Estudio genético en gemelos

Vera Daher N.¹; Ronald Youlton R.¹; Julio Nazer H.²; Lucía Cifuentes O.³

Genetic studies in twins

During the period June 1987 - January 1988, 35 consecutive pairs of twins born at two maternity hospitals in the northern area of Santiago were studied to search evidence of genetic or other factors which could eventually favour twinning. Sixteen of these pairs were considered to be monozygotic (MZ) after studying five blood group systems (ABO, Rh, MNSs, Duffy and Kidd) applying the method of Smith and Penrose. Maternal age was higher in dizygotic twins (DZ) than in the MZ group (average 30.1 yrs. v/s 26.8 yrs, respectively ($p < 0.05$)). Family history of twinning was positive in 73% of the MZ and in 82% of the DZ twins. The Duffy and Kidd systems were not in Hardy-Weinberg equilibrium due to a deficit of heterozygotes in MZ as well as in DZ twins. There was a significant increase in MS and Ms haplotypes in both groups of twins respect to the Chilean general population ($p = 0.01$). These results suggest the presence of a genetic determinant that favors the production of twinning of DZ as well as MZ type. A larger number of cases will be required to test this hypothesis.

(Key words: twins, dizygotic, monozygotic, maternal age, family history, blood groups, genetic studies.)

F. Galton, en 1876, fue el primero en recopilar observaciones en gemelos y obtener información sobre la participación de la herencia y del ambiente en las diferencias individuales¹.

El estudio del posible origen zigótico de los gemelos, que denominaron zigocidad, en una población determinada, se realiza con la finalidad de tener mejor conocimiento en ella de las frecuencias de gemelaridad, marcadores genéticos, polimorfismos y de la relación que pudiese existir entre la incidencia de gemelaridad con ciertos factores genéticos y no genéticos²⁻⁴.

Los gemelos se estudian y se clasifican basándose en el sexo, marcadores genéticos y tipos de placenta. En forma genérica se les clasifica como idénticos o monozigóticos (MZ) y fraternos o dizigóticos (DZ). En el caso de los MZ, la frecuencia es aproximadamente de 1/250 nacimientos; ellos son producidos por la fertili-

zación de un solo óvulo por un espermio, pero donde el huevo resultante se divide posteriormente en dos, que desarrollan cada uno un feto con idéntica composición genética. Los mellizos fraternos (DZ) son dos veces más comunes que los idénticos y son productos de doble ovulación, caso en que cada óvulo es fertilizado por distintos espermios, formándose dos fetos que genéticamente son como dos típicos hermanos^{3, 5-7}. Otras formas de gemelaridad han sido descritas, pero son de rara ocurrencia³.

El origen monozigoto no puede ser establecido con certeza absoluta en gemelos idénticos (MZ), pero se puede calcular su probabilidad utilizando el método de Smith y Penrose u otros similares⁸⁻¹⁰.

Diversos factores influyen en la incidencia de gemelaridad, algunos de los cuales son bien conocidos para los DZ, pero son un enigma para los MZ²⁻⁵.

La finalidad de este trabajo fue determinar las proporciones de MZ y DZ entre gemelos nacidos consecutivamente en maternidades de Santiago Norte, analizar ciertos posibles factores determinantes, discutir la relación de éstos con la incidencia de gemelaridad y comparar las frecuencias génicas de diversos grupos sanguíneos de los gemelos con las de una experiencia previa del área Norte de Santiago¹¹.

1. Servicio de Genética, Departamento de Medicina. Hospital Clínico José Joaquín Aguirre. Universidad de Chile.
2. Unidad de Neonatología, Departamento de Obstetricia y Ginecología. Hospital Clínico José Joaquín Aguirre. Universidad de Chile.
3. Departamento de Biología Celular y Genética. Facultad de Medicina. Universidad de Chile.

Material y Método

En el período entre junio de 1987 y enero de 1988, en el Servicio de Genética del Hospital Clínico José Joaquín Aguirre, de la Universidad de Chile, se realizó un estudio prospectivo de zigocidad en gemelos, para lo cual se consideraron, en forma consecutiva, 35 pares de gemelos nacidos en ese período en las maternidades del mismo hospital (19 pares) y del hospital San José, del Ministerio de Salud (16 pares).

Se confeccionó una ficha especial que contenía información del recién nacido; historia obstétrica de la madre (número de hijos, edad y sexo de cada uno), método anticonceptivo empleado previamente; identificación y nivel socioeconómico de los padres (edad, ocupación, raza, antecedentes de consanguinidad); antecedentes de gemelos en la familia (para lo cual se confeccionó la genealogía).

