

TINJAUAN SITOGENETIKA MOLEKULER DARI COMPLETE HYDATIDIFORM MOLE

Agung Nova Mahendra

Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana Denpasar

ABSTRAK

Complete Hydatidiform Mole (CHM) merupakan kehamilan patologis dengan defek pada gen-gen regulator perkembangan plasenta. CHM penting didiagnosis dan dikarakterisasi karena berpotensi relatif tinggi untuk menjadi ganas. Kesalahan diagnosis masih sering terjadi bila dilakukan dengan metode histologik atau determinasi ploidi sel. Pengetahuan tentang genesis dan konstitusi genetik CHM menjadi dasar untuk menegakkan diagnosis yang akurat, dan ini dapat dicapai dengan pendekatan sitogenetik molekuler. Tinjauan ini bertujuan memberikan pemahaman lebih dalam tentang genesis CHM dari perspektif sitogenetika molekuler. Dari karakterisasi sitogenetik molekuler, didapatkan 2 varian CHM, yaitu BiCHM (*Biparentally-inherited* CHM) dan AnCHM (*Androgenetic* CHM) dengan heterogenitas genetik yang kompleks. Temuan ini berkontribusi pula bagi pengembangan diagnostik molekuler, kemoterapeutik, konseling genetik, dan terapi gen. (MEDICINA 2012;43:41-45).

Kata kunci: CHM, genesis, sitogenetika molekuler

MOLECULAR CYTOGENETIC REVIEW OF COMPLETE HYDATIDIFORM MOLE

Agung Nova Mahendra

Department of Pharmacology, Medical School, Udayana University

ABSTRACT

Complete Hydatidiform Mole (CHM) is a pathologic pregnancy characterized by placental development regulatory genes defect. CHM is of significant importance to be characterized because of its relatively high potential to become malignant. Misdiagnosis is relatively common when histological method or cell ploidy determination is used as diagnostic tool. Knowledge of CHM genesis and genetic constitution serves as a basis to establish accurate diagnosis, and this can be achieved through the use of molecular cytogenetical approaches. This article is aimed on giving deeper understanding of CHM genesis from the perspective of molecular cytogenetics. By using molecular cytogenetical characterization, researchers found 2 CHM variants, namely BiCHM (*Biparentally-inherited* CHM) and AnCHM (*Androgenetic* CHM) with complex genetic heterogeneity. These findings also contribute to the improvement of molecular diagnostics, chemotherapeutics, genetic counselling, and gene therapy. (MEDICINA 2012;43:41-45).

Keywords: CHM, genesis, molecular cytogenetics

PENDAHULUAN

Complete hydatidiform mole (CHM) adalah kehamilan patologik dengan defek pada gen-gen regulator perkembangan plasenta.¹ CHM penting untuk dikarakterisasi karena dapat mengalami degenerasi maligna. Kesalahan diagnosis dan karakterisasi masih sering terjadi bila dilakukan dengan metode histologik dan penentuan ploidi sel.² Pada CHM, defek dasarnya adalah di tingkat gen. Pemahaman yang lebih baik tentang genesis dan konstitusi genetik CHM dapat dicapai apabila CHM dikaji sampai ke tingkat gen dengan menggunakan pendekatan

sitogenetika molekuler. Hal ini akan menjadi dasar penegakan diagnosis yang akurat. Pemahaman ini nantinya akan berkontribusi pada pengembangan bidang pencegahan, diagnosis, dan penatalaksanaan CHM.

CHM bersifat diploid dengan kromosom yang seluruhnya merupakan kontribusi paternal, yang kemungkinan berasal dari fertilisasi terhadap “oosit kosong” yang tidak memiliki kromosom X maternal.¹ Ada 2 mekanisme yang dapat menghasilkan “oosit kosong”, yaitu ekstrusi nukleus secara komplet dan inaktivasi nukleus, sehingga seluruh genom maternal tidak

diekspresikan.² “Oosit kosong” ini difertilisasi oleh spermatozoon haploid tunggal dengan diploidisasi pascafertilisasi tanpa diikuti oleh sitokinesis. Peristiwa diploidisasi ini disebut sebagai endoreduplikasi.³

