

Enfermedad trofoblástica: clasificación histopatológica y características inmunohistoquímicas con los marcadores p53, β -hCG, PLAP y vimentina

Darling Valverde*

RESUMEN

Antecedentes: la enfermedad trofoblástica gestacional es un conjunto de procesos benignos y malignos: la mola hidatiforme resulta de la fertilización anormal y se ha clasificado en parcial, completa y mola invasora con base en características morfológicas, citogenéticas y clínicas, y las neoplasias del trofoblasto (coriocarcinoma, sitio placentario exagerado y otros). La mola hidatiforme es la forma más frecuente y se manifiesta en el primer trimestre, a menudo, como aborto espontáneo.

Objetivo: estudiar la expresión inmunohistoquímica de algunos marcadores que permitan tener una mejor correlación con parámetros histológicos convencionales.

Material y método: se estudiaron 33 casos con diagnóstico de enfermedad trofoblástica procedentes del archivo del departamento de Anatomía Patológica del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales y 33 casos de productos de legrado uterino sin enfermedad trofoblástica.

Resultados: la inmunoreactividad de p53 fue perceptiblemente más fuerte en la mola completa (++) y el coriocarcinoma (+++) que en la placenta normal y en la mola parcial. La fosfatasa alcalina placentaria se expresó en la porción apical y basal de la membrana plasmática de células del sincitiotrofoblasto. β -hCG se expresó en la decidua, tejido endometrial, en las glándulas de la capa compacta.

Conclusiones: el diagnóstico predominante de enfermedad del trofoblasto fue el de mola completa, con características clásicas dado su diagnóstico en el segundo trimestre del embarazo. La expresión inmunohistoquímica de vimentina se manifestó en todos los componentes mesenquimales de tejidos correspondientes a casos y controles. La inmunotinción con p53 fue más intensa (+++) en los casos con diagnóstico de coriocarcinoma. β -hCG se expresó con intensidad (+++) en los casos de mola completa y coriocarcinoma, especialmente en el citoplasma de células del sincitiotrofoblasto.

Palabras clave: enfermedad trofoblástica, p53, vimentina, PLAP, β -hCG.

ABSTRACT

Background: The gestational trophoblastic disease is a group of benign and malignant conditions: Hydatidiform moles result from abnormal fertilization and have been divided into partial, complete and invasive mole based on morphologic, cytogenetic, and clinical features. Another group are the neoplasms of trophoblast (choriocarcinoma, exaggerated placental site and others). Hydatidiform mole is the most frequent form and it is manifested during the first trimester of pregnancy, generally as spontaneous abortion.

Objective: To study the immunohistochemical expression of some markers leading have a better correlation with histological parameters identified with the conventional routine technique.

Material and methods: Thirty-three cases with diagnosis of trophoblastic diseases from pathological anatomy department, Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales, were studied, as well as 33 cases of products of uterine curettage without trophoblastic disease.

Results: p53 immunoreactivity was stronger in complete mole (++) and choriocarcinoma (+++) than in normal placenta and partial mole. PLAP was expressed in the apical and basal portion of the plasmatic membrane of syncytiotrophoblast cells. β -hCG was expressed in decidua, endometrial tissue and compact layer glands.

Conclusions: Pathology predominant diagnosis was of complete mole, with classic characteristics due to its diagnosis during the second trimester of pregnancy. Vimentin immunohistochemical expression was present in all mesenchymal components of tissues corresponding to cases and controls. p53 immunostaining was more intense (+++) in cases with choriocarcinoma diagnosis. β -hCG was expressed with intensity (+++) in cases of complete mole and choriocarcinoma, specially at the cytoplasm of syncytiotrophoblast cells.

Key words: trophoblastic disease, p53, vimentin, PLAP, hCG.

* Profesor titular del Departamento de Anatomía Patológica. Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua (UNAN), León, Nicaragua.

Correspondencia: Dr. Darling Valverde. Correo electrónico: darling_vl@yahoo.es
Recibido: septiembre, 2008. Aceptado: noviembre, 2008.

Este artículo debe citarse como: Valverde D. Enfermedad trofoblástica: clasificación histopatológica y características inmunohistoquímicas con los marcadores p53, β -hCG, PLAP y vimentina. Patología Rev Latinoam 2009;47(2):96-102.

