



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

---

*FACULTAD DE MEDICINA*  
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACION  
SECRETARIA DE SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA

**RESPUESTA HISTOPATOLOGICA A LA  
QUIMIOTERAPIA EN PACIENTES  
PEDIATRICOS CON OSTEOSARCOMA Y  
SUS FACTORES PREDICTIVOS.**

**TRABAJO DE  
INVESTIGACION**

**QUE PRESENTA:**

**DRA. GABRIELA ELISA MERCADO CELIS  
PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:  
E S P E C I A L I S T A E N  
O N C O L O G I A P E D I A T R I C A**

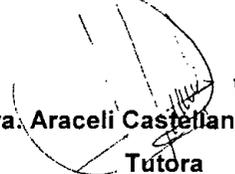


**RESPUESTA HISTOPATOLOGICA A LA QUIMIOTERAPIA EN  
PACIENTES PEDIATRICOS CON OSTEOSARCOMA Y SUS  
FACTORES PREDICTIVOS.**

  
**Dr. Pedro Sánchez Márquez**  
Director de Enseñanza

  
**Dr. Luis Heshiki Nakandakari**  
Jefe del Departamento de Pre y Posgrado

  
**Dr. Roberto Rivera Luna**  
Profesor titular del curso

  
**Dra. Araceli Castellanos Toledo**  
Tutora

  
**Dra. Beatriz De León**  
Co Tutora

  
**Dr. Daniel Carrasco Daza**  
Co Tutor

# RESPUESTA HISTOPATOLOGICA A LA QUIMIOTERAPIA EN PACIENTES PEDIATRICOS CON OSTEOSARCOMA Y SUS FACTORES PREDICTIVOS.

Dra. Gabriela Mercado C, Dra. Araceli Castellanos T, Dra. Beatriz De León, Dr. Daniel Carrasco.

## RESUMEN

**ANTECEDENTES:** El osteosarcoma es el tumor primario maligno de hueso mas frecuente en edad pediátrica. El uso de quimioterapia neoadyuvante y adyuvante ha incrementado la sobrevida libre de enfermedad, se considera del 55-60% y en algunas series en pacientes sin metástasis se reporta hasta del 70%. El principal factor pronostico que se considera es la respuesta histopatológica a la quimioterapia (RHP). Existen diversas clasificaciones casi todas basadas en el porcentaje de necrosis y la presencia de células viables del tumor. De acuerdo con este concepto se han intentado buscar que factores determinan esta respuesta del tumor a la quimioterapia: quimiosensibilidad del tumor, la presencia de metástasis al diagnóstico, el número de quimioterapéuticos utilizados y el subtipo histológico, los niveles séricos de este quimioterapéutico. Otros factores como el género. Edad, localización, tamaño tumoral, fosfatasa alcalina o vía de administración del cisplatino no se han relacionaron con el porcentaje de necrosis.

**OBJETIVOS:** Estandarizar una clasificación de respuesta histopatológica a la quimioterapia. Determinar si la Respuesta Histopatológica a la quimioterapia (RHP) es un factor pronostico independiente y determinar que factores determinan la RHP.

**METODO:** Se estudiaron 36 pacientes con diagnóstico de osteosarcoma de alto grado, se obtuvo de los expedientes clínicos y de bases de datos de estudios previos, la edad, genero, localización, tamaño tumoral, fosfatasa alcalina y deshidrogenasa láctica, presencia de metástasis al diagnóstico, tipo de quimioterapia utilizada, número de drogas, dosis de las mismas y número de días de retraso en la aplicación. Se determinó si presentó recaída local y/o sistémica, tiempo en que se presento, estado actual de los pacientes, sobrevida global (SVG) y sobrevida libre de enfermedad (SLE). Se realizó una revisión de laminillas de pacientes con diagnóstico de Osteosarcoma, donde se determinó el subtipo histológico al diagnóstico en el tejido y posterior a la quimioterapia adyuvante, de acuerdo a la clasificación de Huvos y col, y se determino también en grados como buena respuesta (100% necrosis) y mala respuesta (cualquier porcentaje de células viables). El análisis de sobrevida se realizó por medio de Kaplan Meier con la prueba de log rank y para el análisis multivariado se utilizó Cox. Se consideró un valor de significancia  $p < 0.05$ .

**RESULTADOS:** 36 pacientes cumplieron los criterios de inclusión establecidos para el estudio, 10 de estos pacientes (27.7%) que recibieron quimioterapia neoadyuvante tuvieron una respuesta completa (grado IV Huvos). Cuando se analizaron los factores predictivos el único que fue estadísticamente significativo fue el volumen tumoral ( $< 794 \text{ cm}^3$ ). El 80% de los pacientes con volumen menor de  $794 \text{ cm}^3$  tuvieron buena respuesta vs 42% con volumen tumoral mayor. La sobrevida libre de enfermedad para los pacientes fue del 40% a 140 meses de seguimiento. Cuando se comparó la sobrevida de acuerdo a la respuesta encontramos que para el grupo de buena respuesta fue 66.67% y para los de mala respuesta fue de 29.9% a 140 meses de seguimiento. Se comparó con Log-rank pero no fue significativo  $p = 0.144$

**CONCLUSIONES:** En nuestra institución los volúmenes tumorales son mayores en comparación con otros países, estos pacientes, con volúmenes tumorales mayores de  $794 \text{ cm}^3$ , tienen una disminución de la quimiosensibilidad a la quimioterapia neoadyuvante demostrada por una menor respuesta histopatológica y por lo tanto con una disminución de la sobrevida. En este grupo de pacientes debe intensificarse la quimioterapia o realizar cirugía radical temprana para aumentar la sobrevida y por otro lado es importante realizar la detección oportuna de estos tumores.

**PALABRAS CLAVE:** osteosarcoma, respuesta histopatológica, factores predictivos, volumen tumoral.

**RESPUESTA HISTOPATOLOGICA A LA QUIMIOTERAPIA EN PACIENTES PEDIATRICOS CON OSTEOSARCOMA Y SUS FACTORES PREDICTIVOS.**  
Dra. Gabriela Mercado C., Dra. Araceli Castellanos T., Dra. Beatriz De León, Dr. Daniel Carrasco.

**ABSTRACT**

The histologic response to chemotherapy has been considered the strongest prognostic factor in patients with osteosarcoma. The aim of this study was to standardize the classification of Huvos, and investigate the possible factors that influence this response to neoadjuvant chemotherapy in our patients.

**METHODS:** We studied 36 cases with high-grade osteosarcoma of the extremity. The histologic response to chemotherapy was evaluated according to Huvos et al. and grades as complete (no viable tumor cells) or incomplete (persistence of viable tumor). We evaluated two different schemes of chemotherapy, both of them had cisplatin and doxorubicin but with different doses. We also evaluate other prognostic factors, such as metastatic disease to the lung at diagnosis, sex, age, site, volume tumor, histologic subtype, serum alkaline phosphatase, lactate dehydrogenase to test their predictive significance on histologic response and surveillance.

**RESULTS:** 10 patients of the 36 (27.7%) that received neoadjuvant chemotherapy had complete response (grade IV Huvos). When we analyzed the predictive factors, the only one that was significant was the volume tumor ( $< 794 \text{ cm}^3$ ). 80% of the patients with volume  $< 794 \text{ cm}^3$  had good response vs. 42% with volume  $> 794 \text{ cm}^3$  ( $p = 0.032$ ). The surveillance was 40% for 140 months. For the group with bad response was 29.9% vs. 66.67% (log rank  $p=0.144$ )

**CONCLUSION:** In our Institution patients with volume tumoral great than  $794 \text{ cm}^2$  have a reduce chemosensitivity to neoadjuvant chemotherapy. So that the free disease surveillance in this group of patients was worst. We have to consider those patients as a high-risk group and use more intensive schemes of chemotherapy or earlier surgery. However the main problem is to diagnose this patients earlier in the course of their disease.

