



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**Instituto Nacional De Perinatología
ISIDRO ESPINOSA DE LOS REYES**

**PRONÓSTICO REPRODUCTIVO EN PACIENTES
MEXICANAS CON MOLA RECURRENTE Y SU RELACIÓN
CON LA MUTACIÓN DEL GEN *NLRP7***

T E S I S
Que para obtener el título de
ESPECIALIDAD EN
BIOLOGÍA DE LA REPRODUCCION HUMANA

PRESENTA:
Dra. Claudia Elizabeth Torres Navarro

**PROFESOR TITULAR DEL CURSO
DE ESPECIALIZACION**
Dr. Julio Francisco de la Jara Díaz

DIRECTOR DE TESIS
Dra. Mónica Aguinaga Ríos

ASESOR METODOLÓGICO
Dr Álvaro Santibañez Morales



México, Ciudad de México. 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

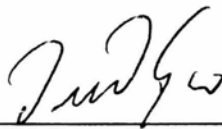
El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

HOJA DE AUTORIZACION DE TESIS

PRONÓSTICO REPRODUCTIVO EN PACIENTES MEXICANAS CON MOLA RECURRENTE Y SU RELACIÓN CON LA MUTACIÓN DEL GEN NLRP7

PRESENTA:

Dra. Claudia Elizabeth Torres Navarro



Dra. Viridiana Gorbea Chávez
Director de educación en ciencias de la salud



Dr. Julio Francisco de la Jara Díaz.
Profesor titular del curso de Biología de la reproducción Humana INPER



Dra. Mónica Aguinaga Ríos
Director de tesis
Coordinadora de Genética Clínica y Genómica INPER



Dr. Álvaro Santibañez Morales
Asesor metodológico
Profesor del curso de Biología de la Reproducción Humana INPER

CONTENIDO

HOJA DE AUTORIZACION DE TESIS	2
ANTECEDENTES	3
JUSTIFICACIÓN.....	9
OBJETIVOS	9
MATERIAL Y MÉTODOS.....	10
RESULTADOS.....	12
CONCLUSIONES	14
REFERENCIAS	16

ANTECEDENTES

El embarazo molar es una forma aberrante de embarazo con desarrollo embrionario anormal y proliferación excesiva del trofoblasto; se considera mola recurrente (MR) cuando se presentan dos o más embarazos molares.²

Los embarazos molares se presentan en 1 en 600-1000 embarazos en países occidentales, mientras que en países orientales como China y en América Latina, son más comunes y se reportan hasta 8 casos por cada 1000 embarazos. La forma más común es la esporádica, sin embargo entre 1-6% de las pacientes tendrán una segunda mola y se estima que un 10-20% presentarán un aborto posterior a una mola, por lo que se ha relacionado con desenlace perinatal adverso. Sólo el 1 al 9% de todos los embarazos molares serán casos de mola recurrente. Se ha demostrado en algunas poblaciones que la pérdida gestacional recurrente es más alta en pacientes con un embarazo molar previo, por lo que se cree, existe una susceptibilidad genética asociada a pérdidas reproductivas.^{2,6}

Los factores de riesgo asociados para presentar embarazo molar esporádico que se han reportado sin saber una relación causal, son: edad menor a 16 o mayor a 45 años, menarca tardía y uso de anticonceptivos.⁸

El embarazo molar se caracteriza por degeneración quística de las vellosidades coriónicas y desarrollo anormal fetal; histopatológicamente se dividen en dos tipos: completa y parcial, basados en la extensión de la proliferación del trofoblasto y la

ausencia o presencia de tejido embrionario. La mola parcial es más comúnmente triploide con un set extra de cromosomas haploides paternos o maternos (en caso de que no se expulse el cuerpo polar), por otro lado, las molas completas son diploides con cromosomas derivados completamente del padre, por lo que se denominan androgenéticas.³

