


ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=ca>

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=es>

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>

TESIS DOCTORAL

**EL PAPEL DE LAS PLATAFORMAS DE SCREENING
GENÓMICO EN SARCOMAS DE PARTES BLANDAS Y ÓSEOS.**

AUTORA:

CLAUDIA MARÍA VALVERDE MORALES

DIRECTORES:

DR. JOAN CARLES GALCERÁN

DRA. MARÍA CLEOFÉ ROMAGOSA PÉREZ-PORTABELLA

TUTOR:

DR. VICTOR VARGAS BLASCO

PROGRAMA DE DOCTORADO

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

2023

Agradecimientos

A mi director de tesis, Joan Carles, por la oportunidad y la generosidad de dejarme crecer.

A mi directora de tesis, Cleofé Romagosa, por compartir tu sabiduría, tu energía y tu amistad.

A mi tutor, Víctor Vargas, por el apoyo y la paciencia durante el desarrollo de la tesis.

A mis compañeros de la Unidad de Tumores Genitourinarios, tumores cerebrales, primario desconocido y sarcomas. César Serrano, por tus consejos, tu ojo crítico y porque, aunque no siempre compartimos la misma opinión, te has convertido en mi mejor complemento. Carlo Cicala, porque tu espíritu aventurero y tus ansias de saber, nos han traído un soplo de aire fresco; eres la pieza que nos faltaba. Rafael Morales, porque nuestro largo doctorado en paralelo nos ha permitido darnos los ánimos y consejos necesarios para llegar al final del camino. Cristina Suárez, por alegrarnos y aguantarnos en momentos de desesperación. Macarena González, por tu bondad, tu entusiasmo y tus ganas de equilibrarlo todo. María Vieito, por tu generosidad y tu paciencia a pesar de mis atracos clínicos.

Al equipo de prescreening molecular de VHIO, Susana Aguilar, Jenifer González, Ana Vivancos y Rodrigo Dienstmann, así como al

equipo de patología molecular de Vall d'Hebrón, Javier Hernández y Marta Sese, por vuestro tiempo y paciencia para ayudarme a entender.

A mis compañeras del Hospital Gregorio Marañón, Rosa Álvarez, Carolina Agra y Marta Arregui así como a Stefania Kokali del National Kapodistrian University of Athens, por vuestra generosidad en compartir experiencia.

A mis padres, Víctor y Sandra, por transmitirme la pasión por la medicina, por dejarme el espacio suficiente para cometer mis propios errores y por estar detrás de todos mis logros.

A mi hermano Lolo, por llenarme de sentido común cuando voy a la deriva y por tus famosos abrazos de oso cuando más los necesito.

A mis hijos, Bianca, Lucy y Alex, por recordarme siempre qué es lo importante en la vida y la necesidad de hacerme valer.

A mi esposo, Michael, por haberme acompañado en este largo camino, cubriendo mis ausencias, modulando mis excesos y transformando mi mal humor con una sonrisa. Necesitaré el resto de nuestras vidas para devolverte todo lo que me has dado.

“We start each day with a blank sheet of paper in front of us, and what we write
on it is up to us.”

John Larkin, *The Shadow Girl*

Abreviaturas

ADN:	Ácido desoxirribonucleico
AJCC:	American Joint Committee on Cancer
ARN:	Ácido ribonucleico
ASPS:	Sarcoma alveolar de partes blandas
CCS:	Sarcoma de células claras
CGA:	Campos de gran aumento
CR:	Respuesta completa
DD-LPS:	Liposarcoma desdiferenciado
FDG:	Fluorodeoxiglucosa
FGFR:	Fibroblast growth factor receptor
FISH:	Hibridación fluorescente in situ
FNCLCC:	French Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer
GCT:	Tumor de células gigantes
GEIS:	Grupo Español de Investigación en Sarcomas
GIST:	Gastrointestinal stromal tumor
HR:	Hazard ratio
IARC:	International Agency for Research on Cancer
IMT:	Tumor miofibroblástico inflamatorio
LMS:	Leiomiomasarcoma
LPS:	Liposarcoma
MAF:	Minor allele frequency
M-LPS:	Liposarcoma mixoide
NCI:	National Cancer Institute
NGS:	Secuenciación de nueva generación (Next Generation Sequencing)
OMS:	Organización Mundial de la Salud
OS:	Supervivencia global
PAAF:	Punción aspirativa con aguja fina
PCR:	Reacción en cadena de la polimerasa
PD:	Enfermedad Progresiva
PET:	Tomografía por Emisión de Positrones
PFS:	Supervivencia libre de progresión
P-LPS	Liposarcoma pleomórfico
PR:	Respuesta parcial
RM:	Resonancia magnética
SD:	Enfermedad estable
SEER:	Surveillance, Epidemiology, and End Results program
SS:	Sarcoma sinovial
TC:	Tomografía computarizada
TMVNP:	Tumor maligno de la vaina nerviosa periférica
UICC:	Unión Internacional Contra el Cáncer
UPS:	Sarcoma pleomórfico indiferenciado
VEB:	Virus de Epstein-Barr
VIH:	Virus Inmunodeficiencia Humana
WD-LPS:	Liposarcoma bien diferenciado

Índice de Figuras

Figura 1. Distribución por edad en casos incidentes	15
Figura 2. Correlación genotipo-fenotipo en poliposis colónica familiar.....	17
Figura 3. Tasa de mortalidad por 100.000 habitantes ajustada por edad	33
Figura 4. Incidencia acumulada de muerte en función de tamaño tumoral	33
Figura 5. Incidencia acumulada de muerte en función del grado tumoral	34
Figura 6. Supervivencia global específica por sarcoma según el estadio tumoral TNM al diagnóstico.....	35
Figura 7. Incidencia acumulada de muerte en función de la localización de tumor primario	35
Figura 8. Incidencia acumulada de recidiva local (izquierda) y a distancia (derecha) de los distintos subtipos histológicos encontrados en retroperitoneo	36
Figura 9. Nomograma MSKCC Mortalidad sarcoma específica a los 12 años para sarcomas de partes blandas.	38
Figura 10. Imagen de SARCULATOR.....	39
Figura 11. Esquema del manejo sistémico de los sarcomas de partes blandas localmente avanzados o metastásicos.....	45
Figura 12. Proceso de selección de los pacientes objeto de estudio	68
Figura 13. Resumen de la utilidad de la NGS como apoyo al diagnóstico en sarcomas.....	74
Figura 14. Resumen de la utilidad de la NGS como prescreening molecular en sarcomas.....	77

Índice de Tablas

Tabla 1. Síndromes hereditarios asociados a sarcomas	16
Tabla 2. Síntomas y signos de alerta para atención primaria/urgencias para la sospecha de sarcomas de partes blandas y óseos	19
Tabla 3. Escala de Karnofsky,	21
Tabla 4. Grado histológico por el sistema FNCLCC	25
Tabla 5. Tinciones de inmunohistoquímica utilizadas frecuentemente en el diagnóstico de sarcoma	25
Tabla 6. Sarcomas con cariotipo simple y translocaciones más	27
Tabla 7. Relación de las diferentes técnicas de diagnóstico patológicas y	28
Tabla 8. Estadaje TNM de los sarcomas de partes blandas, 8ª edición AJCC	31
Tabla 9. Estadaje TNM de los sarcomas óseos, 8ª edición AJCC	32
Tabla 10. Esquema MAP	47
Tabla 11. Evaluación del grado de respuesta a la quimioterapia preoperatoria según el sistema de gradación de Picci	47
Tabla 12. Métodos de secuenciación de DNA: genoma completo vs exoma completo vs secuenciación dirigida	49
Tabla 13. Resumen de los principales datos de pacientes individuales reportados en la literatura.....	53
Tabla 14. Panel Archer™ FusionPlex™	62
Tabla 15. Genes incluidos en panel Amplicon en sus diferentes	64
Tabla 16. Genes incluidos en panel VHIO 300.....	65
Tabla 17. Descripción para las variables categóricas clínico-patológicas de todos los pacientes del estudio, de los pacientes con NGS diagnóstica y aquellos con NGS de prescreening molecular	69
Tabla 18. Alteraciones más frecuentes encontradas en la NGS con fines diagnósticos.	70
Tabla 19. Descripción de los pacientes en los que hay impacto en el diagnóstico (diagnóstico inicial-final) y comentario sobre impacto en el tratamiento.....	73
Tabla 20. Relación de las alteraciones más frecuentes: totales y accionables.	75
Tabla 21. Descriptiva de los pacientes con alteración accionable que reciben tratamiento dirigido con detalle del tratamiento.	77

INDICE DE CONTENIDO

Resumen	11
Abstract	12
1. Introducción	13
1.1. Preámbulo	13
1.2. Epidemiología de los sarcomas de partes blandas	13
1.3. Etiología	15
1.3.1. Síndromes de predisposición genética	15
1.3.2. Radioterapia	18
1.3.3. Carcinógenos químicos	18
1.3.4. Inflamación crónica y linfedema	18
1.3.5. Infecciones	18
1.4. Diagnóstico	19
1.4.1. Presentación clínica	19
1.4.2. Historia natural	19
1.4.3. Evaluación diagnóstica clínico-radiológica	20
1.4.4. Biopsia	22
1.5. Anatomía patológica	23
1.5.1. Tipo histológico	23
1.5.2. Grado	24
1.5.3. Resultados de técnicas complementarias	25
1.5.3.1. Inmunohistoquímica	25
1.5.3.2. Técnicas moleculares	26
1.6. Estadíaje	29
1.7. Pronóstico y cálculo de riesgo	32
1.7.1. Tamaño	33
1.7.2. Grado histológico	34
1.7.3. Estadio tumoral	34
1.7.4. Localización	35
1.7.5. Subtipo histológico	36
1.7.6. Márgenes	36
1.7.7. Profundidad	37
1.7.8. Edad	37

1.7.9. Factores moleculares	37
1.7.10. Respuesta patológica.....	38
1.7.11 Nomogramas y herramientas de predicción de riesgo	38
1.8. Tratamiento.....	39
1.8.1. Sarcomas de partes blandas.....	39
1.8.1.1 Enfermedad Localizada	39
1.8.1.2. Enfermedad diseminada	41
1.8.2. Sarcoma de Ewing	45
1.8.2.1 Tratamiento al diagnóstico (1ª línea)	45
1.8.2.2 Tratamiento de segunda línea y sucesivos.....	46
1.8.3. Osteosarcoma	47
1.8.3.1 Tratamiento de primera línea.....	47
1.8.3.2 Segunda línea y sucesivas	48
1.9 Medicina de precisión en sarcomas.....	48
2. Justificación del estudio	54
3. Hipótesis de trabajo.....	56
4. Objetivos del estudio	57
4.1. Objetivo principal	57
4.2. Objetivos secundarios.....	57
5. Material y métodos	58
5.1. Población de estudio.....	58
5.2. Variables clínicas y anatomopatológicas	58
5.3. Estudio de las variables biológicas.	60
5.3.1. Plataformas de NGS empleadas.....	61
5.4. Análisis estadístico	65
6. Resultados	67
6.1. Población de estudio.....	67
6.1.1. Selección de casos	67
6.1.2. Características clínico-patológicas	68
6.2. Resultado y utilidad clínica de la NGS realizada con fines diagnósticos	69
6.2.1. Resultados de la NGS realizada con fines diagnósticos.	69
6.2.2. Utilidad clínica de la NGS realizada con fines diagnósticos	70
6.3. Resultado y utilidad clínica de la NGS realizada como prescreening molecular	74
6.3.1. Resultados de la NGS realizada como prescreening molecular.	74
6.3.2. Utilidad clínica de la NGS realizada como prescreening molecular.	74
7. Discusión.....	78

7.1. La NGS es una herramienta útil en el diagnóstico de casos seleccionados tras una correcta valoración por patólogos expertos en sarcomas.	78
7.2. La NGS en la búsqueda de opciones de tratamiento	80
7.3. La NGS es una herramienta útil en la investigación	81
7.4. Limitaciones.....	83
8. Conclusiones.....	84
9. Líneas de futuro	85
10. Referencias bibliográficas.....	87

Resumen

Introducción: Los sarcomas constituyen un grupo poco frecuente y heterogéneo de tumores que comprenden > 70 entidades distintas, con distintas historias naturales y respuesta a tratamientos. Estas características junto con su ubicuidad en localización y edad, hacen que su diagnóstico sea complejo y sea recomendable su manejo en centros con experiencia. Pero incluso en manos de patólogos y clínicos expertos, una proporción de pacientes no consiguen clasificarse de manera adecuada y en otros casos, pacientes con buen estado general agotan los escasos fármacos disponibles o incluso, carecen de ellos.

Hipótesis: El uso de plataformas de NGS puede, por un lado, contribuir a mejorar el diagnóstico patológico de los sarcomas y, por otro lado, a encontrar alteraciones moleculares accionables. Tanto la mejora del diagnóstico como el uso de tratamientos guiados por dichas alteraciones, puede mejorar el pronóstico de estos pacientes.

Material y métodos: Se evaluaron retrospectivamente los datos clínicos, patológicos y moleculares de 358 pacientes con sarcoma, excluido GIST, que se hubieran realizado un estudio de NGS con intención diagnóstica (Archer) o como herramienta de búsqueda de dianas terapéuticas-prescreening (Amplicon/panel VHIO 300).

Resultados: 257 pacientes se realizaron un estudio con intención diagnóstica y en 25 (9.7%) supuso un cambio con respecto al diagnóstico inicial: en 6 (24%) este cambio no tuvo ningún impacto en el tratamiento recibido, en 10 (40%) supuso un cambio en el tratamiento sistémico recomendado y en 9 (36%) implicó un cambio en la estrategia global de tratamiento. 133 pacientes se realizaron NGS de prescreening y en 88 (66%) se objetivó una o varias alteraciones moleculares patológicas: 43 (32%) del total testados se consideraron accionables, únicamente 7 (5.2%) recibieron tratamiento dirigido y sólo 3 (2.2%) obtuvieron beneficio clínico del mismo.

Conclusiones: El uso de NGS por patólogos expertos, contribuye a mejorar el diagnóstico en casos seleccionados y ello tiene consecuencias sobre el tratamiento recibido. A pesar de encontrar un elevado número de alteraciones patológicas accionables, sólo una pequeña proporción de pacientes recibe tratamiento dirigido por las mismas y un número aún menor obtiene beneficio clínico de dicho tratamiento.

Abstract

Introduction: Sarcomas constitute a rare and heterogeneous group of malignant tumors of mesodermal origin and comprising > 70 different entities, with different natural histories and response to treatments. These characteristics, together with their ubiquity in location and age, make their clinical, radiological and pathological diagnosis complex and thus, their management in experienced centers is recommended. But even in the hands of expert pathologists and clinicians, a proportion of patients fail to be adequately classified and in other cases, patients with good general condition exhaust the scarce drugs available or even lack them. **Hypothesis:** The use of NGS platforms can contribute, on the one hand, to improve the pathological diagnosis of sarcomas and, on the other hand, to find actionable molecular alterations. Both improved diagnosis and the use of treatments guided by these alterations may improve the prognosis of these patients. **Material and methods:** We retrospectively evaluated the clinical, pathological and molecular data of 358 patients with sarcoma, excluding GIST, who had undergone an NGS study with diagnostic intent (Archer) or as a tool to search for therapeutic targets-prescreening (Amplicon/VHIO 300 panel). **Results:** 257 patients underwent a study with diagnostic intent and in 25 (9.7%) it involved a change with respect to the initial diagnosis: in 6 (24%) this change had no impact on the treatment received, in 10 (40%) it involved a change in the recommended systemic treatment and in 9 (36%) it involved a change in the overall treatment strategy. 133 patients underwent prescreening NGS and in 88 (66%) one or more molecular alterations considered pathological were detected: 43 (32%) of the total tested were considered actionable, only 7 (5.2%) received targeted therapy and only 3 (2.2%) obtained clinical benefit from it. **Conclusions:** The use of NGS by expert pathologists, contributes to improve diagnosis in selected cases and this has consequences on the treatment received. Despite finding a high number of actionable pathologic alterations, only a small proportion of patients received targeted treatment for them and an even smaller number obtained clinical benefit from such treatment.

1

Introducción

1.1. Preámbulo

Los sarcomas constituyen un grupo poco frecuente y heterogéneo de tumores malignos originados de las células embrionarias de origen mesodérmico. Constituyen alrededor del 1% de los tumores malignos en el adulto y cerca de un 15-20% de los de la infancia y adolescencia¹.

La capacidad de estas células de diferenciarse a tejido adiposo, muscular, fibroso, cartilaginoso y óseo ha hecho que estas entidades se agrupen básicamente en dos localizaciones tumorales: el tejido blando (80-85%) y el hueso (10-15%). Pero los distintos subtipos histológicos que conforman los sarcomas también pueden hallarse en los diversos aparatos o vísceras.

El hecho de ser tumores heterogéneos, ubicuos y poco frecuentes, hace fundamental la protocolización de su diagnóstico y tratamiento, siendo éste multidisciplinar y de preferencia en centros con elevado número de pacientes.

1.2. Epidemiología de los sarcomas de partes blandas

Los Registros Poblacionales de Cáncer (RPC) analizan y describen la epidemiología en todas las localizaciones tumorales. En España, la mayoría de estos registros se nutren de la información proporcionada por los servicios de patología y los centros hospitalarios de cada área, así como de los registros de mortalidad de cada comunidad.

La International Classification of Diseases in Oncology (ICD-O), establecida en 1976², define el sistema de codificación, que se basa en un código

para cada localización y sublocalización tumoral derivado de la décima versión de la International Classification of Diseases (ICD-10) y un código de cinco dígitos para cada histología mediante la terminología Systematized Nomenclature of Medicine (SNOMED) creado por el College of American Pathologists en 1977.

La universalidad de localizaciones dentro del cuerpo humano y el elevado número de diferentes histologías (>100 en las últimas clasificaciones)¹, han dificultado el análisis de la epidemiología de los sarcomas.

Los datos epidemiológicos sobre sarcomas en Europa fueron publicados por primera vez en el *European Journal of Cancer*³. La incidencia cruda de sarcomas en Europa es de 5,6 casos por 100.000 habitantes/ año, estimándose un total de 27.908 casos anuales, de los cuales un 84% son de partes blandas y 15% sarcomas óseos. La mayoría de los datos con los que contamos para España son extrapolados de otros países o de registros regionales. Desde el Grupo Español de Investigación en Sarcomas (GEIS) se ha puesto en marcha un registro nacional de carácter voluntario (GEIS 78), con lo que se espera tener los primeros datos propios en 2024.

Los sarcomas pueden aparecer a cualquier edad, sin embargo, en el caso de los sarcomas de partes blandas la incidencia se incrementa con la edad en todas las localizaciones (Figura 1). Tienen una edad mediana de aparición de 62 años, mientras que los sarcomas óseos tienen su mayor pico en <20 años, con una edad mediana de 40 años⁴.

Según los datos del SEER, aunque la incidencia es discretamente mayor en hombres que en mujeres, estas diferencias no son llamativas. Estos resultados epidemiológicos son superponibles con los obtenidos en una serie francesa que además contaba con la revisión central del diagnóstico.⁵

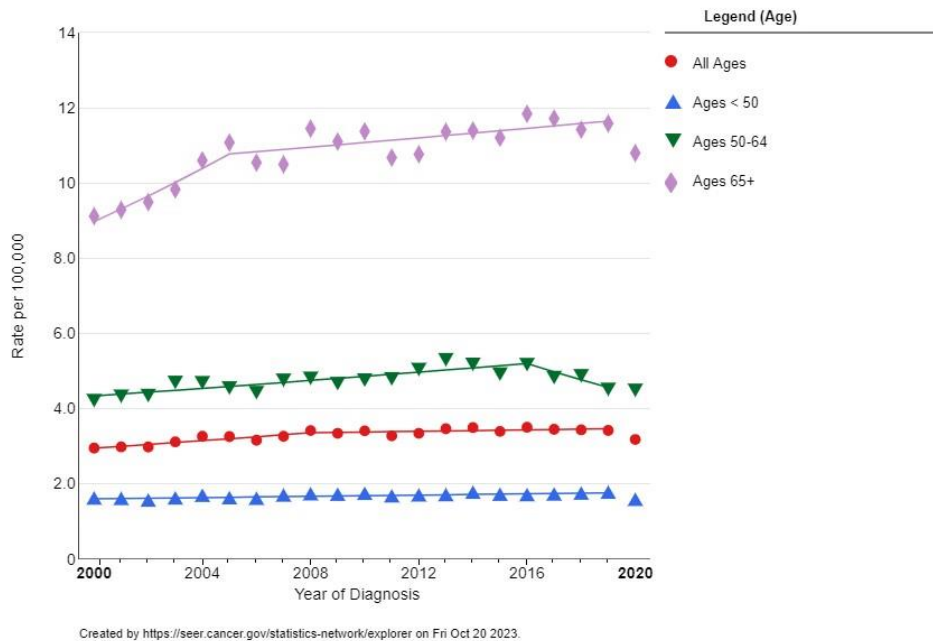


Figura 1. Distribución por edad en casos incidentes, 2000-2020. Fuente: National Cancer Institute, SEER (Surveillance, Epidemiology, and End Results program) Cancer Statistics Review, 1975-2020

En cuanto a la localización, los sarcomas también son tremendamente ubicuos. Las extremidades constituyen la localización primaria más frecuente, en especial las inferiores.⁶

1.3. Etiología

La mayoría de los sarcomas son tumores esporádicos y no existe ningún elemento etiológico identificable. Únicamente en una pequeña proporción de pacientes pueden encontrarse uno o varios factores predisponentes.

1.3.1. Síndromes de predisposición genética

En general, los tumores asociados aparecen con una prevalencia mayor y una edad más temprana que en la población normal. Aunque existen múltiples síndromes asociados a tumores mesenquimales agresivos (Tabla 1)⁷, los más frecuentes son la neurofibromatosis tipo I, el síndrome de Li-Fraumeni y la poliposis colónica familiar.

Gen	Herencia	Sarcoma asociado	Síndrome
TP53	Autosómica dominante	Hueso y partes blandas	Li-Fraumeni
NF1	Autosómica dominante	MPNST, rabdomiosarcoma, GIST	Neurofibromatosis tipo I
Kit, PDGFRA, SDHA	Autosómica dominante	GIST	Síndrome de predisposición GIST
SDHR, SDHC, SDHD	Autosómica dominante	GIST	Carney Stratakis
PTCH1, PTCH2	Autosómica dominante	rabdomiosarcoma	Basal cell nevus
11p15.5region	Autosómica dominante	rabdomiosarcoma	Beckwith-Wiedemann
NBS1	Autosómica dominante	rabdomiosarcoma	Nijmegen breakage
DICER1	Autosómica dominante	rabdomiosarcoma	DICER1
BUB1B, CEP57, TRIP13	Autosómica dominante	rabdomiosarcoma	Mosaic variegated aneuploidy syndrome 1
HRAS	Autosómica dominante	rabdomiosarcoma	Costello
RB1	Autosómica dominante	Osteosarcoma	Retinoblastoma
RECQL4	Autosómica recesiva	Osteosarcoma	Rothmund Thomson & RAPADILINO
RECQL3	Autosómica recesiva	Osteosarcoma	Bloom
RECQL2	Autosómica recesiva	Osteosarcoma	Werner
TNFRSF11A, TNFRS11B, SQSTM1, PDB4, ZNF687	No claro	Osteosarcoma	Paget óseo
GNAS1		Osteosarcoma	McCune Albright
EXT1, EXT2	Autosómica dominante	Condrosarcoma	Exostosis múltiple hereditaria
FH	Autosómica dominante	Leiomiomasarcoma uterino	Leiomiomatosis hereditaria y carcinoma de células renales
POT1	Autosómica dominante	Angiosarcoma	Glioma familiar, melanoma y cáncer colorectal.

Tabla 1. Síndromes hereditarios asociados a sarcomas (lista no exhaustiva). MPNST: Tumor maligno de la vaina del nervio periférico.

La *neurofibromatosis tipo I* o *Enfermedad de von Recklinghausen* es uno de los síndromes hereditarios más frecuentes, con una prevalencia entre 1/2.000 y 1/5.000 y se produce por una mutación que provoca pérdida de función del gen. Esta alteración genética se hereda de manera autosómica dominante, aunque el 30- 50% de los pacientes representa casos esporádicos. Estos

pacientes tienen múltiples neurofibromas, algunos de los cuales (neurofibromas plexiformes) pueden malignizar en forma de tumor maligno de vaina del nervio periférico.⁸

El *síndrome de Li-Fraumeni* es una enfermedad hereditaria de alta penetrancia, causada por una mutación germinal en el gen supresor tumoral *p53*⁹. Estos pacientes tienen una probabilidad del 80% de desarrollar un tumor maligno antes de los 45 años y un 25% serán sarcomas.

La pérdida de ambas copias del gen supresor tumoral *RB1* ocasiona una pérdida del control del ciclo celular, lo que conlleva una probabilidad del 80-90% de presentar retinoblastomas y son proclives a desarrollar otros tumores primarios extraoculares como osteosarcomas y sarcomas de partes blandas (leiomioma, fibrosarcoma, sarcoma pleomórfico indiferenciado, rhabdomioma y liposarcoma)¹⁰.

La *poliposis colónica familiar* se asocia a la mutación germinal del gen *APC*, que afecta la señalización de la betacatenina. El 10-15% de estos pacientes desarrolla tumores desmoides, frecuentemente asociados a traumatismos o cirugías. El riesgo de padecerlos es unas 800 veces mayor que en la población general y tiene relación con el perfil mutacional (figura 2)¹¹.

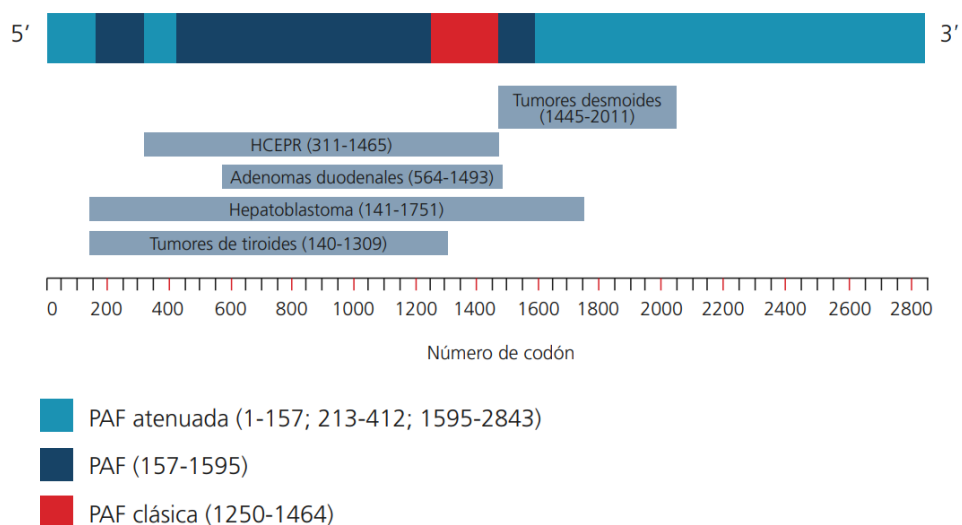


Figura 2. Correlación genotipo-fenotipo en poliposis colónica familiar. Se representan las manifestaciones extracolónicas. HCEPR: hipertrofia congénita del epitelio pigmentario de la retina¹¹.

