
IGF-II Y LA GONADOTROPINA CORIÓNICA REGULAN LA PROLIFERACIÓN, MIGRACIÓN E INVASIÓN DE CÉLULAS DE TROFOBLASTO HUMANO

IGF-II and Chorionic Gonadotropin Regulate Proliferation, Migration and Invasion of Human Trophoblast Cells

RICARDO CABEZAS-PEREZ^{1*}, Biólogo, M.Sc.; ANDRÉS FELIPE VALLEJO-PULIDO^{1*}, Químico; SOFIA ISABEL FREYRE-BERNAL¹, Química, M.Sc.; ADRIANA UMAÑA-PÉREZ¹, M.Sc., Ph. D.; MYRIAM SÁNCHEZ-GÓMEZ¹, M.Sc.

¹Laboratorio de Hormonas, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.C., Colombia.

*Los dos autores contribuyeron igualmente en la realización de este estudio.

Autor correspondiente: Myriam Sánchez-Gómez, Departamento de Química, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, D.C., Colombia. mysanchezd@unal.edu.co

Presentado 3 de noviembre de 2010, aceptado 1 de febrero de 2011, correcciones 17 de febrero de 2011.

RESUMEN

Son conocidas las propiedades del factor de crecimiento similar a la insulina tipo II (IGF-II) y de la hormona gonadotropina coriónica (hCG) en implantación y migración trofoblástica; sin embargo, los mecanismos moleculares a través de los cuales ejercen sus efectos no están completamente caracterizados. El objetivo de este estudio fue establecer la interacción potencial entre los efectos funcionales de hCG e IGF-II en la regulación de la proliferación, migración e invasión trofoblástica. Utilizando la línea celular HTR-8/SVneo de trofoblasto extraveloso se estableció que IGF-II promueve la proliferación celular y de manera novedosa se demostró que hCG, a concentraciones elevadas, es capaz de estimular la proliferación trofoblástica, a través de un mecanismo independiente al empleado por IGF-II. En contraste, la capacidad invasiva del trofoblasto fue regulada por IGF-II y hCG, planteando la existencia de un efecto aditivo en sus acciones. En conclusión, nuestros resultados demuestran el papel de hCG e IGF-II en la regulación de la proliferación e invasión del trofoblasto y plantean la existencia de interacciones a nivel de sus acciones biológicas, contribuyendo a un mejor entendimiento de la biología del trofoblasto y sus patologías.

Palabras clave: trofoblasto, invasión, migración, IGF-II, hCG.

ABSTRACT

Both IGF-II and chorionic gonadotropin (hCG) are important regulators of human trophoblast migration and implantation; however the molecular mechanisms are not

fully understood. The purpose of this study was to determine the potential cross-talk between functional effects of hCG and IGF-II in the regulation of trophoblast proliferation, migration and invasion. Using the HTR-8/SVneo trophoblast cell line we found that IGF-II stimulates cell proliferation and, for the first time we demonstrate that hCG at high doses is able to promote trophoblast proliferation through a mechanism independent of IGF-II. In contrast, trophoblast invasiveness was regulated by both IGF-II and hCG and an additive effect between the two hormones was observed. In conclusion, our results demonstrate cross-talk between the biological activities of IGF-II and hCG in the regulation of trophoblast invasiveness and contribute to a better understanding of the trophoblast biology and pathology.

Key words: trophoblast, invasion, migration, IGF-II, hCG.

INTRODUCCIÓN

Durante el proceso de implantación embrionaria en humanos, se requiere de alta invasividad placentaria a fin de establecer y mantener el sitio de implantación del embrión y asegurar un adecuado intercambio sanguíneo entre la madre y el feto. La implantación embrionaria es mediada por las células invasivas del trofoblasto, las cuales invaden el endometrio uterino estableciendo contacto con las arterias espirales maternas (Chakraborty *et al.*, 2002). La invasión inapropiada del trofoblasto se ha visto asociada con numerosas complicaciones del embarazo tales como preclampsia, retardo del crecimiento uterino y enfermedad trofoblástica gestacional (ETG). En ésta última se engloban un conjunto de procesos benignos y malignos poco habituales, derivados de proliferación anormal de la placenta humana y de un proceso de fertilización con exceso de genoma paterno. Dentro de estas patologías se incluyen mola hidatidiforme, mola invasiva, coriocarcinoma y tumor trofoblástico del sitio placentario (Ezpeleta y Cousillas, 2002).

