



DOCUMENTO DI CONSENSO SUL TRATTAMENTO DELL'OSTEOSARCOMA DELL'ADULTO

A cura del Gruppo di Studio sui Sarcomi

Coordinatori

Maria Pia Brizzi, Alessandro Comandone

Comitato estensore

Sandra Aliberti, Michele Boffano, Antonella Boglione, Alda Borrè, Angelina Cistaro,
Lorenzo D'Ambrosio, Marco Gatti, Giovanni Grignani, Federica Olimpia Grosso,
Alessandra Linari, Patrizia Lista, Raimondo Piana, Monica Rampino, Tiziana Robba

Componenti del Gruppo di Lavoro che hanno approvato il documento

Albertini Ugo, Aliberti Sandra, Birocco Nadia, Boffano Michele, Boglione Antonella, Borrè Alda,
Cauchi Carolina, Cinquegrana Armando, Cistaro Angelina, Ciuffreda Libero, D'Ambrosio Lorenzo,
Deandreis Desirè, Gallo Teresa Maria, Gatti Marco, Grignani Giovanni, Grosso Federica Olimpia,
Linari Alessandra, Lista Patrizia, Mosca Alessandra, Natoli Guido, Ocelli Marcella,
Pia Anna Rosa, Piana Raimondo, Piovesan Alessandro, Pisacane Alberto, Poti Carlo,
Rampino Monica, Razzore Paola, Rossi Maura, Russolillo Nadia, Sandrucci Sergio,
Siatis Dimitrios

Il presente documento si propone di essere uno strumento per armonizzare il percorso diagnostico e terapeutico dei pazienti affetti da osteosarcoma all'interno della Rete Oncologica del Piemonte e della Valle d'Aosta. Pertanto è basato su linee guida internazionali e non ha lo scopo di sostituirle. Assunto fondamentale: nella diagnosi e nel trattamento di queste neoplasie l'obiettivo principale è di indirizzare il paziente al centro di riferimento per l'opportuna valutazione multidisciplinare.

BACKGROUND

L'osteosarcoma è una malattia molto rara (1-2 casi su 100.000 persone/anno) con un picco di incidenza nelle prime due decadi di vita ma può essere riscontrato a qualsiasi età con un secondo picco nell'età avanzata.

L'osteosarcoma è il più frequente dei tumori maligni primitivi dell'osso. Può colpire tutti i segmenti scheletrici ma è più frequente nello scheletro appendicolare vicino al ginocchio e alla spalla. Nella maggior parte dei casi il tumore si manifesta con dolore e/o tumefazione a carico di un distretto corporeo.

Spesso nel giovane la diagnosi è tardiva essendo l'osteosarcoma mascherato da traumi accidentali (sport, gioco,...). Nell'adulto può presentarsi con una frattura patologica del segmento interessato (10-18%). La sopravvivenza a 5 anni in caso di frattura patologica all'esordio è 55%, mentre in assenza di frattura patologica sale al 77%. Il primo esame di Imaging, dopo un adeguato inquadramento clinico con anamnesi ed esame obiettivo, è la radiografia standard in 2 proiezioni.

Caratteristiche radiologiche

L'indagine radiologica in cui è più frequentemente posto il dubbio di una lesione ossea aggressiva, che poi si rivela essere un osteosarcoma in successivi approfondimenti diagnostici, è l'esame radiografico.

L'osteosarcoma classico centrale, che rappresenta l'istotipo più frequente, si presenta come una lesione ossea litica, generalmente in sede metafisaria. I segni radiografici di aggressività sono i margini mal definiti, spesso scarsamente apprezzabili a causa dell'atteggiamento permeativo e della rapida crescita del tessuto tumorale, senza consentire una reazione sclerotica da parte dell'osso sano contiguo.

Talora l'osteolisi è resa radiograficamente evidente dalla reazione periostale causata dal sollevamento del periostio da parte del tessuto neoplastico (triangolo di Codman, reazione periostale a brattee di cipolla).

L'osteolisi è radiograficamente più semplice da individuare quando è più abbondante la matrice osteoide, che rende tipico il reperto radiografico dell'osteosarcoma grazie al suo aspetto cotonoso e calcifico.