La versión completa de este artículo también está disponible en: www.revistasmedicasmexicanas.com.mx

La enfermedad trofoblástica gestacional es un conjunto de procesos benignos y malignos poco frecuentes, derivados de una proliferación anormal del trofoblasto de la placenta humana (hiperplasia) y del genoma paterno, con una contribución materna ocasional. Incluye los trastornos del desarrollo placentario (mola hidatiforme) que es una alteración de la fertilización: mola parcial, mola completa y las neoplasias del trofoblasto (coriocarcinoma, tumor trofoblástico del lecho placentario y tumor trofoblástico epitelioides). La mola hidatiforme es la forma más frecuente y se manifiesta en el primer trimestre, a menudo como aborto espontáneo.¹⁻⁶

MOLA HIDATIFORME

Constituye la variedad más frecuente de enfermedad trofoblástica gestacional y su incidencia varía según la ubicación geográfica. En Estados Unidos y Europa ocurre en 1 de cada 2,000 embarazos; en Asia y Latinoamérica tiene una frecuencia mayor: entre 1:400 y 1:200 embarazos; en Filipinas ocurre en 1 de cada 250 mujeres embarazadas.^{7,8}

La mola hidatiforme es un producto de la concepción que se caracteriza por una hiperplasia trofoblástica y por la tumefacción edematosa de las vellosidades coriónicas. El material proveniente de un legrado que contiene una mola hidatiforme es uno de los pocos en los que pueden encontrarse características macroscópicas específicas, por ejemplo, grandes vellosidades traslúcidas. Por lo general, la longitud de los racimos varía de unos milímetros hasta 2 cm, adquieren la morfología de bandas y acumulación de vesículas que confieren el típico aspecto de “racimos de uvas”.⁹⁻¹² Es importante identificar y diferenciar las formas patológicas de la enfermedad porque cada una tiene un cuadro clínico y comportamiento distinto.^{9,10,12-19} La mola hidatiforme completa temprana (embarazo menor a 12 semanas) tiene alteraciones sutiles en las vellosidades y es posible que macroscópicamente no muestre vellosidades hidrópicas obvias; debido al uso rutinario del ultrasonido se diagnostica con más frecuencia, por lo que la mola completa clásica ahora es relativamente infrecuente.^{1,3,13}

La enfermedad trofoblástica benigna generalmente afecta a mujeres en edad reproductiva y es extremadamente infrecuente en la posmenopausia, aunque este diagnóstico siempre debe considerarse; también se le ha relacionado con un síndrome familiar.¹¹

A diferencia de la mola completa, la mola parcial muestra al mismo tiempo características de una placenta de desarrollo normal y de una mola completa. En algunos casos de mola parcial está presente el feto, pero su evolución es casi siempre anormal; y aunque en la mayoría de los casos el feto no está presente, puede deducirse la existencia de desarrollo fetal por la demostración de hematíes nucleados en los vasos sanguíneos de las vellosidades, es decir fetales.

El diagnóstico diferencial entre mola hidatiforme parcial y completa es sencillo cuando las características específicas son pronunciadas, pero a veces resulta difícil hacer una distinción categórica entre ambas. El diagnóstico de mola es particularmente difícil en pacientes con embarazos entre siete y ocho semanas de gestación ya que la formación de cisternas e hiperplasia trofoblástica es menos evidente que la encontrada semanas después. Para garantizar la exactitud del diagnóstico es necesario tomar una muestra abundante del tejido de las molas (por lo menos cuatro casetes).^{1,3,13}

EXPRESIÓN GÉNICA E INMUNOFENOTIPO

Investigadores básicos han usado la expresión de diversos antígenos y los han aplicado al diagnóstico diferencial de los diversos tipos de enfermedad trofoblástica gestacional.⁵ Por ejemplo, el sincitiotrofoblasto expresa citoqueratina (β -hCG), lactógeno placentario humano (hPL) y fosfatasa alcalina placentaria (PLAP), así como alfa-inhibina; en cambio, el trofoblasto intermedio del sitio de implantación placentaria, en general, expresa los mismos antígenos, aunque en menor cantidad y, además, expresa el antígeno epitelial de membrana (EMA).^{7-9,20-24}

Es importante diferenciar la mola de las vellosidades hidrópicas vistas en 15 a 40% de los abortos espontáneos en los que, a diferencia de la mola, el edema macroscópico de las vellosidades y las cisternas no están presentes.¹⁵

Muchos estudios indican la utilidad de determinar la ploidía en casos difíciles. También puede ayudar el estudio inmunohistoquímico para detectar la p57/KIP2, si bien aun es necesario validar esta técnica auxiliar.^{5,6} La aplicación de técnicas como p57/KIP2 y CISH no establece un criterio que por sí solo permita diferenciar el aborto hidrópico de mola completa y mola parcial.²⁵⁻²⁸