**KEY WORDS:** osteosarcoma, histologic response, predictive factors, tumor volume.

## I. INTRODUCCION

El osteosarcoma es un tumor primario maligno de hueso derivado de mesénquima primitivo y caracterizado por la producción de tejido osteoide o hueso inmaduro. Ocupa el 6<sup>to</sup> lugar de las neoplasias en niños y el tercero en adolescentes y adultos jóvenes. Su frecuencia máxima de presentación es en la 2<sup>da</sup> década de la vida, siendo el género masculino el más afectado (1,2). La mayoría de los pacientes presentan dolor en el área involucrada con o sin presencia de aumento de volumen, la duración de los síntomas antes del diagnóstico es en promedio de 3 meses siendo en raras ocasiones mayor de 6 meses (1,3). Los sitios anatómicos mas frecuentemente afectados son el fémur distal y tibia proximal, seguidos del húmero proximal y fémur proximal. En las radiografías simples se observa una lesión lítica en la metáfisis de huesos largos con osificación de estos tejidos en forma radial o de sol naciente (1,2,3). La etiología se desconoce, dentro de los probables factores causales se encuentra el rápido crecimiento óseo, agentes virales, radiación ionizante, agentes alquilante. Se ha asociado con algunos padecimientos como la enfermedad de Paget, Retinoblastoma hereditario (Cromosoma 13 RB), Síndrome de Li Fraumeni, Osteocondroma solitario o múltiple, encondroma solitario o enfermedad de Ollier's, exostosis múltiple hereditaria y displasia fibrosa (1,2). Sin embargo en la mayoría de los casos no se puede establecer un antecedente de este tipo.

La sobrevida de los pacientes con osteosarcoma ha mejorado dramáticamente desde los años 70, cuando el único tratamiento disponible era la amputación de la extremidad reportando sobrevida no mayor del 20%, Rosen, Jaffe y otros iniciaron el uso de quimioterapia neoadyuvante y adyuvante para estos pacientes con diversos quimioterapeúticos y actualmente la sobrevida se considera del 55-60% y en algunas series en pacientes sin metástasis se reporta hasta del 70%. Además que ha ofrecido la posibilidad de realizar cirugías de salvamento de extremidad, mejorando la calidad de vida de nuestros pacientes.

Diversos factores pronósticos se han descrito en los pacientes de osteosarcoma en un intento de clasificarlos como alto y bajo riesgo tanto para recaída como para desarrollo de metástasis pulmonares, con el fin de poder seleccionar el mejor esquema de quimioterapia y con esto mejorar la sobrevida. Entre ellos destacan:

**Deshidrogenasa láctica y Fosfatasa Alcalina:** en algunos estudios se ha intentado encontrar una correlación con niveles elevados de estos parámetros, (DHL > 300 IU/L) sin embargo son contradictorios además de que se encuentran elevados en solo 20 % de los pacientes.

**Histología del tumor:** los osteosarcomas paraosteales y los intraóseos bien diferenciados tienen mejor pronóstico, los osteosarcomas periosteales pronóstico intermedio, los osteosarcomas telangiectásicos se han relacionado con un pronóstico desfavorable pero su comportamiento con quimioterapia es el mismo que en el caso de osteosarcomas clásicos (1,24). También se ha descrito que aquellos tumores fibroblásticos tienen mejor pronóstico que los condroblásticos u osteoblásticos.

**Alteraciones genéticas:** Los pacientes con líneas celulares tumorales diploides tienen mejor pronóstico que aquellas con hiperdiploidia (1). Recientemente se publicó un estudio comparativo por medio de hibridación genómica. El cual reporta que el incremento en número de copias del cromosoma 8q se relaciona con una disminución de la sobrevida libre de enfermedad ( $p= 0.003$ ).(37)

**Localización de tumor primario:** La sobrevida disminuye en los pacientes con primario en tronco o pelvis debido a que el control local no se logra adecuadamente. En un estudio de Glasser y Cols también se reporta que el riesgo de recaída local es 5 veces mayor en aquellos con localización en fémur (RR 4.6) y dentro del fémur la localización proximal tiene un mayor riesgo (3.4)

**Tamaño tumoral:** como factor pronóstico se menciona en varios reportes, hasta el momento no se han unificado criterios con respecto al método de medición, Sin embargo independientemente del método utilizado se sabe actualmente que (30) aquellos tumores considerados grandes tienen una sobrevida de 32 - 33%. (30,33). Cuando se determina el volumen tumoral Bieling reporta que pacientes con volumen > 150cm<sup>3</sup> se encuentra un porcentaje de recaídas del 40-60% (<0.001).

En el Servicio de Oncología del INP se realizó un estudio donde encontramos que la mediana de volumen tumoral en nuestra población es de 2568cm<sup>3</sup> en comparación con otros estudios que se reporta de 182.8 Por otro lado , en el análisis multivariado y en el cálculo de riesgos se demostró como el tamaño tumoral influye en la SLE (Sobrevida libre de enfermedad) y SVG(sobrevida global), analizados desde el contexto del desarrollo de metástasis, recaída local, respuesta histopatológica y preservación de la extremidad, sin embargo la RHP no dejo de ser el mayor factor pronostico independiente.

**Respuesta del tumor primario a la QTN (RHP):** se considera como un factor pronóstico, ayudando a identificar aquellos pacientes con pobre respuesta y así instituir una quimioterapia alternativa para aumentar la sobrevida (II), es el único factor pronóstico que se ha reconocido por la mayoría de los estudios. (27,29), En el estudio de Glasser donde se incluyen 279 pacientes sin metástasis se reporta que aquellos con respuesta incompleta tienen casi 5 veces mas riesgo de recaída ( RR 4.9 IC95% 2.2 - 11).

Existen diversas clasificaciones casi todas basadas en el porcentaje de necrosis y la presencia de células viables del tumor. La mas utilizada es la de Huvos (ver tabla 1). De acuerdo con Rosen y col. (Ver anexo) aquellos pacientes con Grado III o IV de respuesta tienen un mejor porcentaje de sobrevida (1,9,10,11).

De acuerdo con este concepto se han intentado buscar que factores determinan esta respuesta del tumor a la quimioterapia: Dentro de estos factores es lógico suponer que la quimiosensibilidad del tumor es de los principales por esto se ha intentado evaluar esta quimiosensibilidad con las

diferentes drogas utilizadas para el tratamiento de esta neoplasia. Actualmente sabemos que el osteosarcoma es principalmente sensible a la adriamicina, cisplatino, ifosfamida y metotrexate. Se ha evaluado la unión de adriamicina al DNA y se reporta que cuando es mayor del 80% el  $97.3 \pm 3.7\%$  presentan mas del 90% de necrosis mientras que cuando esta unión disminuye a  $< 80\%$  el porcentaje de pacientes se reduce a solo el  $34.2 \pm 38.3\%$  corroborándose también en el estudio de Kusuzaki K y cols donde se comparó la unión de doxorubicina con la presencia de glicoproteína P, esta proteína se asocia con resistencia a la quimioterapia, en el estudio solo fue significativo la unión de doxorubicina como factor pronóstico desfavorable, aunque se encontró una tendencia a encontrar aumentado el segundo y disminuido el primero en aquellos pacientes con pobre respuesta. La presencia de metástasis al diagnóstico en análisis univariados reportan que no tienen respuesta completa a la quimioterapia ( $p = 0.006$ ).

