

Gestación gemelar monocigótica tras transferencia de un único embrión proveniente de un ciclo de Diagnóstico Genético Preimplantacional

Monozygotic twinning pregnancy after a single embryo transfer from a Preimplantational Genetic Diagnosis (PGD) cycle

Sandra González¹, José L. De Pablo¹, María J. Martínez-Cañavate¹, Matorras Roberto^{1,2}.

¹Instituto Valenciano de Infertilidad. Bilbao. Vizcaya. ²Universidad del País Vasco.

Resumen

La gestación múltiple, y más aquella que se produce tras una técnica de reproducción asistida, es uno de los temas que más interés despierta en los últimos tiempos. Su repercusión a nivel tanto perinatal como socioeconómico, ha dado lugar a la necesidad de diseñar estrategias para reducir su frecuencia.

Dentro de la gestación múltiple cobran especial interés los gemelos monozigóticos por lo desconocido de su etiología.

Diferentes técnicas utilizadas en reproducción asistida, como es la transferencia de embriones en estadio de blastocisto, o la micromanipulación de la zona pelúcida embrionaria, han sido propuestas como causas que explicarían el aumento en la aparición de gemelos monocigóticos tras tratamientos de reproducción asistida.

Presentamos el caso de una pareja sometida a un ciclo de Diagnóstico Genético Preimplantacional por edad materna, con transferencia de un único embrión, después del cual se objetiva la presencia de una gestación gemelar intraútero.

Palabras Clave: Esterilidad. Gestación múltiple. Gemelos monocigóticos. Diagnóstico genético preimplantacional.

Summary

Multiple pregnancy, and more that one that takes place after assisted reproduction, is one of the topics that causes more interest in the last times. Its repercussion goes to perinatal and socioeconomic, has given place to the need of design strategies to reduce his frequency.

Inside multiple pregnancy monozygotic twinning receive special interest for the stranger of his aetiology.

Correspondencia: Dra. Sandra González Lopera
Instituto Valenciano de Infertilidad Bilbao.
Paseo Landabbarri 1 Planta Principal
48940 Leioa
Vizcaya.
sagonzalez@ivi.es

Different technologies used in assisted reproduction, as it is the blastocyst transfer, or the micromanipulation of the zona pellucida, have been proposed as reasons that would explain the increase of the monozygotic twinning after treatments of assisted reproduction.

In this case report we describe a twinning pregnancy after a single embryo transfer from a cycle of PGD.

Key Words: Sterility. multiple pregnancy. monozygotic twinning. preimplantational genetic diagnosis.

INTRODUCCIÓN

La gestación múltiple, y más aquella que se produce tras una técnica de reproducción asistida, es uno de los temas que más interés despierta en los últimos tiempos tanto dentro de la Obstetricia como en el terreno de la Reproducción Asistida. Son bien conocidas las importantes repercusiones perinatales, maternas, sociales y económicas del embarazo múltiple. En este sentido se han diseñado diversas estrategias para reducir la frecuencia de embarazo múltiple tras la fecundación in vitro (FIV), basándose todas ellas en una reducción del número de embriones a transferir, ya que la frecuencia de embarazo múltiple está en relación con el número de embriones transferidos (1).

Respecto al embarazo gemelar debe diferenciarse no obstante entre el monocigótico ó visigótico según se origine en uno ó dos óvulos. Los gemelos monozygóticos (GMZ) son genéticamente idénticos aunque, excepcionalmente, se han publicado informes sobre gemelos monocigóticos heterocariotípicos (2).

Dado que los GMZ proceden de un mismo embrión transferido, no pueden ser erradicados ni con la transferencia selectiva de un único embrión. Ello es de especial trascendencia ya que los GMZ tienen una morbimortalidad embrionaria, fetal y neonatal muy superior a la de los gemelos dicigóticos. Así la mortalidad perinatal en los GMZ es 5 veces mayor que en los monocigóticos, habiéndose llegado a describir una mortalidad perinatal del 500 por mil en los gemelos monocoriales monoamnióticos.

En reproducción asistida en la actualidad existe una tendencia a una disminución en la frecuencia de los gemelares dicigóticos (como consecuencia de la disminución del número de embriones que se transfieren), asociada a un incremento de los monocigóticos, si bien mucho menor cuantitativamente, presumiblemente secundario a las técnicas de micromanipulación (3).

La aparición en gestaciones espontáneas de GMZ

se estima en un 0,4% de todos los recién nacidos vivos.

