

Aspek Patobiologis pada Penyakit Trofoblas Gestasional

Teresa L. Wargasetia¹, Heda M. D. Nataprawira²,
M. Nurhalim Shahib²

¹Bagian Biologi Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Maranatha,
Jl. Prof Suria Sumantri 65 Bandung 40164 Indonesia

²Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran,
Jl. Eijkman No. 38 Bandung 40161 Indonesia

Abstrak

Penyakit trofoblas gestasional (PTG) mencakup mola hidatidosa (komplit dan parsial) dan tumor trofoblas gestasional (mola invasif, koriokarsinoma, *placental site trophoblastic tumor*, dan *epithelioid trophoblastic tumour*). Para ahli mempelajari kelainan perkembangan sel-sel trofoblas pada berbagai lesi trofoblastik PTG termasuk *exaggerated placental site* dan *placental site nodule* melalui gambaran morfologis, sitogenetik, imunofenotip, dan profil ekspresi gen. Upaya tersebut dilakukan untuk memahami patogenesis tumor trofoblas gestasional yang belum dipahami secara jelas, serta pengembangan diagnosis patologis dan molekuler dari berbagai tipe tumor trofoblas, pencarian petanda-petanda genetik untuk prognosis, dan penentuan target-target terapi potensial bagi bentuk metastatis dari PTG yang resisten terhadap pengobatan konvensional. Ketertarikan yang besar untuk mengetahui patogenesis PTG belumlah cukup bagi kemajuan penanganan PTG tanpa disertai ketekunan untuk mendapatkan petanda kanker yang tidak hanya diduga berperan dalam penyakit ini, namun dibutuhkan tahapan panjang dalam pencarian dan validasi petanda-petanda kanker untuk diagnostik, prognostik, dan target terapi.

Kata kunci: penyakit trofoblas gestasional, mola hidatidosa, koriokarsinoma, *placental site trophoblastic tumor*, sitotrofoblas, sinsitiotrofoblas.

Pathobiological Aspect of Gestational Trophoblastic Disease

Abstract

Gestational trophoblastic disease (GTD) includes hydatidiform mole (complete and partial) and gestational trophoblastic tumors (invasive mole, choriocarcinoma, placental site trophoblastic tumor and epithelioid trophoblastic tumor). Experts have studied the developmental abnormalities of trophoblast cells at various GTD trophoblastic lesions, including exaggerated placental site and placental site nodule through the morfological image, cytogenetic, immunophenotype and gene expression profile. Those efforts have been made to understand the pathogenesis and molecular diagnosis of various types of trophoblastic tumor, to search for genetic markers for the prognosis and to determine potential therapeutic targets for metastatic form of GTD, which is resistant to conventional treatment. Great interest to know the pathogenesis of GTD is not enough for the progress of the handling of GTD without persistence to get the cancer markers, which are not only thought to play a role in this disease, but they also require a long stage of research and validation of cancer markers for diagnostic, prognostic and therapeutic target.

Keywords: *gestational trophoblastic disease, hydatidiform mole, choriocarcinoma, placental site trophoblastic tumor, cytotrophoblast, syncytiotrophoblast.*

Pendahuluan

Penyakit trofoblas gestasional (PTG) adalah spektrum tumor yang berasal dari proliferasi abnormal jaringan trofoblas plasenta, mencakup mola hidatidosa (komplit dan parsial), mola invasif, koriokarsinoma, *placental site trophoblastic tumor*, dan *epithelioid trophoblastic tumour*. Keempat bentuk terakhir termasuk ke dalam kelompok tumor trofoblas gestasional (TTG) yang dapat menginvasi, bermetastasis, dan menyebabkan kematian bila tidak ditangani.¹⁻²

Studi epidemiologi melaporkan variasi regional yang luas pada insidensi mola hidatidosa. Studi yang dilakukan di Amerika Utara, Australia, Selandia Baru, dan Eropa menunjukkan insidensi mola adalah 0,57-1,1 per 1.000 kehamilan, sedangkan studi di Asia Tenggara dan Jepang menunjukkan insidensi yang tinggi yaitu 2 dari 1.000 kehamilan.²⁻³ Negara-negara dengan frekuensi mola hidatidosa tertinggi

adalah Mexico, Iran, dan Indonesia. Sejumlah studi dilakukan untuk mencari hubungan antara insidensi mola hidatidosa yang lebih tinggi pada kelompok etnis tertentu dengan faktor genetik dan berbagai faktor lingkungan seperti makanan, defisiensi vitamin A, kemiskinan, dan virus.^{1,3-5}

Data tentang insidensi koriokarsinoma lebih terbatas karena koriokarsinoma lebih jarang ditemukan dibandingkan dengan mola hidatidosa dan sulit membedakan koriokarsinoma *postmolar* dari mola invasif. Di Eropa dan Amerika Utara, koriokarsinoma terjadi pada 1 per 40.000 kehamilan² dan 1 per 40 mola hidatidosa⁶, sedangkan di Asia Tenggara dan Jepang angka kejadian lebih tinggi yaitu 9,2 dan 3,3 per 40.000 kehamilan.²

Seperti halnya mola hidatidosa, TTG banyak ditemukan di Asia dan Amerika Latin. Insidensi tumor trofoblas gestasional di Amerika Serikat

adalah 1:40.000-70.000 kehamilan, sedangkan di Bandung adalah 1:1.000 kehamilan, namun kasus *placental site trophoblastic tumour* jarang ditemukan.⁷

Faktor-faktor risiko utama penyebab mola hidatidosa komplit adalah usia ibu yang terlalu muda/tua dan riwayat kehamilan molar. Risiko mengalami mola hidatidosa komplit pada wanita usia >35 tahun dan <21 tahun adalah 1,9 kali lebih tinggi dibandingkan usia 21-35 tahun. Risiko meningkat menjadi 7,5 kali pada wanita >40 tahun.^{2,4} Wanita dengan riwayat mola hidatidosa sebelumnya mempunyai kecenderungan untuk mengalami kehamilan molar. Risiko kehamilan molar yang berulang adalah 1% atau 10-20 kali, bahkan ada sumber yang menuliskan hingga 40 kali lebih tinggi dibandingkan populasi umum.^{1-2, 5,8,9}

Faktor-faktor risiko untuk koriokarsinoma adalah riwayat mengalami mola hidatidosa komplit, etnis, dan kehamilan pada usia tua.^{2,10} Risiko mengalami mola hidatidosa komplit meningkat 2 kali pada wanita berusia lebih dari 35 tahun, dan 7,5 kali pada wanita lebih dari 40 tahun.³ Sebesar 8-20% mola hidatidosa berkembang menjadi ganas dengan menginvasi organ sekitar dan bermetastasis ke lokasi yang jauh seperti paru-paru dan otak.¹ Peningkatan risiko mengalami koriokarsinoma terjadi pada wanita pengguna kontrasepsi oral jangka panjang dan mempunyai golongan darah A.^{2,10}