En un estudio retrospectivo de 510 pacientes realizado por Biacci y cols se reportó que solo se relacionó con el número de quimioterapéuticos utilizados y el subtipo histológico, el porcentaje de necrosis total fue del 31% con 4 drogas, 18% con 3 y solo el 1.5% con 2 drogas. En cuanto a la histología fue de 41% en teleangiectásicos, 36% para fibroblásticos, 15% osteoblásticos y 3% condroblásticos. En el manejo de estos pacientes también se ha utilizado metotrexate a altas dosis en un estudio de Bacci y cols se reporta que los niveles séricos de este quimioterapéutico ( $> 700$  micromol/L) predicen una mayor respuesta del tumor. Otros factores como el género. Edad, localización, tamaño tumoral, fosfatasa alcalina o via de administración del cisplatino no se relacionaron con el porcentaje de necrosis.

## **II. JUSTIFICACION .**

La sobrevida global para el osteosarcoma es del 50-60% en la mayor parte de los estudios reportados, tanto en la literatura extranjera como en la nacional. Esta sobrevida mejorada es debida, sin lugar a dudas, a los esquemas intensivos de quimioterapia combinada y cirugía. Con el tiempo se han descrito diversos factores pronósticos que ayudan a seleccionar el mejor esquema de quimioterapia, sin embargo hasta el momento el único factor independiente que ha sido consistente en todos los estudios es la respuesta histopatológica del tumor primario a la quimioterapia. Para esta evaluación se han descrito diversas clasificaciones, sin embargo, en nuestro Instituto hasta 1997 se utilizaba la clasificación en grados de Jaffe quien considera la respuesta histológica en términos de porcentaje de necrosis, esclerosis, calcificación y formación de tejido sano, posteriormente se ha utilizado los criterios de Rossen, quien solo toma porcentajes de viabilidad tumoral, la justificación del presente estudio es estandarizar con la revisión del material que se tiene en el servicio de patología los grados de respuesta histología que se tienen en nuestra población de acuerdo a los criterios de Rossen y dichos resultados asociarlos con los resultados del tratamiento y determinar la verdadera importancia en nuestra población que la respuesta histología tiene para el porcentaje de sobrevida hasta ahora obtenido. Con esto podríamos evaluar mejor a nuestros pacientes tanto para la intensificación de la quimioterapia en casos de alto riesgo así como el tipo de cirugía más conveniente para ellos.

## **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

¿La valoración adecuada de la respuesta histopatológica a la quimioterapia predice aquellos pacientes con alto riesgo de recaída?

¿La respuesta histopatológica a la quimioterapia esta influenciada por el numero e intensidad de dosis de los quimioterapéuticos utilizados y no así de otros factores, como edad, genero, localización, tamaño tumoral?

## **IV. OBJETIVOS**

### **IV. 1 PRINCIPALES**

1. Estandarizar una clasificación de respuesta histopatológica a la quimioterapia.
2. Determinar si la RHP es un factor pronostico independiente.
3. Determinar que factores determinan la RHP.

### **IV.2 SECUNDARIOS**

1. Determinar la frecuencia de pacientes con diferentes grados de respuesta
4. Determinar la correlación existente con el uso de la clasificación de Huvos entre los dos patólogos.

## **V. HIPOTESIS**

1. La respuesta histológica a la quimioterapia es un factor pronostico independiente para la sobrevida global y libre de enfermedad.
2. Entre mayor número de drogas y mayor intensidad de dosificación se utiliza mayor será la RHP.

## **VI. MATERIAL Y METODOS**

### **VI.1 TIPO DE ESTUDIO Y POBLACION OBJETIVO**

Se realizó un estudio observacional, retrospectivo, prolectivo, longitudinal, descriptivo en los Departamentos de Oncología y Patología del Instituto Nacional de Pediatría, S.S. México, D.F. En pacientes con diagnóstico de Osteosarcoma en el periodo comprendido desde enero de 1991 a enero 2001.

### **VI.2 CRITERIOS DE INCLUSION**

1. Edad 0 -18 años
2. Cualquier genero.
3. Diagnóstico histopatológico de Osteosarcoma.

### **VI.3 CRITERIOS DE EXCLUSION**

1. Pacientes sin material para estudio histopatológico.
2. Pacientes con resección quirúrgica del tumor o tratados con quimioterapia fuera del INP.
1. Expedientes clínicos incompletos para el análisis.
2. Pacientes que abandonan el tratamiento durante la fase prequirúrgica y/o no se realiza el procedimiento quirúrgico definitivo.

### **VI.4 RECOLECCION DE DATOS**

Se realizó una revisión de laminillas de pacientes con diagnóstico de Osteosarcoma, donde se determinó el subtipo histológico al diagnóstico y en el tejido posterior a la quimioterapia adyuvante, el porcentaje de necrosis y de viabilidad tumoral, fibrosis y regeneración vascular. Posteriormente se clasificaron en dos tiempos diferentes por dos patólogos del INP en forma cegada e independiente de acuerdo a la clasificación de Huvos. para

determinar la correlación entre las mismas. Se obtuvo de los expedientes clínicos y de bases de datos de estudios previos, la edad, género, localización, tamaño tumoral, fosfatasa alcalina y deshidrogenasa láctica, presencia de metástasis al diagnóstico, tipo de quimioterapia utilizada, número de drogas, dosis de las mismas, en el Instituto desde 1991 se utiliza el mismo esquema que consiste en cisplatino y adriamicina, lo único que ha variado es la dosis de las drogas, por lo que se compararon dosis altas contra dosis habituales; número de días de retraso en la aplicación. Se determinó si presentó recaída local y/o sistémica, tiempo en que se presentó, estado actual de los pacientes, meses de supervivencia desde el diagnóstico hasta la muerte o última consulta (SVG) y meses desde el diagnóstico hasta el momento de recaída (SLE).

## **CARACTERISTICAS HISTOPATOLOGICAS EVALUADAS**

1. Clasificación Histopatológica del Osteosarcoma en biopsia diagnóstica prequimioterapia

### ***Osteosarcoma Intramedular***

#### Convencional

- Osteoblástico
- Condrolástico
- Fibrolástico
- Patrón histológico semejante a fibrohistiocitoma maligno
- Patrón histológico semejante a Osteoblastoma
- Rico en células gigantes
- De células pequeñas
- Epitelioide

#### Telangiectásico

Bien diferenciado (intraóseo de bajo grado)

### ***Osteosarcoma superficial***

Paraosteal

Periosteal

Superficial de alto grado (de novo y dediferenciado)

### ***Osteosarcoma intracortical***

## **2. Valoración del efecto de quimioterapia preoperatoria**

El grado de respuesta a la quimioterapia preoperatoria (necrosis), se usa como un factor que puede modular el protocolo de tratamiento subsecuente (postquirúrgico).

La necrosis espontanea es un evento común en las neoplasias malignas en general incluyendo al osteosarcoma, por lo tanto, la presencia de necrosis puede no reflejar necesariamente un efecto de quimioterapia, ya que se estima que más del 60% de la necrosis es espontánea.

La necrosis del 90% o bien una necrosis completa en el osteosarcoma casi no ocurre espontáneamente, por lo tanto se le puede atribuir al tratamiento. Cuando esto sucede, se asocia generalmente, a un mejor pronóstico (incremento en la sobrevida global y libre de enfermedad).