Ada 2 varian CHM, yaitu CHM familial (bersifat *recurrent*) dan CHM sporadis. CHM familial memiliki genom yang merupakan kontribusi biparental, oleh karena itu disebut pula sebagai *biparentally-inherited complete hydatidiform mole* (BiCHM), sedangkan CHM sporadis memiliki genom yang bersifat androgenetik, sehingga disebut juga sebagai AnCHM (*androgenetic* CHM).⁴

SITOGENETIKA MOLEKULER BiCHM

BiCHM jarang terjadi, sehingga timbul dugaan bahwa kelainan ini bersifat *homozygous by descent*, atau bersifat autosomal resesif.^{4,5} Data yang ada mengarah pada dugaan bahwa fenotipe CHM bisa diakibatkan oleh deregulasi pada 1 atau lebih *imprinted genes*. Kelainan yang terjadi bersumber pada mutasi genetik maternal, dan genotipe paternal tidak berkontribusi bagi genesis BiCHM.⁵

Studi pautan untuk memetakan gen yang termutasi dalam genesis BiCHM dilakukan untuk pertama kalinya pada sebuah *pedigree* dari Timur-Tengah dan pada *pedigree* dari para wanita penderita BiCHM yang bersaudara kandung. Para wanita yang menderita BiCHM tersebut diketahui homozigotik untuk sebuah regio berukuran 15.2 cM pada 19q13.3-19q13.4. Studi terbaru menyempurnakan regio kandidat sebelumnya dengan mempublikasikan suatu regio berukuran 1.1 Mb pada 19q13.42. Pada *pedigrees* lain, pautan pada 19q13.42 tidak berhasil ditemukan. Regio kandidat yang pertama kali dilaporkan (yang berukuran 15.2 cM), mencakup *imprinted PEG3/ZIM2 locus*. *Imprinting* gen *PEG3* yang terganggu mungkin berkontribusi bagi genesis BiCHM melalui suatu mutasi pada faktor yang terlibat dalam deregulasi penanda epigenetik maternal.⁵

Kebanyakan *imprinted genes* berada dalam kluster-kluster gen yang diekspresikan secara maternal dan paternal, yang mengandung pulau-pulau sitosin-guanin (*CpG dinucleotide groups*). Nukleotida C dalam CpG bisa mengalami metilasi pada posisi 5 dari cincin pirimidin. CpG *islands* yang terdapat pada kluster-kluster dari *imprinted genes* ditandai oleh adanya *differentially methylated*

regions (DMRs). *Primary imprints* terbentuk selama gametogenesis pada regio-regio kromosom dengan lebih dari 1 *regulatory* DMRs dan dapat mempengaruhi status metilasi dari *secondary imprints*, yang terbentuk dalam kurun waktu sejak pascafertilisasi hingga stadium blastokista.⁵

Hilangnya metilasi C dari DMRs pada *KCNQ1OT1*, *PEG1*, *PEG3/ZIM2*, dan *5 SNRPN* ditemukan pada sampel jaringan BiCHM. Belum jelas diketahui apakah *5 SNRPN* pada manusia merupakan suatu *primary* atau *secondary imprint*. Analisis polimorfisme nukleotida tunggal (*SNP analysis*) terhadap *5 SNRPN* DMR pada DNA dari kedua orangtua dan dari jaringan BiCHM mengungkapkan fakta bahwa metilasi CpG memang hilang dari alel maternal.⁵

Studi pola metilasi DNA jaringan BiCHM juga dikerjakan pada lokus lain, yaitu *GNAS1*. Lokus ini mengkode 3 jenis protein, yaitu G_s , *XL S*, dan *NESP55*. Ditemukan adanya 2 regio kontrol *imprinting* pada *GNAS1*. $G_s\alpha$ diekspresikan secara biparental pada sebagian besar jaringan, namun mengalami inaktivasi pada beberapa jaringan tubuh. DNA $G_s\alpha$ *promoter* pada ekson 1 tidak termetilasi untuk kedua alel. *Primary imprinting mark* untuk *tissue-specific paternal imprinting* dari $G_s\alpha$ terletak 2.5 kb *upstream* dari ekson 1A. Metilasi CpG dari alel $G_s\alpha$ maternal terjadi saat oogenesis. Status metilasi *NESP55* dan *XL S* bergantung pada suatu *primary maternal methylation imprinting mark*, yang terdapat pada *NESPAs/XL S promoter*. *NESP55* merupakan *secondary imprint* yang dikoregulasi dan dependen dengan *primary imprinting mark* pada *NESPAs/XL S promoter*. Pada BiCHM terjadi kegagalan untuk membentuk *primary maternal methylation mark* pada ekson 1A dan *NESPAs/XL S promoter*,