Viceversa, è più difficile individuare all'esame radiografico un osteosarcoma convenzionale fibroblastico (privo di matrice osteoide) o un osteosarcoma teleangectasico, che si presentano spesso come lesioni litiche puramente permeative talora con corticale apparentemente indenne.

L'osteosarcoma centrale a bassa malignità generalmente è evidenziabile nell'esame radiografico, ma non presentando marcati segni radiografici di aggressività, può essere mal interpretato quale displasia fibrosa o osteoblastoma, perchè si associano aree litiche e aree intensamente sclerotiche.

Gli osteosarcomi periferici, quali l'osteosarcoma paraostale e il periostale, dimostrano un aspetto radiografico relativamente tipico, apparendo come formazioni osteosclerotiche di diversa morfologia a partenza dalla corticale ossea.

Dopo avere posto il sospetto di osteosarcoma è cruciale indirizzare il paziente ad un Centro di riferimento per la cura dei sarcomi. In tale sede viene completata la stadiazione locale e generale con TC e/o RM.

In questi casi l'esame RM va esteso a tutto il segmento scheletrico coinvolto e a tutta l'articolazione prossima alla lesione, includendone entrambi i capi articolari. L'indagine RM conferma la presenza dell'osteolisi, la cui estensione è spesso ben maggiore rispetto a quanto evidenziato dall'esame radiografico. La matrice neoplastica presenta alcuni segni che possono indirizzare verso precisi istotipi. Ad esempio, la matrice osteoide dell'osteosarcoma convenzionale osteoblastico presenta aree di costante ipointensità per la presenza di calcio, mentre in caso di osteosarcoma teleangectasico sono presenti cavità fluide di diverse dimensioni con livelli ematici associate a tessuto parenchimoso. In corrispondenza dell'osteolisi si apprezza il tessuto neoplastico, di cui si può valutare l'estensione verso le parti molli attraverso la corticale, lungo la diafisi e l'eventuale coinvolgimento dell'epifisi e del cavo articolare. L'esame RM pone in evidenza l'edema perilesionale della trabecolatura contigua e delle parti molli viciniori, così come l'eventuale presenza di skip metastasis lungo il segmento scheletrico coinvolto.

Pertanto l'esame RM, oltre a confermare l'aggressività dell'osteolisi di cui è quindi necessaria la biopsia, consente la stadiazione locale della malattia in termini di compartimentalità. Qualora sia necessario quantificare con precisione il coinvolgimento dell'asse vascolare da parte del tessuto neoplastico trova indicazione l'esame TC con mdc del distretto corporeo che può essere condotta nel corso dell'indagine TC torace-addome di stadiazione generale.

La biopsia

Dopo aver completato la stadiazione locale può essere programmata la biopsia. La biopsia può essere eseguita sia con ago trocar (8-10 G) che mediante incisione tenendo sempre presente quella che sarà la via definitiva di accesso per la rimozione della lesione. E' fondamentale che la biopsia con ago sia guidata da una tecnica di Imaging (controllo radioscopico e/o TC), eventualmente con giudizio intraoperatorio di idoneità. In caso di agobiopsia dubbia o non diagnostica si eseguirà biopsia incisionale.

Anatomia patologica e classificazioni

Dal punto di vista anatomopatologico l'osteosarcoma è un tumore maligno della linea mesenchimale in grado di produrre osso e/o sostanza osteoide direttamente dalle cellule neoplastiche che lo compongono.

Gli osteosarcomi vengono classificati in base alla loro localizzazione anatomica, assiale o appendicolare ed ulteriormente in base alla localizzazione nell'osso (intraossei, intracorticali o superficiali). Gli osteosarcomi intraossei sono solitamente più frequenti e più aggressivi rispetto a quelli iuxtacorticali.

In base ai dati dell'OMS gli osteosarcomi sono classificati in:

- 1) forme convenzionali (a loro volta distinti in osteoblastici, condroblastici e fibroblastici in base al tipo di matrice da loro prodotta);
- 2) forme inusuali che istologicamente possono simulare altri tumori ossei come gli osteosarcomi istiocitoma fibroso maligno-like, gli osteosarcomi ricchi in cellule giganti, a piccole cellule, centrali di basso grado, parosteali, periosteali e superficiali di grado elevato.

