

# Histološke i molekularne karakteristike osteosarkoma

---

Gumzej, Zara

Master's thesis / Diplomski rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, School of Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:105:386089>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-16**



Repository / Repozitorij:

[Dr Med - University of Zagreb School of Medicine Digital Repository](#)



**SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
MEDICINSKI FAKULTET**

**Zara Gumzej**

# **Histološke i molekularne karakteristike osteosarkoma**

**DIPLOMSKI RAD**



**Zagreb, 2024.**

*Ovaj diplomski rad izrađen je na Zavodu za patologiju Medicinskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu pod vodstvom doc. dr. sc. Ane Šepac i predan je na ocjenu u akademskoj godini 2023./2024.*

## **Popis i objašnjenje kratica korištenih u radu:**

**AD** - autosomno dominantno (engl. *autosomal dominant*)

**ADM** - adriamicin (engl. *adriamycin*)

**AJCC** - američki odbor za rak (engl. *American Joint Comitee on Cancer*)

**ALP** - alkalna fosfataza (engl. *alkaline phosphatase*)

**ALT** - alternativno produljenje telomera (engl. *alternative lengthening of telomeres*)

**BLM** - helikaza povezana s Bloomovim sindromom (engl. *Bloom syndrome helicase*)

**BRCA** - gen za rak dojke (engl. *breast cancer associated gene*)

**CAR-T** - kimerički antigenski receptor T (engl. *chimeric antigen receptor T*)

**CCNE1** - ciklin E1 (engl. *cyclin E1*)

**CDK4** - kinaza ovisna o ciklinu 4 (engl. *cyclin-dependent kinase 4*)

**CDK4/6** - kinaza ovisna o ciklinu 4/6 (engl. *cyclin-dependent kinase 4/6*)

**CDKI** - inhibitori kinaza ovisnih o ciklinima (engl. *cyclin-dependent kinase inhibitor*)

**CHEK2** - kinaza kontrolne točke 2 (engl. *checkpoint kinase two*)

**CIMP** - CpG otoci metilatorskog fenotipa (engl. *CpG island methylator phenotype*)

**CIN** - kromosomska nestabilnost (engl. *chromosomal instability*)

**CT** - kompjuterizirana tomografija (engl. *computed tomography*)

**DC** - dendritičke stanice (engl. *dendritic cells*)

**DDP** - cisplatina (engl. *cisplatin*)

**DNK** - deoksiribonukleinska kiselina (engl. *deoxyribonucleic acid*)

**ERBB2** - Erb-B2 receptor tirozin kinaza 2 (engl. *Erb-B2 Receptor Tyrosine Kinase 2*)

**FDG** - fluorodeoksiglukoza (engl. *fluorodeoxyglucose*)

**HER2** - humani epidermalni čimbenik rasta 2 (engl. *human epidermal growth factor receptor 2*)

**HIFU** - visokofrekventni fokusirani ultrazvuk (engl. *high intensity focused ultrasound*)

**IDH** - izocitrat dehidrogenaza (engl. *isocitrate dehydrogenase*)

**IL-2** - interleukin 2 (engl. *interleukin 2*)

**Ki-67** - mitotički indeks Ki-67 (engl. *Ki-67 mitotic index*)

**LDH** - laktat dehidrogenaza (engl. *lactate dehydrogenase*)

**LFS1** - Li-Fraumeni sindrom tip 1 (engl. *Li-Fraumeni syndrome type 1*)

**LFS2** - Li-Fraumeni sindrom tip 2 (engl. *Li-Fraumeni syndrome type 2*)

**LOH** - gubitak heterozigotnosti (engl. *loss of heterozygosity*)

**MDM2** - mišji dvostruki minutni 2 homolog (engl. *mouse double minute 2 homolog*)

**MIN** - mikrosatelitna nestabilnost (engl. *microsatellite instability*)

**MRI** - magnetska rezonancija (engl. *magnetic resonance imaging*)

**MSTS**- Društvo za koštano mišićnu onkologiju (engl. *Musculoskeletal Tumor Society*)

**MTX** - metotreksat (engl. *methotrexate*)

**NCCN** - Nacionalna mreža za sveobuhvatnu borbu protiv raka (engl. *National Comprehensive Cancer Network*)

**NK** - prirodne stanice ubojice (engl. *natural killer cells*)

**PARP** - poli ADP-riboza polimeraza (engl. *Poly-ADP ribose polymerase*)

**PD-1** - protein za programiranu smrt stanice (engl. *programmed cell death protein 1*)

**PD-L1** - ligand za programiranu smrt stanice 1 (engl. *programmed death ligand 1*)

**PET** - pozitronska emisijska tomografija (engl. *positron emission tomography*)

**PTEN** – homolog fosfataze i tenzina (engl. *phosphatase and tensin homolog*)

**RB** - retinoblastom gen (engl. *retinoblastoma gene*)

**RECQ4L** - helikaza 4 nalik na RecQ (engl. *RecQ Like Helicase 4*)

**RFA** - radiofrekventna ablacija (engl. *radiofrequency ablation*)

**ROS** - reaktivni oblici kisika (engl. *reactive oxygen species*)

**RTG** - radiografija (engl. *radioisotope thermoelectric generator*)

**RTK** - receptor tirozin kinaze (engl. *receptor tyrosine kinase*)

**RTS** - Rothmund-Thomson sindromom (engl. *Rothmund-Thomson syndrome*)

**SNP** - polimorfizam jednog nukleotida (engl. *single nucleotide polymorphism*)

**TACE** - transkateterska arterijska kemoembolizacija (engl. *transcatheter arterial chemoembolization*)

**TC99 MDP** - tehnecij 99 metilendifosfat (engl. *Technetium-99m methylene diphosphonate*)

**TNM** - tumor, limfni čvor, metastaza (engl. *tumor node metastasis*)

**TP53** - tumorski protein p53 (engl. *tumor protein p53*)

**WRN** - Wernerov protein (engl. *Werner protein*)

## Sadržaj:

1.	<b>Sažetak</b> .....	1
2.	<b>Summary</b> .....	2
3.	<b>Uvod u osteosarkom</b> .....	3
3.1.	<b>Definicija osteosarkoma</b> .....	3
3.2.	<b>Epidemiologija osteosarkoma</b> .....	3
3.3.	<b>Etiologija osteosarkoma</b> .....	3
3.4.	<b>Klinička slika osteosarkoma</b> .....	4
4.	<b>Dijagnostičke metode</b> .....	5
4.1.	<b>Laboratorijska analiza</b> .....	5
4.2.	<b>Radiološka dijagnostika</b> .....	5
4.2.1.	<b>Radiografija (RTG)</b> .....	6
4.2.2.	<b>Kompjutorizirana tomografija (CT)</b> .....	6
4.2.3.	<b>Magnetska rezonancija (MRI)</b> .....	7
4.3.	<b>Nuklearna dijagnostika</b> .....	7
4.4.	<b>Biopsija</b> .....	8
4.5.	<b>Diferencijalna dijagnoza</b> .....	8
4.6.	<b>Određivanje stadija osteosarkoma</b> .....	9
5.	<b>Histološke karakteristike i klasifikacija osteosarkoma</b> .....	10
5.1.	<b>Histološki oblici osteosarkoma</b> .....	10
5.1.1.	<b>Klasični osteosarkom</b> .....	11
5.1.2.	<b>Teleangiektatični osteosarkom</b> .....	11
5.1.3.	<b>Sitnostanični osteosarkom</b> .....	11
5.1.4.	<b>Epiteloidni osteosarkom</b> .....	12
5.1.5.	<b>Osteosarkom sličan osteoblastomu ili hondrosarkomu</b> .....	12
5.1.6.	<b>Velikostanični osteosarkom</b> .....	13
5.1.7.	<b>Centralni osteosarkom niskog gradusa</b> .....	13
5.1.8.	<b>Površinski osteosarkom</b> .....	14
5.1.9.	<b>Multifokalni osteosarkom</b> .....	14
5.1.10.	<b>Ekstraskeletalni osteosarkom</b> .....	15
5.2.	<b>Histološki i nuklearni gradus</b> .....	15
6.	<b>Molekularne karakteristike osteosarkoma</b> .....	16
6.1.	<b>Genomska nestabilnost</b> .....	16

<b>6.2. Mutacije povezane s pojedinim tipovima osteosarkoma.....</b>	<b>17</b>
<b>6.2.1. Klasični osteosarkom.....</b>	<b>17</b>
<b>6.2.2. Telenagiektatični osteosarkom.....</b>	<b>18</b>
<b>6.2.3. Sitnostanični osteosarkom.....</b>	<b>19</b>
<b>6.2.4. Periostealni osteosarkom.....</b>	<b>19</b>
<b>6.2.5. Centralni osteosarkom niskog gradusa.....</b>	<b>19</b>
<b>7. Nasljedni sindromi u sklopu kojih se javlja osteosarkom.....</b>	<b>19</b>
<b>7.1. Li-Fraumeni sindrom.....</b>	<b>19</b>
<b>7.2. Sindrom nasljednog retinoblastoma.....</b>	<b>20</b>
<b>7.3. RECQ poremećaji.....</b>	<b>20</b>
<b>7.3.1. Rothmund-Thomson tip II i RAPALINDINO sindromi.....</b>	<b>20</b>
<b>7.3.2. Wernerov sindrom.....</b>	<b>20</b>
<b>7.3.3. Bloomov sindrom.....</b>	<b>21</b>
<b>7.4. Diamond-Blackfanova anemija.....</b>	<b>21</b>
<b>8. Terapijski pristupi liječenju osteosarkoma.....</b>	<b>21</b>
<b>8.1. Kemoterapijski režimi.....</b>	<b>22</b>
<b>8.2. Razvoj i primjena ciljano usmjerenih lijekova.....</b>	<b>22</b>
<b>8.3. Radioterapija.....</b>	<b>24</b>
<b>8.4. Terapija s očuvanjem ekstremiteta (engl. limb salvage treatment).....</b>	<b>24</b>
<b>8.5. Intervencijska terapija.....</b>	<b>25</b>
<b>8.6. Imunoterapija.....</b>	<b>26</b>
<b>8.7. Ablacijska terapija.....</b>	<b>27</b>
<b>9. Zaključak.....</b>	<b>28</b>
<b>10. Zahvale.....</b>	<b>29</b>
<b>11. Literatura.....</b>	<b>30</b>
<b>12. Životopis.....</b>	<b>35</b>





## 1. Sažetak

### **Histološke i molekularne karakteristike osteosarkoma**

Osteosarkom je najčešći primarni maligni tumor kostiju, sastavljen od stanica mezenhimalnog podrijetla koje proizvode nezrelo koštano tkivo. Incidencija osteosarkoma iznosi 2-3 nova slučaja na milijun ljudi godišnje, a najčešće se javlja u dobi između 15 i 19 godina, kada doseže 8 do 11 novih slučajeva na milijun godišnje. Neki od dokazanih rizičnih čimbenika za razvoj osteosarkoma uključuju izloženost ionizirajućem zračenju, alkilirajućim agensima te prisutnost Pagetove bolesti. Iako većina osteosarkoma nastaje sporadično, mali dio se pojavljuje u sklopu nasljednih sindroma raka, ponajprije Li-Fraumeni sindroma i sindroma nasljednog retinoblastoma. Tipični klinički znakovi s kojima se pacijenti prezentiraju uključuju lokaliziranu bol, edem i smanjenje opsega pokreta. Sumnja na osteosarkom postavlja se temeljitim kliničkim pregledom, radiološkim, nuklearnim i laboratorijskim testovima, dok konačnu potvrdu pruža biopsija s detaljnom patohistološkom analizom. Osteosarkomi se mogu podijeliti prema smještaju u odnosu na kost na intramedularne, površinske i ekstraskeletalne, a histološki na osteoblastične, hondroblastične i fibroblastične podtipove ovisno o predominantnoj komponenti ekstracelularnog matriksa. U ovom radu opisat će se glavni histološki oblici osteosarkoma, njihova molekularna obilježja i najbitnije kliničke karakteristike. Raspraviti će se različiti pristupi onkološkom liječenju, ovisno o patohistološkim specifičnostima svakog tumora, kao i metode prevencije metastatskog širenja i recidiva bolesti. Fokus će biti na razumijevanju patoloških karakteristika različitih tipova osteosarkoma i najnovijim saznanjima u molekularnoj dijagnostici te kako se ta saznanja koriste za razvoj novih modaliteta liječenja. Pojasnit će se učestalije genetske mutacije povezane s određenim histološkim podtipovima osteosarkoma, kao i sindromi u sklopu kojih se osteosarkom često pojavljuje. Objasniti će se tradicionalni pristupi liječenju, najnovije preporuke te potencijalni smjerovi razvoja budućih terapijskih mogućnosti. Također, razmotriti će se napreci u ciljanoj genskoj terapiji osteosarkoma i njihov potencijalni utjecaj na poboljšanje ishoda liječenja pacijenata. Zaključno, govorit će se o brzom razvoju imunoterapije u onkološkom liječenju i mogućnostima primjene novih saznanja u liječenju osteosarkoma.