selain itu juga terjadi metilasi penuh pada kedua alel (adopsi epigenotipe paternal) untuk *NESP55* DMR. Analisis polimorfisme membuktikan bahwa metilasi penuh ini terjadi karena metilasi alel maternal yang seharusnya tidak mengalami metilasi pada kondisi normal. *Maternal lack of methylation* pada *NESP55* DMR dan metilasi pada *NESPAs/XL S* DMR merupakan *secondary imprinting mark* yang bergantung pada *primary maternal imprinting mark* pada ekson 1.⁵

Temuan analisis status metilasi DNA jaringan BiCHM oleh El-Maarri dkk⁶ mendemonstrasikan terjadinya hipometilasi pada *PEG3* dan *SNRPN* (diekspresikan secara paternal), sedangkan terjadi hipermetilasi pada *NESP55* dan *H19* (diekspresikan secara maternal). *H19* DMR pada kondisi normal termetilasi penuh pada alel paternal. Berdasarkan data studi sitogenetika molekuler, pada BiCHM diketahui terjadi imitasi status metilasi paternal oleh kromosom maternal. Pada kondisi metilasi abnormal seperti ini haplotipe maternal mengadopsi epigenotipe paternal.⁵

Ekses ekspresi genom paternal menghasilkan embrioblast yang tidak berkembang, sedangkan proliferasi trofoblast terjadi secara progresif disertai degenerasi villi koriales. Sejalan dengan fakta ini, dapat ditarik hubungan bahwa bila terjadi imitasi status metilasi kromosom paternal oleh kromosom maternal pada *imprinted genes* yang berperan dalam regulasi perkembangan normal plasenta, maka akan terjadi CHM. Secara molekuler, fenotipe BiCHM terjadi karena adanya aktivasi dan ekspresi gen paternal yang berlebihan tanpa adanya *counterbalancing effect* dari ekspresi gen maternal yang mengatur perkembangan plasenta secara normal.⁷ Mekanisme molekuler inilah yang menjelaskan mengapa secara fenotipik BiCHM

menyerupai AnCHM, walaupun kedua entitas patologik ini berbeda secara sitogenetik molekuler.

Defek metilasi pada BiHM seperti halnya bersifat spesifik pada *imprinted genes* saja, karena metilasi abnormal tidak dijumpai pada CpG dari gen-gen lain. Selain itu, status metilasi DMRs pada ibu-ibu penderita BiHM adalah normal. Temuan-temuan ini menunjukkan bahwa abnormalitas metilasi DNA terjadi pada *maternal germ cell line*, yaitu pada saat oogenesis. Semua temuan yang ada sampai saat ini masih mendukung anggapan bahwa mutasi autosomal resesif yang menimbulkan BiHM terjadi secara *de novo* selama oogenesis, walaupun sebenarnya ada heterogenitas genetik yang mendasari genesis kelainan ini.^{5,6}

Suatu studi juga dilakukan terhadap 2 keluarga non-kosanguinus di Cina (disebut Ch01 dan Ch02). BiCHM yang terjadi pada kedua keluarga ini merupakan kasus pertama yang dilaporkan di Cina.⁴ Analisis genotipik membuktikan bahwa kasus-kasus BiCHM ini memiliki dasar sitogenetik molekuler yang berbeda dengan kasus-kasus BiCHM yang diteliti di Timur-Tengah dan Eropa Utara.^{4,5} Trisomi pada 2 penanda yang dipetakan bersama-sama pada kromosom 6 ditemukan pada jaringan CHM dari Ch02. Ini menunjukkan bahwa BiCHM dapat juga terjadi karena pewarisan material tambahan dari kromosom 6 maternal. Analisis terhadap lokus 19q13.4 juga menunjukkan terdapatnya heterozigositas pada sebagian besar lokus, yang mengarah pada kesimpulan bahwa terdapat mutasi pada 2 atau lebih loki yang berbeda yang dapat menimbulkan fenotipe yang sama. Kesimpulan ini didukung hasil analisis genotipik yang menunjukkan bahwa pada 2 wanita bersaudara kandung dengan BiCHM pada keluarga Ch01 terdapat 2 haplotipe yang berbeda