Gli aspetti istopatologici variano, come per l'Imaging, in funzione del sottotipo.

L'approccio all'istologia di un sospetto osteosarcoma deve avviarsi con il supporto dell'Imaging, senza il quale non è corretto formulare una diagnosi istologica di queste neoplasie. Una caratteristica inequivocabile, in tutti i sottotipi di osteosarcoma, è l'identificazione di sostanza osteoide tumorale o di osso tumorale prodotto dalle cellule neoplastiche. Tale sostanza si identifica, a tutt'oggi, al microscopio in sede intercellulare e deve essere distinta dal collagene, dall'amiloide e dalla fibrina con cui condivide l'intensa eosinofilia. La quantità di sostanza osteoide è estremamente variabile e talora assai scarsa.

L'insieme delle caratteristiche cliniche, radiologiche ed istologiche conduce alla diagnosi di osteosarcoma, seppur con difficoltà in alcuni casi non tipici. L'immunoistochimica è ancora di utilità limitata nella diagnosi di osteosarcoma.

Nonostante l'immuno-espressione di SATB2 aiuti a distinguere l'osteosarcoma nella diagnosi differenziale con altre lesioni ossee, l'identificazione di matrice osteoide maligna associata ai dati clinici e radiologici rimane il fondamento per la diagnosi di osteosarcoma. L'espressione di fosfatasi alcalina, osteocalcina, MDM2 e CDK4 può avere un ruolo nel distinguere l'osteosarcoma (soprattutto di basso grado) da altre lesioni ossee benigne.

L'insieme delle caratteristiche istologiche quali deposizione di matrice osteoide e cellule spiccatamente atipiche è fortemente suggestiva di tale diagnosi.

Una volta stabilito che si tratta di osteosarcoma il patologo deve identificare il sottotipo dell'osteosarcoma in esame e quindi procedere all'identificazione del grado di malignità (grading) in base alla cellularità, al grado di atipia citologica e all'attività mitotica.

Il grading riveste importanza clinica, terapeutica e prognostica. Esistono vari sistemi di grading ma il più usato attualmente è il Sistema a 4 gradi di Broders con cui si intendono 4 livelli di malignità a seconda del grado di differenziazione tumorale della neoplasia in esame.

L'osteosarcoma classico primitivo intraosseo è solitamente di grado elevato, cioè di grado 3/4 mentre gli osteosarcomi parosteali sono considerati tumori di grado 1 di Broders e raramente di grado 2, gli osteosarcomi periosteali e del massiccio facciale di grado 2 e raramente di grado 3. L'osteosarcoma teleangectasico, tutti gli osteosarcomi secondari e gli osteosarcomi multifocali sono considerati di grado 4 di Broders.

Stadiazione

Ottenuta la diagnosi istologica di osteosarcoma, si procede alla stadiazione locale con eventuale completamento dell'esame RM estesa a tutto l'arto affetto e alla stadiazione generale tramite TC torace-addome con mdc, eventualmente estesa all'arto interessato per meglio valutare il coinvolgimento dell'asse vascolare.

La stadiazione sistemica prevede anche l'uso della scintigrafia ossea per la valutazione dell'estensione della malattia scheletrica e per la valutazione della risposta alla radio e chemioterapia della componente ossea della malattia. La PET con 18F-FDG può essere utilizzata nella stadiazione e nella ristadiazione di malattia.

Presentazioni particolari

- Osteosarcomi del massiccio facciale
- Osteosarcoma su Paget osseo

STRATEGIA TERAPEUTICA

Per la pianificazione del trattamento dell'osteosarcoma è importante la discussione multidisciplinare del caso clinico. E' raccomandato l'inserimento dei pazienti in studi clinici. La chemioterapia ad oggi è l'unico trattamento utilizzabile sia in fase pre e post- operatoria che nella malattia metastatica. In funzione del trattamento chemioterapico si eseguiranno:

- Preservazione fertilità
- Esami funzionalità d'organo

Chemioterapia pre-operatoria. E' da considerare in tutti i casi possibili. In situazioni cliniche peculiari (frattura patologica, impending fracture) il trattamento chirurgico può essere anticipato rispetto alla chemioterapia. La chemioterapia neoadiuvante/pre-operatoria non cambia la storia naturale della malattia ma permette una valutazione prognostica basata sulla necrosi post-trattamento. La risposta istologica alla chemioterapia preoperatoria correla significativamente con la sopravvivenza.