La proliferación celular trofoblástica, su migración e invasión *in situ* están reguladas por factores de crecimiento locales, proteínas de unión a factores de crecimiento e interacción con algunos componentes de la matriz extracelular mediante integrinas de superficie. Entre los muchos factores hormonales y bioquímicos involucrados en migración trofoblástica se encuentran, el factor de crecimiento transformante (TGF- β), el factor inhibidor de leucemia (LIF), la hormona gonadotropina coriónica (hCG), los factores de crecimiento similares a la insulina (IGF-I e IGF-II) y sus proteínas de unión (IGFBPs; Staun-Ram y Shalev, 2005; Guvakova, 2007).

IGF-II es un polipéptido de 67 aminoácidos, con fuerte homología estructural y funcional con insulina e IGF-I. Niveles elevados de ARNm así como de proteína IGF-II circulante se han encontrado en tejidos fetales de muchas especies estudiadas, en comparación con tejidos postnatales. Se ha visto que IGF-II promueve migración celular y regula crecimiento feto placentario (O'Dell y Day, 1998), así mismo un estudio previo de nuestro grupo demostró un incremento significativo en la expresión de IGF-II en trofoblasto de pacientes con ETG y coriocarcinoma, lo que correlacionó con niveles séricos elevados de este factor de crecimiento (Díaz *et al.*, 2007).

hCG por su parte, es una glicoproteína dimérica perteneciente a la familia de hormonas luteinizante (LH), foliculo estimulante (FSH) y estimulante de la tiroides (TSH). Se ha

reportado correlación positiva entre niveles de hCG e invasión trofoblástica durante el primer trimestre de gestación; los niveles séricos de esta hormona se incrementan de forma anormal en patologías de la ETG, siendo usados corrientemente en el diagnóstico de la enfermedad (Cole, 2009).

Se desconoce la posible interrelación entre los efectos de IGFs y hCG en la regulación funcional del tejido trofoblástico, particularmente en la regulación de proliferación, migración e invasión y sus implicaciones en el desarrollo de ETG y su malignización. Este estudio tuvo como objetivo investigar la interacción potencial entre hCG y el sistema IGF, en particular IGF-II, en la regulación funcional del trofoblasto y así contribuir al conocimiento de su posible papel en el desarrollo de patologías como la enfermedad trofoblástica gestacional.

MATERIALES Y MÉTODOS

MODELO CELULAR

Se empleó la línea celular inmortalizada HTR-8/SVneo proveniente de trofoblasto extraveloso de primer trimestre transformado con el antígeno T largo del virus SV40 (Graham *et al.*, 1993). Esta línea celular se caracteriza por exhibir alto índice de proliferación y ser altamente invasiva *in vitro*. Las células se cultivaron a 37 °C en atmósfera húmeda con CO₂ al 5 % en medio RPMI (*Sigma Chemical Co.*) suplementado con 10% de suero fetal bovino (SFB; Gibco, Invitrogen), 1 % de L-glutamina (Gibco, Invitrogen) y 1 % de PEST (100U/ml de penicilina/estreptomina) (Gibco, Invitrogen). Las células fueron plaqueadas a platos de cultivo de 60 mm, incubadas por dos días en medio suplementado y deprivadas toda la noche en medio libre de proteína, tras lo cual se colocaron los estímulos en la dosis y por el tiempo señalado.

DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN GENÉTICA

Para determinar la presencia y abundancia relativa de transcritos de hCG y su receptor LH/GC-R, así como de algunos genes del sistema IGF, en células de trofoblasto extraveloso HTR-8/Svneo se empleó PCR en tiempo real. La extracción de ARN se realizó sobre cultivo celular en una confluencia aproximada de 80-90% utilizando el reactivo Trizol® (Invitrogen). El ADNc se sintetizó con el sistema Superscript III (Invitrogen) en un volumen de 20 µL. Se midió la expresión de IGF-II, IGF-IR, IGF-IIR, Ins-R, hCG y LH/GC-R, mediante PCR en tiempo real en un equipo LightCycler (Roche) empleando Master Mix SYBR Green IQ (Bio-Rad). El volumen total de reacción fue de 10 µl. Las condiciones de la PCR en tiempo real se muestran en la figura 1. Los genes estudiados se analizaron con el programa *LightCycler Software 4.1* y se expresan normalizados contra la subunidad ribosomal 18S humana (Hrs-18S). La tabla 1 muestra las secuencias de oligonucleótidos iniciadores empleados para la determinación de estos genes.