**Ključne riječi: ciljano usmjereni lijekovi; genetske aberacije; histopatološke karakteristike; molekularna onkogeneza; osteosarkom**

## **2. Summary**

### **Histologic and molecular features of osteosarcoma**

Osteosarcoma is the most common primary malignant bone tumor, composed of cells of mesenchymal origin that produce immature bone tissue. The incidence of osteosarcoma is 2-3 new cases per million people per year, with the highest occurrence in the age group between 15 and 19 years old, where it reaches 8 to 11 new cases per million per year. Some proven risk factors for the development of osteosarcoma include exposure to ionizing radiation, alkylating agents, and the presence of Paget's disease. Although most osteosarcomas arise sporadically, a small portion occurs as part of hereditary cancer syndromes, primarily Li-Fraumeni syndrome and hereditary retinoblastoma syndrome. Typical clinical signs with which patients present include localized pain, edema, and reduced range of motion. The suspicion of osteosarcoma is established through a thorough clinical examination, radiological, nuclear, and laboratory tests, while the final confirmation is provided by biopsy with detailed pathohistological analysis. Osteosarcomas can be categorized based on their location relative to the bone into intramedullary, surface, and extraskeletal types, and histologically into osteoblastic, chondroblastic, and fibroblastic subtypes, depending on the predominant component of the extracellular matrix. This paper explores osteosarcoma's histological forms, molecular traits, clinical features, and treatment approaches, focusing on preventing metastasis and recurrence. The paper will examine the pathological characteristics and molecular diagnostics of osteosarcoma subtypes, including common genetic mutations and associated syndromes, and how this information informs the development of new treatment strategies. Traditional treatment approaches, the latest recommendations, and potential directions for the development of future therapeutic options will be described. Advances in targeted gene therapy for osteosarcoma and their potential impact on improving patient treatment outcomes will also be considered. In conclusion, the rapid development of immunotherapy in oncological treatment and the potential application of new insights in treating osteosarcoma will be discussed.

**Keywords: genetic aberrations; histopathological characteristics; molecular oncogenesis; osteosarcoma, targeted therapies**

### **3. Uvod u osteosarkom**

#### **3.1. Definicija osteosarkoma**

Osteosarkom je najčešći primarni maligni tumor kostiju koji se može pojaviti u raznolikim histološkim oblicima i stupnjevima malignosti. Može biti smješten unutar kostiju, najčešće u intramedularnom ili intrakortikalnom odjeljku, na površini kosti ili potpuno nepovezano s koštanim tkivom, kada se naziva ekstraosealnim osteosarkomom. Osteosarkom se definira kao maligni tumor vezivnog tkiva mezodermalnog podrijetla čije stanice proizvode koštano tkivo ili osteoid. Iako bi se zbog ovakve definicije moglo pomisliti kako osteosarkomi nastaju iz osteoblasta, ne postoje nikakvi dokazi koji bi sugerirali da jednom diferencirani osteoblasti zadržavaju mogućnost dediferencijacije u primitivnije stanice. Prognoza, osim o stadiju bolesti i histološkom tipu, ovisi i o anatomske lokaciji same lezije. (1)

#### **3.2. Epidemiologija osteosarkoma**

Osteosarkom ima tendenciju pojavljivanja u bimodalnoj raspodjeli. Prvi porast učestalosti javlja se u dobnoj skupini između 10 i 14 godina, što se povezuje s fazom ubrzanog rasta tijekom puberteta. Većina primarnih osteosarkoma pojavljuje se u ovoj dobnoj skupini. Incidencija osteosarkoma u dobnoj skupini od 0 do 19 godina iznosi 5 slučajeva na milijun ljudi godišnje. Najčešća predilekcijska mjesta primarnih osteosarkoma su duge kosti oko koljenskog zgloba. Drugi porast incidencije primjećuje se kod osoba starijih od 65 godina, kod kojih se češće pojavljuju sekundarni oblici tumora u sklopu Pagetove bolesti ili nakon infarkta kostiju. Osobe afričkog podrijetla imaju najveću incidenciju osteosarkoma, koja iznosi 6,8 slučajeva na milijun ljudi godišnje, dok je kod osoba europskog podrijetla incidencija niža i iznosi 4,6 slučajeva na milijun ljudi godišnje. Incidencija osteosarkoma oduvijek je bila nešto veća kod muškaraca nego kod žena, s 5,4 slučaja na milijun muškaraca godišnje u usporedbi s 4 slučaja na milijun žena godišnje. Petogodišnja stopa preživljenja iznosi 68 % i ne pokazuje značajne razlike ovisno o spolu i rasi. Najveći negativni prediktivni faktor preživljenja je starija dob pacijenata. (2)

#### **3.3. Etiologija osteosarkoma**

Etiologija osteosarkoma ostaje nerazjašnjena, uglavnom zbog velike histološke i molekularne raznolikosti te raznovrsnih mutacija koje dovode do njegovog razvoja. (2)

Smatra se da većina osteosarkoma nastaje kombinacijom okolišnih uzroka i genetske predispozicije. Neki od dokazanih rizičnih čimbenika su izloženost ionizirajućem zračenju, alkilirajućim agensima te prisutnost Pagetove bolesti. (3) Povećana incidencija razvoja mnogih malignih tumora, uključujući i osteosarkom, nalazi se u okviru brojnih nasljednih sindroma. (4) Iako većina osteosarkoma nastaje sporadično, mali postotak se javlja kao dio nasljednih sindroma raka. Rani početak, bilateralni, multifokalni i metakroni tumori upućuju na genetsku predispoziciju za nastanak tumora. (5) Oko 70 % osteosarkoma ima stečene genske abnormalnosti u obliku strukturnih i brojčanih kromosomskih aberacija. Najčešće genetske promjene koje dovode do nastanka osteosarkoma su mutacije u tumor supresorskim genima i protoonkogenima. Nasljedne mutacije u tumorsupresorskom genu *RB* povećavaju mogućnost razvoja osteosarkoma i do 1000 puta, a somatske mutacije u istom genu mogu se pronaći u 70 % sporadično nastalih osteosarkoma. TP53 je jedan od najčešće mutiranih gena u osteosarkomima, kako u sklopu Li-Fraumenijeva sindroma, tako i u slučaju sporadično nastalih mutacija. (6)

### **3.4. Klinička slika osteosarkoma**

Simptomi mogu biti prisutni dugo, ponekad čak i mjesecima, prije nego što oboljeli potraže pomoć. Najčešće se manifestira bolovima u kostima koji se pojačavaju tijekom fizičke aktivnosti i uzrokuju šepanje ili poštedu zahvaćenog uda. Zbog nespecifične prirode simptoma i lokaliziranih tegoba, često se pripisuju bolovima zbog rasta, artritisa ili uganuća. Fizikalnim pregledom može se otkriti palpabilna bolna tumorska masa i smanjen opseg pokreta u zahvaćenom zglobu. Iznad tumorske promjene mogu se pronaći površinski eritem, pojačan venski crtež ili neki drug znak hipervaskularnog zbivanja. Patološki prijelomi nisu uobičajen simptom osteosarkoma, a češće se pojavljuju kod teleangiektatičnog oblika. (2) Unatoč tome što se osteosarkom najčešće pojavljuje u medularnom kanalu metafize dugih kostiju, mjesto nastanka može biti smješteno na površini kosti, intrakortikalno ili potpuno ekstraosealno. Osteosarkomi se na površini kostiju pojavljuju s čak 20 puta manjom učestalošću nego u medularnom kanalu i većinom se svrstavaju u tumore niskog gradusa. Osteosarkom ima tendenciju radijalnog rasta, pri čemu s vremenom probija korteks kosti i zajedno s okolnim tkivom stvara pseudokapsularni sloj koji se naziva reaktivnom zonom. Inicijalne mikrometastaze u reaktivnoj zoni nazivaju se sateliti, a njihovo postojanje jedan je od razloga potrebe za širokom resekcijom inicijalne tumorske mase. Tumor može metastazirati regionalno, unutar istog ekstremiteta, ili sistemski, na udaljene organe, najčešće pluća. Rana dijagnostika i pravovremeno liječenje uzrok su da samo 20 % svih osteosarkoma ima

dokazane metastaze u trenutku dijagnoze. Tumorske tvorbe unutar iste kosti, ali izvan reaktivne zone, nazivaju se „skip lezije“ i predstavljaju regionalne intraosealne metastaze. Najčešće lokalizacija sistemskih metastaza su pluća i kosti, s time da udaljene koštane metastaze nastaju u završnoj fazi bolesti i povezane su s lošijom prognozom. (7) (1)

#### **4. Dijagnostičke metode**

Prema smjernicama NCCN (engl. National Comprehensive Cancer Network) preporuča se u dijagnostičku obradu uključiti laboratorijsku analizu, radiološke i nuklearne slikovne pretrage, biopsiju, kao i konzultacije o metodama očuvanja fertiliteta.