- Farmaci di riferimento: Metotrexate, Adriamicina, Cisplatino +/- Ifosfamide diversamente combinati sia in fase pre-operatoria che post-operatoria. E' importante mantenere un'elevata dose totale dei farmaci. Il successivo trattamento locale dovrà essere pianificato dopo ulteriore stadiazione locale e generale di malattia.

Intervento chirurgico. E' la prima scelta nel trattamento locale di questa patologia; è importante la pianificazione da parte di un chirurgo con elevata esperienza nei sarcomi dell'osso. Lo scopo primario è la rimozione del tumore con margini ampi preservando l'arto interessato e ottenendo il miglior risultato funzionale possibile con tempi di guarigione che consentano di riprendere il trattamento chemioterapico nei tempi previsti. In rari casi (<5%) è ancora indicato un intervento di amputazione per ottenere margini adeguati o per il controllo del dolore in caso di chirurgia palliativa. La qualità dei margini insieme al grado e alla necrosi post-chemioterapica correla con il rischio di recidiva e con la sopravvivenza. Dopo l'intervento chirurgico inizia la fase riabilitativa che spesso si interseca con la chemioterapia post-operatoria. Il ruolo del fisiatra e del fisioterapista è fondamentale nel gruppo multidisciplinare al fine di consentire il maggiore e più rapido recupero funzionale prevenendo le complicanze a breve e lungo termine dell'allettamento o dell'immobilità.

Valutazione istologica del pezzo resecato. Sul campione resecato chirurgicamente è opportuno eseguire, da parte del patologo e dopo adeguata decalcificazione, un campionamento macroscopico molto approfondito: si esegue una sorta di "mappatura" istologica eseguendo macrosezioni secondo l'asse maggiore della neoplasia (longitudinale) da cui si ricavano poi numerose più piccole sezioni (lungo l'intera superficie della macrosezione) che verranno incluse in paraffina e quindi esaminate istologicamente al microscopio ottico.

Su tutte le sezioni istologiche viene valutata la percentuale di necrosi tumorale e di malattia neoplastica residua. Una volta valutata la necrosi, in base alla percentuale finale, si applica un grading di valutazione della necrosi chiamato Sistema di Huvos che riconosce 4 gradi di necrosi neoplastica. Più la necrosi è estesa più il valore prognostico sarà a favore del paziente.

Il significato di tale valutazione è di inserire i casi di osteosarcoma post-CT in due grandi gruppi con impatto prognostico differente: il gruppo con percentuale di necrosi neoplastica inferiore al 90% della superficie neoplastica esaminata (poor responder) ed il gruppo con percentuale di necrosi uguale o superiore al 90% (good responder).

Questo sistema di valutazione è ancora ad oggi soggettivo e legato all'osservazione microscopica del patologo.

Chemioterapia post-operatoria. I pazienti a buona prognosi proseguiranno la chemioterapia in fase adiuvante con i 3 farmaci MAP, i pazienti con necrosi inferiore al 90% aggiungeranno Ifosfamida alla suddetta combinazione. Sono previsti da 9 a 12 cicli compatibilmente con la tolleranza e la mielo e nefrotossicità.

Ruolo della radioterapia. L'osteosarcoma è tradizionalmente considerato un istotipo radio-resistente, tuttavia recenti pubblicazioni evidenziano che l'utilizzo di alte dosi di radioterapia potrebbe fornire un aumento del controllo locale di malattia.

Laddove per presentazione e sede di malattia i margini chirurgici non possano essere adeguati, la radioterapia può essere proposta, dopo discussione del caso in sede multidisciplinare.