ENSAYO DE PROLIFERACIÓN CELULAR

Con el fin de determinar el papel de los factores de crecimiento similares a la insulina y la hormona gonadotropina coriónica en la proliferación celular, se empleó el ensayo de celularidad usando el método colorimétrico MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio). El ensayo se realizó en pozos de microplaca con 1×10^4 células

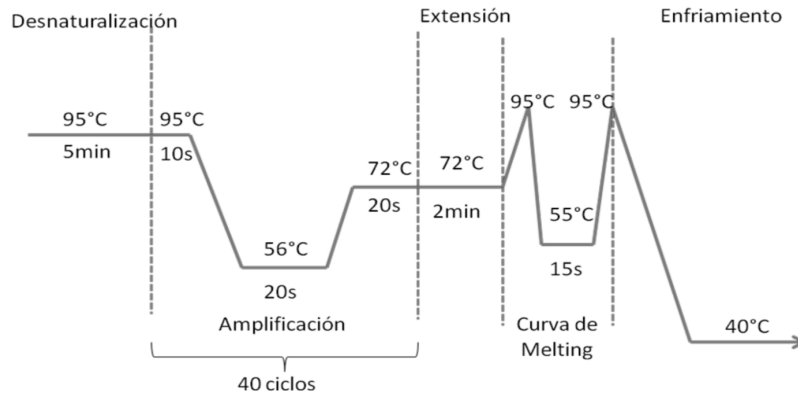


Figura 1. Programa usado en la amplificación de los genes de estudio mediante PCR en tiempo real.

Nombre del gen	Oligonucleótido Iniciador
IGF-II	D: GTTGAGGAGTGCTGTTTC R: AGGTGTCATATTGGAAGAAC
IGF-IR	D: GCCGACGAGTGGAGAAATC R: AGCAGGATGTGGAGGTAGC
IGF-IIR	D: AGGTGAATAAGGAAGAAGAGAC R: ACTGACTTGGTGGTAATATGG
Ins-R	D: GCCTCTACAACCTGATGAAC R: ACAGATGTCTCCCACTCC
hCG	D: GCTGTTGCTGCTGCTGAG R: GTGGTGTGACGGTGATGC
LH/CG-R	D: CAATGGGACGACACTGAC R: ATTAGCCTCTGAATGGACTC
Hrs-18S	D: AGCAGAGACACTAACGACTTCAG R: TACTGGCGTGGATTCTGC

Tabla 1. Secuencia de los oligonucleótidos iniciadores utilizados en PCR en Tiempo Real.

deprivadas de suero por 12 horas y estimuladas con SFB al 10%, IGF-II (10 nM), hCG (50 - 50.000 mUI/mL) e IGF-II (10 nM) en combinación con hCG (50.000 mUI/mL). Los platos se incubaron durante 24 horas a 37 °C en atmósfera húmeda y CO₂ al 5%. La proliferación se evaluó mediante el método de MTT (Mosmann, 1983). Brevemente a cada pozo se agregaron 10 µl del reactivo MTT dejando en incubación durante cuatro horas, se removió el medio y se agregaron 100 µl de dimetil sulfóxido (DMSO; Sigma Chemical, USA) dejando incubar durante 15 minutos, para disolver los cristales de formazán. En lector de microplaca (Biorad 680 Microplate Reader) se midió la absorbancia a 570 nm. Cada ensayo se realizó por triplicado.