PTG berasal dari kelainan pada perkembangan sel-sel trofoblas. Trofoblas normal terdiri atas sitotrofoblas, sinsitiotrofoblas, dan trofoblas intermediet. Fungsi sitotrofoblas adalah mensuplai sinsitium dengan sel-sel untuk membentuk vili korion yang membungkus kantung korion. Vili korion yang menempel pada

endometrium dan lapisan basal dari endometrium bersama-sama membentuk plasenta untuk pemberian nutrisi dari ibu ke fetus dan ekskresi. Sinsitiotrofoblas menginvasi stroma endometrium dengan implantasi blastosis dan merupakan tipe sel yang memproduksi *human chorionic gonadotrophin* (hCG). Trofoblas intermediet berada di vili korion, tempat implantasi, dan *chorion laeve*. Ketiga tipe trofoblas bila berproliferasi dapat menyebabkan PTG.²

Berbeda dengan mola hidatidosa, patogenesis dari TTG belum banyak diketahui. Dewasa ini, sejumlah penelitian dilakukan untuk memperjelas studi tentang biologi dari trofoblas manusia pada plasenta normal maupun penyakit trofoblas.⁸

Gambaran Subpopulasi Trofoblas pada Plasenta Normal

Trofoblas adalah jaringan embrional yang berperan penting dalam implantasi dan plasentasi. Implantasi menyangkut penetrasi blastosis ke epitel luminal, melintasi lamina basal dan tertanam di stroma. Selama implantasi, sinsitio-trofoblas terbentuk dan menginvasi jaringan maternal. Vaskularisasi trofoblas terjadi untuk membuat dan mempertahankan vaskularisasi antara fetus dan plasenta. Secara simultan, vaskularisasi maternal diatur sehingga terjadi sirkulasi antara uterus dan plasenta. Agar plasentasi berhasil, kontrol vaskulogenesis, angiogenesis, dan fungsi trofoblas sangat diperlukan.¹¹

Trofoblas manusia merupakan derivat dari trofoektoderm yang merupakan lapisan paling luar dari blastosit. Setelah implantasi, pada hari 7-8, trofoektoderm berdiferensiasi menjadi masa sinsitiotrofoblas pada tempat implantasi sebelum perkembangan vili

korion. Setelah pembentukan vili pada sekitar usia kehamilan 2 minggu, trofoblas yang menutupi vili korion disebut trofoblas vili, sedangkan trofoblas di lokasi lain dinamakan trofoblas ekstravili.¹²

Berdasarkan studi morfologis, imunofenotip, dan fungsional, trofoblas vili dan ekstravili dapat dibagi menjadi tiga populasi yang berbeda, yaitu sitotrofoblas, sinsitiotrofoblas, dan trofoblas intermediet.^{8,12-13} Trofoblas vili adalah trofoblas yang bertumbuh sebagai bagian dari vili korion, terutama terdiri atas sitotrofoblas dan sinsitiotrofoblas dengan sebagian kecil trofoblas intermediet, sedangkan trofoblas ekstravili terdiri atas trofoblas intermediet yang menginfiltrasi desidua, miometrium, dan pembuluh-pembuluh darah.^{1,12,14}

Sitotrofoblas vili berfungsi sebagai sel punca dan berada pada permukaan vili korion, terdiri atas sel-sel mononuklear dengan sitoplasma jernih, kecepatan mitosis relatif tinggi, dan mengeskresikan sitokeratin.^{8,13} Sitotrofoblas mengekspresikan *epidermal growth factor receptor* (EGF-R) yang berikatan dengan EGF yang disekresikan oleh desidua. Telah dipostulasikan bahwa melalui mekanisme mirip parakrin, EGF-R dan ligannya menstimulasi pertumbuhan sitotrofoblas. Sitotrofoblas berdiferensiasi melalui dua jalur utama. Jalur pertama, pada permukaan vili, sitotrofoblas berfusi untuk membentuk sinsitiotrofoblas. Diferensiasi sitotrofoblas menjadi sinsitiotrofoblas diiringi penghentian proliferasi. Proses ini menghasilkan perluasan daerah permukaan dari vili korion plasenta yang sedang berkembang. Pada jalur kedua, sitotrofoblas pada kolom trofoblastik yang kontak dengan plasenta berdiferensiasi menjadi trofoblas intermediet vili dan kemudian menjadi trofoblas intermediet tempat

implantasi pada *placental site* atau trofoblas intermediet tipe korion. Mekanisme yang mendasari diferensiasi sitotrofoblas belum diketahui dengan jelas. Walaupun demikian, baru-baru ini, ekspresi sinsitin diketahui terlibat dalam fusi sitotrofoblas menjadi sinsitiotrofoblas dan penurunan ekspresi Id-2 berkaitan dengan diferensiasi sitotrofoblas menjadi trofoblas intermediet tempat implantasi.^{8,12}

Sinsitiotrofoblas vili terbentuk dari fusi sitotrofoblas membentuk sel-sel multinuklear dengan sitoplasma berlimpah. Sinsitiotrofoblas terdiri atas sel-sel yang berdiferensiasi paling akhir, yang menutup vili korion dan mensintesis dan mensekresikan sejumlah hormon yang berkaitan dengan kehamilan, termasuk *human placental lactogen* (hPL), SP-1, dan β -*human chorionic gonadotropin* (β -hCG), *placental alkaline phosphatase* (PLAP).^{8,12-13} Sebagian dari protein sekretori ini juga mempunyai fungsi parakrin dengan meregulasi lingkungan mikro dari sel-sel desidua, sel-sel inflamasi, dan sel-sel otot polos pada tempat pelekatan plasenta. Sebagai tambahan pada perannya sebagai organ endokrin, sinsitiotrofoblas terendam dalam darah maternal dan bertanggungjawab terhadap pertukaran oksigen, nutrisi, dan berbagai produk metabolit antara ibu dan fetus.^{8,12}

Trofoblas intermediet mempunyai ciri morfologis dan fungsional yang tumpang tindih antara sitotrofoblas dan sinsitiotrofoblas.¹ Sel-sel trofoblas intermediet vili terdiri atas kolom trofoblastik yang menanamkan vili korion pada *basal plate* dari tempat implantasi. Sel-sel ini berproliferasi pada bagian proksimal dari kolom trofoblastik dan merupakan sumber dari tempat implantasi dan trofoblas intermediet tipe korion.