1.3.2. Radioterapia

Afortunadamente, la incidencia de sarcoma radioinducido en pacientes previamente irradiados por otro tumor es baja (0.01%)¹². Los subtipos de sarcoma más frecuentemente asociados a la radioterapia son el sarcoma pleomórfico indiferenciado y el angiosarcoma. Suelen ser sarcomas de alto grado, más agresivos y aparecen tras un periodo de latencia habitual >10 años.

1.3.3. Carcinógenos químicos

La relación más clara existente tras la exposición a determinados compuestos químicos, es la descrita entre angiosarcoma hepático y thorotrast¹³, cloruro de vinilo y el arsénico.

1.3.4. Inflamación crónica y linfedema

El síndrome de Stewart-Treves fue descrito originalmente como la asociación entre linfedema crónico tras resección ganglionar en pacientes con cáncer de mama y la aparición de angiosarcoma¹⁴. Posteriormente, se ha asociado a linfedema de distintos orígenes (congénito, postquirúrgico, post irradiación, trauma o quemaduras). Típicamente el periodo de latencia es prolongado (8-24 años), y aunque la incidencia es muy baja (<1%), su curso clínico suele ser muy agresivo.

1.3.5. Infecciones

Existe una relación causal entre infección por el virus de Epstein-Barr (VEB) y leiomiosarcoma en pacientes severamente inmunocomprometidos. La mayor parte de estos leiomiosarcomas tienen lugar durante la adolescencia-juventud y en localizaciones atípicas.¹⁵

El HHV-8 es un virus humano de transmisión sexual, fuertemente relacionado con un aumento de riesgo de sarcoma de Kaposi tanto en individuos VIH positivos como inmunosuprimidos por otras causas.¹⁶

1.4. Diagnóstico

1.4.1. Presentación clínica

Los síntomas y signos clínicos de inicio son inespecíficos, varían dependiendo de la localización anatómica en la que se encuentren, y generalmente son consecuencia de la compresión de estructuras vecinas.

La forma de presentación más habitual es la aparición de un bulto o tumoración con frecuencia indolora, y que puede crecer más o menos rápidamente. Es mucho menos frecuente la aparición de síntomas constitucionales como fiebre o pérdida de peso. En el caso de los sarcomas de retroperitoneo, el diagnóstico puede ser incidental durante la realización de una prueba de imagen por otro motivo.

El hecho de que los tumores mesenquimales benignos sean mucho más prevalentes, la ubicuidad de la localización y edad, así como la inespecificidad de la clínica, puede dificultar la sospecha clínica y retrasar de manera importante el diagnóstico. De ahí la importancia de conocer y difundir los signos de alerta entre los profesionales y la población (tabla 2)¹⁷

<ul style="list-style-type: none">• En extremidades o pared superficial de tronco masas:<ul style="list-style-type: none">– Mayores de 4 cm o– De rápido crecimiento o– Ancladas en profundidad• En retroperitoneo cualquier masa extravisceral no conocida previamente.• Sarcomas óseos:<ul style="list-style-type: none">- Dolor óseo localizado persistente, asimétrico de intensidad creciente, que despierta por la noche- Dolor de espalda o cojera no justificada de >4 semanas
--

Tabla 2. Síntomas y signos de alerta para atención primaria/urgencias para la sospecha de sarcomas de partes blandas y óseos.

1.4.2. Historia natural

Como historia natural de la enfermedad cabe destacar que la mayoría de los sarcomas suelen metastatizar vía hematógena, siendo el pulmón la

localización principal (70-80%).¹⁸ La diseminación vía linfática es infrecuente salvo para algunas histologías: sarcoma epitelioides, sarcoma de células claras y sarcomas vasculares¹⁹.

En los pacientes con enfermedad localizada, la posibilidad de desarrollar metástasis a distancia aumenta en función del grado y del tamaño tumoral¹⁸ y es más frecuente en algunos subtipos. Así, en torno a un 10% de los sarcomas de partes blandas se presenta inicialmente al diagnóstico con metástasis y cerca de un 25% de los pacientes con enfermedad localizada recaerán a distancia tras un correcto manejo del tumor primario²⁰. Esta probabilidad puede superar el 50% en tumores >5 cm, profundos y de grado alto. Cabe destacar la peculiar evolución de los liposarcomas retroperitoneales (especialmente los bien diferenciados), con una alta tendencia a la recurrencia loco-regional y rara vez a distancia.

La diseminación a sistema nervioso central es muy poco frecuente, salvo en algunos subtipos histológicos como sarcoma alveolar de partes blandas, sarcoma de células claras y el angiosarcoma.

Por otro lado, los sarcomas óseos (sarcoma de Ewing y osteosarcoma los más prevalentes), se consideran enfermedades sistémicas desde el inicio, ya que, aunque sólo el 25% tiene metástasis evidentes al diagnóstico, entre el 80-90% de los pacientes con enfermedad aparentemente localizada acababan falleciendo cuando sólo se aplicaba tratamiento local²¹.

Por lo tanto, conocer esta historia natural, es fundamental a la hora de la evaluación diagnóstica, el cálculo de riesgo y la planificación del tratamiento.

1.4.3. Evaluación diagnóstica clínico-radiológica

Para la evaluación del tumor primario:

Historia clínica completa: inicio de la clínica, síntomas, velocidad de crecimiento.

Exploración física: definir las áreas de afectación, el estado de la piel suprayacente, invasión ósea, vascular o nerviosa y el estado de los ganglios

linfáticos, así como una valoración del estado general del paciente (Índice de Karnofsky²² o ECOG). Tabla 3.

IK 100%	Normal, sin quejas, sin evidencia de enfermedad
IK 90%	Capaz de realizar una actividad normal, signos o síntomas menores de enfermedad
IK 80%	Actividad normal con esfuerzo, algunos signos o síntomas de enfermedad
IK 70%	Se ocupa de sí mismo, incapaz de llevar una actividad normal o realizar un trabajo activo
IK 60%	Requiere asistencia ocasional, pero es capaz de atender la mayoría de sus necesidades
IK 50%	Requiere asistencia considerable y cuidados médicos frecuentes
IK 40%	Incapacitado, requiere cuidados y asistencia especial
IK 30%	Severamente incapacitado, la hospitalización está indicada aunque la muerte no es inminente
IK 20%	Es necesaria la hospitalización, muy enfermo, tratamiento activo de soporte necesario
IK 10%	Moribundo, proceso fatal progresando rápidamente
IK 0%	Muerte

Tabla 3. Escala de Karnofsky, introducida en 1948, fue una de las primeras escalas introducidas para la valoración del estado funcional en la práctica clínica.

Radiografías simples, proporcionan información sobre la calcificación de la lesión (lo que puede contribuir al diagnóstico) y afectación/fractura ósea.

TAC local para valoración de destrucción cortical ósea y los ganglios regionales. Suele ser la técnica más empleada en el caso de tumoraciones retroperitoneales y abdominales en general.

RM local es la técnica de valoración local por excelencia, en especial en determinadas localizaciones como extremidades, cabeza y cuello, parameninge y pelvis. Es superior al TAC para determinar la relación con los tejidos blandos colindantes (fascias, vasos, nervios, etc.)²³. Es especialmente útil para planificar tanto la biopsia como la cirugía posterior.

En cuanto al estudio de extensión:

TAC torácico: dado que el pulmón es la diana predilecta.

TAC abdominopélvico. En el caso de tumores retroperitoneales, leiomioma, sarcoma epitelioides y angiosarcoma para descartar metástasis hepáticas o ganglionares y en el caso de liposarcoma mixoide de las extremidades por su mayor propensión a metastatizar extrapulmonarmente, en tejidos blandos de la cavidad abdominal, retroperitoneo y espacio paravertebral.²⁴

Gammagrafía ósea. No suele formar parte del estudio inicial de los sarcomas de partes blandas, pero sí es relevante en la estadificación de los sarcomas óseos.

PET/TAC con FDG (Fluorodeoxiglucosa). Tampoco suele formar parte de la evaluación inicial en los sarcomas de partes blandas en ausencia de síntomas (salvo Ewing y rhabdomyosarcoma).²⁵ Parece ser menos sensible que el TAC para detectar metástasis pulmonares, aunque sí puede revelar algunas extrapulmonares que pasarían desapercibidas para éste²⁶ y es más sensible y específico para las metástasis óseas que la gammagrafía.²⁷

TAC/RMN cerebral: Se indica en sarcoma alveolar de partes blandas, sarcoma de células claras y el angiosarcoma por su mayor probabilidad de diseminación a dicho nivel.

RM-corporal completa o RM de columna: En liposarcoma mixoide por su característica diseminación paravertebral.

1.4.4. Biopsia

Suele ser el último paso en la evaluación local, habiendo de ser cuidadosamente planificada basándose en las pruebas de imagen anteriormente citadas, para garantizar la obtención de suficiente y adecuado material para el diagnóstico sin comprometer el tratamiento quirúrgico posterior.²⁸

Existen diferentes modalidades de biopsia:

Biopsia cerrada o core-biopsia (tru-cut) mediante una aguja que permite extraer 3-10 pequeños cilindros de tejido (>17G), con control de ecografía o TAC. Es la

técnica de elección dada su fiabilidad, facilidad y rapidez de obtención.²⁹ Permite el diagnóstico de subtipo y grado en más del 80%³⁰.

Biopsia incisional abierta. Consiste en una pequeña intervención quirúrgica permitiendo obtener mayor cantidad de material. Se reserva para el caso en que el resultado de la core-biopsia sea repetidamente no concluyente.

Biopsia excisional (excepcional). Reservada para tumores <3cm.

Punción aspiración con aguja fina (PAAF). Es rápida y mínimamente invasiva, pero no suele ser útil para determinar el grado y tipo histológico que permita enfocar el tratamiento.³¹ Se reserva para la confirmación de metástasis o recidiva de un sarcoma conocido, pero no para el diagnóstico inicial.

1.5. Anatomía patológica

El diagnóstico anatomopatológico de los sarcomas se basa principalmente en la morfología y en la inmunohistoquímica. Las técnicas de biología molecular (tradicionalmente FISH o RT-PCR para la detección de translocaciones, fusiones génicas o mutaciones en genes claves) pueden servir de apoyo al patólogo en casos dudosos como variantes morfológicas poco habituales de un subtipo de sarcoma; sarcoma con aspecto morfológico habitual, pero en una edad y/o localización anómala o sarcomas indiferenciados/no clasificables.

El informe anatomopatológico de una biopsia diagnóstica debe contener: el tipo histológico, el grado histológico y el resultado de las pruebas complementarias que se han llevado a cabo.

1.5.1. Tipo histológico

La determinación del tipo histológico debe realizarse de acuerdo a la clasificación de sarcomas publicada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2020¹. En ella los sarcomas se clasifican de acuerdo con el presunto

tejido de origen, existiendo además distintas variantes dentro de cada subtipo (ej. células adipocíticas-liposarcoma: liposarcoma bien diferenciado, liposarcoma dediferenciado, etc). En algunos casos la histogénesis es incierta y la nomenclatura refleja la apariencia morfológica de las células o el patrón arquitectónico (ej. sarcoma alveolar de partes blandas).

1.5.2. Grado

Aunque existen múltiples sistemas para determinar el grado, el sistema más empleado es el de la FNCLCC (Fédération Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer ³² (Tabla 4).

La determinación del grado histológico es relevante dado su impacto en el pronóstico³³. Aunque no es aplicable a todos los subtipos de sarcomas de partes blandas y no se recomienda su uso en angiosarcoma, condrosarcoma extraesquelético mixoide, sarcoma alveolar de partes blandas, sarcoma de células claras y sarcoma epitelioides.

Diferenciación Tumoral	
1 punto	Gran parecido al tejido mesenquimal normal
2 puntos	Subtipo histológico identificable
3 puntos	Sarcomas indiferenciados, embrionarios, subtipo dudoso, sarcomas sinoviales, osteosarcomas, PNET
Mitosis	
1 punto	0-9 mitosis / 10 CGH
2 puntos	10-19 mitosis / 10 CGH
3 puntos	≥ 20 mitosis / 10 CGH
Necrosis tumoral	
0 puntos	No necrosis
1 punto	<50% necrosis
2 puntos	≥ 50% necrosis
Grado Histológico	Puntuación total

Grado 1	2, 3
Grado 2	4, 5
Grado 3	6, 7, 8

Tabla 4. Grado histológico por el sistema FNCLCC

1.5.3. Resultados de técnicas complementarias

1.5.3.1 Inmunohistoquímica.

Generalmente se inicia con un panel limitado, que se va expandiendo de manera escalonada en función de la sospecha diagnóstica basada en los resultados iniciales.

Vimentina	Casi todos los sarcomas y algunos carcinomas
Queratinas	Casi todos los carcinomas y algunos sarcomas (sarcoma epithelial, sarcoma sinovial)
Desmina	Rabdomiosarcoma, leiomiosarcoma.
Neurofilamentos	Tumor primitivo neuroectodermico, neuroblastoma
Antígeno leucotario común	Linfoma
Proteína S-100	Schwanoma, melanoma, sarcoma de células claras, condrosarcoma, leiomiosarcoma, rabdomiosarcoma, liposarcoma.
Miogenina	Rabdomiosarcoma
Antígeno rel Factor VIII	Angiosarcoma, sarcoma Kaposi
Actina	Leiomiosarcoma, rabdomiosarcoma
EMA	Carcinomas, sarcoma sinovial, meningioma
Leu 7	Schawanoma maligno, leiomiosarcoma, sarcoma sinovial, rabdomiosarcoma
MDM2	Liposarcoma bien diferenciado y disdiferenciado, sarcoma intimal, osteosarcoma bajo grado
SATB2	Células con diferenciación osteoblástica
MyoD1	Rabdomiosarcoma

Tabla 5. Tinciones de inmunohistoquímica utilizadas frecuentemente en el diagnóstico de sarcoma (lista no exhaustiva)

1.5.3.2 Técnicas moleculares.

Las técnicas de biología molecular, pueden servir de apoyo al diagnóstico y su uso y resultados han de quedar reflejados en el informe patológico. Para entender su utilidad y las técnicas más adecuadas a emplear en cada caso, es necesario saber que, desde el punto de vista genético, los sarcomas se pueden clasificar en dos grandes categorías:

Sarcomas citogenéticamente simples

La mayor parte de sus alteraciones genéticas son translocaciones cromosómicas. Estos tumores, que constituyen una tercera parte de todos los sarcomas, aparecen *de novo* y sus anomalías genéticas son recurrentes y están presentes desde el inicio y conservadas durante todo el proceso de evolución clonal³⁴. Las proteínas quiméricas resultantes de las translocaciones juegan un papel esencial en la biología de estos tumores.

En la Tabla 6 se resumen los subtipos de sarcomas con sus translocaciones cromosómicas más representativas, aunque el listado no es completo ya que a medida que se ha ampliado el uso de técnicas moleculares, se han ido identificando diferentes alteraciones recurrentes que han dado pie a nuevas entidades. Tal es el caso de los tumores anteriormente conocidos como Ewing-like, entre los que ahora se pueden distinguir diferentes entidades como los sarcomas de células redondas con fusión EWSR1 sin ETS (NFATC2, PATZ1)³⁵, sarcomas con reordenamiento de CIC³⁶ o los sarcomas con alteración genética BCOR.

Translocacion	Genes	Tipo de gen de fusion
Sarcoma de Ewing		
t(11;22)(q24;q12)	EWSR1-FLI1	Factor de transcripcion
t(21;22)(q22;q12)	EWSR1-ERG	Factor de transcripcion
t(7;22)(p22;q12)	EWSR1-ETV1	Factor de transcripcion
t(17;22)(q21;q12)	EWSR1-ETV4	Factor de transcripcion
t(2;22)(q33;q12)	EWSR1-FEV	Factor de transcripcion
Sarcoma de células claras		
t(12;22)(q13;q12)	EWSR1-ATF1	Factor de transcripcion

Tumor desmoplásico de células redondas del abdomen		
t(11;22)(p13;q12)	EWSR1-WT1	Factor de transcripcion
Condrosarcoma mixoide extraesquelético		
t(9;22)(q22-31;q11-12)	EWSR1-NR4A3	Factor de transcripcion
Liposarcoma mixoide		
t(12;16)(q13;p11)	FUS-DDIT3	Factor de transcripcion
t(12;22)(q13;q12)	EWSR1-DDIT3	Factor de transcripcion
Rabdomiosarcoma alveolar		
t(2;13)(q35;q14)	PAX3-FOXO1A	Factor de transcripcion
t(1;13)(p36;q14)	PAX7-FOXO1A	Factor de transcripcion
Sarcoma sinovial		
t(X;18)(p11;q11)	SYT-SSX	Factor de transcripcion
Dermatofibrosarcoma protuberans		
t(17;22)(q22;q13)	COL1A1-PDGFB	Factor de crecimiento
Fibrosarcoma congenito		
t(12;15)(p13;q25)	ETV6-NTRK3	Factor de transcripcion
Tumor miofibroblástico inflamatorio		
2p23 rearrangements	TMP3-ALK; TMP4-ALK	Factor de crecimiento
Sarcoma alveolar de partes blandas		
t(X;17)(p11.2;q25)	ASPL-TFE3	Factor de transcripcion
Sarcoma del estroma endometrial		
t(10;17)(q22;p13)	YWHAE-FAM22A/B	Factor de transcripcion
t(7;17)(p15;q21)	JAZF1-JJAZ1	Factor de transcripcion
Tumor fibroso solitario		
12q13	NAB2-STAT6	Factor de transcripcion

Tabla 6. Sarcomas con cariotipo simple y translocaciones más representativas (listado no exhaustivo).

Sarcomas citogénicamente complejos

Los sarcomas con cariotipos citogenéticamente complejos, tienden a detectarse en pacientes con una edad más avanzada, son frecuentes entre los sarcomas asociados a radioterapia, no suelen presentar eventos genéticos recurrentes, tienen una alta prevalencia de afectación del ciclo celular (vías de p53 y/o RB1) y son los que se asocian con síndromes de predisposición hereditaria como Li-Fraumeni y retinoblastoma hereditario³⁷.

Por lo general, se observan amplificaciones inespecíficas en varios cromosomas junto con deleciones que afectan a genes supresores tumorales como *CDKN2A*, *CDKN2B*, *PTEN*, *RB1*, *NF1* y muy especialmente *P53*. Un

ejemplo sería el liposarcoma desdiferenciado, donde la amplificación característica de MDM2, implica una pérdida de función de p53³⁸ o las deleciones en leiomioma.³⁹

Para la detección de las alteraciones mencionadas, se dispone de diferentes técnicas moleculares: FISH (Hibridación fluorescente in situ), PCR (Reacción en cadena de la polimerasa) y diversos paneles NGS (Secuenciación de nueva generación). Aunque para algunas fusiones (NAB2-STAT6) o amplificaciones (MDM2) se han desarrollado tinciones de inmunohistoquímica, que tienen la ventaja de ser mucho más económicas y rápidas. En la tabla 7 se presentan las principales ventajas e inconvenientes de las mismas.

Método	Beneficios	Inconvenientes
Inmunohistoquímica (IHC)	<ul style="list-style-type: none"> • Rentable (barato) • Ampliamente disponible en la mayoría de los laboratorios (pruebas descentralizadas)³ • Códigos de reembolso establecidos • Plazo de entrega ~3 días⁵ 	<ul style="list-style-type: none"> • Interrogación de un biomarcador a la vez (es decir, una IHC pan-TRK de una sola muestra frente a un panel multiplex) • Posibles falsos positivos (no muy específicos) . Detección de la expresión de proteínas de tipo salvaje, especialmente en tumores con diferenciación neural y miogénica. • Falsos negativos <10
Hibridación fluorescente <i>in situ</i> (FISH)	<ul style="list-style-type: none"> • La ubicación del objetivo dentro de la célula es visible • Alta sensibilidad y especificidad • Se pueden utilizar varios fluoróforos a la vez para detectar varios objetivos en una muestra⁷ 	<ul style="list-style-type: none"> • Requiere microscopía de fluorescencia • La secuencia objetivo debe ser conocida
Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)	<ul style="list-style-type: none"> • Alta sensibilidad y especificidad • Los ensayos de transcriptasa inversa (RT)-PCR detectan fusiones expresadas a nivel de ARN⁸ • Bajo coste¹ 	<ul style="list-style-type: none"> • Las secuencias diana deben ser conocidas (es decir, no se pueden detectar nuevas parejas de fusión)
Secuenciación de nueva generación (NGS)	<ul style="list-style-type: none"> • Puede detectar nuevos socios de fusión • Capacidad para interrogar simultáneamente a múltiples objetivos procesables • La relevancia de la NGS aumenta a medida que crece el número de objetivos procesables • Alto potencial de sensibilidad y especificidad 	<ul style="list-style-type: none"> • El plazo medio de entrega es de 6-21 días • Técnicamente complejo (alto coste de puesta en marcha) • Requiere infraestructura especializada • Modelo de pruebas muy centralizado (academia y laboratorios de referencia) • Reembolso muy restringido • No todos los paneles NGS incluyen todos los socios de fusión

Tabla 7. Relación de las diferentes técnicas de diagnóstico patológicas y moleculares con sus principales ventajas e inconvenientes.

La baja incidencia y la gran heterogeneidad de los sarcomas, además del hecho de que en muchas ocasiones existe un solapamiento en cuanto al aspecto histológico entre diferentes tumores, hacen que su diagnóstico sea bastante complejo y requiera de patólogos expertos para su correcta identificación.

Para ilustrar esta dificultad, un estudio del grupo francés, confirmado con experiencias posteriores en otros países, indicaba que había cerca de un 40% de discordancias entre el diagnóstico dado por un patólogo no experto y un patólogo experto en sarcomas⁴⁰⁻⁴¹. Aunque la mayor parte de esas discordancias se consideraban menores en su momento (grado o subtipo histológico), a medida que los tratamientos han ido evolucionando y distintos histotipos pueden recibir tratamientos más específicos con impacto en resultados clínicos, estas discordancias cobran más importancia.

En España, se está llevando a cabo el proyecto IMPERAS⁴², que además de promocionar la creación de un registro nacional de sarcomas, pretende establecer una red nacional de patólogos para mejorar y acelerar el diagnóstico de estos tumores, ya que un correcto diagnóstico desde el inicio podría mejorar la supervivencia y calidad de vida de los pacientes.

1.6. Estadiaje

El sistema de estadiaje más recientemente implementado es la 8ª edición de la Union for International Cancer Control (UICC)⁴³ y por el American Joint Committee on Cancer (AJCC). Este sistema utiliza el tamaño tumoral (T), la afectación ganglionar (N), la presencia o ausencia de metástasis (M) y el grado histológico (G) para determinar el estadio (Tabla 8).

Extremidades y tronco superficial	
T1	Tumor 5 cm o menos en su mayor dimensión
T2	Tumor >5 pero no más de 10 cm en su mayor dimensión
T3	Tumor >10 pero no más de 15 cm en su mayor dimensión
T4	Tumor >15 cm en su mayor dimensión
Retroperitoneo	
T1	Tumor 5 cm o menos en su mayor dimensión
T2	Tumor >5 pero no más de 10 cm en su mayor dimensión
T3	Tumor >10 pero no más de 15 cm en su mayor dimensión
T4	Tumor >15 cm en su mayor dimensión
Cabeza y cuello	
T1	Tumor 2 cm o menos en su mayor dimensión
T2	Tumor >2 pero no más de 4 cm en su mayor dimensión
T3	Tumor >4 cm en su mayor dimensión
T4a	Tumor invade la órbita, base de cráneo o dura, compartimento visceral central macizo facial o músculos pterigoideos.
T4b	Tumor invade el parénquima cerebral, engloba la arteria carótida, invade los músculos prevertebrales o invade el sistema nervioso central por diseminación perineural.
Tórax y abdomen	
T1	Tumor confinado a un solo órgano.
T2a	Tumor invade serosa o peritoneo visceral
T2b	Tumor con invasión microscópica mas allá de la serosa.
T3	Tumor invade otro órgano o tiene invasión macroscópica más allá de la serosa.
T4a	Tumor multifocal con no más de 2 focos en un órgano
T4b	Tumor multifocal con más de 2 pero no más de 5 focos.
T4c	Tumor multifocal con más de 5 focos.
N- Ganglios	
NX	No se puede evaluar afectación ganglionar
N0	No metástasis ganglionares
N1	Metástasis ganglionares presentes
M-metástasis a distancia	
M0	Ausentes
M1	Presentes

Estadaje para extremidades y retroperitoneo				
IA	T1	N0	M0	G1, GX Low Grade
IB	T2, T3, T4	N0	M0	G1, GX Low Grade
II	T1	N0	M0	G2, G3 High Grade
IIIA	T2	N0	M0	G2, G3 High Grade
IIIB	T3, T4	N0	M0	G2, G3 High Grade
IIIB	Any T	N1a	M0	Any G
IV	Any T	Any N	M1	Any G

Nota: No hay estadaje para cabeza y cuello y tórax-abdomen visceral.