ENSAYO DE MIGRACIÓN CELULAR

Uno de los fenómenos biológicos más importantes en la función trofoblástica es su migración. Para determinar el papel de IGFs y hCG, así como su efecto combinado, se realizaron ensayos de migración en cámara de Boyden. Se incubaron las células durante 12

horas en medio libre de suero, se despegaron utilizando una solución de tripsina/ EDTA (tripsina 0,05%, EDTA 0,01%). Se depositaron 1×10^5 células en 0,2 mL en los pozos superiores de cámaras de Boyden con filtros de 8 μm (Corning). En el compartimiento inferior se colocaron los diferentes estímulos: IGF-I (10 nM), IGF-II (10 nM), hCG (5.000 mUI/mL) e IGF-II combinado con hCG. Las células se incubaron por 24 horas a 37 °C en atmósfera húmeda y CO₂ al 5%. Al final del período de incubación se removieron las células que no migraron, y las que migraron se lavaron con PBS y fijaron con una solución de paraformaldehído 4% (*Sigma Chemical*, USA) por 30 minutos, se tiñeron con una solución de cristal violeta al 0,5% en etanol por 30 minutos. Las células teñidas se trataron con 0,25 mL de solución de ácido acético 10%. La absorbancia de la solución se midió a 595 nm en un lector de microplaca (*Biorad 680 Microplate Reader*). Los resultados se presentan como el índice de migración con respecto al control de células cultivadas únicamente en presencia de medio RPMI.

ENSAYO DE INVASIÓN CELULAR

Para evaluar la capacidad invasiva de las células frente a los estímulos empleados se siguió un procedimiento similar al descrito anteriormente para el ensayo de migración excepto que los transwell de la cámara de Boyden se recubrieron con matrigel (*Geltrex*, *Invitrogen*, USA) en una concentración de 9 mg/mL. En el compartimiento inferior se colocaron los diferentes estímulos: IGF-II (10 nM), hCG (5.000 mUI/mL) e IGF-II combinado con hCG (5.000 mUI/mL). Las células se incubaron por 24 horas a 37 °C en atmósfera húmeda y CO₂ al 5%. Al final de la incubación las células que migraron se fijaron y analizaron como se describe en el ensayo de migración. Cada experimento se realizó por duplicado. Los resultados se reportan como el índice de invasión en comparación al control de células cultivadas únicamente en presencia de medio RPMI.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos de los resultados experimentales se evaluaron mediante el test-t de Student utilizando el programa *GraphPad Software Inc.* (San Diego, USA). Las diferencias se consideraron estadísticamente significativas cuando $p < 0,05$.

RESULTADOS

EXPRESIÓN DE GENES EN LA LÍNEA HTR-8 POR PCR EN TIEMPO REAL

En un trabajo previo en el laboratorio se estableció la expresión del receptor IGF-IR así como las isoformas del receptor de insulina (InsR-A e InsR-B) en la línea celular de interés (Vallejo *et al.*, 2008). En el presente estudio se complementaron los perfiles de expresión de otros genes del sistema IGF, la hormona hCG y su receptor en condiciones basales de crecimiento (Fig. 2). Los niveles de expresión relativa de los genes determinados confirmaron la presencia de transcritos de hCG e IGF-II con una expresión relativa mayor a la observada para los receptores InsR, IGF-IR y LH/CGR, indicativo del papel funcional del IGF-II en estas células. No se encontraron niveles detectables de transcritos para el gen *igf-I*.

ENSAYOS DE PROLIFERACIÓN CELULAR

Los resultados indicaron que hCG posee un efecto proliferativo sobre el trofoblasto de-

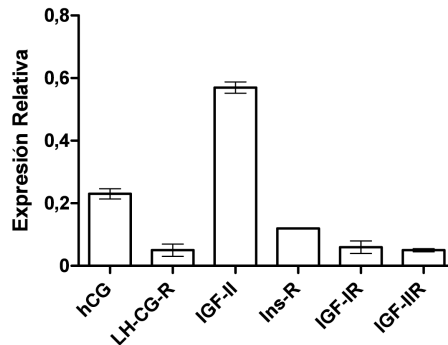


Figura 2. Expresión de miembros del sistema IGF, hCG y LH/CG-R en células HTR-8/SVneo en condiciones normales de cultivo mediante RT-PCR en tiempo real. Los valores están expresados con relación al gen casero Hrs-18S. Cada barra corresponde al promedio de tres mediciones, las barras de error representan la desviación estándar.

