

# Estudio bioquímico y genético de la enfermedad trofoblástica gestacional\*

Antonio J. Bermúdez<sup>1</sup>, C. Cortés<sup>1,2</sup>, Luis E. Díaz<sup>2</sup>, C. Crane<sup>1</sup>, R. Ching<sup>1</sup>, M. Aragón<sup>3</sup>, M. Cantero<sup>2</sup>, Y. Bernal<sup>2</sup>, C. Alava<sup>3</sup>, C. Arteaga<sup>3</sup>, C. Anzola<sup>2</sup>, S. Carrasco-Rodríguez<sup>2</sup>, M. Sánchez-Gómez<sup>2\*</sup>

## Introducción

Numerosas investigaciones han demostrado que los factores IGF-I e IGF-II son potentes mitógenos para una amplia variedad de tipos celulares. Son reguladores importantes del ciclo celular y de eventos anti-apoptóticos, por lo cual sus efectos se han asociado con tumorigénesis y desarrollo de varios tipos de cáncer en el humano (LeRoith y Roberts, 2003).

La enfermedad trofoblástica gestacional (ETG) comprende un espectro de tumores interrelacionados surgiendo de un desarrollo anormal del tejido trofoblástico. Esta enfermedad varía desde benigna como la mola hidatidiforme (completa y parcial) hasta maligna como el coriocarcinoma (WHO, 1983). La mola hidatidiforme constituye aproximadamente el 80% de los tumores trofoblásticos, es el producto de la concepción caracterizado por hiperplasia trofoblástica y degeneración hidrópica de las vellosidades. La forma clásica denominada mola completa no presenta tejido embrionario, en tanto la parcial se asemeja más a una placenta normal con restos de tejido fetal (Ezpeleta y López, 2002).

La tasa de incidencia de la mola por regiones varía mucho, en Colombia según datos recogidos en el Instituto Materno Infantil entre los años 1960 a 1996 es de 1 en 300 partos, ubicando al país por encima del promedio mundial (1 en 1000 partos) y más cerca

de las regiones con mayor incidencia: México (1 en 200), Taiwán (1 en 100) e Indonesia (1 en 77) (Cortés y cols, 2003). De esta tasa, entre el 10 y 20% sufre transformación maligna, en coriocarcinoma, uno de los tumores más agresivos.

El impacto que tienen en la mayoría de los países las complicaciones gineco-obstétricas como la mola, ha llevado al desarrollo de diversas investigaciones, aunque los mecanismos moleculares involucrados en la patogénesis de la mola se desconocen en su mayor parte (Li, Tsao, Cheung, 2001). En Colombia son pocos los estudios adelantados con el fin de abordar el conocimiento de la enfermedad, su incidencia y factores de riesgo. La presente investigación de enfoque multidisciplinario, presenta los resultados del estudio realizado en las ciudades de Bogotá y Zipaquirá donde se discuten aspectos socioculturales, clínicos, genéticos, bioquímicos y epidemiológicos de la mola hidatidiforme y las condiciones para su diagnóstico preciso.

## Población de estudio

Esta investigación presenta una aproximación multidisciplinaria de un estudio clínico y experimental, basada en la población captada mediante un programa de Vigilancia de Enfermedades Trofoblásticas de la Gestación, adelantado en hospitales y clínicas de Bo-

\* **NOTA DEL EDITOR:** Se han mantenido el lenguaje, terminología y redacción de los trabajos originales. Ellos son de responsabilidad exclusiva de sus autores.

<sup>1</sup> Laboratorio de Genética, Instituto Nacional de Salud.

<sup>2</sup> Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.

<sup>3</sup> Departamento de Ginecología, Instituto Materno Infantil.

\* Correspondencia:

Myriam Sánchez de Gómez

Grupo de Investigación en Hormonas, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

email: [mysanchezd@unal.edu.co](mailto:mysanchezd@unal.edu.co)

Tel. 316 5000 ext 14466

gotá y una de Cundinamarca. El estudio se llevó a cabo en ocho instituciones hospitalarias (niveles II, III y IV – Hospital Occidente de Kennedy, Hospital La Victoria, Hospital Simón Bolívar, Hospital San Blas, Hospital El Tunal, Hospital San José, Instituto Materno Infantil y Hospital Regional San Juan de Dios de Zipaquirá-) seleccionadas por conveniencia. Se escogieron estas instituciones de alta complejidad para su zona de influencia siguiendo el criterio que atendieran partos en forma permanente, que hicieran parte de la vigilancia y que aceptaran participar en el estudio, permitiendo el acceso a las historias clínicas de las pacientes con mola hidatidiforme y a las estadísticas hospitalarias.

