

Artículo de revisión



Vol. 3, Núm. 1
Enero-Marzo 2014
pp 33-40

Aspectos biológicos y clínicos para comprender mejor al osteosarcoma

Dulce D Uribe-Rosales,* Carmen Carranza-Arellano,* Rebeca Ramos-Moreno*

* Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Médicas, Odontológicas y de la Salud, Área Biología Bucal. Postgrado de Odontología UNAM.

Dirección para correspondencia:
CD Esp. Dulce D. Uribe Rosales
Laboratorio de Inmunología,
Facultad de Odontología,
Universidad Nacional Autónoma
de México, Ciudad Universitaria
Av. Universidad 3000, 04510,
Delegación Coyoacán, Distrito
Federal
Teléfono: + 52(55) 5622-5558
E-mail: dd_uriberos@hotmail.com

Recibido: 24 de junio de 2013.
Aceptado: 8 de noviembre de 2013.

Este artículo puede ser consultado
en versión completa en:
<http://www.medigraphic.com/rid>

Palabras clave: Osteosarcoma,
mecanismos moleculares del
osteosarcoma, tratamientos
para el osteosarcoma, neoplasia
maligna.

Key words: Osteosarcoma,
molecular mechanisms of
osteosarcoma, treatments
for osteosarcoma, malignant
neoplasm.

Resumen

El osteosarcoma es una neoplasia de origen óseo-maligna que se presenta comúnmente en la segunda década de vida. En México, la información disponible en relación con esta patología se enfoca principalmente al área clínica, sin embargo, es fundamental conocer los aspectos moleculares involucrados en este proceso patológico. En esta revisión se muestra un panorama general de la información clínica y epidemiológica del osteosarcoma y se aborda, de manera más detallada, el conocimiento generado en relación con los mecanismos moleculares implicados en el desarrollo de esta enfermedad.

Abstract

The osteosarcoma is a malignant neoplasm from bone origin commonly presented during the second life decade. In Mexico, the available information about this pathology is focuses mainly in clinic area, however is fundamental to know the molecular aspects involved in this pathological process. This review shows a general view concerning the clinical and epidemiological information about osteosarcoma and discusses in a more detail the knowledge generated about the molecular mechanisms involved in the development of this pathology.

Introducción

El osteosarcoma (OS) es la neoplasia maligna primaria más común (excluyendo a los tumores intraóseos hematopoyéticos). Éste se caracteriza por la formación de tejido óseo inmaduro y tejido osteoide con presencia de células tumorales.¹⁻³ Ocurre predominantemente en adolescentes y adultos jóvenes con un pico de incidencia de los 15 a 19 años. En Estados Unidos se diagnostican cerca de 900 casos por año, de ellos, entre 15 y 20% presentan en el diagnóstico metástasis pulmonar.⁴

En México, la incidencia reportada por el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) es de 9 casos por millón entre los 10 y 14 años de edad.⁵ En un estudio retrospectivo realizado por el Instituto Nacional de Re-

habilitación del año 2000 a 2005, se estableció que el osteosarcoma es el tumor de hueso más común, con índice de presentación de 46.6% seguido del condrosarcoma con 8.7%.⁶

La Organización Mundial de la Salud (OMS) lo clasifica como un tumor óseo que se divide en osteosarcoma central (90% de los casos) y superficial, reconociendo, a su vez, varios subtipos en cada grupo los cuales se basan en la identificación de osteoide o hueso producido por las células osteoblásticas tumorales.^{1,4}

Criterios diagnósticos

Para confirmar el diagnóstico se requiere de una biopsia. El uso de BAAF (biopsia por aspiración por aguja

final) no es recomendable porque ésta puede ocasionar un diagnóstico incorrecto ya que la cantidad de tejido obtenido por una BAAF es pequeña y la exactitud del diagnóstico depende de la experiencia y destreza del patólogo. Cuando existe sospecha de un tumor maligno, es deseable contar con una biopsia para garantizar un correcto diagnóstico para que posteriormente, con base en éste, realizar la cirugía.

Una vez realizado el diagnóstico de OS se procede a clasificarlo de acuerdo con los criterios de Sociedad de Tumores Musculoesqueléticos^{1,8} con base en lo siguiente:

- Grado tumoral (I: bajo grado; II: alto grado).
- Extensión (A: únicamente intraóseo; B: intra y extraóseo).
- Presencia de metástasis (III).

Aquellos pacientes con osteosarcoma de alto grado se encuentran en estadio IIA o IIB. La presencia de metástasis representa un estadio III. En el *Cuadro I* se muestra la clasificación de la OMS que divide a los osteosarcomas en centrales y superficiales con sus respectivos subtipos dentro de cada grupo.

