

# GEMELOS CON DIFERENTES PADRES: PRIMER CASO DESCRITO EN COSTA RICA

I. Sanou, G. Núñez, A. Rodríguez, M. Espinoza y L. González

Unidad de Genética Forense, Sección de Bioquímica, Complejo de Ciencias Forenses, Poder Judicial de Costa Rica, San Joaquín de Flores, Heredia, Costa Rica  
[asodeme@racsa.co.cr](mailto:asodeme@racsa.co.cr)

## RESUMEN

Se conoce como superfecundación heteropaternal (SFH) al fenómeno por el cual se da origen al nacimiento de gemelos de diferente padre, como producto de la fertilización de dos óvulos con semen de dos contactos sexuales diferentes. En este artículo se describe el primer caso de SFH demostrado en Costa Rica utilizando la detección de microsatélites STR del ADN en el estudio de un caso de paternidad. Para la definición de los perfiles genéticos se utilizó la extracción del ADN con Chelex®, la amplificación mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), de 19 marcadores STR y la amelogenina como marcador de sexo y la detección por electroforesis capilar y electroforesis en acrilamida seguida por tinción de plata. El análisis de los diferentes marcadores permitió, por un lado, señalar al presunto padre como el padre biológico de uno de los gemelos (con una probabilidad de 99,999966426477%) y, por el otro, excluirlo en 9 de los 19 marcadores y así descartar su paternidad con relación al segundo niño. La combinación de la naturaleza altamente polimórfica de los marcadores STR y de la capacidad de ampliarlos por PCR y amplificarlos por electroforesis capilar, brindan a estos procedimientos un incomparable poder discriminatorio para la resolución de casos como el de SFH aquí descrito.

**Palabras clave:** ADN, marcadores STR, pruebas paternidad, superfecundación heteropaternal, gemelos dicigóticos

## ABSTRACT

Heteropaternal superfecundation (HSF) refers to the fertilization of two ova by sperm from different coitus; the result is twins from different fathers. We describe the first case of HSF detected in Costa Rica by using STR microsatellite technology. For the definition of genetic profiles, DNA was extracted with Chelex and 19 STR markers (and amelogenin as sex marker) and amplified by PCR; amplicons were detected by capillary electrophoresis in an ABI 310 genetic analyzer. STR genetic profiling enabled the incrimination of the defendant as the biological father of one of the twins (probability of paternity 99,999966426477 %), and excluded him as the biological father of the second twin in 9 out of 19 markers tested. In summary, genetic profiling using a combination of STR of highly polymorphic markers, PCR amplification and capillary electrophoresis detection, has an incomparable discriminatory power for medico-legal purposes.

**Key words:** DNA, STR markers, paternity testing, heteropaternal superfecundation, dizygotic twins.

Estadísticas recientes muestran que se ha producido, a nivel mundial, un incremento de embarazos múltiples, condicionado por diferentes factores (tratamientos hormonales, fertilización *in vitro*, embarazos en mujeres a edad más tardía con mayor posibilidad de ovulaciones dobles, entre otros). Datos publicados por la Organización Mundial de la Salud en 1998 indican que en 1 de cada 85 embarazos se da origen a un alumbramiento gemelar <sup>(1)</sup>. A

su vez, del total de partos gemelares el 70 % corresponde a embarazos dicigóticos (fecundación de dos oocitos por dos espermatozoides) que originan los llamados gemelos fraternos, o bivitelinos, mientras un 30% corresponden a embarazos monocigóticos (fecundación de un óvulo por un espermatozoide y subsiguiente división en dos o más embriones completos), cuyo producto son los llamados gemelos idénticos o univitelinos.

