

Sarcoma sinovial. Estudio clínico-patológico e inmunohistoquímico de 21 casos con énfasis en el TLE-1, p16 y ciclina D1

Gabriel Juan Mandujano Álvarez,* Carlos Ortiz Hidalgo*,**

RESUMEN

Antecedentes: el sarcoma sinovial es una neoplasia maligna con características clínicas, morfológicas y genéticas específicas.

Objetivo: comunicar el análisis clinicopatológico e inmunohistoquímico de 21 casos de sarcoma sinovial, en especial la expresión de tres marcadores por inmunohistoquímica: TLE-1, ciclina D1 y p16.

Material y método: se realizó el estudio clinicopatológico e inmunohistoquímico de 21 casos de sarcomas sinoviales (tres bifásicos, 16 fibrosos monofásicos y dos poco diferenciados), utilizando, entre otros marcadores, el TLE-1 y la expresión de p16 y la ciclina D1.

Resultados: el anticuerpo nuclear TLE-1 resultó positivo en 62% (13/21) de los casos. p16 presentó positividad nuclear en 14% (3/21), expresión heterogénea en 48% (10/21) y fue negativa en 38% (8/21). La ciclina D1 mostró incremento de la expresión en 71% (15/21), baja expresión en 19% (4/21), y negatividad en 10% (2/21).

Conclusiones: el TLE-1 es un marcador inmunohistoquímico útil en combinación con los marcadores clásicos del sarcoma sinovial (EMA, citoqueratina y Bcl-2). La expresión de p16 y ciclina D1 se ha correlacionado con alteraciones genéticas descritas en la regulación del ciclo celular en el sarcoma sinovial.

Palabras clave: sarcoma sinovial, TLE-1, p16, ciclina D1, inmunohistoquímica.

ABSTRACT

Background: Synovial sarcoma is a malignant neoplasm with specific clinical, morphological and genetic characteristics.

Objective: To report the clinicopathological and immunohistochemical analysis of 21 cases of synovial sarcoma, specially the expression of three markers by immunohistochemistry: TLE-1, cyclin and p16.

Material and method: A clinicopathologic and immunochemical study was done of 21 cases of synovial sarcomas (three biphasic, 16 monophasic fibrous and two poorly differentiated) using, among other markers, TLE-1, p16 and cyclin D1.

Results: TLE-1 antibody showed a positive nuclear stain in 62% (13/21) of the cases. p16 antibody revealed a diffuse positive nuclear staining in 14% (3/21), heterogeneous expression in 48% (10/21) and negative staining in 38% (8/21). Cyclin D1 showed increased expression in 71% (15/21), low expression in 19% (4/21), and negative staining in 10% (2/21).

Conclusions: TLE-1 is a useful adjunct immunohistochemical marker in combination with the classic (EMA, keratin and Bcl-2) markers of synovial sarcoma. The expression of p16 and cyclin D1 have been correlated with the previously described genetic alteration of the cell cycle deregulations in synovial sarcoma.

Key words: synovial sarcoma, TLE1, p16, cyclin D1, immunohistochemistry.

* Departamento de Patología Quirúrgica, Centro Médico ABC, México, DF.

** Departamento de Biología Celular y Tisular, Universidad Panamericana, México, DF.

Correspondencia: Dr. Carlos Ortiz Hidalgo. Departamento de Patología, Centro Médico ABC. Sur 136 núm. 116, colonia Las Américas, México, DF, CP 01120.

Correo electrónico: cortiz@abchospital.com

Recibido: noviembre, 2010. Aceptado: enero, 2011.

Este artículo debe citarse como: Mandujano-Álvarez GJ, Ortiz-Hidalgo C. Sarcoma sinovial. Estudio clínico-patológico e inmunohistoquímico de 21 casos con énfasis en el TLE-1, p16 y ciclina D1. Patología Rev Latinoam 2011;49(1):1-10.

El sarcoma sinovial es una neoplasia maligna con características clínicas, morfológicas y genéticas específicas, que se presenta en diversos sitios anatómicos con predilección por la región paraarticular de las extremidades inferiores en adolescentes y adultos jóvenes.¹⁻² A pesar de su nombre, no hay un sustento biológico de relación con el tejido sinovial normal ya que su presentación intraarticular es poco común ($\leq 5\%$) y se presenta en sitios donde no hay relación con estructuras sinoviales,³ como en la región parafaríngea,⁴ la pared abdominal,⁵ la pleura,⁶ el corazón⁷ y el riñón.⁸

Desde el punto de vista histológico, el sarcoma sinovial puede ser bifásico, monofásico o poco diferenciado.^{1,3,9} El sarcoma sinovial bifásico, por sus componentes fusiformes y epiteliales, generalmente no representa problemas diagnóstico; sin embargo, la distinción del tipo monofásico fusocelular y del poco diferenciado con otros sarcomas puede ser difícil. La mayor parte de los sarcomas sinoviales son positivos por inmunohistoquímica a diversas citoqueratinas (CK) y al antígeno de membrana epitelial (EMA); sin embargo, algunos casos pueden presentar positividad leve o ser negativos a estos marcadores.² El Bcl-2 es expresado difusamente por los sarcomas sinoviales, especialmente en los tipos fusiformes, no obstante otras neoplasias lo pueden expresar en menor proporción, como el tumor de vaina de nervio periférico benigno y maligno, así como el histiocitoma fibroso maligno.¹⁰ Por lo anterior ha sido necesario identificar inmunomarcadores con mayor sensibilidad y especificidad diagnósticas.

En diferentes estudios se ha identificado al TLE-1 (*Transducin-Like Enhancer of split-1*), como un gen asociado, aunque no específico, del sarcoma sinovial.¹¹ El TLE-1 pertenece a una familia de genes que codifican una proteína que en los mamíferos tienen funciones relacionadas con procesos del desarrollo embrionario, donde el efecto represor del TLE-1 es dependiente del estado de fosforilación y se encuentra implicada la actividad de la histona deacetilasa (*histone deacetylase*, HDAC). Al inhibidor FK228 de la HDAC se le ha relacionado recientemente como inhibidor de la proliferación en el sarcoma sinovial, dando apoyo a la idea que la sobreexpresión del TLE-1 puede tener un papel importante en la fisiopatología del sarcoma sinovial e, incluso, se ha propuesto al TLE-1 como un posible blanco terapéutico.¹¹ Por otro lado, en el análisis molecular del comportamiento del ciclo celular del sarcoma sinovial, se ha identificado incremento de la expresión de la ciclina D1 y ciclina A, así como de la proteína p16, esta última relacionada con la eliminación del gen p16^{INK4A} (CDKN2A) en el sarcoma sinovial.