- a) Se revisaron los informes histopatológicos para conocer las características macroscópicas del tumor y la relación de los cortes, incluyendo la designación de los márgenes quirúrgicos.
- b) Se revisaron las laminillas por dos patólogos de forma independiente y cegada para determinar el porcentaje de tumor necrótico (necrosis, fibrosis, neoformación vascular) vs tumor viable, siguiendo la gradación histológica para el efecto de quimioterapia en osteosarcoma modificada por Huvos (1991) (ver Tabla 1)
- c) Se valoró el estado de los márgenes quirúrgicos y su distancia del tumor.

## VI.5 DEFINICION DE VARIABLES

Variable	Tipo	Escala de Medición	Definición Operacional
<b>Variable Dependiente</b>			
1. Respuesta histopatológica del tumor determinada de acuerdo a la clasificación de Rosen.	Ordinal	Rosen : I, II, III, IV	Porcentaje de necrosis y tumor viable en la pieza quirúrgica después de quimioterapia neoadyuvante
<b>Variables Independientes</b>			
1. Edad: variable	N Numérica continua	Años	Tiempo de vida medido en años hasta la fecha del diagnóstico.
2. Género	Catagórico dicotómica:	fem y mas	Genero del paciente.
3. Variedad Histológica	Catagórica politómica	ver hoja de recolección de datos	Variedad histológica de osteosarcoma.
4. Localización del tumor	Catagórica politómica	ver hoja de recolección de datos	Sitio donde se cree se originó la neoplasia
5. Presencia de metástasis	Catagórica dicotómica	si - no	Evidencia de enfermedad en sitios distantes.
6. Tamaño del tumor	N Numérica continua	cm3	Volumen del tumor medido por TAC
7. Fosfatasa alcalina	N Numérica continua	mmol/l	Niveles séricos
8. Deshidrogenas a láctica	N Numérica continua	mmol/l	Niveles séricos
9. Número de drogas utilizadas en neoadyuvancia	N Numérica discretas	1, 2, 3 o 4	Cantidad de drogas utilizadas
10. Esquema de quimioterapia	N Nominal	ver hoja de recolección de datos	Combinación de drogas utilizadas y dosis
11. Dosis utilizada.	N Numérica discreta	si - no	
12. Retrasos en la quimioterapia.	N Nominal	si - no	
13. Cirugía realizada.	N Nominal	salvamento, amputación, desarticulación	Tipo de cirugía
14. Recalda	N Nominal	si - no	Después de respuesta presenta nuevamente enfermedad.
15. Estado actual	N Nominal	ver hoja de recolección de datos	Si el paciente ha fallecido, se encuentra vivo o a abandonado.
16. SLE	N Numérica continua	meses	Meses desde el diagnóstico hasta la fecha de la primera recaída.
17. SVG	N Numérica continua	meses	sobrevida del diag. Al hasta última consulta.

## **VII. ANALISIS ESTADISTICO**

Se captó la información a través de una base de datos elaborada en el paquete Excell para Windows. La información se analizó a través del paquete SPSS versión 8.0. Se efectuó descripción de las variables mediante medidas de tendencia central y dispersión con calculo de promedios y desviaciones estándar para variables numéricas con distribución Gaussiana o mediante Mediana (Min-max), para variables numéricas con distribución sesgada y/o porcentajes para variables categóricas. Se efectuó comparación de las variables de impacto entre grupos mediante prueba de t de Student o U de Mann Whitney. Se efectuó análisis de correlación entre las clasificaciones utilizadas por medio de y se determinó por el Coeficiente de correlación de Pearson o de Spearman. La variabilidad intraobservador por medio de Kappa. El análisis de sobrevida se realizó por medio de Kaplan Meier con la prueba de log rank y para el análisis multivariado se utilizará Cox. Se consideró un valor de significancia  $p < 0.05$

## **VIII. ETICA**

Se realizó un estudio observacional y retrospectivo, por lo cual consideramos que no contraviene ningún precepto de bioética y por lo tanto no se utilizó carta de consentimiento informado.

## IX. RESULTADOS

Se realizó una búsqueda en la base de datos del servicio de Patología de los pacientes con diagnóstico de Osteosarcoma a partir del año 1991 hasta 2001. Se encontraron 77 pacientes, sin embargo solo 37 de ellos cumplieron los criterios de inclusión para el estudio. Las razones de no inclusión de los pacientes fueron las siguientes: En siete pacientes se realizó desarticulación o amputación de la extremidad antes de recibir quimioterapia por el volumen tumoral tan grande. Diez pacientes abandonaron su tratamiento después de 1 o dos cursos de quimioterapia y desconocemos cual fue su evolución. Cinco pacientes no recibieron ningún tipo de quimioterapia y abandonaron también el seguimiento. En el Instituto se reciben pacientes del Hospital Civil de Guadalajara para realizar salvamento de extremidad, en este caso encontramos 14 pacientes, como desconocemos cual fue el protocolo de quimioterapia utilizado no se incluyeron en el estudio. En cuatro pacientes no se realizó ningún tipo de cirugía ya que fallecieron por toxicidad durante la quimioterapia neoadyuvante.

El grupo de pacientes incluidos se clasificaron de acuerdo a la respuesta histopatológica a la quimioterapia (Ver Tabla 1). Se consideró buena respuesta si el reporte de patología refería un 100% de necrosis, mala respuesta fueron todos aquellos que tenían cualquier porcentaje de células viables. Encontramos que solo 10 pacientes de los 36 tuvieron buena respuesta. (Gráficas 1 y 2)

Las características clínicas y demográficas se presentan a continuación (Ver Tabla 2). La edad media para el grupo de buena respuesta fue de 11.20 vs 11.53 de los pacientes con mala respuesta (Gráfica 3). En cuanto al género se encontró una relación F:M 0.6:1 y 1:1 respectivamente (Gráfica 4), sin ser significativo ( $p = 0.590$ ). La localización del tumor primario fue mas frecuente en fémur distal para los dos grupos (50% vs 46%), siendo el siguiente en frecuencia húmero proximal ( $p = 0.548$ ). Al diagnóstico el 40% vs 73% de los pacientes presentaron metástasis ( $p = 0.446$ ), en todos los casos fueron de localización pulmonar (Gráfica 5).

## QUIMIOTERAPIA

Los esquemas de quimioterapia se dividieron en 4 grupos: 1. Adriamicina 75mgm<sup>2</sup>+ Cisplatino 100mgm<sup>2</sup>, 2. Adriamicina 90mgm<sup>2</sup> + Cisplatino 120mgm<sup>2</sup>, 3. Adriamicina 90mgm<sup>2</sup> + Cisplatino 120mgm<sup>2</sup> + Ifosfamida 8 grm<sup>2</sup> y 4. Ciclofosfamida + VP16. El esquema de quimioterapia con altas dosis se inició hace poco tiempo, por lo cual la mayoría de nuestros pacientes recibieron el esquema número 1. En porcentajes encontramos que para el grupo de buena respuesta fueron 80% con esquema 1, 10% con esquema 2 y 10% con esquema 4. Para el grupo con mala respuesta fue 65.4%, 30.8% para esquemas uno y dos y 3.8% para el esquema tres. No encontramos diferencias significativas entre los grupos con una  $p = 0.217$ . (Gráfica 8)

Se registro si los pacientes presentaron retrasos en la aplicación de quimioterapia (Gráfica 9), y encontramos que el 50% de los pacientes en el grupo de buena respuesta no tuvieron retrasos, en comparación con un 61.5% de los pacientes con mala respuesta sin embargo estadísticamente no fue significativo ( $p = 0.529$ ). La media de días de retraso fue para el primer grupo de 11.30 (DS 14.67) y para el segundo grupo de 15.76 (16.96) con una  $p = 0.501$ . La causa más frecuente de retraso en ambos grupos fue por toxicidad a la quimioterapia y en segundo lugar la realización de la cirugía.