Tabla 8. Estadaje TNM de los sarcomas de partes blandas, 8ª edición AJCC

En el caso de los sarcomas óseos, además de las variaciones de “T” según la localización, cabe destacar la distinción con impacto pronóstico entre metástasis pulmonares (M1a) y en otras localizaciones (M1b). Tabla 9

Esqueleto apendicular, tronco, cabeza y cuello	
Tx	Tumor primario no evaluable
T0	No evidencia de tumor primario
T1	Tumor <= 8 cm en su diámetro mayor
T2	Tumor > 8 cm en su diámetro mayor
T3	Tumor discontinuo en el hueso primario (skip metástasis)
Columna	
Tx	Tumor primario no evaluable
T0	No evidencia de tumor primario
T1	Tumor confinado a un segmento vertebral o 2 segmentos adyacentes
T2	Tumor confinado a 3 segmentos adyacentes
T3	Tumor confinado a 4 segmentos adyacentes o varios no adyacentes
T4	Extensión a canal espinal o grandes vasos
	T4a Extensión a canal espinal
	T4b Extensión a grandes vasos o trombosis in grandes vasos
Pelvis	
Tx	Tumor primario no evaluable
T0	No evidencia de tumor primario
T1	Tumor confinado a un segmento pélvico sin afectación extraósea
	T1a Tumor <= 8 cm en su diámetro mayor
	T1b Tumor > 8 cm en su diámetro mayor

T2	Tumor confinado a un segmento pélvico con afectación extraósea o 2 segmentos sin afectación extraósea T2a Tumor \leq 8 cm en su diámetro mayor T2b Tumor $>$ 8 cm en su diámetro mayor
T3	Tumor que afecta a 2 segmentos óseos con extensión extraósea T3a Tumor \leq 8 cm en su diámetro mayor T3b Tumor $>$ 8 cm en su diámetro mayor
T4	Tumor que afecta a 3 segmentos óseos o sobrepasa la articulación sacroilíaca T4a Afecta la articulación sacroilíaca y se extiende medialmente a neuroforamen sacro T4b Engloba vasos ilíacos externos o presencia de trombosis tumoral en vasos pélvicos mayores

N- ganglios	
N0	No afectación de ganglios regionales
N1	Afectación de ganglios regionales

M- Metástasis	
M0	No metástasis a distancia
M1	Metástasis a distancia M1a Pulmonares M1b Hueso u otras localizaciones

Estadaje	T	N	M	G
IA	T1	N0	M0	G1 o Gx
IB	T2	N0	M0	G1 o Gx
	T3	N0	M0	G1 o Gx
IIA	T1	N0	M0	G2-3
IIB	T2	N0	M0	G2-3
III	T3	N0	M0	G2-3
IVA	Cualquier T	N0	M1a	Cualquier G
IVB	Cualquier T	N1	Cualquier M	Cualquier G
	Cualquier T	Cualquier N	M1b	Cualquier G

Tabla 9. Estadaje TNM de los sarcomas óseos, 8ª edición AJCC

1.7. Pronóstico y cálculo de riesgo

Según SEER, se ha estimado que la supervivencia a los 5 años para el conjunto de los sarcomas de partes blandas es de 65.8% y 68.9% para los sarcomas óseos⁴⁴.

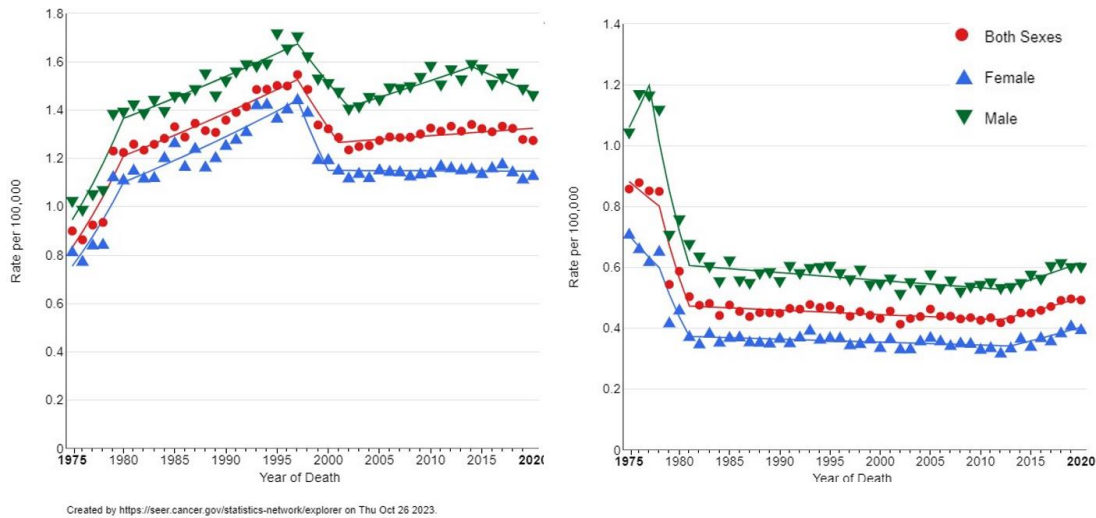


Figura 3. Tasa de mortalidad por 100.000 habitantes ajustada por edad de los sarcomas por partes blandas (izquierda) y sarcomas óseos (derecha)⁴⁴.

Obviamente la probabilidad de recaída y de muerte no es la misma para todos los pacientes y va a depender de distintos factores. Conocer estos factores, nos permitirá adaptar las decisiones terapéuticas al riesgo.

1.7.1. Tamaño

A medida que aumenta el tamaño tumoral, aumenta el riesgo de recidiva y muerte⁴⁵.

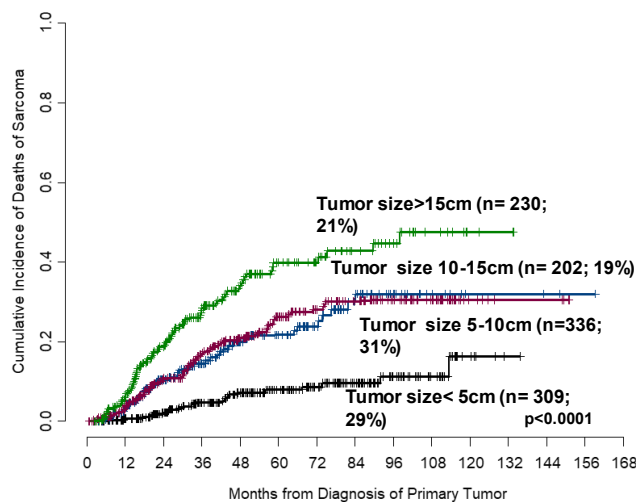


Figura 4. Incidencia acumulada de muerte en función de tamaño tumoral (MD Anderson Cancer center Series)

1.7.2. Grado histológico

Las dos series más numerosas que han evaluado de manera retrospectiva el papel del grado histológico en el pronóstico de los SPB son una del MD Anderson⁴⁵ (n=1225) y otra de la FNCLCC³³ (n=1240). En la primera, la tasa de supervivencia libre de metástasis a los 5 años es del 98%, 85% y 64% para los grados 1, 2 y 3 respectivamente.

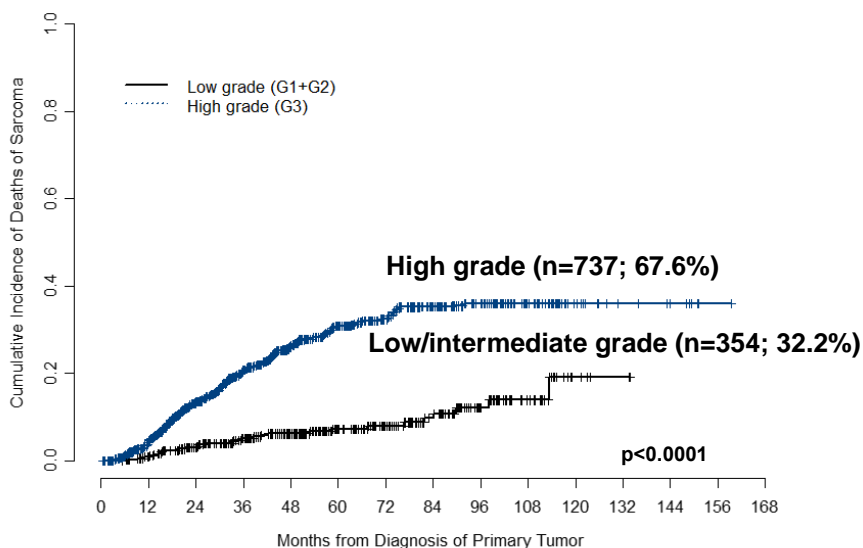


Figura 5. Incidencia acumulada de muerte en función del grado tumoral (MD Anderson Cancer center Series)

1.7.3. Estadio tumoral

Es quizás el factor pronóstico más relevante, puesto que a los 2 anteriores, añade la información de la presencia de metástasis regionales o a distancia (Figura 6).

En el caso del osteosarcoma, el análisis de la población del EURAMOS-1, un estudio en primera línea de osteosarcoma, reportó que la supervivencia libre de eventos a los 3 años era de 65% para los pacientes con enfermedad localizada y del 32% para los pacientes con enfermedad metastásica (peor para aquellos con metástasis extrapulmonares con respecto a los que sólo tenían pulmonares)⁴⁶. Algo similar, ocurre en el pronóstico de los pacientes con sarcoma de Ewing, donde la presencia de enfermedad extrapulmonar conlleva peor pronóstico que la enfermedad metastásica confinada a pulmón.⁴⁷

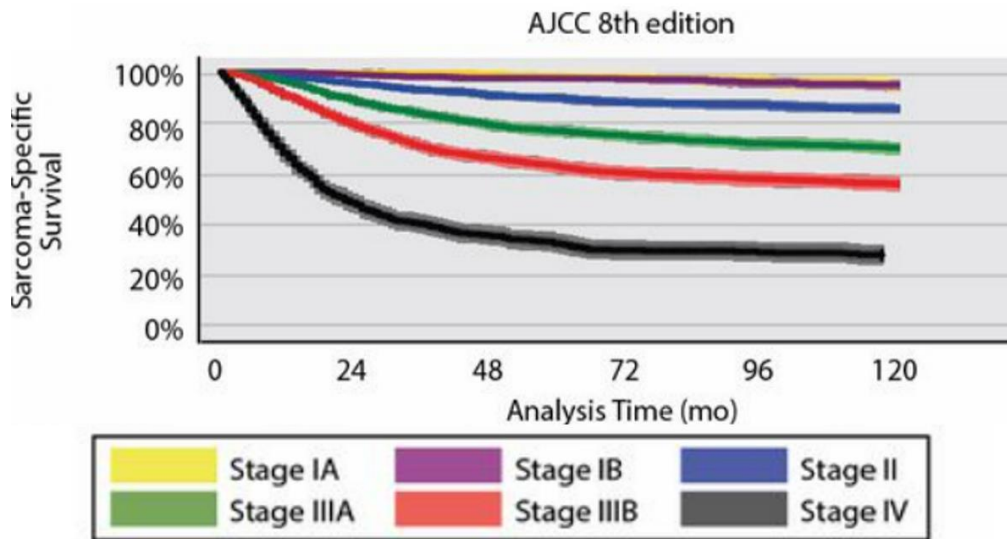


Figura 6. Supervivencia global específica por sarcoma según el estadio tumoral TNM al diagnóstico⁴⁸.

1.7.4. Localización

La localización juega un papel muy importante, teniendo un mejor pronóstico los pacientes con sarcomas de extremidades en comparación con los sarcomas viscerales o retroperitoneales, probablemente relacionado con el tamaño mayor de éstos últimos por un diagnóstico más tardío (falta de síntomas) y una mayor dificultad técnica de la cirugía (Figura 7) ⁴⁵.

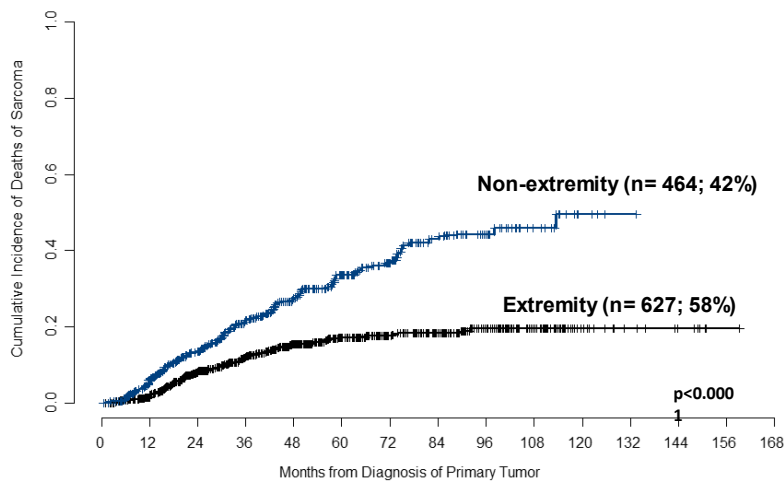


Figura 7. Incidencia acumulada de muerte en función de la localización de tumor primario (MD Anderson Cancer center Series)

En el caso de los sarcomas óseos, como el sarcoma de Ewing o el osteosarcoma, los pacientes con primarios axiales (columna o pelvis) tienen peor pronóstico que los pacientes con primarios en extremidades, probablemente por los mismos motivos.⁴⁷⁻⁴⁸

1.7.5. Subtipo histológico

Algunos subtipos histológicos se han relacionado con un mayor riesgo de recaída local como el fibrosarcoma y otros con una peor supervivencia global como el leiomioma o el tumor maligno de la vaina del nervio periférico.⁴⁹

La importancia del subtipo tumoral está bastante más descrita en los sarcomas de partes blandas de extremidades y pared de tronco, pero también se ha observado en los sarcomas retroperitoneales (figura 8)⁵⁰.

En el caso del osteosarcoma, según los datos del estudio EURAMOS-1, los subtipos telangiectásico y convencional, se asociaron a mejor pronóstico que el subtipo condroblástico⁴⁷. Para los pacientes con rhabdomiosarcoma, el subtipo de mejor pronóstico era el embrionario y el peor el alveolar⁵¹.

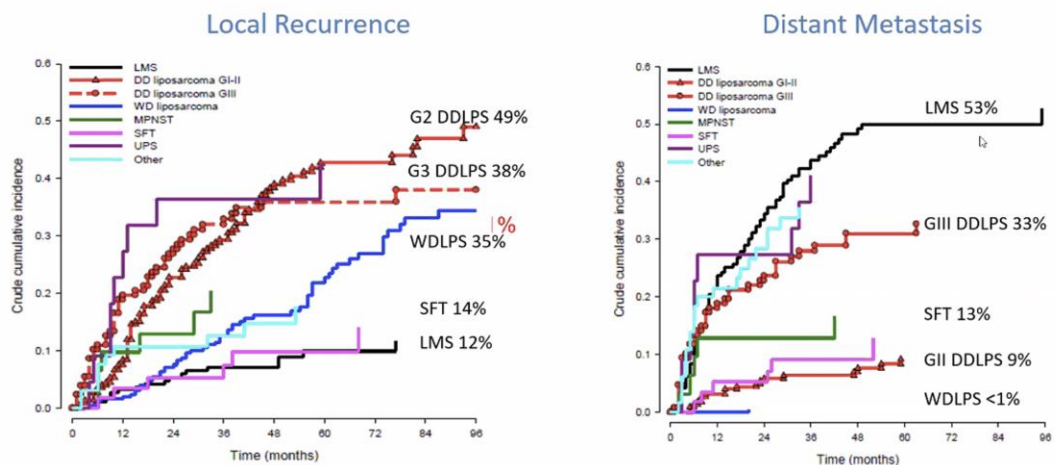


Figura 8. Incidencia acumulada de recidiva local (izquierda) y a distancia (derecha) de los distintos subtipos histológicos encontrados en retroperitoneo. LMS: leiomioma. DDLP: Liposarcoma indiferenciado. WDLPS: Liposarcoma bien diferenciado. SFT: Tumor fibroso solitario.

1.7.6. Márgenes

La afectación de los márgenes, incrementa el riesgo de la recaída local, y en menor medida, de metástasis a distancia y muerte^{52,53}.

1.7.7. Profundidad.

La profundidad, superficial vs profundo (por debajo de la fascia), es de especial importancia en los sarcomas de grado 2, ya que los superficiales asemejan su pronóstico a los de grado 1 mientras que los profundos tienen una supervivencia global más parecida a los de grado 3.

1.7.8. Edad

En todas las series publicadas, los pacientes añosos presentan una mayor tasa de recaída local y de metástasis a distancia en comparación con los pacientes más jóvenes⁵⁴. Por un lado, se tiende a utilizar tratamientos menos agresivos, en ocasiones subóptimos. Por otro, los diagnósticos suelen ser más tardíos, por lo que los tamaños medios son mayores. Por último, algunos de los subtipos más frecuentes a edades avanzadas, como el sarcoma pleomórfico indiferenciado (UPS), leiomiocarcinoma o el liposarcoma dediferenciado, son más agresivos de per se. Asimismo, en los sarcomas llamados del desarrollo, como el sarcoma de Ewing, osteosarcoma o rhabdomiocarcinoma, la edad más mayor (en el caso de rhabdomiocarcinoma > 10 años o >15 años para Ewing)^{55,56}, se considera un factor pronóstico desfavorable.

1.7.9. Factores moleculares predictivos de pronóstico

Con el uso cada vez más generalizado de las técnicas de biología molecular, ha habido importantes avances en el conocimiento de la biología de los sarcomas. Ejemplos de ello podrían ser la sobreexpresión de Myc o VEGFA⁵⁷. Sin embargo, su uso clínico como base para las decisiones clínicas es bastante limitado. Un ejemplo que sí se ha ido incorporando en los sistemas de clasificación de riesgo es la presencia de la fusión FOXO1 en rhabdomiocarcinoma alveolar, ya que, en los pacientes con enfermedad ganglionar, la presencia de la fusión comportaba una supervivencia libre de evento a 5 años

de 43% mientras que para los pacientes fusión negativa, esta es del 74%⁵⁸. Otros índices más complejos como CINSARC⁵⁹ también se han ido incorporando poco a poco en el diseño de estudios, pero no son ampliamente utilizados en la clínica.

1.7.10. Respuesta patológica

La respuesta patológica es una variable no utilizada en tumores de partes blandas, dado que no existe un consenso en relación a como evaluarla y tampoco si realmente se correlaciona con la supervivencia a largo plazo. Pero sí es un factor pronóstico ampliamente utilizado en los sarcomas óseos como el osteosarcoma o el sarcoma de Ewing⁶⁰.

1.7.11 Nomogramas y herramientas de predicción de riesgo

Basándose en algunos de los anteriores factores y partiendo de 2163 pacientes tratados en el memorial Sloan-Kettering cancer center, se confeccionó un nomograma que puede ser útil para predecir la mortalidad específica por sarcoma a los 12 años postcirugía⁶¹. Figura 9.

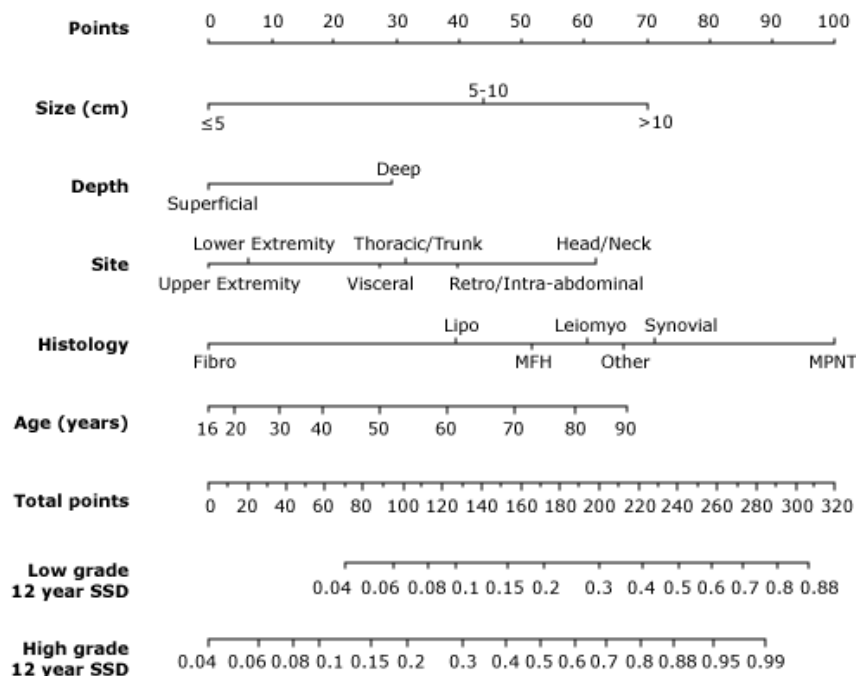


Figura 9. Nomograma MSKCC Mortalidad sarcoma específica a los 12 años para sarcomas de partes blandas.

Posteriormente, se han ido desarrollando otras herramientas útiles a la hora de informar al paciente del cálculo de riesgo y su uso en la toma de decisiones compartidas, muchas de ellas específicas de localización o subtipo tumoral, basadas en web⁶² o en aplicaciones para móvil como SARCULATOR⁶³.

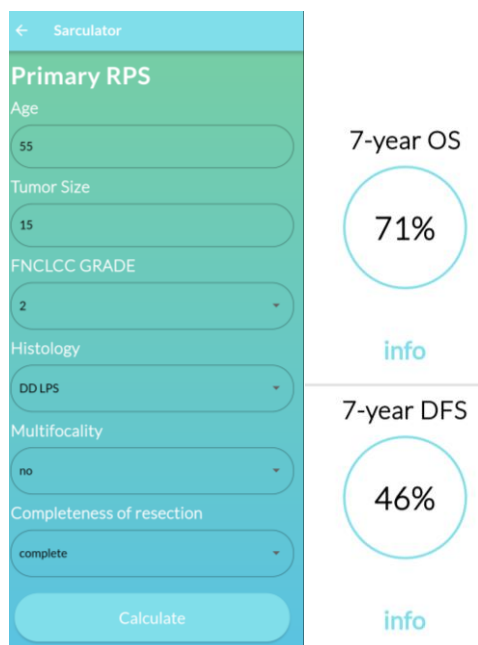


Figura 10. Imagen de SARCULATOR, en el que se refleja la probabilidad de supervivencia libre de enfermedad (DFS) y supervivencia global (OS) a 7 años para un paciente de 55 años con un liposarcoma desdiferenciado grado 2 primario de retroperitoneo de 15 cm, tras una resección completa.

1.8. Tratamiento

1.8.1. Sarcomas de partes blandas

1.8.1.1 Enfermedad Localizada

En general, la cirugía es un componente fundamental del tratamiento de todos los pacientes con enfermedad localizada, ya que prácticamente es el único tratamiento curativo.

La **cirugía** oncológica, conservadora o radical (amputación), se considera un tratamiento adecuado siempre que proporcionen unos márgenes, tanto laterales como profundos, libres de enfermedad microscópica (margen R0)⁶⁴. En el caso de combinarse la cirugía con radioterapia, probablemente los márgenes se puedan reducir a 0.5 cm sin comprometer la tasa de recurrencia local.⁶⁵ Se

han descrito dos factores que condicionan la extensión de la cirugía y los márgenes: el subtipo histológico y la presencia de barreras anatómicas intactas (fascia muscular, adventicia vascular, periostio o perineuro)⁶⁶.

En ocasiones no es posible practicar una cirugía que cumpla estos requisitos en regiones como la zona inguinal o el pie. En el caso de una cirugía no óptima de entrada (por ejemplo, en el caso de una cirugía no planificada) se ha de valorar ampliar dichos márgenes. La aplicación de radioterapia complementaria ha permitido una aproximación más conservadora de la cirugía, reduciendo la tasa de amputación en centros con experiencia al 5%.

En el caso de los sarcomas retroperitoneales, generalmente se requiere una resección multiorgánica agresiva en la que se extrae en bloque el tejido tumoral y los órganos que rodean a la masa tumoral⁶⁷.

En cuanto a la **radioterapia** perioperatoria, se ha demostrado que el tratamiento adyuvante disminuye la tasa de recurrencia local de manera significativa (de un 20-30% a un 0-10%), si bien este beneficio no tiene impacto en la supervivencia global ⁶⁸ . La radioterapia adyuvante tiene más complicaciones tempranas de la herida quirúrgica⁶⁹, pero menos complicaciones tardías y fibrosis tisular⁷⁰. De acuerdo con las guías, la radioterapia está indicada en los sarcomas de alto grado, localización profunda y tamaño superior a 5 cm o en margen positivo no ampliable⁷¹.

En el caso de los sarcomas de retroperitoneo, el estudio STRASS demostró que la radioterapia externa preoperatoria no aportaba beneficio.⁷²

La radioterapia externa exclusiva puede ser una opción en pacientes que no son médicamente operables por su patología concomitante o estado general o en aquellos en los que no es posible un salvamento de extremidad y no aceptan una amputación.

Finalmente, el **tratamiento sistémico** ha de valorarse de manera individualizada. Tras varios estudios randomizados (no siempre con dosis

óptimas)⁷³ y varios metanálisis, su uso sigue siendo controvertido, aunque hay evidencias de su utilidad en el contexto de pacientes de alto riesgo.⁷⁴⁻⁷⁵.

Por tanto, la quimioterapia neoadyuvante es una opción a valorar en comité multidisciplinar y con el paciente, en aquellos afectos de histologías quimiosensibles (como sarcoma pleomórfico indiferenciado, leiomioma, sarcoma sinovial, liposarcoma mixoide de células redondas, tumor maligno de la vaina del nervio periférico, mixofibrosarcoma⁷⁶ o incluso el liposarcoma pleomórfico⁷⁷) de localización en extremidades o pared de tronco y de alto riesgo por criterios clásicos (>5cm, profundo, alto grado) o SARCULATOR (probabilidad de supervivencia global <60% a 10 años). En cambio, los histotipos considerados quimiorresistentes (como el sarcoma alveolar de partes blandas o el sarcoma de células claras) no tienen indicación de tratamiento sistémico neoadyuvante.

En el caso de otras localizaciones, como el retroperitoneo, la evidencia es aún más escasa e insuficiente para considerarlo estándar. Sólo se plantea como recomendación tras discusión multidisciplinar en pacientes con tumores de resecabilidad límite, alto grado e histologías quimiosensibles⁷⁸.

Faltan estudios aleatorizados que hayan evaluado la radioterapia - quimioterapia preoperatoria concomitante. Algunos estudios describen su viabilidad⁷⁹ y una reducción de recidiva local en los casos con cirugía posterior con margen afectado en comparación con la administración exclusiva de quimioterapia neoadyuvante.⁸⁰

1.8.1.2. Enfermedad diseminada

La mayoría de estos pacientes son incurables, pero en algunos casos seleccionados, el tratamiento local de la enfermedad metastásica puede mejorar la supervivencia libre de recaída o ser potencialmente curativa. La selección de pacientes que pueden beneficiarse de estos tratamientos debe ser evaluada en un equipo multidisciplinar.

En casos de intervalos largos entre cirugías y bajo número de metástasis (oligometastásico), se recomienda la resección quirúrgica.⁸¹ El beneficio de la quimioterapia tras la metastasectomía pulmonar no está demostrado y se basa en estudios retrospectivos⁸². En consecuencia, no puede recomendarse de forma rutinaria.

La SBRT (radioterapia estereotáctica) alcanza altas tasas de control en las zonas tratadas ($\geq 80\%$) y es potencialmente tan eficaz como la cirugía en términos de supervivencia global, con un buen perfil de toxicidad⁸³. A falta de ensayos de fase 3, se dispone de datos de ensayos aleatorizados de fase 2 en pacientes con diferentes histologías, incluyendo sarcomas.⁸⁴ El estudio SABR-COMET objetivó una tasa de supervivencia global a 5 años mayor que con la atención estándar (42,3% frente a 17,7%)⁸⁵.

Una vez descartado el tratamiento local de las metástasis, el objetivo del tratamiento sistémico es paliativo, con una mediana de supervivencia de 18-20 meses.