Epidemiología

El osteosarcoma clásico representa aproximadamente el 15% de todas las biopsias analizadas de tejidos primarios de hueso. La incidencia es de tres casos por millón de habitantes al año. Esto representa el 0.2% de los tumores malignos, y cerca de un 75% de los

pacientes tienen una edad de entre 15 y 25 años. Los hombres son frecuentemente el género más afectado en una proporción de 1.5:1. Los osteosarcomas raramente ocurren en pacientes menores de seis años o mayores de 60 años. Aquellos tumores que se observan en personas de la tercera edad se encuentran en relación con otras patologías asociadas, tales como la enfermedad de Paget, exposición a radiación o condrosarcomas desdiferenciados. De un 80 a 90% de los osteosarcomas se presentan en huesos largos.⁹

El esqueleto axial rara vez se encuentra afectado, sin embargo, cuando lo está, es más frecuente en adultos que en niños y adolescentes. El fémur, la tibia y el húmero son los huesos con mayor frecuencia de daño (85%) mientras que menos del 1% se encuentran en manos o pies. En los huesos largos, el osteosarcoma usualmente se origina en la metáfisis (*Figura 1*).^{4,10,11} En los maxilares, el osteosarcoma representa cerca del 23% de los tumores malignos de cabeza y cuello. Sin embargo, en comparación con el resto de los osteosarcomas, el de los maxilares es raro, ya que representa sólo de entre 2 y 10%, y afecta principalmente a la mandíbula.¹²

Este tipo de osteosarcoma se presenta entre los 10 y 20 años y muestra un comportamiento biológico diferente que el de las extremidades, ya que es de baja incidencia en metástasis y de mejor pronóstico; asimismo, los tumores mandibulares son resecados con mayor facilidad obteniéndose márgenes negativos.⁴

Descripción clínica

Muchos pacientes con osteosarcoma de las extremidades presentan dolor por afectación del periostio mucho antes del crecimiento del tumor y también neoformación en tejido blando. El 15% de los pacientes pediátricos presentan fracturas patológicas. El segundo síntoma más común es la inflamación, la cual está relacionada con el crecimiento del tejido blando. Aunque son poco frecuentes, se pueden presentar síntomas sistémicos como pérdida de peso, palidez, fiebre y anorexia.³ La mayoría de los tumores vistos en la radiografía presentan un patrón de «rayos de sol», aunque no todos los tumores que presenten este patrón son osteosarcomas. Esta apariencia depende principalmente de tres procesos: formación de hueso y mineralización, destrucción ósea y formación perióstica, con tendencia de ser radiolúcidas a radiopacas, con una combinación de ambas dependiendo del grado de osificación. El uso de la tomografía computarizada (TC) puede ser de utilidad para definir la extensión del tumor y decidir si es extirpable o no; mientras

Cuadro I. Clasificación de la Organización Mundial de la Salud para los subtipos de osteosarcoma con base en sus características histológicas.

Central (medular)	Superficial (periférico)
Osteosarcoma convencional central	Osteosarcoma perióstico (yuxtacortical) bien diferenciado (grado bajo)
Osteosarcoma telangiectásico	Osteosarcoma perióstico-osteosarcoma de grado bajo a mediano
Osteosarcoma intraóseo bien diferenciado (grado bajo)	Osteosarcoma superficial de alto grado
Osteosarcoma de células pequeñas	