pendiente de la dosis (50-50.000 mUI/mL), lo cual muestra que esta hormona no sólo está asociada con diferenciación del trofoblasto extraveloso, sino que además, de manera novedosa, también ejerce acciones estimuladoras a nivel de su proliferación (Fig. 3A). Este efecto representa un resultado original descrito por primera vez en este trabajo. De manera notable, los efectos proliferativos más sobresalientes se observaron al emplear dosis de 50.000 mUI/mL de hCG, que son comparativas con los altos niveles hormonales encontrados en patologías como ETG, caracterizada por tasa alta de proliferación del trofoblasto. Igualmente, se demostró que IGF-II incrementa significativamente la proliferación celular y no se observó aditividad en sus acciones al combinarlo con dosis altas de hCG (Fig. 3B).

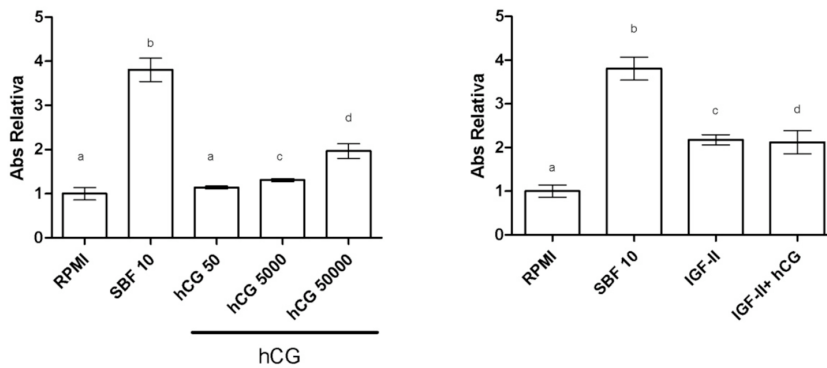


Figura 3. Efectos de hCG e IGF-II sobre la proliferación celular de la línea celular HTR-8/SVneo. La proliferación de las células en presencia de diferentes estímulos durante 24 horas, se midió mediante el ensayo de MTT. A) Efecto de dosis crecientes de hCG (50, 5.000 y 50.000 mUI/mL). b) Efecto de IGF-II (10 nM), hCG (50.000 mUI/mL) y la combinación de IGF-II y hCG. Como control positivo de proliferación se empleó SFB (10%). Los valores de absorbancia a 570 nm están normalizados con referencia a la proliferación de células en medio libre de suero (RPMI). Cada barra corresponde al promedio de tres mediciones, las barras de error representan la desviación estándar. Letras distintas indican diferencias estadísticas respecto al valor de referencia de cada tratamiento b: $p < 0,0001$; c: $p < 0,001$; d: $p < 0,05$.

ENSAYOS DE MIGRACIÓN CELULAR

Con el fin de profundizar en el conocimiento de las acciones del IGF-II sobre el trofoblasto se realizó un ensayo de motilidad. Se demostró (Fig. 4A) que el tratamiento con IGF-II (10 nM) incrementa dos veces la migración celular y de manera similar lo hacen hCG (5.000 mUI/mL) e IGF-I (10 nM) aunque en menor grado (1,8 y 1,3 veces respectivamente). Al igual que en los ensayos de proliferación, el análisis de los efectos combinados no mostró aditividad en las acciones de IGF-II y hCG en las dosis empleadas.