A partir de una muestra de sangre obtenida del cordón umbilical sin anticoagulantes, se realizó tipificación en los siguientes grupos sanguíneos: ABO, Rh (CDEce), MNSs, Duffy a, Duffy b, Kidd (Jka, Jkb). Se utilizó, para cada determinación, un panel de glóbulos rojos estándar para controlar la calidad de los antisueros.

Se estimó la zigocidad de los gemelos considerando el sexo y los diversos grupos sanguíneos y se les clasificó como DZ y MZ. Se utilizó el método de Smith y Penrose para calcular la probabilidad de ser MZ⁸ y prueba de Z para determinar la significación estadística DZ vs. MZ para los antecedentes de gemelos en la familia y el método anticonceptivo empleado previamente por las madres. La influencia de las edades materna y paterna para la ocurrencia de DZ vs. MZ se evaluó mediante prueba de t. Las frecuencias genéticas de los sistemas ABO, Rh y MNSs se estimaron a través del método de máxima verosimilitud. En el caso de los sistemas Duffy y Kidd la estimación se hizo directamente a partir de la muestra. Se evaluó la existencia de equilibrio Hardy Weinberg en cada sistema sanguíneo mediante prueba de ji cuadrado (χ^2).

Se compararon las frecuencias genéticas de los distintos grupos sanguíneos de los gemelos MZ y DZ con las descritas por una experiencia previa en población general de la misma área de salud¹¹.

Resultados

De los 35 pares de gemelos estudiados, 25 tenían igual sexo y de éstos, 16 iguales grupos sanguíneos; a este último grupo se le calculó la probabilidad de ser MZ, resultando en todos mayor o igual a 99%, por lo que fueron clasificados como gemelos idénticos de origen mono-zigotos. Los restantes 9 pares del mismo sexo fueron distintos en los grupos sanguíneos. Otros diez pares tenían distinto sexo; de éstos, 4 eran iguales en los grupos sanguíneos y 6 distintos. Por lo tanto, 19 pares de gemelos resultaron ser

distintos en sexo o grupos sanguíneos o ambos, clasificándolos como dizigotos de origen.

De los 16 pares de gemelos MZ, 8 tenían sexo femenino (F) y 8 masculino (M). Entre los 19 pares DZ, 10 eran de distinto sexo y 9 del mismo (4 F, 5 M).

El conjunto de la muestra de gemelos fue homogéneo desde el punto de vista de condición socioeconómica y étnica.

El antecedente de uso de anticonceptivos hormonales antes del embarazo múltiple estaba presente en 56,2% de los MZ y en 50% de los DZ, lo que no mostró significación estadística ($p > 0,05$).

La media de la edad de los padres en los MZ fue de 31,5 años y los DZ 30 años, lo que tampoco tiene significación estadística. Sin embargo, la media de la edad de las madres en los MZ fue de 26,8 años y en los DZ 30,1 años, diferencia para la cual la prueba de t dio 1,675 (33 gl), significativo al 5% ($p < 0,05$) (figura).

Al comparar las curvas MZ y DZ en la figura, los DZ muestran una cúspide de frecuencia en el rango de edad de las madres entre 30 y 40 años, mientras en los MZ el mayor número (68%) se da en el rango de 25 a 29 años de edad materna.

El antecedente de gemelos en la familia se registró en 73% de los pares MZ y 82% de los DZ. En ambos tipos de gemelos predominó el antecedente por línea materna: 9/16 (56%) en los MZ y 13/19 (68%) en los DZ.

En la tabla 1 se aprecian las frecuencias genéticas de los grupos sanguíneos estudiados en las muestras de gemelos MZ y DZ y de la población del área norte de Santiago previamente descrita. Ellas fueron similares en los tres conjuntos de sujetos para los sistemas ABO, Rh, Duffy y Kidd. Sin embargo, las frecuencias haplotípicas para el sistema MNSs, fueron estadísticamente diferentes ($\chi^2=21,69$, $p=0,01$) y obedecen a mayor frecuencia de MS y Ms en los gemelos, especialmente los DZ.

Los dos grupos de gemelos MZ y DZ están en equilibrio de Hardy-Weinberg para los sistemas ABO, Rh y MNSs. En el caso del sistema Duffy, tanto los gemelos MZ y DZ se alejan significativamente del equilibrio, debido a escasez de heterocigotos (tabla 2). Para el sistema Kidd ocurre algo similar: los gemelos se alejan del equilibrio de Hardy-Weinberg debido a gran deficiencia de heterocigotos, especialmente los DZ en que la carencia de éstos es total (tabla 3).

Figura: Distribución de la edad materna en 16 pares de gemelos monozygotos y 19 pares de gemelos dizygotos.