En este estudio presentamos el análisis clinicopatológico e inmunohistoquímico de 21 casos de sarcoma sinovial e investigamos en especial la expresión de tres marcadores por inmunohistoquímica que son el TLE-1, la ciclina D1 y el p16, mismos que están estrechamente asociados con alteraciones del perfil genético (TLE) y ciclo celular (cyclina D1 y p16), del sarcoma sinovial.¹¹⁻¹³ Además, evaluamos

la expresión del CD56, CD99, PGP 9.5, PS100, actina, desmina y CD138 y diversas queratinas.

MATERIAL Y MÉTODO

Se revisaron los archivos del departamento de Patología Quirúrgica del Centro Médico ABC de la Ciudad de México de enero de 2000 a diciembre de 2007. Se analizó la edad, el género, la topografía de la neoplasia y los hallazgos histopatológicos e inmunohistoquímicos.

Los criterios diagnósticos de inclusión, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, fueron sarcomas originados en tejido blando constituidos histológicamente por: 1) células fusiformes que formaran fascículos uniformes densos, compuestos por células con núcleos ovoides estrechos y escaso citoplasma con bordes celulares no bien definidos (sarcomas sinoviales monofásicos), 2) células fusiformes, igual a las descritas anteriormente, entremezcladas con componente epitelial constituido por células cúbicas-cilíndricas con formación pseudoglandular (sarcoma sinovial bifásico) o 3) con células grandes epiteloides o redondas pequeñas o fusocelulares de alto grado (sarcoma sinovial poco diferenciado).^{1,3} Además, todos los casos presentaron los siguientes componentes histológicos en diferente proporción: bandas gruesas de colágena, patrón hemangiopericitoides, mastocitos y calcificaciones focales. Los criterios de inclusión por inmunohistoquímica fueron la positividad al menos de dos de los siguientes marcadores: citoqueratinas (AE1-3, CK7, Pan-queratina OSCAR),^{1,3} antígeno de membrana epitelial (EMA)^{1,3} y Bcl-2.^{1,10}

Del material incluido en parafina, se hicieron cortes de tres micras para tinción con hematoxilina y eosina. Además, se realizó inmunohistoquímica utilizando el complejo avidina-biotina-peroxidasa con controles positivos y negativos para cada uno de los anticuerpos. Los anticuerpos utilizados, marcas y diluciones se resumen en el Cuadro 1. La positividad nuclear al anticuerpo polyclonal TLE-1 se graduó, con un objetivo de x10, de la siguiente manera: “3+” (intensa), cuando se identificó positividad intensa nuclear en más de 50% de las células neoplásicas; “2+” (moderada), cuando hubo positividad moderada- intensa en 10-50%; “1+” (débil), en casos de menos de 50% de las células con positividad nuclear leve a moderada; “0” (negativa). Estos criterios son los del sistema de graduación originalmente informados por Terry

Cuadro 1. Anticuerpos primarios

Anticuerpo	Clona	Dilución	Compañía
TLE1	SC-9121	1:300	Santa Cruz Biotechnology
p16	16PO4,JC2	1:25	Bio SB
Ciclina D1	2021	1:50	Bio SB
Bcl-2	124	1:50	Dako
EMA	E29	1:80	Bio SB
AE1-AE3	AE1-AE3	1:50	Dako
OSCAR (CK 7, 8, 18, 19)	LOS2102AS	1:40	Cortesía de Phenopath (Allen Gown)
CK 7	OV-TL12/30	1:100	Cell Marque
CD 56	123C3.05	1:50	Bio SB
CD 99	HO36.1.1	1:50	Bio Genex
PGP 9.5	Policlonal	1:45	Neo Markers
PS100	15E2E2	1:3000	Bio Genex
Actina	HHF3S	1:30	Bio SB
Desmina	D33	1:20	Dako
CD 138	B-B4	1:50	Bio SB

y col.¹¹ (Figura 1). La ciclina D1 y el p16 igualmente se evaluaron con base en mediciones de informes previos:¹⁴ la ciclina D1 se informó (con un objetivo de x10) como negativa, con menos de 5% de núcleos neoplásicos; baja expresión, con 5-10% de positividad nuclear; expresión alta con más de 10% de núcleos de células neoplásicas. La inmunorreacción nuclear del p16 se evaluó (con un objetivo de x10) como sigue: negativo, menos de 20% de

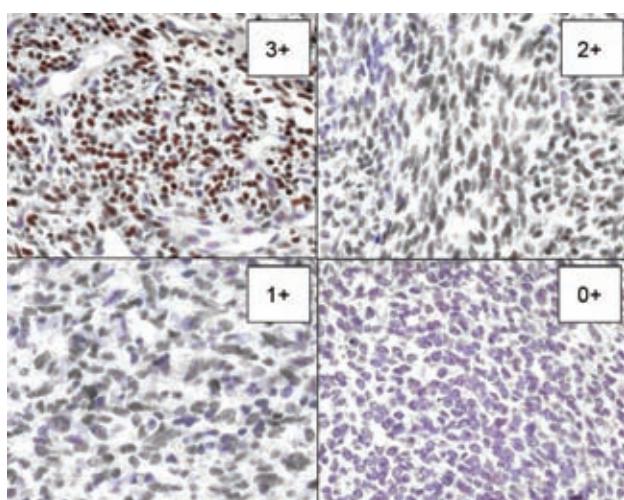


Figura 1. Inmunohistoquímica con anti-TLE-1. La positividad del núcleo al anticuerpo políclonal TLE1 se graduó como: "3+" (intensa), "2+" (moderada), "1+" (débil) y "0" (negativa). Las figuras de este artículo aparecen a color en el anexo 1 de este número.

células neoplásicas; heterogéneo, en 20 a 80% de células neoplásicas; positivo, más de 80% de células neoplásicas.

RESULTADOS

Nueve casos fueron hombres y 12 mujeres, las edades variaron entre 4 y 75 años con promedio de 37.2 años, con predominio en la tercera y cuarta décadas de la vida (Cuadro 2). La localización más frecuente fue en las extremidades inferiores (12 casos), con distribución topográfica que se resume en la Figura 2.