En este artículo se comenta el estudio de la expresión inmunohistoquímica de algunos marcadores que permitan

tener una mejor correlación con parámetros histológicos convencionales.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estudiaron 33 casos con diagnóstico de enfermedad trofoblástica (19 CM, 4 PM, 2 coriocarcinomas y 8 casos de sitio placentario exagerado) procedentes del archivo del departamento de Anatomía Patológica del Hospital Escuela Oscar Danilo Rosales y 33 casos de productos de legrado uterino sin enfermedad trofoblástica. Se revisaron las características clínicas relevantes, como cuadro clínico de aparición y semanas de amenorrea, y las características histopatológicas observadas con tinción de rutina e inmunodetección de p53, β -Hcg, PLAP y vimentina.

El procedimiento incluyó fijación en formol al 10%. Se procesaron por el método histológico habitual: deshidratación en alcoholes a concentraciones crecientes, impregnación e inclusión en parafina (a una temperatura no mayor de 60°). Se realizaron cortes seriados de 5 μ m que se tiñeron con técnicas histológicas habituales, y con la técnica de inmunohistoquímica. El estudio inmunohistoquímico se realizó con la técnica de avidina-biotina-peroxidasa. Los anticuerpos utilizados, diluciones y recuperación antigénica se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Anticuerpos estudiados

Anticuerpo	Casa-clona	Dilución	Recuperación
P53	Dakocyt/DO7	1:50	Horno de microondas
PLAP	Dakocyt/8A 9	1:50	Autoclave
β -hCG	Dako/A0231	1:300	Autoclave
Vimentina	Dakocyt/V9	1:50	Autoclave

Se incubó con el anticuerpo primario y se utilizó como método de visualización el sistema EnVision (Dako cytomation, Glostrup, Denmark). Para el revelado se utilizó el cromógeno DAB y hematoxilina de Mayer como tinción de contraste; el resultado se observó con microscopio óptico. PLAP se valoró en la membrana plasmática apical y basal de células trofoblásticas, así como en el músculo liso; β -hCG en el citoplasma del epitelio endometrial, la decidua y el trofoblasto; y vimentina en los elementos mesenquimales. La intensidad se catalogó como 0: ausente; +: débil; ++: moderada; +++: fuerte.

La expresión de p53 se consideró positiva al encontrarse en el núcleo y la intensidad de la inmunotinción para p53

se valoró por el número de núcleos teñidos (0: no se tiñe; +: 1-10% de células positivas; ++: 11-25% células positivas; +++: 26-50% células positivas; ++++: más de 50% células positivas. En el caso de p53 se efectuó un conteo de núcleos positivos en 200 células consecutivas.

RESULTADOS

El rango de edad predominante de las pacientes con enfermedad trofoblástica gestacional fue de 20 a 29 años (52%). Las pacientes con mola completa y mola parcial padecieron sangrado transvaginal y tenían, en promedio, 16 semanas de amenorrea. En todos los casos de mola completa hubo hallazgos histopatológicos de cisternas e hiperplasia trofoblástica.

La inmunotinción con vimentina se expresó intensamente en todos los componentes mesenquimales representados en la muestra (+++), específicamente en el estroma de vellosidades (figuras 1 y 2), en especial en las que muestran fibrosis. Para la decidua, el estroma endometrial y el músculo liso la inmunotinción fue negativa en células trofoblásticas, así como en el epitelio glandular endometrial.

En cuanto a p53 se encontró una expresión (+++) en células trofoblásticas en los dos casos de coriocarcinoma, confinado a los núcleos de células malignas, y en todos los casos de mola completa con una intensidad (++), (figura 3); también se encontró en 50% de los casos con diagnóstico de mola parcial y sitio placentario exagerado y en 50% de las muestras que contenían placenta normal (+). Se observó inmunotinción (+) en la decidua (figura 4) y el epitelio endometrial (figura 5).

La expresión de β -hCG se observó en células del epitelio trofoblástico de intensidad (+++) en casos con

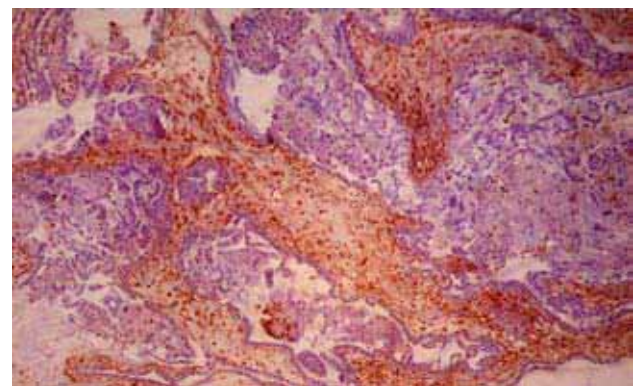


Figura 1. Vimentina. Expresión en estroma en mola completa.