A pesar de tratarse de un evento raro, varias autores <sup>(2,3,4,5)</sup> han confirmado la posibilidad de que, como consecuencia del fenómeno de superfecundación (la fertilización de dos óvulos con esperma de dos contactos sexuales diferentes), se produzcan gemelos dicigóticos con diferente padre, dando origen a la llamada superfecundación heteropatema (SFH). El fenómeno fue inicialmente comprobado por Terasaki y colaboradores en 1978 mediante la tipificación de antígenos de histocompatibilidad <sup>(6)</sup>. Se ha sugerido que este evento más que nuevo está siendo y será descrito cada vez con mayor frecuencia gracias a la disponibilidad actual de métodos moleculares que explotan, a partir del ADN, el enorme potencial de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR); su aplicación posibilita la identificación certera de perfiles genéticos utilizando marcadores polimórficos altamente confiables para la individualización de las personas de prácticamente cualquier grupo étnico.

Se presenta aquí el primer caso de gemelos dicigóticos de diferentes padres detectado en Costa Rica y demostrado mediante la identificación de microsatélites STR (repeticiones cortas en tándem) del ADN.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En el año 2001, se recibió en la Sección de Bioquímica del Departamento de Ciencias Forenses (BQM/DCF) del Poder Judicial de Costa Rica una solicitud para estudios por marcadores genéticos como parte de la disputa de paternidad de una pareja de gemelos varones.

El caso fue tramitado de acuerdo con los protocolos de rutina establecidos en la Unidad de Genética Forense, los cuales implican, brevemente: toma de una muestra de sangre capilar sobre papel de filtro a todas las partes en el orden establecido en el protocolo de trabajo del laboratorio, extracción del ADN con Chelex y determinación de los microsatélites STR por PCR, para los loci VWA, D8S1179, TPOX, FGA, D5S818, D13S317, D7S820, D16S539, CSF1PO, PENTA D, D3S1358, TH01, D21S11, D18S51, PENTA E, LPL, F13 B, FESFPS, F13A01 y la amelogenina como marcador de sexo.

La amplificación se realizó en un termociclador Perkin Elmer 9600 utilizando los sistemas *Gene Print<sup>®</sup> Power Plex* y *F13A01, FESFPS, F13B, LPL* de Promega, de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Los productos amplificados se separaron utilizando el analizador ABI PRISM<sup>®</sup> 310 y electroforesis en acrilamida desnaturalizante, seguida por tinción con solución de plata.

Los genotipos se asignaron utilizando el software *ABI Genotyper<sup>®</sup>*. El análisis estadístico se realizó con un programa gentilmente donado por el Dr. A. Carracedo, del Instituto de Medicina Legal de la Universidad de Santiago de Compostela, España.

## RESULTADOS

Los genotipos identificados en los individuos investigados se muestran en la Tabla 1.

Internacionalmente se acepta que 3 o más marcadores genéticos que excluyen al supuesto padre descartan su paternidad con relación al presunto hijo.

El análisis de las diferencias de los marcadores identificados permitió señalar al presunto padre como el padre biológico del gemelo 1 con una probabilidad de paternidad de 99,999966426477 %, la cual de acuerdo con los predicados de Hummel corresponde a una paternidad práctica y científicamente probada. A su vez, los resultados con 9 de los 19 marcadores evaluados (TPOX, D13S317, D16S539, D3S1358, D18S51, Penta E, F13B y F13A01), condujeron a la exclusión del presunto padre y a descartar su paternidad con relación al gemelo 2.

## DISCUSIÓN

En el presente reporte se describe el primer caso de superfecundación heteropatema detectado en Costa Rica mediante la utilización de microsatélites STR del ADN.

Aunque el nacimiento de un gemelo blanco y uno mulato en una mujer que en 1810 admi-

