniu.

Przypadek III

Pacjentka w wieku 27 lat, leczona od listopada 2000 r. z powodu niepłodności spowodowanej czynnikiem męskim. Po stymulacji pacjentki w długim protokole (Gonal F, Synarel, Profasi) uzyskano w wyniku przeprowadzonej punkcji jajników 15 komórek jajowych, w tym 11 dojrzałych, które zapłodniono metodą ICSI. Plemniki do zapłodnienia uzyskano w wyniku punkcji najądrza (PESA). W toku hodowli *in vitro* uzyskano 9 rozwijających się zarodków. Wszystkie zarodki poddano kriokonserwacji (w DMSO) w trzeciej dobie po punkcji z powodu ryzyka wystąpienia u pacjentki zespołu hyperstymulacyjnego (OHSS). Pierwszy zabieg rozmrożenia zarodków przeprowadzono w 2001 r. uzyskując po podaniu 2 zarodków (w stadium 18 i ok. 12 komórek) pojedynczą ciążę zakończoną w 38 tygodniu urodzeniem zdrowego dziecka (4000/61).

Kolejne dwa zabiegi kriotransferu przeprowadzone po 8 i 9 latach i podanie w sumie 4 rozmrożonych zarodków nie przyniosły spodziewanego rezultatu. Natomiast rozmrożenie ostatniej porcji zarodków przeprowadzone w styczniu 2011 (po ponad 10 latach przechowywania) i podanie pacjentce w cyklu naturalnym zarodka dohodowanego *in vitro* do stadium wczesnej blastocysty pozwoliło na uzyskanie ciąży i po 39 tygodniach na urodzenie zdrowego dziecka (3750/60).

Przypadek IV

Trzy zarodki przekazane zostały do adopcji przez pacjentkę, która wcześniej urodziła dwoje dzieci (w tym jedno po kriotransferze). Trzydniowe zarodki zamrożone były w 2000 r. w osłonie DMSO. Dwa z nich rozmrożono w 2011 r. po jedenastu latach i 5 miesiącach od zamrożenia, poddano dwudniowej hodowli *in vitro* w wyniku której uzyskano dwie blastocysty, które podano matce adopcyjnej. Uzyskano ciążę bliźniaczą i urodzenie w 35 tygodniu zdrowych bliźniąt o prawidłowej (3300/52, 3350/55) wadze urodzeniowej. Jedenaście lat i 5 miesięcy to najdłuższy udokumentowany okres przechowywania zamrożonych zarodków w Polsce.

Przypadek V

W pierwszej połowie 2012 r. rozmrożono 3 zarodki zamrożone w 2002 r., a więc niemal 9 i pół roku wcześniej, w osłonie 1,5 molowego roztworu propandiolu z dodatkiem 0,1 molowej sacharozy. Metoda zamrażania zastosowana w tym przypadku jest metodą dwustopniową z powolnym schładzaniem z szybkością 0,3°C/min w zakresie od -7 do -30°C. Zarodki zostały przekazane do adopcji przez pacjentkę, która wcześniej urodziła własne dziecko po transferze zarodków w cyklu stymulowanym. W wyniku rozmrożenia odzyskano 1 zarodek żywy w całości i 2 zarodki, w których część blastomerów obumarła. Po transferze wszystkich 3 zarodków matce adopcyjnej uzyskano pojedynczą ciążę zakończoną urodzeniem zdrowego dziecka (4200/55).

Dyskusja

Opisane powyżej przykładowe ciążę i narodziny zdrowych dzieci po transferze zarodków zamrożonych nawet przeszło 11 lat wcześniej stanowią tylko część z 15 podobnych przypadków zarejestrowanych w dokumentacji medycznej Przychodni Lekarskiej „nOvum”. W sposób oczywisty sugerują one, że nie istnieje jednoznaczny, biologiczny mechanizm destrukcji zarodków przechowywanych przez wiele lat w ciekłym azocie. Tym samym nie ma medycznego powodu do ustalania kategoriycznych ograniczeń okresu ich przechowywania w ciekłym azocie.

Opisane przypadki pokazują również autentyczne możliwości podawania zarodków przechowywanych ponad 10 lat zarówno ich biologicznym matkom, jak i kobietom decydującym się na prenatalną adopcję zarodków. Ten drugi wariant pokazuje oczywistą szansę przeżycia tych zarodków, które z różnych powodów nie mogą być wykorzystane do transferu autologicznego. Opisane przypadki obejmują różnorodne aspekty procedur przygotowania pacjentek, metod zapłodnienia (IVF, ICSI) i przygotowania zarodków do transferu i kriotransferu. Różne były diagnozy przyczyn niepłodności w opisanych przypadkach, chociaż przeważał tzw. czynnik męski. Różne zastosowano metody stymulacji, chociaż dominował długi protokół, zgodnie z procedurą szeroko stosowaną w tamtym okresie u pacjentek dobrze odpowiadających na stymulację. Zamrażane były zarodki w różnych stadiach rozwoju po hodowli *in vitro* trwającej 2, 3 a nawet 4 dni, przy udziale różnych środków osłaniających. Zarodki po rozmrożeniu przenoszone były po ok. 12 godzinnej nocnej hodowli lub po hodowli do stadium blastocysty. W przypadku, gdy zdecydowano na kriotransfer jednego tylko zarodka, drugi, żywy, rozwijający się zarodek poddawano ponownej kriokonserwacji. Zarodki ponownie zamrażane przeżywają w stopniu proporcjonalnym do swojej pierwotnej żywotności, określonej po pierwszym rozmrożeniu