Hallazgos histopatológicos

Los subtipos histológicos de los sarcomas sinoviales fueron monofásico fusocelular en 16 casos, bifásico en tres y poco diferenciado en dos (uno con células pequeñas y uno fusocelular de alto grado, Cuadro 2). Los monofásicos exhibieron características similares constituidos por una población celular densa con formación de haces y fascículos de células fusiformes con áreas con patrón hemangiopericitoides y bandas gruesas de colágena en cantidad variable. Se identificaron escasos mastocitos dispersos entre las células neoplásicas y quistes limitados por paredes de células fusiformes neoplásicas en dos (casos 18 y 21). En cuatro casos hubo calcificaciones focales (Figura 3A) sin osificación u osteoide. En los tres casos bifásicos (casos 1, 9 y 16), el componente epitelial presentó formación glandular franca (Figura 3B). De los dos casos poco diferenciados (casos 6 y 21), uno fue de células redondas (caso 6), con abundantes bandas de colágena y uno fusocelular (caso 21), con áreas de acentuado pleomorfismo y abundantes mitosis (28 mitosis en 10 campos de 40x).

Inmunohistoquímica

Los resultados de inmunohistoquímica por caso se especifican en el Cuadro 3.

Marcadores epiteliales

Las citoqueratinas (CK, Figura 3C-D) y el EMA (Figura 4A-B) fueron positivos en el citoplasma y membrana en 86% (18/21) y 95% (20/21) de los casos, respectivamente. Las diferentes queratinas utilizadas fueron AE1-AE3, OSCAR (CK 7, 8, 18, 19) y CK 7, que se utilizaron en forma variable en los diferentes casos (Cuadro 3), y se expresaron como a continuación se describe en los diferentes tipos

Cuadro 2. Características clínicas e histológicas

Caso	Edad	Sexo	Localización	Tipo histológico
1	51	Masculino	Plantar derecha	Bifásico
2	40	Femenino	Pie derecho	Monofásico
3	73	Femenino	Ingle derecho	Monofásico
4	62	Femenino	Muslo derecho	Monofásico
5	7	Femenino	Pie derecho	Monofásico
6	10	Masculino	Peritoneal	Poco diferenciado
7	22	Femenino	Muslo derecho (intraneurral)	Monofásico
8	27	Femenino	Cuello*	Monofásico
9	75	Femenino	Conducto tiroglosa	Bifásico
10	12	Masculino	Pierna izquierda	Monofásico
11	38	Masculino	Muslo*	Monofásico
12	63	Masculino	Retroperitoneo	Monofásico
13	38	Femenino	Pierna izquierda	Monofásico
14	30	Femenino	Pie*	Monofásico
15	4	Masculino	Tórax*	Monofásico
16	57	Masculino	Muslo derecho	Bifásico
17	26	Femenino	Rodilla izquierda	Monofásico
18	20	Femenino	Muslo derecho	Monofásico
19	39	Femenino	Cuello*	Monofásico
20	16	Masculino	Retroperitoneo	Monofásico
21	73	Masculino	Pared torácica	Poco diferenciado

* Se desconoce el sitio exacto y el lado.

Todos los casos de sarcoma sinovial monofásico fueron fusocelulares.

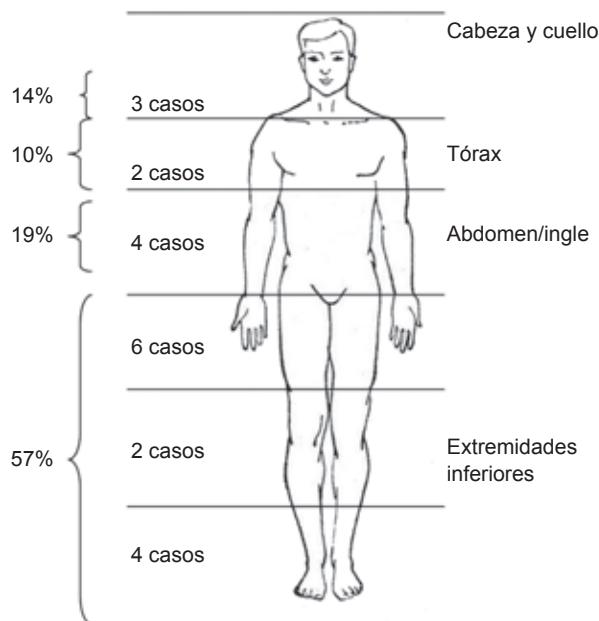


Figura 2. Distribución topográfica de los 21 casos. En esta serie de 21 casos, no se identificaron tumores en extremidades superiores.

de sarcoma sinovial. En los casos monofásicos, presentaron positividad citoplásmica de predominio en parches (Figura 3C), con expresión de AE1-3 en 66.6% (8/12), CK7 en 50% (1/2), OSCAR en 100% (3/3). En los casos bifásicos, fueron más intensas en el componente epitelial (Figura 3D), con AE1-3 en 100% (3/3) y CK7 en 100% (1/1). En los sarcomas sinoviales poco diferenciados se expresó en el citoplasma de las células neoplásicas como sigue: AE1-3 en 0% (0/1), CK7 en 100% (1/1) y OSCAR en 100% (2/2).

Bcl-2

Las células neoplásicas fueron positivas intensamente en el citoplasma, difusa o focalmente con el Bcl-2 en todos los casos (21/21, Figura 4C-D). Al igual que en los sarcomas sinoviales monofásicos, en los casos bifásicos la positividad fue predominante en las áreas fusocelulares (Figura 4D) y en los poco diferenciados, la marcación fue citoplásmica intensa multifocal en el fusocelular de alto grado (caso 21), y débil citoplásmica en el de células redondas (caso 6).

