



ORIGINAL BREVE

Quimerismo hemático en gemelos dicigóticos concebidos por fertilización *in vitro*

G.Á. Martos-Moreno^{a,b,c}, C. Campos^d, R. Flores^{e,f,g}, R. Yturriaga^h, L.A. Pérez-Jurado^{e,f,g} y J. Argente^{a,b,c,*}

^a Servicios de Pediatría y Endocrinología, Instituto de Investigación La Princesa, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid, España

^b Departamento de Pediatría, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España

^c Centro de Investigación Biomédica en Red de Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBERObn), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España

^d Sección de Citogenética, Hospital Infantil Universitario Niño Jesús, Madrid, España

^e Unidad de Genética, Universitat Pompeu Fabra, Barcelona, España

^f Instituto de Investigación Hospital del Mar (IMIM), Barcelona, España

^g Centro de Investigación Biomédica en Red de enfermedades raras (CIBERER), Barcelona, España

^h Servicio de Pediatría, Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid, España

Recibido el 10 de abril de 2013; aceptado el 11 de abril de 2013

Disponible en Internet el 30 de mayo de 2013

PALABRAS CLAVE

Quimerismo;
Gemelos dicigotos;
Cariotipo

Resumen Presentamos 2 gemelos (niño y niña) concebidos tras fertilización *in vitro* (FIV). A los 8 años se efectuó cariotipo en sangre a la niña por clitoromegalia. Se detectaron 2 líneas diferentes: 46,XX (53%) y 46,XY (47%). Los estudios de FISH confirmaron la presencia del gen *SRY* en las células 46,XY. El cariotipo en sangre en el niño mostró, asimismo, 2 líneas diferentes: 46,XY (58%) y 46,XX (42%) con *SRY* presente en las células 46,XY.

El análisis de microsatélites de ADN sanguíneo reveló contribución tetraalélica de algunos loci autosómicos con proporción similar de alelos maternos y paternos, y dosis cromosómica X/Y sugerente de proporción idéntica de células sanguíneas nucleoladas quiméricas. La realización de FISH con sondas X/Y en mucosa bucal evidenció que todas las células de la niña eran 46,XX y 46,XY, las del niño. El cariotipo gonadal fue 46,XX sin presencia de *SRY*. El quimerismo 46,XX/46,XY estaba limitado a las células hemáticas.

© 2013 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Chimerism;
Dizygotic twins;
Karyotype

Blood cell chimerism in dizygotic twins conceived by *in vitro* fertilization

Abstract We present a case of hematopoietic chimerism in dizygotic twins (male and female) conceived by *in vitro* fertilization (IVF).

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: argentefen@terra.es (J. Argente).

At 8 years of age a blood karyotype was performed on the female due to the presence of clitoromegaly. Two different lines: 46,XX (53%) and 46,XY (47%) were found. FISH studies confirmed the presence of the *SRY* gene in 46,XY cells. Karyotyping of the male showed two different lines: 46,XY (58%) and 46,XX (42%). *SRY* gene was present in 46,XY cells.

Microsatellite analyses of blood DNA revealed tetra-allelic contribution at some autosomal loci with similar proportions of maternal and paternal alleles and X/Y chromosome dose. FISH in buccal mucous showed that all cells from the female were 46,XX and those from the male 46,XY. The gonadal karyotype in the female was 46,XX without *SRY*.

Hence, we report 46,XX/46,XY chimerism in dizygotic twins. Blood chimerism was confirmed by performing FISH on the buccal cells of the patients.

© 2013 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

En el «quimerismo» coexisten en el mismo organismo o individuo líneas celulares genéticamente diferentes procedentes de distintos cigotos, en contraposición al «mosaicismo», en donde las líneas celulares con diferente composición genética de un organismo provienen del mismo cigoto.