En el grupo de pacientes que analizamos el tipo de cirugía que se realizó se distribuyo de la siguientes manera. Para el grupo de buena respuesta se realizaron 6 salvamentos, 2 amputaciones y 2 desarticulaciones. Para el grupo de mala respuesta fueron 16, 6 y 4 respectivamente.

Se tomo en cuenta también el estado de los márgenes quirúrgicos, y se encontró que en el grupo de mala respuesta en 2 pacientes fueron positivos a diferencia del grupo de buena respuesta donde ninguno tuvo positividad.

Se revisaron los estudios tomográficos de los pacientes para determinar el volumen tumoral de acuerdo a un estudio previo realizado en el servicio de

Oncología. La media en esta población fue de 979.67 con una DS 896.88 y una mediana de 794, el mínimo encontrado fue de 31cm<sup>3</sup> y el máximo fue de 3806 cm<sup>3</sup>. Se tomo la mediana para dividir al grupo y correlacionarla con la respuesta a la quimioterapia. Observamos que en el grupo de buena respuesta 8 de los 10 pacientes tuvieron volúmenes menores a la mediana. Para el grupo de mala respuesta 15 tuvieron volúmenes mayores a 794cm<sup>2</sup>. Se comparo con Chi cuadrada y encontramos que tuvo una significancia estadística de  $p = 0.032$ . Cuando tomamos en cuenta todos los grados de la clasificación de Huvos encontramos datos similares con una significancia de  $p = 0.022$ . (Gráficas 7 y 12)

La sobrevida libre de enfermedad para los pacientes fue del 40% a 140 meses de seguimiento (Gráfica 10). Cuando se comparó la sobrevida de acuerdo a la respuesta encontramos que para el grupo de buena respuesta fue 66.67% y para los de mala respuesta fue de 29.9% a 140 meses de seguimiento (Gráfica 11). Se comparó con Log-rank pero no fue significativo  $p = 0.144$ .

## **X. DISCUSIÓN**

Realizamos un estudio retrospectivo para determinar a través de la clasificación de Huvos para la respuesta histopatológica a la quimioterapia, cual ha sido la respuesta de nuestros pacientes con los esquemas de quimioterapia utilizados actualmente y establecer si hay otros factores que determinen esta respuesta. Sabemos que el poder de nuestras conclusiones es limitado, debido a los pocos pacientes con que contamos en el análisis, pero refleja cual ha sido el comportamiento de nuestra población. Uno de los estudios que han tenido un gran tamaño muestral es el de Biacci y cols (40, 41, 42, 43). En el estudio se determinó que el porcentaje de necrosis no se relacionó con el género, edad, sitio, volumen tumoral, niveles de fosfatasa alcalina y vía de administración del cisplatino. Sin embargo en el presente estudio la única variable que encontramos significativa fue el volumen tumoral. Es importante mencionar que cuando se reporta el volumen tumoral como un factor pronóstico en

estudios previos, las medias encontradas son de 150cm<sup>3</sup> (34) a diferencia de nuestra población que encontramos una media de 794cm<sup>3</sup>, tomando en cuenta que todos estos pacientes tienen volúmenes tumorales menores y por lo tanto reciben quimioterapia Neoadyuvante para intentar el salvamento de extremidad. Esto es consecuencia de que los pacientes acuden después de un largo tiempo de evolución, por falta de recursos y de preparación de los médicos generales que evalúan el caso. Obviamente esto determina que nuestra sobrevida libre de enfermedad es menor que en otras series de diversos países (1,13,14,15,22,32, 36). Sin embargo creemos que también el esquema de quimioterapia probablemente no es suficiente en nuestra población y tendremos que plantear nuevamente cuales son aquellos pacientes que se encuentran en alto riesgo e intensificar la quimioterapia tanto en dosis como en número de drogas, las cuales, hasta el momento no han tenido una adecuada respuesta. Es evidente en el estudio de Biacci y cols que cuando se ocupan protocolos con 4 drogas el porcentaje de necrosis es del 31% vs 1.5% en aquellos que solo reciben 2, como es nuestro caso. Sin embargo también sabemos que el número de drogas activas contra esta neoplasia es limitado, dos de ellas ya las utilizamos actualmente como es el cisplatino y la adriamicina, actualmente en aquellos que son metastásicos agregamos ifosfamida, probablemente este esquema también deba utilizarse en aquellos pacientes con volúmenes tumorales mayores que nuestra mediana (794cm<sup>3</sup>), también se evaluará mas estrictamente aquellos pacientes que sean candidatos a cirugía de salvamento, probablemente aquellos pacientes con volúmenes tumorales grandes deba realizarse cirugía radical mas tempranamente. Otros factores como el retraso en la aplicación de quimioterapia parecen no determinar la respuesta histopatológica, pero es importante ya que podemos observar que la causa más frecuente es la toxicidad principalmente infecciosa, esto debe alertarnos a implementar una mejor terapia de sostén, sobretodo si estamos proponiendo intensificar estos tratamientos.

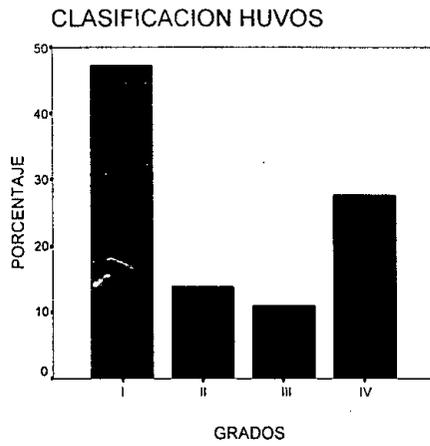
Otros factores como el tipo histológico y la localización no fueron significativos en nuestra población, pero no podemos descartarlo debido a lo limitado de nuestra muestra.

## **XI. CONCLUSIONES**

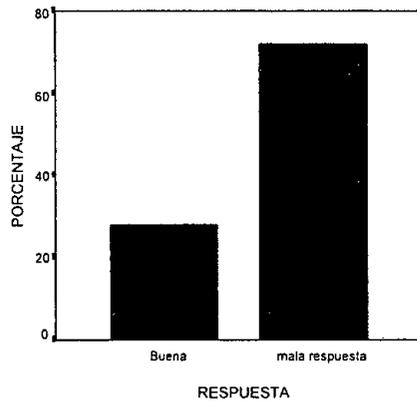
- 1. En nuestra población la respuesta histopatológica y la presencia de metástasis al diagnóstico son los factores pronósticos más importantes.**
- 2. El único factor predictivo que fue estadísticamente significativo de la respuesta histopatológica fue el volumen tumoral a diferencia de otros estudios donde se ha propuesto otros factores como el número de drogas y el tipo histológico, sin embargo por lo reducido de nuestra muestra no logramos encontrar diferencias entre los grupos.**
- 3. La mediana de volumen tumoral de nuestra población fue de 794 cm<sup>3</sup> la cual es mayor que la reportada en la literatura internacional. Esto es debido a la falta de un diagnóstico y referencia tempranos.**
- 4. Es importante considerar los pacientes con volúmenes tumorales mayores que la mediana como un grupo de alto riesgo y considerar por una parte la cirugía temprana y la intensificación de la quimioterapia, aun en aquellos pacientes sin metástasis al diagnóstico.**
- 5. Este estudio aunque limitado por el tamaño muestral, nos demuestra que las características de nuestros pacientes difieren del de países desarrollados, por lo que nuestros criterios de pronóstico y tratamiento deben ser diferentes.**