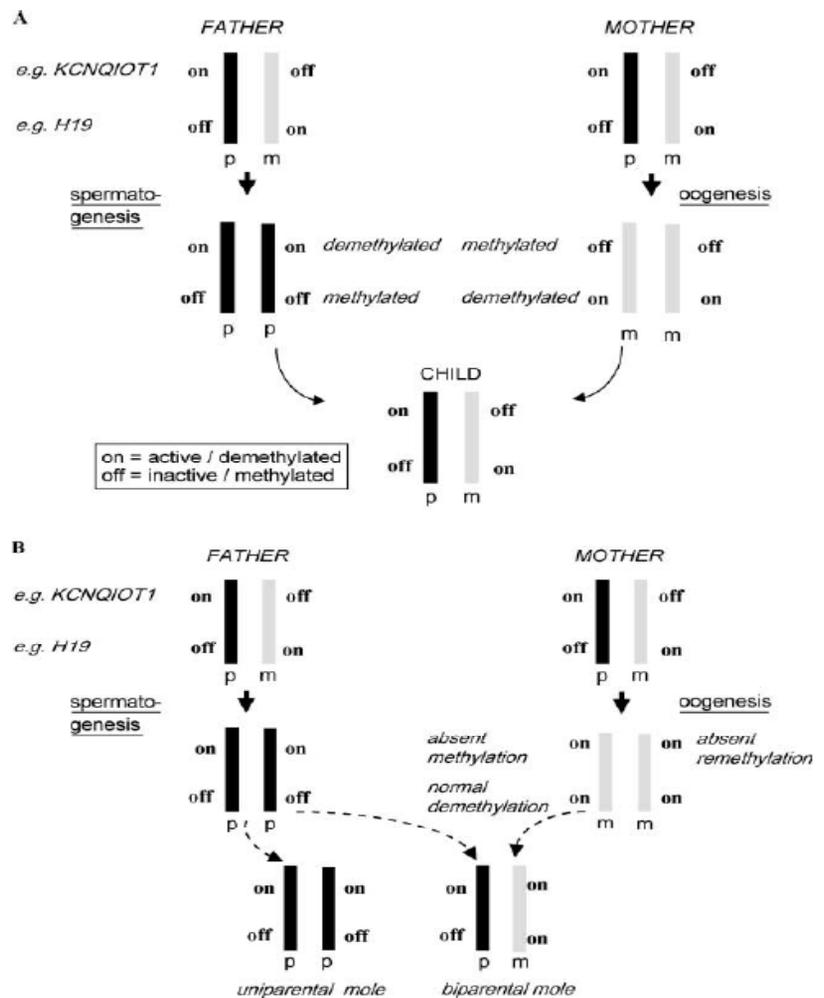
untuk regio 19q13.4.⁴

SITOGNETIKA MOLEKULER AnCHM

Varian CHM lainnya adalah AnCHM. Analisis sitogenetik molekuler berhasil menunjukkan bahwa sebagian besar CHM merupakan mola yang bersifat androgenetik, yaitu CHM dengan genom yang seluruhnya merupakan kontribusi paternal.⁵ Seperti yang telah diuraikan sebelumnya, AnCHM memiliki fenotipe yang serupa dengan BiCHM, walaupun keduanya berbeda secara sitogenetik

molekuler (**Gambar 1**).

Ditinjau dari perspektif sitogenetik, sebagian besar AnCHM berkariotipe 46,XX, dan sekitar 20% AnCHM merupakan hasil fertilisasi dispermik terhadap oosit dengan genom terinaktivasi.⁵ AnCHM dengan kariotipe 46,XY lebih jarang terjadi dibandingkan dengan yang berkariotipe 46,XX.⁸ Konseptus dengan 46,YY bisa saja terjadi, tetapi kariotipe ini tidak pernah ditemukan dalam CHM.^{5,8} Hal ini menandakan bahwa ketiadaan kromosom X bersifat inkompatibel dengan perkembangan awal dan juga kehidupan.