Tabla 1
Estudio de gemelos (frecuencias génicas)

	Monozygotos	Dizygotos	A. Norte
Sistema ABO			
A	0,2069	0,1895	0,1724
B	0,0638	0,0268	0,0580
O	0,7293	0,7837	0,7696
n:	32	38	65.309
Sistema Rh			
CDe	0,4063	0,5263	0,5001
cDE	0,2813	0,2368	0,2259
cde	0,3125	0,2368	0,2192
n:	32	38	1.429
Sistema MNSs			
MS	0,1752*	0,2771*	0,1378*
M _s	0,3873	0,4993*	0,3873*
NS	0,0435	0,0256	0,0927
N _s	0,3939	0,1981	0,3820
n:	32	38	258
Sistema Duffy			
FY (a)	0,5938	0,6053	0,5213
FY (b)	0,4062	0,3947	0,4787
n:	32	38	684
Sistema Kidd			
JK (a)	0,4583	0,5333	0,4615
JK (b)	0,5417	0,4667	0,5385
n:	24	30	182

* Prueba de χ^2 DZ vs. área Norte
MZ vs. área Norte significativo $p = 0,01$
DZ vs. MZ

n = total individuos.

Frecuencias fenotípicas del sistema Duffy en gemelos monozigotos y dizigotos

* Indica déficit de heterozigotos.

Obs. = observado.

Esp. = esperado.

Frecuencias fenotípicas del sistema Kidd en gemelos monozygotos y dizigotos

Obs. = observado.

Esp. = esperado.

* = déficit de heterozigotos.

Los factores más conocidos que pueden predisponer a la ocurrencia de gemelos DZ son: la edad materna, el grupo étnico, el antecedente de gemelos en la familia y factores tales como uso de anticonceptivos hormonales, fertilización *in vitro* y métodos de inducción de ovulación²⁻⁵. En el caso de los gemelos MZ los factores condicionantes aún no están claros y no hay evidencias de aspectos genéticos que los determinen^{3, 5, 6}.

Si bien la mayoría de los MZ son genéticamente idénticos y tienen el mismo cariotipo, se han descrito casos en que éste es diferente^{3, 8, 12, 13} como, por ejemplo, un gemelo

con cariotipo normal y el otro con monosomía X (45, X); u otro con un cromosoma X adicional (XXY), o bien una anomalía estructural del cromosoma 18 (del 18,) hechos que son explicables por no disyunción o deleción cromosómica postzigótica^{3, 12}.

Los agentes inductores de ovulación aumentan la incidencia de gemelos DZ. Se ha descrito que también aumentarían la frecuencia de los MZ⁴; la explicación para este último fenómeno continúa siendo especulativa. Hasta el momento los otros factores que influyen en el aumento de incidencia de los DZ, no estarían relacionados con la producción de MZ, por lo que ambos grupos son considerados distintos, en cuanto al mecanismo por el que ocurren. En este estudio

hemos analizado algunos factores usando una muestra de gemelos DZ y MZ homogénea en cuanto a grupo étnico y nivel socioeconómico.

El método de Smith y Penrose empleado para la determinación de la zigocidad⁸ con los marcadores genéticos utilizados, da grados de certeza superiores a 99% para la monozigocidad, lo que consideramos suficiente para nuestro propósito.

El hecho de que no hubiese diferencias significativas en el uso de anticonceptivos hormonales entre las madres de gemelos MZ y DZ podría ser explicable por la alta frecuencia con que éstos son utilizados por la población.

La mayor edad materna observada en los gemelos DZ coincide con lo descrito en diversos grupos étnicos^{2, 3}.

La relación de los DZ con la edad materna fue reconocida por Weinberg en 1901² y podría ser explicada por el aumento de la hormona folículo estimulante (FSH) observada a edades avanzadas⁷. La sobreestimulación hormonal sería la responsable de la ovulación múltiple, tal cual ocurre en los tratamientos de inducción de ovulación^{4, 6}.

La incidencia máxima de gemelos MZ en el grupo etario 20 a 29 años guarda, en cambio, estrecha relación con la proporción de partos a la misma edad en nuestro país¹⁴.

La concentración de nacimientos de gemelos en ciertas familias también fue reconocida por Weinberg², asimilándola a un modelo de herencia multifactorial. El antecedente de gemelos en la familia en nuestra serie se presentó con una frecuencia mayor de 70% en ambos grupos, predominando el antecedente por línea materna. Una alta frecuencia repetitiva de gemelos en una familia, no implica que la gemelaridad sea un rasgo heredable, más bien sugiere que las madres de gemelos tendrían una constitución genética que las haría más susceptibles a responder frente a ciertos agentes externos que les provocasen, por ejemplo, ovulaciones múltiples^{2, 3, 6}. El antecedente de gemelos a través de la línea materna, observado en nuestros casos MZ, no lo hemos encontrado descrito en la literatura revisada.