##### **4.1. Laboratorijska analiza**

Većina smjernica preporučuje napraviti pretragu kompletne krvne slike svakom pacijentu, kao i izmjeriti serumskih biokemijskih markera laktat dehidrogenaza (engl. *lactate dehydrogenase*, LDH) i alkalna fosfataza (engl. *alkaline phosphatase*, ALP). Izrazito je bitno izmjeriti serumske razine alkalne fosfataze jer ona ima veliko značenje u postavljanju dijagnoze, ali i u praćenju tumorskog odgovora na liječenje. Više serumske razine dokazano su povezane s većom osteoblastičnom aktivnošću tumora kao i lošijom prognozom bolesti. Ukoliko visoke razine perzistiraju nakon provedenog kirurškog liječenja, to može upućivati na preostalu bolest ili recidiv bolesti, kao i ukazivati na postojanje metastatske bolesti. (8)

##### **4.2. Radiološka dijagnostika**

Osnovna radiološka dijagnostika uključuje radiografiju (engl. *radioisotope thermoelectric generator, RTG*), magnetsku rezonanciju (engl. *magnetic resonance imaging, MRI*), kompjutoriziranu tomografiju (engl. *computerized tomography, CT*). Lokacija tumora unutar metafizne ploče rasta, karakteristične mješovite osteolitične/osteoblastične promjene, kao i destrukcija korteksa, pobuđuju kliničku sumnju na postojanje osteosarkoma. U više od polovice slučajeva dijagnoza se može postaviti na temelju klasične rendgenske snimke, pogotovo kada su prisutne specifične radiološke značajke. Međutim, u nekim situacijama radiološka dijagnostika može ukazivati na drugu malignu promjenu, ili, u rijetkim slučajevima, može pokazivati potpuno benigne karakteristike. Zbog ovih razloga uvijek je neophodno potvrditi dijagnozu biopsijom i patohistološkom analizom bioptata. (9) (1)

#### 4.2.1. Radiografija (RTG)

Unatoč činjenici da je MRI standardna tehnika u dijagnostici osteosarkoma, zbog svoje dostupnosti, klasična rendgenska snimka je najčešća prva slikovna metoda kojoj se pacijenti podvrgnu nakon otkrivanja suspektne lezije. Preoperativni protokol nalaže RTG snimku cijele kosti i susjednog zgloba iz najmanje 2 smjera. (10)

RTG snimka je superiorna zbog brze procjene malignosti ili benignosti tumorske promjene. Klasični nalaz osteosarkoma na RTG snimci ima nekoliko važnih osobitosti čije postojanje olakšava postavljanje ispravne dijagnoze. Zbog invazivnog rasta i infiltracije okolnog tkiva često se može vidjeti destrukcija medularne i kortikalne arhitekture zahvaćene kosti kao i nepravilan rub lezije koji izgledom podsjeća kao da su ga „moljci pojeli“ (engl. *moth-eaten*). Rastom tumorske mase može doći do odizanja periosta s korteksa kosti što dovodi do pojave Codmanovog trokuta koji je karakterističan za osteosarkom. Svojim agresivnim širenjem izaziva periostitis koji se očituje kao spikulirana lezija koja podsjeća na izlazeće sunce (engl. *sunburst configuration*). Slabo ograničene lezije „poput oblaka“ (engl. *cloud-like*), kao i karakterističan uzorak mineralizacije novostvorenog osteoidnog matriksa, upućuju na povećanu vjerojatnost malignosti lezije. (2) Različiti histološki tipovi osteosarkoma imaju različite radiološke karakteristike, na primjer, osteolitičke promjene karakteristične su za teleangiektatični tip osteosarkoma, dok su kod sklerozirajućeg tipa češće osteoblastične promjene. Nakon provedenog kemoterapijskog liječenja tumorske promjene postaju bolje definirane, pravilnijih rubova i s povećanim udjelom mineraliziranog matriksa. (11)

#### 4.2.2. Kompjutorizirana tomografija (CT)

Na CT snimci bolje se prikazuje arhitektura i kortikalni integritet kosti, kao i postojanje patoloških fraktura, ako su prisutne. Najjasnije se prikazuju sitna područja osifikacije i kalcifikacije unutar hrskavične komponente koje drugim slikovnim metodama mogu promaknuti. (11) U slučajevima kada je prisutna opsežna nekroza tumorskog tkiva, CT snimka ima prednost nad MRI zbog bolje detekcije opsega tumorske infiltracije u meka tkiva. Korištenje kontrastnog sredstva omogućava bolju vizualizaciju neurovaskularnih struktura u okolini tumora što olakšava planiranje kirurške resekcije. CT angiografijom najbolje se vizualizira neovaskularizacija. CT snimkama toraksa najranije se otkrivaju metastatske promjene u plućnom parenhimu. (7)

### **4.2.3. Magnetska rezonancija (MRI)**

Magnetska rezonancija predstavlja zlatni standard u dijagnostici osteosarkoma, ponajviše zbog jasne vizualizacije tumorskih granica unutar i izvan kosti. Najviše se koriste standardne T1 i T2 mjerene slike sa supresijom signala masnog tkiva. Većina tumora prikazuje se hipointenzivno na T1 mjerenoj snimci, a na T2 hiperintenzivno. Ona omogućava precizan prikaz opsega tumorski promijenjenog tkiva i njegovog odnosa prema okolnim mekotkivnim strukturama i medularnom kanalu, kao i zahvaćenost zglobnih površina. Potrebno je snimkom zahvatiti čitavu kosti i susjedne zglobove kako bi se mogle prikazati skip-lezije i širenje tumora u meka tkiva. Nakon provedenog kemoterapijskog liječenja, promjene se mogu jasno prikazati primjenom gadolinijskog kontrastnog sredstva koje vizualizira oštru granicu između inkapsuliranog tumorskog tkiva i nezahvaćene okoline. (7)(11)

### **4.3. Nuklearna dijagnostika**

Najčešće korišten radionuklid u scintigrafskim pretragama kostiju je tehnecij 99 metilendifosfat (Tc99 MDP). Pretraga se odvija u tri faze, pri čemu svaka ima različite intervale slikanja u odnosu na početnu aplikaciju radionuklida. U prvoj fazi prikazuje se protok krvi identičan radionuklidnom angiogramu. U drugoj fazi radionuklid ulazi u međustanični prostor, a u trećoj fazi preostaje samo radionuklid u predjelima s pojačanom osteoplastičnom aktivnošću. Scintigrafija kostiju najdostupnija je i najjeftinija pretraga za procjenu udaljenih koštanih metastaza. Pozitronska emisijska tomografija (engl. *positron emission tomography*, PET) u kombinaciji s CT-om omogućava spoj vizualizacije anatomskih struktura i metaboličke aktivnosti pojedinih organa. Ona omogućava detekciju udaljenih metastaza i procjenu metaboličke aktivnosti suspektne lezije. PET ima višestruku upotrebu u dijagnostici i praćenju tijeka bolesti kod oboljelih od osteosarkoma, kao i u procjeni odgovora na liječenje. Koristi se pri odabiru najbolje regije za uzimanje bioptata suspektne lezije, procjeni stadija i proširenosti bolesti, monitoriranju odgovora na terapiju, kao i za dokazivanje udaljenih presadnica bolesti. Najveća mana PET-CT pretrage je izrazito visoka cijena proizvodnje i transporta najčešće korištenog radiofarmaka fluorodeoksiglukoze (FDG). (11)



#### **4.4. Biopsija**

Nakon fizikalnog pregleda, laboratorijske analize i slikovnih pretraga koje ukazuju na postojanje lezije suspektne na osteosarkom, definitivna dijagnoza potvrđuje se uzimanjem bioptičkog uzorka i provođenjem patohistološke analize. Otvorena kirurška biopsija prije se smatrala najsigurnijim načinom uzimanja bioptičkog uzorka zbog veće preciznosti i kontrole nad opsegom bioptata. Međutim, novije spoznaje otkrile su kako ciljana biopsija širokom iglom dovodi do manjeg broja infekcija, nepravilnog zarastanja rane i rasipanja tumorskih stanica. Core biopsija provodi se širokom iglom jednim ubodom u području planirane resekcije tumora. Potrebno je nekoliko različitih uzoraka iz reprezentativnih perifernih regija suspektne lezije kako bi se osigurala dovoljna količina materijala za postavljanje ispravne dijagnoze. Bitno je izbjegavati uzimanje uzorka iz centralnog područja nekroze zbog male količine adekvatnog tkiva, kao i iz područja Codmanovog trokuta koje se pretežno sastoji od reaktivnog koštanog tkiva. Tkivo za biopsiju zatim se proučava svježe ili u smrznutom obliku, nakon čega se može postaviti definitivna dijagnoza, gradus i histološka klasifikacija tumora. Važnost pravovremenog postavljanja ispravne dijagnoze očituje se u potrebi za provođenjem predoperativnog neoadjuvatnog kemoterapijskog protokola u određenim tipovima osteosarkoma. (2) (12)

#### **4.5. Diferencijalna dijagnoza**

Bitno je naglasiti važnost sagledavanja široke i temeljite diferencijalne dijagnoze pri kliničkom prosuđivanju svake lezije suspektne na osteosarkom. Radiološka slika osteosarkoma može se lako zamijeniti s nespecifičnim upalnim stanjima kostiju poput osificirajućeg miozitisa (MO), benignim osteogenim tumorima, kao što su osteoid osteom i osteoblastom, ili osteoidnom komponentnom malignih tumora drugog podrijetla. (12) Sama klinička slika nije dovoljna kako bi se mogla potvrditi sumnja na postojanje maligne tvorbe te je pri postojanju zabrinjavajućih simptoma muskuloskeletnog sustava uvijek potrebno učiniti RTG pretragu. Podatak o trajanju i progresiji simptoma nezamjenjiv je pri odluci je li lezija benigna ili maligna, a prisutnost sistemskih znakova bolesti može suziti diferencijalno dijagnostički pristup. Starost pacijenta jedan je od bitnih čimbenika pri procjeni vjerojatnosti nastanka osteosarkoma, koji se s najvećom učestalošću pojavljuje u adolescentnoj dobi. Ako se lezija nalazi kod pacijenta starije životne dobi, potrebno je razmotriti mogućnost postojanja multiplog mijeloma ili koštanih metastaza tumora udaljenih primarnih sjela, najčešće karcinoma dojke, prostate i pluća. Infekcije se pojavljuju s podjednakom učestalošću u svakoj dobi i uvijek ih je bitno isključiti prije

postavljanja dijagnoze maligne bolesti. Potrebno je uzeti u obzir i lokalizaciju promjene, zato što pojedine vrste tumora pokazuju predilekciju prema određenim kostima ili lokaciji unutar same kosti. Primjerice, osteosarkom primarno zahvaća područja metafiza dugih kostiju, dok osteoblastom pokazuje tendenciju pojavljivanja u predjelu vertebralne kolumne, a Ewingov sarkom najčešće zahvaća dijafize dugih kostiju. (13)

#### 4.6. Određivanje stadija osteosarkoma

U određivanju stadija tumora kostiju mogu se koristiti razne klasifikacije, a neke od češće upotrebljavanih su TNM klasifikacija (engl. Tumor Node Metastasis), Ennekin klasifikacija malignih tumora kostiju te klasifikacija Američkog društva za rak (engl. *American Joint Comitee on Cancer, AJCC*) (13). Ennekin klasifikacija malignih tumora kostiju često se koristi u ortopediji jer uzima u obzir preciznu anatomsku lokalizaciju tumora unutar kosti, što olakšava planiranje kirurške intervencije. Ovisno o vrsti histološkog gradusa, lokalne proširenosti i prisutnosti metastaza tumori se dijele u 3 stadija: stadij I opisuje dobro diferencirane tumore s niskom razinom mitoze i stanične atipije koji rijetko metastaziraju, dok se stadij II koristi pri opisivanju loše diferenciranih tumora s visokim mitotičkim indeksom (Ki-67), a svi oblici metastatske bolesti pripadaju stadiju III. Onkolozi više koriste AJCC klasifikaciju koja, unatoč tome što ne uzima u obzir anatomsku lokalizaciju tumora, detaljnije opisuje veličinu samog tumora koja korelira s vjerojatnošću postojanja metastatske bolesti. U stadij I svrstavaju se svi tumori niskog gradusa, dok se u stadij II tumora svi oni visokog gradusa, pri čemu se dalje raspodjeljuju u podgrupe A i B ovisno o veličini tumora. Stadij III obuhvaća tumore s prisutnim skip-metastazama, a stadij IV sve slučajeve udaljenih metastaza. (2)(11)

**Tablica 1.** Enneking klasifikacija malignih tumora kostiju

preuzeto iz: Kundu ZS. Classification, imaging, biopsy and staging of osteosarcoma. *Indian J Orthop.* 2014 Jun;48(3):238–46.

Stage	Grade	Site	Metastasis
IA	Low	Intracompartmental	None
IB	Low	Extracompartmental	None
IIA	High	Intracompartmental	None
IIB	High	Extracompartmental	None
III	Any	Any	Regional or distant metastasis

**Tablica 2.** Klasifikacija tumora kostiju Američkog društva za rak  
(American joint committee on cancer, AJCC)

preuzeto iz: Kundu ZS. Classification, imaging, biopsy and staging of osteosarcoma. Indian J Orthop. 2014 Jun;48(3):238–46.