Los casos de mola estudiados corresponden a 86 ingresos hospitalarios sucesivos registrados entre enero de 2003 a junio de 2005, que cumplieron los siguientes criterios de inclusión: mujeres en edad fértil con diagnóstico clínico de mola, que fueron atendidas y reportadas en una de las ocho instituciones donde se llevaba a cabo la vigilancia, y que aceptaran participar voluntariamente en la investigación de acuerdo al consentimiento informado establecido. Se definió como casos de mola a las pacientes que ingresaron a las instituciones con un cuadro clínico compatible con mola hidatidiforme, diagnóstico que debería ser comprobado por medio de ecografía y/o niveles elevados de  $\beta$ -HCG respecto a los esperados para la edad gestacional. A las mujeres y a sus cónyuges se les informó sobre el estudio y se firmó consentimiento informado en todos los casos, de acuerdo a lo estipulado en la Resolución No. 008430 del Ministerio de Protección Social, por la cual se fijan las normas éticas para la investigación con seres humanos. De acuerdo con esta resolución, el estudio puede considerarse como de riesgo mínimo. Todos los procedimientos que se aplicaron fueron realizados de acuerdo a las guías de los comités de ética de las instituciones vinculadas al proyecto (INS, UNC, IMI) y de la aprobación de algunos hospitales, después de la revisión y aprobación del proyecto.

## Resultados

### Análisis Genético

Se incluyeron 140 mujeres que ingresaron a los hospitales con sospecha de mola hidatidiforme. A partir de la base de datos de la vigilancia de ETG se clasificaron los casos en 4 categorías: mola completa, mola parcial, aborto no molar y no conclusivo, dependiendo del acuerdo de los criterios clínicos, de patología y análisis de polimorfismos de ADN microsatélite o Short Tandem Repeats (STR) (Butler, 2003). Se excluyeron 54 casos por no tener resultados de STRs, quedando los casos cuya clasificación se muestra en la Tabla 1.

De las 73 pacientes estudiadas la mayoría estuvo entre 20 y 39 años siendo las adolescentes el 39.7%. Se encontró diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.01$ ) entre las edades para los grupos de mola (com-

pleta y parcial) y de aborto. La literatura con relación a la ETG ha sugerido que las edades reproductivas extremas en las mujeres, menores de 20 años y mayores de 40, representan un factor de riesgo. El presente trabajo corrobora esta hipótesis, centrándose particularmente en las mujeres adolescentes, que además representan un grupo de gran peso dentro de la población que consulta por complicaciones en el embarazo. El grupo de mola mostró también un mayor número de complicaciones inmediatas (16%) y a largo plazo, en comparación con los casos de aborto. Dentro de estas últimas, la más notable fue el desarrollo de coriocarcinoma (13%), uno con desenlace fatal.

**TABLA 1.**  
Número de casos según categoría de clasificación

	Muestra inicial		Muestra final	
	N	%	N	%
ABORTO NO MOLAR	15	17.4%	15	20.5%
MOLA COMPLETA	52	60.5%	52	71.2%
MOLA PARCIAL	6	7.0%	6	8.2%
NO CONCLUSIVO	13	15.1%		
Total	86	100.0%	73	100%

El diagnóstico y la clasificación de la mola en la actualidad es fundamentalmente anatomopatológico (Howat y cols, 1993), pero ante la evidencia de que no hay concordancias exactas en las observaciones, en este estudio se complementó la patología con estudios de citogenética y análisis de polimorfismos de ADN microsatélite o Short Tandem Repeats (STR). Los cultivos celulares para la obtención del cariotipo, presentan dificultades en cuanto a lograr separación de las células de origen materno de las origen molar (Rooney y Czepulkowsky, 1986). En este estudio se encontró una translocación compleja con involucramiento de los cromosomas 1, 14 y 21, aparentemente sin pérdida de material cromosómico, en una mola completa en la que la paciente se complicó con Preeclampsia. En los otros casos en los que se hizo estudio citogenético, no se encontraron alteraciones estructurales (Bermúdez y cols, 2006).