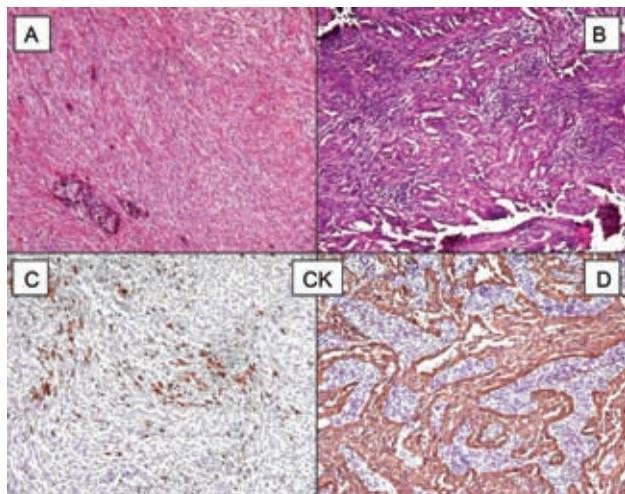


Figura 3. Sarcoma sinovial monofásico fusocelular (fibroblástico) con microcalcificaciones [A, 10x, hematoxilina y eosina (H&E)]. B. Sarcoma sinovial bifásico con su clásica combinación de áreas glandulares y fusocelulares neoplásicas (10x, H&E). C. Expresión citoplasmática del cóctel de citoqueratinas AE1-3, en focos de sarcoma sinovial monofásico (10x), y en el caso bifásico (D), con acentuada positividad en el componente glandular (10x).

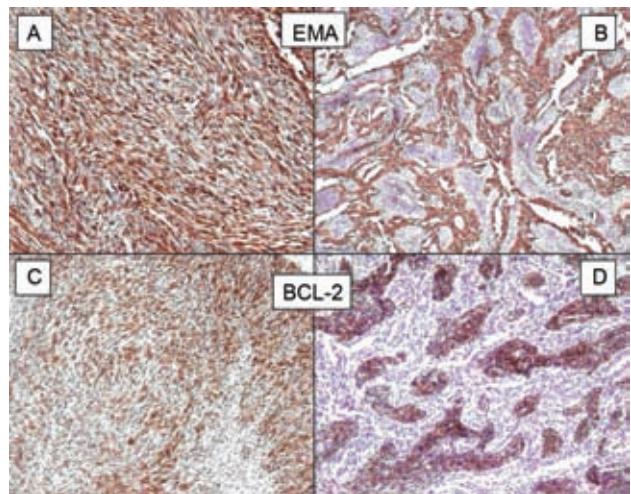


Figura 4. Positividad intensa y multifocal en sarcoma sinovial monofásico para el EMA (A y B), y el Bcl-2 (C y D). En el sarcoma sinovial bifásico, el EMA es acentuadamente más positivo, en el componente glandular (C) y el Bcl-2 en el componente fusiforme (D) (10x).

Cuadro 3. Resultados de inmunohistoquímica

Casos	TLE 1	p16	Ciclina-D1	Anticuerpo										
				BCL-2	EMA	CK	CD56	CD99	PGP 9.5	PS100	Actina	Desmina	CD138	
1	2+	±	↑	+	+	+ ^A	+	-	NR	-	NR	NR	NR	
2	3+	±	→	+	-	+ ^A	+	-	NR	-	-	-	NR	
3	0-	-	↑	+	+	+ ^A	+	-	NR	-	+	NR	NR	
4	3+	-	↑	+	+	+ ^A	+	-	NR	-	-	NR	NR	
5	0+	±	↑	+	+	+ ^B	+	+	NR	-	NR	-	NR	
6	0	-	↓	+	+	+ ^B	+	-	NR	-	-	NR	NR	
7	0	±	-	+	+	+ ^{AC}	+	+	NR	-	-	NR	NR	
8	0	-	↓	+	+	- ^A	+	+	+	+	NR	NR	NR	
9	3+	±	↑	+	+	+ ^{AC}	+	-	+	-	NR	NR	NR	
10	2+	±	↓	+	+	+ ^A	+	-	NR	-	-	-	NR	
11	1+	+	↑	+	+	- ^A	+	+	+	-	-	-	+	
12	0	+	-	+	+	+ ^C	+	-	NR	-	NR	-	NR	
13	0	-	↑	+	+	+ ^A	+	-	+	-	NR	NR	NR	
14	2+	-	↑	+	+	+ ^A	+	-	NR	-	NR	NR	NR	
15	0	+	↑	+	+	- ^A	+	+	+	-	-	-	NR	
16	2+	±	↑	+	+	+ ^A	+	-	+	+	NR	NR	NR	
17	3+	±	↑	+	+	- ^{AC}	+	-	+	-	NR	NR	NR	
18	2+	-	↓	+	+	+ ^B	+	-	+	-	NR	NR	+	
19	2+	±	↑	+	+	+ ^B	+	-	+	+	NR	NR	+	
20	2+	±	↑	+	+	+ ^A	+	-	+	-	-	NR	NR	
21	1+	-	↑	+	+	+ ^B	+	-	+	-	-	NR	NR	

EMA: antígeno de membrana epitelial; CK: citoqueratina; ^A: AE1-AE3; ^B: OSCAR (CK 8, 18, 19); ^C: CK 7; ±: heterogéneo; NR: no se realizó; ↑: alta expresión; ↓: baja expresión.

TLE-1

Trece de los 21 casos (13/21) resultaron positivos para el TLE-1 (marcación nuclear). La expresión con TLE-1 se identificó en 56.2% (9/16) de los casos monofásicos (con positividad 3+ en tres casos, 2+ en cinco casos, y 1+ en un caso; Figuras 5A, C). En los bifásicos fue predominante en células fusiformes (70-95%), y en menor porcentaje en el componente epitelial (20-40%, Figuras 5B, D). En el poco diferenciado fusocelular fue 1+, y el poco diferenciado de células redondas resultó negativo 0+.

Ciclina D1

La marcación nuclear de la ciclina D1 resultó con alta expresión en 15 casos (71%, Figura 6A-B), baja expresión en cuatro (19%) y negativa en dos casos (10%). En relación con los subtipos, de los monofásicos, 68.7% (11/16) presentan alta expresión, 18.8% (3/16) baja expresión y 12.5% (2/16) fueron negativos. En 100% de los bifásicos hubo alta expresión (3/3). De los poco diferenciados, uno tuvo alta expresión (50%, 1/2) y uno baja expresión (50%, 1/2).

p16

La proteína p16 fue positiva nuclear en tres casos (14%, Figura 6C-D), heterogénea en 10 (48%) y negativa en 8 (38%). Por subtipos, los sarcomas sinoviales monofásicos representaron 18.8% (3/16), con positividad > 80%, en siete casos la positividad fue heterogénea (de 20 a 80%) constituyendo 43.7% (7/16), y en seis casos no hubo reactividad (6/16, 37.5%). Los tres bifásicos tuvieron positividad heterogénea (3/3), con predominio en el componente epitelial (40-70%), sobre las áreas fusocelulares (10-40%). Los dos poco diferenciados fueron negativos (0/2).