Krzysztof Papis, et al. *Dzieci urodzone z zarodków przechowywanych w stanie zamrożenia przez 10 lat.*

i mogą być z powodzeniem użyte do kolejnego kriotransferu [15, 16]. Dzieci urodzone po transferze bezpośrednim (w cyklu stymulowanym), jak i te urodzone po wieloletnim okresie przechowywania w ciekłym azocie były zdrowe i prawidłowo rozwinięte.

Analizując przedstawione dane nie znajdujemy biologicznych czy medycznych przesłanek do ustawowego ograniczania okresu przechowywania kriokonserwowanych zarodków. Uważamy ponadto, że należy wnikliwie analizować każdy przypadek rozmrażania po długoletnim okresie przechowywania, aby konsekwentnie wykazywać niezasadność wyrażanych przed laty obaw o istotne obniżanie żywotności długo przechowywanych zarodków. Konsekwencje tych obaw do dziś pokutują w ustawodawstwie niektórych krajów (np. w Wielkiej Brytanii), w których obowiązuje prawny nakaz niszczenia niewykorzystanych zarodków po np. 5 latach przechowywania. Badania powinny również uwzględniać ewentualne konsekwencje wielokrotnego ekspozowania zamrożonych zarodków na wyższe temperatury podczas wyszukiwania porcji przeznaczonych w danej chwili do rozmrożenia. Aktualne rozwiązania technologiczne nie pozwalają na przechowywanie zarodków indywidualnie, w taki sposób, aby wyjmować z ciekłego azotu tylko ten zarodek (czy zarodki), który aktualnie potrzebujemy. Zarodki każdej pacjentki zamrażane są bowiem w porcjach po 1 lub 2 w tzw. słomkach (przy mrożeniu tradycyjnym) lub po umieszczeniu na specjalnych nośnikach (przy witryfikacji). Po zamrożeniu, słomki (lub nośniki) umieszczane są na ogół w specjalnych gobletkach (o średnicy od 7 do 13 mm), które z kolei wkładane są do szerokich (np. śr. 67 mm) goblet, które na specjalnych wieszakach zanurzane są w pojemnikach zbiorczych z ciekłym azotem. Toteż wyszukując do rozmrożenia zarodki konkretnej pacjentki należy podnieść do góry całą 67 mm gobletę. Prawidłowe wyszukiwanie, prowadzone pod osłoną ciekłego azotu, a przynajmniej jego par, prowadzi do minimalnych (najwyżej kilkunastostopniowych) zmian temperatury, które nie mają wpływu na bezpieczeństwo zarodków. Przy nieprawidłowym wykonywaniu tego etapu procedury (np. ze zbyt długą ekspozycją na temperaturę pokojową), zwłaszcza powtarzanym wielokrotnie, należałoby się liczyć z ryzykiem obniżenia jakości przechowywanych embrionów czy komórek jajowych. Co nie zmienia faktu, że jakość zarodków i gamet przechowywanych prawidłowo pozostanie niezmienną.

Podsumowując, przedstawione w niniejszym opracowaniu przypadki potwierdzają wcześniejsze międzynarodowe doniesienia o możliwości wieloletniego przechowywania zarodków bez uszczerbku dla ich zdolności życiowych. W świetle tych danych nie znajdujemy biologicznych czy medycznych przesłanek do ustawowego ograniczania okresu przechowywania kriokonserwowanych zarodków. Tym samym, skoro zamrożone zarodki nie są skazane na biologiczną degradację a ich prenatalna adopcja jest całkowicie realną a nie czysto teoretyczną możliwością, nie widzimy również biologicznych ani medycznych podstaw do prawnego ograniczania stosowania metody kriokonserwacji zarodków w leczeniu niepłodności.

Oświadczenie autorów:

1. Krzysztof Papis – zaplanowanie badań, zbieranie i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu.
2. Piotr Lewandowski – zaplanowanie badań, organizacja funduszy, analiza i korekta manuskryptu.
3. Jan Karol Wolski – interpretacja wyników badań, analiza i korekta manuskryptu.
4. Katarzyna Koziół – zaplanowanie badań, zbieranie i interpretacja danych, przygotowanie manuskryptu – autor zgłaszający pracę i odpowiedzialny za manuskrypt.

Źródło finansowania:

Badania oraz publikacja wyników badań zostały w całości sfinansowane przez Przychodnię Lekarską Novum.

Konflikt interesów:

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów oraz nie otrzymali żadnego wynagrodzenia związanego z powstawaniem pracy.