En los pacientes tributarios de **tratamiento sistémico** de primera línea, la doxorrubicina y la ifosfamida son los fármacos más activos y constituyen el tratamiento estándar. La asociación de doxorrubicina e ifosfamida aumentó la tasa de respuesta y la toxicidad, pero no mejoró significativamente la supervivencia en ensayos aleatorios con respecto a doxorrubicin⁸⁶. Sin embargo, el uso de un régimen combinado de ambos fármacos podría justificarse cuando se precisa obtener una respuesta objetiva para mejorar los síntomas o la resecabilidad.

Recientemente se han comunicado los resultados del estudio LMS-04, para pacientes con leiomioma uterino y de partes blandas localmente avanzado o metastático, mostrando la superioridad de un tratamiento de combinación con Trabectedina+ doxorrubicina seguido de mantenimiento con Trabectedina frente a doxorrubicina en monoterapia, en mediana PFS y

supervivencia global. Por lo tanto, ha de ser una opción a discutir con los pacientes tributarios de tratamiento de combinación.⁸⁷

Los pacientes con buen estado general son buenos candidatos para ensayos clínicos y ha de ser la prioridad dadas las pocas terapias aprobadas. A la progresión a primera línea, si no hay disponible uno adecuado a las características del paciente, se debe ofrecer terapia sistémica según su histotipo:

- Trabectedina ha mostrado una tasa de respuesta objetiva modesta pero una mayor tasa de control de la enfermedad, especialmente en liposarcoma (notablemente liposarcoma mixoide, 88%) y leiomiosarcoma.⁸⁸

- Pazopanib constituye una opción adecuada en el sarcoma no adipocítico basado en los resultados positivos en términos de la PFS mediana de un estudio de fase III (PALETTE)⁸⁹ versus placebo.

- Eribulina ha sido aprobada en Europa para liposarcoma después de tratamiento previo, basándose en el beneficio observado en un ensayo aleatorio de fase III en términos de supervivencia global sobre DTIC.⁹⁰

- Gemcitabina y DTIC. La superioridad de la combinación de gemcitabina+DTIC frente a DTIC se ha demostrado en un ensayo clínico de fase II aleatorizado en términos de PFS mediana y supervivencia global, especialmente en el leiomiosarcoma⁹¹.

- Docetaxel en combinación con gemcitabina ha demostrado respuestas interesantes, especialmente en el leiomiosarcoma uterino en ensayos clínicos aleatorizados fase II versus gemcitabina⁹². Los pacientes con leiomiosarcoma y sarcoma pleomórfico indiferenciado parecían obtener el mayor beneficio.

- Como se ha demostrado una relación dosis-respuesta para la ifosfamida, los pacientes que han recibido previamente ifosfamida pueden ser rescatados con altas dosis de ifosfamida (> 10 g / m²), en especial sarcoma sinovial⁹³.

- Paclitaxel semanal⁹⁴ ha demostrado actividad en ensayos clínicos fase II y estudios retrospectivos, con tasas de respuesta en angiosarcoma del 60-80%.
- Temozolamida (análogo oral de DTIC) podría ser una opción en pacientes refractarios a otros tratamientos, especialmente en leiomioma uterino⁹⁵.

Algunos subtipos de sarcomas, generalmente poco frecuentes, tienen características específicas que los hacen más sensibles a determinados tratamientos. Sin pretender ser una lista exhaustiva, se indican algunos ejemplos^{96,97}:

- Dermatofibrosarcoma protuberans (DFSP). En los casos irresecables, ya irradiados, se recomienda Imatinib⁹⁸
- Tumor fibroso solitario maligno. Antiangiogénicos como sunitinib⁹⁹ o la combinación de temozolomida y bevacizumab constituyen opciones activas.
- Sarcoma alveolar de partes blandas. No es sensible a los tratamientos estándar, pero antiangiogénicos como cediranib, sunitinib y bevacizumab han mostrado actividad. En 2023 la FDA (Food and Drug Administration) ha aprobado el tratamiento con atezolizumab (inmunoterapia) en esta población de pacientes, que parece tener un mayor beneficio que otros tipos de sarcoma¹⁰⁰.
- Pcoma. Tiene disregulación de la vía de mTOR mediante mutaciones en los genes TSC1 o TSC2, por lo que el bloqueo con inhibidores de mTOR como everolimus o sirolimus ha mostrado actividad¹⁰¹.
- Tumor miofibroblástico inflamatorio, presenta reordenamientos en ALK (anaplastic lymphoma kinase), por lo que fármacos inhibidores como crizotinib, alectinib y lorlatinib constituyen una opción de tratamiento¹⁰²

- Sarcoma de células claras. Son también tumores bastante quimiorresistentes, pero se ha demostrado actividad de antiangiogénicos como sunitinib¹⁰³, sorafenib o pazopanib.
- Angiosarcoma. Además de la especial sensibilidad por paclitaxel semanal comentada anteriormente, antiangiogénicos como sunitinib o pazopanib han mostrado actividad.
- Sarcoma epiteliode. Tazemetostat ha demostrado eficacia en esta población resistente a tratamientos convencionales, aunque el fármaco aún no ha sido aprobado en Europa¹⁰⁴⁻¹⁰⁵
- Sarcomas con reordenamiento de NTRK. En una reciente actualización de los estudios con inhibidores de NTRK, Entrectinib¹⁰⁶ y Larotrectinib¹⁰⁷, en todo tipo de tumores con reordenamientos de NTRK incluyendo sarcomas, se han reportado tasas de respuesta de 62.4 y 66% respectivamente, con medianas de duración de la respuesta de 29.3 y 43.3 meses para Entrectinib y Larotrectinib. Dichos resultados son bastante superiores a los ofrecidos por la mayoría de los tratamientos sistémicos en sarcomas en el contexto de enfermedad avanzada.

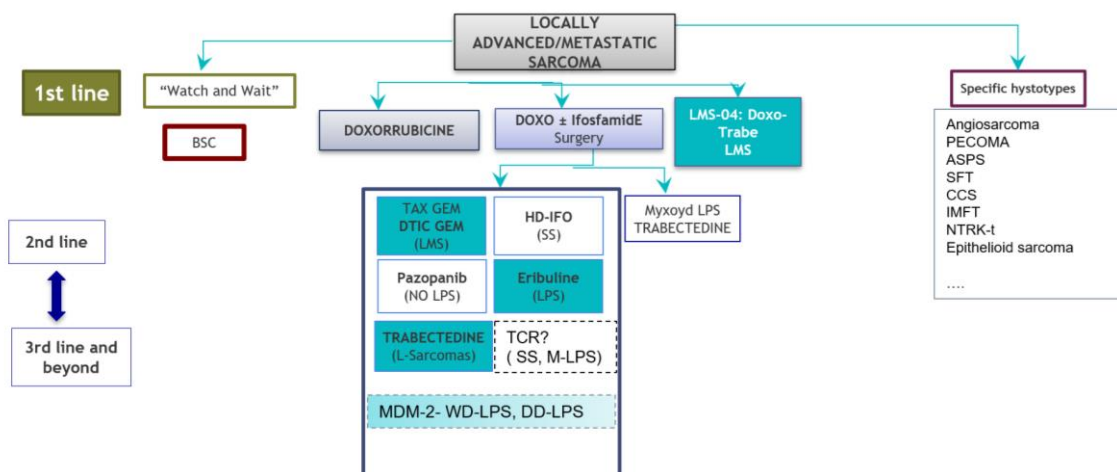


Figura 11. Esquema del manejo sistémico de los sarcomas de partes blandas localmente avanzados o metastásicos

1.8.2. Sarcoma de Ewing

1.8.2.1 Tratamiento al diagnóstico (1ª línea)

La piedra angular del tratamiento de los pacientes con enfermedad localizada y metastática al diagnóstico es el tratamiento multimodal. Generalmente, el protocolo de tratamiento sigue los siguientes pasos:

1. Quimioterapia neoadyuvante. Tras los resultados del estudio EuroEwing 2012 que demostró la superioridad del esquema alternante VAC/IE con dosis densas (Vincristina, Doxorubicina, ciclofosfamida, alternando con Ifosfamida y etopósido cada 2 semanas) vs VIDE, el primero es el esquema de elección.

2. Valoración de respuesta: reestadiaje local con RMN/TAC y sistémico con PET-TAC.

3. Tratamiento local. Aunque nunca se han comparado directamente, los resultados de la cirugía parecen superiores a los de la radioterapia en esta situación¹⁰⁸.

4. Estudio patológico de la pieza quirúrgica: El informe indicar el porcentaje de células viables restantes tras tratamiento (peor pronóstico si > 10%).

5. Tratamiento adyuvante. Se ha de contemplar la radioterapia adyuvante en los tumores con márgenes positivos no ampliables o mala respuesta a la quimioterapia neoadyuvante (>10% células viables). En el caso de los pacientes buenos respondedores, se realiza consolidación con VC/ IE x 5 ciclos. Según los resultados del estudio EuroEwing 99¹⁰⁹, los pacientes con enfermedad localizada de pobre pronóstico (>10% celularidad viable tras quimioterapia neoadyuvante o volumen >200cc) se benefician de recibir tratamiento de consolidación con Melfalán-Busulfán a dosis altas con autotransplante de progenitores hematopoyéticos. En el caso de los pacientes con enfermedad diseminada, el planteamiento es el mismo, pero se ha de añadir la valoración del tratamiento local de las metástasis y no hay indicación de quimioterapia con altas dosis.

1.8.2.2 Tratamiento de segunda línea y sucesivos

El ensayo de fase II/III rEECur es un ensayo europeo internacional que compara los cuatro regímenes más utilizados: dosis altas de ifosfamida,

gemcitabina-docetaxel, irinotecán-temozolamida y topotecán-ciclofosfamida. En el tercer análisis intermedio, ifosfamida -altas dosis quedó como el esquema más efectivo¹¹⁰. Actualmente, ifosfamida-altas dosis y un nuevo brazo con etopósido-carboplatino siguen reclutando pacientes y próximamente se añadirá un brazo extra con ifosfamida-altas dosis+lenvatinib. Varios estudios de prospectivos no comparativos, han mostrado actividad de los inhibidores de la tirosínquinasa, como cabozantinib, regorafenib o pazopanib, pero sólo se encuentran disponibles como uso compasivo¹¹¹⁻¹¹².

1.8.3. Osteosarcoma

1.8.3.1 Tratamiento de primera línea

La piedra angular del tratamiento de los pacientes con enfermedad localizada es el tratamiento multimodal como en Ewing. El régimen MAP (doxorubicina / cisplatino / Metotrexato altas dosis) es utilizado con mayor frecuencia como base del tratamiento en niños y adultos jóvenes (Tabla 10)¹¹³. Sin embargo, las altas dosis de metotrexato pueden resultar difíciles de manejar en adultos > 40 años.

Fármaco	AP			M	M	AP			M	M	C I R R U G I A	AP			M	M	AP			M	M	A		M	M	A		M	M	
Semana	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
Ciclo	1					2						3					4					5					6			

Tabla 10. Esquema MAP (A: doxorubicina / P: cisplatino / M: Metotrexato altas dosis) para osteosarcoma.

El grado de respuesta histológica a la quimioterapia preoperatoria predice la supervivencia¹¹⁴⁻¹¹⁵. La respuesta tumoral a la quimioterapia se define por la presencia de un 10% o menos de tumor viable (Tabla 11)¹¹⁶.

Respuesta	Porcentaje de necrosis tumoral (%)
Completa	100
Buena	99-90
Intermedia	89-60
Pobre	<60

Tabla 11. Evaluación del grado de respuesta a la quimioterapia preoperatoria según el sistema de gradación de Picci

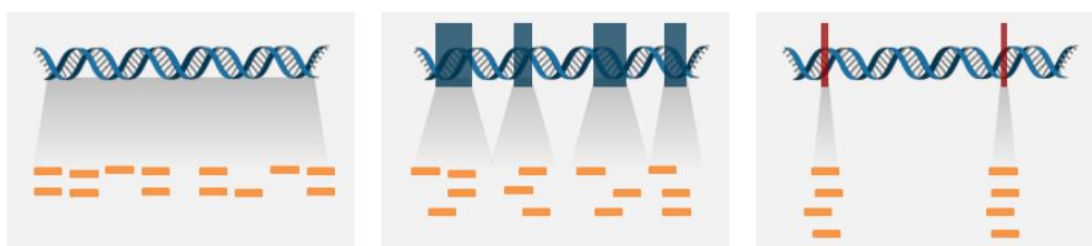
Tras el tratamiento local, se completa el tratamiento sistémico de consolidación. El estudio EURAMOS 1, demostró que la adición de ifosfamida y etopósido al régimen postoperatorio de MAP de los pacientes con pobre respuesta a la quimioterapia preoperatoria (porcentaje de necrosis <90%) no ofrecía beneficio.¹¹⁷ Por otro lado, en un estudio fase III prospectivo y randomizado pero controvertido, se objetivó que la adición de mifamurtide a MAP tras la cirugía mejoraba la supervivencia global a 6 años (78 vs 70%) en pacientes con osteosarcoma localizado de extremidades <30 años¹¹⁸.

1.8.3.2 Segunda línea y sucesivas

Los tratamientos de segunda línea metastásica no están claramente definidos. Incluyen fármacos como la ifosfamida o ciclofosfamida en asociación con etopósido y/o carboplatino; gemcitabina y docetaxel¹¹⁹ o usos compasivos de antiangiogénicos como cabozantinib, sorafenib o regorafenib¹²⁰.

1.9 Medicina de precisión en sarcomas

En la última década se ha desarrollado la medicina de precisión para el diagnóstico y búsqueda de tratamientos en cáncer, empleando perfiles genómicos exhaustivos (CGP: del inglés, Comprehensive Genomic Profile). La capacidad de secuenciación a gran escala y de alto rendimiento de las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS: Next Generation Sequencing) prometía identificar alteraciones genómicas farmacológicamente tratables. En general, la secuenciación dirigida a determinadas regiones, ha sido la más ampliamente utilizada en las plataformas disponibles para uso clínico, mientras que las de secuenciación de genoma o exoma completo se han restringido más a entornos de investigación (Tabla 12).



	Secuenciación genoma completo	Secuenciación exoma completo	Secuenciación dirigida
Región secuenciada	Genoma completo	Exoma completo (región codificante)	Regiones específicas seleccionadas
Profundidad	>30x	>50x-100x	>500x
Ventaja	Cubre todo. Puede identificar cualquier tipo de alteración incluyendo SNPs, INDELS	Puede identificar cualquier tipo de alteración incluyendo SNPs, INDELS en la región codificante	Puede identificar cualquier tipo de alteración incluyendo SNPs, INDELS en la región seleccionada
		Coste efectiva	La más coste-efectiva

Tabla 12. Métodos de secuenciación de DNA: genoma completo vs exoma completo vs secuenciación dirigida. SNPs: Single Nucleotide Polimorphism. INDELS: Insertion-deletion mutations

Sin embargo, aunque distintas técnicas de biología molecular se han utilizado tradicionalmente en el diagnóstico de los sarcomas (ver apartado previo 1.5.3), su posible aplicación en el tratamiento sigue siendo discutible. Así, a pesar de la relativamente alta incidencia de biomarcadores teóricamente accionables en diferentes histotipos de sarcomas identificados en estudios recientes de NGS, el beneficio clínico de estos hallazgos parece bajo.

A día de hoy, la mayoría de la evidencia sobre el uso de NGS en sarcomas proviene de series retrospectivas, generalmente unicéntricas, usando diferentes plataformas y con distintos criterios para definir una alteración como accionable. Por otro lado, en muchas de las publicaciones, se describen de manera detallada las diferentes mutaciones, fusiones y amplificaciones detectadas, pero la información sobre su utilidad clínica (uso de un medicamento basado en los datos de NGS y su eficacia) son muy limitados.

Así, aunque en muchas series se describe un número relativamente alto de alteraciones (al menos una en hasta el 90% de los casos)¹²¹ y una proporción de ellas considerada accionable (31-45%), sólo un pequeño número de pacientes acaba recibiendo tratamiento dirigido a dicha alteración (2.8-9%).

En la tabla 13 se resumen los principales datos de pacientes individuales reportados en la literatura¹²². A destacar, que el subtipo más representado fue

el liposarcoma y que de los 66 pacientes, 5 presentaron respuestas completas o casi completas y otros 8, respuestas parciales. La mediana de supervivencia libre de progresión fue variable, entre 1.4-44.3 meses, la más larga con inmunoterapia (check-point inhibitors- inhibidores del punto de control) en 2 pacientes con angiosarcoma. 17 pacientes experimentaron un control de la enfermedad a largo plazo, definido como respuesta (PR o CR) o enfermedad estable (SD) durante >6 meses.

Fuente	Histología	Alteración génica	Tratamiento	Resultado
Groisberg, 2017 ¹²³	M- LPS	AKT1 E17K	AKT inhibitor	SD , stop por toxicidad
Arnaud-Coffin, 2020 ¹²⁴	LMS	AKT2 ampl.	everolimus	PD, PFS 2.6 m., OS 10.9 m.
Arnaud-Coffin, 2020	UPS	AKT2 del.	everolimus	PD, PFS 1.4 m., OS 4.1 m.
Groisberg, 2017	Sarcoma pleomórfico	ALK fusion	ceritinib	PD tras 4 ciclos
Subbiah et al., 2015 ¹²⁵	IMT	ALK fusion	crizotinib/pazopanib	PR >6 m.
Groisberg, 2017	Spindle cell Sacoma	BRAF fusion	sorafenib/bev/temsirol.	SD por 11 ciclos
Gounder, 2022 ¹²⁶	Sarcoma NOS	BRAF V600E mut.	vemurafenib + trametinib	rapid response
Groisberg, 2017	GLIOSarcoma cerebral	BRAF V600E mut.	vemurafenib	86 % reducción, DOR 16 m.
Jin, 2021 ¹²⁷	CCS	BRAF V600E mut.	vemurafenib	PFS 21 m.
Lucchesi, 2018 ¹²⁸	UPS	BRAF V600E mut.	BRAF inhibitor	PR, PFS 7.1 m.
Saijo et al., 2022 ¹²⁹	sarcoma de cordones sexuales	BRAF V600E mut.	dabrafenib + trametinib	PFS 6.5 m.
Boddu, 2018 ¹³⁰	CCS	BRAF V600M mut.	vemurafenib	PD
Morfouace, 2023 ¹³¹	RMS embrionario	BRCA1, BRCA2 loss	olaparib + trabectedin	PD a 2 m.
Jin, 2021	LPS	CDK4 ampl.	palbociclib	PFS 4 m.

Gusho, 2022 ¹³²	LPS	CDK4, MDM2	palbociclib	PD
Gusho, 2022	LPS	CDK4/MDM2	palbociclib	SD como mejor respuesta
Elvin, 2017 ¹³³	LMS uterino	CDKN2A mut.	palbociclib	PFS 8 m.
Gusho, 2022	Tumor Phyllodes	CDKN2A, CDKN2B	palbociclib	PD
Gusho, 2022	Tumor Phyllodes	CDKN2A, MTAP	palbociclib	SD 5 m
Gusho, 2022	UPS	CDKN2A/B	palbociclib	PD
Gusho, 2022	MPNST	CDKN2A/B	palbociclib	PD
Boddu, 2018	Tumor de células gigantes de partes blandas	CDKN2A/B loss	palbociclib	SD a 2 m.
Boddu, 2018	LMS	CDKN2A/B loss	palbociclib + fulvestrant	PD
Gusho, 2022	UPS	CDKN2A/B, TP53	palbociclib > pazopanib	PD con ambos fármacos
Jin, 2021	Fibrosarcoma	COL1A1/PDGFB fus.	imatinib	PFS 10 m.
Arnaud-Coffin, 2020	MPNST	ERBB2 mut	lapatinib	SD, PFS 1.9 m., OS 3.8 m.
Gounder, 2022	IMT	ETV6-NTRK3 fusion	larotrectinib	CR prolongada
Horak, 2021 ¹³⁴	LMS	FGF2 fusion	pazopanib	PD, PFS 6m.
Boddu, 2018	LMS	FGFR1 amp.	pazopanib	PD
Boddu, 2018	UPS	FGFR1 ampl.	pazopanib	PD
Lucchesi, 2018	RMS	FGFR4 mut.	Inhibidor FGFR	PD
Arnaud-Coffin, 2020	Angiosarcoma	FLT4 ampl.	pazopanib	PR, PFS 3.1 m., OS 10.7 m.
Lucchesi, 2018	DDLPS	FRS2 ampl.	Inhibidor FGFR	SD 5.7 m.
Lucchesi, 2018	DDLPS	FRS2 ampl.	Inhibidor FGFR	SD 6 m.
Brahmi, 2023 ¹³⁵	MPNST	TMB alto	durvalumab + tremelimumab	CR
Gounder, 2022	UPS	TMB alto	pembrolizumab	cuasi CR

Painter et al., 2020 ¹³⁶	Angiosarcoma	TMB alto	PDL1+ CTLA4	PFS 32.9 m.
Painter et al., 2020	Angiosarcoma	TMB alto	PDL1+ CTLA4	PFS 44.3 m.
Boddu, 2018	UPS	IDH1 R132C	IDH1 inhibitor	PD
Eder, 2021 ¹³⁷	EHE	IDH2 mut.	olaparib	SD 11 m.
Lucchesi, 2018	LMS	IGF1R ampl.	Inhibidor mTOR	PR
Boddu, 2018	Sarcoma de Kaposi	TMB intermedio	pembrolizumab	PR
Gounder, 2022	PEComa	TMB intermedio	nivolumab + ipilimumab	CR
Saller et al., 2018 ¹³⁸	Sarcoma de Kaposi	TMB intermedio	pembrolizumab	PFS 10.5 m.
Lucchesi, 2018	DDLPS	KRAS mut.	Inhibidor MAPK	SD 12.6 m.
Jin, 2021	Sarcoma miofibroblástico	MAP2K1 K57N	trametinib	PFS 3 m.
Groisberg, 2017	DDLPS	MDM2 ampl.	Inhibidor MDM2	PR x3 cycles
Groisberg, 2017	WDLPS	MDM2 ampl.	Inhibidor MDM2	SD x8 cycles
Groisberg, 2017	WDLPS	MDM2 ampl.	Inhibidor MDM2	CR (con resecciones)
Groisberg, 2017	WDLPS	MDM2 ampl.	Inhibidor MDM2/MDMX	SD x 2 ciclos, interrumpido por toxicidad
Groisberg, 2017	WDLPS	MDM2 ampl.	Inhibidor MDM2	SD 23 m.
Gusho, 2022	Angiosarcoma	MYC, CUX1	palbociclib	SD, posterior PD
Gusho, 2022	Angiosarcoma	MYC, TP53, GNA11	palbociclib > pazopanib	PD on both drugs
Horak, 2021	LMS	PDGFRA ampl.	pazopanib	PD, PFS 3.8 m.
Lopes-Brás, 2022	LPS	PDGFRA del.	imatinib	PR posterior PD, OS 2 m.
Horak, 2021	Otros	PDGFRA/KIT ampl.	pazopanib	SD, PFS 6m.
Lopes-Brás, 2022 ¹³⁹	RMS NOS	PIK3CA –N345I	everolimus	PR posterior PD, OS 4 m.

Groisberg, 2017	LMS	PTEN Loss	Inhibidor PI3K	PD, éxitus a los 3 días
Horak, 2021	Otros	PTPRB mut.	pazopanib	SD, PFS 5.4 m.
Horak, 2021	LMS	RAD18 & BAP1 del.	olaparib + trabectedin	PFS 3 m.
Lucchesi, 2018	LMS	RICTOR ampl.	Inhibidor mTOR	PD
Groisberg, 2017	DDLPS	ROS1 ampl.	ceritinib	SD 5 m.
Groisberg, 2017	LMS	ROS1 D1538V	pazopanib + crizotinib	SD 6 m.
Groisberg, 2017	LMS	ROS1 D1538V mut.	pazopanib + crizotinib	Exitus antes de evaluación
Boddu, 2018	Angiosarcoma	ROS1 S884F mut.	Inhibidor ALK/ROS/NTRK	PD
Gounder, 2022	Sarcoma NOS	SMARCB1 del.	Tazemetostat	PR prolongada

Tabla 13. Resumen de los principales datos de pacientes individuales reportados en la literatura.

Cedida por Stefania Kokkali (National Kapodistrian University of Athens)

M-LPS: Liposarcoma mixoide, LMS: Leiomiocarcinoma, UPS: Sarcoma pleomórfico indiferenciado, IMT: Tumor miofibroblástico inflamatorio, CCS: Sarcoma de células claras, RMS: Rhabdomyosarcoma, MPNST: Tumor maligno de la vaina del nervio periférico, DD-LPS: Liposarcoma dediferenciado, WD-LPS: Liposarcoma bien diferenciado, EHE: Hemangioendotelio Epitelioide. Amp: Amplificación, mut: mutación, loss: pérdida, del: deleción. PFS: Supervivencia libre de progresión. SD: Enfermedad estable, PR: Respuesta parcial, CR: Respuesta completa, PD: Enfermedad en progresión. m: meses

El hecho de que como hemos visto en apartados anteriores, los sarcomas constituyan un grupo heterogéneo de tumores, con múltiples subtipos con distintas características histológicas, clínicas e historia natural, dificulta la estructuración del conocimiento. Así, la detección de alteraciones moleculares con un efecto desconocido en el histotipo específico del sarcoma es una limitación importante.

Por lo tanto, sigue siendo necesario evaluar la utilidad diagnóstica y en el tratamiento de la información obtenida de la aplicación de NGS en la clínica en los pacientes con sarcomas.

2

Justificación del estudio

Los sarcomas constituyen un grupo poco frecuente y heterogéneo de tumores tanto en localización del tumor primario, rango de edad, histología e historia natural, lo que ha dificultado el avance terapéutico. Así, la supervivencia mediana en los pacientes con enfermedad metastásica se encuentra entre los 18-24 meses. El número de tratamientos disponibles y su actividad son muy limitados, más si nos centramos en cada subtipo histológico. Así, existen histotipos para los que no disponemos de ningún tratamiento aprobado como el cordoma o el sarcoma de células claras y su tratamiento se basa en participación en ensayos clínicos o en usos compasivos.

La reducción de los costes de las diferentes plataformas de NGS, ha facilitado un mayor acceso a las mismas y ha permitido empezar a avanzar también en el conocimiento de los sarcomas. Pero, por otro lado, hace necesaria una valoración de su utilidad real como soporte al diagnóstico, así como su rendimiento como forma de encontrar tratamientos dirigidos y que reporten beneficio clínico a los pacientes con sarcomas.

En general, en la mayoría de las publicaciones disponibles, se describen de manera detallada las diferentes alteraciones halladas, pero la información sobre su utilidad clínica (uso de un medicamento basado en los datos de NGS y su eficacia) son muy limitados. Así, aunque en muchas series se describe un número relativamente alto de alteraciones y una proporción de ellas considerada accionable, sólo un pequeño número de pacientes acaba recibiendo tratamiento dirigido a dicha alteración y un número aún menor obtiene algún beneficio adicional del mismo.