Otros marcadores

El CD99 resultó positivo débil citoplásmico en 24% (5/21) únicamente en los sarcomas sinoviales monofásicos. El PGP 9.5 se realizó en 11 casos y presentó positividad variable en intensidad en el citoplasma de los sarcomas sinoviales monofásicos (8/8), en el citoplasma en ambos componentes de los bifásicos (2/2) con mayor intensidad en el componente epitelial, y citoplásmico focal en el caso poco diferenciado fusocelular de alto grado (1/1). El CD56 fue positivo en 100% (21/21), con intensidad variable. La proteína S100 fue positiva débil focal en tres casos (3/21) 14%; dos monofásicos y uno bifásico. La actina sólo fue positiva débil, focal en un caso (1/10,

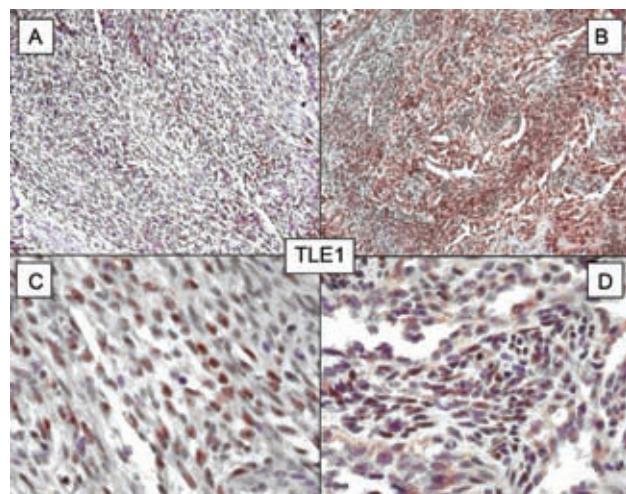


Figura 5. La positividad nuclear es extensa al TLE1 en los casos de sarcoma sinovial monofásico (**A.** 10x. **C.** 40x) y de los sarcomas sinoviales bifásicos en ambos componentes, con predominio en el fusocelular (**B.** 10x. **D.** 40).

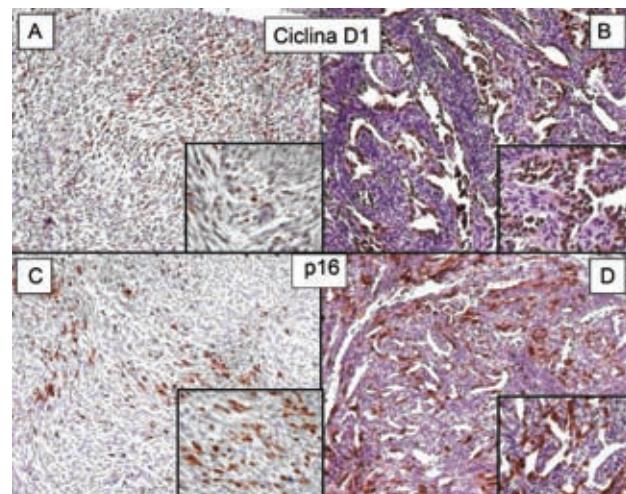


Figura 6. La positividad nuclear a la ciclina D1 es multifocal en el sarcoma sinovial monofásico fusocelular (**A.** 10x, recuadro 40x) y con predominio en el componente epitelial en los sarcomas sinoviales bifásicos (**B.** 10x, recuadro 40x). La p16 es positiva en los núcleos y en menor proporción en el citoplasma en los casos de sarcoma sinovial monofásico (**C.** 10x, recuadro 40x) y con predominio en el componente epitelial en los sarcomas sinoviales bifásicos (**D.** 10x, recuadro 40x).

10%, caso monofásico). La desmina fue negativa en todos los casos que se realizó (0/6). El CD138 fue débil, focal en los tres casos que se realizó (3/3, 100%, uno bifásico y dos monofásicos).

DISCUSIÓN

El sarcoma sinovial es un tumor mesenquimatoso maligno poco frecuente, que puede presentar diferenciación epitelial con formación glandular, y se caracteriza molecularmente por la translocación no aleatoria del gen SYT del cromosoma 18 con la del gen SSX1, SSX2 o raramente SSX4 en el cromosoma X, hasta en 89-96% de los casos.¹⁵ El diagnóstico del sarcoma sinovial requiere correlación clínica, histológica e inmunohistoquímica. El análisis molecular no es requerido, de acuerdo con la OMS, para diagnóstico en la mayoría de los casos.^{15,16}

Desde el punto de vista histológico, existen tres variedades de sarcoma sinovial:^{1,3} 1) tipo bifásico, constituido por un componente fusiforme entremezclado en forma variable con áreas epiteliales. Las áreas epiteliales pueden estar predominantemente constituidas por glándulas irregulares y con escasas células fusiformes, lo cual puede confundirse con adenocarcinoma. El componente epitelial también puede formar cordones sólidos, nidos y grupos celulares circunscritos. En alrededor de 1% de los casos pueden presentar metaplasia escamosa con queratinización. 2) Tipo monofásico fusocelular (o tipo fibroso), está constituido por población densa de células fusiformes en cordones que puede tener patrón hemangiopericitoides. El componente fusocelular tumoral es uniforme formado por células medianas a pequeñas con núcleos pálidos y nucléolos poco evidentes. El citoplasma es disperso y los bordes celulares son poco aparentes, lo que da la apariencia de núcleos sobrepuertos. El sarcoma sinovial monofásico fusocelular es el subtipo más frecuente,³ dato que coincide con nuestra serie, pues correspondió a 76% (16/21) de nuestros casos. El sarcoma sinovial monofásico puramente glandular es prácticamente indistinguible de un adenocarcinoma, si no se emplean estudios citogenéticos.³ 3) El sarcoma sinovial poco diferenciado está subdividido en tres variantes:⁹ de células pequeñas, de células grandes epitelioides y fusocelular de alto grado. En este tipo poco diferenciado, se identifica celularidad densa, con numerosas mitosis y puede haber necrosis, en ocasiones extensa.