Pada bagian dasar kolom trofoblas, trofoblas intermediet menginfiltrasi desidua, arteri-arteri spiral dan miometrium untuk menjadi trofoblas intermediet tempat implantasi.^{8,12-13} Walau sel-sel trofoblas tersebut menginfiltrasi plasenta, sel-sel itu tidak berproliferasi.¹² Trofoblas intermediet vili secara eksklusif mengekspresikan HNK-1 *carbohydrate* yang tidak diekspresikan oleh subtipe trofoblas intermediet yang lain.^{8,12} Trofoblas intermediet tempat implantasi memperlihatkan hasil positif untuk pewarnaan imunohistokimia hPL dan sitokeratin, namun sedikit ekspresi hCG dan PLAP.¹³ Fungsi utama dari trofoblas intermediet tempat implantasi adalah untuk sirkulasi antara ibu dan fetus dengan menginvasi arteri-arteri spiral pada *basal plate* selama kehamilan awal. Mekanisme invasi trofoblas mirip dengan invasi sel-sel tumor, namun invasi dari trofoblas intermediet tempat implantasi diatur dengan ketat, terbatas pada tempat implantasi dan hanya selama kehamilan awal hingga usia 16 minggu kehamilan.^{8,12,14}

Trofoblas intermediet yang terletak jauh dari tempat implantasi berdiferensiasi menjadi trofoblas intermediet tipe korion. Subpopulasi trofoblas itu mengekspresikan PLAP.

Fungsi trofoblas intermediet tipe korion diduga berkontribusi terhadap sintesis matriks ekstraseluler yang diperlukan untuk mempertahankan kekuatan membran korion. Trofoblas intermediet tipe korion diduga juga berperan sebagai barier biologis dan mekanis terhadap sistem imun maternal.^{8,12}

Perbedaan fungsi dan karakter biologis antara berbagai tipe trofoblas berkaitan dengan invasi jaringan, kontrol faktor pembekuan darah, dan ekspresi antigen yang penting untuk interaksi dengan respons imun ibu.¹³

Patogenesis dari Lesi Trofoblastik

Shih & Kurman (2007) melakukan modifikasi terhadap klasifikasi PTG oleh WHO (Tabel 1). Modifikasi ini dilakukan agar klasifikasi dapat mencakup *exaggerated placental site* (EPS) dan *placental site nodule* (PSN) yang sebelumnya belum diklasifikasikan.

Modifikasi ini juga mencakup *epithelioid trophoblastic tumor* (ETT), neoplasma trofoblastik yang baru-baru ini dideskripsikan berbeda dari koriokarsinoma dan *placental site trophoblastic tumor* (PSTT).^{8,12}

Tabel 1. Klasifikasi PTG¹²

Lesi molar
Mola hidatidosa komplis
Mola hidatidosa parsial
Mola invasif
Lesi nonmolar
Koriokarsinoma
<i>Placental site trophoblastic tumor</i> (PSTT)
<i>Epithelioid trophoblastic tumor</i> (ETT)
Lesi jinak nonneoplastik
<i>Exaggerated placental site</i> (EPS)
<i>Placental site nodule</i> (PSN)

Saat ini, ETT dipertimbangkan sebagai varian dari PSTT.^{9,13} ETT baru dideskripsikan karena sangat jarang ditemukan, bahkan lebih jarang dari PSTT.⁹

Koriokarsinoma adalah tumor epitel yang sangat ganas, dapat berkaitan dengan tipe kehamilan apapun, paling sering dengan mola hidatidosa komplit. Koriokarsinoma merekapitulasi diferensi-siasi sel-sel sitotrofoblas pada kehamilan awal dan dapat timbul dari transformasi neoplastik sitotrofoblas. Sitotrofoblas neoplastik, mirip dengan sel sitotrofoblas yang normal, mempertahankan kapasitas untuk berdiferensiasi menjadi sinsitiotrofoblas dan trofoblas intermediet. Campuran dari sito-trofoblas, sinsitiotrofoblas dan trofoblas intermediet adalah karakteristik dari koriokarsinoma. Sitotrofoblas dan trofoblas intermediet cenderung untuk bertumbuh berkelompok dan membentuk lembaran, yang dipisahkan oleh sitotrofoblas, membentuk karakteristik pola pertumbuhan dimorfik. Pada koriokarsinoma, persentase dari trofoblastik intermediet bervariasi dari 1-90%. Penelitian memperkirakan bahwa translokasi β -catenin ke nukleus berkontribusi terhadap proliferasi sel-sel trofoblas pada koriokarsinoma.^{8,12}

Seperti halnya pada mola komplit, *upregulation* dari onkoprotein c-myc, c-erb-2, c-fms, dan bcl-2 secara sinergis berperan penting dalam patogenesis koriokarsinoma. Analisis mutasi *K-ras* dan *p53* tidak memperlihatkan adanya mutasi gen-gen tersebut pada koriokarsinoma, namun ekspresi berlebih *p53* kadang-kadang ditemukan. Gen-gen lain yang berpotensi terlibat dalam perkembangan koriokarsinoma adalah *DOC-2/hDab2*, *ras GTPase activating protein*, dan *HLA-G*.^{8,12}

Regulasi invasi trofoblas ke dalam jaringan maternal dikontrol oleh serangkaian interaksi antara trofoblas ekstravili dengan molekul yang berasal dari desidua. Molekul *transforming growth factor* (TGF)- β dan TGF- β -*binding proteoglycan decorin* yang melokalisasi TGF- β di matriks ekstrasel desidua menghambat pertumbuhan, migrasi, dan invasi sel trofoblas ekstravili. Trofoblas neoplastik bersifat resisten terhadap regulasi negatif dari TGF- β sehingga sel-sel trofoblas terus bertumbuh, migrasi, dan menginvasi jaringan sekitarnya.¹⁴

EPS adalah lesi nonneoplastik jinak yang dikarakterisasi dengan penambahan jumlah sel-sel trofoblas intermediet tempat implantasi yang menginfiltrasi endometrium dan miometrium. Sel-sel trofoblas pada EPS mempunyai profil morfologi dan imunofenotip yang sama dengan sel-sel trofoblas intermediet tempat implantasi pada plasenta normal. EPS dapat terjadi pada kehamilan normal, aborsi pada trimester pertama, atau kehamilan molar terutama mola komplit.^{8,12}

PSTT terbentuk dari sel-sel trofoblas intermediet tempat implantasi neoplastik, yang merupakan tipe sel yang dominan pada PSTT (Tabel 2). Berbeda dengan invasi trofoblas intermediet ke tempat implantasi yang terbatas hingga sepertiga kedalaman miometrium pada kehamilan normal,^{8,14} sel-sel tumor PSTT sangat invasif dan berinfiltrasi sangat dalam ke miometrium, kadang-kadang hingga berpenetrasi hingga ke serosa.^{8,12} Pada plasenta normal, fusi sel-sel trofoblas intermediet tempat implantasi yang mononukleus menjadi sel-sel multinukleus diikuti hilangnya fenotip invasif dan migrasi. Hal itu didukung oleh pengamatan histologis bahwa sel-sel trofoblas intermediet tempat implantasi multinukleus lebih banyak

pada normal atau EPS dibandingkan dengan pada PSTT.¹² Imunohistokimia dengan HLA-G, hPL, dan CD146 (Mel-CAM) positif difus pada PSTT (Tabel 2). PSTT juga berkaitan dengan ekspresi abnormal dari *cyclins*, *cyclin-dependent kinases*, dan *p53*.^{8,12,15}