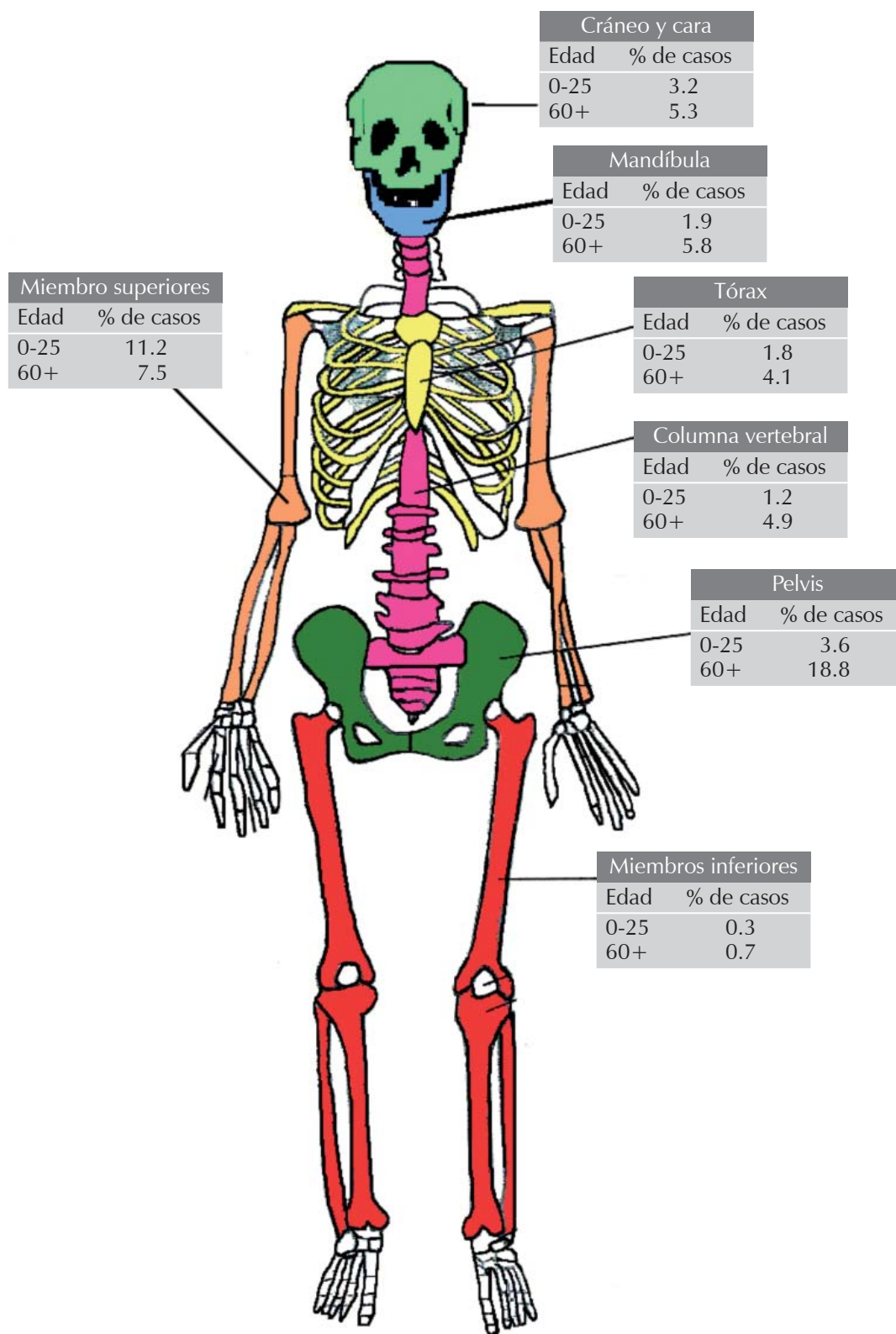


Figura 1. Localización por sitio anatómico (AS) del osteosarcoma en personas de 0-25 años y más de 60 años.

que el uso de TC de tórax evidencia la presencia de metástasis.⁴

Los pacientes afectados por la enfermedad de Paget se caracterizan por la formación de hueso excesiva y degradación, lo que resulta en gran incidencia de osteosarcoma.³

Etiología

La etiología del osteosarcoma es desconocida. Se ha sugerido un origen viral al inducir sarcomas en animales por virus en extractos libres de células. El único agente ambiental conocido que origina a un osteosarcoma en humanos es la radiación ionizante, la cual está implicada en 2% de los osteosarcomas, observándose un intervalo de 10 a 20 años entre la exposición y la formación del tumor.³

Se han estudiado familias con múltiples miembros que desarrollan osteosarcoma, las cuales sugieren una predisposición genética de este tumor. Datos reportados de niños con osteosarcoma revelan que de un 3 a 4% presentan una mutación en la línea germinal en p53.¹³ La mayoría de los casos con mutación en el gen p53 son casos de pacientes con historia familiar del síndrome de Li-Fraumeni.^{1,8} Otros factores conocidos que predisponen al desarrollo de un osteosarcoma son el retinoblastoma hereditario, historia de displasia fibrosa, trauma⁴ y osteomielitis crónica.⁸

Vías de señalización y moléculas asociadas con el osteosarcoma

Las células con osteosarcoma producen una gama de factores de crecimiento, por ejemplo, el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β , por sus siglas en inglés), el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), y el factor de crecimiento de tejido conectivo (CTGF, por sus siglas en inglés), los cuales ejercen efectos autócrinos y parácrinos, dando como resultado una expresión desregulada de dichas moléculas que conduce a la proliferación acelerada de las células.³ El TGF- β —siendo un factor de crecimiento— eleva sus niveles en osteosarcomas de alto grado. Se ha propuesto que cuando el TGF- β y c-fos tienen niveles altos, generan una actividad proliferativa muy alta lo que pudiera proporcionar el grado de agresividad en estos tumores.¹⁴

Por otra parte, se ha observado que la mitad de los osteosarcomas presentan una expresión elevada de IGF, lo que sugiere que las metástasis no requieren necesariamente una estimulación de IGF, lo que su-

giere que posiblemente sea otra vía la que cause la proliferación y la metástasis.¹⁵

También se ha demostrado que CTGF estimula la proliferación y diferenciación en osteoblastos y osteosarcoma, además de inducir la mineralización de la matriz con una actividad comparable a la proteína morfogénica ósea 2 (BMP2, por sus siglas en inglés).^{16,17}