Aproximadamente un tercio de los sarcomas sinoviales, y asociado con el componente fusocelular, se pueden encontrar áreas con calcificaciones que cuando son extensas, se considera factor de mejor pronóstico.¹

Por inmunohistoquímica cerca de 90% de todos los sarcomas sinoviales bifásicos expresan diversas citoque-

ratinas (CK, predominantemente CK7 y AE1-3) en el componente epitelial y al menos focalmente en el fusiforme (para su diagnóstico, es necesario la positividad de por lo menos un marcador epitelial^{1,3,17,18}). Sin embargo, esta cifra disminuye hasta 60-70% en los sarcomas sinoviales monofásicos fusocelulares, donde las células positivas a citoqueratina están dispersas o en cordones, nidos o láminas focales. Varios subtipos de citoqueratinas pueden expresarse, incluidas las citoqueratinas 7 y 19, las cuales se expresan muy raramente en tumores de vaina de nervio periférico maligno¹⁸ y sarcoma de Ewing-tumor neuroectodérmico primitivo,¹⁹ por lo que son útiles en el diagnóstico diferencial. En nuestra serie, se identificó positividad a citoqueratinas en 81% (17/21), y la CK AE1-3 fue la que presentó más frecuente y constantemente positividad con 69% (11/16). En los casos de sarcoma sinovial monofásico se identificó expresión de citoqueratinas en 69% (11/16), con predominio de AE1-3 en 66.6% (8/12) y OSCAR en 100% (sólo se realizó en tres casos). En los tres casos bifásicos hubo expresión intensa de citoqueratinas AE1-3 en el citoplasma (100%, 3/3), con un acentuado predominio en el componente epitelial (95-100%) sobre el componente fusocelular (10-35%). En los casos poco diferenciados hubo positividad en los dos casos (100%, 2/2), con el anticuerpo OSCAR (+100%, 2/2), marcador que pueden ser muy útil, ya que en informes como el de van de Rijn y col.,⁹ sólo identificaron positividad para queratinas (CAM 5.2 y MNF116) en 42% de los casos poco diferenciados. El EMA se expresa en un mayor porcentaje y en forma más extensa que las citoqueratinas, especialmente en los subtipos poco diferenciados.^{1,9} La expresión del EMA es citoplasmática con acentuación en las luces glandulares y en espacios que forman zonas de aspecto en “hendiduras”. Algunos casos son EMA-positivos, pero CK negativos o viceversa y por ello ambos marcadores deben ser utilizados. En nuestros casos se observó expresión del EMA en 20 (95%), el caso negativo fue un sarcoma sinovial monofásico que expresó citoqueratina AE1-3 y Bcl-2. El Bcl-2 es positivo en 93% en el citoplasma de los sarcomas sinoviales, sobre todo en el componente fusocelular,^{1,10,19} marcador que se expresó en todos nuestros casos (21/21). Es importante destacar que el CD34 es negativo en el sarcoma sinovial,¹ mismo que se expresa en otros tumores como el tumor fibroso solitario y el tumor del estroma gastrointestinal, neoplasias que expresan también Bcl-2, y en ocasiones pueden ser diagnóstico diferencial del sarcoma sinovial.

En los subtipos fusiformes del sarcoma sinovial, la proteína S-100 puede ser positiva (en núcleo y citoplasma) hasta en 30% de los casos, predominantemente en forma aislada focal,¹ al igual que lo observado en los tumores malignos de vaina nerviosa periférica, por lo que para el diagnóstico diferencial entre estas dos neoplasias es necesario utilizar anticuerpos epiteliales (AE1-3, CK7, CK19), junto con el EMA.^{3,18,19} La variante glandular del tumor de vaina de nervio periférico maligno es rara y representa un diagnóstico diferencial del sarcoma sinovial bifásico; sin embargo, en este tumor neurogénico, el componente glandular presenta epitelio tipo intestinal con células caliciformes, y en ocasiones se asocia con elementos de rabdomiosarcoma (tumor tritón) y puede asociarse con neurofibromatosis tipo 1.³ El CD99 es positivo en 60-70% de los sarcomas sinoviales,^{3,19} tanto en células epiteliales como en células fusiformes. En la mayoría de los casos la expresión del CD99 es citoplásmica (70%) y en una cuarta parte (26%) presenta patrón de membrana;¹⁹ en nuestros casos sólo identificamos positividad citoplásmica débil en 24% (5/21, todos éstos fueron monofásicos fusocelulares). Los marcadores musculares tienen expresión variable en el sarcoma sinovial. La calponina puede expresarse en los sarcoítides sinoviales.¹ Fisher y col. observaron en un estudio de 50 casos que en los bifásicos (19 casos) hubo positividad a ambos componentes en 9/19 casos, sólo en el componente fusocelular en 9/19 y únicamente en el componente epitelial en 1/19. En los sarcomas sinoviales monofásicos fusocelulares (31 casos), estos autores observaron positividad difusa en 32%, moderada en 39% y focal en 29%.²⁰ También la actina se presenta al menos focalmente en 8-21% de los sarcomas sinoviales y la desmina es rara (2%) con positividad focal.²⁰

Recientemente se ha utilizado el TLE-1 en el diagnóstico del sarcoma sinovial. El TLE-1 es un anticuerpo que identifica una proteína producida por un miembro de la familia de genes TLE (*Transducin-Like Enhancer of split*), que se asocia con la vía de señalización Wnt. Este gen está estrechamente relacionado con el sarcoma sinovial, y en diferentes estudios de perfiles genéticos de sarcomas, se ha identificado particularmente el tipo 1 (llamado TLE-1).^{11-13,21,22} La proteína TLE es temporalmente expresada durante la vida embrionaria en el proceso de desarrollo de la neurogénesis y hematopoyesis. Actualmente hay estudios que sustentan la idea de que la sobreexpresión del TLE-1 puede tener un papel importante en la biología del

sarcoma sinovial y la identificación del TLE-1 puede ser un potencial blanco terapéutico.^{11,23} Terry y col.¹¹ demostraron que la detección inmunohistoquímica del TLE-1 no sólo es muy sensible con una expresión en 91/94 (97%) de casos de sarcoma sinovial, sino también muy específica en el contexto comparativo de otros sarcomas que tuvieron expresión poco frecuente y de poca intensidad como los schwannomas (27%), los sarcomas de Ewing (8%), los tumores de vaina de nervio periférico malignos (5%), y nulo en el histiocitoma fibroso maligno (0%). Sin embargo, recientemente Kosemehmetoglu y col. estudiaron 163 tumores de tejidos blandos y hueso y conformaron la alta sensibilidad el TLE-1 en el sarcoma sinovial, pero en este estudio la especificidad resultó baja.²⁴ En nuestro estudio la positividad con el TLE-1 se observó en 63% (14/22), de los cuales, nueve casos fueron monofásicos, tres bifásicos y uno fusocelular de alto grado (poco diferenciado). El TLE-1, como lo indica Kosemehmetoglu, debe considerarse una herramienta útil junto con otros marcadores (como el EMA, diversas citoqueratinas y el Bcl-2) en el diagnóstico diferencial del sarcoma sinovial con otras neoplasias mesenquimatosas.