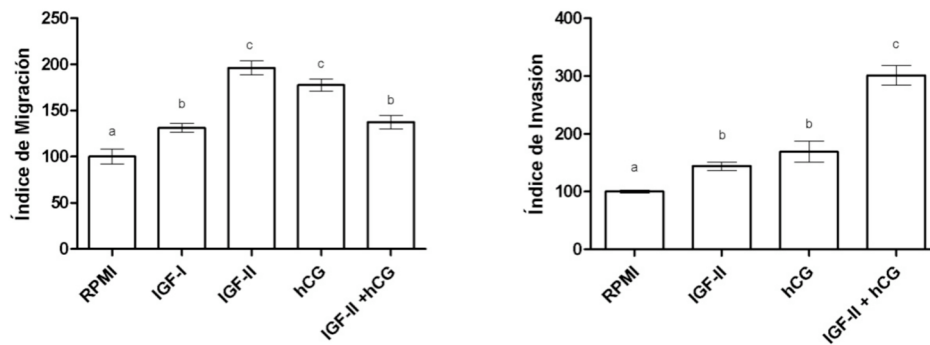


Figura 4. Regulación de la migración e invasión de las células trofoblásticas HTR-8/SVneo por IGF-II y hCG. A) El ensayo de migración se realizó empleando cámaras de Boyden en presencia de los diferentes estímulos durante 12 horas, IGF-I (10 nM), IGF-II (10 nM), hCG (50.000 mUI/mL) y la combinación de IGF-II y hCG en las dosis descritas. Los resultados se presentan como índice de migración respecto las células en medio libre de suero (RPMI). B) El ensayo de invasión sobre Matrigel se realizó en cámaras de Boyden recubiertas con 100 μ L de Geltrex® (9 mg/mL) después de 24 horas de estimulación con los diferentes ligandos en las dosis indicadas anteriormente. Los resultados se presentan como índice de invasión respecto a las células en medio libre de suero (RPMI) y son representativos del promedio de 2 experimentos independientes, las barras de error representan la desviación estándar. Letras distintas indican diferencias estadísticas respecto al valor de referencia de cada tratamiento, b: $p < 0,05$; c: $p < 0,001$.

ENSAYOS DE INVASIÓN CELULAR

La invasión celular implica no sólo procesos de migración sino además requiere que la célula posea la capacidad para unir y degradar componentes de la matriz extracelular. Las propiedades invasivas de las células HTR-8/SVneo se examinaron mediante un ensayo de invasión sobre matrigel, el cual contiene colágeno tipo IV, uno de los componentes de la matriz extracelular. Como se muestra en la figura 4B, tanto IGF-II como hCG inducen significativamente ($p < 0,05$) la invasión celular en comparación con el control (1,4 y 1,7 veces respectivamente) y de manera notable, el tratamiento combinado resultó en un incremento significativo ($p < 0,001$) de tres veces en el índice de invasión, mostrando un efecto estimulador aditivo de las dos hormonas en las dosis empleadas. Estos resultados originales ponen de manifiesto la existencia de una interacción entre los efectos mediados por IGF-II y hCG en la regulación de la invasividad del trofoblasto, cuyo mecanismo está aún por esclarecerse.

DISCUSIÓN

El presente trabajo buscó establecer la posible interacción entre el sistema IGF y la hormona hCG en la regulación de la proliferación, migración e invasión de células de trofoblasto HTR-8/SVneo. Tanto los IGFs como la hCG se han visto implicados en la regulación de ciertas características del trofoblasto pero se desconoce si existen mecanismos de regulación entre sí. En trabajos anteriores de nuestro grupo y de otros investigadores, ya se había documentado la expresión de los genes del sistema IGF en la línea HTR-8/SVneo, así como en la de coriocarcinoma humano JEG-3, sugiriendo así un papel central de estas hormonas en el desarrollo trofoblástico humano (Zygmunt *et al.*, 2005; Díaz *et al.*, 2007).

Diferentes tipos de efectores tanto autocrinos, como paracrinos deciduales, incluidos los IGFs, son reguladores importantes de la proliferación trofoblástica. Se ha encontrado que IGF-II incrementa la proliferación tanto de líneas celulares, JEG-3 y HTR-8, como de explantes placentarios trofoblásticos (Mc Kinnon *et al.*, 2001; Shields *et al.*, 2007). Tanto IGF-I como IGF-II propagan sus señales intracelulares por unión al receptor IGF-IR y activan vías de señalización implicadas en la proliferación, como PI3K/AKT y ERK, las cuales controlan puntos de chequeo durante el ciclo celular. En este trabajo se encontró que hCG estimula la proliferación del trofoblasto de manera dependiente de la dosis, resultado que no ha sido descrito previamente. Este hallazgo original sugiere que la hCG podría estar incrementando la proliferación trofoblástica especialmente en concentraciones elevadas. En patologías de ETG como mola hidatidiforme se encuentran tanto niveles elevados de esta hormona como proliferación trofoblástica excesiva, hechos que sugieren que altas concentraciones de hCG podrían contribuir a la proliferación trofoblástica anormal. No se encontraron efectos aditivos al emplear tratamientos combinados de IGF-II con hCG, lo cual es indicativo de activación de vías de señalización independientes a nivel de proliferación celular.