Aunque el mosaicismo es mucho más frecuente que el quimerismo, es muy importante su distinción porque se deben a fenómenos diferentes y pueden presentar riesgos clínicos distintos. Clásicamente, el quimerismo se ha supuesto debido fundamentalmente a la fecundación de 2 gametos femeninos distintos pero físicamente fusionados (como un óvulo y su corpúsculo polar) por 2 espermatozoides diferentes. En los últimos años, se ha visto que el riesgo de quimerismo aumenta de manera notable en embarazos múltiples, gemelares dicigóticos, particularmente en embarazos concebidos mediante técnicas de fertilización *in vitro*. En estos casos, el quimerismo puede ser posconcepcional, debido a la fusión de células trofoblásticas (aparente gestación monocoriónica) o a anastomosis vasculares interplacentarias que facilitan el intercambio de células (todavía embrionarias pluripotenciales) entre ambos gemelos.

Cuando el cariotipo, normalmente realizado en sangre, demuestra la existencia de una mezcla de células con 46,XX y 46,XY, debe sospecharse la posibilidad de que se trate de un quimerismo. No obstante, el riesgo de quimerismo es el mismo entre individuos del mismo género, si bien es más difícil que se llegue a sospechar, a no ser que se hicieran otros estudios genéticos más detallados que incluyan la determinación del genotipo en diversas regiones del genoma.

Ante la presencia de células con dotación cromosómica masculina (XY) y femenina (XX), es esencial valorar las características de los genitales externos e internos de estos pacientes, ya que se han descrito varones fértiles¹, mujeres fértiles² y pacientes con trastornos de diferenciación sexual^{3,4}. También se ha descrito el caso de una mujer fértil con cariotipo 46,XY y fenotipo femenino⁵.

Se presenta un caso clínico de gemelos dicigóticos con cariotipo hemático 46,XX y 46,XY, planteando la actitud diagnóstica y analizando la acción más correcta ante la niña que presentaba clitoromegalia.

Caso clínico

Se presenta a 2 gemelos dicigóticos (niño y niña). El embarazo se efectuó mediante técnicas de FIV sin inyección intracitoplasmática del esperma. Ambos nacieron a término y sin complicaciones aparentes. El peso y la longitud al nacimiento se encontraron en un percentil 50. El test de Apgar fue de 9/10 en ambos, no existiendo complicación neonatal alguna.

A la edad de 8 años, ambos prepúberes (Tanner I) son referidos al pediatra endocrinólogo para valorar la existencia de clitoromegalia en la niña.

El niño presentaba 2 gónadas en bolsas escrotales de 2 mL y un pene de tamaño normal sin pubarquía y la niña mostraba clitoromegalia (1,5 cm) con introito estrecho (fig. 1), sin telarquía ni pubarquía. La talla se situaba en +1,9 DE (acorde con talla genética) para los estándares poblacionales de acuerdo con la edad y el género.

Los estudios complementarios revelaron exámenes hematológicos y bioquímicos dentro de la normalidad.

En el cariotipo en células sanguíneas de la niña, tras el estudio de 100 metafases, se detectaron 2 líneas celulares diferentes: 46,XX (53%) y 46,XY (47%) (fig. 2A), confirmándose mediante estudios de FISH la presencia del gen *SRY* en las células 46,XY (fig. 3A y B). La realización de un cariotipo en sangre al niño, mostró, asimismo, 2 líneas diferentes con proporciones similares, 46,XY (58%) y 46,XX (42%) (fig. 2B), encontrándose el gen *SRY* presente en las células 46,XY.

Para definir si la alteración estaba restringida a la sangre o presente en otros tejidos, se efectuó también la técnica de FISH con sondas específicas de los cromosomas X e Y en células de mucosa bucal. El estudio reveló que todas las células de la niña eran XX y, todas las del niño XY (fig. 3C y D).

Los estudios hormonales indicaron normalidad en los niveles séricos de testosterona, estradiol, andrógenos suprarrenales, IGF-I e IGFBP-3. La función tiroidea fue, asimismo, normal.