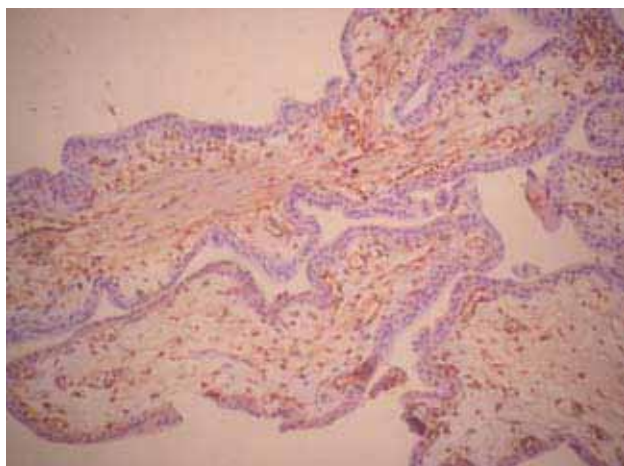


Figura 2. Vimentina. Expresión en estroma en mola parcial.

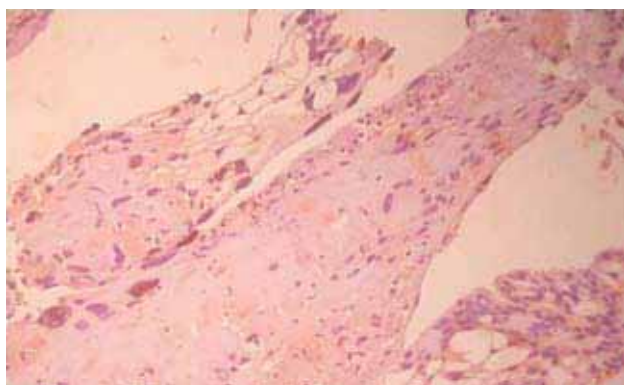


Figura 3. p53. Expresión en trofoblasto en mola completa.

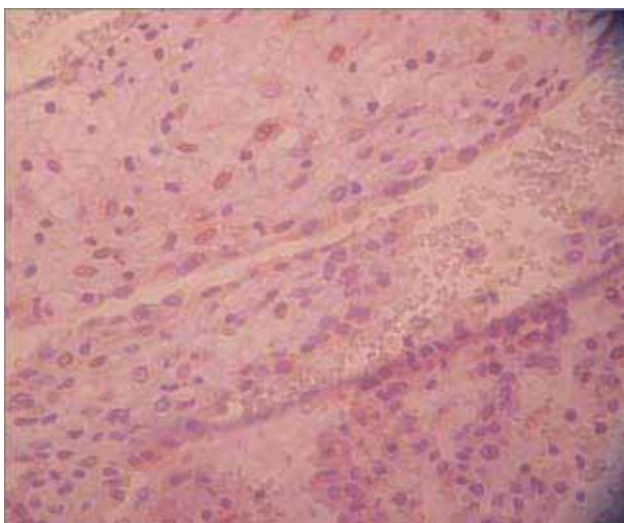


Figura 4. p53. Expresión en decidua.

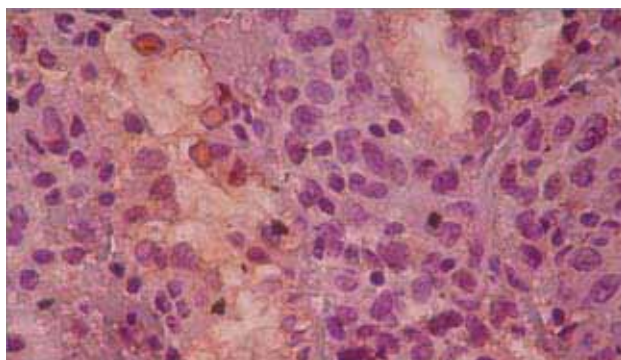


Figura 5. p53. Expresión en glándulas endometriales.

diagnóstico de mola completa y coriocarcinoma (figura 6), con mayor intensidad en células del sincitiotrofoblasto; fue (++) en casos de mola parcial y sitio placentario exagerado, además de observarse inmunotinción positiva en la decidua y glándulas endometriales.