Los ensayos de migración celular indicaron que tanto IGFs como hCG aumentan significativamente motilidad celular, siendo mayores los efectos promovidos por IGF-II que por IGF-I y además, no se observó aditividad en las acciones de hCG e IGF-II. En un estudio anterior (Zygmunt *et al.*, 2005) se describe el papel de hCG en el reciclamiento del receptor IGF-IIR, incrementando la biodisponibilidad de IGF-II, lo cual podría explicar el incremento observado por nosotros, en la migración celular estimulada por hCG. Un resultado interesante fue registrado al estimular con los ligandos simultáneamente, ya que de acuerdo a lo anterior, se esperaría un incremento en el índice de migración y no la disminución encontrada. Es por lo tanto necesario realizar estudios adicionales que esclarezcan el papel desarrollado por el receptor IGF-IIR en los efectos biológicos del trofoblasto y en las vías de señalización activadas.

El papel de IGF-II en el desarrollo normal de la placenta está muy bien documentado y las células de trofoblasto extraveloso altamente invasivas lo expresan abundantemente. Por lo tanto, es de suponer que IGF-II tiene un papel importante en la regulación de las propiedades invasivas de las células HTR-8/SVneo. Nuestros resultados confirmaron el efecto estimulador de IGF-II sobre la capacidad invasiva de células de trofoblasto y además, demostraron de manera novedosa, el efecto aditivo de las acciones de IGF-II con hCG, lo cual no ha sido descrito previamente. Patologías del trofoblasto como

ETG se caracterizan por crecimiento e invasividad incontroladas de la placenta y se diagnostican usualmente por niveles circulantes altos de hormona hCG. Estudios previos en nuestro laboratorio han demostrado niveles altos de expresión de IGF-II en el tejido trofoblástico molar y de coriocarcinoma en comparación con casos de aborto no molar de la misma edad gestacional (Díaz *et al.*, 2007). Por lo tanto, la síntesis local elevada de IGF-II sumada a producción de hCG alta, pueden contribuir a la progresión de la enfermedad y a sus propiedades invasivas metastáticas.

El conocimiento de los mecanismos moleculares empleados por IGF-II y hCG en el desarrollo y diferenciación de la placenta es un campo investigativo de gran interés. Tanto hCG como los IGFs activan vías de señalización que incluyen a MAPK y PI3K/AKT, las cuales han mostrado regular la migración e invasión de diferentes tipos celulares mediante mecanismos que incluyen la activación de la quinasa de adhesión focal (FAK), la quinasa de cadena liviana de miosina, sobrerregulación de metaloproteasas de la matriz extracelular como MMP-9 y procesamiento de MMP-2. En un estudio anterior empleando la línea trofoblástica SGHPL-5, se encontró que hCG estimula la activación de AKT y ERK promoviendo la activación de MMP-2 y regulando la migración e invasión trofoblástica (Prast, 2008). Igualmente, en nuestro laboratorio se ha podido demostrar mediante zimografía que el estímulo de células HTR-8/SVneo con IGF-II resulta en activación de MMP-9, indicativo de un incremento en la invasividad del trofoblasto (Novoa y Sánchez, 2011). Una tercera vía de señalización implicada en invasión trofoblástica podría darse mediante la unión de ligandos del sistema IGF al receptor de insulina (InsR) y por activación de la vía PI3K como se demostró en la línea celular de coriocarcinoma JEG-3 (Díaz *et al.*, 2007). Es bastante probable por lo tanto, que las propiedades de migración e invasión activadas por IGFs y hCG, confluyan en estas cascadas de señalización, explicando en buena parte los resultados obtenidos en este trabajo.