En el presente trabajo hemos recopilado la información patológica, clínica y de NGS desde que las plataformas están disponibles en el Hospital Vall d'Hebrón y el hospital Gregorio Marañón para uso en anatomía patológica y en

el programa de prescreening molecular de VHIO para los pacientes con sarcoma, con el propósito de valorar mejor su utilidad en la práctica clínica en nuestro entorno.

Este conocimiento será importante a la hora de modular las indicaciones, así como las expectativas de los pacientes a los que les ofrece hacer un test de NGS.

3.

Hipótesis de trabajo

- El uso de NGS puede contribuir a mejorar el diagnóstico patológico de los sarcomas de partes blandas, viscerales y óseos, en aquellos casos en los que un patólogo experto no sea capaz de identificar un subtipo histológico concreto y por tanto, puede implicar cambios en el tratamiento aplicado y en el pronóstico del paciente.
- El uso de NGS puede ayudar a encontrar alteraciones moleculares accionables en los pacientes con sarcoma y el uso de tratamientos guiados por dichas alteraciones, puede ayudar a mejorar el pronóstico de estos pacientes.

4.

Objetivos del estudio

Sigue siendo necesario cuantificar la utilidad diagnóstica y en el tratamiento de la información obtenida de la aplicación de NGS en la clínica en los pacientes con sarcomas

4.1. Objetivo principal

Determinar el beneficio diagnóstico y terapéutico derivado del uso clínico de plataformas de NGS en pacientes con sarcoma.

4.2. Objetivos secundarios

1. Determinar la proporción de pacientes con sarcoma en los que los paneles de NGS contribuyen a un cambio en el diagnóstico patológico.
2. Determinar la proporción de pacientes con sarcoma en los que los paneles de NGS identifican alteraciones accionables.
3. Determinar la proporción de pacientes con sarcoma en los que la identificación de alteraciones accionable mediante paneles de NGS conllevan la indicación de un tratamiento dirigido específico.
4. Determinar la supervivencia libre de progresión (PFS) de los pacientes con sarcoma cuando reciben tratamientos dirigidos a alteraciones accionables detectadas por NGS.

5

Material y métodos

5.1. Población de estudio

Los criterios de inclusión/exclusión que han conformado la población de estudio son los siguientes:

- Pacientes diagnosticados de tumor de partes blandas, visceral o tumor óseo con sospecha de malignidad.
- Pacientes a los que en el periodo de 2014 a 2022 se les haya realizado un estudio de NGS con fines diagnósticos o de búsqueda de dianas terapéuticas (prescreening molecular) en el Hospital Universitario Vall d'Hebrón o en el Hospital Gregorio Marañón.
- Disponer de información clínico-patológica y adecuado seguimiento.
- Se excluyen los pacientes con GIST dado que el conocimiento del status mutacional tiene un valor reconocido en este sarcoma y, por tanto, la secuenciación está plenamente integrada en su diagnóstico tratamiento.

5.2. Variables clínicas y anatomopatológicas

- **Información Clínica:**

La información clínica se ha recogido de manera retrospectiva a través de la revisión de la historia clínica del paciente, informes clínicos procedentes de

los Servicios de Oncología Médica, Oncología Radioterapia y Cirugía/Traumatología. Las variables finales que se han recogido son las siguientes:

- Fecha de nacimiento
- Fecha de diagnóstico
- Sexo
- Localización. Subdivisión en: cabeza y cuello, pared de tronco, retroperitoneo/abdomen-pelvis, visceral y extremidades
- Fecha de la realización de NGS
- Estadio en el momento de realización de NGS: localizado vs localmente avanzado/metastásico.
- En el caso de NGS con intención diagnóstica, si ha habido cambio en el diagnóstico final (Sí/No) y nivel de cambio (Ninguno, diagnóstico incluido en el diferencial, cambio a diagnóstico no sospechado).
- Si la NGS ha supuesto cambios en el tratamiento recibido por el paciente (No, cambio en el tratamiento sistémico, cambio en la estrategia global). Se entiende cambio de estrategia global a los cambios en indicación y/u orden de tratamientos locales o sistémicos o necesidad de cambios de equipo tratante por no tratarse de sarcomas o al revés.
- En caso de cambio en el diagnóstico o hallazgo de diana accionable, se han recogido datos del tratamiento dirigido por dichos hallazgos: tipo (cirugía, radioterapia, sistémico), fármaco concreto en caso de tratamiento sistémico, fecha de inicio, fecha de fin.
- Fecha de último contacto y estado (vivo sin enfermedad, vivo con enfermedad, éxitus).

- **Información anatomopatológica**

Se ha recogido retrospectivamente la información anatomopatológica procedente de los informes emitidos por el Servicio de Anatomía Patológica. Las variables finales que se han recogido son las siguientes:

- Subtipo histológico inicial de sospecha según la clasificación de la OMS¹

- Subtipo histológico final (tras recibir los resultados de NGS) según la clasificación de la OMS

- **Información molecular.**

Se ha recogido retrospectivamente la información molecular procedente de los informes emitidos por el programa de prescreening de VHIO:

- Tipo de plataforma empleada
- Tejido empleado para el análisis (primario, metástasis)
- Información NGS relevante: mutación/traslocación que define un diagnóstico o alteración potencialmente accionable.

Definición de accionabilidad:

- Potencialmente accionable. Hay evidencia clínica en otros tumores de que el tratamiento con un fármaco dirigido a dicha alteración molecular deriva en un beneficio clínico (respuesta objetiva, prolongación de la supervivencia libre de progresión o supervivencia global esperadas para la situación clínica del paciente). ESCAT III-IV¹⁴⁰
- Accionable: Hay evidencia clínica en el subtipo específico (retrospectiva/prospectiva) de que el tratamiento con un fármaco dirigido a dicha alteración molecular deriva en un beneficio clínico (respuesta objetiva, prolongación de la supervivencia libre de progresión o supervivencia global esperadas para la situación clínica del paciente). ESCAT I-II.

5.3. Estudio de las variables biológicas.

El uso de tejido humano en el presente estudio fue aprobado por el comité ético del hospital. El material se obtuvo a partir de muestras fijadas en formalina e incluidas en parafina procedentes de biopsias y exéresis quirúrgicas de tumores de partes blandas y óseos, procedentes de los archivos del Servicio de

Anatomía Patológica del Hospital Universitario Vall d'Hebrón y del Hospital Gregorio Marañón (ambos CSUR sarcomas con patólogos expertos en dicha patología). Se seleccionó un bloque de parafina representativo de cada caso para realizar la secuenciación, previa evaluación de una sección teñida con hematoxilina y eosina.

5.3.1. Plataformas de NGS empleadas

Todas las plataformas utilizadas son plataformas de secuenciación dirigida.

La plataforma de NGS utilizada en anatomía patológica para el diagnóstico ha sido **Archer™ FusionPlex™** (Tabla 14).

Se realizó una preparación multiplex basada en ARNm, utilizando 100-250 ng de ARN de tejido parafinado. Se empleó el kit universal de detección de fusiones de ARN para Illumina (ArcherDX, Boulder, CO) y el panel CTL Archer™ FusionPlex™ que utiliza PCR multiplex anclada. Los datos de la secuencia en bruto se analizan utilizando la versión 3.3 de la línea de análisis Archer suministrada por el proveedor. Además de los umbrales por defecto, se establece un mínimo de cinco lecturas con tres o más sitios de inicio de secuenciación únicos para cruzar los puntos de rotura como requisito de corte para declarar fusiones.

Exon junctions:			Gene expression:		
ALK-AT1	FGFR2 E2-WDR11 E20	KIF5B E22-RET E12	ALDH	FGF19	NOTCH1
EML4 E13-ALK E20	RANBP17 E28-FGFR3 E14	NCOA4 E8-RET E12	ALK	FGF3	NOTCH2
EML4 E20-ALK E20	FGFR3 E17 intron-TACC3 E4	PRKAR1A E7-RET E12	ASCL2	FGF4	NOTCH3
EML4 E6-ALK E20	FGFR3 E17-AES E2	SLC34A2 E4-ROS1 E32	CCL2	FGFR1	NOTCH4
AKAP9 E8-BRAF E9	FGFR3 E17-BAIAP2L1 E2	CD74 E6-ROS1 E34	CCL22	FGFR2	NRARP
KIAA1549 E14-BRAF E9	FGFR3 E17-ELAVL3 E2	EZR E10-ROS1 E34	CCND1	FGFR3	NTRK1
KIAA1549 E15-BRAF E11	FGFR3 E17-LETM1 intron10	EIF3E E1-RSPO2_E1	CCND3	FGFR4	NTRK2
KIAA1549 E15-BRAF E9	FGFR3 E17-TACC3 E10	EIF3E E1-RSPO2_E2	CD163	FOSL2	NTRK3
ERLIN2 E10-FGFR1 E4	FGFR3 E17-TACC3 E11	EIF3E E5-RSPO2 E2	CD24	HES1	NUMB
BAG4 E2-FGFR1 E6	FGFR3 E17-TACC3 E4	EIF3E E5-RSPO2_E1	CD274	HES4	OLFM4
FGFR1 E17-TACC1 E7	FGFR3 E17-TACC3 E8	PTPRK E13-RSPO3 E2	CD44	HES5	OSM
SLC45A3 E1-FGFR2 E2	SEC16A_E1-NOTCH1_E27	PTPRK E1-RSPO3 E2	CEBPB	HEY2	PDGFRA
CD44 E1-FGFR2 E3	SEC16A_E1-NOTCH1_E28	PTPRK E2-RSPO3 E2	CLCF1	HEYL	PLAU
FGFR2 E16-KIAA1598 E7	SEC22B_E1-NOTCH2_E27	PTPRK E6-RSPO3 E2	CNTF	HLA-G	PSEN1
FGFR2 E16-TACC3 E11	LMNA E10- NTRK1 E12	PTPRK E7-RSPO3 E2	CSF1	IFNg	PSEN2
FGFR2 E17-AFF3 E8	LMNA E10- NTRK1 E13	NAV2_E1-TCF7L1_E4	CTF1	IL11	PTCRA
FGFR2 E17-AHCYL1 E2	LMNA E2- NTRK1 E10	VTI1A_E2-TCF7L2_E4	CXCL10	IL27	RET
FGFR2 E17-ATE1 E12	TPM3 E7-NTRK1 E10	VTI1A_E4-TCF7L2_E4	CXCL11	IL6	RSPO1
FGFR2 E17-BICC1 E3	TPR E21-NTRK1 E10	VTI1A_E2-TCF7L2_E6	CXCL9	IL7R	RSPO2
FGFR2 E17-CASP7 E4	LMNA E2- NTRK1 E11	VTI1A_E3-TCF7L2_E6	DLL1	IRS2	RSPO3
FGFR2 E17-CCDC147 E2	ETV6 E4-NTRK3 E14	VTI1A_E4-TCF7L2_E6	DLL3	JAG1	RSPO4
FGFR2 E17-CIT E23	ETV6 E5-NTRK3 E15		DLL4	JAG2	RUNX1
FGFR2 E17-FAM76A E2	BRD4e11-NUTM1e2		DTX1	LGR5	SOCS3
FGFR2 E17-GAB2 E2	PAX8 E10-PPARG E2		EBI3	LIF	TGFb1
FGFR2 E17-KIAA1967 E5	PAX8 E8-PPARG E2		EGFR	MET	TGFb2
FGFR2 E17-MCU E2	PAX8 E9-PPARG E2		ERBB2	MRC1	TGFb3
FGFR2 E17-NOL4 E7	CCDC6 E1-RET E12		ERBB3	MYC	TncRNA
FGFR2 E17-OFD1 E3	KIF5B E15-RET E12		ERBB4	NAMPT	
FGFR2 E17-VCL E15	KIF5B E16-RET E12		ESR1	NFKBIZ	
Exon skipping:					
MET E13-E15	EGFR VIII (E1-E8)				

Tabla 14. Panel Archer™ FusionPlex™

Las plataformas con intención de búsqueda de alteraciones accionables empleadas han sido Amplicon y Panel VHIO 300.

Todos los bloques tumorales en parafina (FFPE) fueron revisados inicialmente por un patólogo para determinar la celularidad tumoral y garantizar >20% de celularidad tumoral. En caso de no llegar a este límite, se efectúa macrodissección siempre que sea posible.

Panel Amplicon. Durante este periodo estuvieron vigentes 3 versiones sucesivas (Tabla 15).

Amplicon v01 (57 genes). Desde Septiembre /2014- Marzo/ 2015

ABL1	FGFR1	KIT	PIK3R1
AKT1	FGFR2	KRAS	PIK3R5
AKT2	FGFR3	MAG	PTEN
AKT3	FGFR4	MAP2K1	RB1
APC	FLT3	MET	RET
BRAF	GATA1	MLH1	RUNX1
CDH1	GNA11	MPL	SMAD4
CDKN2A	GNAQ	MSH6	SMARCB1
CSF1R	GNAS	MYC	SRC
CTNNB1	GSK3B	NF2	STK11
EGFR	HRAS	NOTCH1	TP53
ERBB2	IDH1	NOTCH4	VHL
ERBB3	IDH2	NRAS	
ESR1	JAK1	PDGFRA	
FBXW7	JAK3	PIK3CA	

Amplicon v02 y v03 (59 genes). Desde Abril/2015-Mayo/2018

ABL1	ERBB3	IDH1	NF2	SMAD4
AKT1	ESR1	IDH2	NOTCH1	SMARCB1
AKT2	FBXW7	JAK1	NOTCH4	SRC
AKT3	FGFR1	JAK3	NRAS	STK11
ALK	FGFR2	KIT	PDGFRA	TP53
APC	FGFR3	KRAS	PIK3CA	VHL
BRAF	FGFR4	MAG	PIK3R1	ZNRF3
CDH1	FLT3	MAP2K1	PIK3R5	
CDKN2A	GATA1	MET	PTEN	
CSF1R	GNA11	MLH1	RB1	
CTNNB1	GNAQ	MPL	RET	
EGFR	GNAS	MSH6	RNF43	
ERBB2	HRAS	MYC	RUNX1	

* **RNF43 y ZNRF3** Nuevos respecto Amplicon v1

Panel General (básico) Hiplex v3 (56 genes) + tumor específico. De junio/2018-2021

ABL1	EGFR	GNAQ	MET	PIK3R1	VHL
AKT1	ERBB2	GNAS	MLH1	PIK3R5	MTOR
AKT2	ERBB3	HRAS	MPL	PTEN	TSC1

AKT3	ESR1	IDH1	MSH6	RB1	TSC2
ALK	FBXW7	IDH2	MYC	RET	NOTCH 2
APC	FGFR1	JAK1	NF2	RUNX1	NOTCH 3
BRAF	FGFR2	JAK3	NOTCH1	SMAD4	RNF43
CDH1	FGFR3	KIT	NOTCH4	SMARCB1	ZNFR3
CDKN2A	FLT3	KRAS	NRAS	SRC	
CSF1R	GATA1	MAG	PDGFRA	STK11	
CTNNB1	GNA11	MAP2K1	PIK3CA	TP53	
MTOR- NOTCH 2/3 -RING FINGERS: Específico para GIST					

Tabla 15. Genes incluidos en panel Amplicon en sus diferentes versiones (V1-V3)

Panel VHIO 300 se utilizó desde 2019 hasta la actualidad (Tabla 16). Se obtuvo ADN de la muestra de tumor-parafinada (Maxwell® 16 FFPE Tissue LEV DNA Purification KitPromega) y se realizó un enfoque de captura de genes personalizado (sondas de enriquecimiento: SureSelect XT, Agilent). La biblioteca resultante se secuenció mediante la tecnología Illumina. Las lecturas de secuenciación se alinearon (BWA v0.7.17, Samtools v1.9) con el genoma de referencia hg19, se recalibraron las bases, se realinearon las indel (GATK v3.7.0) y se identificaron las variantes (VarScan2 v2.4.3).

Para identificar una mutación se necesitaron como mínimo 7 lecturas que apoyaran el alelo variante. La sensibilidad de la técnica es del 5% MAF (minor allele frequency) para SNV (variaciones de un nucleótido) y del 10% MAF para INDEL (inserciones-delecciones). Los polimorfismos de nucleótido único (SNPs) en la población se filtraron a partir de la base de datos gnomAD (frecuencia alélica 0,0001) y se calcularon las alteraciones del número de copias (CNVkit v0.9.6.dev0).

Los datos se curaron manualmente y la clasificación de las variantes identificadas se realizó utilizando bases de datos públicas (COSMIC, cBioPortal, ClinVar, VarSome, OncoKB).

La carga mutacional tumoral (TMB) se calculó como el número de variantes no sinónimas detectadas y validadas por megabase en la muestra.

ABL1	BTK	DNMT3A	FGF6	IGF1R	MAP3K13	NTRK3	PTEN	SHQ1	VEGFA
ABL2	C11ORF30	DNMT3B	FGFR1	IGF2	MAP3K5	NUP93	PTPN11	SLIT2	VHL
ACVR1B	CARD11	DOT1L	FGFR2	IKBKE	MAPK1	PAK1	PTPRD	SMAD2	VTCN1
AKAP9	CASP8	E2F3	FGFR3	IKZF1	MAPK7	PAK3	PTPRS	SMAD3	WISP3
AKT1	CBFB	EED	FGFR4	IL10	MAX	PAK7	PTPRT	SMAD4	WT1
AKT2	CBL	EGFL7	FH	IL7R	MCL1	PALB2	OKI	SMARCA4	XIAP
AKT3	CCND1	EGFR	FLCN	INHBA	MDC1	PARK2	RAC1	SMARCB1	XPO1
ALK	CCND2	EIF1AX	FLT1	INPP4A	MDM2	PARP1	RAD50	SMARCD1	YAP1
ALOX12B	CCND3	EP300	FLT3	INPP4B	MDM4	PAX5	RAD51	SMO	YES1
AMER1	CCNE1	EPCAM	FLT4	INSR	MED12	PBRM1	RAD51B	SNCAIP	ZBTB2
APC	CD274	EPHA3	FOXA1	IRAK4	MEF2B	PDCD1	RAD51C	SOCS1	ZNF217
AR	CD276	EPHA5	FOXL2	IRF2	MEN1	PDCD1LG2	RAD51D	SOX10	ZNF703
ARAF	CD79A	EPHA7	FOXP1	IRF4	MET	PDGFRA	RAD52	SOX17	
ARFRP1	CD79B	EPHB1	FRS2	IRS1	MITF	PDGFRB	RAD54L	SOX2	
ARID1A	CD73	ERBB2	FUBP1	IRS2	MLH1	PKD1	RAF1	SOX9	
ARID1B	CDH1	ERBB3	GABRA6	JAK1	MLH3	PDPK1	RANBP2	SPEN	
ARID2	CDK12	ERBB4	GATA1	JAK2	MPL	PHOX2B	RARA	SPOP	
ARID5B	CDK4	ERCC2	GATA2	JAK3	MRE11A	PIK3C2B	RASA1	SPTA1	
ASXL1	CDK6	ERCC3	GATA3	JUN	MSH2	PIK3C2G	RB1	SRC	
ASXL2	CDK8	ERCC4	GATA4	KAT6A	MSH3	PIK3C3	RBM10	STAG2	
ATM	CDKN1A	ERCC5	GATA6	KDM5A	MSH6	PIK3CA	RECQL4	STAT3	
ATR	CDKN1B	ERG	GID4	KDM5C	MTOR	PIK3CB	REL	STAT4	
ATRX	CDKN2A	ERRF1	GLI1	KDM6A	MUTYH	PIK3CD	RET	STK11	
AURKA	CDKN2B	ESR1	GNA11	KDR	MYC	PIK3CG	RFWD2	STK40	
AURKB	CDKN2C	ETV1	GNA13	KEAP1	MYCL	PIK3R1	RHEB	SUFU	
AXIN1	CEBPA	ETV6	GNAQ	KEL	MYCL1	PIK3R2	RHOA	SUZ12	
AXIN2	CHD2	EXOSC10	GNAS	KIT	MYCN	PIK3R3	RICTOR	SYK	
AXL	CHD4	EZH2	GPR124	KLF4	MYD88	PIM1	RIT1	TAF1	
B2M	CHEK1	FAM175A	GREM1	KLHL6	MYH9	PLCG2	RNF43	TBX3	
BAP1	CHEK2	FAM46C	GRIN2A	KMT2A	MYOD1	PLK2	RNPC3	TERT	
BARD1	CIC	FANCA	GRM3	KMT2C	NBN	PMAIP1	ROS1	TET1	
BBC3	CREBBP	FANCC	GSK3B	KMT2D	NCOR1	PMS1	RPS6KA4	TET2	
BCL2	CRKL	FANCD2	H3F3A	KRAS	NF1	PMS2	RPS6KB2	TGFBR1	
BCL2L1	CRLF2	FANCE	H3F3C	LATS1	NF2	PNRC1	RPTOR	TGFBR2	
BCL2L11	CSF1R	FANCF	HGF	LATS2	NFE2L2	POLD1	RSPO2	TMEM127	
BCL2L2	CTCF	FANCG	HIST1H1C	LIFR	NFKBIA	POLE	RUNX1	TMPPRSS2	
BCL6	CTLA4	FANCL	HIST1H2BD	LMO1	NKX2-1	POLR3A	RUNX1T1	TNFAIP3	
BCOR	CTNNA1	FANCM	HIST1H3B	LRP1B	NKX3-1	POLR3B	RYBP	TNFRSF14	
BCORL1	CTNNB1	FAS	HNF1A	LYN	NOTCH1	PPP2R1A	SDHA	TOP1	
BLM	CUL3	FAT1	HRAS	LZTR1	NOTCH2	PPP2R2A	SDHAF2	TOP2A	
BMPR1A	CYLD	FBXW7	HSD3B1	MAD2L2	NOTCH3	PRDM1	SDHB	TP53	
BRAF	DAXX	FGF10	HSP90AA1	MAGI2	NOTCH4	PREX2	SDHC	TP63	
BRCA1	DCUN1D1	FGF14	ICOSLG	MALT1	NPM1	PRKAR1A	SDHD	TRAF7	
BRCA2	DDR2	FGF19	IDH1	MAP2K1	NRAS	PRKCI	SETD2	TSC1	
BRD4	DICER1	FGF23	IDH2	MAP2K2	NSD1	PRKDC	SF3B1	TSC2	
BRIP1	DIS3	FGF3	IFNGR1	MAP2K4	NTRK1	PRSS8	SH2D1A	TSHR	
BTG1	DNMT1	FGF4	IGF1	MAP3K1	NTRK2	PTCH1	SHH	U2AF1	

Tabla 16. Genes incluidos en panel VHIO 300.

5.4. Análisis estadístico

Se ha efectuado el estudio descriptivo de las variables demográficas y de las características clínico-patológicas en: 1) toda la población del estudio, 2) cohorte con NGS con fines diagnósticos y 3) cohorte con NGS con fines de búsqueda de dianas terapéuticas.

Se ha definido la supervivencia libre de progresión (PFS) como la diferencia entre las fechas de inicio del tratamiento dirigido y la fecha de la

progresión. La supervivencia global (OS) se ha definido como la diferencia entre las fechas de inicio tratamiento dirigido y de muerte.

Las variables numéricas serán presentadas en tablas, usando los siguientes estadísticos descriptivos: número de pacientes (n), mediana y rango. Las variables categóricas serán presentadas en tablas usando las frecuencias de cada uno de sus niveles y los porcentajes que representan respecto a la población del estudio utilizada. Las variables de tiempo hasta evento se presentarán usando el número de pacientes a riesgo y pacientes censurados en cada punto del tiempo, las curvas de Kaplan-Meier asociadas, así como también la mediana de supervivencia y los percentiles 25 y 75. Sólo se presentarán p-valores para los análisis de Kaplan Meier.

6

Resultados

6.1. Población de estudio

6.1.1. Selección de casos

Se seleccionaron pacientes diagnosticados de tumor de partes blandas o tumor óseo con alta sospecha de malignidad a los que en el periodo de 2014 a 2022 se les hubiera realizado un estudio de NGS con fines diagnósticos o de búsqueda de dianas terapéuticas (prescreening molecular) en Hospital Universitario Vall d'Hebrón/ Vall Hebrón Instituto de Oncología (VHIO) o entre 2021-2022 en el Hospital Gregorio Marañón.

Los pacientes con NGS realizada con fines diagnósticos, se obtuvieron de las bases de datos de los Servicios de Anatomía Patológica del Hospital Vall d'Hebron (213 muestras) y del Hospital Gregorio Marañón (80 muestras).

Los pacientes con NGS realizada como prescreening molecular se obtuvieron de la base de datos de prescreening del VHIO (170 muestras, correspondientes a 165 pacientes)

Del total de 463 pacientes testados, sólo se pudo conseguir información clínica suficiente de 358 casos (casos externos o consulta únicamente para realización de test, sin seguimiento posterior). En el caso de los pacientes a los que se les realizó NGS de prescreening pero no tenían información clínica

suficiente, sólo se informará en los apartados posteriores del tipo de alteraciones encontradas, pero no de su utilidad.

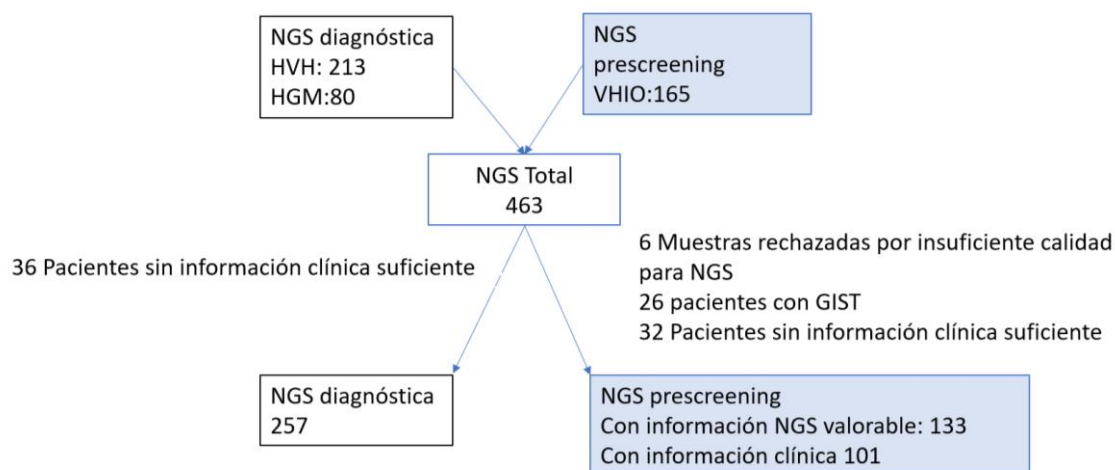


Figura 12. Proceso de selección de los pacientes objeto de estudio

6.1.2. Características clínico-patológicas

La edad mediana en el momento de la realización de la NGS de los pacientes de la muestra fue de 47 años (rango de 0 a 81 años).