La mola recurrente o familiar, es una patología poco común, con herencia autosómica recesiva con efecto materno, donde se hereda la predisposición a presentar múltiples embarazos molares.⁴ Clínicamente las pacientes con mola esporádica y recurrente no presentan diferencias, lo cual aumenta la importancia del análisis genético en pacientes con más de un embarazo molar para conocer el pronóstico reproductivo de las mismas. Se ha reportado que las molas familiares no son androgenéticas, por el contrario tienen un genotipo diploide normal con contribución de ambos padres.^{1,7}

El estudio extenso de los casos de mola recurrente nos ha llevado a la identificación de mutaciones en el gen *NLRP7* como uno de los responsables de esta condición, en el 80% de los casos familiares presentan mutaciones homocigotas o heterocigotas compuestas, como la primera causa probable de esta patología, con variaciones en cada población. En estudios de casos reportados, se ha encontrado hasta en un 48% en población de China, en un 60% en México y en el Reino Unido hasta en 80%.^{1, 4, 6, 10}

Otros estudios han encontrado que en ausencia de la mutación del gen *NLRP7*, la presencia de mutación en el gen *KHDC3L* puede presentarse hasta en un 20% de las pacientes.⁴

El gen *NLRP7* codifica para un receptor de pirina con diferentes funciones: a) respuesta a la inflamación, b) diferenciación y proliferación de tejido trofoblástico y es parte del citoesqueleto del ovocito. Se han encontrado más de 47 mutaciones (codones de paro prematuros, pequeñas deleciones, inserciones, rearrreglos complejos) en el 48 a 80% de los pacientes con mola recurrente. Las variaciones de estas mutaciones y su significancia clínica aún siguen en debate para conocer la relación potencial con molas.^{1,2,4,7}

Este gen se transcribe en varios tejidos humanos, incluyendo ovocitos no fertilizados, células hematopoyéticas, embriones preimplantatorios y endometrio, es un regulador negativo de la secreción de la caspasa 1 dependiente de interleucina IL-1 β la cual es proinflamatoria y activa varias respuestas inmunológicas. La transcripción del *NLRP7* disminuye posterior a la fertilización y durante el periodo preimplantatorio, hasta su nivel más bajo en día 3, para posteriormente aumentar significativamente en el día 3 al 5 que corresponde a la etapa de activación transcripcional del genoma embrionario; mientras que la IL-1 β se expresa en la luz uterina en el periodo de implantación y facilita la implantación del blastocisto, regula la actividad de proteasas y ayuda a la invasión endometrial del trofoblasto, por lo que se ha creado la hipótesis de que una estimulación

anormal del proceso inflamatorio, la interferencia con la diferenciación y proliferación del tejido trofoblástico y el embrión puede causar embarazos molares.

4,5,7

En un estudio realizado en población mexicana, Estrada y cols encontraron en un estudio de 20 pacientes con mola recurrente, una prevalencia de 60% de la mutación c-2248C >G (p.L750V) en estado homocigoto del gen *NLRP7*.¹⁰

Por otro lado, el gen *KHDC3L* codifica para un dominio del 3 KH se encuentra en el cromosoma 6, miembro del complejo de proteínas maternas subcorticales y esta mutado en 10 a 14% en las pacientes negativas a mutación del *NLRP7*. Hasta la fecha se han encontrado 4 mutaciones en pacientes con defecto de dos alelos; éste se ha identificado en varios tejidos también como ovocitos, embriones preimplantatorios así como células hematopoyéticas.^{2,7,13}

Aunque se conoce poco de estos genes, se ha encontrado que están relacionados con la inmunidad innata, llevándonos a la hipótesis que existe una respuesta inmunológica anormal en el embarazo temprano que causa desarrollo molar en estas concepciones.⁴