**Tabla 1**  
**Genotipos de los gemelos, la madre y el supuesto padre**

| Sistema            | Supuesto padre | Madre | Gemelo 1 (*) | Gemelo 2 (*)         |
|--------------------|----------------|-------|--------------|----------------------|
| <b>Amelogenina</b> | X/Y            | X/X   | X/Y          | X/Y                  |
| <b>1. VWA</b>      | 15/17          | 15/16 | 15/16        | 15/16                |
| <b>2. D8S1179</b>  | 13/15          | 13/15 | 13/15        | 15/15                |
| <b>3. TPOX</b>     | 8/11           | 9/11  | 9/11         | 9/9 <sup>(E)</sup>   |
| <b>4. FGA</b>      | 21/24          | 22/24 | 22/24        | 22/24                |
| <b>5. D5S818</b>   | 11/13          | 11/12 | 11/12        | 11/11                |
| <b>6. D13S317</b>  | 13/14          | 8/10  | 8/13         | 8/12 <sup>(E)</sup>  |
| <b>7. D7S820</b>   | 10/12          | 8/13  | 10/13        | 10/13 <sup>(E)</sup> |
| <b>8. D16S539</b>  | 10/13          | 10/10 | 10/13        | 10/12 <sup>(E)</sup> |
| <b>9. CSF1PO</b>   | 11/11          | 11/12 | 11/11        | 11/12                |
| <b>10. PENTAD</b>  | 10/14          | 14/15 | 14/14        | 14/14                |
| <b>11. D3S1358</b> | 15/17          | 15/15 | 15/17        | 15/16 <sup>(E)</sup> |
| <b>12. TH01</b>    | 6/8            | 7/9   | 6/7          | 8/9                  |
| <b>13. D21S11</b>  | 29/33,2        | 29/30 | 30/33.2      | 29/30                |
| <b>14. D18S51</b>  | 12/15          | 12/15 | 12/15        | 11/15 <sup>(E)</sup> |
| <b>15. PENTA E</b> | 13/14          | 7/12  | 7/14         | 12/12 <sup>(E)</sup> |
| <b>16. LPL</b>     | 10/12          | 10/11 | 11/12        | 10/10                |
| <b>17. F13B</b>    | 10/10          | 6/8   | 8/10         | 6/9 <sup>(E)</sup>   |
| <b>18. FESFPS</b>  | 11/11          | 10/12 | 11/12        | 11/12                |
| <b>19. F13A01</b>  | 6/7            | 6/7   | 6/6          | 3.2/6 <sup>(E)</sup> |

(E)=Exclusiones

(\*) En el orden usado en el protocolo de trabajo del laboratorio

tió haber tenido relaciones con dos individuos distintos en un corto período de tiempo parece ser el primer caso reportado de SFH, el desarrollo de las diferentes metodologías y el descubrimiento de diversos marcadores genéticos ha permitido identificar, concluyentemente, la doble paternidad en varios casos reportados en la literatura<sup>(2,3,4,5)</sup>. James<sup>(7)</sup> ha estimado que la incidencia de SFH en mujeres caucásicas norteamericanas es de un par en cada 400 partos gemelares, mientras que Wenk y colaboradores<sup>(8)</sup> reportan que la prevalencia de gemelos dicigóticos con padres diferentes es de 1 caso en cada 13000 casos de paternidad. Aunque no existen datos específicos al respecto en Costa Rica, el presente es el único caso detectado en la Sección BQM/DCF en un total de 4594 Investigaciones de paternidad realizadas entre enero de 1998 y diciembre de 2002.

Interesantemente, estudios en colonias de chimpancés<sup>(9)</sup> revelan que la tasa de SFH en estos animales es muy similar a la de los humanos. A la vez, sin embargo, en chimpancés, por un lado, los gemelos dicigóticos son 2 veces más frecuentes que en los humanos y, por el otro, las ovulaciones dobles y las SFH son 2.8 y 16 veces respectivamente más frecuentes en estos primates. Todavía no ha sido propuesta una explicación para dichos hallazgos ni su relevancia evolutiva. James<sup>(7)</sup> ha señalado que la incidencia de SFH podría ser significativamente más alta en determinados grupos humanos dependiendo de múltiples factores (tasas de infidelidad, ejercicio de la prostitución) a los que podrían agregarse otros de reciente introducción en nuestra sociedad, como la disponibilidad creciente de tratamientos hormonales para promover la fecundación

o la manipulación genética. Algunos reportes <sup>(1)</sup> señalan, por ejemplo, que las mujeres sometidas a procedimientos de fertilización *in vitro* enfrentan un riesgo 20 veces mayor de un embarazo gemelar y 400 veces mayor de un embarazo de mayor orden que las mujeres sin ningún tipo de manipulación genética.