Estas gestaciones suelen ser diagnosticadas sobre la semana 6-7 de gestación mediante la realización de una ecografía en la que se evidencia la presencia de un único saco dentro del cual se identifican más de un embrión (monoamniótico-monocoriónico) o como dos sacos amnióticos con un embrión dentro de cada uno (biamniótico-monocoriónico) o bien como dos sacos separados por un septo (biamniótico-bicorial) que suponen la tercera parte de los GMZ (4).

Las técnicas de FIV han aumentado el número de este tipo de gestaciones, siendo esta asociación de gran interés clínico. Edwards y cols. fueron los primeros en sugerir que la incidencia de GMZ se encuentra aumentada en los casos de FIV (5).

Alikani y cols. estiman que el 1,88% de todas las gestaciones resultantes de transferencia embrionaria tras FIV bien en fresco o tras criopreservación embrionaria son diagnosticadas como GMZ, siendo únicamente el 10% bicoriales (6), aunque, según los autores, la frecuencia de este tipo de gestaciones, bien tras FIV convencional ó bien tras microinyección espermática intracitoplasmática (ICSI), se estima entre el 1,2 y el 8,9% (7-9).

La etiología de este tipo de gestaciones así como de su incremento debido a las técnicas de FIV no ha sido claramente establecida, aunque se han descrito varios factores que favorecerían su aparición entre los que se describen tanto el cultivo prolongado como el hatching asistido (2). Otros autores han otorgado un mayor protagonismo en la génesis de GMZ a los tratamientos con gonadotropinas inherentes a la FIV-ICSI que a las técnicas de micromanipulación (10). Factores como la historia familiar, la raza, la paridad u otros factores ambientales que han sido asociados a la presencia de gemelos dicigóticos no parecen afectar a la aparición de GMZ.

En este caso clínico describimos una gestación gemelar tras la transferencia de un único embrión pro-

veniente de un ciclo de Diagnóstico Genético Preimplantacional (DGP).

CASO CLÍNICO

Presentamos el caso de una pareja que consulta en Marzo de 2005 por una esterilidad secundaria de 5 años de evolución. Entre sus antecedentes destacaba una gestación espontánea que terminó en un aborto espontáneo a las 6 semanas y una segunda gestación con parto por cesárea electiva de un varón sin problemas al nacimiento tras un tratamiento de Fecundación in Vitro (IVF) en el año 2000 en otro centro con transferencia de 4 embriones tras fracaso de 6 ciclos de Inseminación Intrauterina Homóloga.

Posteriormente en 2004 realizan otro tratamiento de FIV esta vez con transferencia de 3 embriones sin gestación.

El estudio de esterilidad puso de manifiesto unos genitales internos normales, un BMI de 24,64 y una hormonas basales de: FSH 7,3 Estradiol 29 y LH 3,9. El semen presentaba una astenoteratozoospermia con 20 millones de espermatozoides/mL, 20% tipo B y un 2% de espermatozoides normales según criterios de Kruger.

Dada la edad de la mujer al consultar en nuestro centro (42 años) se decide hacer un tratamiento de Diagnóstico Genético Preimplantacional (DGP).

Tras una estimulación de 11 días de duración en ciclo con antagonistas (Cetrotide®) con una dosis total de 2250 UI de FSH recombinante (Gonal®) y 750 UI de LH recombinante (Luveris®) y tras haber alcanzado unos niveles de Estradiol el día de la hCG (Ovitrelle®) de 1451; se obtienen en punción-aspiración folicular bajo anestesia 6 ovocitos, de los cuales 5 son Metafase II, fecundando 3 de ellos correctamente tras inyección intracitoplasmática (ICSI). La fecundación es estudiada a las 17-20 horas del ICSI y el desarrollo embrionario se observa cada 24 horas. Los embriones son cultivados en medio IVF/CCM (1/1) (Vitrolife®), Göteborg, Sweden) hasta el tercer día de desarrollo y posteriormente en medio CCM hasta día 5, momento en que se realiza la transferencia embrionaria.

La biopsia embrionaria es llevada a cabo en el tercer día de desarrollo. La zona pelúcida se perfora utilizando tecnología láser (OCTAX®), Herbrón, Germany). Solo los embriones con 5 blastómeras nucleadas y 25% de fragmentación son biopsiados (en este caso fueron 2 embriones los que cumplían estos criterios) y se obtienen 1 ó dos blastómeras de cada embrión dependiendo del número de células de

éstos. Las blastómeras se fijan de manera individual bajo microscopio invertido.

Los embriones euploides (en este caso únicamente uno) son transferidos intraútero en el quinto día de desarrollo.