### Estudio de expresión de genes del sistema IGF

Los mecanismos moleculares involucrados en la patogénesis de la mola se desconocen en su mayor parte. Los factores de crecimiento similares a la insulina IGF-I e IGF-II y sus receptores son sintetizados y secretados por células del citotrofoblasto, lo que plantea un mecanismo de acción autocrino/paracrino. El diagnóstico de la enfermedad se basa, además de los criterios ya mencionados, en la elevación de los niveles circulantes de la hormona gonadotropina coriónica (hCG) en comparación con un embarazo de la misma edad

gestacional (Tabla 2). La evaluación de los niveles circulantes de IGF-I e IGF-II mediante radioinmunoanálisis (RIA) específico (Cantero y cols, 2005), mostró

en pacientes con mola completa una tendencia a menores valores de IGF-I y mayores de IGF-II en comparación con aborto (Tabla 2).

**TABLA 2.**

**Niveles séricos de proteína total,  $\beta$ -hCG, IGF-I e IGF-II en Mola Hidatidiforme completa y parcial y abortos espontáneos**

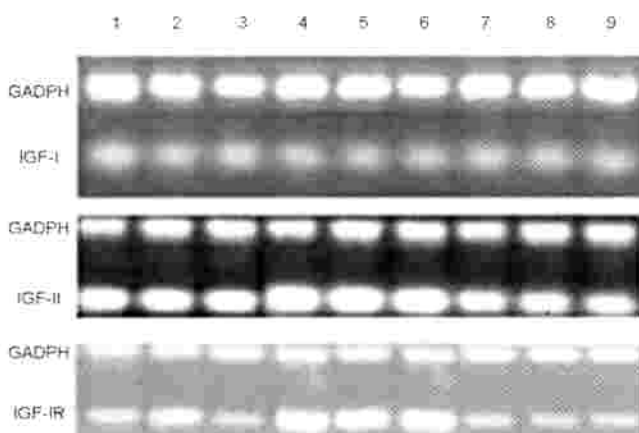
Casos	Edad Materna (Años)	Edad Gestacional (Semanas)	Proteína total (mg/100 ml)	$\beta$ -hCG (mUI/ml) Pre	$\beta$ -hCG (mUI/ml) Pos	IGF-I (ng/ml)	IGF-II (ng/ml)
Aborto Espontáneo	29,3 $\pm$ 8,4 n=12	10,4 $\pm$ 3,5 n=12	9,62 $\pm$ 1,97 n=8	97.101 n=5	25.880 n=5	220,0 $\pm$ 69 n=8	979,4 $\pm$ 20,5 n=7
Mola Completa	22,0 $\pm$ 6,6 n=52	13,0 $\pm$ 3,2 n=49	9,26 $\pm$ 1,45 n=25	506.908 n=21	101.010 n=21	199,1 $\pm$ 88,9 n=24	1020,8 $\pm$ 32,4 n=19
Mola Parcial	23,8 $\pm$ 3,8 n=6	13,4 $\pm$ 4,7 N=6	35 $\pm$ 0,07 N=2	138.000 N=2	110.000 N=2	188,1 $\pm$ 57,3 n=2	823,4 $\pm$ 54,2 n=2

Los valores están presentados como el promedio de n (número de casos)  $\pm$  DE de terminaciones por triplicado.

Estos cambios fueron más evidentes al examinar el nivel de expresión de los genes en los tejidos (Figura 1). Los resultados demostraron una expresión significativamente ( $p < 0.001$ ) elevada de los ARN mensajeros de IGF-II y del receptor IGF-IR en mola completa, en comparación con abortos espontáneos de la misma edad gestacional (Tabla 3). Consistentemente con los resultados anteriores, el análisis del contenido de IGF-II en los tejidos también fue significativamente ( $p < 0.05$ ) más alto en comparación con placentas de abortos espontáneos, mientras que las concentraciones de IGF-I no fueron diferentes en mola y abortos (Díaz y cols, 2006). Niveles reducidos de IGF-I se han reportado en casos de mola completa (Wihman y cols, 1998).

Varios factores pueden ser responsables de la elevación en la expresión de IGF-II en mola. Conociendo el hecho de que en placenta ocurre impronta del gen *Igf-2*, su sobreexpresión puede estar asociada a la pérdida o relajamiento de la misma. En un estudio reciente (Kim y cols, 2003) se demostró alteración en la impronta de los genes *Igf2* (43% de los casos) y *H19* (18% de los casos) en mola completa, incrementando la ocurrencia en tumores trofoblásticos gestacionales (57% y 40% respectivamente), lo cual evidencia el papel potencial de estos genes en la progresión de la enfermedad. Aunque no está aún definido, se sugiere que la impronta del gen *Igf-2* se establece durante el primer trimestre de gestación normal. En la gestación androgenética se ha encontrado la co-expresión de los genes *Igf-2* y *H19*, los cuales están recíprocamente improntados, pudiendo ser otra explicación para la elevación de la expresión del IGF-II con respecto a los abortos en los que hay

genoma materno y fetal, caso en el cual, no se perdería la impronta recíproca.