L'utilizzo di radioterapia con particelle pesanti sembrerebbe permettere un controllo locale superiore a quello ottenibile mediante fotoni, con inoltre maggior risparmio degli organi sani a rischio.

In particolare, la radioterapia con protoni o con associazione di protoni e fotoni potrebbe offrire un vantaggio in lesioni inoperabili o resecate in modo incompleto e non radicalizzabili, nelle aree critiche per la radicalità chirurgica (assiali e cervico-cefaliche) e nei giovani, ove la riduzione della dose integrale ai tessuti sani può ridurre il rischio di seconde neoplasie radioindotte.

L'ottimale coordinamento di chirurgia, chemioterapia, nuove terapie target e radioterapia potrebbe offrire un netto vantaggio in termini di controllo locale; ma la migliore integrazione e il timing in questo approccio multimodale restano ancora da definire.

Recidiva di malattia e metastasi a distanza

Circa il 20% dei pazienti presenta metastasi polmonari alla diagnosi e questo rappresenta un sicuro fattore prognostico negativo per la sopravvivenza.

Nei restanti pazienti il 30-40% svilupperà metastasi a distanza nel tempo di follow up.

La ricaduta di malattia avviene nel 90% dei casi a livello polmonare, la recidiva locale è meno frequente soprattutto se l'intervento è eseguito in un centro di riferimento (4-7%) contro il 10-14% se l'intervento è stato eseguito in centri non specializzati o se all'esordio vi è stata una chirurgia non

pianificata o una frattura patologica. Più rare e gravate da prognosi infausta sono le metastasi ossee o in altre sedi.

- **Metastasectomia polmonare.** In caso di malattia limitata a livello polmonare è necessaria la discussione multidisciplinare per valutare l'operabilità delle suddette lesioni. Dopo intervento chirurgico radicale il 20% dei pazienti è lungo sopravvive a 5 anni. Può essere presa in considerazione la chirurgia reiterata in caso di ricomparsa di localizzazioni polmonari. In caso di inoperabilità il ruolo della radioterapia stereotassica può essere valutato in funzione del quadro clinico e di presentazione di malattia.
- **Recidiva loco regionale.** La recidiva locale peggiora la prognosi soprattutto se associata alla comparsa di metastasi polmonari. In caso di recidiva locale spesso l'amputazione è l'unico intervento praticabile, anche se non vi sono evidenze che un intervento radicale demolitivo possa migliorare la prognosi. Pertanto se tecnicamente fattibile l'obiettivo del chirurgo è di ottenere margini adeguati salvando l'arto al fine di garantire una miglior qualità di vita del paziente.

Trattamento nella malattia avanzata.

In caso di malattia metastatica o localmente avanzata non trattabile chirurgicamente è possibile intraprendere una chemioterapia di salvataggio che, nell'analisi della letteratura, prende in considerazione o le alte dosi di Ifosfamide o Gemcitabina+Docetaxel. La remissione completa o la guarigione è aneddota. Sono stati pubblicati e/o sono in corso studi con farmaci a bersaglio molecolare o immunoterapici i cui risultati vanno interpretati con grande cautela.

FOLLOW UP

Limitatamente alla diagnosi di metastasi polmonari operabili o recidive locali operabili il follow up può consentire un anticipo diagnostico e impattare sulla prognosi del paziente. E' pertanto consigliato nella pratica clinica un controllo periodico locale e del torace secondo lo schema seguente:

- Ogni appuntamento di follow up deve prevedere la visita medica con anamnesi ed esame obiettivo

- RX/Imaging della sede iniziale di malattia + TC torace ogni 3 mesi per i primi 2 anni
- RX/Imaging della sede iniziale di malattia + RX/TC torace ogni 4 mesi per il 3[^] e 4[^] anno
- RX/Imaging della sede iniziale di malattia + RX/TC torace ogni 6-12 mesi dal 5[^] al 10[^] anno
- Monitoraggio clinico-radiologico della ricostruzione ortopedica basato sul tipo di intervento eseguito.

La valutazione radiologica di follow up della sede primitiva di malattia è spesso vincolata al tipo di intervento chirurgico eseguito e può essere effettuata con RX, TC e/o RM.