Una teoría alternativa es el rol de los genes *NLRP7* y *KHDC3L* en mantener la impronta materna dentro del ovocito, un número de genes que normalmente presentan metilación materna se ha demostrado que asumen un patrón epigenético paterno en el alelo materno en las molas completas; sugiriendo que las anomalías observadas en molas completas biparentales, como las

androgenéticas se asocian a la expresión aumentada de los genes paternos. 4,7 Cabe mencionar que se ha demostrado que la mola completa asociada a MR o casos familiares, no son de origen androgenético, si no que tienen genotipo diploide que proviene de ambos padres y son diploides biparentales. ¹

Según el estudio de Estrada y cols realizado en población mexicana en 50 parejas con pérdida gestacional recurrente, no se encontró la mutación gen *NLRP7*, entonces ésta no confiere susceptibilidad genética para dicha patología; por lo que no se sugiere en este tipo de pacientes realizar la búsqueda de dicha mutación. ¹⁰ . Así mismo un estudio de Aghajanova y cols encontró que no existe relación entre la mutación *NLRP7* y *KHDC3L* con pérdida gestacional recurrente e infertilidad de causa inexplicable. ¹²

No existe hasta el momento algún estudio que nos ayude a identificar el patrón de comportamiento en casos familiares o recurrentes de mola. Se ha identificado como ya fue mencionado previamente las mutaciones de los genes *NLRP7* y *KHDC3L*, sin embargo no existe hasta el momento un estudio que pueda realizar recomendaciones para mejorar el pronóstico reproductivo. El estudio más grande hasta la fecha se realizó por Eagles y cols (15) publicado en 2015; donde dieron seguimiento en un periodo de 20 años a 16,523 pacientes con embarazo molar, en el grupo de pacientes con 3 o más molas encontraron que el 91% de las molas eran completas, sólo el 9% eran parciales, por lo que el antecedente de una mola completa les confería a las pacientes un riesgo mayor de presentar nuevamente

una mola, además el diagnóstico de mola familiar o la mutación homocigota del *NLRP7*, no excluyen al 100% las posibilidades de tener un hijo vivo.¹⁴

Brown et al en 2013 reportaron el caso de una mujer con la mutación del *NLRP7* homocigoto (c.2738A>G) que logró después de 3 molas un embarazo de término con recién nacido sano. De todos los casos de mola recurrente con mutación homocigota sólo el 1% han logrado embarazos con recién nacido sano. Mientras que en un estudio de Fisher con 152 embarazos, encontraron que el 5% de las pacientes tuvieron al menos un embarazo normal.¹⁰

Las opciones reproductivas en las pacientes con mola recurrente biparental, con o sin historia familiar son limitadas; se ha intentado fertilización in vitro, ICSI o diagnóstico genético pre implantación, sin éxito hasta el momento.⁴

Hasta el momento se han reportado 3 casos de embarazos exitosos con ovodonación (Slim y cols).⁷

Otro reporte de Akoury y cols en 2015 encontró que 3 pacientes homocigotas para mutaciones en el gen *NLRP7* pudieron lograr recién nacidos vivos sanos mediante ovodonación. Mientras que en un estudio de 131 pacientes homocigotas se encontró que 5 de ellas lograron embarazos espontáneos con recién nacidos vivos, es decir sólo el 1% de las pacientes homocigotas puede lograr embarazo normal con ovocitos propios.²

JUSTIFICACIÓN

Conocer la relación fenotipo- genotipo de las pacientes con mola recurrente en la población mexicana y determinar un pronóstico reproductivo para estas pacientes.

OBJETIVOS

GENERALES

Conocer las mutaciones en el gen *NLRP7* en pacientes mexicanas con 2 o más embarazos molares.

ESPECÍFICOS

1. Conocer la relación entre el genotipo y el fenotipo de las pacientes con mola recurrente en México.
2. Conocer el estado de portadores en las mutaciones del gen *NLRP7* en la población mexicana con mola recurrente.
3. Tener información más amplia para asesoramiento genético y opciones de tratamiento en técnicas de reproducción asistida para las pacientes con mola recurrente.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyeron 19 pacientes con antecedente de dos o más embarazos molares de diferentes estados de la República Mexicana, invitándolas a participar en el estudio y tomando las muestras en el Instituto Nacional de Perinatología durante un periodo de dos años (2014-2016) . En caso de presentar familiares con mola recurrente también se invitó a la toma de muestra, así como a los padres de las pacientes.