Del osteosarcoma se sabe que cuenta con un complejo cariotipo y alta frecuencia de amplificaciones cromosomales. Actualmente, sólo la respuesta histológica (grado de necrosis) así como el momento de la cirugía definitiva, representa un estándar de referencia para predecir los resultados en pacientes con OS no metastásico. Sin embargo, el entendimiento de los eventos moleculares del tumor en su inicio y progresión podrían resultar en la identificación de diagnósticos potenciales y agentes terapéuticos.¹⁸

El uso del análisis por hibridación genómica comparativa y la tecnología de microarreglos de cDNA nos sirven para comprender mejor las alteraciones que han sido identificadas a través de secuencias de DNA y mRNA, identificando genes relevantes para el diagnóstico y el establecimiento de características clínicas de estos tumores.¹⁹

Dentro de estos hallazgos se encuentra la asociación entre el osteosarcoma y el gen RB1, localizado en el cromosoma 13q14, así como con el gen TP53 (gen que codifica para la proteína p53) en pacientes con síndrome Li-Fraumeni. Se trata de un síndrome familiar que se caracteriza por afectar diferentes miembros de una misma familia, el cual abarca un espectro de tumores malignos que incluyen al cáncer de mama, sarcomas de las partes blandas, tumores de las glándulas suprarrenales y de cerebro, leucemias y otros osteosarcomas.²⁰ Muchos de estos pacientes presentan mutaciones genéticas que inactivan la función de p53 (gen involucrado en la regulación del ciclo celular manteniendo la integridad del genoma).²¹

Una de las vías de p53 involucradas en el proceso de carcinogénesis del osteosarcoma es la vía TP53/MDM2 que actúa en respuesta a estrés celular provocando la activación de genes relacionados con el control del ciclo celular, reparación de ADN y apoptosis. El gen TP53 codifica para p53 actuando como un factor transcripcional al unirse a los promotores implicados en la reparación de ADN. En un estado normal, p53 es secuestrado y reprimido por MDM2 (de sus siglas en inglés *murine double minute 2*). Cuando la célula se encuentra en la fase G1-S, MDM2 libera a p53 (*Figura 2*). Si p53 se encuentra mutado o secuestrado, los daños producidos en el ADN no podrán ser reparados

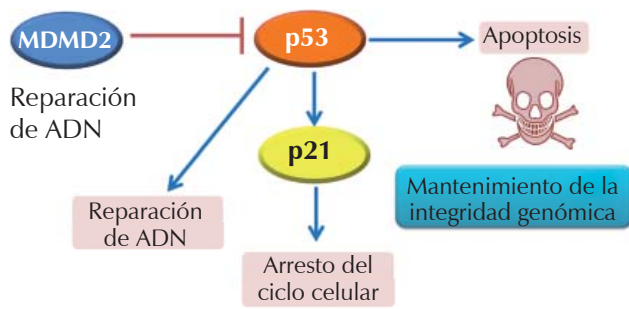


Figura 2. Interacción entre los genes MDM2 y p53 y su papel en la regulación de la integridad del genoma. Modificado de: Franco-Hernández C, Martínez-Glez V, Rey JA. *Biología molecular de los glioblastomas*. Neurocirugía. 2007; 18: 373-382.

por la célula, provocando un aumento de la división celular y una disminución en la apoptosis, así como deficiencia en la reparación del material genético.²²

A la fecha se han realizado diversos estudios a nivel molecular para entender la fisiopatología de esta neoplasia, tal es el caso del estudio realizado por Pasello y cols., en donde demuestran una relación con la sobreexpresión de GSTP1 (*glutathione S-transferasa p*) en células de osteosarcoma que presentaban una resistencia al tratamiento con cisplatino.²³

Se ha observado una relación con la sobreexpresión de la proteína AKT (cinasa de proteína B) y la actividad mitógena de la MAPK (del inglés *mitogen-activated protein kinase*) con el desarrollo de osteosarcoma en ratones, sugiriendo a esta proteína como posible marcador en la progresión del osteosarcoma. Se ha demostrado que las MAPK contribuyen al pronóstico y resistencia a los medicamentos en muchos tipos de cáncer. Además de desempeñar un papel en el comportamiento agresivo del osteosarcoma.²⁴