Stage	Grade	Size	Metastasis
I-A	Low	<8 cm	None
I-B	Low	>8 cm	None
II-A	High	<8 cm	None
II-B	High	>8 cm	None
III	Any	Any	Skip metastasis
IV-A	Any	Any	Pulmonary metastasis
IV-B	Any	Any	Nonpulmonary metastasis

## 5. Histološke karakteristike i klasifikacija osteosarkoma

Zbog postojanja brojnih podtipova i velikih razlika u histološkim obilježjima jedina zajednička poveznica svim tipovima osteosarkoma je produkcija nezrelog koštanog tkiva i osteoidnog matriksa. Mogu se podijeliti, ovisno o smještaju u odnosu na kost, na intramedularne, površinske i ekstrasketalne, a svaki od njih se dodatno dijeli na one visokog i niskog gradusa. (1)

### 5.1. Histološki oblici osteosarkoma

Osteosarkomi pokazuju velike varijacije u histološkoj slici i mogu se svrstati u mnoge podskupine ovisno o predominantnoj strukturalnoj komponenti i vrsti izvanstaničnog matriksa koji stanice proizvode. Postojanje predominantne vezivne ili hrskavične komponente u odnosu na koštanu može otežati donošenje ispravne dijagnoze zbog mnogih sličnosti s benignim lezijama i koštanim kalusima. U većini slučajeva mogu se pronaći sve tri histološke komponentne u različitim omjerima, a histološki podtip osteosarkoma određuje se prema komponenti koja zahvaća više od 50 % uzorka. Nadalje, ukoliko su elementi visokog i niskog gradusa istovremeno prisutni u istom uzorku, biološko ponašanje tumora u skladu je s komponentom većeg gradusa. (1)

### **5.1.1. Klasični osteosarkom**

Dijagnoza klasičnog osteosarkoma postavlja se najjednostavnije i najbrže zbog njegovih jedinstvenih obilježja i jednostavne prepoznatljivosti. Tumorske stanice mogu biti vretenastog ili mnogokutnog oblika, a jezgre su pleomorfne i hiperkromatske. Stanice u procesu mitoze lako se uočavaju, a u mnogima od njih mogu se vizualizirati atipične mitotske figure. Uobičajeno se klasični tip osteosarkoma dijeli na osteoblastični, hondroblastični i fibroblastični podtip ovisno o predominantnoj komponenti ekstracelularnog matriksa. Osteoblastični tip prvenstveno je karakteriziran velikim udjelom ekstracelularnog matriksa i nezrelog koštanog tkiva raspoređenog u uzorak nalik čipki u koji su integrirane tumorske stanice. Hondroblastični tip ističe se produkcijom nemineraliziranog hrskavičnog matriksa, dok se u fibroblastičnom tipu većinom mogu pronaći stanice nalik atipičnim fibroblastima inkorporirane u nezreli koštani matriks. (1)

### **5.1.2. Teleangiektatični osteosarkom**

Radiološka i histološka slika teleangiektatičnog osteosarkoma nalikuje onoj aneurizmatске koštane ciste. Destrukcija normalnih anatomskih odnosa gotovo uvijek je prisutna, a često se može primijetiti i asimetrično proširenje zahvaćene kosti. U ovom obliku osteosarkoma djelomično ili potpuno izostaje proizvodnja koštanog osteoida, što često otežava radiološku dijagnostiku ako nisu prisutni karakteristični znakovi periostalne reakcije. Histološka slika sastoji se od višestrukih sinusoidnih cističnih prostora ispunjenih krvlju i odvojenih tankim septama građenim od maligno promijenjenih stanica. Pri većim povećanjima jasno se uočava polimorfija jezgara i velik broj mitozā, pa je i distinkcija prema benignim promjenama puno jednostavnija. Prije uvođenja neoadjuvatnog liječenja, prognoza ovog tipa osteosarkoma bila je izrazito loša, no zahvaljujući izvrsnom odgovoru na kemoterapijsko liječenje, danas se smatra povoljnijom u usporedbi s klasičnim tipom osteosarkoma. (1)

### **5.1.3. Sitnostanični osteosarkom**

Sitnostanični osteosarkom predstavlja izrazito rijetku histološku varijantu osteosarkoma s histološkim obilježjima nalik Ewingovom sarkomu, limfomu i hondrosarkomu. Predstavlja svega 1-2 % svih osteosarkoma, a zbog minimalne produkcije mineraliziranog matriksa često izostaju tipične radiološke karakteristike osteosarkoma. Stanice su sitne, okrugle s hiperkromatskim jezgrama i minimalnim

izražajem nuklearnih polimofrizama, koji je inače čest kod klasičnog oblika osteosarkoma visokog gradusa. Imunohistokemijska analiza dovodi do dodatne konfuzije zbog pozitivnog markera CD99 i translokacija između kromosoma 11 i 22, što je karakteristika Ewingovog sarkoma. Odgovor na adjuvatno kemoterapijsko liječenje pokazao se vrlo varijabilnijim i manje uspješnim u usporedbi s klasičnim oblicima osteosarkoma. Međutim, prisutnost mineraliziranog koštanog matriksa i vretenastih stanica zadovoljava kriterije za klasifikaciju kao osteosarkom. Zbog zapaženih oprečnih obilježja postavlja se pitanje pravog podrijetla ove vrste tumora. (1) (16) (17)

#### **5.1.4. Epiteloidni osteosarkom**

Epiteloidni osteosarkom predstavlja histološki tip osteosarkoma u kojem je teško odrediti pripada li tumor među sarkome ili karcinome zbog slabe diferencijacije tumorskih stanice. Viša je incidencija ovog tipa histološkog uzorka u osteosarkomima nastalim kao posljedica radijacije. U najvećem broju slučajeva tumorske stanice podsjećaju na epitelne stanice, dok je produkcija osteoidnog matriksa svedena na minimum. Stoga je uvijek potrebno detaljno proučiti cijeli uzorak u potrazi za osteodinim matriksom, budući da imunohistokemijska analiza može pokazati prisutnost keratina i time otežati dijagnostički postupak. Stanice mogu biti okruglog ili višekutnog oblika s jezgrama koje sadržavaju nekoliko prominentnih jezgrica. Mogu biti prisutne strukture nalik žljezdanim tubulima, stanice koje stvaraju papilarne izdanke i kohezivne formacije karakterističnih za karcinome. Važno je uzeti u obzir dob pacijenta prilikom interpretacije nekarakterističnih histoloških slika. Kod mladih pacijenata veća je mogućnost da se radi o epiteloidnom osteosarkomu, dok je kod starijih osoba učestalija pojava slabo diferenciranog metastatskog karcinoma. (1) (18)

#### **5.1.5. Osteosarkom sličan osteoblastomu ili hondrosarkomu**

U izrazito rijetkim slučajevima, osteosarkomi mogu nalikovati benignim lezijama, poput osteoblastoma i hondrosarkoma. Osteosarkomi nalik na osteoblastom proizvode mikrotrabekularnu kost obrubljenu osteoblastima, koji mogu, ali i ne moraju, imati atipična obilježja. Činjenica da su atipični osteoblasti opisani i u histološkim uzorcima osteoblastoma, kao i postojanje čitavog spektra bioloških oblika bolesti, od benignih do vrlo agresivnih, dodatno otežava dijagnostiku, posebno pri radu s malim bioptičkim uzorcima. Radiološka dijagnostika nije od velike pomoći zbog raznovrsnih i

nespecifičnih prikaza osteoblastoma koji mogu pokazivati znakove tipične za maligne tumore. Najvažniji kriteriji za dokaz maligniteta su destrukcija normalne arhitekture kosti i aneuploidna mitotička aktivnost tumora. Dobro ograničeni epifizni osteosarkomi mogu radiološki nalikovati na hondroblastom, stoga je uvijek potrebna dodatna histopatološka analiza promjene. Čak i histološke razlike mogu biti iznimno suptilne, budući da su hondroblastomi po prirodi mitotički aktivni primitivni tumori. Prisutnost osteoidnog matriksa, atipične mitotske aktivnosti i infiltracije u trabekularnu kost omogućuje razlikovanje.

#### **5.1.6. Velikostanični osteosarkom**

U 25 % posto svih osteosarkoma mogu se pronaći benigne multinuklearne stanice nalik osteoklastima. Međutim, vrlo rijetko su prisutne u tolikom broju da ometaju identifikaciju malignih elemenata tumora. U takvim slučajevima, histološki se mogu zamijeniti s gigantocelularnim tumorima, posebice kada se javljaju u sakrumu, gdje su gigantocelularni tumori češći od osteosarkoma. Radiološka slika osteosarkoma u području sakruma puno je nespecifičnija nego u dugim kostima, što dodatno otežava razlikovanje ova dva koštana tumora. Za razliku od gigantocelularnih tumora, koji se pojavljuju u zrelim kostima, osteosarkomi su uobičajeniji kod mladih ljudi, kod kojih i dalje traje proces rasta kostiju. Svaka periostalna reakcija uočena u sklopu obrade gigantocelularnog tumora mora pobuditi sumnju na malignu prirodu tumora. (1)

#### **5.1.7. Centralni osteosarkom niskog gradusa**

Ova neobična histološka varijanta osteosarkoma sastoji se od mikrotrabekularnog koštanog matriksa umetnutog u umjereno celularnu fibroznu stromu. Histološki nalikuje fibroznoj displaziji, dezmoplastičnom fibromu i Pagetovoj bolesti. Prisutnost atipične mitotičke aktivnosti i fibroznog tkiva unutar Haversovih kanala pouzdan su dokaz malignosti. Radiološka dijagnostika često pokazuje nepobitne znakove agresivnog tumora poput periostalne reakcije, kortikalnog infarkta, nejasnih granica i destrukcije normalne anatomske građe kosti. U većini slučajeva dovoljno je samo kirurško liječenje bolesti, a prognoza je izrazito optimistična u usporedbi s klasičnim oblikom osteosarkoma. U malom broju slučajeva, na mjestu primarnog tumora razvija se sekundarni osteosarkom visokog stupnja malignosti kroz proces dediferencijacije, koji ima lošiju prognozu. (1) (19)

### **5.1.8. Površinski osteosarkom**

Površinski osteosarkomi su osteosarkomi čiji se epicentar nalazi izvan korteksa priležeće kosti. Nalaze se u blizini periosta ili korteksa i nemaju dodir s medularnim kanalom kosti. Ova vrsta osteosarkoma pretežno se pronalazi kod pacijenata u trećem i četvrtom desetljeću života. Velika većina površinskih osteosarkoma su neoplazme niskog gradusa s minimalnim metastatskim potencijalom, dok svega 10 % pripada visokogradusnim tumorima. Najčešća vrsta površinskog osteosarkoma je paraostealni sarkom, koji se većinom pronalazi u području distalne metafize femura. Prezentacija je specifična jer vrlo rijetko uzrokuje bol, a većinom se javlja smanjen opseg pokreta i oteklina koljenskog područja. Na radiografskim snimkama ovaj sarkom prikazuje se kao dobro ograničena masa s gustim sklerotičnim središtem koje postaje rjeđe prema periferiji. Često se može vidjeti tanka radiolucetna linija koja odvaja sklerotičnu tumorsku masu od priležećeg korteksa, a zapravo predstavlja vanjski sloj periosta s kojim je tumor povezan. Tipična periostalna reakcija uglavnom izostaje zbog ekscentričnog smještaja i niske malignosti ovakvih promjena. Iznimno rijetko dolazi do invazije i narušavanja normalne arhitekture podležće kosti, što neki povezuju s većom malignošću tumora. U velikom broju slučajeva kirurško liječenje predstavlja najbolji pristup i dovodi do potpunog izlječenja. Histološkom analizom pronalaze se sklerotične, paralelno orijentirane koncentrične trabekule koje nalikuju čeličnoj vuni. Između gredica trabekularne kosti nalazi se celularni fibrozni matriks u kombinaciji s nezrelim osteoidnim matriksom.