El análisis de microsatélites desde ADN sanguíneo reveló una contribución tetraalélica de algunos loci autosómicos con proporción similar de alelos maternos y paternos, y dosis cromosómica X/Y indicativa de proporción idéntica de células sanguíneas nucleoladas quiméricas (fig. 4).

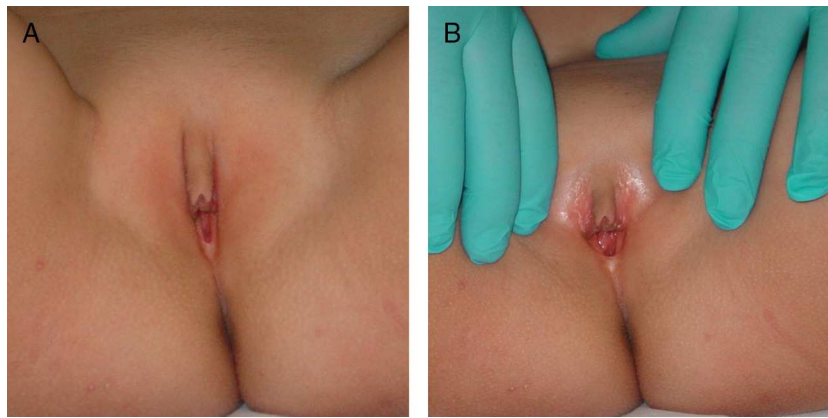


Figura 1 Clitoromegalia en la niña. A) Detalle de la clitoromegalia con capuchón alargado. B) Clitoromegalia y detalle del introito.

Para descartar disgenesia gonadal y las anomalías en la diferenciación sexual se efectuó un estudio laparoscópico con biopsia ovárica en la niña. El estudio reveló unos ovarios, trompas y útero prepuberales y de aspecto normal. Mediante FISH se comprobó que el 100% de las células estudiadas tenía una dotación XX, no encontrándose presente el gen *SRY*.

Discusión

El hallazgo de mezcla de células 46,XX y 46,XY en el estudio cromosómico de un paciente requiere identificar si dicha mezcla celular está presente en todo el organismo o únicamente en el tejido analizado, usualmente la sangre, como en esta pareja de gemelos. Para ello es menester analizar el cariotipo u otros estudios moleculares que permitan

identificar la dotación gonosómica en células de otro origen tisular no hematopoyético. Mediante la técnica de FISH en las células de la mucosa bucal demostramos que la dotación cromosómica era XX en el 100% de las células de la niña y XY en el 100% de las células del niño.

Junto a ello, el análisis de microsatélites de ADN sanguíneo ayuda a entender el origen del quimerismo y ratifica la cigosidad de los gemelos. La demostración de una contribución tetraalélica de algunos loci autosómicos con proporción similar de alelos maternos y paternos, y dosis cromosómica X/Y indica que ambos gemelos son claramente dicigóticos y descarta la posibilidad de sesquicigosis, la fertilización de un óvulo ya dividido de manera partenogenética en 2 células por 2 espermatozoides diferentes. En la sesquicigosis la dotación alélica máxima es de 3, 2 paternos y uno materno. Además, la determinación de una proporción idéntica de