En el estudio realizado por Na y cols., se evaluó mediante inmunohistoquímica la expresión de pan-Ras, Raf-1, pMEK1/2 y pERK1/2 en 60 muestras de osteosarcoma, obteniendo como resultado el efecto sobre la supervivencia libre de eventos (tiempo que paso después del tratamiento donde no hay recurrencia del cáncer) y la tasa de supervivencia general (porcentaje de personas que se mantienen vivas después del tratamiento en este caso). Dentro de sus resultados se observó que aquellos pacientes que expresaron Raf-1, pMEK1/2 o pERK1/2 tuvieron una mala evolución clínica al compararlos con el grupo cuyos tumores no expresaron los anticuerpos. Además, la expresión positiva pMEK1 / 2 se asoció con supervivencia libre de eventos y la tasa de supervivencia general se vio

disminuida, independientemente de otros factores de pronóstico, por lo que de este estudio se concluyó que la expresión aberrante de los componentes de la ruta de MAPK puede ser el mecanismo subyacente detrás del osteosarcoma, lo que se traduce en un comportamiento clínico más agresivo.²⁴

La proteína Survivin se ha identificado en osteosarcoma y no así en el tejido normal. De una manera sobreexpresada, esta proteína actúa en la unión para procaspasas -3 y -7 y, al reducir su actividad estas caspasas, inhiben la muerte celular en células expuestas a señales apoptóticas. Se ha comprobado que en osteosarcoma canino, la atenuación de Survivin inhibe la progresión del ciclo celular, incrementa la apoptosis, el arresto mitótico y la quimiosensibilidad, sugiriendo el uso de terapias dirigidas hacia Survivin puedan ser altamente eficaces para un modelo humano.²⁵

Recientemente, Wang y su grupo analizaron la sobreexpresión del gen astrocito-1 (AEG-1) estableciendo que juega un papel importante en la progresión y metástasis, además de tener una fuerte correlación con la sobreexpresión de MMP-2 (matriz metaloproteínasa) en análisis *in vitro* e *in vivo*, proponiéndolos como biomarcadores en la predicción y pronóstico de la enfermedad.²⁶

El análisis realizado por Knowman y cols. sugiere que CDC5L, HSPCB, NFKBIE, HGNC y MRPL14 son genes diana para la amplificación de 6p12-p21,¹¹ lo que se ha asociado con la progresión y peor pronóstico en pacientes con osteosarcoma.²⁷ De estos genes, CD-C5L podría ser importante en el cáncer por su papel en la regulación del ciclo celular G2 específicamente.¹⁸

En un estudio proteómico realizado por Zhang y cols. se comparó las proteínas de membrana que se encuentran en el osteosarcoma y osteoblastos, encontrando un total de 68 proteínas sub y sobreexpresadas. Dentro de las proteínas sobreexpresadas se encuentran CTNNB1, CTNDD1 y CD151, de las cuáles CTNNB1 (β -catenina 1) está involucrada en la regulación de la adhesión celular y la transducción de señales a través de la vía de Wnt. La proteína CTNDD1 puede regular la adhesión celular entre C y E-cadherina; CD151 presenta una actividad de unión en la vía PI3K y se encuentra involucrada en las interacciones proteína-proteína. En este estudio se concluye que existe una relación directa entre la adhesión celular y la progresión tumoral, al existir una mayor cantidad de proteínas involucradas en la adhesión celular (las células tendrán un potencial mayor de invasión y metástasis), esto se ve reflejado en el pronóstico y evolución de la enfermedad.²⁸

Tratamiento convencional

El tratamiento para el osteosarcoma consta de la participación de un equipo multidisciplinario que incorpora la cirugía y la quimioterapia sistémica. Sin embargo, existe controversia en relación con que el uso de la quimioterapia debería ser un neoadyuvante, es decir, si se deberá aplicarla antes de la cirugía o como terapia adyuvante (después de la cirugía), y por cuánto tiempo se debe administrar el medicamento. Asimismo, la polémica se extiende hasta saber cuál se debe de emplear. Algunos consideran que con la quimioterapia neoadyuvante se retrasa la cirugía y, por tanto, se ve un retraso en la curación; sin embargo, se menciona que con el uso de una terapia neoadyuvante, los tumores se resecan y disminuye las complicaciones de la cirugía. La quimioterapia, ya sea adyuvante o neoadyuvante al incluirse como parte del tratamiento, ha mejorado el pronóstico de los pacientes con osteosarcoma debido a que no es suficiente la quimioterapia o la cirugía por sí solas en casos donde el tumor es de alto grado.²⁹ Sin embargo, un grupo de investigadores realizó un estudio comparativo entre la quimioterapia neoadyuvante y la adyuvante, como resultado se obtuvo una supervivencia de cinco años en los grupos de estudio, esto es, no se logró observar una mayor efectividad de alguno de los tratamientos.³⁰

Se estima que aproximadamente el 80% de los pacientes presentan micrometástasis en el momento del diagnóstico. Dentro de los medicamentos más utilizados se encuentran:

Cisplatino, que a pesar de los efectos secundarios se sigue utilizando debido a su efectividad para combatir al osteosarcoma. El cisplatino tiene en su conformación platino cuyo componente se une a grupos nucleofílicos como la guanina en N7, forma aductos que provocan una distorsión en las cadenas de DNA y llevan finalmente a la apoptosis.³¹

Los efectos secundarios son nefrotoxicidad, ototoxicidad y neurotoxicidad (siendo la forma más frecuente la encefalopatía). La nefrotoxicidad se atribuye a metabolitos del cisplatino, los cuales aumentan la secreción de magnesio y potasio; sin embargo, está nefrotoxicidad se puede reducir mediante hiperhidratación y el uso de agentes citoprotectores.³² La severidad de la ototoxicidad va en relación con la dosis acumulativa del fármaco, siendo más severa en niños y ésta no es reversible.