En los sarcomas donde se han identificado translocaciones cromosómicas, no es frecuente que se presenten alteraciones genéticas en la regulación del ciclo celular, ya que esto se supone un evento secundario.^{14,25} Sin embargo, en el sarcoma sinovial, se han descrito alteraciones en las proteínas de la fase de regulación de G1 que se asocia con peor pronóstico.^{14,25} Así mismo, la importancia de la identificación del tipo de fusión (SYT-SSX1, SYT-SSX2 o raramente SYT-SSX4), ya que ésta participa en el mecanismo de crecimiento y progresión del sarcoma sinovial. Varios estudios han mostrado que los sarcomas sinoviales con SYT-SSX1 cursan con peor pronóstico, cuando se comparan con casos que presentan SYT-SSX2.^{26,27} En un estudio multiinstitucional retrospectivo de 243 casos de sarcoma sinovial, el SYT-SSX1 fue el único factor independiente de la supervivencia global en pacientes con enfermedad localizada al momento del diagnóstico.²⁸ Al estudiar el ciclo celular y la translocación del sarcoma sinovial, Xie y col.²⁹ informaron la asociación de la fusión SYT-SSX1 e incremento de la expresión de las ciclinas A y D1, estableciendo así un nexo entre la t(X;18)(p11.2;q11.2) y la maquinaria del ciclo celular.²⁹ En el ciclo celular normal, la ciclina D1 forma complejos activos con la cinasa dependiente de ciclina 4 (CDK4), para fosforilar pRb, lo

que permite entrar al ciclo y ejerce la regulación temprana durante la fase G1 y también parece ser la conexión con las vías del Rb y el p53.^{30,31} En estudios previos del ciclo celular en el sarcoma sinovial, se ha analizado el porcentaje de expresión inmunohistoquímica de la ciclina D1, el cual ha variado entre 59-65% de positividad nuclear.³¹ En quince de nuestros casos (71%) identificamos expresión nuclear incrementada y en 4 (19%) expresión baja de ciclina D1; resultados ligeramente más altos que los previamente informados en la bibliografía por Subramaniam y col.¹⁴ En el estudio de Antonescu y col.³¹ la expresión de ciclina D1, como factor independiente, no se asoció con el índice de proliferación y no representó impacto en la supervivencia. Sin embargo, la ciclina D1 participa con otros componentes del ciclo celular regulando diferentes conductas biológicas, como es el caso de su asociación con la vía Wnt-β/catenina, en donde la expresión inmunohistoquímica de ambas es más constante en sarcomas sinoviales metastásicos (cyclina D1 en 80% y β catenina en 70%), que cuando se compararon con sarcomas sinoviales no metastásicos (cyclina D1 en 59%, β catenina en 41%).³²

El gen supresor p16^{INK4A} se localiza en el brazo corto del cromosoma 9 (9p21) y codifica dos proteínas: p16 y p14^{ARF}. La p16 actúa en el ciclo celular –es inhibitoria– bloqueando la progresión de la fase G1-S, al interferir en el complejo ciclina D/CDK4 y en forma secundaria inhibe la fosforilación del Rb, causando detención del ciclo celular en G1.^{14,32} Este gen está frecuentemente mutado o inactivado por hipermetilación en neoplasias humanas y recientemente fue descrita la eliminación del gen p16^{INK4A} (CDKN2A), como un evento genético frecuente en el sarcoma sinovial.¹⁴ En 10 de nuestros casos se presentó positividad heterogénea (48%, 10/21), y fue negativa en 8 (8/21, 38%), lo que concuerda con lo informado en el estudio de Subramaniam y col.¹⁴ Ellos encontraron en su análisis la alta frecuencia de casos positivos a la p16 y con eliminación de este gen. Por subtipos, observamos en nuestros casos de sarcomas sinoviales monofásicos que el patrón de expresión fue más frecuentemente heterogéneo 43.7% (7/16), seguido por 37.5% (6/16) que fueron negativos. En los tres casos bifásicos, la expresión fue heterogénea y en los dos poco diferenciados la positividad variable (Cuadro 3).

En resumen, el análisis del perfil inmunohistoquímico del sarcoma sinovial con EMA, CK, y Bcl-2 junto con el nuevo marcador TLE-1, y con los parámetros morfológicos,

cos, contribuyen al diagnóstico sobre todo en los casos fusocelulares y poco diferenciados, que representan el mayor reto diagnóstico. La expresión inmunohistoquímica de proteínas del ciclo celular, como la p16 y la ciclina D1, ha contribuido a esclarecer los mecanismos que participan en el desarrollo del sarcoma sinovial.