Per quanto riguarda l'utilizzo del mezzo di contrasto in RM appare ormai accettato che spetta al radiologo scegliere di caso in caso qualora il reperto basale non consenta di dirimere tra recidiva locale e tessuto cicatriziale. La TC locale permette di valutare l'integrazione dell'innesto/protesi impiantati e il loro eventuale riassorbimento/mobilizzazione.

Per il follow up delle metastasi polmonari l'esame TC del torace è eseguito nelle condizioni basali, poiché è dimostrato che l'elevato effetto di contrasto naturale tra l'aria polmonare e la lesione nodulare solida consente un'attendibile valutazione delle metastasi. Il mezzo di contrasto è comunque spesso indispensabile per meglio valutare le linfadenopatie mediastiniche e le lesioni della parete toracica.

Nel corso del follow up del distretto toracico, poiché i pazienti saranno sottoposti a plurimi esami nel tempo, diviene fondamentale contenere la dose assorbita del paziente tramite tecniche, protocolli e algoritmi dedicati ("low dose CT" e "ultra low dose CT"). Anche quando condotta con questa tecnica, la TC del torace mantiene una sensibilità molto elevata e sovrapponibile a quella della TC standard (circa 98% per noduli <5mm), con riduzione della dose di almeno quattro volte. Quando tecnicamente disponibile la low dose CT può pertanto sostituire l'esame radiografico del torace nel follow up, che presenta accuratezza diagnostica decisamente inferiore.

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

- Dahlin DC, Coventry MB. Osteosarcoma, a study of 600 cases. J Bone Joint Surg 1967;49A:101-10
- Widhe B, Widhe T. Initial symptoms and clinical features in osteosarcoma and Ewing sarcoma. J Bone Joint Surg [Am] 2001;82:667-74
- Chung LH, Wu PK, Chen CF, Weng HK, Chen TH, Chen WM. Pathological fractures in predicting clinical outcomes for patients with osteosarcoma. BMC Musculoskelet Disord. 2016 Dec 28;17(1):503
- Salunke AA, Shah J, Gupta N, Pandit J. Pathologic fracture in osteosarcoma: Association with poorer overall survival. Eur J Surg Oncol. 2016 Jun;42(6):889-90
- Cates JM. Pathologic fracture a poor prognostic factor in osteosarcoma: Misleading conclusions from meta-analyses? Eur J Surg Oncol. 2016 Jun;42(6):883-8
- Haynes L, Kaste SC, Ness KK et al. Pathologic fracture in childhood and adolescent osteosarcoma: A single-institution experience. Pediatr Blood Cancer. 2017;64(4)
- Hudson TM, Enneking WF, et al. Magnetic resonance imaging of bone and soft tissue tumors: Early experience in 31 patients compared with computed tomography. Skeletal Radiol 1983;10:137-46
- Raccomandazioni procedurali per l'imaging oncologico con 18F-FDG PET/TC. AIMN, Versione: 4/2017
- FDG PET/CT: EANM procedure guidelines for tumour imaging: version 2.0. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2015; 42:328–354
- Guidelines for 18F-FDG PET and PET-CT imaging in paediatric oncology. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2008. doi 10.1007/s00259-008-0826-x
- Hurley C, McCarville MB, Shulkin BL, et al. Comparison of 18F-FDG-PET-CT and bone scintigraphy for evaluation of osseous metastases in newly diagnosed and recurrent osteosarcoma. Pediatr Blood Cancer. 2016; 63(8):1381–1386
- Liu F, Zhang Q, Zhou D, et al. Effectiveness of ¹⁸F-FDG PET/CT in the diagnosis and staging of osteosarcoma: a meta-analysis of 26 studies. BMC Cancer. 2019;19(1):323
- Palmerini E, Colangeli M, Nanni C, et al. The role of FDG PET/CT in patients treated with neoadjuvant chemotherapy for localized bone sarcomas. Eur J Nucl Med Mol Imaging. 2017;44(2):215-223