Doxorrubicina. Es considerada como la segunda opción para el tratamiento en el osteosarcoma. Perteneciente a las antraciclinas y su mecanismo de acción

ocurre mediante la generación de radicales libres de oxígeno que generan rupturas simples o dobles de la cadena del DNA. Entre los efectos tóxicos agudos está la estomatitis, mielosupresión y mucositis. La cardiomiopatía congestiva es un efecto crónico debida a la dosis acumulativa, y se piensa que es consecuencia del efecto de los radicales libres sobre el corazón.^{32,34}

Ifosfamida. Se le clasifica como un alquilante perteneciente a las mostazas nitrogenadas, su mecanismo de acción consiste en la unión covalente al DNA en el N7 de la guanina, por lo que se debe hacer un ajuste a la dosis en relación con la nefrotoxicidad que se pudiera producir. Otros efectos secundarios que se pueden encontrar con frecuencia son náusea, vómito y alopecia que es reversible. A dosis altas puede causar cardiotoxicidad y encefalopatía que se puede aminorar con azul de metileno.^{32,35}

Etopósido. Es un derivado de la podofilotoxina que actúa causando una ruptura simple o doble de la cadena del DNA y, debido a que es un inhibidor de topoisomerasa tipo II, las células que se encuentren en fase S o G2 son más susceptibles. Los efectos secundarios que causa son leucopenia, trombocitopenia, mielosupresión que se relaciona con la dosis y, en algunos casos, se puede desarrollar leucemia secundaria. Dentro de los efectos con mayor frecuencia está el vómito, náusea y alopecia.^{32,35}

Metotrexate. Se agrupa en los antimetabolitos antagonistas de los folatos, que son de gran importancia para sintetizar purinas; su mecanismo de acción consiste en inhibir a la dihidrofolato reductasa que mengua los niveles de tetrahidrofolato, y finalmente, a la inhibición de la síntesis de DNA. Los efectos secundarios que causa son neutropenia, puede producir anemia, trombocitopenia, mucositis, toxicidad renal y estomatitis cuando se ha llegado al máximo de la dosis. Las dosis deben ser reajustadas en caso de que el paciente presentara algún daño renal o hepático.^{32,35}

El *interferón alfa* provoca inmunomodulación, retardo de la proliferación celular, supresión de oncogenes e inhibición de la angiogénesis. La acción antitumoral que ejerce el interferón actúa sobre la proliferación y en la inducción de mecanismos antitumorales. La proliferación celular se ve inhibida por inactivación de RB1.

Los antineoplásicos más usados para el tratamiento generalmente son una combinación de los siguientes fármacos: cisplatino, metotrexate, doxorrubicina o ifosfamida. La combinación de los fármacos y su dosis estará sujeta al criterio del oncólogo.

Estudios realizados compararon la eficacia de utilizar dos antineoplásicos contra tres antineoplásicos,

donde los resultados demostraron diferencias significativas en la supervivencia global y la supervivencia libre de eventos a cinco años, siendo mejor el esquema con tres antineoplásicos.³⁶

Tratamientos en fase experimental

Otras terapéuticas que se plantean, pero que todavía están en fases experimentales, son los *bifosfonatos* y los inhibidores de Src. El inhibidor Src es una tirosina cinasa que juega un papel crucial durante etapas de regulación, adhesión, crecimiento, diferenciación y migración celular. Siendo una molécula clave en estos procesos no es difícil de comprender el porqué utilizar bloqueadores de la misma para tratar al osteosarcoma.^{37,38} Asimismo, dentro de las terapéuticas que se han propuesto para el tratamiento del osteosarcoma se encuentra la osteoclastogénesis vía RANKL/RANK/osteoprotegerina. La RANKL producida por los osteoblastos estimula la diferenciación y activación de los osteoclastos y los osteoclastos expresan RANK. La osteoprotegerina (OSP) compite con RANK y modula su efecto, disminuyendo la osteolisis y favoreciendo la formación ósea (Figura 3).³⁹

Perspectivas

Un mejor entendimiento del desarrollo, progresión y metástasis de esta neoplasia nos permitirá contar con tratamientos más eficaces para el OS además de ayudar a disminuir la alta tasa de recidivas y resistencia que genera anualmente, es decir, ayudará a un gran