Piśmiennictwo

1. Trounson A, Mohr L. Human pregnancy following cryopreservation, thawing, and transfer of an eight-cell embryo. *Nature*. 1983, 305, 707–709.
2. Zeilmaker G, Alberda A, van Gent I, [et al.]. Two pregnancies following transfer of intact frozen thawed embryos. *Fertil Steril*. 1984, 42, 293–296.
3. Kurzawa R, Kuczyński W, Pawelczyk L, Wolczyński S. Cost-effectiveness of IVF infertility treatment in different legislative settings *Ginekol Pol*. 2010, 81, 125–130.
4. Riggs R, Mayer J, Dowling-Lacey D, [et al.]. Does storage time influence post thaw survival and pregnancy outcome? An analysis of 11,768 cryopreserved human embryos. *Fertil Steril*. 2010, 93, 109–115.
5. Check J, Summers-Chase D, Yuan W, [et al.]. Length of time of embryo storage does not negatively influence pregnancy rates after thawing and transfer. *Clin Exp Obstet Gynecol*. 2010, 37, 185–186.
6. Machtinger R, Dor J, Levron J, [et al.]. The effect of prolonged cryopreservation on embryo survival. *Gynecol Endocrinol*. 2002, 16, 293–298.
7. Fogarty N, Maxwell W, Eppleston J, Evans G. The viability of transferred sheep embryos after long-term cryopreservation. *Reprod Fertil Dev*. 2000, 12, 31–37.
8. Dettlerer J, Gehring M, Maimer E, Meinecke-Tillmann S. Long-term storage of bovine embryos: birth of a calf after 22 years of cryopreservation. *Reprod Fertil Dev*. 2013, 25, 178.
9. Dowling-Lacey D, Mayer J, Jones E, [et al.]. Live birth from a frozen-thawed pronuclear stage embryo almost 20 years after its cryopreservation. *Fertil Steril*. 2011, 95, 1120.e1–e3
10. Ben-Ozer S, Vermesh M. Full term delivery following cryopreservation of human embryos for 7.5 years. *Hum Reprod*. 1999, 14, 1650–1652.
11. Go K, Corson S, Batzer F, Walters J. Live birth from a zygote cryopreserved for 8 years. *Hum Reprod*. 1998, 13, 2970–2971.
12. Quintas C, Donaldson M, Bertolino M, [et al.]. Birth of a healthy baby after transfer of embryos that were cryopreserved for 8.9 years. *Fertil Steril*. 2002, 77, 1074–1076.
13. Revel A, Safran A, Laufer N, [et al.]. Twin delivery following 12 years of human embryo cryopreservation: Case report. *Hum Reprod*. 2004, 328–329.
14. Teijon M, Serra O, Olivares R, [et al.]. Delivery of a healthy baby following the transfer of embryos cryopreserved for 13 years. *Reprod Biomed Online*. 2006, 13, 821–822.
15. Farhat M, Zentner B, Lossos F, [et al.]. Successful pregnancy following replacement of embryos previously refrozen at blastocyst stage: case report. *Hum Reprod*. 2001, 16, 337–339.
16. Smith L, Roots E, Dorsett M. Live birth of a normal healthy baby after a frozen embryo transfer with blastocysts that were frozen and thawed twice. *Fertil Steril*. 2005, 83, 198–200.

Prenatal diagnosis of Down syndrome in dizygotic twin pregnancy

Prognoza prenatalna zespołu Downa w ciąży bliźniaczej dizygotycznej

Józef Krawczyk¹, Dariusz Borowski¹, Piotr Węgrzyn¹,
Krzysztof Drews², Mirosław Wielgoś¹

¹ First Department of Obstetrics and Gynecology – Medical University of Warsaw, Poland

² Division of Perinatology and Women's Diseases – Poznan University of Medical Sciences, Poznan, Poland

Abstract

We present a case of a 33-year-old pregnant woman who had a transvaginal ultrasound performed at week 9 of gestation. A dichorionic diamniotic twin pregnancy, with symmetrically developing fetuses, was confirmed.

Chromosomal defect markers (NT, NB, DV, TV) were analyzed in the first genetic test, performed according to the Fetal Medicine Foundation (FMF) criteria, and the double marker test was performed (PAPP-A protein and free β -hCG concentrations in patient serum were determined).

In the subsequent diagnostic procedures, the patient was offered and consented to amniopuncture after week 15 of gestation. The material obtained in the course of that invasive procedure allowed to identify a normal male karyotype – 46, XY in the first fetus (Fetus I). Cytogenetic analysis of the material from the second fetus (Fetus II) resulted in the diagnosis of an abnormal female karyotype – 47, XX, +21.

Based on the analyzed clinical case, we present the difficulties of performing prenatal diagnosis in a dizygotic twin pregnancy. The results prove the applicability and efficacy of prenatal diagnostics tests based on the FMF criteria also in twin pregnancies.

Key words: **pregnancy / twin pregnancy / Down syndrome / PAPP-A protein /**

Corresponding author:

Józef Krawczyk
First Department of Obstetrics and Gynecology
Medical University of Warsaw
Starynkiewicza 1/3
02-015 Warszawa, Poland
e-mail: jozef.krawczyk@wum.edu.pl

Otrzymano: 20.02.2012
Zaakceptowano do druku: 30.09.2013