Tabla 1

<b>CLASIFICACION MODIFICADA DE HUVOS (1991)</b>	
<b>I</b>	<b>Ninguna Respuesta o respuesta mínima</b>
<b>II</b>	<b>Necrosis extensa con más del 10% de tumor viable</b>
<b>III</b>	<b>Necrosis extensa con escasos focos de tumor viable (menos del 10%)</b>
<b>IV</b>	<b>Necrosis completa</b>



GRAFICA 1

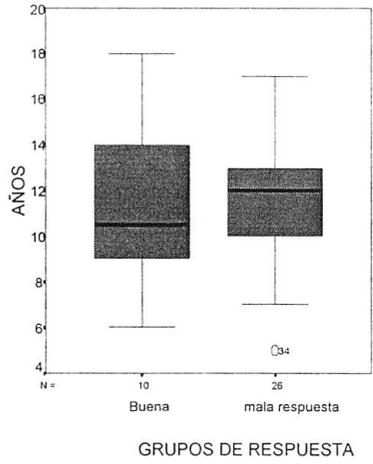


GRAFICA 2

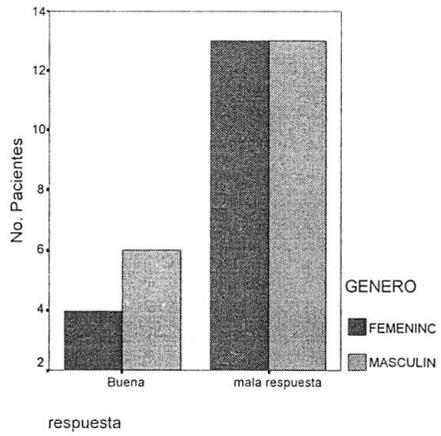
**CARACTERISTICAS CLINICAS Y DEMOGRAFICAS**

**TABLA 2**

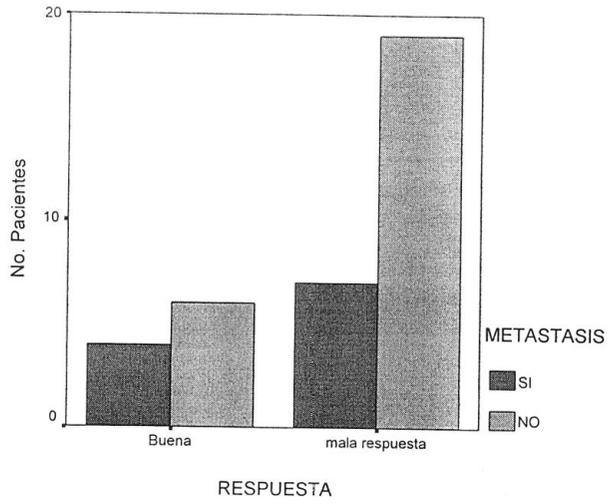
<b>VARIABLE</b>	<b>BUENA</b>	<b>MALA</b>	<b>P</b>
EDAD	11.20	11.50	
GENERO f:m	.6:1	1:1	0.590
LOCALIZACION			0.548
Fémur distal	50%	46%	
Fémur proximal	10%	8%	
Húmero proximal	40%	23%	
Tibia proximal		19%	
Axial		4%	
METASTASIS	40%	73%	0.446