Gambar 1. (A). Perubahan *imprinting* selama gametogenesis. Selama gametogenesis, pola *imprinting* dari gen-gen berubah sesuai dengan jenis kelamin orangtua. Hal ini disertai dengan perubahan pola metilasi DNA dari *imprinted genes DMRs*. (B). Perbedaan genetik antara AnCHM dan BiCHM. Pada AnCHM, semua *imprinted genes* menunjukkan *paternal imprinting* atau pola metilasi paternal secara eksklusif. Pada BiCHM, seharusnya terjadi demetilasi haplotipe maternal, namun malah terjadi metilasi (imitasi epigenotipe paternal) saat oogenesis.⁷

Terdapat 3 mekanisme yang bisa menjelaskan patogenesis AnCHM.² Pertama, “oosit kosong” difertilisasi oleh spermatozoon haploid, kemudian terjadi diploidisasi (fertilisasi monospermik haploid diikuti oleh endoreduplikasi). CHM yang dihasilkan disebut *homozygous mole*. Frekuensi *monospermic/homozygous mole* ini sebesar 75-80% . Kedua, “oosit kosong” difertilisasi oleh 2 spermatozoa haploid (fertilisasi dispermik haploid) yang menghasilkan mola dengan kariotipe 23,XX atau 23,XY (*heterozygous mole*). Frekuensi *dispermic/heterozygous mole* ini sebesar 20%-25% (**Gambar 2**). Ketiga, “oosit kosong” difertilisasi oleh satu spermatozoon diploid.² Secara teoretik hal ini mungkin terjadi, tetapi sejauh ini belum pernah ditemukan jaringan CHM akibat proses fertilisasi monospermik diploid.^{2,7} _

IMPLIKASI KLINIK

Dasar sitogenetika molekuler terjadinya CHM sangatlah kompleks. Hal ini didukung oleh penemuan sebuah kasus berfenotipe CHM yang memiliki imunoreaktivitas *p57^{kip2}*. Hal ini menandakan bahwa dapat terjadi retensi selektif dari kromosom 11 pada sel-sel manusia.⁷ Selain itu, pada CHM dapat terjadi hipermetilasi regio *promoter* dari *E-cadherin*, *HIC-1*, dan *p16*. Metilasi DNA aberan ini berkorelasi secara signifikan dengan risiko yang besar untuk terjadinya khoriokarsinoma.⁹ Pemeriksaan abnormalitas metilasi DNA pada DMRs dapat dikembangkan untuk mendiagnosis pasien-pasien dengan defek pada *genomic imprinting*.

Pengetahuan tentang defek sitogenetik molekuler pada CHM dapat dikembangkan untuk menghasilkan alat-alat diagnostik yang lebih akurat, serta menemukan target kemoterapi/kemoprevensi

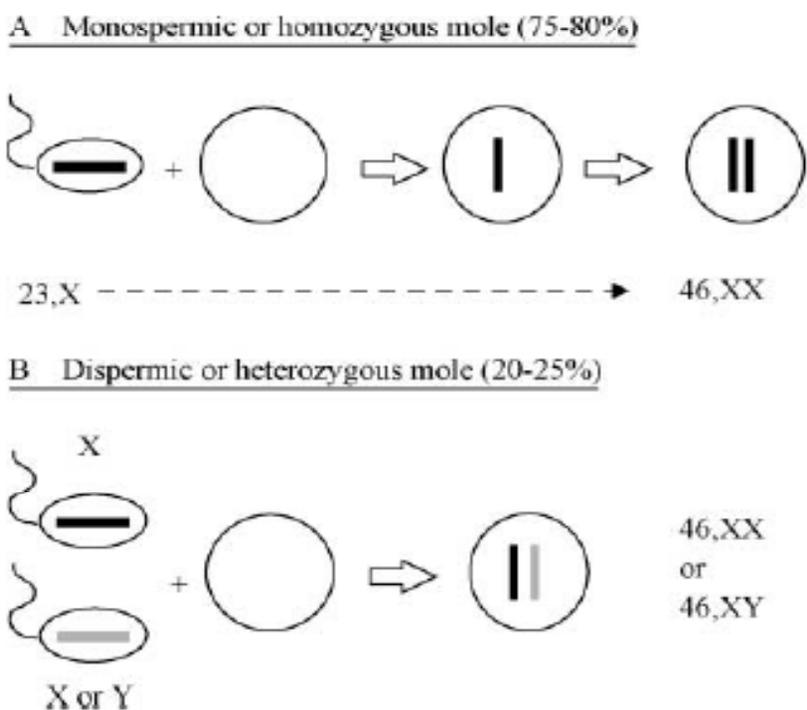
baru. Konseling genetik dan terapi gen juga dapat lebih mantap diterapkan apabila dasar genetik CHM diketahui secara jelas. Sayangnya, sampai saat ini terapi gen belum dapat dikerjakan sebagai bagian dari penatalaksanaan definitif yang rutin untuk kasus-kasus CHM.