La naturaleza altamente polimórfica de los marcadores STR, compuestos de secuencias repetidas de 2 a 7 pares de bases que las hacen adecuadas para el análisis por PCR, brindan a estas metodologías un altísimo poder discriminatorio, razón por la cual constituyen herramientas fundamentales de apoyo en la resolución de casos legales (sobre todo de paternidad) y forenses en prácticamente todo el mundo <sup>(10)</sup>. En el caso aquí reportado fue posible excluir al supuesto padre como padre biológico de uno de los gemelos, a la vez que se estableció, con una altísima probabilidad (99,999966426477%) su relación con el otro. Al mismo tiempo, el análisis de los perfiles genéticos confirmó la relación de la madre con ambos gemelos, con lo cual se descarta la posibilidad de un eventual intercambio accidental de uno de los niños en el lugar de nacimiento.

Un reporte reciente de Geada y colaboradores <sup>(2)</sup> pudo establecer, en forma casi indiscutible, la presencia de SFH en un caso en que incluso uno de los gemelos era portador de una mutación paterna en uno de los marcadores STR (ACTBP2). Hallazgos como este confirman aún más el poder discriminatorio de los análisis de microsatélites STR de ADN en disputas de paternidad y su importancia en las investigaciones médico-legales como la que se presenta en este reporte. Dichos procedimientos están disponibles en la Unidad de Genética Forense del Complejo de Ciencias Forenses desde 1998 para que su ya demostrado potencial pueda ayudar a la resolución de diferentes casos dentro del sistema judicial del país.

#### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Concepción Morelli y José Peraza por su invaluable colaboración en la toma y procesamiento de las muestras.

#### BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. Current Practices and Controversies in Assisted Report on a Meeting on Medical, Ethical and Social Aspects of Assisted Reproduction. World Health Organization 2002 en: [www.who.int/reproductive-health/infertility/23.pdf](http://www.who.int/reproductive-health/infertility/23.pdf). Accesado noviembre 2003.
2. Geada H, Ribeiro T, Brito RM, Espinheira R, Rolf B, Hohoff C and Brinkman B.A STR mutation in a heteropaternal twin case. *Forensic Sci Int* 2001; 123 (2-3):239-242.
3. Girela E, Lorente JA, Alvarez Jc, Rodrigo MD, Lorente M and Villanueva E. Indisputable double paternity in dizygous twins. *Fertil Steril* 1997 Jun; 67 (6): 1159-61.
4. Lorente J A *et al.* Double paternity in twins. *Progress in Forensic Genetics 7*. B. Olaisen, B. Brinkman and P J Lincoln (Editors) 1998 Elsevier Science B. V. p.117-119
5. Lebeau-Le Guiner S *et al.* Two fathers for twin sisters. *International Congress Series* 2000; 1239:933-937
6. Terasaki PI, Gjertson D, Bernoco D, Perdue S, Mickey MR, Bond J. Twins with two different fathers identified by HLA. *N Engl J Med* 1978; 299: 590-592.
7. James WH The incidence of superfecundation and of double paternity in the general population. *Acta Genet Med Gemellol* (Roma) 1993; 42 (3-4): 257-62.
8. Wenk RE, Houtz T, Books M, Chiafari FA. How frequent is heteropaternal superfecundation? *Acta Genet Med Gemellol* 1992; 41:43-47.
9. Ely J, Izar K, Keeling M E, Lee D R y Frels WI. Genetic Evidence of Multiply-Sired Dizygotic (DZ) Twins in a Captive Chimpanzee (*Pan Troglodytes verus*). Twenty-Fifth Meeting of the Am. Soc. Primatologists. June 4, 2002
10. Rudin N, Inman K. (2002). *An Introduction to Forensic DNA Analysis*. 2nd Ed. CRC Press, Florida p. 21-39.