**FIGURA 1.** Amplificación por RT-PCR del ARNm de IGF-I, IGF-II e IGF-IR en los tejidos. Todos los genes se co-amplificaron en duplex con GAPDH como gen casero. Carriles 1, 2, 3, abortos; carriles 4, 5, 6, molas completas; carriles 7, 8, 9, placenta a término.

La expresión del IGF-II está regulada por cuatro promotores (P1-P4). En los tejidos humanos normales, el hígado de adulto es el único órgano que predominantemente utiliza el promotor P1 para la expresión de IGF-II. Sin embargo, la activación del promotor P1 se ha descrito en casos de malignización como hepatomas, tumores ováricos y de Wilm's (Vu y cols, 2003) y se ha sugerido que los promotores P2-P4 cambian a P1 durante la carcinogénesis (Issa y cols, 1996). En

placenta normal se ha reportado el uso del promotor P1 al comienzo de la gestación disminuyendo de manera gradual a medida que se incrementa el uso del promotor P4. Se ha reportado el uso preferente de P1

con silenciamiento relativo de P4 en mola hidatidiforme y tumores trofoblásticos (Kim y cols, 2003), lo que podría explicar el aumento en la transcripción del gen IGF-2 observado en este estudio.

**TABLA 3.**

**Niveles de expresión de IGF-I, IGF-II, IGF-IR y GHR en Mola Hidatidiforme completa y parcial en comparación con abortos espontáneos de similar edad gestacional**

	mARN IGF-I/ GAPDH	mARN IGF-II/ GAPDH	mARN IGF-IR/ GAPDH	MARN GHR/ GAPDH	IGF-I (ng/mg tejido)	IGF-II (ng/mg tejido)
Aborto Espontáneo	0,240±0,04 n=8	1,520±0,04 n=8	0,299±0,01 n=8	0,604±0,01 n=8	23,62±5,6 n=7	216,7±16,8 n=7
Mola Completa	0,211±0,01 n=12	2,82±0,39 <sup>a</sup> n=12	0,631±0,12 <sup>a</sup> n=12	0,604±0,02 n=12	24,1±15,3 n=23	279,3±20,7 <sup>a</sup> n=16
Mola Parcial	0,232±0,02 n=3	3,034±0,07 <sup>a</sup> n=3	0,636±0,04 <sup>a</sup> n=3	0,582±0,02 n=3	27,2±5,4 n=2	450,8±36,7 <sup>a</sup> n=2

Los valores de densitometría están normalizados con el gen casero GAPDH. Se presentan como el promedio de n (número de casos) ± DE de determinaciones por triplicado. <sup>a</sup>Valores significativamente diferentes en comparación con aborto P < 0.05.

En patologías de la gestación como pre-eclampsia, se ha encontrado una baja expresión de IGF-II (Roberts y Cooper, 2001). En el presente estudio se captó una paciente diagnosticada con Síndrome de HELLP y agravada con mola hidatidiforme, en la cual se encontró una alta expresión de IGF-II, consistente con los altos niveles circulantes de IGF-II. Esto nos lleva a sugerir que los cambios observados provienen más por la condición de mola que por la de pre-eclampsia.

Los resultados no mostraron diferencias en la transcripción del gen del receptor de GH (GHR) en mola y aborto (Tabla 3), aunque se detectaron mayores niveles de expresión de la variante de la hormona de crecimiento (GH-V) en tejido molar (Vera, 2004). Es conocido que durante la gestación la GH-V de placenta pasa a la circulación materna y reemplaza a la GH de pituitaria, pero se desconoce su papel en embarazos molares. Ensayos realizados en cultivos primarios provenientes de explantes de tejido molar y estimulados con diferentes dosis de GH recombinante humana (rhGH) no mostraron cambios en proliferación, pero sí altos niveles de expresión de IGF-II (Bernal y cols., 2006).

## Conclusiones

La enfermedad trofoblástica gestacional es una complicación importante del embarazo, especialmen-

te en la mujer adolescente, aspecto importante para tener en cuenta en las campañas de prevención del embarazo en jóvenes. Para fines de asesoramiento y de manejo preventivo de la malignización, el diagnóstico final debería incluir además de la histopatología, un estudio citogenético de alta resolución en todos los casos. Cuando la clasificación del tipo de mola es dudosa, sería necesario estudiar marcadores de ADN en la muestra y en la pareja para definir el origen parental.