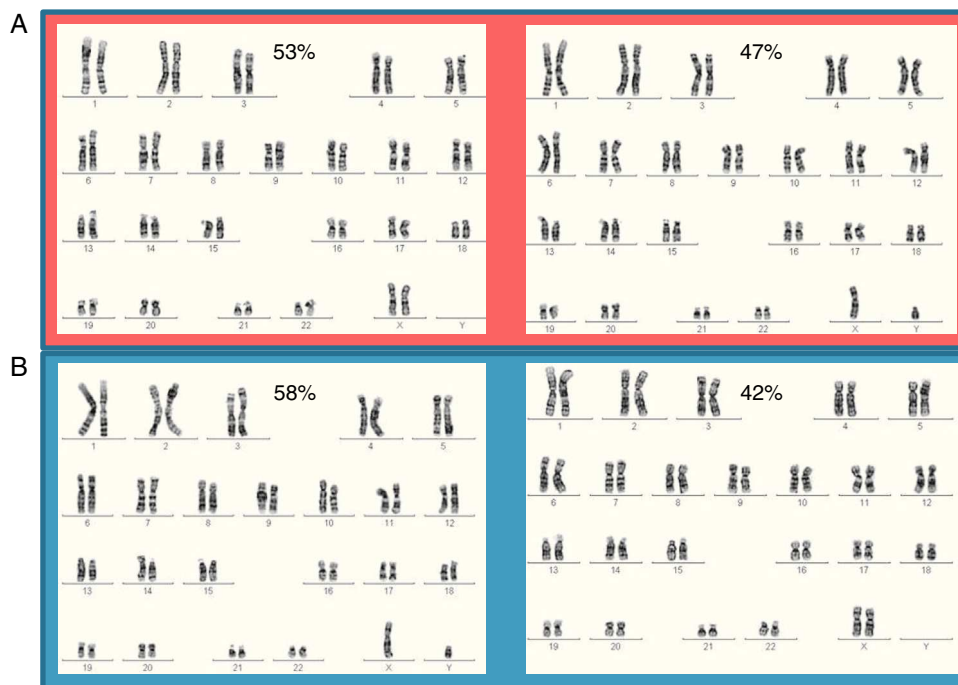


Figura 2 A) Cariotipo en sangre periférica en la niña. B) Cariotipo en sangre periférica en el niño.

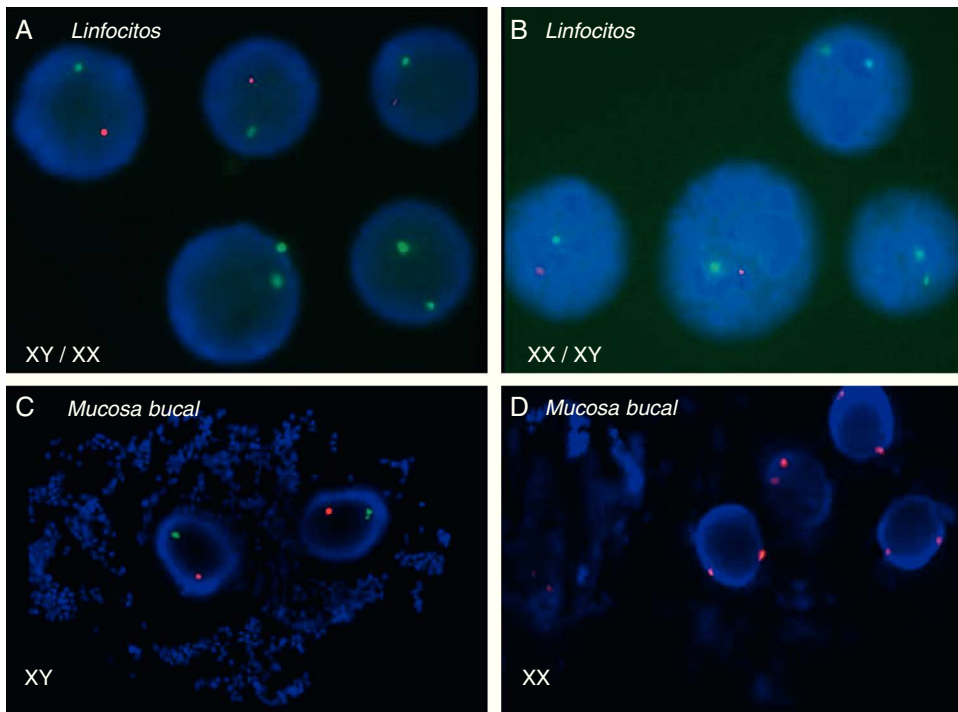


Figura 3 Técnica de FISH en núcleos en interfase de linfocitos de sangre periférica (A en niño y B en niña). La sonda del cromosoma X está marcada en verde y la del Y en rojo. Nótese que en ambos se aprecian células con puntos rojos y verdes (XY) y células con dos puntos verdes (XX). En la parte inferior, se emplea la misma técnica, pero en células de mucosa bucal; sin embargo, en este caso está cambiado el color de las sondas (rojo el X y verde el Y). El 100% de las células en el varón son XY (C), mientras que el 100% de las células en la niña son XX (D).