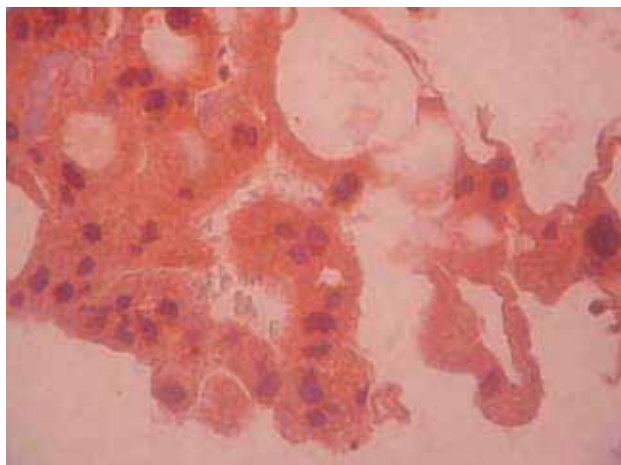


Figura 6. β -hCG. Expresión en trofoblasto.

Se observó inmunotinción con PLAP más intensa en la membrana apical en las células del citotrofoblasto y del sincitiotrofoblasto y en los casos con diagnóstico de mola parcial (figura 7), además, se expresó en el músculo liso (figura 8).

La intensidad de la expresión inmunohistoquímica de las muestras con patología del trofoblasto se refleja en el cuadro 2.

DISCUSIÓN

En el estudio microscópico de la mola hidatiforme parcial y completa las vellosidades muestran hiperplasia perile-

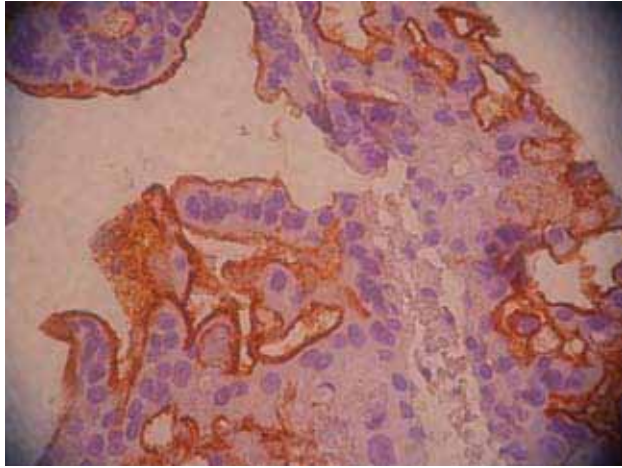


Figura 7. PLAP. Expresión en trofoblasto.

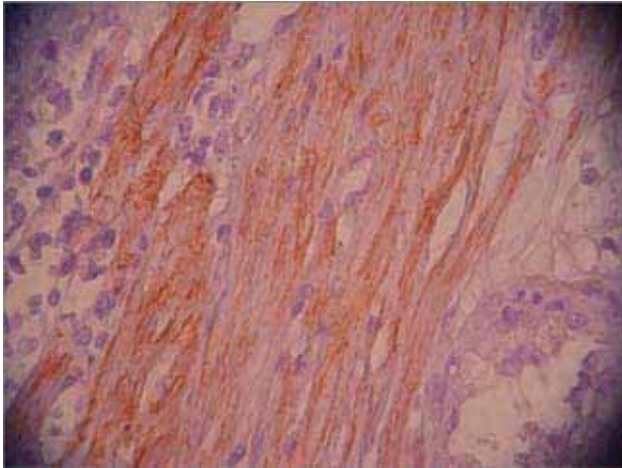


Figura 8. PLAP. Expresión en músculo liso.

sional del trofoblasto y formación de cisternas, a veces predomina una sobre la otra, pero las dos deben estar presentes para determinar el diagnóstico; si las vellosidades

Cuadro 2. Intensidad de la expresión inmunohistoquímica

Intensidad de expresión	Anticuerpos		
	Vimentina	p53	PLAP
-	0	(4) Sitio placentario exagerado	0
+	0	(2) Mola hidatiforme parcial	(8) Sitio placentario exagerado
++	0	(19) Mola hidatiforme completa (2) Mola hidatiforme parcial (4) Sitio placentario exagerado	(19) Mola hidatiforme completa (2) Coriocarcinoma
+++	33	(2) Coriocarcinoma	0
		(4) Mola hidatiforme parcial (19) Mola hidatiforme completa (2) Coriocarcinoma	(4) Mola hidatiforme parcial

tienen un volumen suficiente que ocupe todo el campo microscópico con un objetivo 10X, probablemente se trate de una mola hidatiforme.^{7-10,13,14}