Las alteraciones en el mecanismo de expresión del sistema IGF en mola hidatidiforme dan soporte experimental a la hipótesis de un papel de estos factores en el desarrollo de esta patología. Además, la sobreexpresión de IGF-II podría ser explotada como predictor de malignidad de la enfermedad y así poder crear en un futuro oportunidades de prevención y terapias concretas.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a las instituciones hospitalarias que colaboraron con el presente estudio, al personal médico y enfermeras.

Este trabajo fue financiado por Colciencias (Proyecto Código: 1101-04-11874), el Instituto Nacional de Salud y la Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

## Referencias

1. Bermúdez AJ, Rodríguez A, Aragón M, Crane C, Díaz LE, Sánchez-Gómez M. Complete homozygotic mole with balanced translocation and HELLP syndrome: increased IGF-II and IGF-IR expression. *J Reprod Med*. 2006 (Sometido a publicación)
2. Bernal Y, Díaz LE, Acosta J, Crane C, Carrasco-Rodríguez C, Bermúdez AJ, Sánchez-Gómez M. Estudio inmunocitoquímico y molecular de cultivo primario de tejido molar. *Biomédica*. 2006 (Sometido a publicación)
3. Butler JM. ST current protocols in human genetics. Short tandem repeat analysis for human identity testing. USA. 14.8. 2003
4. Cantero M, Cortés C, Bernal YA, Anzola C, Marin N, Bermúdez AJ, Sánchez-Gómez M. Niveles de factores de crecimiento similares a la insulina (IGF-I e IGF-II) en suero de pacientes con mola hidatidiforme. *Revista Electrónica Hominis*, V1A3, 2005
5. Cortés, C, R. Ching, P. Páez, A. Rodríguez, H. León, H. Capasso, F. Lozano, V. González, H. Aramendiz, F. Pedroza, P. Galvis, E. Forero, E. Aragón, C. Arteaga, A. Bermúdez. 2003. La mola hidatidiforme: un indicador de la situación sociodemográfica en salud sexual y reproductiva. *IQUEN*. 8(12):199-204, 2003
6. Díaz E, Cantero M, Carrasco-Rodríguez S, Sánchez-Gómez M. IGF-I, IGF-II and IGF-IR mRNA expression in Colombian women with hydatidiform mole and spontaneous abortion. *Placenta*, 27:A63, 2006
7. Ezpeleta J, López A, Enfermedad Trofoblástica Gestacional. Aspectos clínicos y morfológicos. *Rev Esp Patol*. 35: 187-200, 2002.
8. Howat AJ, Beck S, Fox H, Harris SC, Hill AS, Nicholson CM, Williams RA. Can histopathologist reliably diagnose molar pregnancy?. *J Clin Pathol*. 46:599-602, 1993
9. Issa JP, Vertino PM, Boehm CD, Newsham IF, Baylin SB. Switch from monoallelic to biallelic human IGF-II promoter methylation during aging and carcinogenesis. *Proc Natl Acad Sci*. 93:11757-11762, 1996
10. Kim, S.J., S.E. Park, C. Lee, S.Y. Lee, I.H. Kim, H.J. An, Y.K. Oh. Altered imprinting, promoter usage, and expression of insulin-like growth factor-II gene in gestational trophoblastic diseases. *Gynecol Oncol*. 88(3):411-418, 2003.
11. LeRoith, D., CT. Roberts. The insulin – like growth factors system and cancer. *Cancer Letters*. 195:127–137, 2003.
12. Li H.W, S.W. Tsao, A.N. Cheung. Current understandings of the molecular genetics of gestational trophoblastic diseases. *Placenta*, 23:20-31, 2001.
13. Roberts JM, Cooper DW. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *Lancet*. Jan 6, 357(9249):53-6, 2001.
14. Rooney DE, Czepulkowsky BH. Tissue culture methods in human cytogenetics. IRL Press. Oxford Washington DC. 1986.
15. Vera P. 2004. Detección de la expresión del gen de la hormona de crecimiento variante por RT-PCR. Trabajo de Grado en Química. Universidad Nacional de Colombia.
16. Vu, T.H., N. Chuyen, T. Li, A. Hoffman. 2003. Loss of imprinting of IGF2 sense and antisense transcripts in Wilm's tumor. *Cancer Research* 63:1900-1905.
17. Wihman IL, Carlstrom K, Faxen M. Insulin-like growth factor-I in women with hydatidiform mole and in normal pregnancy. *Obstet Gynecol*. 92:431, 1998.
18. World Health Organization. Gestational trophoblastic diseases. Report of a WHO Scientific Group. Geneva, 1983.