Ponekad se pronađe površinski smješten tumor koji histološki potpuno zadovoljava kriterije za osteosarkom visokog stupnja. U tom slučaju može se raditi o dediferenciranom površinskom osteosarkomu niskog stupnja ili o novonastalom tumoru. Klinički se očituje bolnom tumorskom masom i brzom progresijom simptoma, a radiološki se često može primijetiti periostalna reakcija. Budući da ovaj tip osteosarkoma ima maligni potencijal jednak onome klasičnog osteosarkoma, brzo prepoznavanje i pravovremeni početak liječenja iznimno su važni za osiguravanje optimalnog ishoda pacijenata. (1) (20)

### **5.1.9. Multifokalni osteosarkom**

Ova iznimno rijetka varijanta osteosarkoma pojavljuje se u sinkronom i metakronom obliku. Sinkroni oblici podrazumijevaju simultanu pojavu osteosarkoma na višestrukim mjestima unutar skeleta. Radiološki se prikazuju kao hiperdenzne simetrične

promjene. Pojavnost im je veća u dječjoj i adolescentnoj dobi, a često su visokog gradusa s brзом progresijom i lošim preživljenjem. Metakroni oblik bolesti, koji je češći u odrasloj dobi, karakterizira pojava višestrukih osteosarkoma u različitim vremenskim intervalima. Uočeni su periodi bez prisutnosti bolesti koji mogu trajati od nekoliko tjedana do nekoliko mjeseci. Radiološka slika prikazuje asimetrične tumore s varijabilnom količinom skleroze. Prognoza metakronog oblika puno je optimističnija nego sinkronog, s nekoliko zabilježenih slučajeva potpunog izliječenja. (1)

#### **5.1.10. Ekstraskeletalni osteosarkom**

U svega 2 % slučajeva mekotkivnih sarkoma zabilježena je pojava osteosarkoma potpuno izvan koštanog skeleta, što se naziva ekstraskeletnim osteosarkomom. Za razliku od klasičnog osteosarkoma, ovaj tip ima tendenciju pojavljivanja u kasnoj odrasloj dobi, najčešće u šezdesetim i sedamdesetim godinama života. Ekstraskeletni osteosarkom pokazuje predilekciju za duboka meka tkiva natkoljenice, nadlaktice, glutealne regije, a često se pojavljuje i retroperitonealno. Klinička slika uključuje brzorastuću mekotkivnu masu bolnu na palpaciju, dok CT snimka olakšava dijagnostiku vizualizacijom područja mineralizacije unutar tumora. Histološki se mogu pronaći sve varijante osteosarkoma koje se pronalaze unutar kostiju, ali s većom učestalošću osteosarkoma visokog gradusa. Prognoza ovog rijetkog tumora izrazito je loša, s očekivanim petogodišnjim preživljenjem ispod 25 %. (1) (21)

#### **5.2. Histološki i nuklearni gradus**

Histološki gradus tumora neophodan je za određivanje stadija maligne bolesti te u određivanju potrebe za adjuvantnim onkološkim liječenjem nakon kirurške resekcije. U upotrebi su razne klasifikacije za određivanje histološkog gradusa, no svaka je podložna interpretaciji promatrača uzorka. Sustav ocjenjivanja na četiri razine temelji se na procjeni postotka anaplastičnih stanica unutar tumora, od  $\leq 25\%$  do  $100\%$  i posljedičnom dodjeljivanju pripadajućeg broja u rasponu od 1 do 4. Uzimajući u obzir ove kriterije, razvidno je kako se u kliničkog praksi velika većina klasičnih centralnih osteosarkoma svrstava u one visokog gradusa (gradus 3 i 4), a tumori niskog gradusa najčešće pripadaju paraostealnim osteosarkomima. Prema klasifikaciji stadija koštanih i mekotkivnih tumora koju je definiralo Društvo za koštano mišićnu onkologiju (engl. *Musculoskeletal Tumor Society, MSTS*) svi lokalizirani tumori mogu se svrstati u tumore niskog ili visokog gradusa. Ova klasifikacija vrlo je korisna zbog brze procjene



i mogućnosti pravovremenog započinjanja adjuvatnog kemoterapijskog liječenja u slučajevima osteosarkoma visokog gradusa. Budući da je većina klasičnih osteosarkoma visokog gradusa, dok su gotovo svi površinski osteosarkomi niskog gradusa, nameće se pitanje potrebe za uvođenjem novih klasifikacija koje bi omogućile donošenje odluka bez potrebe za odgodom sistemske terapije. (1) (21)

## **6. Molekularne karakteristike osteosarkoma**

Osteosarkomi se razlikuju od drugih sarkomskih tumora po izrazitoj genomskoj heterogenosti i kompleksnosti te izostanku specifičnih kromosomskih translokacija po kojima bi se mogli prepoznati. Svaka pojedinačna stanica ovog tumora može eksprimirati kompleksne genomske alteracije, s tek nekoliko konzistentnih promjena koje ih povezuju. Uočena je veća učestalost pojavljivanja ovih tumora kod pojedinaca s obiteljskim oblikom Li-Fraumeni sindroma (inaktivacija *TP53* gena), sindromom nasljednog retinoblastoma (inaktivacija *RB1* gena) i Rothmund-Thomson sindromom (RTS) (inaktivacija RecQ Like Helicase 4 (*RECQL4*) gena). Geni povezani s navedenim sindromima imaju ulogu u stabilizaciji genoma, a njihova inaktivacija dovodi do poremećaja mehanizama kontrole diobe stanica. Desetljeća napretka u tehnologiji omogućila su vizualizaciju najsitnijih točkastih mutacija kromosoma i promjena u samo jednom nukleotidu (engl. *single nucleotide polymorphism*, SNP), no unatoč tome, genetska podloga osteosarkoma i dalje velikim je dijelom ostala nerazjašnjena. (22)

### **6.1. Genomska nestabilnost**

Velika učestalost genomske nestabilnosti jedna je od glavnih genetskih karakteristika osteosarkoma. Najčešće se radi o specifičnoj podvrsti pod nazivom kromosomska nestabilnost (engl. *chromosomal instability*, CIN), za razliku od mikrosatelitne nestabilnosti (engl. *microsatellite instability*, MIN) i CpG otoka metilatorskog fenotipa (engl. *CpG island methylator phenotype*, CIMP), koje su značajke kolorektalnih karcinoma. CIN dovodi do strukturnih i numeričkih aberacija kromosoma, čime doprinosi velikoj raznolikosti između pojedinih stanica osteosarkoma. Može se podijeliti na numerički CIN (N-CIN), koji dovodi do poliploidije, aneuploidije i nebalansiranih translokacija, te strukturni CIN (S-CIN), koji je posljedica narušavanja mehanizama popravka DNA i dovodi do mutacija gena. Smatra se kako su mutacije gena uključenih u regulaciju staničnog ciklusa glavni razlog nastanka CIN-a, posebice

mutacije u tumorsupresorskim proteinima P53 i PRB. Dokazano je da mutacija gena za tumorsupresorski protein P53 povećava učestalost genomske nestabilnosti, dok mutacija *RB1* gena uzrokuje poremećaje u mitozu i gubitak heterozigotnosti (engl. *loss of heterozygosity*, LOH). Uočena je i povezanost povećane ekspresije gena *RECQL4*, koji kodira enzim DNA helikazu, s pojavom strukturnih nestabilnosti. Održavanje duljine telomera pomoću aktivacije enzima telomeraze kao i alternativnog produljenja telomera (engl. *alternative lengthening of telomeres*, ALT) povezano je s lošijim ishodima bolesti. Općenito je dokazana povećana učestalost nastanka osteosarkoma kod žena s kraćim telomerama, a enzimi uključeni u sustav održavanja duljine telomera predstavljaju veliku potencijalnu metu za razvoj novih genskih terapija. (22) (23) (24)

## **6.2. Mutacije povezane s pojedinim tipovima osteosarkoma**

Većina provedenih istraživanja fokusirana je na opis genetskih promjena unutar najčešćeg klasičnog oblika osteosarkoma, uključujući hondroblastičnu, fibroblastičnu i osteoblastičnu varijantu. Postoji vrlo malo podataka o genetskom ustroju rjeđih tipova osteosarkoma, čiji se sastav znatno razlikuje od sastava klasičnog oblika. (22)

### **6.2.1. Klasični osteosarkom**

Kompleksna i velikim dijelom nekonzistentna genetska obilježja tipična su za klasični tip osteosarkoma. Kromosomska nestabilnost smatra se uzrokom ekstremne heterogenosti između uzoraka istog tumora, kao i između različitih tumora ovog tipa. Neke od najčešćih mutacija su delecije dijelova kromosoma 3q, 6q, 9, 10, 13, 17p, 18q i duplikacije dijelova kromosoma 1p, 1q, 6p, 8q i 17p. Općenito, regije koje kodiraju tumorsupresorske proteine češće podliježu mutacijama u vidu delecija, dok su regije koje sadrže gensku uputu za onkogene duplicirane. Inaktivacija *RB1* gena, koji kodira tumorsupresorski protein PRB na kromosomu 13q14.2, često se pronalazi u uzorcima klasičnog osteosarkoma. Mutacija sprječava vezanje PRB za transkripcijski faktor E2F, čime narušava regulaciju staničnog ciklusa u prijelazu iz G1 u S fazu. Gubitak heterozigotnosti (LOH) ili delecija lokusa *RB1* detektirana je u 19-67 % uzoraka, a mutacije u *RB1* genu detektirane su u 25-35 % uzoraka. (22) (25) (26) (27) Amplifikacija gena koji kodira kinazu ovisnu o ciklinu 4 (*CDK4*), detektirana je u 10 % tumora, dok je amplifikacija gena koji kodira DNA primazu 1 pronađena u 41 % tumora. Oba gena nalaze se na kromosomu 12q13, a njihovi produkti sudjeluju u kontroli progresije staničnog ciklusa u točki između G1 i S faze. Isto tako, zapažena je veća

učestalost delecija gena koji kodiraju inhibitore kinaza ovisnih o ciklinu (CDKI), koji obnašaju funkciju tumorsupresora i čijom mutacijom dolazi do nekontrolirane progresije staničnog ciklusa. Geni *CDKN2A/P16/INK4A*, *P14/ARF* i *CDKN2B/P15/INK4B* locirani su na kromosomu 9p21, a delecija tog dijela zabilježena je u 5-21 % osteosarkoma. Deregulacija *TP53* gena zbog mutacije lokusa na kromosomu 17p13.1 smatra se bitnom sastavnicom u razvoju osteosarkoma. Protein P53 je, uz RB protein, jedan od glavnih tumorsupresorskih proteina čija se aktivacija događa u odgovoru na oštećenje DNA i može dovesti do staničnog mirovanja, starenja ili apoptoze oštećene stanice. Mutacija gena *TP53* jedna je od najčešćih mutacija u svim vrstama malignih promjena u ljudi. LOH i delecija lokusa 17p13.1 detektirani su u 29-42 % slučajeva sporadičnih osteosarkoma, a mutacije su prisutne u 10-30 % tumora. Funkcionalna inaktivacija P53 proteina na razini posttranslacijske modifikacije opisana je u slučaju amplifikacije mišjeg dvostrukog minutnog 2 homolognog onkoproteina (*MDM2*), koja je opažena u 3-25 % tumora, s većom učestalošću u metastazama i ponovnoj pojavi tumora. (28) Mutacije u *RECQL4* genu na kromosomu 8q24.4 povezuju se s razvojem osteosarkoma u raznim nasljednim sindromima poput Rothmund-Thomsonovog sindroma, Bloomovog sindroma i Wernerog sindroma, a u sporadičnom tipu osteosarkoma detektiran je u svega 5 % tumora. U regiji 6p12-p21 nalazi se nekoliko gena s potencijalom da postanu onkogeni, a među najpoznatijima je gen *E2F3* koji se nalazi na kromosomu 6p22.3. Taj gen kodira transkripcijski faktor E2F3, koji ima važnu ulogu u regulaciji staničnog ciklusa. Prema nekim studijama, mutacija *E2F3* prisutna je u oko 60 % slučajeva klasičnog osteosarkoma. (29) (30) (31) (32) (33) (34) (35)