El cuadro anatomopatológico de la mola hidatiforme completa depende de la edad gestacional, por tanto, debe cumplir con el criterio de la presencia de los cambios clásicos y de los cambios más sutiles propios de la mola muy inicial, esta última se observa con más frecuencia actualmente por el uso generalizado de la ecografía al comienzo de la gestación (entre las semanas 8 a 12), la mola completa es histológicamente distinta de las diagnosticadas durante el segundo trimestre de la gestación.¹²⁻¹⁷

La aplicación de marcadores como: vimentina, β -hCG, hPL, PLAP, AFP, citoqueratina, desmina, factor VIII, CD 68, MIB1 (fracción de crecimiento), EGF-R, p53, c-erbB-2, p57(KIP2) y citogenética contribuyen a una mejor definición de los grupos histológicos de la enfermedad trofoblástica gestacional, aspecto que tiene importancia académica y diagnóstica porque de 8 a 29% de las mujeres con mola completa padecerán un tumor trofoblástico, lo que ocurre muy poco (2%) en casos de mola parcial.^{8,20-22,25-30}

Las células del estroma vellositario corresponden a fibroblastos, miofibroblastos y células del músculo liso y expresan inmunorreactividad para vimentina.²⁴ Esta expresión se manifestó en las muestras correspondientes a la enfermedad trofoblástica y en las placentas histológicamente normales incluidas en este estudio.

Se ha demostrado que la inmunorreactividad para oncoproteína p53 es significativamente más fuerte en las molas completas y el coriocarcinoma que en placentas normales, por tanto, la expresión alterada de p53, de P21, Rb y mdm2 puede ser importante en la patogénesis de molas completas y de coriocarcinoma.¹⁵ p53 se ha observado

en células del citotrofoblasto durante el primer trimestre, pero su expresión en células normales generalmente no es detectable debido a la corta vida media. Con el uso de varios anticuerpos para reconocer diferentes epítopes de p53 pueden observarse en el compartimento nuclear y en el citoplásmico, se detectan en el núcleo de las células trofoblásticas con el uso de anticuerpos que reconocen el epítipo N-terminal, la expresión citoplasmática se logra usando anticuerpos que reconozcan la parte media de p53.³¹⁻³⁸ En este estudio se demostró la expresión nuclear con mayor intensidad en los casos de mola hidatiforme completa (++) y de coriocarcinoma (+++).

Cuando se usa en conjunto con marcadores de proliferación como Ki67, PCNA y regiones de organización nucleolar teñidas con plata, se incrementan la sensibilidad y especificidad para discriminar enfermedad trofoblástica gestacional de abortos espontáneos en 100%; el marcador PCNA permite hacer la diferenciación entre los subgrupos de enfermedad trofoblástica gestacional.^{37,39}

En lo que concierne a la expresión de β -hCG y PLAP, los resultados encontrados son similares a los reportados en otras investigaciones: la mola hidatiforme completa demuestra fuerte expresión de β -hCG y expresión débil de PLAP; en la mola hidatiforme parcial se encuentra una expresión débil de β -hCG e intensa de PLAP y el coriocarcinoma tiene una expresión fuerte de β -hCG y débil de PLAP.^{4,9-17}

Desde el punto de vista inmunohistoquímico, β -hCG está ampliamente distribuida y la fosfatasa alcalina placentaria está distribuida al azar en el sincitiotrofoblasto molar, independientemente de la edad gestacional. La fosfatasa alcalina placentaria se localiza en la membrana plasmática a nivel basal y apical, y en la superficie de las células del citotrofoblasto en vellosidades de placentas a término (con el uso de un microscopio inmunoelectrónico); estos datos sugieren que la fosfatasa alcalina placentaria puede usarse como marcador morfológico para diferenciar células trofoblásticas o como un marcador de membranas en borde en cepillo de la placenta.⁴⁰⁻⁴²

CONCLUSIONES

El diagnóstico predominante de enfermedad del trofoblasto fue mola hidatiforme completa, con características clásicas debido a su diagnóstico en el segundo trimestre del embarazo. La expresión inmunohistoquímica de la vimentina

se manifestó en todos los componentes mesenquimales de tejidos correspondientes a casos y controles. La inmunotinción con p53 fue más intensa (+++) en los casos con diagnóstico de coriocarcinoma. β -hCG se expresó con intensidad (+++) en los casos de mola hidatiforme completa y coriocarcinoma, especialmente en el citoplasma de células del sincitiotrofoblasto, a diferencia de la fosfatasa alcalina placentaria que mostró inmunotinción positiva (+++) en todos los casos de mola hidatiforme parcial.