PSN adalah nodul kecil berupa gabungan sel-sel trofoblas intermediet tipe korion yang tertanam dalam stroma terhalialisasi.^{8,12} PSN adalah lesi nonneoplastik jinak dan sering ditemukan pada saat kuretase uterus, biopsi servikal, dan kadang-kadang pada spesimen histektomi.¹² Sel trofoblas pada PSN mempunyai morfologi dan imunofenotip yang mirip dengan trofoblas intermediet tipe korion, namun berbeda dengan trofoblas intermediet tempat implantasi (Tabel 2).^{8,12}

ETT merupakan bentuk varian dari PSTT, mewakili bentuk malignan dari PSN. Pasien biasanya mengalami pendarahan vagina dengan sedikit peningkatan level hCG.¹³ ETT adalah tipe malignan dari PTG yang sangat jarang ditemukan, bahkan lebih jarang dari PSTT.⁹ Secara histologis, ETT

adalah nodular, terbatas walau mungkin terdapat infiltrasi fokal di periferi. Tumor terdiri atas sel-sel trofoblas tipe korion. Sejumlah studi menunjukkan hubungan yang dekat antara ETT dengan PSN, namun diperlukan studi genetika molekuler lebih lanjut untuk mengkonfirmasi hal itu.^{8,12}

Berdasarkan gambaran morfologis dan imunofenotip (Tabel 2), PTG nonmolar dapat dihubungkan dengan subpopulasi trofoblas yang berbeda.

Regulasi proliferasi jaringan trofoblas membutuhkan keseimbangan antara ekspresi protoonkogen dengan gen-gen penekan tumor. Kesalahan dalam regulasi tersebut dapat menyebabkan hilangnya kontrol terhadap proliferasi sel, penghentian siklus sel, dan apoptosis yang mengarah pada tumorigenesis. Trofoblas berkembang dalam lingkungan yang unik, kaya akan hormon dan berbagai faktor tumbuh sehingga keseimbangan antara semua faktor intrinsik dan ekstrinsik sangat penting. Gangguan terhadap keseimbangan tersebut dapat menyebabkan perkembangan berlebihan dari jaringan trofoblas.¹

Tabel 2. Profil Ekspresi Gen pada Subpopulasi dan Lesi Trofoblas⁸

Tipe trofoblas	Lesi	HLA -G	hPL	hCG	Cyclin E	P63	CD146	HNK 1	E- cad
Sitotrofoblas	KK	-	-	-	+	++	-	-	++
Sinsitiotrofoblas		-	++	++	-	-	-	-	-
TI vili		++	-/++	-	-/++	-	-/++	++	++/-
TI tempat implantasi	EPS, PSTT	++	++	-a	++	-	++	-	+
TI tipe korion	PSN, ETT	++	+	-	+ ^b	++	+	-	++

Ket: KK: koriokarsinoma; TI: trofoblas intermediet; EPS: *exaggerated placental site*; PSTT: *placental site trophoblastic tumor*; PSN: *placental site nodule*; ETT: *epithelioid trophoblastic tumor*

a: kecuali pada sel-sel trofoblas intermediet multinukleus

b: pewarnaan Cyclin E difus pada ETT, namun sangat fokal pada PSN dan TI tipe korion

Tabel 3. Regulator Molekuler yang Berkaitan dengan Patogenesis PTG¹

		Ekspresi gen berubah pada		
	Gen	Mola hidatidosa komplit	Mola hidatidosa parsial	Koriokarsinoma
Gen penekan tumor	<i>p53</i>	↑	↑	↑
	<i>p21</i>	↑	-	↑
	<i>Rb</i>	↑	-	↑
Onkogen	<i>c-erb-B-2</i>	↑	-	↑
	<i>Bcl-2</i>	↓	↓	↓
	<i>k-ras</i>	-	-	-
	<i>Mdm-2</i>	↑	↑	↑
Regulator molekuler lainnya	<i>Telomerase</i>	↑	↑	↑
	<i>E-cadherin</i>	↓	↓	↓
	<i>B-catenin</i>	↓	↓	↓

Ket: (↑ = up regulation, ↓ = down regulation, - = tidak ada perbedaan) ketika dibandingkan dengan normal

Sejumlah onkogen dan gen penekan tumor telah dipelajari pada PTG. Ekspresi gen-gen penekan tumor yaitu *p53*, *p21*, *Rb* dan beberapa onkogen yaitu *EGFR*, *Mdm2*, *c-erb*, dan *bcl-2* telah dipelajari pada PTG melalui berbagai penelitian (Tabel 3).¹

Sejumlah penelitian mengaitkan perubahan pada gen-gen *genomic imprinting* dengan patogenesis PTG.^{4,16} Gen *H19* yang diturunkan secara maternal terekspresi pada jaringan plasenta dan fetus dan ekspresinya ditekan setelah bayi lahir, sedangkan *IGF2* yang diturunkan secara paternal diekspresikan pada jaringan normal. Ekspresi bi-alelik dari kedua gen tersebut ditemukan pada PTG, walaupun kariotipenya adalah paternal. Tingkat ekspresi *H19* lebih tinggi pada mola hidatidosa komplit dibandingkan normal. Penurunan ekspresi *H19* dan peningkatan *IGF2* berkaitan dengan progresi mola hidatidosa menjadi koriokarsinoma.⁴ Penelitian oleh Shahib et al. (2006) menunjukkan bahwa gen *HASH2* yang diwariskan secara paternal tidak diekspresikan pada mola hidatidosa, namun diekspresikan pada

bentuk malignan dari PTG yaitu mola invasif, koriokarsinoma, dan PSTT.¹⁶

Studi klinik, patologi, dan molekuler telah menyediakan pemahaman tentang patogenesis mola hidatidosa, namun dasar molekuler dan seluler dalam perkembangan GTT masih sedikit dipahami. Analisis molekuler GTT didasarkan pada karakterisasi profil ekspresi gen pada berbagai tipe neoplasma dan pola ekspresi gen yang unik pada subpopulasi trofoblas yang berbeda pada plasenta normal. Setelah transformasi neoplastik dari sel punca trofoblas, yang diperkirakan adalah sel punca sitotrofoblas, program diferensiasi yang spesifik mengatur tipe tumor trofoblas yang berkembang. Koriokarsinoma adalah tumor trofoblas yang paling primitif, sedangkan PSST dan ETT relatif lebih berdiferensiasi. Koriokarsinoma terdiri atas sitotrofoblas, sinsitiotrofoblas, dan trofoblas intermediet ekstravili dalam jumlah yang bervariasi dan mirip dengan blastosis previli yang terdiri atas campuran subpopulasi trofoblas yang sama.¹⁵ EPS dan PSTT berkaitan dengan diferensiasi trofoblas intermediet tempat implantasi, sedangkan PSN dan ETT berkaitan