Encontramos dos casos familiares, el primero, los casos número 13 y 14 de la tabla 3, las cuales son hermanas; el segundo caso familiar son los casos 17, 18 y 19, las cuales son hermanas con embarazos molares sin hijos vivos.

El análisis en el laboratorio de genética del Instituto Nacional de Perinatología lo realiza la Doctora en Ciencias Irma Eloisa Monroy Muñoz, extrayendo ADN en sangre periférica, con kit Wizard Genomic DNA purification Kit marca promega. Se evalúa la calidad y la cantidad mediante espectrofotometría empleando el equipo nanodrop de la marca thermo scientific. Se realizan alicuatas de 100 nanogramos por microlitro en el INPer y el resto se envía a Canadá con la Dra Rima Slim donde se realizó secuenciación de exoma completo.

En el análisis realizado en el INPer sólo se analizaron los exones 6 y 9 del gen *NLRP7* mediante secuenciación capilar empleado el equipo ABI3130 de APPLIED BIOSYSTEMS.

Para el estudio de las pacientes se dividieron en 3 grupos según el fenotipo y en 4 grupos según el genotipo como se describe en las tablas 1 y 2.

Tabla 1. Clasificación de fenotipo.

FENOTIPO	DESELANCE PERINATAL
1	SÓLO EMBARAZOS MOLARES
2	EMBARAZOS MOLARES Y EMBARAZO NO VIABLE
3	EMBARAZOS MOLARES E HIJOS VIVOS

Tabla 2. Clasificación de genotipo.

GENOTIPO	MUTACIÓN <i>NLRP7</i>
0	Sin mutación
1	mutación homocigoto PL750V
2	Mutación heterocigotos compuesto PL750V
3	Mutación Heterocigoto

RESULTADOS

Tabla 3. RESULTADOS

CASO	No. Molas	No. Abortos	Hijos vivos	Óbito- Muerte neonatal	RESULTADO <i>NLRP7</i>	GENOTIPO	FENOTIPO	FAMILIAR CON MOLA	ESTUDIO DE FAMILIARES
1	2	1	-	-	Heterocigoto PL750V, P.e340k	2	2	No	NA
2	6	-	-	-	Homocigoto p.L750V	1	1	No	NA
3	2	1	-	-	Homocigoto p.L750V	1	2	No	NA
4	2	1	-	-	Heterocigoto L750V+c.2810+2T>G	2	2	No	NA
5	3	2	-	-	Homocigoto L750V	1	2	No	NA
6	4	-	-	-	Homocigoto L750V	1	1	No	Mamá Heterocigota, Papá heterocigot
7	2	-	1	1	Normal	0	3	No	NA
8	4	-	-	-	Heterocigoto p.L750V	3	1	No	NA
9	4	-	-	-	Homocigoto p.L750V	1	1	No	Mamá Heterocigota Padre Heterocigoto
10	2	-	-	-	Normal	0	1	No	NA
11	2	-	-	-	Homocigota c.1168 del p.R390Afs	1	1	Hermana, prima paterna, tía paterna	NA
12	2	1	-	-	Homocigoto p.L750V	1	2	2 hermanas	NA
13	2	-	-	-	Homocigoto p.L750V	1	1	No	NA
14	1	-	-	-	Homocigoto p.L750V	1	1	No	NA
15	2	4	-	-	Homocigoto p.L750V	1	2	No	NA
16	5	-	-	-	Homocigoto p.L750V	1	1	No	NA
17	2	-	-	-	Homocigoto p.L750V	1	1	Si	NA
18	3	-	-	-	Homocigoto p.L750V	1	1	Si	NA
19	2	-	-	-	Homocigoto p.L750V	1	1	Si	NA

GENOTIPO O- Pacientes sin mutación en el gen *NLRP7*

Se encontraron 2 de las 19 pacientes con genotipo normal (10.5%) sin la mutación mencionada, en estas pacientes todas tuvieron 2 molas completas solamente, además que una de ellas tuvo un recién nacido vivo con embarazo logrado de manera espontánea.