### **6.2.2. Telenagiektatični osteosarkom**

Postoji vrlo malo studija koje se bave genetikom ovog rijetkog tipa osteosarkoma, a većina njih su u obliku prikaza individualnih slučajeva. Opisani su tumori s predominantno normalnim genskim sadržajem, kao i oni s trisomijom trećeg kromosoma, pseudoetraploidijom, inverzijom kromosoma 9p11-9q12, delecija 13q14 i balansiranim kromosomskim translokacijama. U jednom slučaju opisana je i obiteljska pojavnost teleangiektatičnog osteosarkoma među bliskim srodnicima, no nije otkrivena nasljedna mutacija. U usporedbi s ostalim tipovima osteosarkoma, teleangiektatični tip pokazuje relativno malo konzistentnih strukturnih i numeričkih kromosomskih aberacija. (22) (36) (37)

### 6.2.3. Sitnostanični osteosarkom

Histološka sličnost sitnostaničnog osteosarkoma s Ewingovim sarkomom rijetko se može preslikati na citogenetskoj razini. U svega jednom zabilježenom prikazu slučaja pronađena je translokacija t(11;22) (q24;q12)) karakteristična za Ewingov sarkom. Opisane su mnoge kompleksne strukturne i numeričke promjene, poput preuređenja kromosoma 6, 16, i 17 te monoalelne delecije *TP53* gena. (22) (38) (39)

### 6.2.4. Periostealni osteosarkom

Genetske promjene opažene u ovom tipu osteosarkoma velikim su dijelom nekonzistentne i sporadične. Postoje podaci o postojanju duplikacija cijelih kromosoma 14, 18 i 21, duplikacija krakova 2q, 5p i 8q, te delecija kromosoma 6, 13 i 8p, kao i točkastih mutacija u genu *TP53*. (22) (40) (37) (34)

### 6.2.5. Centralni osteosarkom niskog gradusa

Nedostatak kompleksnih kromosomskih aberacija, kao i mala učestalost mutacija *TP53* gena, razlikuje centralni osteosarkom niskog gradusa od klasičnog osteosarkoma visokog gradusa. Amplifikacija onkogenog Erb-B2 receptor tirozin kinaza 2 (*ERBB2*) na kromosomu 17q12 opisana je u 26 % uzoraka, a amplifikacija *MDM2* u 19 %. Od ostalih promjena opisane su duplikacije cijelog kromosoma 12, kao i duplikacije na kromosomima 12q13-q14 i 6p21.1-p21.3. (22) (41) (42)

## 7. Nasljedni sindromi u sklopu kojih se javlja osteosarkom

### 7.1. Li-Fraumeni sindrom

Li-Fraumeni sindrom, poznat i pod nazivom SBLA sindrom (sarkom, dojka, leukemija i rak nadbubrežne žlijezde), rijedak je autosomno dominantni (AD) sindrom u sklopu kojeg se pronalazi povećana učestalost mekotkivnih sarkoma, karcinoma dojke u premenopauzalnoj dobi, tumora mozga, osteosarkoma i adrenokortikalnih karcinoma. Najčešća mutacija, koja se pronalazi u 70 % slučajeva Li-Fraumeni sindroma i naziva se Li-Fraumeni sindrom tip 1 (LFS1), je mutacija tumor supresorskog gena *TP53* na kromosomu 17p13 u zametnoj liniji stanica. Varijanta Li-Fraumeni tip 2 (LFS2) povezana je s mutacijama u kinazi kontrolne točke 2 (engl. *checkpoint kinase two*, *CHEK2*) tumor supresorskom genu, dok u varijanti LFS-L ne postoje promjene u *TP53* genu. (4) (43) (44)

## 7.2. Sindrom nasljednog retinoblastoma

Retinoblastom u najvećem broju slučajeva nastaje kao posljedica mutacije u *RB1* tumorsupresorskom genu smještenom na dugom kraku kromosoma 13 na lokusu 13q14. Kombinacija naslijeđene mutacije u jednom alelu *RB1* gena i sporadične mutacije na drugom alelu dovodi do pojave bilateralnih retinoblastoma u dječjoj dobi. Većinom se vidi kao sporadična pojava, a u svega 5 % zabilježenih slučajeva prisutna je obiteljska predispozicija. Budući da je mutacija prisutna u svim stanicama u tijelu, povećana je incidencija izvanokularnih tumora, ponajprije pineoblastoma, osteosarkoma, mekotkivnih sarkoma i melanoma. Specifično, incidencija osteosarkoma kod osoba s mutacijom *RB1* gena je 400 puta veća nego u općoj populaciji. Opisani su slučajevi u kojima se osteosarkom javlja kao prva manifestacija ovog sindroma, bez prethodne pojave retinoblastoma. (4) (45)

## 7.3. RECQ poremećaji

Sindromi u sklopu kojih se s većom incidencijom pojavljuju osteosarkomi uzrokovani su recesivnim nasljednim mutacijama u genima koji kodiraju DNA helikaze RecQ obitelji. Među njih ubrajaju se Rothmund-Thomson sindrom tip II (RTS II), RAPALINDINO, Wernerov i Bloomov sindrom. (4)

### 7.3.1. Rothmund-Thomson tip II i RAPALINDINO sindromi

RTS II i RAPADILINO sindromi uzrokovani su mutacijama u *RECQL4* genu koji kodira proteine uključene u popravak molekule DNK. RTS II karakteriziraju osip koji napreduje do poikiloderme; rijetka kosa, trepavice i obrve, nizak proporcionalan rast, skeletne i dentalne abnormalnosti, juvenilne katarakte te povećan rizik za razvoj malignih bolesti. Posebno je povećan rizik razvoja osteosarkoma, pri čemu 30 % djece s ovim sindromom razvije osteosarkom prije četrnaeste godine života. RAPADILINO sindrom je rijedak autosomno recesivni poremećaj karakteriziran radijalnom aplazijom ili hipoplazijom, aplazijom ili hipoplazijom patele, hipoplazijom ili rascjepom nepca, infantilnim proljevima, dislokacijom zglobova, niskim rastom i abnormalnostima udova te povećanim rizikom razvoja osteosarkoma. (46) (47) (48)

### 7.3.2. Wernerov sindrom

Ovaj rijedak autosomno recesivni poremećaj pripada skupini progerijskih poremećaja koji dovode do ubrzanog starenja i uzrokovan je mutacijom u genu za Wernerov

protein (WRN) koji obnaša funkciju RECQ helikaze. Za razliku od ranije navedenih sindroma, znakovi bolesti počinju se javljati u kasnoj adolescentnoj dobi i uključuju pojavu dijabetesa, osteoporoze, hipertenzije, miokardijalnog infarkta, cerebrovaskularnog inzulta te povećan rizik za razvoj malignih bolesti. Najčešće se razvijaju mekotkivnih sarkoma, meningeoma, karcinoma štitnjače, melanoma te osteosarkoma. Pojava osteosarkoma na atipičnim lokacijama poput kostiju gležnja i stopala te glave i vrata karakteristika je ovog sindroma. (49) (46)

### **7.3.3. Bloomov sindrom**

Bloomov sindrom autosomno je recesivni poremećaj uzrokovan mutacijom u genu za helikazu povezanu s Bloomovim sindromom (*BLM* gen) koji kodira enzim za popravak DNK pod nazivom RECQL3 helikaza. Zbog nedostatnih mehanizama za popravak DNK dolazi do genomske nestabilnosti koja može dovesti do razvoja mnogih vrsta malignih bolesti, osobito limfoma, akutne mijeloične leukemije, karcinoma gastrointestinalnog sustava, kožnih tumora i osteosarkoma. Najveća učestalost pojave ovog sindroma zapažena je među Aškenazi židovima, a karakteriziraju ih uska lica, izduženi udovi te nekoliko dermatoloških komplikacija, uključujući fotosenzitivnost, poikilodermu i teleangiektatički eritem. (4) (50)

### **7.4. Diamond-Blackfanova anemija**

Ovaj sindrom, za razliku od prethodnih, uzrokovan je mutacijom u genu koji kodira ribosomski protein i svrstava se među ribosomopatije. Jedna od najčešćih mutacija je mutacija gena koji kodira ribosomski protein RPS19, odgovorna za 25 % svih slučajeva. Klinička prezentacija je iznimno varijabilna, a najčešće se manifestira teškom anemijom i eritrocitnom aplazijom u prvoj godini života, kao i koštanim abnormalnostima, niskim rastom i povećanim rizikom za razvoj osteosarkoma. (4) (51)

## **8. Terapijski pristupi liječenju osteosarkoma**

Unatoč nedavnom značajnom napretku u molekularnoj biologiji, slikovnim tehnikama, primijenjenoj anatomiji, biomehanici, kirurškim tehnikama i ciljano usmjerenim lijekovima, petogodišnje preživljenje pacijenata oboljelih od osteosarkoma nije se znatno poboljšalo te iznosi oko 20 %. Veliku nadu donijelo je otkriće neoadjuvantne terapije, nakon koje 65 % bolesnika može sačuvati zahvaćeni ud. Međutim, budući da su u 80 % slučajeva prisutne metastaze već u trenutku postavljanja dijagnoze, statistika i dalje ostaje poražavajuća. Velika područja interesa u modernoj onkologiju

predstavljaju povećanje učinkovitosti dostupne terapije u liječenju osteosarkoma, kao i produljenje očekivanog trajanja života. (52)

### **8.1. Kemoterapijski režimi**

Klasični kemoterapijski režimi, koji se koriste u svakodnevnoj kliničkoj praksi, nisu se značajno mijenjali posljednjih desetljeća. Budući da su osteosarkomi relativno rezistentna skupina malignih tumora, monoterapija jednim lijekom pokazala se nisko učinkovita, s nekoliko lijekova koji postižu uspjeh veći od 15 %. U većini slučajeva koriste se isti lijekovi u različitim kombinacijama i režimima koji se prilagođavaju svakom pacijentu individualno. Neki od najčešće korištenih lijekova su metotreksat (MTX), adriamicin (ADM), cisplatina (DDP), ifosfamid, vinkristin, epirubicin, ciklofosfamid i etopozid. Početni režim, koji se koristi u većini velikih kliničkih centara u Europi i Americi, sastoji se od visokih doza MTX, ADM i DDP. Osjetljivost tumorskih stanica jedan je od bitnih prognostičkih čimbenika koji određuju preživljenje pacijenata. Kombinirana terapija koristi se po principu sinergističkih učinaka više lijekova za prevenciju razvoja rezistencije na monoterapiju, kao i za smanjenje nuspojava velikih doza pojedinačnih lijekova. Razvojem neoadjuvantne kemoterapije uvelike se povećala mogućnost očuvanja zahvaćenog uda i smanjila incidencija sekundarnog metastatskog širenja, kao i povrata maligne bolesti. Neoadjuvantna kemoterapija postala je nezaobilazan korak u terapijskom pristupu oboljelima od osteosarkoma zbog pravovremenog djelovanja na rane mikrometastaze. Postoperativni kemoterapijski protokol određuje se na temelju histopatološkog nalaza i varira ovisno o postotku nekroze tumora nakon provedene preoperativne neoadjuvantne kemoterapije. Ukoliko je dokazana učinkovitost provedene terapije zadovoljavajuća, nastavlja se s istim režimom, a u slučaju suboptimalnog odgovora na terapiju provode se odgovarajuće prilagodbe režima. Patohistološka procjena može se provesti tek nakon kirurškog liječenja, zbog čega je izrazito važno pratiti druge pokazatelje odgovora na terapiju. Neke od neinvazivnih metoda procjene učinkovitosti neoadjuvantne terapije su klinička procjena, smanjenje tumorske mase i simptoma, te snižavanje serumskih razina izocitrat dehidrogenaze (IDH) i ALP-a. (52)