La prueba de embarazo se realiza en sangre a los 16 días de la punción folicular siendo positiva. La primera ecografía se hace a las 5 semanas + 1 día de amenorrea objetivándose un único saco gestacional intraútero de 4 mm con reacción decidual y anejos sin hallazgos. A las 7 semanas + 1 día de amenorrea se ven dos sacos intra útero uno de ellos de 13x10 mm, vesícula vitelina de 3,5 mm y embrión de 5,4 mm con latido cardíaco positivo y el segundo saco 12,3 x 11,8 con vesícula vitelina de 4 mm y embrión de 5,1 mm con latido cardíaco positivo. El embarazo transcurre con normalidad hasta la semana 29ª de gestación y el parto se realiza por cesárea a las 31 semanas siendo el resultado 2 niñas de 1600 y 1400 gramos respectivamente. En el momento de la redacción de este artículo (24 meses tras el parto), ambas niñas tienen una evolución favorable, salvo la presencia de una hidrocefalia leve en una de ellas.

DISCUSIÓN

La etiología de los GMZ no ha sido claramente establecida hasta la fecha aunque la explicación más aceptada es que estas gestaciones provienen de la división o duplicación de la masa celular interna en el estadio de blastocisto conservando o no un único trofoectodermo lo que daría lugar a GMZ mono o bicoriales.

En cuanto a la etiología de los GMZ dentro de un ciclo de IVF varios factores han sido descritos. A parte de la propia inducción de la ovulación (11) se ha sugerido que las condiciones del cultivo embrionario podrían ser responsables del aumento de la tasa de gemelos monocigóticos por aumento del fenómeno de apoptosis en las células embrionarias (12). Durante el proceso de la eclosión la apoptosis induce la separación de la masa celular interna en dos masas celulares internas lo que da lugar a los GMZ. También se encuentra a debate el papel de la zona pelúcida (ZP) en este proceso y, fundamentalmente de la micromanipulación de la misma durante los procedimientos de FIV (13) habiéndose relacionado la realización de un hatching asistido con el aumento en la tasa de GMZ en varios estudios realizados hasta la fecha (14,15). El hatching asistido consiste en la realización de un pequeño orificio en la ZP de un embrión mediante una manipulación química, mecánica o con

láser. Estas técnicas vienen siendo desarrolladas en los últimos 15 años para elevar la tasa de implantación fundamentalmente en casos de pobre pronóstico. Hay trabajos que indican que la aparición de MZT tras procedimientos de hatching asistido son más del doble que en aquellos tratamientos de IVF en los que no se realiza hatching asistido (16).

La transferencia de embriones en estadio de blastocisto también se ha relacionado con la aparición de MZT (17,18) lo que sugiere que la nueva generación de medios de cultivo existentes en el mercado o los nuevos protocolos de cultivo podrían afectar la adhesión intercelular facilitando la duplicación de la masa celular interna (19) o bien estar asociados a alteraciones de la ZP y del proceso de hatching (20). En el caso clínico que tratamos coinciden la micromanipulación de la zona pelúcida así como el cultivo prolongado hasta estadio de blastocisto como factores predisponentes de la aparición de una gestación gemelar monocigótica.

La búsqueda bibliográfica usando la base de datos MEDLINE no ha dado resultados para otros casos de gemelos monocigóticos tras DGP, por lo que a nuestro entender, este es el primer caso clínico que se reporta. Ello puede ser debido a lo infrecuente de su presentación, o bien a que los autores no hayan concedido especial importancia al procedimiento de PGD como hipotético factor favorecedor del GMZ. A nuestro modo de ver sí que debe reseñarse ya que el PGD tiene una serie de aspectos diferenciados del "assisted hatching" puesto que no solo nos limitamos a hacer un pequeño orificio en la ZP sino que extraemos 1 ó 2 blastómeros del embrión quedando éste con un menor número de células para su desarrollo posterior.

Para tender el mecanismo por el cual se producen GMZ deberíamos de esforzarnos en establecer la cigosidad de todos los gemelos de igual sexo concebidos mediante técnicas de reproducción asistida. Presumiblemente en los años venideros se lleven a cabo estudios encaminados a conocer cuales son exactamente los factores causales de este incremento de las GMZ en reproducción asistida, para intentar su subsanación y de este modo disminuir aún más la tasa de embarazo gemelar en FIV, ya que hoy por hoy el porcentaje atribuible a la GMZ es "irreductible".