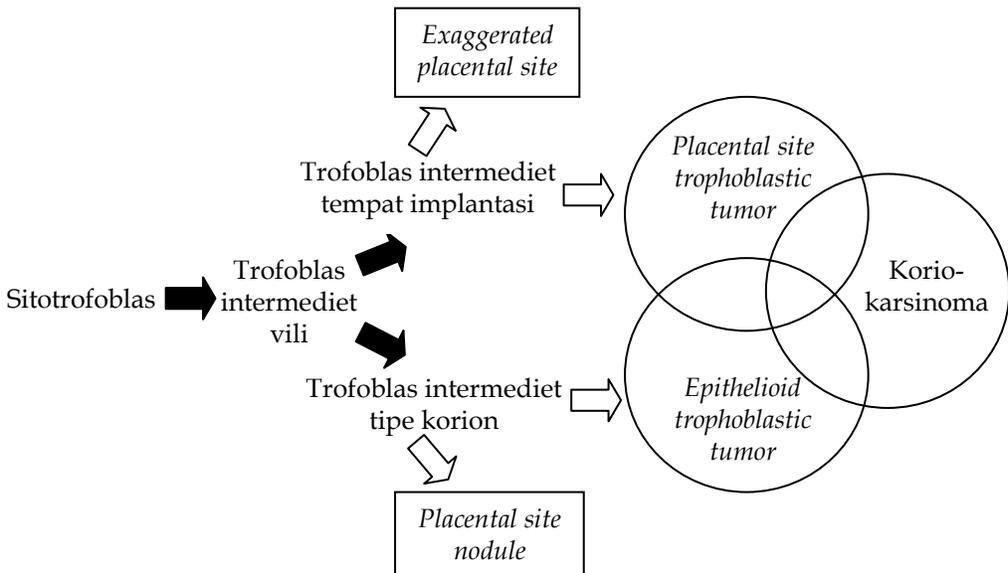
dengan trofoblas intermediet tipe korion.^{12,15} Koriokarsinoma berkaitan dengan trofoblas previli. Meskipun setiap tumor trofoblastik intermediet mempunyai karakter yang berbeda, kadang-kadang lesi trofoblastik memperlihatkan gambaran histologis campuran antara koriokarsinoma, PSTT, dan ETT yang memperlihatkan plastisitas dari diferensiasi trofoblas pada berbagai tumor tersebut (Gambar 1).¹²

Patologi Penyakit Trofoblas Gestasional

Kehamilan molar dan TTG semua berawal dari trofoblas plasenta.^{2,10} Mola hidatidosa berasal dari trofoblas vili, koriokarsinoma terbentuk dari trofoblas

vili yang ganas, sedangkan PSTT dan ETT ekuivalen trofoblas intermediet ekstravili yang malignan.^{10,13}

Shahib *et al.* (2001) meneliti asal-usul genetik dari neoplasma trofoblastik malignan dengan menggunakan penanda polimorfik *Sequence Tag Site* (STS). Hasil penelitian menunjukkan bahwa neoplasma trofoblastik dapat berasal dari tiga macam asal-usul yaitu androgenesis, fertilisasi normal, dan partenogenesis. Kehamilan sebelumnya tidak selalu identik dengan konsepsi penyebab terjadinya neoplasma trofoblastik. Hasil penelitian juga memperlihatkan bahwa PSST mungkin memiliki mekanisme karsinogenesis yang berbeda dengan neoplasma trofoblastik lainnya karena kontribusi paternal dan maternal yang dominan.¹⁷



Gambar 1. Diferensiasi Subpopulasi Trofoblas dan Hubungannya dengan Berbagai Subpopulasi Trofoblas Intermediet pada Nonmolar GTT¹²

Mola Hidatidosa

Mola hidatidosa adalah kehamilan abnormal yang dikarakterisasi oleh proliferasi trofoblas dengan tingkat yang bervariasi dan pembengkakan vesikula dari vili plasenta yang berkaitan dengan ketiadaan atau abnormalitas fetus.²

Mola hidatidosa komplit mengalami pembesaran vili tanpa adanya fetus atau embrio, trofoblas hiperplasia dengan tingkat atipia yang bervariasi, dan tidak ada kapiler-kapiler vili.^{1,2,10} Secara makroskopis, vili pada mola hidatidosa komplit tampak seperti rangkaian buah anggur.^{1,18} Hampir 90% dari mola komplit adalah 46, XX, berasal dari duplikasi kromosom sperma haploid setelah memfertilisasi telur dengan kromosom maternal tidak ada atau inaktif. Sepuluh persen mola komplit adalah 46, XY atau 46, XX, sebagai hasil dari fertilisasi telur kosong oleh dua buah sperma (dispermi).^{2,4,6,10} Beberapa studi memperlihatkan pasien dengan penyakit berulang adalah molar biparental yang dapat bersifat familial atau sporadik (Gambar 2). Kondisi ini berkaitan dengan mutasi *missense* pada gen NLRP7 pada kromosom 19q13.3-13.4.^{2,10} Neoplasia trofoblastik (mola invasif atau koriokarsinoma) terjadi setelah mola komplit pada 15-20% kasus.^{2,9}

Mola hidatidosa parsial memperlihatkan adanya jaringan fetus atau embrionik, vili korion dengan edema fokal yang bervariasi dalam bentuk dan ukuran, inklusi trofoblas stroma, sirkulasi pada vili, hiperplasia trofoblas fokal dengan atipia sedang, proliferasi terbatas pada sinsitiotrofoblas. Sebagian besar mola parsial mempunyai kariotipe triploid (biasanya 69, XXY), kadang-kadang tetraploid (92, XXXY) sebagai hasil fertilisasi ovum

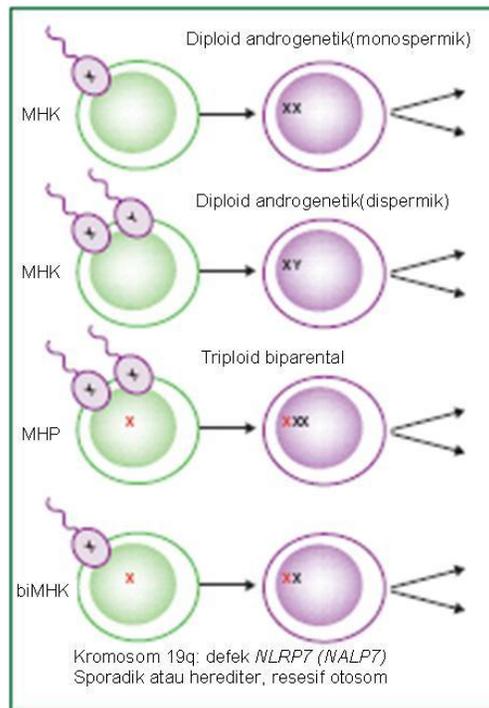
normal oleh dua sperma (Gambar 2).^{1-3,6,10,14} Kurang dari 5% mola parsial akan berkembang menjadi TTG dan jarang terjadi metastase.^{2,12} Penanganan kehamilan molar dengan kuretase atau histerektomi tergantung pada keinginan untuk mempertahankan fertilitas.^{7,19}