En los sistemas sanguíneos de MZ, DZ y la población general del área norte de Santiago, se encontraron mayores frecuencias génicas de los haplotipos MS y Ms en los gemelos, especialmente en los DZ.

El alejamiento para los sistemas Duffy y Kidd, del equilibrio de Hardy-Weinberg, observado en

ambos tipos de gemelos, se explica por deficiencia de heterozigotos, y tampoco lo hemos encontrado descrito en la literatura.

Nuestros resultados inducirían a pensar en la existencia de un mecanismo genético de control o producción de gemelaridad que actuaría tanto para los MZ como para los DZ. Sin embargo, estos resultados, por lo reducido de la muestra, no son concluyentes. Pretendemos continuar con este estudio ampliando nuestra muestra para confirmar o rechazar esta hipótesis.

Resumen

Durante el período junio 1987 a enero 1988 se estudiaron en forma consecutiva 35 pares de gemelos nacidos en dos maternidades de hospitales del área Norte de Santiago, con el propósito de buscar evidencia de factores genéticos que eventualmente influyen en las posibilidades de gemelaridad, comparando las frecuencias génicas de diversos grupos sanguíneos entre gemelos monozigóticos, mellizos dizigóticos y controles de una misma área geográfica. Dieciséis de ellos fueron considerados monozigóticos (MZ) después del estudio de cinco sistemas de grupos sanguíneos (ABO, Rh, (C, D, E, c, e), MNSs, Kidd, Duffy), aplicando el método de Smith y Penrose. La edad materna fue más alta en los mellizos dizigóticos (DZ), que en los monozigóticos ($\bar{x}$ = 30,1 años vs. 26,8 años, respectivamente). La historia familiar de gemelaridad fue positiva en 73% de MZ y 82% de DZ. Los sistemas Duffy y Kidd no estaban en equilibrio de Hardy-Weinberg, debido a déficit de heterozigotos para dichos caracteres entre los MZ y también los DZ. Se encontraron significativamente aumentados los haplotipos MS y Ms en ambos grupos de mellizos con respecto a una población general de la misma área geográfica. Estos resultados sugieren la presencia de un determinante genético que favorece la producción de gemelaridad de DZ como también de MZ. Se requeriría un mayor número de casos para probar esta hipótesis.

(Palabras clave: gemelos, dizigotos, monozigotos, grupos sanguíneos).

Referencias

1. Becker, P.E.: *Genética humana*. Barcelona: Ediciones Toray S.A. 1968; 10-85.

2. *Settn Curt.*: Principles of human genetics. Second Edition. San Francisco and London: Freeman and Company 1960; 530-573.
3. *Thompson, J.; Thompson, M.*: Genetics in Medicine. Fourth Edition, Philadelphia: W.B. Saunders Company 1986; 273-280.
4. *Deron, C.; Deron, R.; Vlietinck, R.; Van Derberche, H.; Thiery, M.*: Increased monozygotic twinning rate after ovulation induction. *Lancet* 1987; 1: 1236-1238.
5. *Ghat, V.; Vidyasagar, D.*: Morbidity and mortality factors in twins. Twin pregnancy. *Clin Perinatol* 1988; 15: 123-140.
6. *Vogel, F.; Motulsky, A.*: Human Genetics. Second Edition Heidelberg: Springer Verlag 1986; 205-212.
7. *Atkinson, D.*: Frequency dizygotic twinning. *Nature* 1986; 322: 780.
8. *Smith, S.M.; Penrose, L.S.*: Monozygotic and dizygotic. Twin diagnosis. *Ann Hum Genet* 1955; 19: 273-289.
9. *Valenzuela, C.*: Programa general para calcular la probabilidad de dizigosis en sistemas genéticos multialélicos. *Rev Med Chile* 1980; 108: 1143-1146.
10. *Cruz-Coke, R.; Armanet, L.; Lyng, C.; Valenzuela, C.*: Tabla chilena para el diagnóstico de zigocidad en gemelos. *Rev Med Chile* 1980; 108: 605.
11. *Cifuentes, L.; Valenzuela, C.; Cruz-Coke, R.; Armanet, L.; Lyng, C.; Harb, Z.*: Caracterización genética de la población hospitalaria de Santiago. *Rev Med Chile* 1988; 116: 28-33.
12. *Flannery, D.; Holsman, G.*: Prenatal resting and twinning. *Clin Genet* 1985; 28: 180-182.
13. *Uchida, J.; Freenan, V.*: Triploidy and chromosomes. *Am J Obstet Gynecol* 1985; 1: 65-69.
14. *Anónimo.* Instituto Nacional de Estadística, Santiago, Chile, 1983.