En la tabla 17, se puede observar la distribución por sexo, localización del tumor primario y extensión de la enfermedad en el momento de realizar la NGS (localizado vs avanzado/metastásico).

Los diagnósticos patológicos más frecuentes en los pacientes en los que se realizó NGS diagnóstica fueron: sarcoma indiferenciado/sarcoma Nos (26%), Sarcoma de células redondas (14%), Liposarcoma (12%), rabdiosarcoma (5%), Hemangioendotelioma/angiosarcoma (3%), sarcoma del estroma endometrial/sarcoma uterino alto grado (6%).

Los diagnósticos patológicos más frecuentes en los pacientes en los que se realizó NGS como prescreening molecular fueron: liposarcoma (19%),

condrosarcoma (19%), leiomiomasarcoma (15%), osteosarcoma (15%), angiosarcoma (7%).

Población		Todos N=358	NGS diagnóstica N= 257	NGS preescreening N= 101
Sexo	Masculino	182 (50.8%)	135 (52.5%)	47 (46.1%)
	Femenino	176 (49.2%)	122 (47.5%)	54 (53.9%)
	Partes blandas/visceral	325 (90.7%)	238 (92.6%)	87 (86%)
	Óseo	33 (9.2%)	19 (7.4%)	14 (13.8%)
Localización	Cabeza y cuello	39 (10.8%)	34 (13.2%)	5 (4.9%)
	Extremidad superior	35 (9.7%)	27 (10.5%)	8 (7.9%)
	Extremidad inferior	81 (22.6%)	53 (20.6%)	28 (27.7%)
	Pared de tronco	57 (15.9%)	37 (14.4%)	20 (19.8%)
	Retroperitoneo/pelvis	87 (24.3%)	60 (23.3%)	27 (26.7%)
	Visceral	59 (16.4%)	46 (17.9%)	13 (12.8%)
Extensión en el momento de realización NGS	Localizado	219 (61.17%)	189 (73.5%)	30(29.7%)
	Avanzado/metastásico	139 (38.8%)	68 (26.4%)	71 (70.3%)
Muestra NGS	Primario	301 (84%)	238 (92.6%)	63 (62.3%)
	Metástasis	50 (13.9%)	19 (7.4%)	31 (30.7%)
	Desconocido	7 (1.9%)		7 (6.9%)

Tabla 17. Descripción para las variables categóricas clínico-patológicas de todos los pacientes del estudio, de los pacientes con NGS diagnóstica y aquellos con NGS de prescreening molecular.

6.2. Resultado y utilidad clínica de la NGS realizada con fines diagnósticos

6.2.1. Resultados de la NGS realizada con fines diagnósticos.

De los 257 pacientes en los que se realizó NGS diagnóstica, en 96 (37%) se objetivó alguna alteración molecular.

Reordenamiento	N= 96
NAB2 - STAT6	11 (11.4%)
EWSR1-	25 (26%)
CIC-DUX4	2 (2.1%)
BCOR-CCNB3	2 (2.1%)
PAX3-FOXO1	4 (4.1%)
CREB1 -NCOA2	2(2.1%)
ASPSCR1- TFE3	2 (2.1%)
COL1A1-PDGFB	4 (4.1%)
SSX18-SSX1/2	8 (8.3%)

Tabla 18. Alteraciones más frecuentes encontradas en la NGS con fines diagnósticos.

6.2.2. Utilidad clínica de la NGS realizada con fines diagnósticos

De los 257 pacientes en los que se realizó NGS diagnóstica, en 25 (9.7%) supuso un cambio con respecto al diagnóstico inicial.

De ellos, en 16 (64%) contribuyó a confirmar un diagnóstico de los que se habían incluido en el diagnóstico diferencial inicial y en 9 (36%) el diagnóstico final no fue sospechado al inicio.

De los 25 pacientes en los que la NGS supuso un cambio diagnóstico, en 6 (24%) este cambio no tuvo ningún impacto en el tratamiento recibido, en 10 (40%) supuso un cambio en el tratamiento sistémico recomendado y en 9 (36%) implicó un cambio en la estrategia global de tratamiento (Tabla 19).

Diagnóstico inicial	NGS	Diagnóstico final	Estadio	Cambio en tratamiento
Sarcoma indiferenciado	Amplificación CDK4 y MDM2	Liposarcoma desdiferenciado	Localizado	Cambio en tratamiento sistémico
GIST	Amplificación CDK4 y MDM2	Liposarcoma desdiferenciado	Metastásico	Cambio en estrategia global
sarcoma indiferenciado de células redondas	EWSR1-WT1	Tumor desmoplásico de células redondas	Localizado	No cambio en tratamiento, pero sí pronóstico
Carcinoma sarcomatoide	EWSR1-TFCP2 y LOC101929418-ALK	Rabdomiosarcoma fusocelular y epitelioide con fusión	Metastásico	Cambio en estrategia global
GIST	EWSR1-ERG	Sarcoma de Ewing	Metastásico	Cambio en estrategia global
Fibrohistiocitoma angiomatoide /miofibroma	Ausencia reordenamiento EWS	Miofibroma	Localizado	No cambio en tratamiento, pero sí pronóstico
Condrosarcoma mixoide extraesquelético vs carcinoma mioepitelial	EWSR1-BEND2	Carcinoma mioepitelial	Localizado	Cambio en tratamiento sistémico
Condrosarcoma mixoide extraesquelético vs carcinoma mioepitelial	TAF15- NR4A3	Condrosarcoma mixoide extraesquelético	metastásico	Cambio en tratamiento sistémico
Condrosarcoma mixoide extraesquelético vs carcinoma mioepitelial	YWHAЕ-NR4A3	Condrosarcoma mixoide extraesquelético	metastásico	Cambio en tratamiento sistémico
Condrosarcoma mixoide extraesquelético vs carcinoma mioepitelial	EWSR1-POU5F1	Carcinoma mioepitelial	localizado	Cambio en tratamiento sistémico
Carcinoma mioepitelial vs sarcoma epitelioide central	Ausencia de reordenamiento	Sarcoma epitelioide central	Metastásico	Cambio en tratamiento sistémico
Tumor fibroblástico con reordenamiento EWR1-SMAD3 vs fibrohistiocitoma	No reordenamiento	Histiocitoma fibroso benigno celular	Localizado	No cambio en tratamiento, pero sí pronóstico
Sarcoma de células claras vs melanoma	EWS no reordenado, mutación exon 3 NRAS	Melanoma maligno fusocelular	Metastásico	Cambio en estrategia global

Sarcoma óseo de bajo grado	HMGA-FGD4	Fibroma desmoplásico óseo	Localizado	No cambio en tratamiento, pero sí pronóstico
Hemangioendotelioma Kaposiforme vs hemangioma	Ausencia de reordenamiento	Hemangioma congénito	Localizado	Cambio en estrategia global
Hemangioendotelioma epitelioides vs angiosarcoma	Ausencia de reordenamiento	Angiosarcoma epitelioides	Localizado	Cambio tratamiento sistémico
Sarcoma vs carcinoma de célula redonda pequeña	Ausencia de reordenamientos EWSR1, CIC, ni mutaciones kit, PDGFR ni amplificación MDM2	Carcinoma de alto grado con diferenciación neuroendocrina	Metastásico	Cambio en estrategia global
Sarcoma indiferenciado	COL11-PDGFB	Sarcoma uterino con reordenamiento de COL11-PDGFB	Localizado	No cambio en tratamiento
Sospecha de sarcoma Ewing	BCOR-CCNB3	Sarcoma indiferenciado de célula pequeña BCOR positivo	Localizado	No cambio en tratamiento
Sarcoma de Ewing	EWSR1-ATF1	Sarcoma de células claras	Metastásico	Cambio en estrategia global
Sarcoma fusocelular con estroma mixoide, no clasificable	ZFX-PLAG1	Carcinoma mioepitelial	Metastásico	Cambio tratamiento sistémico
Sarcoma del estroma endometrial	Ausencia de reordenamiento	Sarcoma de alto grado pobremente diferenciado	Localizado	Cambio en tratamiento sistémico
Sarcoma del estroma endometrial	ACTB- GLI1	Neoplasia epitelioides maligna asociada a reordenamiento de Gli1	Metastásico	Cambio en tratamiento sistémico
Neoplasia con reordenamiento NTRK	DLEU2- PLAG1	Lipoblastoma con cambios fibrosos	Localizado	Cambio en estrategia global
Sarcoma del estroma endometrial	GREB1-NCOA2	Tumor uterino semejante a los cordomas sexuales ovárico	Localizado	Cambio en estrategia global

<p>PHAT (Pleomorphic hyalinizing angiectatic tumour of soft parts), Reordenamiento de TGFBR3 o OGA (MGEA5)</p>	<p>RMDN2-RAF1</p>	<p>sarcoma fus+R89:R115ocelular con reordenamiento de RAF1</p>	<p>Localizado</p>	<p>Cambio en estrategia global</p>
--	-------------------	--	-------------------	------------------------------------

Tabla 19. Descripción de los pacientes en los que hay impacto en el diagnóstico (diagnóstico inicial-final) y comentario sobre impacto en el tratamiento

Por lo tanto, la NGS implicó cambios diagnósticos con un impacto relevante en su tratamiento (cambio de tratamiento sistémico o de estrategia global) en 19 (7.3%) del total de pacientes testados (Figura 13)

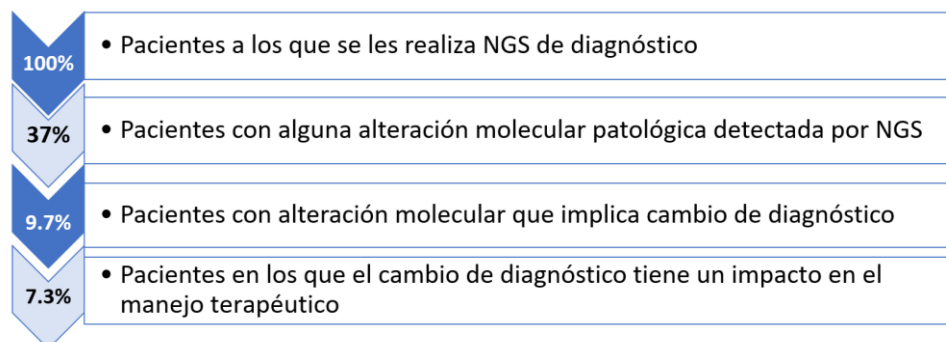


Figura 13. Resumen de la utilidad de la NGS (Archer) como apoyo al diagnóstico en sarcomas.

6.3. Resultado y utilidad clínica de la NGS realizada como prescreening molecular

De los 133 pacientes con datos de NGS de prescreening, en 72 pacientes se realizó Amplicon, y en 61 panel VHIO 300

6.3.1. Resultados de la NGS realizada como prescreening molecular.

De los 133 pacientes en los que se realizó NGS de prescreening molecular, en 88 (66%) se objetivó una o varias alteraciones moleculares consideradas patológicas.

6.3.2. Utilidad clínica de la NGS realizada como prescreening molecular.

De los 88 pacientes en los que se encontró alguna alteración molecular patológica, en 43 (48.8%) esta alteración se consideró potencialmente accionable o accionable: mutaciones (PI3K, ATRX, KRAS, BRAF, BRCA2, CDKN2, NTRK, RB1, TSC2, Aik, ARID1A, EGFR, FGFR, IDH1/2, Kit, KDR, PTCH1, CDK4), ganancias/pérdidas (MDM2,

MYC, CDK4, MET, ATR, PI3K, SMARCB4, ARID1A). Tabla 20. Lo que representa un 32.3% del total de pacientes testados.

Mutación Gen	N	ACCIONABILIDAD
p53	36	NO
PI3K	5	Potencialmente accionable
ATRX	4	Potencialmente accionable
NF1	4	NO
KMT2A/C/D	3	NO
KRAS	3	Potencialmente accionable
BRAF	2	Potencialmente accionable
BRCA2	2	Potencialmente accionable
CDKN2A	2	Potencialmente accionable
MED12	2	NO
NAB2 - STAT6	2	NO
PDGFRA	2	Accionable
RB1	2	NO
TERT	2	NO
TSC2	2	Accionable

Ganancias	N	Accionabilidad
MDM2	4	Accionable
MYC	3	Potencialmente accionable
CDK4	3	Accionable

Pérdidas	N
CDKN2A	8
RB1	5
P53	4
NF2	4
CHEK2	3
TSC1	2
EPHAS	2
FAM175A	2
FAT1	2
PAX5	2
NOTCH	2
BRCA2	2
ATRX	2

Tabla 20. Relación de las alteraciones más frecuentes: totales y accionables.

De dichas alteraciones accionables, 39 (90 %) no eran conocidas previamente (inmunohistoquímica, FISH realizado previamente)

De los 43 pacientes en los que se halló una alteración accionable, en 7 (16.2%) el paciente recibió un tratamiento dirigido por esa alteración. Lo que representa 5.2% del total de pacientes testados.

En la tabla 21 de se describen las características principales y tratamientos dirigidos recibidos.

Por tanto, 3 pacientes (2.2% del total de pacientes testados), presentan un beneficio clínico del tratamiento dirigido por NGS. Entendiendo como tal, respuesta objetiva o control de enfermedad > 6 meses

Sexo	Edad	Histología	Localización	Alteración diana	Línea de Tratamiento	Tratamiento dirigido	PFS	Best response	Exitus
M	45	Tumor glómico maligno	tronco	BRAF: c 1799T>A, p. Val600Glu (en SOLIDO)	1ª línea	Encorafenib uso compasivo	19 meses	CR	NA
M	21	rabdomiosarcoma fusocelular y epiteliode	cabeza y cuello	LOC101929418-ALK	2ª línea	Alectinib uso compasivo	4 meses	PD	10 meses
M	62	Liposarcoma desdiferenciado	retroperitoneo	Amplificación CDK4, HMGA2, MDM2	2ª línea	Miladetanin en EC	2 meses	PD	6.5 meses
M	78	Liposarcoma desdiferenciado	retroperitoneo	Amplificación CDK4	2ª línea	HDM2+CDK4 EC	3 meses	PD	16.5 meses
F	81	Liposarcoma desdiferenciado	retroperitoneo	Amplificación MDM2	2ª línea	HDM2+ CDK4 EC	13 meses	PR	26.5 meses
F	67	condrosarcoma	extremidad superior	IDH 1:R132 PCR	2ª línea	inhibidor IDH en EC	6.3 meses	SD	32 meses
F	46	TMVNP en NF-1	Tronco	SPECC1L- NTRK3	1ª línea	Larotrectinib	2.7 meses	SD	7.5 meses

Tabla 21. Descriptiva de los pacientes con alteración accionable que reciben tratamiento dirigido con detalle del tratamiento, PFS (supervivencia libre de progresión) y tiempo hasta el éxitus tras inicio de tratamiento dirigido.

M: Masculino. F: Femenino. EC: Ensayo clínico. CR: Respuesta completa. PR: Respuesta parcial. SD: Enfermedad estable. PD: Progresión.

La TMB (carga mutacional) mediana fue de 5.97 (rango 1.49-20.9), con los valores más altos para un paciente con Peco y otro con leiomiomasarcoma intestinal (éste último en contexto de síndrome de Lynch).

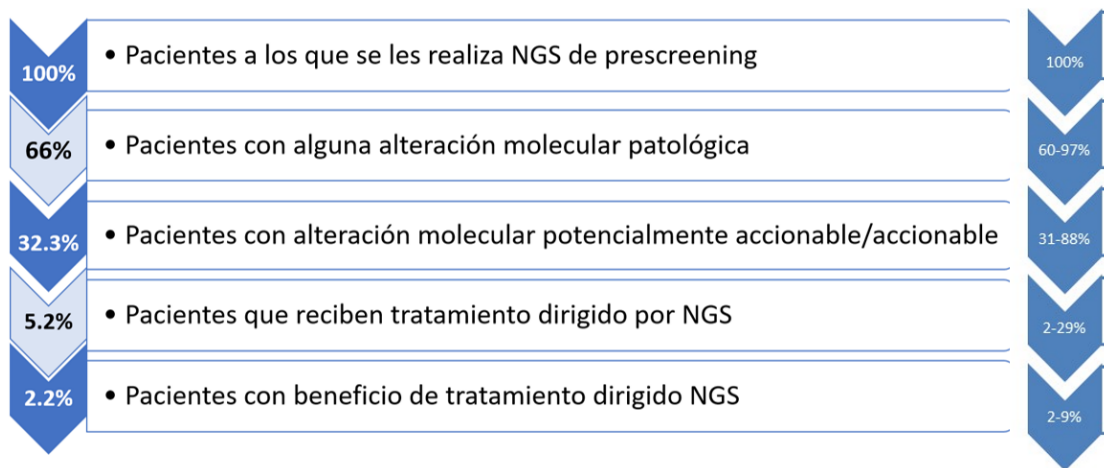


Figura 14. Resumen de la utilidad de la NGS como prescreening molecular en sarcomas: a la izquierda los descritos en la presente serie y a la derecha los de la literatura.

7

Discusión

7.1. La NGS es una herramienta útil en el diagnóstico de casos seleccionados tras una correcta valoración por patólogos expertos en sarcomas.

Aunque la base del diagnóstico patológico sigue siendo la morfología y la inmunohistoquímica en un contexto clínico adecuado, las distintas técnicas de biología molecular como FISH y PCR, se han utilizado tradicionalmente en el diagnóstico de los sarcomas como apoyo al diagnóstico. La incorporación de la NGS ha permitido refinar el proceso en determinados casos.

Así, la última clasificación de la OMS 2020¹, ha introducido nuevas entidades con patrón clínico, patológico, historia natural y en algunos casos manejo terapéutico diferencial, que únicamente se pueden diagnosticar por medio de biología molecular. Tal es el caso de los sarcomas con fusiones de NTRK. Aunque representen un porcentaje reducido de pacientes, el bloqueo con inhibidores específicos como larotrectinib o entrectinib ha demostrado respuestas profundas y prolongadas en una altísima proporción de pacientes con dicha alteración. Otro ejemplo lo constituyen los tumores antiguamente conocidos como Ewing-like, que incluyen sarcomas de células redondas con fusiones EWSR1- no ETS o reordenamientos de CIC. Aunque a día de hoy desconocemos su tratamiento óptimo, sí que es reconocida en el caso de CIC, una menor sensibilidad a los tratamientos estándar de Ewing, con peor

pronóstico y en muchos casos se invierte la secuencia de tratamiento, adelantando el tratamiento quirúrgico.

En nuestra serie solo pudimos identificar a un paciente con una fusión de NTRK, en el contexto de una neurofibromatosis, pero sí se identificó un número importante de pacientes en los que la NGS ha servido para confirmar el diagnóstico de sospecha de tumores de células redondas (lo que hemos clasificado como cambio diagnóstico menor) o el diferencial con carcinoma mioepitelial y otros sarcomas. Así, la NGS fue útil en 25 pacientes (9.7%) del total y en 19 (7.3%), ésta implicó cambios diagnósticos con un impacto relevante en su tratamiento (cambio de tratamiento sistémico o de estrategia global). Estos cambios fueron tanto entre tumores benignos/malignos como entre distintos tipos de sarcomas o tumores de estirpe epitelial.

Para poner nuestros datos en contexto, en el estudio francés GENSARC, con 384 pacientes de histologías seleccionadas (dermatofibrosarcoma protuberans liposarcoma desdiferenciado, sarcoma de la familia de Ewing, sarcoma sinovial, rhabdomyosarcoma alveolar, liposarcoma mixoide de células redondas) revisados por patólogos expertos, el uso de técnicas de biología molecular (principalmente FISH y PCR) supuso una modificación relevante del diagnóstico y tratamiento en un 11.7%¹⁴¹

Finalmente, dado que las alteraciones moleculares halladas raramente son patognomónicas de una entidad concreta, sino que muchas son compartidas por varias entidades, la NGS no es suficiente para establecer un diagnóstico por sí sola y es necesario integrarla de manera ordenada dentro del proceso diagnóstico.

Por lo tanto, la NGS tiene utilidad en la confirmación diagnóstica principalmente en casos indiferenciados o de células redondas en los que el patólogo no ha podido concluir el diagnóstico a pesar del correcto estudio morfológico e inmunohistoquímico por un patólogo experto.

7.2. La NGS en la búsqueda de opciones de tratamiento en pacientes con sarcomas es poco rentable en la actualidad.

En nuestra serie sólo un 5.2 % de pacientes recibió tratamiento guiado por los hallazgos de NGS y sólo 2.2% tuvieron un beneficio clínico sustancial (respuesta objetiva o control de la enfermedad >6 meses o por encima de lo esperado para su subtipo histológico y línea de tratamiento).

Las alteraciones accionables y tratadas más frecuentes fueron la amplificación de MDM2 y CDK4. Sin embargo, estas alteraciones se encontraron en liposarcomas desdiferenciados, donde la detección de la amplificación se hace de rutina en el momento del diagnóstico y por medios más económicos (Inmunohistoquímica/FISH).

El porcentaje de pacientes de nuestra serie es acorde con la escasa literatura disponible, en la que sólo un 8% de los pacientes se trata de acuerdo a datos de NGS y de estos, cerca de un 25% (2-9% del total de pacientes testados) tiene un beneficio clínico del mismo, definido como respuesta objetiva o estabilización >6 meses.

Parte de las diferencias de resultados entre las distintas series se debe a los criterios elegidos para definir una alteración como accionable, a los distintos genes incluidos en las diferentes plataformas (como es lógico se capturan más alteraciones en los paneles que incluyen mayor número de genes, aunque no está clara su rentabilidad final), al bajo número y heterogeneidad de pacientes de cada subtipo histológico.

Por otro lado, el gran número de pacientes que tienen una alteración considerada accionable y que finalmente no reciben un tratamiento dirigido, puede estar relacionado con la dificultad de acceso a los fármacos diana y al momento de realización del test. En la mayoría de los casos, el acceso es a través de ensayos clínicos dirigidos o como uso compasivo individual, situación que puede ser muy distinta según la región donde se encuentre el paciente o su capacidad para trasladarse a otra región. Esto deriva en inequidades dentro del

mismo sistema sanitario, que será necesario afrontar en el futuro. En nuestro centro, a pesar de contar con una unidad de fases I bien dotada en cuanto a opciones de ensayos clínicos, el porcentaje de pacientes tratados de manera dirigida por NGS se mantuvo en el margen inferior de la literatura mencionada. Parte de la razón podría estar en el alto número de pacientes que consultan desde otras comunidades autónomas y que finalmente por cuestiones logísticas y de valoración beneficio/riesgo y calidad de vida, eligen tratamientos convencionales para evitar la carga física, económica y psicológica de los traslados frecuentes por visitas de seguridad y tratamiento.

Por último, muchos pacientes realizan NGS en momentos avanzados de su enfermedad y el deterioro de su estado general hace que finalmente no puedan acceder al tratamiento dirigido o su beneficio pueda ser potencialmente menor. En nuestra serie, casi la totalidad de los pacientes accedieron a NGS con intención de prescreening con la enfermedad en situación metastásica. No nos es posible comparar estos datos con otras series ya que no aparecen reportados en la literatura.

Por tanto, a día de hoy y con las plataformas estudiadas, el número de pacientes que obtiene un beneficio clínico relevante del uso de NGS para búsqueda de alternativas de tratamiento es pequeño, por lo que parece razonable seleccionar a los pacientes que en caso de hallarse una alteración accionable fueran candidatos a participar en ensayo clínico por su estado general y deseo. También parece aconsejable, no retrasar excesivamente la realización de NGS en los pacientes candidatos y lo más importante, informar claramente al paciente de las expectativas de beneficio del test.

7.3. La NGS es una herramienta útil en la investigación en el campo de los sarcomas y podría ayudar a identificar candidatos a nuevas opciones de tratamiento en un futuro cercano

A pesar de las limitaciones del uso de la NGS, especialmente como prescreening, sí que hay un porcentaje de pacientes que se beneficia de su

realización y en el futuro esta proporción debería ir aumentando a medida que avanza el conocimiento en diversos campos.

Uno de los puntos relevantes a contestar, es si un tratamiento dirigido por NGS aporta un beneficio superior a un tratamiento estándar dirigido por el histotipo tumoral. Para ello serán importantes los resultados de estudios randomizados.

Por otro lado, la realización de NGS con fines de investigación, los estudios basket con cohortes específicas según alteración y sobre todo la compartición de los datos clínicos y moleculares, permitirá en un futuro no tan lejano, tener suficiente información sobre el significado de determinadas alteraciones en uno o varios histotipos que a día de hoy son variantes de significado incierto. Tal ha sido el caso de los reordenamientos de NTRK, que se han demostrado como relevantes independientemente del tipo tumoral (agnósticos) y cuentan con tratamientos específicos o como los inhibidores de ALK en tumor miofibroblástico inflamatorio.

Por último, algunas alteraciones frecuentes y consideradas patogénicas en la mayoría de los tumores, pero que tradicionalmente se habían considerado no accionables, como p53, quizás dejen de serlo y permitan beneficiar a un número importante de pacientes.

Así, hace sólo 1 año, se presentaron los resultados del estudio fase I PYNNAACLE con PC14586, un inhibidor selectivo de p53 Y220C, capaz de restaurar su función¹⁴². Los investigadores reportaron una tolerancia correcta, respuesta objetiva en 5/21 pacientes incluidos y estabilización en la mayoría de los pacientes. Esta mutación específica, está presente en hasta 2.9% de los sarcomas de partes blandas y 1.2% de los óseos (rabdomyosarcoma, leiomyosarcoma, sarcoma NOS y osteosarcoma)¹⁴³. A mediados de 2024, el estudio fase II de registro para pacientes con mutación tp53 Y220C y kras wild-type, estará disponible en nuestro centro. Aunque en nuestra serie lamentablemente no hemos detectado ningún paciente con esta mutación

específica, este caso ilustra la importancia de la NGS con fines de investigación como llave para nuevas opciones de tratamiento en un futuro cercano.

7.4. Limitaciones

Una limitación de este estudio es que los casos han sido obtenidos en 2 centros de referencia con patólogos expertos en sarcomas, por lo que la muestra puede no ser representativa de lo que se observa en centros con menos experiencia. Patólogos con menos experiencia podrían tender más a solicitar más estudios complementarios, incluida NGS de apoyo, pero, por otro lado, su acceso a las distintas plataformas quizás esté más limitado.

En segundo lugar, el hecho de que ambos sean centros de referencia, que reciben pacientes para valoración completa, pero también sólo para revisión patológica, ha provocado que la información clínica no sea completa en todos los casos.

Finalmente, el escaso número de pacientes tratados según NGS ha imposibilitado realizar un análisis estadístico cuantitativo y únicamente se ha podido realizar un estudio descriptivo.

8

Conclusiones.