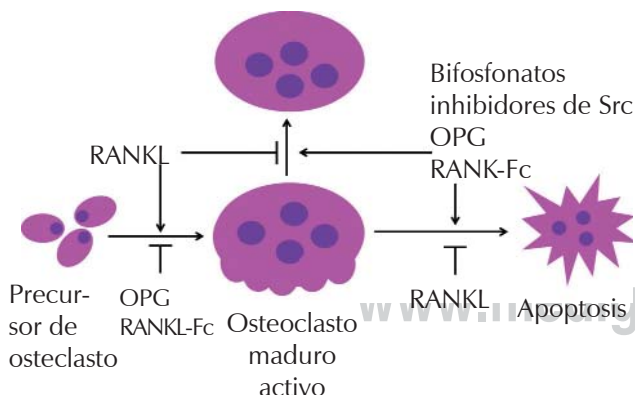


Figura 3. Vías de acción de algunos fármacos utilizados en la terapéutica del osteosarcoma. Modificado de: Na KY, Kim YW, Park YK. Mitogen-activated protein kinase pathway in osteosarcoma. Pathology. 2012; 44 (6): 540-6.

número de niños y adolescentes que padecen esta enfermedad. El conocimiento de los cambios moleculares que desencadena el tumor, el mecanismo de metástasis y angiogénesis utilizado por las células tumorales, así como la evasión del sistema inmune y posibles marcadores específicos son necesarios para la prevención y tratamiento de esta neoplasia. Quizá en el futuro si se descifran moléculas «diana» sea posible crear un fármaco selectivo que inhiba a éstas y lograr una reducción en el tamaño tumoral y, con ello, evitar cirugías ampliamente invasivas y deformantes que cambien la vida de manera radical en la persona que la padece.

Bibliografía

1. Picci P. Osteosarcoma (osteogenic sarcoma). Orphanet J Rare Dis. 2007; 23: 2-6.
2. J-Klein M, P-Siegel G. Osteosarcoma anatomic and histologic variants. Am J Clin Pathol 2006; 125: 555-581.
3. Broadhead ML, Clark JC, Myers DE, Dass CR, Choong PF. The molecular pathogenesis of osteosarcoma: A review. Sarcoma. 2011; 2011. Article ID 959248, pages 15 doi: 10.1155/2011/959248.
4. Zhu L, McManus MM, Hughes DP. Understanding the biology of bone sarcoma from early initiating events through late events in metastasis and disease progression. Front Oncol. 2013; 17: 1-17.
5. Cuevas-Urióstegui ML, Villasis-Keever MA, Fajardo-Gutiérrez A. Epidemiología del cáncer en adolescentes. Salud Pública de México. 2003; 45: 115-123.
6. Baena-Ocampo LC, Ramírez-Pérez E, Linares-González LM, Delgado-Chávez R. Epidemiology of bone tumors in Mexico City: retrospective clinicopathologic study of 566 patients at a referral institution. Ann Diagn Pathol. 2009; 13: 16-21.
7. Nthumba PM. Osteosarcoma of the jaws: a review of literature and a case report on synchronous multicentric osteosarcomas. World J Surg Oncol. 2012; 10: 240.
8. Thariat J et al. Osteosarcomas of the mandible: Are they different from other tumor sites? Crit Rev Oncol Hematol. 2012; 82 (3): 280-95.
9. Neyssa M, Gebhardt M. Biology and therapeutic advances for pediatric osteosarcoma. The Oncologist. 2004; 9: 422-441.
10. Mirabello L, Troisi R, Savage SA. Osteosarcoma incidence and survival rates from 1973 to 2004: Data from the surveillance, epidemiology, and end results program. Cancer. 2009; 7: 1531-1543.
11. Savage A, Mirabello A. Epidemiology and genomics to understand osteosarcoma etiology. Sarcoma. 2011; 2011: 1-13.
12. Las-Heras F, Fernández GF, Capdeville FF. Osteosarcomas de la región de cabeza y cuello. Rev Chilena de Cirugía. 2001; 63 (5): 468-472.