### **8.2. Razvoj i primjena ciljano usmjerenih lijekova**

Zahvaljujući ubrzanom razvoju medicinskih tehnologija, tradicionalni pristup liječenju osteosarkoma rezultirao je petogodišnjom stopom preživljenja od 60-70 %. Međutim, za pacijente s lošim odgovorom na kemoterapiju, druga linija liječenja i dalje

predstavlja veliki terapijski izazov. Ciljano usmjereni lijekovi u modernoj onkologiji ostvaruju sve brži razvoj i obećavajuće rezultate. Ipak, zbog velike heterogenosti i niske incidencije osteosarkoma, i dalje traje potraga za idealnom ciljnom molekulom. Receptor tirozin kinaze (engl. *receptor tyrosine kinase*, RTK) transmembranski je protein koji ima ključnu ulogu u prijenosu signala u signalnim putovima povezanim s rastom, preživljavanjem i apoptozom stanica. Aktivirajuća mutacija ili amplifikacija ovog receptora može dovesti do kancerogeneze uzrokujući nekontrolirani rast tumorskih stanica. Lijekovi koji ciljano djeluju na inhibiciju takvog receptora, poput regorafeniba i pazopaniba, pokazuju ohrabrujuće rezultate u kliničkim ispitivanjima s djelovanjem na smanjenje toksičnosti kemoterapije, kao i skraćenje duljine liječenja. Neke od učestalih mutacija molekula koje sudjeluju u regulaciji staničnog ciklusa, a koje se mogu pronaći u osteosarkomu, uključuju amplifikaciju gena koji kodira ciklin E1 (*CCNE1*), inaktivaciju *RB1* gena i amplifikaciju kinaze ovisne o ciklinu 4/6 (engl. *cyclin-dependent kinase 4/6*, CDK4/6). Specifično, mutacije *CCNE1* mogu se u velikom broju slučajeva povezati s kemoterapijskom rezistencijom osteosarkoma i zbog toga pobuđuju veliki interes za razvoj ciljane terapije. Inhibitori CDK4/6, poput piperacilina i abemacicliba, dugo su u upotrebi u liječenju karcinoma dojke i liposarkoma. Međutim, budući da je izolirana mutacija vrlo rijetka u osteosarkomima visokog gradusa, ovi inhibitori nisu pronašli širu primjenu u kliničkim ispitivanjima. Jedan od važnijih signalnih putova koji sudjeluje u transdukciji signala vezanog za sintezu proteina i stanični rast je PTEN-PI3K-AKT-TSC1/2-mTOR signalni put. Mutacije ovog signalnog puta pronađene su u velikom broju osteosarkoma, a posebno mutacije u tumorsupresorskom genu koji kodira homolog fosfataze i tenzina (*PTEN*), koje se mogu detektirati u gotovo 50 % osteosarkoma visokog gradusa. Budući da velik broj molekula sudjeluje u ovom signalnom putu, postoji mnogo potencijalnih ciljanih molekula na koje bi terapija mogla djelovati. Na primjer, everolimus je inhibitor mTOR-a koji se često koristi u drugoj liniji liječenja osteosarkoma. Gen za rak dojke (engl. *breast cancer gene*, *BRCA*) ima veliku ulogu u supresiji mnogih tumora, a dokazana je visoka učestalost mutacije ovog gena i u osteosarkomu. Postoje studije koje idu u prilog tome da čak 80 % osteosarkoma pokazuje fenotip konzistentan s *BRCA* mutacijom, s karakteristikama poput gubitka heterozigotnosti i disbalansa telomera. Uzevši u obzir velik uspjeh ciljanih terapija koje djeluju kao inhibitori poli ADP riboza polimeraze (engl. *poly ADP ribose polymerase*, PARP), poput olapariba, u liječenju karcinoma dojke i jajnika, postavlja se pitanje korištenja slične terapije u liječenju osteosarkoma. (52) (53) (54) (55) (56)



### 8.3. Radioterapija

Ionizirajuće zračenje prilikom primjene radioterapije djeluje na ciljanu molekulu DNK u tumorskim stanicama tako što dovodi do stvaranja velikog broja reaktivnih oblika kisika (engl. *reactive oxygen species*, ROS), koji uzrokuju oksidativno oštećenje i apoptozu malignih stanica. Radioterapija je iznimno važna metoda u terapijskom pristupu velikom broju koštanih tumora, a posebno se ističe njezina uloga u liječenju vertebralnih koštanih tumora zbog velike djelotvornosti u preoperativnom smanjenju veličine primarnog tumora. Radioterapija pronalazi široku primjenu i u palijativnom liječenju inoperabilnih primarnih i sekundarnih koštanih tumora te dovodi do značajnog smanjenja simptoma bolesti kao i povećanja kvalitete života. Primjena radioterapijskih senzitizera, koji smanjuju oštećenje zdravog tkiva i istovremeno pojačavaju učinak radioterapije na maligne stanice, uvelike je pridonijela uspješnijem liječenju radiorezistentnih osteosarkoma. Radiosenzitizeri su spojevi pomoću kojih se postiže bolja djelotvornost u inaktivaciji tumorskih stanica kada se kombiniraju s radioterapijom. Njihov modalitet djelovanja temelji se na različitim mehanizmima, uključujući supresiju intracelularnih tiola, formiranje citotoksičnih tvari radiolizom radiosenzitizera, inhibiciju popravka biomolekula, analoge timina koji se mogu ugraditi u DNK, te spojeve slične kisiku koji imaju elektrofilnu aktivnost. (52) (57)

### 8.4. Terapija s očuvanjem ekstremiteta (engl. *limb salvage treatment*)

Operacija s očuvanjem ekstremiteta odnosi se na kirurški zahvat kojem je cilj ukloniti tumor i istovremeno očuvati funkcionalnost zahvaćenog ekstremiteta. Budući da većina pacijenata preferira očuvanje ekstremiteta umjesto potpune amputacije, kirurške tehnike očuvanja brzo su se razvile. Napredak u kirurškim tehnikama i znanosti o biomaterijalima doveo je do izjednačenja postoperativnih stopa preživljavanja između pacijenata koji prolaze kroz operaciju očuvanja udova i pacijenata podvrgnutih radikalnoj amputaciji. Nakon resekcije zahvaćenog dijela kosti, defekt mora biti rekonstruiran kako bi se omogućio povratak funkcije i izgleda ekstremiteta. Razvoj računalne tehnologije i slikovnih metoda omogućio je donošenje trodimenzionalnog plana operacije uzimajući u obzir složene anatomske neurovaskularne odnose, što je dovelo do smanjenja perioperativnih komplikacija i povećalo uspješnost postupka. U procesu određivanja opsega kirurške resekcije bitno je imati točne podatke o smještaju i veličini tumora, tumorske kapsule i reaktivne zone, no budući da je teško postići takvu preciznost, većina resekcija obuhvaća najmanje 1 cm zdravog okolnog tkiva. U slučaju prisutne neurovaskularne invazije treba pristupiti

radikalnoj amputaciji, osim u slučaju zahvaćanja sakralnog živca ili prednje tibijalne arterije kada se i dalje može pokušati očuvati ekstremitet. Ako je prisutna metastatska bolest, može se pristupiti kirurškoj resekciji uz adjuvantnu kemoterapiju sa stopom uspjeha od 30 %. S obzirom na to da je većina pacijenata s osteosarkomom mlade životne dobi i želi aktivan život, nameće se potreba za stabilnom protezom koja omogućava širok opseg kretanja nakon operacije. Najčešće se koristi tumorska endoproteza izrađena od metala, no postoje indikacije i za korištenje koštanih alografta te novijih metoda 3D printanja individualiziranih dizajna. Nakon ekscizije tumora u području koljenskog zgloba preporučuje se odabir rotirajuće zglobne proteze, a u slučaju tumora u epifizi ili dijafizi odabire se operacija s očuvanjem epifizne ploče rasta kako bi se očuvala normalan potencijal rasta ekstremiteta. (52) (58)

### **8.5. Intervencijska terapija**

Intervencijska terapija je uobičajen korak u palijativnom pristupu osteosarkomu, kao i u adjuvantnoj terapiji u pripremi za operaciju očuvanja ekstremiteta. Intervencijski pristup dijeli se na dvije glavne vrste: intravaskularni i nevaskularni intervencijski pristup. Nevaskularni pristup odnosi se na ablaciju tumora perkutanom punkcijom, dok intravaskularni pristup obuhvaća intraarterijsku primjenu kemoterapije i arterijsku embolizaciju. Arterijska primjena kemoterapije vrlo učinkovito kontrolira tumorski rast, smanjuje vjerojatnost rubnog širenja, povećava postotak uspješnih tumorskih resekcija te smanjuje simptome bolesti, veličinu tumorske mase, vaskularne endotelne nekroze i vaskularnih okluzija. Arterijska embolizacija je postupak kojim se određena trombogena tvar injicira u glavnu arteriju koja opskrbljuje tumor krvlju, uzrokujući trombozu i posljedičnu nekrozu tumora zbog ishemije. Preoperativnom embolizacijom drastično se smanjuje količina intraoperativnog krvarenja te povećava postotak uspješnih resekcija i očuvanja zahvaćenih udova. Jedna od velikih prednosti embolizacije je brza redukcija maligne boli i mogućnost višestrukog ponavljanja postupka, zbog čega ima veliku prednost nad kemoterapijom i radioterapijom kod pacijenata s uznapredovalim oblikom osteosarkoma. Selektivna arterijska embolizacija i transkateterska arterijska kemoembolizacija (engl. *transarterial chemoembolization*, TACE) najčešće su korištene metode u kliničkoj praksi. Selektivna arterijska embolizacija podrazumijeva korištenje sitnih zavojnica ili mikrosfera koje prekidaju dotok krvi do tumora, što rezultira ishemijom i posljedičnom nekrozom tumorskih stanica. TACE postupkom uvodi se selektivni arterijski kateter pomoću kojeg se kemoterapeutici direktno unose u glavni arterijski vod koji opskrbljuje

tumor. TACE se većinom primjenjuje u operacijama očuvanja ekstremiteta i kao adjuvantna terapija prije radikalne kirurške resekcije kako bi se potaknula nekroza tumora, smanjile komplikacije i poboljšala uspješnost operacije. (52)