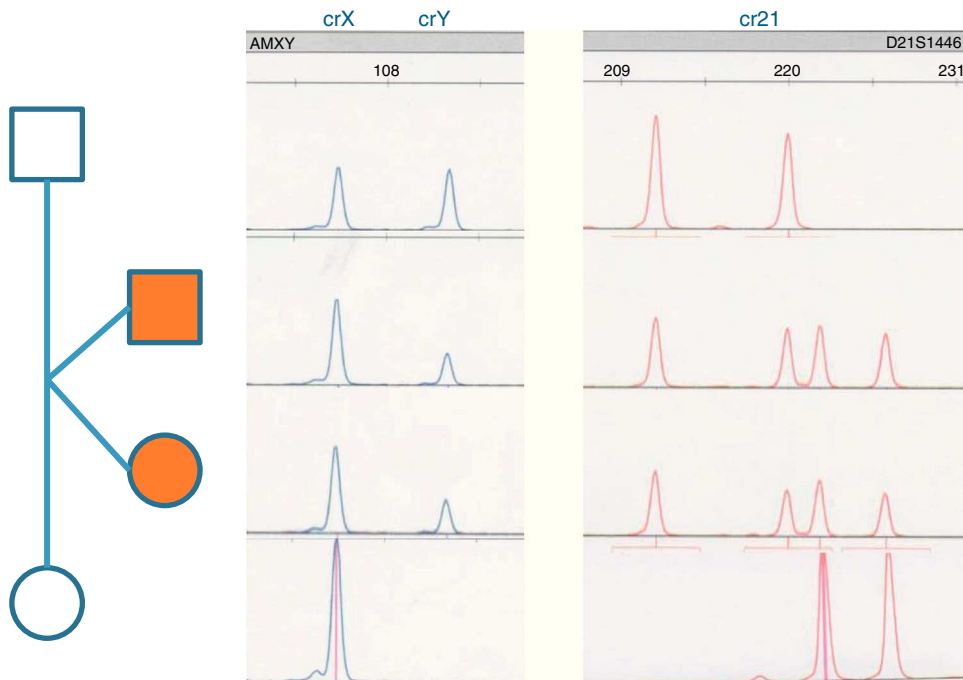


Figura 4 Genotipificación de microsatélites desde ADN de sangre periférica. Se aprecia en ambos hermanos la existencia de alelos maternos y paternos con igual proporción probablemente en todos los tipos celulares, tanto en marcadores de los cromosomas sexuales (crX: cromosoma X; crY: cromosoma Y) como en marcadores autosómicos (cr21: cromosoma 21: ejemplo con 4 alelos diferentes).

alelos sugiere la existencia de quimerismo en todas las células sanguíneas nucleoladas y, por tanto, de origen en células madre hematopoyéticas.

El quimerismo corporal total se ha descrito en varones fértiles normales¹, en mujeres fértiles normales² y en pacientes con anomalías de diferenciación sexual^{3,4}. Por consiguiente, es esencial efectuar un examen completo de los genitales externos e internos cuando se aprecia un quimerismo en el cariotipo sanguíneo. Nuestra paciente presentaba clitoromegalia, lo que puede representar una expresión menor de una anomalía en la diferenciación sexual. Por este motivo, para descartar disgenesia gonadal y/o anomalías en la diferenciación sexual con la presencia de células con dotación diferente de cromosomas sexuales^{3,4}, se efectuó un estudio laparoscópico con biopsia gonadal. Dicho estudio permitió confirmar la normalidad morfológica de los genitales internos y las gónadas en la niña, así como un cariotipo gonadal de 46,XX en el 100% de las células estudiadas, no encontrándose presente el gen *SRY*. Por tanto, aunque existe un signo clínico de posible alteración en la diferenciación sexual, parece no relacionado con el quimerismo, dado que no se objetivaron trastornos de diferenciación sexual ni presencia de cromosoma Y en la gónada. Será preciso evaluar el inicio, el desarrollo y la finalización de la pubertad en ambos pacientes y, especialmente en la niña, para comprobar que puede desarrollar la pubertad *per se* y ser una mujer fértil.