REFERENCIAS

1. Ezpeleta J, Cousillas A. Enfermedad trofoblástica gestacional: aspectos clínicos y morfológicos. *Rev Esp Patol* 2002;35(2):187-200.
2. Garner EI, Goldstein DP, Feltmate CM, Berkowitz RS. Gestational trophoblastic disease. *Clin Obstet Gynecol* 2007;50(1):112-22.
3. Silverberg SG, Kurman RJ. Tumors of the uterine corpus and gestational trophoblastic disease. In: Rosai J, Sobin LJ, editors. *Atlas of tumor pathology: tumors of the uterine corpus and gestational trophoblastic disease*, fasc. 3, ser. 3. Washington DC: Armed Forces Institute of Pathology; 1992;pp:219-85.
4. De Agustín P, Ruiz A, López F, Contreras F. Patología de la enfermedad trofoblástica. *Simposio Enfermedad Trofoblástica* 1972; 79-98.
5. Fox H. Gestational trophoblastic disease. *BMJ* 1997;314: 363-4.
6. Philippe E, Dreyfus M. Maladies trophoblastiques gestationnelles. *Encycl Med Chir Obstétrique* 1998;5070-C-10:12-27.
7. Grases Pedro J, Tresserra F. Enfermedad trofoblástica de la gestación. *Rev Obstet Ginecol Venez* 2004;64(2):101-13.
8. Grases PJ. Enfermedad trofoblástica gestacional. *Patología ginecológica. Bases para el diagnóstico morfológico*. Barcelona: Masson, 2003;pp:567-74.
9. Lage JM. Gestational trophoblastic disease. In: Robboy SJ, Anderson MC, Russell P, editors. *Pathology of the female reproductive tract*. Londres: Churchill Livingstone, 2002;pp:759-81.
10. Fox H. *Pathology of the placenta: Major problems in pathology*. 2nd ed. Vol 7. London: WB Saunders Co, 1997.
11. Abike F, Temizkan O, Payasli A, Avsar F, et al. Postmenopausal complete hydatidiform mole: a case report. *Maturitas* 2008;59(1):95-98.
12. Rosai J, Ackerman LV. *Ackerman's surgical pathology*. 8th ed. Vol I. St. Louis: Mosby, 1996;pp:1737-63.
13. Mazur MT, Kurman RJ. Gestational trophoblastic disease. *Diagnosis of endometrial biopsies and curettings, a practical approach*. 2nd ed. New York: Springer, 2007;pp:67-96.
14. Shih IM, Mazur MT, Kurman RJ. Gestational trophoblastic diseases and related lesions. In: Blaustein's pathology of the female tract. 5th ed. New York: Springer, 2002;pp:1193-247.
15. Gestational trophoblastic disease. *The doctor's doctor*, p.1-15, Enero 2003. Disponible en: <http://www.thedoctorsdoctor.com/diseases/gestationaltrophoblasticdisease>