1. La utilización de plataformas de NGS puede contribuir a mejorar el diagnóstico patológico de los sarcomas tras una correcta valoración de la morfología e inmunohistoquímica por parte de un patólogo experto en un porcentaje significativo de casos, especialmente tumores indiferenciados y de células redondas.
2. La correcta identificación del subtipo histológico, implica cambios relevantes en el tratamiento aplicado.
3. El uso de NGS puede ayudar a encontrar alteraciones moleculares accionables en los pacientes con sarcoma en una proporción significativa de pacientes.
4. De los pacientes con alteraciones accionable, sólo un pequeño porcentaje reciben un tratamiento específico para ellas y menos aún derivan un beneficio clínico de dicho tratamiento.
5. Aunque su utilidad clínica como prescreening (búsqueda de alteraciones accionables para selección de tratamientos) es a día de hoy baja, sí tiene sentido su uso a nivel de investigación, ya que, por un lado, nos permite avanzar en el conocimiento de las distintas entidades y por otro, alteraciones que no son accionables, pueden serlo en el futuro.

9

Líneas de futuro

La bibliografía ha demostrado que la revisión patológica por un patólogo experto en sarcomas contribuye a llegar al diagnóstico final (usando medios mucho más económicos como la morfología, la inmunohistoquímica o estudios moleculares como PCR o FISH) en un mayor porcentaje de pacientes que el uso de NGS de por sí, como en el presente estudio (40% vs 7% respectivamente)⁴¹. Por lo tanto, en un sistema sanitario público, donde los recursos son limitados, para optimizar el potencial de las plataformas de NGS en el proceso diagnóstico de los sarcomas de partes blandas y óseos, su uso debería restringirse a servicios de anatomía con experiencia en sarcomas. A su vez, para mantener el principio de equidad del sistema, cualquier paciente, independientemente de su comunidad autónoma de residencia, debería tener acceso a la revisión de diagnóstico patológico por un patólogo experto, y dicho acceso debería estar regulado, estandarizado y financiado por el propio sistema sanitario, como ocurre en otros países de nuestro entorno. Los resultados del presente trabajo, serán compartidos con GEIS (Grupo Español de Investigación en Sarcomas), que a su vez los podrá incorporar junto con los datos que se deriven del proyecto IMPERAS (impacto de la revisión patológica por patólogo experto en calidad de vida y socioeconomía) como evidencia a presentar en las reuniones con órganos decisores, como consejerías y ministerio de sanidad, sobre la situación de los pacientes con sarcomas en España.

Por otro lado, dada la baja utilidad final del uso de NGS como herramienta de prescreening para la búsqueda de opciones de tratamiento alternativas, los presentes resultados deberían servir para ayudar a los clínicos a transmitir correctamente la información a los pacientes y modular sus expectativas cuando sus muestras son sometidas a un test de NGS como los utilizados en la presente tesis. Su uso también debería estar limitado a centros con experiencia (o centros con buena comunicación con dichos centros expertos) y con equipos

multidisciplinares capaces de interpretar los resultados de NGS en el contexto clínico del paciente y vincularlos a estudios clínicos en marcha o usos compasivos que puedan beneficiar al paciente. Esto será más importante a medida que los costes de las plataformas de NGS se vayan reduciendo y sean más accesibles.

Al contrario de las plataformas de NGS utilizadas con fines de investigación, que sí deberían mantener paneles más amplios para permitir el descubrimiento de nuevas alteraciones y entidades, idealmente, las plataformas de NGS de prescreening usadas de rutina podrían irse customizando según el tipo de tumor a testar, limitando el número de genes a las alteraciones más frecuentemente encontradas y accionables en dicho tipo tumoral.

En todos los casos, el mantenimiento y análisis periódico de un registro de sarcomas donde se integre la información clínica, patológica y de biología molecular, será de vital importancia para avanzar en el conocimiento de los sarcomas y que éste pueda cristalizarse en mejores opciones para los pacientes del futuro. Y por supuesto, la generación de evidencia randomizada prospectiva como el estudio fase II/III MULTISARC, que randomiza a los pacientes con un diagnóstico de sarcoma confirmado por un patólogo central experto, a recibir tratamiento según NGS vs tratamiento estándar.¹⁴⁴

Referencias bibliográficas

¹ Fletcher C DM, Baldini EH, Blay JY, Gronchi A, et al. WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone. Fifth Edition. WHO 2020; IARC WHO Classification of Tumours, No 3. ISBN-9789283245025

² WHO. International Classification of Diseases for Oncology. 1st ed. World Health Organization, Geneva: 1976.

³ Stiller CA, Trama A, Serraino D, Rossi S, Navarro C, Chirlaque MD, et al. Descriptive epidemiology of sarcomas in Europe: report from the RARECARE project. *Eur J Cancer*. 2013;49(3):684-95. Epub 2012/10/20.

⁴ SEER*Explorer: An interactive website for SEER cancer statistics [Internet]. Surveillance Research Program, National Cancer Institute; 2023 Apr 19. [updated: 2023 Jun 8; cited 2023 Oct 20]. Available from: <https://seer.cancer.gov/statistics-network/explorer/>. Data source(s): SEER Incidence Data, November 2022 Submission (1975-2020)

⁵ Ducimetiere F, Lurkin A, Ranchere-Vince D, Decouvelaere AV, Peoc'h M, Istier L, et al. Incidence of sarcoma histotypes and molecular subtypes in a prospective epidemiological study with central pathology review and molecular testing. *PLoS one*. 2011;6(8):e20294

⁶ Mastrangelo G, Coindre JM, Ducimetière F, Dei Tos AP, Fadda E, Blay JY, et al. Incidence of soft tissue sarcoma and beyond. A population-based prospective study in 3 european regions. *Cancer*. 2012; 118:5339-48.

⁷ Ballinger ML, Pinese M, Thomas DM. Translating genomic risk into an early detection strategy for sarcoma. *Genes Chromosomes Cancer*. 2019 Feb;58(2):130-136. doi: 10.1002/gcc.22697. Epub 2018 Nov 29. PMID: 30382615.

⁸ Patil S, Chamberlain RS. Neoplasms associated with germline and somatic NF1 gene mutations. *Oncologist*. 2012; 17:101-16.

⁹ Malkin D, Li FP, Strong LC, Fraumeni JF, Jr., Nelson CE, Kim DH, et al. Germ line p53 mutations in a familial syndrome of breast cancer, sarcomas, and other neoplasms. *Science*. 1990;250(4985):1233-8. Epub 1990/12/10

¹⁰ Kleinerman RA, Tucker MA, Abramson DH, Seddon JM, Tarone RE, Fraumeni JF, Jr. Risk of soft tissue sarcomas by individual subtype in survivors of hereditary retinoblastoma. *Journal of the National Cancer Institute*. 2007;99(1):24-31. Epub 2007/01/05

-
- ¹¹ Vivir con poliposis adenomatosa familiar. <https://seom.org/informacion-sobre-el-cancer/publicaciones-dirigidas-a-pacientes/209612-vivir-con-poliposis-adenomatosa-familiar>
- ¹² Snow A, Ring A, Struycken L, Mack W, Koç M, Lang JE. Incidence of radiation induced sarcoma attributable to radiotherapy in adults: A retrospective cohort study in the SEER cancer registries across 17 primary tumor sites. *Cancer Epidemiol.* 2021 Feb;70:101857. doi: 10.1016/j.canep.2020.101857. Epub 2020 Nov 26. PMID: 33249363; PMCID: PMC7856279.
- ¹³ Lipshutz GS, Brennan TV, Warren RS. Thorotrast-induced liver neoplasia: a collective review. *Am Coll Surg.* 2002;195:713-8.
- ¹⁴ F Stewart, N Treves. Lymphangiosarcoma in postmastectomy lymphedema. A report of six cases in elephantiasis chirurgica. *Cancer* 1948; 1 (1): 64-81.
- ¹⁵ McClain KL, Leach CT, Jenson HB, Joshi VV, Pollock BH, Parmley RT, et al. Association of Epstein-Barr virus with leiomyosarcomas in children with AIDS. *The New England journal of medicine.* 1995;332(1):12-8. Epub 1995/01/05.
- ¹⁶ Chang Y, Cesarman E, Pessin MS, Lee F, Culpepper J, Knowles DM, et al. Identification of herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-associated Kaposi's sarcoma. *Science.* 1994;265:1865-9.
- ¹⁷ Johnson CJ, Pynsent PB, Grimer RJ. Clinical features of soft tissue sarcomas. *Annals of the Royal College of Surgeons of England.* 2001;83(3):203-5. Epub 2001/07/04.
- ¹⁸ Christie-Large M; James SL; Tiessen L et al. Imaging strategy for detecting lung metastases at presentation in patients with soft tissue sarcomas. *Eur J Cancer.* 2008 Sep;44(13):1841-5.
- ¹⁹ Mazon JJ; Suit HD. Lymph nodes as sites of metastases from sarcomas of soft tissue. *Cancer* 1987 Oct 15;60(8):1800-8.
- ²⁰ Potter DA, Glenn J, Kinsella T, Glatstein E, Lack EE, Restrepo C, et al. Patterns of recurrence in patients with high-grade soft-tissue sarcomas. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology.* 1985;3(3):353-66. Epub 1985/03/01.
- ²¹ Stiller CA, Trama A, Serraino D, Rossi S, Navarro C, Chirlaque MD, Casali PG; RARECARE Working Group. Descriptive epidemiology of sarcomas in Europe: report from the RARECARE project. *Eur J Cancer.* 2013 Feb;49(3):684-95. doi: 10.1016/j.ejca.2012.09.011. Epub 2012 Oct 15. PMID: 23079473.
- ²² Karnofsky DA, Abelman WH, Craver LF, Burchenal JH. The use of nitrogen mustards in the palliative treatment of cancer. *Cancer* 1948; 1: 634-6456.
- ²³ Sundaram M; McGuire MH; Herbold DR. Magnetic resonance imaging of soft tissue masses: an evaluation of fifty-three histologically proven tumors. *Magn Reson Imaging* 1988 May-Jun;6(3):237-48.
- ²⁴ Cheng EY; Springfield DS; Mankin HJ. Frequent incidence of extrapulmonary sites of initial metastasis in patients with liposarcoma. *Cancer* 1995 Mar 1;75(5):1120-7.
- ²⁵ Nieweg OE; Pruim J; van Ginkel RJ et al. Fluorine-18-fluorodeoxyglucose PET imaging of soft-tissue sarcoma. *J Nucl Med* 1996 Feb;37(2):257-61.
- ²⁶ Lucas JD; O'Doherty MJ; Wong JC et al. Evaluation of fluorodeoxyglucose positron emission tomography in the management of soft-tissue sarcomas. *J Bone Joint Surg Br* 1998 May;80(3):441-7.

-
- ²⁷ Treglia G, Salsano M, Stefanelli A, Mattoli MV, Giordano A, Bonomo L. Diagnostic accuracy of ¹⁸F-FDG-PET and PET/CT in patients with Ewing sarcoma family tumours: a systematic review and a meta-analysis. *Skeletal Radiol.* 2012;41(3):249-56.
- ²⁸ Mankin HJ; Mankin CJ; Simon MA. The hazards of the biopsy, revisited. Members of the Musculoskeletal Tumor Society. *J Bone Joint Surg Am* 1996 May;78(5):656-63.
- ²⁹ Heslin MJ; Lewis JJ; Woodruff JM et al. Core needle biopsy for diagnosis of extremity soft tissue sarcoma. *Ann Surg Oncol* 1997 Jul-Aug;4(5):425-31.
- ³⁰ Hoerber I, Spillane AJ, Fisher C, Thomas JM. Accuracy of biopsy techniques for limb and limb girdle soft tissue tumors. *Annals of surgical oncology.* 2001;8(1):80-7. Epub 2001/02/24
- ³¹ Wakely PE Jr; Kneisl JS. Soft tissue aspiration cytopathology. *Cancer* 2000 Oct 25;90(5):292-8.
- ³² Trojani M, Contesso G, Coindre JM, Rouesse J, Bui NB, de Mascarel A, et al. Soft-tissue sarcomas of adults; study of pathological prognostic variables and definition of a histopathological grading system. *International journal of cancer Journal international du cancer.* 1984;33(1):37-42. Epub 1984/01/15.
- ³³ Coindre JM, Terrier P, Guillou L, Le Doussal V, Collin F, Ranchere D, et al. Predictive value of grade for metastasis development in the main histologic types of adult soft tissue sarcomas: a study of 1240 patients from the French Federation of Cancer Centers Sarcoma Group. *Cancer.* 2001;91(10):1914-26. Epub 2001/05/1
- ³⁴ Mitelman F. Recurrent chromosome aberrations in cancer. *Mutation research.* 2000;462(2-3):247-53. Epub 2000/04/18.
- ³⁵ Watson S, Perrin V, Guillemot D, Reynaud S, Coindre JM, Karanian M, Guinebretière JM, Freneaux P, Le Loarer F, Bouvet M, Galmiche-Rolland L, Larousserie F, Longchamp E, Ranchere-Vince D, Pierron G, Delattre O, Tirode F. Transcriptomic definition of molecular subgroups of small round cell sarcomas. *J Pathol.* 2018 May;245(1):29-40. doi: 10.1002/path.5053. Epub 2018 Mar 30. PMID: 29431183.
- ³⁶ Antonescu CR, Owosho AA, Zhang L, Chen S, Deniz K, Huryn JM, Kao YC, Huang SC, Singer S, Tap W, Schaefer IM, Fletcher CD. Sarcomas With CIC-rearrangements Are a Distinct Pathologic Entity With Aggressive Outcome: A Clinicopathologic and Molecular Study of 115 Cases. *Am J Surg Pathol.* 2017 Jul;41(7):941-949. doi: 10.1097/PAS.0000000000000846. PMID: 28346326; PMCID: PMC5468475.
- ³⁷ Borden EC, Baker LH, Bell RS, Bramwell V, Demetri GD, Eisenberg BL, et al. Soft tissue sarcomas of adults: state of the translational science. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research.* 2003;9(6):1941-56. Epub 2003/06/11
- ³⁸ Barretina J, Taylor BS, Banerji S, Ramos AH, Lagos-Quintana M, Decarolis PL, et al. Subtype-specific genomic alterations define new targets for soft-tissue sarcoma therapy. *Nature genetics.* 2010;42(8):715-21. Epub 2010/07/06
- ³⁹ Meza-Zepeda LA, Kresse SH, Barragan-Polania AH, Bjerkehagen B, Ohnstad HO, Namlos HM, et al. Array comparative genomic hybridization reveals distinct DNA copy number differences between gastrointestinal stromal tumors and leiomyosarcomas. *Cancer research.* 2006;66(18):8984-93. Epub 2006/09/20.
- ⁴⁰ Ray-Coquard I, Montesco MC, Coindre JM, Dei Tos AP, Lurkin A, Ranchère-Vince D, et al. Sarcoma: concordance between initial diagnosis and centralized expert review in a population-based study within three European regions. *Ann Oncol.* 2012 Sep;23(9):2442-2449. doi: 10.1093/annonc/mdr610. Epub 2012 Feb 13. PMID: 22331640; PMCID: PMC3425368

⁴¹ Thway K, Fisher C. Histopathological diagnostic discrepancies in soft tissue tumours referred to a specialist centre. *Sarcoma*. 2009;2009:741975. doi: 10.1155/2009/741975. Epub 2009 May 27. PMID: 19503800; PMCID: PMC2688650.

⁴² www.proyectoimperas.com

⁴³ Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C (eds). *TNM Classification of Malignant Tumours* 8 th edn. Oxford John Wiley & Sons, Inc 2016

⁴⁴ SEER*Explorer: An interactive website for SEER cancer statistics [Internet]. Surveillance Research Program, National Cancer Institute; 2023 Apr 19. [updated: 2023 Jun 8; cited 2023 Oct 20]. Available from: <https://seer.cancer.gov/statistics-network/explorer/>. Data source(s): SEER Mortality Data (1969-2020); National Center for Health Statistics.

⁴⁵ Zagars GK, Ballo MT, Pisters PW, Pollock RE, Patel SR, Benjamin RS, Evans HL. Prognostic factors for patients with localized soft-tissue sarcoma treated with conservation surgery and radiation therapy: an analysis of 1225 patients. *Cancer*. 2003 May 15;97(10):2530-43. doi: 10.1002/cncr.11365. PMID: 12733153.

⁴⁶ Smeland S, Bielack SS, Whelan J, Bernstein M, Hogendoorn P, Krailo MD et al. Survival and prognosis with osteosarcoma: outcomes in more than 2000 patients in the EURAMOS-1 (European and American Osteosarcoma Study) cohort. *Eur J Cancer*. 2019 Mar;109:36-50. doi: 10.1016/j.ejca.2018.11.027. Epub 2019 Jan 25. PMID: 30685685; PMCID: PMC6506906.

⁴⁷ Bosma SE, Lancia C, Rueten-Budde AJ, et al. Easy-to-use clinical tool for survival estimation in Ewing sarcoma at diagnosis and after surgery. *Scientific reports*. Jul 29 2019;9(1):11000.

⁴⁸ JMM Cates. The AJCC 8th Edition Staging System for Soft Tissue Sarcoma of the Extremities or Trunk: A Cohort Study of the SEER Database. *J Natl Compr Canc Netw* 2018;16(2):144–152. doi: 10.6004/jnccn.2017.7042

⁴⁹ Pisters PW, Harrison LB, Leung DH, Woodruff JM, Casper ES, Brennan MF. Long-term results of a prospective randomized trial of adjuvant brachytherapy in soft tissue sarcoma. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1996;14(3):859-68. Epub 1996/03/01.

⁵⁰ Gronchi A, Strauss DC, Miceli R, Bonvalot S, Swallow CJ, Hohenberger P, Van Coevorden F et al. Variability in Patterns of Recurrence After Resection of Primary Retroperitoneal Sarcoma (RPS): A Report on 1007 Patients From the Multi-institutional Collaborative RPS Working Group. *Ann Surg*. 2016 May;263(5):1002-9. doi: 10.1097/SLA.0000000000001447. PMID: 26727100.

⁵¹ Han D, Li C, Li X, Huang Q, Xu F, Zheng S, Wang H, Lyu J. Prognostic Factors in Patients with Rhabdomyosarcoma Using Competing-Risks Analysis: A Study of Cases in the SEER Database. *J Oncol*. 2020 Sep 17;2020:2635486. doi: 10.1155/2020/2635486. PMID: 33014049; PMCID: PMC7519458.

⁵² Gronchi A, Lo Vullo S, Colombo C, Collini P, Stacchiotti S, Mariani L, et al. Extremity soft tissue sarcoma in a series of patients treated at a single institution: local control directly impacts survival. *Annals of surgery*. 2010;251(3):506-11. Epub 2010/02/05

⁵³ Gronchi A, Miceli R, Shurell E, Eilber FC, Eilber FR, Anaya DA, et al. Outcome prediction in primary resected retroperitoneal soft tissue sarcoma: histology-specific overall survival and disease-free survival nomograms built on major sarcoma center data sets. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2013;31(13):1649-55. Epub 2013/03/27.

⁵⁴ Biau DJ, Ferguson PC, Turcotte RE, Chung P, Isler MH, Riad S, et al. Adverse effect of older age on the recurrence of soft tissue sarcoma of the extremities and trunk. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2011;29(30):4029-35. Epub 2011/09/21.

-
- ⁵⁵ Joshi D, Anderson JR, Paidas C, et al. Age is an independent prognostic factor in rhabdomyosarcoma: a report from the Soft Tissue Sarcoma Committee of the Children's Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer* 2004; 42: 64–73
- ⁵⁶ Cotterill SJ, Ahrens S, Paulussen M, Jürgens HF, Voûte PA, Gadner H, Craft AW. Prognostic factors in Ewing's tumor of bone: analysis of 975 patients from the European Intergroup Cooperative Ewing's Sarcoma Study Group. *J Clin Oncol*. 2000 Sep;18(17):3108-14. doi: 10.1200/JCO.2000.18.17.3108. PMID: 10963639.
- ⁵⁷ Tsiatis AC, Herceg ME, Keedy VL, Halpern JL, Holt GE, Schwartz HS, et al. Prognostic significance of c-Myc expression in soft tissue leiomyosarcoma. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2009;22(11):1432-8. Epub 2009/07/28
- ⁵⁸ Gallego S, Zanetti I, Orbach D, Ranchère D, Shipley J, Zin A et al; European Paediatric Soft Tissue Sarcoma Study Group (EpSSG). Fusion status in patients with lymph node-positive (N1) alveolar rhabdomyosarcoma is a powerful predictor of prognosis: Experience of the European Paediatric Soft Tissue Sarcoma Study Group (EpSSG). *Cancer*. 2018 Aug 1;124(15):3201-3209. doi: 10.1002/cncr.31553. Epub 2018 May 24. PMID: 29797665.
- ⁵⁹ Chibon F, Lagarde P, Salas S, Perot G, Brouste V, Tirode F, et al. Validated prediction of clinical outcome in sarcomas and multiple types of cancer on the basis of a gene expression signature related to genome complexity. *Nature medicine*. 2010;16(7):781-7. Epub 2010/06/29.
- ⁶⁰ Salzer-Kuntschik M, Brand G, Delling G. [Determination of the degree of morphological regression following chemotherapy in malignant bone tumors]. *Der Pathologe*. May 1983;4(3):135-141.
- ⁶¹ Kattan, MW, Leung, DHY, Brennan, MF. Postoperative nomogram for 12-year sarcoma-specific death. *J Clin Onc* 2002; 20:791.
- ⁶² <https://www.mskcc.org/nomograms/sarcoma/desmoid>
- ⁶³ <https://www.sarculator.com/>
- ⁶⁴ Eilber FR; Eckardt J. Surgical management of soft tissue sarcomas. *Semin Oncol* 1997 Oct;24(5):526- 33.
- ⁶⁵ Sadoski C; Suit HD; Rosenberg A et al. Preoperative radiation, surgical margins, and local control of extremity sarcomas of soft tissues. *J Surg Oncol* 1993 Apr;52(4):223-30.
- ⁶⁶ Kawaguchi N, Ahmed AR, Matsumoto S, Manabe J, Matsushita Y. The concept of curative margin in surgery for bone and soft tissue sarcoma. *Clinical orthopaedics and related research*. 2004(419):165-72. Epub 2004/03/17
- ⁶⁷ Swallow CJ, Strauss DC, Bonvalot S, Rutkowski P, Desai A, Gladdy RA et al; Transatlantic Australasian RPS Working Group (TARPSWG). Management of Primary Retroperitoneal Sarcoma (RPS) in the Adult: An Updated Consensus Approach from the Transatlantic Australasian RPS Working Group. *Ann Surg Oncol*. 2021 Nov;28(12):7873-7888. doi: 10.1245/s10434-021-09654-z. Epub 2021 Apr 14. PMID: 33852100; PMCID: PMC9257997.
- ⁶⁸ Yang JC, Chang AE, Baker AR, Sindelar WF, Danforth DN, Topalian SL, et al. Randomized prospective study of the benefit of adjuvant radiation therapy in the treatment of soft tissue sarcomas of the extremity. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 1998;16(1):197-203. Epub 1998/01/24.
- ⁶⁹ O'Sullivan B, Davis AM, Turcotte R, Bell R, Catton C, Chabot P, et al. Preoperative versus postoperative radiotherapy in soft-tissue sarcoma of the limbs: a randomised trial. *Lancet*. 2002;359(9325):2235-41. Epub 2002/07/10.