Mola Invasif

Mola invasif adalah tumor jinak yang berasal dari invasi mola hidatidosa ke miometrium dengan perluasan langsung melalui jaringan atau saluran vena. Invasi vili korion hidropik ke miometrium disertai proliferasi sitotrofoblas dan sinsitiotrofoblas.⁶ Kurang lebih 10-17% mola hidatidosa akan menjadi mola invasif, dan sekitar 15% akan bermetastase ke paru-paru atau vagina. Mola invasif lebih sering didiagnosis secara klinis daripada patologis, yaitu berdasarkan peningkatan hCG persisten setelah evakuasi mola dan sering ditangani dengan kemoterapi tanpa diagnosis histopatologi.² Gambaran histopatologi mola invasif sama dengan mola hidatidosa komplit, namun terdapat invasi ke miometrium.¹

Koriokarsinoma

Koriokarsinoma adalah penyakit ganas yang dikarakterisasi oleh hiperplasia trofoblas abnormal dan anaplasia, ketiadaan vili korion, pendarahan, dan nekrosis, dengan invasi langsung ke miometrium dan invasi vaskular yang menghasilkan penyebaran ke tempat-tempat jauh, biasanya ke paru-paru, otak, hati, pelvis dan vagina, ginjal, usus, dan limpa.^{2,13} Secara makroskopis, jaringan koriokarsinoma terlihat lunak, berwarna ungu, dan sangat hemoragik.¹



Gambar 2. Asal Mula Kariotipe Mola Hidatidosa Komplit dan Parsial, serta Mola Hidatidosa Komplit Biparental¹⁰
 MHK=Mola Hidatidosa Komplit, MHP=Mola Hidatidosa Parsial,
 biMHK= Mola Hidatidosa Komplit Biparental
 Materi genetik dari ayah berwarna hitam, sedangkan dari ibu berwarna merah

Koriokarsinoma dilaporkan terjadi berkaitan dengan berbagai kejadian kehamilan. Kurang lebih 25% kasus terjadi setelah aborsi atau kehamilan di tuba, 25% berkaitan dengan kehamilan *term* atau *preterm*, dan 40-80% berasal dari mola hidatidosa, walaupun hanya 2-3% mola hidatidosa menjadi koriokarsinoma.^{2,13} Melalui teknik genetika molekuler, termasuk *restriction fragment-length polymorphism assays*, diperoleh fakta bahwa koriokarsinoma setelah mola hidatidosa komplit adalah androgenetik, sedangkan yang berkembang dari kehamilan normal adalah biparental.¹³

Placental Site Trophoblastic Tumor (PSTT)

PSTT adalah penyakit yang sangat jarang, berasal dari tempat implantasi plasenta dan terdiri atas trofoblas intermediet mononukleus tanpa infiltrasi vili korion pada lembaran atau *cords* antara serabut miometrium. PSTT berkaitan dengan sedikit invasi vaskular, nekrosis, dan pendarahan dibandingkan koriokarsinoma, dan mempunyai kecenderungan untuk metastasis limfatik.^{2,20} Metastase dapat ke paru-paru, otak, hati, saluran reproduksi bawah, dan abdomen.¹⁸ PSTT hanya sedikit mensekresikan hCG.¹ Pewarnaan imunohistokimia menunjukkan adanya keberadaan

sitokeratin yang difus dan hcG yang fokal. Studi sitogenetik menunjukkan bahwa PSTT lebih sering adalah diploid daripada aneuploid.² Kebanyakan PSTT (60%) mengikuti kehamilan non-molar,^{2,9,14} aborsi spontan ($\pm 15\%$) atau mola hidatidosa (20%).⁶ Sebanyak sepertiga penderita PSTT positif pada saat tes kehamilan.¹⁸ Tumor ini relatif resisten terhadap kemoterapi sehingga penanganannya dengan histerektomi.¹⁹⁻²⁰

Epithelioid trophoblastic tumor (ETT)

ETT adalah varian dari PSTT yang menstimulasi karsinoma. Berdasarkan gambaran morfologi dan histokimia, ETT berkembang dari transformasi neoplastik trofoblas intermediet tipe korion. ETT sangat jarang ditemukan, sebagian besar ETT muncul beberapa tahun setelah kehamilan normal (*full-term*).²

Gambaran klinikopatologis dari PTG diperlihatkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Gambaran Klinikopatologis dari PTG¹⁻²

PTG	Gambaran Patologis	Gambaran Klinis
Mola hidatidosa komplrit	46, XX; 46, XY Tidak ada fetus/embrio Pembengkakan vili yang difus Hiperplasia trofoblas yang difus Tidak ada <i>scalloping</i> vili korion	Setelah 2 kehamilan molar, risiko kehamilan molar ke-tiga adalah 15-20% hCG >100.000mIU/mL Komplikasi medis
Mola hidatidosa parsial	Triploid (69, XXY; 69, XYY; 69 XXX) Ada fetus/embrio abnormal Pembengkakan vili yang fokal Hiperplasia trofoblas yang fokal Ada <i>scalloping</i> vili korion	<5% berkembang menjadi neoplasia trofoblastik hCG <100.000mIU/mL Komplikasi medis jarang
Mola invasif	Invasi miometrium Vili membengkak Hiperplasia trofoblas	15% metastasis ke paru-paru/vagina Lebih sering didiagnosis secara klinis dibandingkan patologis
Koriokarsinoma	Hiperplasia trofoblas abnormal dan anaplasia Tidak ada vili Pendarahan, nekrosis	Pembuluh darah menyebar ke tempat jauh, paru-paru/otak/hati Penyakit ganas
PSTT	Se-sel tumor menginfiltrasi miometrium dengan invasi vaskular/limfatik Tidak ada vili Sedikit pendarahan dan nekrosis Sel-sel tumor positif pada pewarnaan <i>human placental lactogen</i> (hPL)	Sangat jarang Kadar hCG adalah indikator yang kurang dapat dipercaya Relatif kemoresisten Penanganan terutama dengan pembedahan

Diagnosis Patologis Penyakit Trofoblas Gestasional

Pemeriksaan histologis merupakan standar emas dalam diagnosis kehamilan molar.⁹ Diagnosis patologis dari mola hidatidosa komplit dan parsial dilakukan melalui pemeriksaan patologi anatomi pada spesimen kuretase. Secara mikroskopis, pada mola hidatidosa komplit terdapat stroma vili korialis yang oedematus, tanpa vaskularisasi, disertai hiperplasia dari sel sitotrofoblas dan sinsitiotrofoblas. Gambaran patologi anatomi pada mola hidatidosa parsial adalah vili korialis dari berbagai ukuran dengan degenerasi hidropik, kavitasi, dan hiperplasia trofoblas, *scalloping* yang berlebihan dari vili, inklusi stroma trofoblas yang menonjol, ditemukan jaringan embrio atau janin.⁷