RINGKASAN

Dari analisis sitogenetika molekuler diketahui bahwa genesis CHM didasari oleh karena terjadinya diploidisasi akibat monospermi dengan endoreduplikasi, diploidisasi akibat dispermi, retensi material kromosom 6 maternal ekstra, imitasi status metilasi kromosom paternal oleh kromosom maternal yang mengganggu ekspresi gen regulator perkembangan plasenta (pada lokus 11p15.5 dan 19q13.42), serta faktor-faktor genetik lain yang belum dipahami sepenuhnya. Temuan ini nantinya akan berguna sebagai dasar penegakkan diagnosis yang akurat dan penatalaksanaan kasus yang lebih *individualized*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jauniaux E. Trophoblastic diseases and pregnancy. The Obstetrician & Gynaecologist. 2003;5:130-5.
2. Petignat P, Billieux M, Blouin J, Dahoun S, Vassilakos P. Is genetic analysis useful in the routine management of hydatidiform mole? Human Reproduction. 2003;18:243-9.
3. Berkowitz RS, Goldstein DP. Gestational Trophoblastic Disease. Dalam: Berek JS, Rinehart RD, Hillard PJA, Adashi EY, penyunting. Novak's Gynecology. Edisi ke-13. Philadelphia:LippincotWilliams & Wilkins, 2002;h.1353-60.
4. Zhao J, Moss J, Sebire NJ, Cui QC, Seckl MJ, Xiang Y, dkk. Analysis of the chromosomal



Gambar 2. Genesis AnCHM. AnCHM paling sering terjadi akibat fertilisasi oosit dengan nukleus inaktif oleh 1 spermatozoon haploid, yang diikuti endoreduplikasi kromosom paternal (mola monospermik). Mola dispermik terjadi apabila oosit tanpa nukleus aktif difertilisasi oleh 2 spermatozoa haploid.⁷

- region 19q13.4 in two Chinese families with recurrent hydatidiform mole. *Human Reproduction*. 2006;21:536-41.
5. Van den Veyver IB, Al-Hussaini TK. Biparental hydatidiform moles: a maternal effect mutation affecting imprinting in the offspring. *Human Reproduction Update*. 2006;12:233-42.
 6. El-Maarri O, Seoud M, Coullin P, Herbiniaux U, Oldenburg J, Rouleau, dkk. Patients with familial biparental hydatidiform moles have normal methylation at imprinted genes. *European Journal of Human Genetics*. 2005;13:486-90.
 7. Devriendt K. Hydatidiform mole and triploidy: the role of genomic imprinting in placental development. *Human Reproduction Update*. 2005;11:137-42.
 8. Lisman BAM, Boer K, Bleker OP, van Wely M, Exalto N. Vasculogenesis in complete and partial hydatidiform mole pregnancies studied with CD34 immunohistochemistry. *Human Reproduction*. 2005;20:2334-9.
 9. Xue W, Chan KYK, Feng H, Chiu P, Ngan HYS, Tsao S, dkk. Promoter Hypermethylation of Multiple Genes in Hydatidiform Mole and Choriocarcinoma. *Journal of Molecular Diagnostics*. 2004;6:326-34.