REFERENCIAS

1. Fisher C, de Brujin DRH, Geurts van Kessel A. Synovial sarcoma. IN: Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F, editors. World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of Soft Tissue and Bone. Lyon: IARC Press; 2002:200-204.
2. van de Rijn M, Rubin BP. Gene expression studies on soft tissue tumors. Am J Pathol 2002;16:1531-1534.
3. Weiss SW, Goldblum JR. Malignant soft tissue tumor of uncertain type. In: Enzinger and Weiss's Soft Tissue Tumors. 5th ed. Mosby: Philadelphia; 2008:1161-1182.
4. Khademi B, Daneshbod Y, Negahban S, Daneshbod K, et al. Biphasic parapharyngeal synovial sarcoma: a cytologic and immunocytologic report of a case. Cytojournal 2006;14:1-7.
5. Vera J, García MD, Marigil M, Abascal M, et al. Biphasic synovial sarcoma of the abdominal wall. Virchows Arch 2006;449:367-372.
6. Tsukioka T, Inoue K, Iwata T, Mizuguchi S, et al. Resected case of synovial sarcoma in the pleural cavity. Jpn J Thorac Cardiovasc Surg 2006;54:263-266.
7. Hazelbag HM, Szuhai K, Tanke HJ, Rosenberg C, Hogendoorn PC. Primary synovial sarcoma of the heart: a cytogenetic and molecular genetic analysis combining RT-PCR and COBRA-FISH of a case with a complex karyotype. Mod Pathol 2004;17:1434-1439.
8. Palau LMA, Thu-Pham T, Barnard N, Merino MJ. Primary synovial sarcoma of the kidney with rhabdoid features. Int J Surg Pathol 2007;15:421-428.
9. van de Rijn, Matthijs, Barr FG, Xiong Q, et al. Poorly differentiated synovial sarcoma: an analysis of clinical, pathologic, and molecular genetic features. Am J Surg Pathol 1999;23:106-112.
10. Suster S, Fisher C, Moran CA. Expression of bcl-2 oncogene in benign and malignant spindle cell tumors of soft tissue, skin, serosal surfaces, and gastrointestinal tract. Am J Surg Pathol 1998;22:863-872.
11. Terry J, Saito T, Subramanian S, Ruttan C, et al. TLE1 as a diagnostic immunohistochemical marker for synovial sarcoma emerging from gene expression profiling studies. Am J Surg Pathol 2007;31:240-246.
12. Baird K, Davis S, Antonescu CR, Harper UL, et al. Gene expression profiling of human sarcomas: insights into sarcoma biology. Cancer Res 2005;65:9226-9235.
13. Allander SV, Illei PB, Chen Y, Antonescu CR, et al. Expression profiling of synovial sarcoma by cDNA microarrays: association of ERBB2, IGFBP2, and ELF3 with epithelial differentiation. Am J Pathol 2002;161:1587-1595.
14. Subramaniam MM, Noguera R, Piqueras M, Navarro S, et al. p16^{INK4A} (CDKN2A) Gene deletion is a frequent genetic event in synovial sarcoma. Am J Clin Pathol 2006;126:866-874.

15. Amary MF, Diss TC, Flanagan AM. Molecular characterization of a novel variant of a SYT-SSX1 fusion transcript in synovial sarcoma. *Histopathology* 2007;51:559-561.
16. Coindre JM, Pelmus M, Hostein I, Lussan C, et al. Should molecular testing be required for diagnosing synovial sarcoma? A prospective study of 204 cases. *Cancer* 2003;15: 2700-2707.
17. Fisher C. Synovial sarcoma. *Ann Diagn Pathol* 1998;2:401-421.
18. Smith TA, Machen SK, Fisher C, Goldblum JR. Usefulness of cytokeratin subsets for distinguishing monophasic synovial sarcoma from malignant peripheral nerve sheath tumor. *Am J Clin Pathol* 1999;112: 641-648.
19. Olsen SH, Thomas DG, Lucas DR. Cluster analysis of immunohistochemical profiles in synovial sarcoma, malignant peripheral nerve sheath tumor, and Ewing's sarcoma. *Mod Pathol* 2006;19:659-668.
20. Fisher C, Montgomery E, Healy V. Calponin and h-caldesmon expression in synovial sarcoma; the use of calponin in diagnosis. *Histopathology* 2003;42:588-593.
21. Nagayama S, Katagiri T, Tsunoda T, Hosaka T, et al. Genome-wide analysis of gene expression in synovial sarcoma using a cDNA microarrays. *Cancer Res* 2002;62:5859-5866.
22. Segal NH, Pavlidis P, Antonescu CR, Maki RG, et al. Classification and subtype prediction of adult soft tissue sarcoma by functional genomics. *Am J Pathol* 2003;163: 691-700.
23. Ito T, Ouchida M, Morimoto Y, Yoshida A, et al. Significant growth suppression of synovial sarcoma by the histone deacetylase inhibitor FK228 *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Lett* 2005;224:311-319.
24. Kosemehmetoglu K, Vrana JA, Folpe AL. TLE1 expression is not specific for synovial sarcoma: a whole section study of 163 soft tissue and bone neoplasms. *Mod Pathol* 2009;22:872-878.
25. Subramaniam MM, Navarro S, Pellin A, López Guerrero JA, et al. Tissue microarrays profiling of primary and xenotransplanted synovial sarcoma demonstrates the immunophenotypic similarities existing between SYT-SSX fusion gene confirmed, biphasic, and monophasic fibrous variants. *Virchows Arch* 2006;449:435-447.
26. Kawai A, Woodruff J, Healey JH, Brennan MF, et al. SYT-SSX gene fusion as a determinant of morphology and prognosis in synovial sarcoma. *N Eng J Med* 1998;338:153-160.
27. Inagaki H, Nagasaka T, Otsuka T, Sugiura E, et al. Association of SYT-SSX fusion types with proliferative activity and prognosis in synovial sarcoma. *Mod Pathol* 2000;13:482-488.
28. Ladanyi M, Antonescu CR, Leung DH, Woodruff JM, et al. Impact of SYT-SSX fusion type on the clinical behavior of synovial sarcoma: a multi-institutional retrospective study of 243 patients. *Cancer Res* 2002;62:135-140.
29. Xie Y, Skytting B, Nilsson G, Gasbarri A, et al. SYT-SSX is critical for cyclin D1 expression in synovial sarcoma cells: A gain of function of the t(X;18)(p11.2;q11.2) translocation. *Cancer Res* 2002;62:3861-3867.
30. Yoo J, Park SY, Kang SJ, Shim SI, Kim BK. Altered expression of G1 regulatory proteins in human soft tissue sarcomas. *Arch Path Lab Med* 2002;126:567-573.
31. Antonescu CR, Leung DH, Dudas M, Ladanyi M, et al. Alterations of cell cycle regulators in localized synovial sarcoma. A multifactorial study with prognostic implications. *Am J Pathol* 2000;156:977-983.
32. Horvai AE, Kramer MJ, O'Donnell R. β -catenin nuclear expression correlates with cyclin D1 expression in primary and metastatic synovial sarcoma. A tissue microarray study. *Arch Pathol Lab Med* 2006;130:792-798.