- Enneking WF, Spanier SS, Goodman MA. Current concept review: Surgical staging of musculoskeletal sarcoma. *J Bone Joint Surg* 1982;62A:1027-30
- Huvos AG, Rosen G, Marcove RC. Primary osteogenic sarcoma: pathological aspects in 20 patients after treatment with chemotherapy, en bloc resection, and prosthetic bone replacement. *Arch Pathol Lab Med* 1977;101:14-8
- Machado I, Navarro S, Picci P, et al. The utility of SATB2 immunohistochemical expression in distinguishing between osteosarcomas and their malignant bone tumor mimickers, such as Ewing sarcomas and chondrosarcomas. *Pathol Res Pract.* 2016;212(9):811-6
- Yoshida A, Ushiku T, Motoi T, et al. Immunohistochemical analysis of MDM2 and CDK4 distinguishes low-grade osteosarcoma from benign mimics. *Modern Pathology* 2010; 23:1279–1288
- Chen CY, Zhang HZ, Jiang ZM, et al. Value of MDM2, CDK4 and SATB2 immunohistochemistry in histologic diagnosis of low-grade osteosarcoma. *Zhonghua Bing Li Xue Za Zhi.* 2016;45(6):387-92
- Jeon DG, Koh JS, Cho WH, et al. Clinical outcome of low-grade central osteosarcoma and role of CDK4 and MDM2 immunohistochemistry as a diagnostic adjunct. *J Orthop Sci.* 2015;20(3):529-37
- Agustina H, Asyifa I, Aziz A, et al. The Role of Osteocalcin and Alkaline Phosphatase Immunohistochemistry in Osteosarcoma Diagnosis. *Pathology Research International.* Volume 2018, Article ID 6346409
- Jeys LM, Thorne CJ, Parry M, et al. A Novel System for the Surgical Staging of Primary High-grade Osteosarcoma: The Birmingham Classification. *Clin Orthop Relat Res.* 2017;475(3):842-850
- Simon MA, Aschliman MA, Thomas N, et al. Limb salvage treatment versus amputation for osteosarcoma of the distal end of the femur. *J Bone Joint Surg [Am]* 1986;68:1331-7
- Springfield DS, Schmidt R, Graham-Pole J et al. Surgical treatment of osteosarcoma. *J Bone Surg [Am]* 1980;70:1124-30
- Casali PG, Bielack S, Abecassis N, et al. Bone sarcomas: ESMO–PaedCan–EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology* 2018; 29 (Suppl 4): iv79–iv95

- Campanacci M, Bacci G, Payani P, et al. Multiple drug chemotherapy for the primary treatment of osteosarcoma of the extremities. *J Bone Joint Surg [Br]* 1980;62-B:93- 101
- DeLaney TF, Park L, Goldberg SI, et al. Radiotherapy for local control of osteosarcoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005;1;61 (2)492-8
- DeLaney TF, Liebsch NJ, Pedlow FX, et al. Phase II study of high-dose photon/proton radiotherapy in the management of spine sarcomas. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2009 Jul 1;74(3):732-9
- Ciernik IF, Niemierko A, Harmon DC, et al. Proton-based radiotherapy for unresectable or incompletely resected osteosarcoma. *Cancer* 2011;1;117(19):4522-4530
- Wagner TD, Kobayashi W, Dean S, et al. Combination short-course preoperative irradiation, surgical resection, and reduced-field high-dose postoperative irradiation in the treatment of tumors involving the bone. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2009;73(1):259-66
- Claude L, Rousmans S, Carrie C, et al. Standards and Options for the use of radiation therapy in the management of patients with osteosarcoma. Update 2004. *Cancer Radiother.* 2005; 9(2):104-21
- Hu J, Zhang C, Zhu K, et al. Treatment-Related Prognostic Factors in Managing Osteosarcoma around the Knee with Limb Salvage Surgery: A Lesson from a Long-Term Follow-Up Study. *Biomed Res Int.* 2019;3215824
- Huang X, Zhao J, Bai J, et al. Risk and clinicopathological features of osteosarcoma metastasis to the lung: A population-based study. *J Bone Oncol.* 2019;16:100230
- Duchman KR, Gao Y, Miller BJ. Prognostic factors for survival in patients with high-grade osteosarcoma using the Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER) Program database. *Cancer Epidemiol.* 2015;39(4):593-9.