GENOTIPO I- Pacientes homocigotas a la mutación del gen *NLRP7* p.L750V

Fue el genotipo encontrado más común con 14 de las 19 pacientes estudiadas (73.6%), en este grupo no encontramos pacientes con hijos vivos, sin embargo hubo 4 pacientes con síndrome de aborto, en dos de ellas se realizó búsqueda de

la mutación en ambos padres encontrado en un caso: madre heterocigota y padre heterocigoto, y en otro madre heterocigota y padre heterocigoto.

Cabe mencionar que en una de las 14 pacientes la mutación homocigota no fue la misma que en las anteriores, en el caso número 11 de la tabla 3, se encontró mutación homocigota no antes reportada en pacientes con mola c.1168 del p.R390Afs, por lo que este es una mutación nueva en este grupo de pacientes.

GENOTIPO 2- Pacientes heterocigotas compuestas *NLRP7*

Se encontraron 2 pacientes (10.5%) con esta alteración una para el p.e340k y otra c.2810+2T>G; ninguna de ellas tenía antecedente de hijos vivos y ambas tenían antecedente de abortos.

GENOTIPO 3- Pacientes heterocigotas *NLRP7* p.L750V

De las 19 pacientes estudiadas sólo una (5.2%) fue heterocigota para la mutación de este gen la cual presentaba antecedente de 4 molas completas sin hijos vivos.

TABLA 4. PROPORCIÓN GENOTIPO- FENOTIPO

Genotipo	TOTAL (n)	FENOTIPOS	
		FENOTIPO	Numero
Genotipo 0 (10.5%)	2	FENOTIPO 1	1
		FENOTIPO 2	1
		FENOTIPO 3	1
Genotipo 1 (73.6%)	14	FENOTIPO 1	10
		FENOTIPO 2	4
		FENOTIPO 3	0
Genotipo 2 (10.5%)	2	FENOTIPO 1	0
		FENOTIPO 2	2
		FENOTIPO 3	0
Genotipo 3 (5.2%)	1	FENOTIPO 1	1
		FENOTIPO 2	0
		FENOTIPO 3	0

CONCLUSIONES

En este estudio encontramos que la presencia de la mutación del gen *NLRP7* en pacientes con mola recurrente es similar a estudios previos (entre el 40-80% dependiendo de la población estudiada), el fenotipo más común es en el que la paciente sólo presenta molas; sin embargo no es posible encontrar una correlación clara entre el genotipo y el fenotipo en este grupo de pacientes para emitir una recomendación sobre el pronóstico en próximos embarazos.

En este estudio no hubo pacientes con mutación del gen (heterocigoto u homocigoto) que tuvieran hijos vivos, sin embargo lo reportado en la literatura sólo es del 1 al 5% y nuestra muestra fue sólo de 19 pacientes por lo que esa puede ser la causa de la ausencia de este parámetro.

Por la nula relación genotipo- fenotipo que nos permita realizar recomendaciones firmes sobre embarazos futuros en estas pacientes, además de las causas no definidas de la mola recurrente; la opción reproductiva para las pacientes con mola recurrente de componente diploide será la ovodonación y solamente en las pacientes con mola de origen androgenético se podrán beneficiar de fertilización in vitro y diagnóstico genético pre- implantación, para seleccionar embriones diploides para transferencia. El estudio de la mutación del gen *NLRP7* sólo nos puede aproximar al fenotipo probable más común, ya que se ha comprobado en todos los estudios previos que las molas en pacientes con dicha mutación son de

origen diploide; sin embargo existen hasta la fecha contradicciones en el pronóstico de estas pacientes y se deberá continuar la búsqueda de otros factores genéticos y ambientales.