BIBLIOGRAFÍA

1. **Matorras R, Matorras F, Mendoza R, Rodríguez M, Remohí J, Rodríguez-Escudero FJ, Simon C.:** The implantation of every embryo facilitates the chances of remaining embryos to implant in an IVF pro-

- gramme: a mathematical model to predict pregnancy and multiple pregnancy rates. *Hum Reprod* 2005; 20:2923-2931.
2. **Schmidt R, Sobel EH, Nitowsky HM, Dar H, Allen FH.:** Monozygotic twins discordant for sex. *J Med Genet* 1976; 13:64-68.
3. **Jansen R.:** Dizygotic and monozygotic twinning after IVF. *Austr New Zeal J Obstet Gynaecol* 2006; 46:S17-S18.
4. **Kos M, Miskovic B, Kurjak A, Latin V.:** Embarazo múltiple: valoración ecográfica precoz. *Ecografía en Medicina materno-fetal*. Kurjak A, Carrera JM. Ed Masson, 2001.
5. **Edwards RG, Mettler L, Walters DEJ.:** Identical twins and in vitro fertilization. *J In Vitro Fertil. Embryo Transf* 1986; 3:114-117.
6. **Alikani M, Cekleniak NA, Walters E, Cohen J.:** Monozygotic twinning following assisted conception: an analysis of 81 consecutive cases. *Human Reprod* 2003; 9:1937-1943.
7. **Hershlag A, Paine T, Cooper GW, Scholl GM, Rawlinson K, Kvapil G.:** Monozygotic twinning associated with mechanical assisted hatching. *Fertil Steril* 1999; 71:144-146.
8. **Sills E, Rosenwaks Z, Moomjy M, Zaninovic N, Veck McGee LL, Palermo GD.:** Human zona pellucida micromanipulation and monozygotic twinning frequency after IVF. *Hum Reprod* 2000; 15:890-895.
9. **Abusheika N, Salha O, Sharma V, Brinsden P.:** Monozygotic twinning and IVF/ICSI treatment: a report of 11 cases and review of literature. *Hum Reprod Update* 2000; 6:393-396.
10. **Schachter M, Raziell A, Friedler S, Strassburger D, Bern O, Ron-El R.:** Monozygotic twinning after assisted reproductive techniques: a phenomenon independent of micromanipulation. *Hum Reprod* 2001; 16:1264-1269.
11. **Derom C, Vlietinck R, Derom R, Van den Berghe H and Thiery M.:** Increased monozygotic twinning rate after ovulation induction. *Lancet* 1987; 1:1236-1238.
12. **Cassuto G, Chavrier M, Menezo Y.:** Culture conditions and not prolonged culture time are responsible for monozygotic twinning in human in vitro fertilization. *Fertil Steril* 2003; 80:462-463.
13. **Alikani M, Noyes N, Cohen J, Rosenwaks Z.:** Monozygotic twinning in the human associated with the zona pellucida architecture. *Hum Reprod* 1999; 13:1318-1321.
14. **Slotnick RN, Ortega JE.:** Monoamniotic twinning and zona manipulation: a survey of U.S., IVF centers correlating zona manipulation procedures and high-risk twinning frequency. *J Assist Reprod Genet* 1996; 13:381-385.
15. **Hershlag A, Paine T, Cooper GW.:** Multiple gesta-

tion and monozygotic twins associated with mechanical assisted hatching. *Fertil Steril* 1999;71; 144-146.

16. **Schieve LA, Meikle SF, Peterson HB, Jeng G, Burnett NM, Wilcox LS.:** Does assisted hatching pose a risk for monozygotic twinning in pregnancies conceived through in vitro fertilization?. *Fertil Steril* 2000; 74:288-294.
17. **Da Costa ALE, Abdelmassih S, De Oliveira FG, Abdelmassih V, Abdelmassih R, Nagy ZP, Balmaceda JP.:** Monozygotic twins and transfer at the blastocyst stage after ICSI. *Hum Reprod* 2001; 16:333-336.
18. **Milki AA, Jun S, Hinckley MD, Behr B, Giudice LC, Westphal LM.:** Incidence of monozygotic twinning with blastocyst transfer compared to cleavage-state transfer. *Fertil Steril* 2003; 79:503-506.
19. **Van Langendonck A, Wyns C, Godin A, Toussint-Demylle D, Donnez J.:** Atypical hatching of a human blastocyst leading to monozygotic twinning : a case report. *Fert Ster* 2000; 74:1047-1050.
20. **Da Costa ALE, Abdelmassih S, de Oliveira FG, Abdelmassih V, Abdelmassih R, Nagy AP, Balmaceda JP.:** Monozygotic twins and transfer at the blastocyst stage after ICSI. *Hum Reprod* 2001; 6:333-336.