13. McIntyre JF et al. Germline mutations of the p53 tumor suppressor gene in children with osteosarcoma. *J Clin Oncol*. 1994; 12 (5): 925-930.
14. Franchi A, Arganini L, Baroni G et al. Expression of transforming growth factor beta isoforms in osteosarcoma variants: association of TGF beta 1 with high grade osteosarcomas. *J Pathol*. 1998; 185: 284-289.
15. Burrow S, Andrulis IL, Pollak M, Bell RS. Expression of insulin-like growth factor receptor, IGF-1, and IGF-2 in primary and metastatic osteosarcoma. *J Surg Oncol*. 1998; 69: 21-27.
16. Nishida T, Nakanishi T, Asano M, Shimo T, Takigawa M. Effects of CTGF/Hcs24, a hypertrophic chondrocyte-specific gene product, on the proliferation and differentiation of osteoblastic cells *in vitro*. *J Cell Physiol*. 2000; 184: 197-206.
17. Nishida T, Emura K, Kubota S, Lyons KM, Takigawa M. CCN family 2/connective tissue growth factor (CCN2/CTGF) promotes osteoclastogenesis via induction of and interaction with dendritic cell-specific transmembrane protein (DC-STAMP). *J Bone Miner Res*. 2011; 26: 351-63.
18. Man T-K, Lu X-T, Jaeweon K. Genome-wide array comparative genomic hybridization analysis reveals distinct amplifications in osteosarcoma. *BMC Cancer*. 2004; 4: 45.
19. Suehara Y, Kubota D, Kikuta K. Discovery of Biomarkers for osteosarcoma by proteomics approaches. *Sarcoma*. 2012; 11-15.
20. Li FP et al. A cancer family syndrome in twenty-four kindreds. *Cancer Res*. 1988; 48: 5358-5362.
21. Malkin D et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science*. 1990; 30: 1233-1238.
22. Franco-Hernández C, Martínez-Glez V, Rey JA. Biología molecular de los glioblastomas. *Neurocirugía*. 2007; 18: 373-382.
23. Pasello M et al. Overcoming glutathione S-transferase P1-related cisplatin resistance in osteosarcoma. *Cancer Res*. 2008; 68 (16): 6661-8.
24. Na KY, Kim YW, Park YK. Mitogen-activated protein kinase pathway in osteosarcoma. *Pathology*. 2012; 44 (6): 540-6.
25. Jenette K et al. Therapeutics, targets, and chemical biology expression and function of survivin in canine osteosarcoma. *Cancer Res*. 2012; 72: 249-259.
26. Wan et al. Oncogenic roles of astrocyte elevated gene-1 (AEG-1) in osteosarcoma progression and prognosis. *Cancer Biol Ther*. 2011; 12 (6): 539-548.
27. Lu XY et al. Cell cycle regulator gene CDC5L, a potential target for 6p12-p21 amplicon in osteosarcoma. *Mol Cancer Res*. 2008; 6: 937-46.
28. Zhang Z et al. Comparative proteomic analysis of plasma membrane proteins between human osteosarcoma and normal osteoblastic cell lines. *BioMed Central Cancer*. 2010; 10: 206.
29. Buecker P, Gebhardt M, Weber K. Osteosarcoma [Internet]. Liddy Shriver Sarcoma Initiative [Fecha de consulta: 30 octubre de 2013]. Disponible en: <http://sarcomahelp.org/translate/es-osteosarcoma.html>
30. Muscolo D et al. Actualización en osteosarcoma. *Rev Asoc Argent Ortop Traumatol*. 2009; 74 (1): 86-101.
31. Alderden R et al. The discovery and development of cisplatin. *J Chem*. 2006; 83: 728-724.
32. Hospital Infantil de México Federico Gómez [Página Web]. Protocolo de tratamiento de osteosarcoma en el Hospital Infantil de México Federico Gómez [Fecha de consulta: 30 de octubre de 2013]. Disponible en: <http://www.himfg.edu.mx/descargas/documentos/planeacion/guiasclinicasHIM/Osteosarcoma.pdf>
33. Yancey A et al. Risk factors for cisplatin-associated ototoxicity in pediatric oncology patients. *Pediatr Blood Cancer*. 2012; 59: 144-148.
34. Pérez C et al. Cardiotoxicidad tardía inducida por antraciclinas. *Med Clin (Barc)*. 2009; 133 (8): 311-313.
35. Sociedad Española de Farmacéuticos de Hospitales. Medicamentos citostáticos. 4a ed. Madrid: Raíz; 2005.
36. Anninga JK, Gelderblom H, Fiocco M, Kroep JR, Taminiau AH, Hogendoorn PC et al. Chemotherapeutic adjuvant treatment for osteosarcoma: where do we stand? *Eur J Cancer*. 2011; 47 (16): 2431-45.
37. Akiyama T, R-Dass C, M-Choong P. Novel therapeutic strategy for osteosarcoma targeting osteoclast differentiation, bone resorbing activity, and apoptosis pathway. *Mol Cancer Ther*. 2008; 7: 3461-3469.
38. Ta HT, Dass CR, Choong PF, Dunstan DE. Osteosarcoma treatment: state of the art. *Cancer Metastasis Rev*. 2009; 28: 247-263.
39. Akiyama T, R-Dass C, M-Choong P. Novel therapeutic strategy for osteosarcoma targeting osteoclast differentiation, bone resorbing activity, and apoptosis pathway. *Mol Cancer Ther*. 2008; 7: 3461-3469.