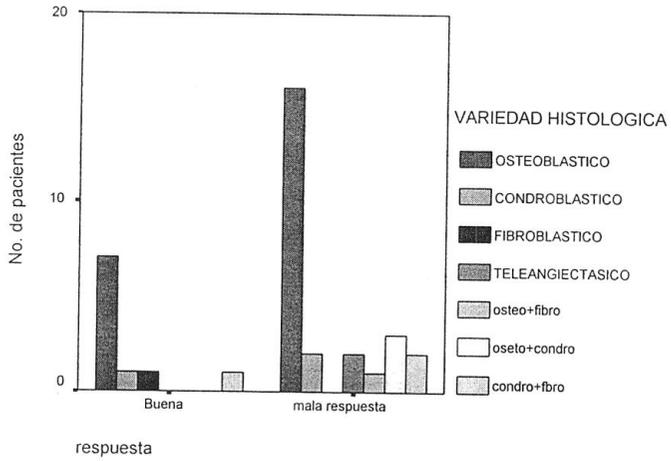
GRAFICA 3



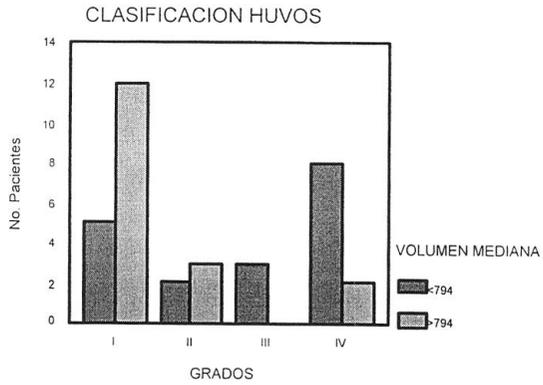
GRAFICA 4



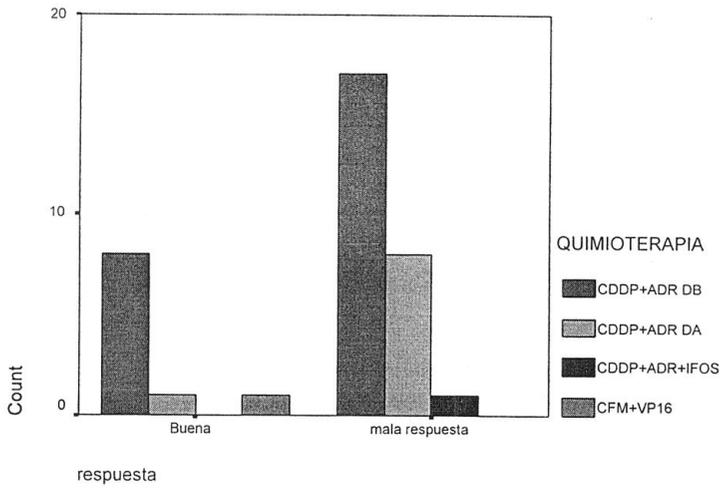
GRAFICA 5



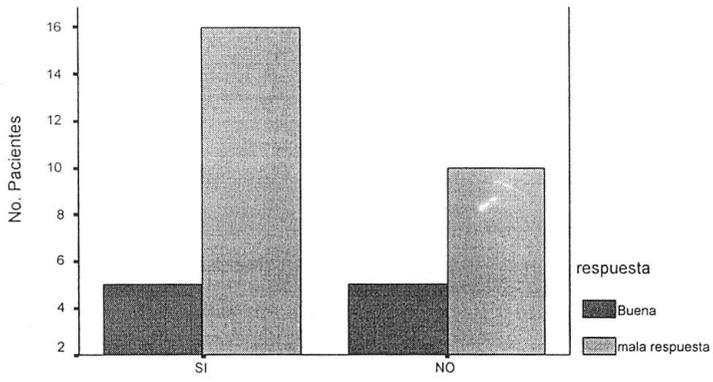
GRAFICA 6



GRAFICA 7

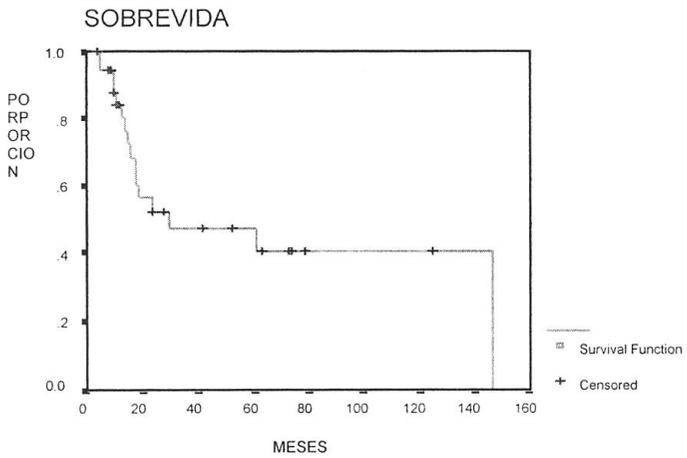


GRAFICA 8



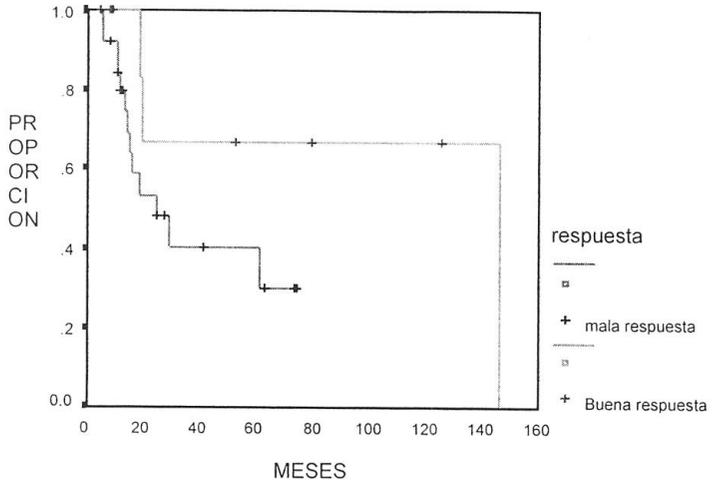
RETRASOS EN QUIMIOTERAPIA

GRAFICA 9

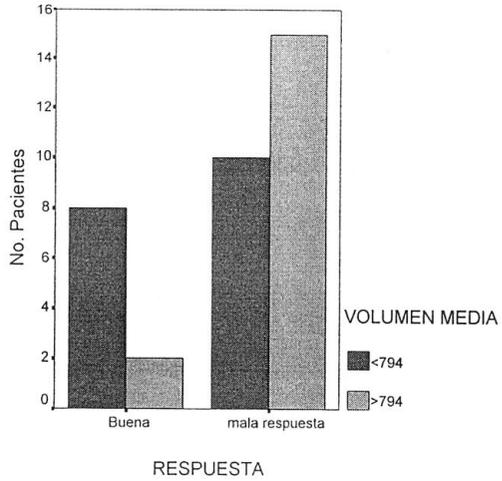


GRAFICA 10

### SOBREVIDA Y RESPUESTA



GRAFICA 11



GRAFICA 12

## XII. BIBLIOGRAFIA

1. Link M, Eilber F. Principles and Practice of Pediatric Oncology, Cap 35; Ed J.B. Lippincott Company 2<sup>da</sup> Edition, 1989: 841-866.
2. Rivera Luna R, Diagnóstico del Niño con Cáncer, Ed Mosby/Dayma Libros, 1994.
3. Jaffe N: Osteosarcoma. Ped in Rew 12:333-343, 1991.
4. Winkler K, Beron G, Dellling G, Heise U, Kabisch H, Purfurst C, Berger J, Ritter J, Jürgens H, Gerein V, Graf N, Russe W, Gruemayer E, Ertelt W, Kotz R, Preusser P, Prindull G, Brandeis W, Landbeck G. Neoadjuvant Chemotherapy of Osteosarcoma: Result of a Randomized Cooperative trial (COSS – 82) with Salvage Chemotherapy Based on Histological tumor response. J Clin Oncol 6: 329-337, 1988.
5. Jaffe N, Recent advances in the chemotherapy of metastatic osteogenic sarcoma. Cancer 30: 1627-1631, 1972.
6. Murray J, Limb Salvage Surgery: A Overview. The Cancer Bulletin 42: 332-336, 1990
7. Eilber F, Morton D, Eckardt J, Grant T, Weisenbuerger T, Limb Salvage for Skeletal and Soft Tissue Sarcomas, Cancer 53: 2579-2568, 1984.
8. Rosen G, Murphy M, Gutiérrez M, Marcove R, Chemotherapy, en bloc resection and prosthetic bone replacement in the treatment of osteogenic sarcoma, Cancer 37: 1-11, 1976.
9. Mosende C, Gutiérrez M, Caparros B, Rosen G. Combination Chemotherapy with Bleomicina, Ciclofosfamida and Dactinomycina for the treatment of osteogenic sarcoma. Cancer 40: 2779-2786, 1972.
10. Rosen G, Marcove R, Caparros B, Nirenberg A, Kosloff C, Huvos A, Primary Osteogenic Sarcoma. The rationale for preoperative chemotherapy and delayed surgery. Cancer 43: 2163-2177, 1979.
11. Rosen G, Caparros B, Huvos A, Kosloff C, Nirenberg A, Cacavio A, Marcove RM, Lane J, Metha B. Urban C, Preoperative Chemotherapy for Osteogenic Sarcoma: Selection of Postoperative Adjuvant Chemotherapy for Osteogenic Sarcoma: Cancer 49: 1221-1230 1982.
12. Biacci G, Picci P, Ruggieri P, Mercuri M, Avella M, Capanna R, Brach del Prever A, Mancini A, Gherlinzoni F, Padovani G, Leonessa C, Biagini R, Ferraro A, Ferruzzi A, Cazzola A, Manfrini M, Campanacci M, Primary Chemotherapy and Delayed Surgery (Neoadjuvant chemotherapy) for Osteosarcoma of the Extremities, Cancer 65: 2539-2553, 1990.
13. Jaffe N, Robertson R, Takaue Y, Cangir A, Wallace S, Carrasco H, Eftekhari F, Ayala A, Wang A, Control of primary osteosarcoma with chemotherapy, Cancer 56: 461-466 1985.
14. Rosen G, Preoperative (Neoadjuvant) Chemotherapy for Osteogenic Sarcoma: A Ten Year Experience, Orthopedics 8: 659-664, 1985.
15. Burgers J, Glabbeke M, Busson A, Cohen P, Mazabradus A, Abbatucci J, Kalifa C, Tubiana M, Lemerle J, Voutte P, Costerom A, Pons A, Wagener T, Werf Messing B, Somers R, Duez N, Osteosarcoma of the Limbs. Report of the EORTC-SIOP 03 Trial 20781

Investigating the value of Adjuvant Treatment with Chemotherapy and or Prophylactic Lung Irradiation, *Cancer* 61: 1024-1031, 1988.