-
- ⁷⁰ Davis AM, O'Sullivan B, Turcotte R, Bell R, Catton C, Chabot P, et al. Late radiation morbidity following randomization to preoperative versus postoperative radiotherapy in extremity soft tissue sarcoma. *Radiotherapy and oncology : journal of the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology*. 2005;75(1):48-53. Epub 2005/06/11.
- ⁷¹ Gronchi A, Miah AB, Dei Tos AP, Abecassis N, Bajpai J, Bauer S et al; ESMO Guidelines Committee, EURACAN and GENTURIS. Electronic address: clinicalguidelines@esmo.org. Soft tissue and visceral sarcomas: ESMO-EURACAN-GENTURIS Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up*. *Ann Oncol*. 2021 Nov;32(11):1348-1365. doi: 10.1016/j.annonc.2021.07.006. Epub 2021 Jul 22. PMID: 34303806.
- ⁷² Bonvalot S, Gronchi A, Le Péchoux C, Swallow CJ, Strauss D, Meeus P, van Coevorden F, Stoldt S, Stoeckle E, Rutkowski P, Rastrelli M, Raut CP, Hompes D, De Paoli A et al. Preoperative radiotherapy plus surgery versus surgery alone for patients with primary retroperitoneal sarcoma (EORTC-62092: STRASS): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2020 Oct;21(10):1366-1377. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30446-0. Epub 2020 Sep 14. PMID: 32941794.
- ⁷³ Gortzak E, Azzarelli A, Buesa J et al. A randomised phase II study on neo-adjuvant chemotherapy for 'high-risk' adult softtissue sarcoma. *Eur J Cancer* 2001;37(9):1096-1103
- ⁷⁴ Gronchi A, Frustaci S, Mercuri M et al. Short, full-dose adjuvant chemotherapy in high-risk adult soft tissue sarcomas: a randomized clinical trial from the Italian Sarcoma Group and the Spanish Sarcoma Group. *J Clin Oncol* 2012;30:850-856.
- ⁷⁵ Gronchi A, Palmerini E, Quagliuolo V, et al. Neoadjuvant Chemotherapy in High-Risk Soft Tissue Sarcomas: Final Results of a Randomized Trial From Italian (ISG), Spanish (GEIS), French (FSG), and Polish (PSG) Sarcoma Groups. *J Clin Oncol* 2020;38(19):2178-2186
- ⁷⁶ Cancer Genome Atlas Research Network. Comprehensive and Integrated Genomic Characterization of Adult Soft Tissue Sarcomas. *Cell* 2017;171(4):950-965.
- ⁷⁷ Eilber FC, Eilber FR, Eckardt J, et al. The impact of chemotherapy on the survival of patients with high-grade primary extremity liposarcoma. *Ann Surg* 2004;240(4):686-95
- ⁷⁸ Álvarez Álvarez R, Manzano A, Agra Pujol C, Artigas Raventós V, Correa R, Cruz Jurado J, Fernandez JA et al. Updated Review and Clinical Recommendations for the Diagnosis and Treatment of Patients with Retroperitoneal Sarcoma by the Spanish Sarcoma Research Group (GEIS). *Cancers (Basel)*. 2023 Jun 15;15(12):3194. doi: 10.3390/cancers15123194. PMID: 37370803; PMCID: PMC10295927.
- ⁷⁹ Kraybill WG, Harris J, Spiro IJ, et al; Radiation Therapy Oncology Group Trial 9514. Phase II study of neoadjuvant chemotherapy and radiation therapy in the management of high-risk, high-grade, soft tissue sarcomas of the extremities and body wall: Radiation Therapy Oncology Group Trial 9514. *J Clin Oncol* 2006;24(4):619-25
- ⁸⁰ Palassini E, Ferrari S, Verderio P, et al. Feasibility of Preoperative Chemotherapy With or Without Radiation Therapy in Localized Soft Tissue Sarcomas of Limbs and Superficial Trunk in the Italian Sarcoma Group/Grupo Español de Investigación en Sarcomas Randomized Clinical Trial: Three Versus Five Cycles of Full-Dose Epirubicin Plus Ifosfamide. *J Clin Oncol* 2015;33(31):3628-3.
- ⁸¹ Blackmon SH, Shah N, Roth JA et al. Resection of pulmonary and extrapulmonary sarcomatous metastases is associated with long term survival. *Ann thorac Surg* 2009; 88:877-884; discussion 884-885
- ⁸² Canter RJ, Quin LX, Downey RJ et al. Perioperative chemotherapy in patients undergoing pulmonary resections for metastatic soft-tissue sarcoma of the extremity: a retrospective analysis. *Cancer* 2007;110:2050-60

-
- ⁸³ Baumann BC, Bernstein KA, DeLaney TF, Simone CB 2nd, Kolker JD, Choy E, Levin WP, Weber KL, Muniappan A, Berman AT, Staddon A, Hartner L, Van Tine B, Hirbe A, Glatstein E, Hahn SM, Nagda SN, Chen YL. Multi-institutional analysis of stereotactic body radiotherapy for sarcoma pulmonary metastases: High rates of local control with favorable toxicity. *J Surg Oncol*. 2020 Oct;122(5):877-883. doi: 10.1002/jso.26078. Epub 2020 Jun 25. PMID: 32588468
- ⁸⁴ Chalkidou A, Macmillan T, Grzeda MT, Peacock J, Summers J, Eddy S et al. Stereotactic ablative body radiotherapy in patients with oligometastatic cancers: a prospective, registry-based, single-arm, observational, evaluation study. *Lancet Oncol*. 2021 Jan;22(1):98-106. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30537-4. PMID: 33387498
- ⁸⁵ Palma DA, Olson R, Harrow S, Gaede S, Louie AV, Haasbeek C et al. Stereotactic ablative radiotherapy versus standard of care palliative treatment in patients with oligometastatic cancers (SABR-COMET): a randomised, phase 2, open-label trial. *Lancet*. 2019 May 18;393(10185):2051-2058. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32487-5. Epub 2019 Apr 11. PMID: 30982687.
- ⁸⁶ Judson I, Verweij J, Gelderblom H et al (2014) Doxorubicin alone versus intensified doxorubicin plus ifosfamide for first-line treatment of advanced or metastatic soft-tissue sarcoma: a randomised controlled phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 15(4):415-23.
- ⁸⁷ P Pautier et al. A randomised, multicenter phase-III study comparing doxorubicin (dox) alone versus dox with trabectedin (trab) followed by trab in non-progressive patients (pts) as first-line therapy, in pts with metastatic or unresectable leiomyosarcoma (LMS): Final results of the LMS-04 study. ESMO 2023. A 1913O
- ⁸⁸ Demetri GD, von Mehren M, Jones RL et al (2016). Efficacy and Safety of Trabectedin or Dacarbazine for Metastatic Liposarcoma or Leiomyosarcoma After Failure of Conventional Chemotherapy: Results of a Phase III Randomized Multicenter Clinical Trial. *J Clin Oncol* 34:786-793
- ⁸⁹ van der Graaf WT, Blay JY, Chawla SP, Kim DW, Bui-Nguyen B, Casali PG, Schöffski P, Aglietta M, Staddon AP, Beppu Y, Le Cesne A, Gelderblom H, Judson IR, Araki N, Ouali M, Marreaud S, Hodge R, Dewji MR, Coens C, Demetri GD, Fletcher CD, Dei Tos AP, Hohenberger P; EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group; PALETTE study group. Pazopanib for metastatic soft-tissue sarcoma (PALETTE): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet*. 2012 May 19;379(9829):1879-86. doi: 10.1016/S0140-6736(12)60651-5. Epub 2012 May 16. PMID: 22595799.
- ⁹⁰ Schöffski P, Chawla S, Maki RG, Italiano A, Gelderblom H, Choy E, Grignani G, Camargo V, Bauer S, Rha SY, Blay JY, Hohenberger P, D'Adamo D, Guo M, Chmielowski B, Le Cesne A, Demetri GD, Patel SR. Eribulin versus dacarbazine in previously treated patients with advanced liposarcoma or leiomyosarcoma: a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *Lancet*. 2016 Apr 16;387(10028):1629-37. doi: 10.1016/S0140-6736(15)01283-0. Epub 2016 Feb 10. PMID: 26874885.
- ⁹¹ García-Del-Muro X, López-Pousa A, Maurel J, Martín J, Martínez-Trufero J, Casado A, Gómez-España A, Fra J, Cruz J, Poveda A, Meana A, Pericay C, Cubedo R, Rubió J, De Juan A, Láinez N, Carrasco JA, de Andrés R, Buesa JM; Spanish Group for Research on Sarcomas. Randomized phase II study comparing gemcitabine plus dacarbazine versus dacarbazine alone in patients with previously treated soft tissue sarcoma: a Spanish Group for Research on Sarcomas study. *J Clin Oncol*. 2011 Jun 20;29(18):2528-33. doi: 10.1200/JCO.2010.33.6107. Epub 2011 May 23. PMID: 21606430
- ⁹² Maki RG, Wathen JK, Patel SR et al (2007). Randomized phase II study of gemcitabine and docetaxel compared with gemcitabine alone in patients with metastatic soft tissue sarcomas: results of sarcoma alliance for research through collaboration study 002. *J Clin Oncol* 25(19):2755

-
- ⁹³ Rosen G, Forscher C, Lowenbraun S, Eilber F, Eckardt J, Holmes C, Fu YS. Synovial sarcoma. Uniform response of metastases to high dose ifosfamide. *Cancer*. 1994 May 15;73(10):2506-11. doi: 10.1002/1097-0142(19940515)73:10<2506::aid-cnrcr2820731009>3.0.co;2-s. PMID: 8174046
- ⁹⁴ Penel N, Bui BN, Bay JO, Cupissol D, Ray-Coquard I, Piperno-Neumann S, Kerbrat P, Fournier C, Taieb S, Jimenez M, Isambert N, Peyrade F, Chevreau C, Bompas E, Brain EG, Blay JY. Phase II trial of weekly paclitaxel for unresectable angiosarcoma: the ANGIOTAX Study. *J Clin Oncol*. 2008 Nov 10;26(32):5269-74. doi: 10.1200/JCO.2008.17.3146. Epub 2008 Sep 22. PMID: 18809609
- ⁹⁵ Ferriss JS, Atkins KA, Lachance JA, Modesitt SC, Jazaeri AA. Temozolomide in advanced and recurrent uterine leiomyosarcoma and correlation with o6-methylguanine DNA methyltransferase expression: a case series. *Int J Gynecol Cancer*. 2010 Jan;20(1):120-5.
- ⁹⁶ Martínez-Trufero J, Cruz Jurado J, Gómez-Mateo MC, Bernabeu D, Floría LJ, Lavernia J, Sebío A, García Del Muro X, Álvarez R, Correa R, Hernández-León CN, Marquina G, Hindi N, Redondo A, Martínez V, Asencio JM, Mata C, Valverde Morales CM, Martín-Broto J. Uncommon and peculiar soft tissue sarcomas: Multidisciplinary review and practical recommendations for diagnosis and treatment. Spanish group for Sarcoma research (GEIS - GROUP). Part I. *Cancer Treat Rev*. 2021 Sep;99:102259. doi: 10.1016/j.ctrv.2021.102259. Epub 2021 Jul 11. PMID: 34311246.
- ⁹⁷ Martínez-Trufero J, Cruz Jurado J, Hernández-León CN, Correa R, Asencio JM, Bernabeu D, Alvarez R, Hindi N, Mata C, Marquina G, Martínez V, Redondo A, Floría LJ, Gómez-Mateo MC, Lavernia J, Sebío A, Garcia Del Muro X, Martín-Broto J, Valverde-Morales C. Uncommon and peculiar soft tissue sarcomas: Multidisciplinary review and practical recommendations. Spanish Group for Sarcoma research (GEIS -GROUP). Part II. *Cancer Treat Rev*. 2021 Sep;99:102260. doi: 10.1016/j.ctrv.2021.102260. Epub 2021 Jul 16. PMID: 34340159.
- ⁹⁸ Rutkowski P, Debiec-Rychter M (2015). Current treatment options for dermatofibrosarcoma protuberans. *Expert Rev Anticancer Ther* 15(8):901-9.
- ⁹⁹ Stacchiotti S, Negri T, Libertini M et al (2012) Sunitinib malate in solitary fibrous tumour (SFT). *Ann Oncol* 23(12):3171–3179
- ¹⁰⁰ Wilky BA, Trucco MM, Subhawong TK, Florou V, Park W, Kwon D, Wieder ED, Kolonias D, Rosenberg AE, Kerr DA, Sfakianaki E, Foley M, Merchan JR, Komanduri KV, Trent JC. Axitinib plus pembrolizumab in patients with advanced sarcomas including alveolar soft-part sarcoma: a single-centre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2019 Jun;20(6):837-848. doi: 10.1016/S1470-2045(19)30153-6. Epub 2019 May 8. PMID: 31078463
- ¹⁰¹ Wagner AJ, Malinowska-Kolodziej I, Morgan JA, Qin W, Fletcher CD, Vena N, Ligon AH, Antonescu CR, Ramaiya NH, Demetri GD, et al. Clinical activity of mTOR inhibitor with sirolimus in malignant perivascular epithelioid cell tumors: Targeting the pathogenic activation of mTORC1 in tumors. *J Clin Oncol*. 2010;28:835–840.
- ¹⁰² Butrynski JE, D'Adamo DR, Hornick JL et al (2010) Crizotinib in ALK-rearranged inflammatory myofibroblastic tumour. *N Engl J Med* 363(18):1727–1733
- ¹⁰³ Stacchiotti S, Grosso F, Negri T et al (2010) Tumour response to sunitinib malate observed in clear-cell sarcoma. *Ann Oncol* 21(5):1130–1131
- ¹⁰⁴ Gounder M, Schöffski P, Jones RL, Agulnik M, Cote GM, Villalobos VM et al. Tazemetostat in advanced epithelioid sarcoma with loss of INI1/SMARCB1: an international, open-label, phase 2 basket study. *Lancet Oncol*. 2020 Nov;21(11):1423-1432. doi: 10.1016/S1470-2045(20)30451-4. Epub 2020 Oct 6. PMID: 33035459.
- ¹⁰⁵ First EZH2 Inhibitor Approved for Rare Sarcoma. *Cancer Discov*. 2020;10(3):333-334. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-NB2020-006> 9

-
- ¹⁰⁶ S. Lu , F.G.M. De Braud , Y. Fan , X. Hu, Y. Ohe , Y. Yu et al. Updated efficacy and safety data of entrectinib in patients (pts) with locally advanced/metastatic NTRK fusion-positive (fp) solid tumours. ESMO 2023. P 666
- ¹⁰⁷ A. Drilon, L. Shen, C. van Tilburg, F. Doz, D.S.W. Tan, J.J. Lin et al. Efficacy and safety of larotrectinib in a pooled analysis of patients (Pts) with tropomyosin receptor kinase (TRK) fusion cancer
- ¹⁰⁸ Schuck A, Ahrens S, Paulussen M, Kuhlen M, Könemann S, Rube C, et al. Local therapy in localized Ewing tumors: results of 1058 patients treated in the CESS 81, CESS 86, and EICESS 92 trials. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2003;55(1):168-77. ESMO 2023. P 668
- ¹⁰⁹ Whelan J, Le Deley MC, Dirksen U et al. High-Dose Chemotherapy and Blood Autologous Stem-Cell Rescue Compared With Standard Chemotherapy in Localized High-Risk Ewing Sarcoma: Results of Euro-E.W.I.N.G.99 and Ewing-2008. *J Clin Oncol.* 36 (31): 3110-3119, 2018. doi: 10.1200/JCO.2018.78.2516.
- ¹¹⁰ Martin McCabe, Laura Kirton, Maria Khan, Nicola Fenwick, Sandra J. Strauss, Claudia Valverde, Cristina Mata, Nathalie Gaspar, Roberto Luksch, Alessandra Longhi, Uta Dirksen, Marianne Phillips, Akmal Safwat, Hans Gelderblom, Thomas Kuehne, Jukka Kanerva, Andrew J. Westwood, Stefano Ferrari, Jeremy Whelan, Keith Wheatley. Phase III assessment of topotecan and cyclophosphamide and high-dose ifosfamide in rEECur: An international randomized controlled trial of chemotherapy for the treatment of recurrent and primary refractory Ewing sarcoma (RR-ES). ASCO 2022. LBA2
- ¹¹¹ taliano A, Mir O, Mathoulin-Pelissier S, Penel N, Piperno-Neumann S, Bompas E, Chevreau C, Duffaud F, Entz-Werlé N, Saada E, Ray-Coquard I, Lervat C, Gaspar N, Marec-Berard P, Pacquement H, Wright J, Toulmonde M, Bessedé A, Crombe A, Kind M, Bellera C, Blay JY. Cabozantinib in patients with advanced Ewing sarcoma or osteosarcoma (CABONE): a multicentre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2020 Mar;21(3):446-455. doi: 10.1016/S1470-2045(19)30825-3. Epub 2020 Feb 17. PMID: 32078813; PMCID: PMC8763616.
- ¹¹² Attia S, Bolejack V, Ganjoo KN, George S, Agulnik M, Rushing D, Loggers ET, Livingston MB, Wright J, Chawla SP, Okuno SH, Reinke DK, Riedel RF, Davis LE, Ryan CW, Maki RG. A phase II trial of regorafenib in patients with advanced Ewing sarcoma and related tumors of soft tissue and bone: SARC024 trial results. *Cancer Med.* 2023 Jan;12(2):1532-1539. doi: 10.1002/cam4.5044. Epub 2022 Aug 10. PMID: 35950293; PMCID: PMC9883574.
- ¹¹³ Bielack SS, Smeland S, Whelan JS et al. Methotrexate, doxorubicin, and cisplatin (MAP) plus maintenance pegylated interferon alfa-2b versus MAP alone in patients with resectable high-grade osteosarcoma and good histologic response to preoperative map: first results of the EURAMOS-1 good response randomized controlled trial. *J Clin Oncol* 2015; 33: 2279–2287.
- ¹¹⁴ Bielack SS, Kempf-Bielack B, Delling G et al. Prognostic factors in highgrade osteosarcoma of the extremities or trunk: an analysis of 1,702 patients treated on neoadjuvant cooperative osteosarcoma study group protocols. *J Clin Oncol* 2002; 20: 776–790.
- ¹¹⁵ Bacci G, Bertoni F, Longhi A, et al. Neoadjuvant chemotherapy for high-grade central osteosarcoma of the extremity: Histologic response to preoperative chemotherapy correlates with histologic subtype of the tumor. *Cancer* 2003;97):3068
- ¹¹⁶ Whelan JS, Davis LE. Osteosarcoma, chondrosarcoma, and chordoma. *J Clin Oncol* 2018; 36: 188–193
- ¹¹⁷ Marina NM, Smeland S, Bielack SS et al. Comparison of MAPIE versus MAP in patients with a poor response to preoperative chemotherapy for newly diagnosed high-grade osteosarcoma (EURAMOS-1): an open-label, international, randomised controlled trial. *Lancet Oncol* 2016; 17: 1396–1408

¹¹⁸ Meyers PA, Schwartz CL, Krailo MD et al. Osteosarcoma: the addition of muramyl tripeptide to chemotherapy improves overall survival—a report from the Children’s Oncology Group. *J Clin Oncol* 2008; 26: 633–638.

¹¹⁹ Palmerini E, Jones RL, Marchesi E et al. Gemcitabine and docetaxel in relapsed and unresectable high-grade osteosarcoma and spindle cell sarcoma of bone. *BMC Cancer* 2016; 16: 280.

¹²⁰ Duffaud F, Mir. O, Boudou-Rouquette P, Piperno-Neumann S, Penel N et al. Efficacy and safety of regorafenib in adult patients with metastatic osteosarcoma: a non-comparative, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2019 Jan;20(1):120-133. doi: 10.1016/S1470-2045(18)30742-3. Epub 2018 Nov 23.

¹²¹ Cote, G.M.; He, J.; Choy, E. Next-Generation Sequencing for Patients with Sarcoma: A Single Center Experience. *Oncologist* 2018, 23, 234–242, doi:10.1634/theoncologist.2017-0290.

¹²² Kokkali, S.; Georgaki, E.; Mandrakis, G.; Valverde, C.; Theocharis, S. Genomic Profiling and Clinical Outcomes of Targeted Therapies in Adult Patients with Soft Tissue Sarcomas. *Cells* 2023, 12, 2632. <https://doi.org/10.3390/cells12222632>

¹²³ Groisberg, R.; Hong, D.S.; Holla, V.; Janku, F.; Piha-Paul, S.; Ravi, V.; Benjamin, R.; Kumar Patel, S.; Somaiah, N.; Conley, A.; et al. Clinical Genomic Profiling to Identify Actionable Alterations for Investigational Therapies in Patients with Diverse Sarcomas. *Oncotarget* 2017, 8, 39254–39267, doi:10.18632/oncotarget.16845.

¹²⁴ Arnaud-Coffin, P.; Brahmi, M.; Vanacker, H.; Eberst, L.; Tredan, O.; Attignon, V.; Pissaloux, D.; Sohier, E.; Cassier, P.; Garin, G.; et al. Therapeutic Relevance of Molecular Screening Program in Patients with Metastatic Sarcoma: Analysis from the ProfilER 01 Trial. *Transl Oncol* 2020, 13, 100870, doi:10.1016/j.tranon.2020.100870.

¹²⁵ Subbiah, V.; McMahon, C.; Patel, S.; Zinner, R.; Silva, E.G.; Elvin, J.A.; Subbiah, I.M.; Ohaji, C.; Ganeshan, D.M.; Anand, D.; et al. STUMP Un"stumped": Anti-Tumor Response to Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) Inhibitor Based Targeted Therapy in Uterine Inflammatory Myofibroblastic Tumor with Myxoid Features Harboring DCTN1-ALK Fusion. *J Hematol Oncol* 2015, 8, 66, doi:10.1186/s13045-015-0160-2

¹²⁶ Gounder, M.M.; Agaram, N.P.; Trabucco, S.E.; Robinson, V.; Ferraro, R.A.; Millis, S.Z.; Krishnan, A.; Lee, J.; Attia, S.; Abida, W.; et al. Clinical Genomic Profiling in the Management of Patients with Soft Tissue and Bone Sarcoma. *Nat Commun* 2022, 13, 3406, doi:10.1038/s41467-022-30496-0.

¹²⁷ Jin, G.; Wang, C.; Jia, D.; Qian, W.; Yin, C.; Wang, D.; Yang, Q.; Li, T.; Zheng, A. Next Generation Sequencing Reveals Pathogenic and Actionable Genetic Alterations of Soft Tissue Sarcoma in Chinese Patients: A Single Center Experience. *Technol Cancer Res Treat* 2021, 20, 15330338211068964, doi:10.1177/15330338211068964.

¹²⁸ Lucchesi, C.; Khalifa, E.; Laizet, Y.; Soubeyran, I.; Mathoulin-Pelissier, S.; Chomienne, C.; Italiano, A. Targetable Alterations in Adult Patients With Soft-Tissue Sarcomas: Insights for Personalized Therapy. *JAMA Oncol* 2018, 4, 1398–1404, doi:10.1001/jamaoncol.2018.0723.

¹²⁹ Saijo, K.; Imai, H.; Katayama, H.; Fujishima, F.; Nakamura, K.; Kasahara, Y.; Ouchi, K.; Komine, K.; Shirota, H.; Takahashi, M.; et al. BRAF and MEK Inhibitor Treatment for Metastatic Undifferentiated Sarcoma of the Spermatic Cord with BRAF V600E Mutation. *Case Rep Oncol* 2022, 15, 762–769, doi:10.1159/000526018.

¹³⁰ Boddu, S.; Walko, C.M.; Bienasz, S.; Bui, M.M.; Henderson-Jackson, E.; Naghavi, A.O.; Mullinax, J.E.; Joyce, D.M.; Binitie, O.; Letson, G.D.; et al. Clinical Utility of Genomic Profiling in

the Treatment of Advanced Sarcomas: A Single-Center Experience. *JCO Precis Oncol* 2018, 2, 1–8, doi:10.1200/PO.18.00096.

¹³¹ Morfouace, M.; Horak, P.; Kreutzfeldt, S.; Stevovic, A.; de Rojas, T.; Denisova, E.; Hutter, B.; Bautista, F.; Oliveira, J.; Defachelles, A.-S.; et al. Comprehensive Molecular Profiling of Sarcomas in Adolescent and Young Adult Patients: Results of the EORTC SPECTA-AYA International Proof-of-Concept Study. *Eur J Cancer* 2023, 178, 216–226, doi:10.1016/j.ejca.2022.10.020.

¹³² Gusho, C.A.; Weiss, M.C.; Lee, L.; Gitelis, S.; Blank, A.T.; Wang, D.; Batus, M. The Clinical Utility of Next-Generation Sequencing for Bone and Soft Tissue Sarcoma. *Acta Oncol* 2022, 61, 38–44, doi:10.1080/0284186X.2021.1992009.

¹³³ Elvin, J.A.; Gay, L.M.; Ort, R.; Shuluk, J.; Long, J.; Shelley, L.; Lee, R.; Chalmers, Z.R.; Frampton, G.M.; Ali, S.M.; et al. Clinical Benefit in Response to Palbociclib Treatment in Refractory Uterine Leiomyosarcomas with a Common CDKN2A Alteration. *Oncologist* 2017, 22, 416–421, doi:10.1634/theoncologist.2016-0310.

¹³⁴ Horak, P.; Heining, C.; Kreutzfeldt, S.; Hutter, B.; Mock, A.; Hüllein, J.; Fröhlich, M.; Uhrig, S.; Jahn, A.; Rump, A.; et al. Comprehensive Genomic and Transcriptomic Analysis for Guiding Therapeutic Decisions in Patients with Rare Cancers. *Cancer Discov* 2021, 11, 2780–2795, doi:10.1158/2159-8290.CD-21-0126

¹³⁵ Brahmi, M.; Tredan, O.; Penel, N.; Chevreau, C.; Perrin, C.; Firmin, N.; Bompas, E.; Bertucci, F.; Attignon, V.; Saintigny, P.; et al. Large versus Limited Molecular Profiling Panel Screening Program in Patients with Metastatic Sarcoma: An Exploratory Subgroup Analysis from the ProfilER 02 Trial. *JCO* 2023, 41, 11545–11545, doi:10.1200/JCO.2023.41.16_suppl.11545

¹³⁶ Painter, C.A.; Jain, E.; Tomson, B.N.; Dunphy, M.; Stoddard, R.E.; Thomas, B.S.; Damon, A.L.; Shah, S.; Kim, D.; Gómez Tejada Zañudo, J.; et al. The Angiosarcoma Project: Enabling Genomic and Clinical Discoveries in a Rare Cancer through Patient-Partnered Research. *Nat Med* 2020, 26, 181–187, doi:10.1038/s41591-019-0749-z.

¹³⁷ Eder, J.P.; Doroshow, D.B.; Do, K.T.; Keedy, V.L.; Sklar, J.S.; Glazer, P.; Bindra, R.; Shapiro, G.I. Clinical Efficacy of Olaparib in IDH1/IDH2-Mutant Mesenchymal Sarcomas. *JCO Precis Oncol* 2021, 5, PO.20.00247, doi:10.1200/PO.20.00247.

¹³⁸ Saller, J.; Walko, C.M.; Millis, S.Z.; Henderson-Jackson, E.; Mankanji, R.; Brohl, A.S. Response to Checkpoint Inhibitor Therapy in Advanced Classic Kaposi Sarcoma: A Case Report and Immunogenomic Study. *J Natl Compr Canc Netw* 2018, 16, 797–800, doi:10.6004/jnccn.2018.7018.

¹³⁹ Lopes-Brás, R.; Lopez-Presa, D.; Esperança-Martins, M.; Melo-Alvim, C.; Gallego, L.; Costa, L.; Fernandes, I. Genomic Profiling of Sarcomas: A Promising Weapon in the Therapeutic Arsenal. *Int J Mol Sci* 2022, 23, 14227, doi:10.3390/ijms232214227

¹⁴⁰ Mateo J, Chakravarty D, Dienstmann R, Jezdic S, Gonzalez-Perez A, Lopez-Bigas N et al. A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets (ESCAT). *Ann Oncol*. 2018 Sep 1;29(9):1895-1902. doi: 10.1093/annonc/mdy263. PMID: 30137196; PMCID: PMC6158764.

¹⁴¹ Italiano A, Di Mauro I, Rapp J, Pierron G, Auger N, Alberti L, Chibon F, Escande F, Voegeli AC, Ghnassia JP, Keslair F, Laé M, Ranchère-Vince D, Terrier P, Baffert S, Coindre JM, Pedeutour F. Clinical effect of molecular methods in sarcoma diagnosis (GENSARC): a prospective, multicentre, observational study. *Lancet Oncol*. 2016 Apr;17(4):532-538. doi: 10.1016/S1470-2045(15)00583-5. Epub 2016 Mar 10. PMID: 26970672.

¹⁴² Ecaterina Elena Dumbrava, Melissa Lynne Johnson, Anthony W. Tolcher, Geoffrey Shapiro, John A. Thompson, Anthony B. El-Khoueiry et al. First-in-human study of PC14586, a small molecule structural corrector of Y220C mutant p53, in patients with advanced solid tumors harboring a TP53 Y220C mutation. DOI: 10.1200/JCO.2022.40.16_suppl.3003 *Journal of Clinical Oncology* 40,no.16_suppl (June 01,2022) 3003-3003.

¹⁴³ <https://tp53.isb-cgc.org/>

¹⁴⁴ Italiano A, Dinart D, Soubeyran I, Bellera C, Espérou H, Delmas C, Mercier N, Albert S, Poignie L, Boland A, Bourdon A, Geneste D, Cavaille Q, Laizet Y, Khalifa E, Auzanneau C, Squiban B, Truffaux N, Olaso R, Gerber Z, Wallet C, Bénard A, Blay JY, Laurent-Puig P, Deleuze JF, Lucchesi C, Mathoulin-Pelissier S; MULTISARC study group. Molecular profiling of advanced soft-tissue sarcomas: the MULTISARC randomized trial. *BMC Cancer*. 2021 Nov 5;21(1):1180. doi: 10.1186/s12885-021-08878-2. PMID: 34740331; PMCID: PMC8570026.