En conclusión, nuestros resultados demuestran que hCG e IGF-II regulan la invasividad de las células de trofoblasto a través de un mecanismo que puede implicar la interacción de sus acciones celulares, lo que se evidencia en los efectos aditivos observados. Se hacen necesarios más estudios con el fin de clarificar los receptores y mediadores intracelulares responsables de estas acciones. Estos resultados contribuyen al entendimiento de la biología del trofoblasto y muestran que IGFs y hCG juegan un rol central en la regulación de proliferación, migración e invasión de células trofoblásticas y su desregulación puede tener implicaciones en el desarrollo y progresión de patologías como la ETG y el coriocarcinoma.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Colciencias (Proyecto 110145221052) y a la Dirección de Investigación - Sede Bogotá, DIB, Universidad Nacional de Colombia (Proyectos 8003237 y 8003318) por la financiación recibida y a la Dra. Ángela Cadavid, Universidad de Antioquia por la donación de la línea celular HTR-8/SVneo.

BIBLIOGRAFÍA

CHAKRABORTY C, GLEESON LM, MCKINNON T, LALA P. Regulation of Human Trophoblast Migration and Invasiveness. *Can J Physiol Pharmacol.* 2002;80:116-124.

COLE LA. New discoveries on the Biology and Detection of Human Chorionic Gonadotropin. *Reprod Biol Endocrinol*. 2009;7:(8):1-37.

DÍAZ LE, CHUAN YC, LEWITT M, FERNÁNDEZ-PÉREZ L, CARRASCO-RODRÍGUEZ S, SÁNCHEZ GÓMEZ M, *et al*. IGF-II Regulates Metastatic Properties of Choriocarcinoma Cells Through the Activation of the Insulin Receptor. *Mol Hum Reprod*. 2007;13(8):567-576.

EZPELETA JM, COUSILLAS AL. Enfermedad trofoblástica gestacional aspectos clínicos y morfológicos. *Rev Esp Patol*. 2002;35(2):187-200.

GRAHAM CH, HAWLEY TS, HAWLEY R, MACDOUGALL JR, KHOO N, LALA PK. Establishment and Characterization of First Trimester Human Trophoblast Cells with Extended Lifespan. *Exp Cell Res*. 1993;206(2):204-211.

GUVAKOVA MA. Insulin-Like Growth Factors Control Cell Migration in Health and Disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007;39(5):890-909.

MC KINNON T, CHAKRABORTY C, GLEESON LM, CHIDIAC P, LALA PK. Stimulation of Human Extravillous Trophoblast Migration by IGF-II is Mediated by IGF Type 2 Receptor Involving Inhibitory G Protein(s) and Phosphorylation of MAPK. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86(8):3665-3674.

MOSMANN T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. *J Immunol Methods*. 1983;65(1-2):55-63.

NOVOA -HERRAN S, SANCHEZ-GOMEZ M. EL IGF-II estimula la actividad de MMP-9 y MMP-2 en un modelo de trofoblasto humano. *Acta biol Colomb*. 2011;16(1), 121-132.

O'DELL S, DAY NM. Insulin-Like Growth Factor II (IGF-II). *Int J Biochem Cell Biol*. 1998;30:767-771.

PRAST J, SALEH L, HUSSLEIN H, SONDEREGGER S, HELMER H, KNOFLER M. Human Chorionic Gonadotropin Stimulates Trophoblast Invasion through Extracellularly Regulated Kinase and AKT Signaling. *Endocrinology*. 2008;149(3):979-987.

SHIELDS S, CATALIN C, CHAKRABORTY C. Rho GTPases Differentially Regulate IGF-I Receptor-Dependent and Independent Actions of IGF-II on Human Trophoblast Migration. *Endocrinology*. 2007;148(10):4906-4917.

STAUN-RAM E, SHALEV E. Human trophoblast function during the implantation process. *Reprod Biol Endocrinol*. 2005;3(56):1-12.

VALLEJO AF, UMAÑA-PÉREZ A, SÁNCHEZ-GÓMEZ M, FLORES-MORALES A. Insulin and IGF-I receptors play a role in invasion of human trophoblast through MMP-9 activation. *Growth Horm IGF Res*. 2008;18(1):S58.

ZYGMUNT M, MC KINNON T, HERR F, LALA PK, HAN V. HGC Increases Trophoblast Migration in vitro Via the Insulin-Like Growth Factor II/Mannose-6 Phosphate Receptor. *Mol Hum Reprod*. 2005;11(4):261-267.