16. Grimes DA. Epidemiology of gestational trophoblastic disease. *Am J Obstet Gynecol* 1984;150:309-18.
17. Khoo SK. Clinical aspects of gestational trophoblastic disease. *Aust N Z J Obstet Gynaecol* 2003;43(4):280-9.
18. Tenorio E. Correlación clínica y factores de riesgos con hallazgos histopatológicos de enfermedad trofoblástica en biopsias endometriales examinadas en el Departamento de Patología, HEODRA, periodo abril 2005-diciembre 2006. Disponible en www.minsa.gob.ni
19. Rich MW. Gestational trophoblastic disease. *OBGYN.net.*, p. 1-4. Disponible en: <http://www.obgyn.net/women/articles/rich/gest.htm>.
20. Löscher A, Kainz C. Immunohistochemistry in the diagnosis of the gestational trophoblastic disease. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1996;75(8):753-6.
21. Clement P, Young RH. Atlas of gynecologic surgical pathology. Philadelphia: WB Saunders Co., 2000.
22. Maggiori MS, Peres LC. Morphological, immunohistochemical and chromosome *in situ* hybridization in the differential diagnosis of hydatidiform mole and hydropic abortion. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 2007;135(2):170-6.
23. Fukunaga M, Miyazawa Y, Sugishita M, Ushigome S. Immunohistochemistry of molar and non-molar placentas with special reference to their differential diagnosis. *Acta Pathol Jpn* 1993;43(11):683-9.
24. Sati L, Seval Y, Yasemin Demir A, Kosanke G, et al. Cellular diversity of human placental stem villi: an ultrastructural and immunohistochemical study. *Acta Histochem* 2007;109(6):468-79.
25. Sebire NJ, Rees HC, Peston D, Seckl MJ, et al. p57(KIP2) immunohistochemical staining of gestational trophoblastic tumours does not identify the type of the causative pregnancy. *Histopathology* 2004;45(2):135-41.
26. Soma H, Osawa H, Oguro T, Yoshihama I, et al. p57kip2 immunohistochemical expression and ultrastructural findings of gestational trophoblastic disease and related disorders. *Med Mol Morphol* 2007;40(2):95-102.
27. Crisp H, Burton JL, Stewart R, Wells M. Refining the diagnosis of hydatidiform mole: image ploidy analysis and p57KIP2 immunohistochemistry. *Histopathology* 2003;43(4):363-73.
28. Chew SH, Perlman EJ, Williams R, Kurman RJ, Ronnett BM. Morphology and DNA content analysis in the evaluation of first trimester placentas for partial hydatidiform mole (PHM). *Hum Pathol* 2000;31(8):914-24.
29. Keep D, Zaragoza MV, Hassold T, Redline RW. Very early complete hydatidiform mole. *Hum Pathol* 1996;27:708-13.
30. Ozeren M, Aydemir V, Tekelioglu Y, Topcuoglu K, Bozkaya H. Ploidy analysis and S-phase fraction determinations by flow cytometry in anembryonic pregnancy and spontaneous abortions. *Gynecol Obstet Invest* 1999;48:104-7.
31. Cheville JC, Robinson RA, Benda JA. p53 expression in placentas with hydropic change and hydatidiform moles. *Mod Pathol* 1996;9:392-6.
32. Haidacher S, Blaschitz A, Desoye G, Dohr G. Immunohistochemical evidence of p53 protein in human placenta and choriocarcinoma cell lines. *Human Reprod* 1995;10(4):983-8.
33. Halperin R, Peller S, Sandbank J, Bukovsky I. Expression of the p53 gene and apoptosis in gestational trophoblastic disease. *Placenta* 2000;21(1):58-62.
34. Fulop V, Mok SC, Genest DR, Gati I, et al. p53, p21, Rb and amdm2 oncoproteins. Expression in normal placenta, partial and complete, and choriocarcinoma. *J Reprod Med* 1998;43(2):119-27.
35. Al-Bozom IA. p53 and Bcl-2 oncoprotein expression in placentas with hydropic changes and partial and complete moles. *APMIS* 2001;108(11):756-60.
36. Cohen M, Meissner A, Haenggeli L, Irminger-Finger I, Bischof P. Status of p53 in first-trimester cytotrophoblastic cells. *Mol Hum Reprod* 2007;13(2):111-6.
37. Kale A, Söylemez F, Ensari A. Expressions of proliferation markers (Ki-67, proliferating cell nuclear antigen, and silver-staining nucleolar organizer regions) and of p53 tumor protein in gestational trophoblastic disease. *Am J Obstet Gynecol* 2001;184(4):567-74.
38. Halperin R, Peller S, Sandbank J, Bukovsky I, Schneider D. Expression of the p53 gene and apoptosis in gestational trophoblastic disease. *Placenta* 2000;21(1):58-62.
39. Martinazzi S, Zampieri A, Todeschini P, Vegetti PL, et al. [Correlation of the histological and cytogenetic pictures in placental tissue from early abortion. Does immunohistochemistry have a role?]. *Pathologica* 1996;88(4):275-85.
40. Leitner K, Szlauer R, Ellinger I, Ellinger A, et al. Placental alkaline phosphatase expression at the apical and basal plasma membrane in term villous trophoblasts. *J Histochem Cytochem* 2001;49(9):1155-64.
41. Brescia RJ, Kurman RJ, Main CS, Surti U, Szulman AE. Immunocytochemical localization of chorionic gonadotropin, placental lactogen, and placental alkaline phosphatase in the diagnosis of complete and partial hydatidiform mole. *Int J Gynecol Pathol* 1987;6(3):213-29.
42. Salehnia M, Farzad TR, Tachikhani M, Torghabani SS, Al-Traih T. Alkaline phosphatase, histochemistry and biochemistry in the diagnosis of complete hydatidiform mole. *Pathol Oncol Res* 2000;6(2):105-10.