REFERENCIAS

1. Sebire N.J, Savage P.M, Seckl MJ, Histopathological features of biparental complete hydatiform moles in women with *NLRP7* mutations. *Placenta* 34 (2013) 50-56.
2. Akoury E, Gupta N, Bagga R, Live births in women with recurrent hydatidiform mole and two *NLRP7* mutations. *Reproductive BioMedicine Online* (2015) 31, 120-124.
3. Abdalla E, Hayward B, Shamseddin A, Recurrent hydatidiform mole: detection of two novel mutations in the *NLRP7* gene in two Egyptian families. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 164 (2012) 211-215.
4. Ulker V, Gurkan H, Tozki H, Novel *NLRP7* mutations in familial recurrent hydatidiform mole: are *NLRP7* mutations a risk for recurrent reproductive wastage? *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* 170 (2013) 188.192.
5. Radian A, Almeida L, Dorfleutner A, *NLRP7* and related inflammasome activating pattern recognition receptors and their function in host defense and disease, *Microbes and Infection* 15 (2013) 630-639.
6. Zhao W, Muhetaer A, Luo T, Absence of *KHDC3L* mutations in Chinese patients with recurrent and sporadic hydatidiform moles, *Cancer Genetics* 206 (2013) 327-329.

7. Nguyen N, Slim R, Genetics and Epigenetics of Recurrent Hydatidiform Moles: Basic Science and Genetic Counselling. *Curr Obstet Gynecol Rep* (2014) 3:55-64.
8. Ito Y, Maehara K, Kaneki E, Novel Nonsense mutation in the *NLRP7* gene associated with recurrent hydatidiform mole, *Gynecologic and Obstetric Investigation*, 2015.
9. Stevens FT, Gestational Trophoblastic Disorders: An update in 2015, *Geburtshilfe Frauenheilkd.* 75 (10) 1043-1050.
10. Estrada H, Zenteno JC, Fiszman R, Aguinaga M, The p.L750V mutation in the *NLRP7* gene is frequent in Mexican patients with recurrent molar pregnancies and is not associated with recurrent pregnancy loss. *Prenatal Diagnosis*, 2013. 33, 205-208.
11. Andreasen L, Christiansen OB, Niemann I. *NLRP7* or *KHDC3L* genes and the etiology of molar pregnancies and recurrent miscarriage, *Molecular Human Reproduction*, Vol 19, No 11 pp 773-781, 2013.
12. Aghajanova L, Mahadevan S, Altmae S, No evidence for mutations in *NLRP7*, *NLRP2* or *KHDC3L* in women with unexplained recurrent pregnancy loss or infertility, *Human Reproduction*, Vol 30, no 1 pp 232-238, 2015.
13. Akoury E, Zhang L, Ao A, Slim R, *NLRP7* and *KHDC3L*, the two maternal-effect proteins responsible for recurrent hydatidiform moles, co-localize to the oocyte cytoskeleton, *Human Reproduction*, Vol 30, No 1 pp. 159-169, 2015.

14. Eagles N, Sebire NJ, Short D, Risk of recurrent molar pregnancies following complete and partial hydatidiform moles, *Human Reproduction*, Vol 30, No 9, pp 2055-2063, 2015.
15. Sanchez-Delgado M, Martin AI, Tayama C, Absence of maternal methylation in biparental hydatidiform moles from women with *NLRP7* maternal effect mutations reveals widespread placenta –specific imprinting, *PLOS Genetics* , 2015.
16. Kaveri S, Wen S, Balasa A, No evidence for mutations in *NLRP7* and *KHDC3L* in women with androgenetic hydatidiform moles, *Prenat Diagn* 2012, 33 (13) 1242-1247.
17. Andreasen L, Bolund L, Niemann I, Mosaic moles and non-familial biparental moles are not caused by mutations in *NLRP7*, *NLRP2* or *C6orf22l*, *Molecular Human Reproduction*, vol 18, no 12 pp 593-398, 2012.