Penggunaan petanda-petanda imunohistokimia membantu dalam diagnosis dan prognosis, walaupun belum semua petanda digunakan secara rutin di laboratorium. Pewarnaan imunohistokimia p57^{kip2} (gen pada kromosom 11p15.5 yang diekspresikan secara maternal)¹⁴ dapat membedakan mola komplit (negatif) dari mola parsial (positif, sitotrofoblas dan mesenkim vili terwarna), sedangkan hibridisasi *in situ* atau *flow cytometry* dapat membedakan mola komplit diploid dari mola parsial triploid.^{2, 9-10} Para peneliti terus mencoba meningkatkan sensitivitas dan spesifisitas diagnostik sehingga baru-baru ini, *PCR-based short tandem repeat DNA genotyping* muncul sebagai metode untuk diagnostik mola hidatidosa.²¹

Diagnosis patologis mola invasif, koriokarsinoma, PSTT, dan ETT dilakukan dari hasil kuretase, biopsi lesi metastatik, histerektomi spesimen atau plasenta.² Pada mola invasif ditemukan vili korialis di antara otot-otot miometrium. Gambaran patologi anatomi koriokarsinoma menunjukkan adanya sel-sel trofoblas yang atipik,

tanpa vili korialis, disertai hemoragi dan nekrosis. Koriokarsinoma berupa tumor bilaminar dengan sitotrofoblas sebagai pusat yang dikelilingi sinsitiotrofoblas dan sedikit trofoblas intermediet.¹⁸ Ciri-ciri PSTT adalah tampak sel-sel trofoblas intermediet, inti polimorf, hiperkromatis, mitosis ditemukan, sitoplasma eosinofil, perdarahan dan nekrosis minimal.⁷ ETT berbentuk nodular, mempunyai batas yang jelas dengan sel-sel yang berinfiltrasi di perifer. Sel-sel tumor ETT terlihat sebagai susunan sel-sel trofoblas intermediet tipe korion yang mononuklear dan bercampur dengan hialinisasi stroma dan area nekrosis, mitosis ditemukan.^{8, 12-13}

Imunohistokimia untuk *human placental lactogen*, inhibin- α , HLA-G, dan Mel-CAM (CD146) positif pada trofoblas ekstravili. Cyclin E diekspresikan pada kolom trofoblas dari vili yang tertanam pada plasenta, trofoblas ekstravili tempat implantasi, dan koriokarsinoma.¹⁴ Imunohistokimia untuk koriokarsinoma memperlihatkan hasil positif untuk PLAP dan β -HCG, dengan pewarnaan lemah atau negatif untuk hPL. Imunohistokimia PSST memperlihatkan positif difus untuk HLA-G dan hPL, β -HCG positif lemah, namun terwarna kuat oleh CD146 (Mel-CAM).^{8-9, 12} Imunohistokimia ETT mirip dengan PSTT, kecuali lebih kuat untuk PLAP dan lebih lemah pada pewarnaan hPL dan CD 146.⁹

Penutup

Tujuan utama penelitian penyakit kanker adalah mengidentifikasi mekanisme molekuler perkembangan kanker, lalu mendeteksi *marker* (petanda) molekuler dan menjadikan mekanisme tersebut sebagai target untuk obat yang didisain spesifik untuk menyerang sel-sel kanker. Petanda

kanker adalah indikator berupa substansi biokimia yang mengindikasikan perilaku kanker pada saat ini dan saat yang akan datang.

Karakteristik molekuler dari sebagian besar kanker belum diketahui secara lengkap dan belum ada petanda yang valid untuk deteksi dini dan target terapi untuk kanker tersebut. Sebagian besar diagnosis kanker berdasarkan pemeriksaan morfologis dari spesimen biopsi tumor, namun pendekatan ini mempunyai keterbatasan dalam memprediksi potensi progresi tumor dan respons terhadap pengobatan. Dewasa ini, para peneliti mencari sistem klasifikasi berdasarkan patogenesis molekuler. Sejumlah studi ekspresi gen-gen menjanjikan diagnosis dan prognosis yang lebih jelas, prediksi respons terhadap pengobatan, dan identifikasi target-target potensial untuk terapi.

Terdapat heterogenitas yang sangat besar di antara pasien kanker sehingga respons terhadap terapi beragam. Selain itu, sebagian besar obat kanker adalah agen toksik yang mempengaruhi pertumbuhan sel, sehingga berefek negatif terhadap sel-sel normal dalam tubuh. Penggunaan petanda dapat memastikan bahwa setiap pasien menerima obat yang efektif untuk tumor secara individual dengan cara meningkatkan tingkat respons terhadap obat dan mengurangi toksisitas. Selain meningkatkan efektivitas terapi, petanda berpotensi menurunkan biaya pengobatan dengan menghindari terapi yang tidak efektif dan biaya untuk menangani efek samping, apalagi bila petanda dapat mendeteksi kanker secara dini.

Seperti halnya pada penyakit keganasan lainnya, para peneliti yang tertarik mempelajari PTG berusaha memahami mekanisme molekuler perkembangan ke arah keganasan pada

PTG, dengan harapan mendapatkan petanda kanker yang tidak hanya diduga berperan dalam penyakit ini, namun melewati sejumlah tahapan dalam pencarian dan validasi petanda kanker untuk diagnostik, prognostik, dan target terapi.

Namun berbeda dengan begitu maraknya penelitian pada berbagai jenis kanker yang lain, jumlah dan kedalaman penelitian yang berkaitan dengan patogenesis molekuler PTG relatif terbatas. Hal ini mungkin berkaitan dengan insidensi PTG yang relatif rendah di negara-negara maju. Untuk masyarakat Indonesia, PTG adalah masalah yang penting karena insidensinya tinggi, faktor risiko banyak, prognosis buruk untuk jenis malignan, dengan penyebaran yang merata. Walaupun terdapat kecenderungan penurunan insidensi, namun banyak ditemukan kasus-kasus dalam keadaan lanjut. Sering ditemukan PTG dengan diagnosis, umur pasien, skor prognostik yang sama ditangani dengan terapi yang sama, namun diperoleh luaran hasil rawat yang berbeda. Keadaan ini menunjukkan bahwa dibutuhkan upaya untuk menggali keilmuan mengenai karakteristik biologis PTG yang dapat diterapkan untuk memecahkan masalah klinis.

Salah satu masalah pada PTG adalah bahwa setelah didiagnosis mengalami kehamilan mola, bertahun-tahun kemudian sebagian pasien diketahui mengalami keganasan dan membutuhkan kemoterapi. Oleh karena itu dibutuhkan uji prognostik pada diagnosis mola untuk mengidentifikasi mola yang dapat berkembang menjadi ganas secara dini.