16. Jaffe N, Knapp J, Chuang V, Wallace S, Ayala A, Murray J, Cangir A, Wang A, Benjamin R, Osteosarcoma: Intra-arterial treatment of the primary tumor with cis-diammine-dichloroplatinum II (CDDP), *Cancer* 51: 402-407, 193.
17. Winkler K, Bielack S, Delling G, Salzer-Kuntschik M, Kotz R, Greenshaw C, Jurgens H, Ritter J, Kusnierz-Glaz C, Erttmann R, Gadicke G, Graf N, Ledenstein R, Leyvraz S, Mertens R, Weinel P, Effect of Intraarterial versus Intravenous cisplatin in addition to Systemic Doxorubicin, High dose methotrexate, and ifosfamide on histologic tumor response in osteosarcoma (Study COSS-86), *Cancer* 66:1703-1710, 1990.
18. Jaffe N, Raymond K, Ayala A, Carrasco C, Wallace S, Robertson R, Griffiths M, Wang Y, Effect of Cumulative Courses of Intraarterial Cis-Diamminedichloroplatin-II on the primary tumor in osteosarcoma, *Cancer* 63: 63-67, 1989.
19. Bramwell V, Burgers M, Sneath R, Souhami R, Osterom A, Voute P, Rouse J, Spooner D, Craft A, Somers R, Pringle J, Malcolm A, Aijken J, Thomas D, Uscinska B, Machin D, Glabbeke M, A Comparison of two short intensive adjuvant chemotherapy regimens in operable osteosarcoma on limbs in children and young adults: The first study of the European osteosarcoma intergroup, *J Clin Oncol* 10: 1579-1591, 1992.
20. Stinw K, Hocjenbery M, Harrelson J, Miner D, Falleta J, Systemic doxorubicin and Intraarterial Cisplatin Preoperative Chemotherapy plus Postoperative Adjuvant Chemotherapy in Patients with osteosarcoma, *Cancer* 63: 848-853 1989.
21. Saleh R, Graham Pole J, Cassano W, Abbot F, Vander Griend R, Dickson N, Metha P, Heare M, Kedar A, Heare T, Gross S Response of Osteogenic Sarcoma to the Combination of Etoposide and Cyclophosphamide Neoadjuvant Chemotherapy, *Cancer* 65: 861-865 1990.
22. Cassano W, Graham Pole J, Dickson N, Etoposide, cyclophosphamide, Cisplatin and Doxorubicin as Neoadjuvant Chemotherapy for Osteosarcoma, *Cancer* 68: 1899-1902, 1991.
23. Harris M, Cantos A, Goorin A, Shochat S, Ayala, Ferguson W, Holbrook T, Link M, Treatment of Osteosarcoma with Ifosfamide: Comparison of response in pediatric patients with recurrent disease versus patients previously untreated: A Pediatric Oncology Group Study, *Medical and Pediatric Oncology* 24: 87-92 1995.
24. Scranton P, DeCiccio F, Totten R, Yunis E, Prognostic Factors in Osteosarcoma, A Review of 20 years experience at the University of Pittsburgh Health Center Hospitals, *Cancer* 36: 2179-2191, 1975.
25. Bentzen S, Pulsen H, Kaae S, Myhre Jensen O, Johansen H, Mourdisen H, Daugaard S, Arnoldi C, Prognostic Factors in Osteosarcoma, *Cancer* 62: 194-202 1988.
26. Taylor W, Ivins J, Krishnan Unni K, Beabout J, Golenzer H, Black L, Prognostic Variables in Osteosarcoma a Multi-Institutional Study, *J National Cancer Inst.* 81: 21-30 1989.
27. Glasser D, Mphi, Lane J, Huvos A, Marcove R, Rosen G, Survival, Prognosis and Therapeutic response in Osteogenic Sarcoma, *Cancer* 69: 698-708, 1992.

28. Thorpe W, Reilly J, Rosenberg S, Prognostic Significance of Alkaline Phosphatase measurements in-patients with Osteogenic sarcoma receiving chemotherapy, *Cancer* 43: 2178-2181, 1979.
29. Davis A, Bell R, Goodwin P, Prognostic Factors in Osteosarcoma: A critical review, *J Clin Oncology* 12: 423-431, 1994.
30. Spanier S, Shoster J, Vander Griend R, The Effect of Local Extent of the Tumor Prognosis in Osteosarcoma, *J Bone Joint Surg* 72-A: 643-653 1990.
31. Quintana J, Beresi V, Del Pozo H, Latorre J, Henriquez A, Chamas N, Diaz V, Geldres V, Sepulveda L, Macho L, Dolz G, Intra-arterial Cisplatin given prior to surgery in Osteosarcoma: Grade of Necrosis and size of the tumor as major prognostic factors, *Am J Ped Hematol Oncol* 13: 269-273 1991.
32. Hudson M, Jaffe M, Jaffe N, Ayala A, Raymond A, Carrasco H, Wallace S, Murray J, Robertson R, Pediatric Osteosarcoma: Therapeutic strategies, results, and prognostic factors derived from a 10 year experience, *J Clin Oncol* 8: 1988-1997, 1990
33. Petrilli A, Gentil F, Epelman S, López F, Bianchi A, López A, De Assis Figueiredo M, Marques E, De Bellis N, Consentino E, Prospero D, De Camargo O, Oliveira N, Franco E, Jaffe N, Increased survival, Limb preservation and prognostic factors for Osteosarcoma, *Cancer* 15: 733-737, 1991.
34. Bieling P, Rehan N, Winkler P, Helmke K, Maas R, Fuchs N, Bielack S, Heise U, Jurgens H, Treuner J, Romanowski R, Exnet U, Kotz R, Winkler K, Tumor size and prognosis in aggressively treated osteosarcoma *J Clin Oncol* 14: 848-858 1996.
35. Pochanugool L, Subdhadharaphandou T, Dhanachai M, Hathirat P, Sangthawan D, Pirabul R, Onsanit S, Pornpipatpong N; Prognostic factors among 130 patients with osteosarcoma: *Clin Orthop* 1997 Dec;(345):206-14.
36. Glasser DB, Lane JM, Huvos AG, Marcove RC, Rosen G; Survival, prognosis, and therapeutic response in osteogenic sarcoma. The Memorial Hospital experiences. *Cancer* 1992 Feb 1; 69(3):698-708.
37. Tarkkanen M, Elomaa I, Blomqvist C, Kivioja AH, Kellokumpu P, Böhling T, Valle J, Knuutila S; DAN sequence copy number increase at 8Q: A potential new prognostic marker in high-grade osteosarcoma. *Int J. Cancer* 84:114-121, 1999.
38. Kusuzaki K, Hirata M, Takeshita H, Murata H, Hashiguchi S, Ashihara T, Hirasawa Y.; Relationship between P-glycoprotein positivity, doxorubicin binding ability and histologic response to chemotherapy in osteosarcomas; *Cancer Lett* 1999 Apr 26;138(1-2):203-8.
39. Kusuzaki K, Hirata M, Takeshita H, Murata H, Hirata M, Hashiguchi S, Ashihara T, Hirasawa Y.; Relationship between cellular doxorubicin binding ability to nuclear DNA and histologic response to preoperative chemotherapy in patients with osteosarcomas; *Cancer* 1998;82:2343-2349.
40. Bacci G, Ferrari S, Longhi A, Forni C, Giacomini S, Lari S, Versari M; Relationship between dose-intensity of treatment and outcome for patients with osteosarcoma of the extremity treated with neoadjuvant chemotherapy; *Oncol Rep* 2001 Jul-Aug;8(4):833-8.

41. Bacci G, Ferrari S, Mercuri M, Betoni F, Picci P, Manfrini M, Gasbarrini A, Forni C, Cesari M, Campanacci M; Predictive factors for local recurrence in osteosarcoma: 540 patients with extremity tumors followed for minimum 2.5 years after neoadjuvant chemotherapy; *Acta Orthop Scand* 1998 Jun;69(3):230-6
42. Biacci G, Ferrari S, Delepine N, Bertoni F, Picci P, Mercuri M, Bacchini P, Brach del Prever A, Teinghi A, Comandone A, Campanacci M; Predictive factors of histologic response to primary chemotherapy in osteosarcoma of the extremity: study of 272 patients preoperatively treated with high dose methotrexate, doxorubicin, and cisplatin; *J Clin Oncol* 1998 Jun;16(6):2290-1.
43. Bacci G, Ferrari S, Bertoni F, Picci P, Bacchini P, Longhi A, Donati D, Forni C, Campanacci L, Campanacci M; Histologic response of high grade nonmetastatic osteosarcoma of the extremity to chemotherapy; *Clin Orthop* 2001 May;(386):186-96.