Hemos confirmado la existencia de quimerismo confinado a tejido hematopoyético en estos gemelos dicigóticos, con ausencia de quimerismo en la mucosa bucal y el ovario de la niña. Dicho quimerismo puede ocurrir por la transferencia de células madre hematopoyéticas entre los fetos vía una placenta común (fusión de blastocistos) o por anastomosis placentarias más tardías: «*síndrome de transfusión gemelo-gemelo*», con precursores que se implantan en las médulas óseas respectivas.

Aunque bastante infrecuente en gestaciones naturales, para algunos autores el quimerismo hemático puede ser más frecuente de lo que se considera, sobre todo en gestaciones tras FIV⁶, probablemente porque la mayoría de ellos no son diagnosticados. Aunque la mayoría de los casos se han demostrado en gemelos que aparentan compartir placenta (monocoriónicos)⁷⁻⁹, alguno se ha descrito en gestaciones gemelares dicoriónicas¹⁰.

En resumen, presentamos un caso clínico de quimerismo 46,XX/46,XY confinado al sistema hematopoyético en gemelos dicigóticos concebidos mediante FIV. La existencia de clitoromegalia nos planteó estudios adicionales para detectar la existencia de algún trastorno de la diferenciación sexual, por ahora descartado.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Schoenle E, Schmid W, Schinzel A, Mahler M, Ritter M, Schenker T, et al. 46,XX/46,XY chimerism in a phenotypically normal man. *Hum Genet.* 1983;64:86-189.
2. Gencik A, Genciková A, Hrubisko M, Mergancová O. Chimerism 46,XX/46, XY in a phenotypic female. *Hum Genet.* 1980;55:407-8.
3. Souter VL, Parisi MA, Nyholt DR, Kapur RP, Henders AK, Oheim KE, et al. A case of true hermaphroditism reveals an unusual mechanism of twinning. *Hum Genet.* 2007;121:179-85.
4. Berger-Zaslav AL, Mehla L, Jacob J, Mercado T, Gadi I, Tepperberg JH, et al. Ovotesticular disorder of sexual development (true hermaphroditism). *Urology.* 2009;73:293-6.
5. Sudik R, Jakubiezka S, Nawroth F, Gilberg E, Wieacker PF. Chimerism in a fertile woman with 46,XY karyotype and female phenotype. *Hum Reprod.* 2001;16:56-8.
6. Van Dijk BA, Boomsma DI, de Man AJ. Blood group chimerism in human multiple births is not rare. *Am J Med Genet.* 1996;61:264-8.
7. Williams CA, Wallace MR, Drury KC, Kipersztok S, Edwards RK, Williams RS, et al. Blood lymphocyte chimerism associated with IVF and monochorionic dizygous twinning: case report. *Hum Reprod.* 2004;19:2816-21.
8. Ekelund CK, Skibsted L, Søgaard K, Main KM, Dziegiel MH, Schwartz M, et al. Dizygotic monochorionic twin pregnancy conceived following intracytoplasmic sperm injection treatment and complicated by twin-twin transfusion syndrome and blood chimerism. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2008;32:832-4.
9. Souter VL, Kapur RP, Nyholt DR, Skogerboe K, Myerson D, Ton CC, et al. A report of dizygous monochorionic twins. *N Engl J Med.* 2003;349:154-8.
10. Jang JH, Jung H, Kim JH, Park WS, Kim SH. Blood chimerism in a dizygotic dichorionic pregnancy. *Korean J Lab Med.* 2010;30:521-4.