Koriokarsinoma adalah salah satu kanker pada manusia yang sangat responsif terhadap kemoterapi, bahkan koriokarsinoma dengan metastase dapat ditangani dengan kemoterapi kombinasi

dan prosedur pembedahan ajuvan. Namun demikian, sebagian pasien karsinoma mengalami kekambuhan setelah pengobatan pertama. Berbeda dari koriokarsinoma, PSTT dan ETT lebih sukar disembuhkan dengan kemoterapi konvensional sehingga berkembang menjadi metastatik dan menyebabkan kematian. Oleh karena itu, obat terapi baru diperlukan untuk meningkatkan efikasi dan mengurangi efek toksik dari kemoterapi, terutama obat kombinasi dan menyelamatkan pasien PTG metastasis yang resisten kemoterapi.

Pengembangan terapi baru akan sulit dilakukan tanpa upaya yang terus menerus untuk memahami biologi dari PTG dengan jelas. Pengobatan dengan target molekuler yang didesain untuk menginaktivasi jalur molekuler yang penting untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup sel tumor merupakan pengobatan yang dinantikan. Berbeda dari kemoterapi standar yang berpengaruh terhadap sel-sel yang berproliferasi, inhibitor-inhibitor dengan target jalur yang spesifik akan secara selektif mengeliminasi sel-sel tumor untuk mencapai efek terapi maksimum dengan efek samping minimum. Contoh agen antikanker baru adalah gefinitib, inhibitor kinase dengan EGFR sebagai target dan trastuzumab berupa antibodi dengan reseptor ERBB2 sebagai target.¹⁵

Meskipun terdapat ketertarikan yang besar untuk mengeksplorasi patogenesis dari PTG, studi aspek molekuler pada PTG adalah suatu tantangan karena beberapa sebab. Pertama, PTG adalah penyakit yang jarang di negara maju sehingga spesimen jaringan, terutama dari jaringan segar sulit diperoleh. Kedua, Tumor Trofoblas Gestasional sering tidak dikarakterisasi secara histologis, namun diklasifikasikan secara klinis

sebagai *Persistent Gestational Trophoblastic Disease* (PTD) bila kadar β -hCG serum meningkat atau tetap. Pada keadaan ini, apakah PTD adalah mola hidatidosa invasif, koriokarsinoma metastasis, PSTT, atau ETT tidak dapat diketahui. Ketiga, berkaitan dengan keterbatasan di atas, reagen seperti lini sel dan model hewan untuk studi mekanisme sangat terbatas. Sebagai contoh, hanya beberapa lini sel koriokarsinoma dan satu lini sel PSTT yang tersedia untuk studi biologi sel dan molekuler.¹⁵

Terlepas dari tantangan yang ada, berbagai penelitian telah dilakukan untuk memahami etiologi molekuler PTG. Perkembangan dalam studi molekuler sel-sel pada plasenta normal dan lesi trofoblastik serta identifikasi gen-gen yang diekspresikan pada trofoblas manusia membantu menjelaskan tentang patogenesis lesi trofoblas yang menyediakan dasar untuk diagnosis patologis dan molekuler dari berbagai tipe tumor trofoblas, pencarian petanda genetik untuk prognosis, dan penentuan target-target terapi potensial bagi bentuk metastatis dari PTG yang resisten terhadap pengobatan konvensional.

Daftar Pustaka

1. Alazzam M, Tidy J, Hancock BW, Powers HJ. Gestational trophoblastic neoplasia, an ancient disease: new light and potential therapeutic targets. *Anticancer Agents Med Chem.* 2010;10:176-85.
2. Lurain J. Gestational trophoblastic disease I: epidemiology, pathology, clinical presentation and diagnosis of gestational trophoblastic disease. *Am J Obstet Gynecol.* 2010;531-39.
3. Berkowitz R. Gestational trophoblastic disease. In: Berek J, editor. *Novak's gynecology.* 13 ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.

4. Lewin S, Herzog TJ. Current perspectives on gestational trophoblastic disease. *Women's Oncol Rev.* 2003;3:109-16.
5. Slim R, Mehio A. The genetics of hydatidiform moles: new lights on an ancient disease. *Clin Genet.* 2007;71:25-34.
6. Crum C. The female genital tract. In: Kumar VAA, Fausto N, editor. *Robbins and Contran pathologic basis of disease* 7ed. Philadelphia: Elsevier Saunders; 2005.
7. Martaadisoebrata D. Buku pedoman pengelolaan penyakit trofoblas gestasional. 1st, editor. Jakarta: EGC; 2004.
8. Shih I, Kurman RJ. Pathogenesis of gestational trophoblastic lesions. In: Giordano A BA, Kurman R, editor. *Current Clinical Oncology: Molecular Pathology of Gynecologic Cancer.* Totowa: Humana Press, Inc; 2007. p. 157-66
9. Slavik T. Pathology of gestational trophoblastic neoplasia: a review with recent insight. *South Afr J Gynaecol Oncol.* 2010;2(2):56-60.
10. Secki M, Sebire NJ, Berkowitz RS. Gestational trophoblastic disease. *Lancet* 2010;376:717-29.
11. Lunghi L, Ferretti ME, Medici S, Biondi C, Vesce F. Control of human trofoblast function. *Reprod Biol Endocrinol.* 2007;5(6).
12. Shih I, Kurman RJ. Molecular basis of gestational trophoblastic diseases. *Curr Mol Med.* 2002;2:1-12.
13. Sebire N, Lindsay L. Current issues in the histopathology of gestational trophoblastic tumors. *Fetal Pediatr Pathol* 2010;29:30-44.
14. Wells M. The pathology of gestational trophoblastic disease: recent advances. *Pathology.* 2007;39(1):88-96.
15. Shih I. Gestational trophoblastic neoplasia-pathogenesis and potential therapeutic targets. *Lancet Oncol.* 2007;8:642-50.
16. Shahib M, Martaadisoebrata D, Kato H. Detection of hash2 (ascl2) gene expression in gestational trophoblastic disease. *J Reprod Med.* 2006;51:892-6.
17. Shahib N, Martaadisoebrata D, Kondo H, Zhou Y, Shinkai N, Nishimura C, et al. Genetic origin of malignant trophoblastic neoplasms analyzed by sequence tag site polymorphic markers. *Gynecol Oncol.* 2001;81:247-53.
18. Salafia C, Popek EJ. Placenta. In: Damjanov I, Linder J, editor. *Anderson's pathology.* 10 ed. St. Louis: Mosby-Year Book, Inc; 1996.
19. Schorge J, Goldstein DP, Bernstein MR, Berkowitz RS. Gestational trophoblastic disease. *Curr Treat Options Oncol.* 2000;1:169-75.
20. Lurain J. Treatment of gestational trophoblastic tumors. *Curr Treat Options Oncol.* 2002;3:113-24.
21. Hui P. Molecular diagnosis of gestational trophoblastic disease. *Expert Rev Mol Diagn.* 2010;10(8):1023-34.