## 8.6. Imunoterapija

Osnovni principi imunoterapije temelje se na modifikaciji funkcionalnog imunološkog sustava u svrhu uništavanja tumorskih stanica, a uključuju specifičnu i nespecifičnu imunoterapiju, imunološki usmjerenu terapiju i adaptivnu imunoterapiju. Imunoterapija je pronašla svoju ulogu u adjuvantnom liječenju osteosarkoma, kao dodatak tradicionalnom kirurškom i kemoterapijskom pristupu. Najveću ulogu u modernoj imunoterapiji osteosarkoma imaju citokinska terapija, terapija dendritičkim stanicama (engl. *dendritic cells*, DC), terapija limfocitima T s kimeričkim antigenskim receptorom (engl. *chimeric antigen receptor T*, CAR-T) i lijekovi za blokiranje imunoloških kontrolnih točaka. Dendritičke stanice imaju ulogu antigen-prezentirajućih stanica. Nakon inkubacije s tumorskim neoantigenima i injekcije u obliku cjepiva, DC potiču specifične imunološke reakcije usmjerene protiv tumorskih stanica. Aktivacijom i poticanjem proliferacije citotoksičnih limfocita T dovode do atrofije i regresije osteosarkoma. Citokini su signalne molekule koje koordiniraju reakcije cjelokupnog imunološkog sustava, a njihova upotreba u liječenju malignih bolesti od velike je važnosti. Interleukin-2 (IL-2) potiče aktivaciju efektorskih limfocita T i pojačava učinkovitost prirodnih stanica ubojica (engl. *natural killer cells*, NK cells). IL-2 koristi se u kombinaciji s kemoterapijom za liječenje plućnih metastaza osteosarkoma i pokazalo se da primjena IL-2 u imunoterapiji povećava stopu preživljavanja u pacijenata s osteosarkomom. U procesu stvaranja CAR-T limfocita, T-limfociti uzimaju se iz periferne krvi pacijenta i genetski modificiraju kako bi izražavali kimerički antigenski receptor koji djeluje na specifične tumorske proteine, a zatim se vraćaju u tijelo pacijenta. Najveća nepoznanica u primjeni CAR-T imunoterapije je otkrivanje specifičnih ciljnih tumorskih proteina koji su prisutni u većini osteosarkoma. Poznato je da su receptor za humani epidermalni čimbenik rasta 2 (engl. *human epidermal growth factor receptor 2*, HER2), lanac receptora za IL-11 i gangliozid GD2 prekomjerno izraženi u velikom broju ispitanih tumorskih uzoraka. Ovi receptori mogu potencijalno poslužiti kao učinkovite mete za CAR-T imunoterapiju primarnih i sekundarnih osteosarkoma. Protein za programiranu smrt stanice (engl. *programmed cell death protein 1*, PD1) eksprimiran je na stanicama imunološkog sustava, a nakon vezivanja

liganda proteina za programiranu smrt stanice (engl. *programmed death-ligand 1*, PD-L1) dovodi do modulacije imunološkog odgovora organizma. Činjenica je da ovaj mehanizam ima najveću ulogu u suzbijanju autoimunih reakcija u organizmu, ali ponekad može dovesti do suzbijanja imunološke reakcije usmjerene prema tumorskim stanicama. Upotreba antitijela protiv PD-1/PD-L1 dovela je do povećanja sposobnosti imunološkog sustava u borbi protiv tumorskih stanica i posljedične inhibicije proliferacije i lokalne invazije osteosarkoma. (52) (59)

### **8.7. Ablacijska terapija**

Zbog svoje jednostavne primjene i minimalnih komplikacija, ablacijska terapija ima jedinstvene prednosti nad konvencionalnim pristupom liječenju osteosarkoma. Neke od najčešće korištenih ablacijskih tehnika uključuju radiofrekventnu ablaciju (engl. *radiofrequency ablation*, RFA), visokofrekventnu fokusiranu ultrazvučnu ablaciju (engl. *high-intensity focused ultrasound*, HIFU), krioablaciju i mikrovalnu ablaciju.

Mehanizam djelovanja HIFU ablacije objašnjava se stvaranjem kavitacijskog, termalnog i mehaničkog učinka, od kojih najveću ulogu ima termalni učinak. Termalni učinak je zagrijavanje tkiva korištenjem fokusiranih ultrazvučnih valova koji dovode do visokofrekventnih akustičnih vibracija i posljedičnog prijenosa energije koje dovodi do povišenja temperature iznad 60 °C. Područje na koje djeluju ultrazvučni valovi podliježe degeneraciji proteina, koagulacijskoj nekrozi te strukturnim i funkcionalnim promjenama unutar tumorskih stanica. Kavitacijski učinak predstavlja stvaranje, ekspanziju i eksploziju sitnih mjehurića zraka koji nastaju u tkivima vibracijom ultrazvučnog vala. To dovodi do stvaranja ograničenih područja visoke temperature, visokog tlaka, slobodnih radikala i akustičnih valova koji uzrokuju denaturaciju unutarstaničnih enzima i strukturnih proteina. Mehanički učinak podrazumijeva visokofrekventnu vibraciju koja nadmašuje granicu elastičnosti tkiva i dovodi do oštećenja, zbog čega ciljano djeluje na tumorom zahvaćene dijelove kosti, a ne oštećuje mehaničku funkciju zdrave kosti. HIFU se može provoditi pod kontrolom MRI ili ultrazvuka, a svaka od opcija ima specifične prednosti i nedostatke. Postupak pod kontrolom ultrazvuka praktičniji je i ekonomski pristupačniji, ali kontrast je slab i ne omogućava kvantitativno mjerenje temperature tkiva. S druge strane, postupak pod vodstvom MRI pokazuje bolju kontrastnu vizualizaciju, no zbog dugotrajnosti slikovne dijagnostike promjene prilikom pacijentova disanja mogu uvelike utjecati na preciznost postupka. HIFU postupak pokazuje jedinstvene pogodnosti poput minimalne invazivnosti, manjeg broja postproceduralnih

komplikacija i izostanka potrebe za funkcionalnom rekonstrukcijom. Nadalje, RFA i krioablacijske metode imaju veliku ulogu u liječenju metastatske bolesti zbog velikog uspjeha u smanjenju maligne boli kao i povećanju kvalitete života pacijenata. Budući da RFA nije dovoljno snažna da efikasno penetrira koštano tkivo, često se koristi u liječenju plućnih metastaza. (52) (60) (61) (62) (63)

## 9. Zaključak

Osteosarkom predstavlja cijeli niz klinički i patohistološki različitih malignih entiteta, od kojih svaki zahtijeva specifičan, individualiziran pristup dijagnostici i liječenju. Poznavanje etiologije razvoja osteosarkoma prvi je korak u razumijevanju i s njime započinje proučavanje složene tematike karcinogeneze, kao i mogućnosti prevencije i pravovremenog liječenja. Zbog velike varijabilnosti i nedostatka jednoznačne prezentacije, dijagnostika osteosarkoma problem je koji zahtijeva koordinaciju čitavog multidisciplinarnog tima koji uključuje stručnjake iz područja obiteljske medicine, patologije, radiologije, onkologije, ortopedije, fizikalne medicine, genetike i drugih specijalnosti. Patohistološka dijagnostika uvijek predstavlja posljednji korak u postavljanju ispravne dijagnoze i označava početak onkološkog liječenja. Histološka klasifikacija osteosarkoma temelji se na predominantnoj ekstracelularnoj komponenti i omogućuje svrstavanje tumora među jedan od glavnih histoloških podtipova, od kojih svaki pokazuje različit klinički odgovor na liječenje. U ovom radu detaljno su razmotrene najvažnije histološke i molekularne karakteristike različitih podtipova osteosarkoma, kao i najnovije spoznaje u patogenetskim mehanizmima karcinogeneze. Analizom genetskih mutacija koje doprinose malignoj alteraciji, poput mutacija *RB1* gena, *TP53* i *PTEN* gena, istaknuta je bitna uloga molekularne dijagnostike u modernoj onkološkoj dijagnostici i individualiziranom pristupu liječenju. Unatoč napretcima na području molekularne medicine i farmakoterapije, liječenje osteosarkoma i dalje predstavlja veliki izazov, posebice u slučaju metastatske bolesti visokog gradusa. Sve veća uloga ciljane terapije, kao i imunoterapije, otvara nove mogućnosti u borbi protiv ove agresivne bolesti, što pruža veliku nadu u poboljšanje budućih ishoda liječenja i kvalitete života pacijenata oboljelih od osteosarkoma. Postoji velika potreba za daljnjim istraživanjem mehanizama nastanka osteosarkoma kako bi se omogućio razvoj učinkovitijih i manje štetnih terapijskih opcija. Ovaj rad pruža sažet pregled najbitnijih informacija koje mogu unaprijediti dijagnostiku i liječenje osteosarkoma, što će na kraju pridonijeti boljem razumijevanju bolesti i razvoju novih terapijskih strategija.

## **10. Zahvale**

Svojoj mentorici, doc. dr. sc. Ani Šepac, iskreno zahvaljujem na velikodušnoj podršci, pruženim prilikama i otvorenim vratima koja su mi omogućila pisanje ovog rada. Kolegi i budućem velikom psihijatru Emiu Haliloviću hvala na godinama besplatne psihoterapije i zajedničkom rastu tijekom studentskih dana. Posebno zahvaljujem svom bratu Rudolfu za svu informatičku pomoć i razumijevanje koje je imao za mene. Neizmjereno sam zahvalna svom djedu Nikoli za beskrajnu ljubav, podršku i mudrost koju mi je nesebično pružao tijekom cijelog mog života. Mojem divnom suprugu Alanu hvala što je uvijek bio uz mene; naučio me koliko je istinska ljubav strpljiva i nesebična. Najveću zahvalnost ipak dugujem svojoj majci Poloni, za sve trenutke kada mi je bila i majka, i otac, i najbolji prijatelj. Hvala ti, mama.

## 11. Literatura

1. Klein MJ, Siegal GP. Osteosarcoma: Anatomic and Histologic Variants. *Am J Clin Pathol.* 2006 Apr;125(4):555–81.
2. Prater S, McKeon B. Osteosarcoma. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [cited 2024 May 12]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549868/>
3. Ottaviani G, Jaffe N. The Etiology of Osteosarcoma. In: Jaffe N, Bruland OS, Bielack S, editors. *Pediatric and Adolescent Osteosarcoma* [Internet]. Boston, MA: Springer US; 2009 [cited 2024 May 24]. p. 15–32. (Cancer Treatment and Research; vol. 152). Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-1-4419-0284-9\\_2](http://link.springer.com/10.1007/978-1-4419-0284-9_2)
4. Czarnecka AM, Synoradzki K, Firlej W, Bartnik E, Sobczuk P, Fiedorowicz M, et al. Molecular Biology of Osteosarcoma. *Cancers.* 2020 Jul 31;12(8):2130.
5. Hameed M, Mandelker D. Tumor Syndromes Predisposing to Osteosarcoma. *Adv Anat Pathol.* 2018 Jul;25(4):217–22.
6. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Robbins SL, Perkins JA. *Robbins basic pathology.* 10th ed. Philadelphia: Elsevier; 2018. 935 p.
7. Wittig JC, Bickels J, Priebat D, Jelinek J, Kellar-Graney K, Shmookler B, et al. Osteosarcoma: A multidisciplinary approach to diagnosis and treatment. *Am Fam Physician.* 2002 Mar 15;65(6):1123–33.
8. Kim SH, Shin KH, Moon SH, Jang J, Kim HS, Suh JS, et al. Reassessment of alkaline phosphatase as serum tumor marker with high specificity in osteosarcoma. *Cancer Med.* 2017 Jun;6(6):1311–22.
9. Rozeman LB, Cleton-Jansen AM, Hogendoorn PCW. Pathology of primary malignant bone and cartilage tumours. *Int Orthop.* 2006 Dec;30(6):437–44.
10. Misaghi A, Goldin A, Awad M, Kulidjian AA. Osteosarcoma: a comprehensive review. *SICOT J.* 2018;4:12.
11. Kundu ZS. Classification, imaging, biopsy and staging of osteosarcoma. *IJOO.* 2014 Jun;48(3):238–46.
12. Sathiyamoorthy S, Ali SZ. Osteoblastic Osteosarcoma: Cytomorphologic Characteristics and Differential Diagnosis on Fine-Needle Aspiration. *Acta Cytologica.* 2012;56(5):481–6.
13. Klein JS, Brant WE, Helms CA, Vinson EN, editors. *Brant and Helms fundamentals of diagnostic radiology.* 5th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2019.
14. Enneking WF, Spanier SS, Goodman MA. A system for the surgical staging of musculoskeletal sarcoma. *Clin Orthop Relat Res.* 1980;(153):106–20.
15. Tanaka K, Tsumura H. Eighth edition of the American Joint Committee on Cancer staging system for soft tissue sarcoma of the trunk and extremity: in search of a better staging system. *Ann Transl Med.* 2019 Mar;7(Suppl 1):S11.

16. Sim FH, Unni KK, Beabout JW, Dahlin DC. Osteosarcoma with small cells simulating Ewing's tumor. *J Bone Joint Surg Am.* 1979 Mar;61(2):207–15.
17. Nakajima H, Sim FH, Bond JR, Unni KK. Small cell osteosarcoma of bone. Review of 72 cases. *Cancer.* 1997 Jun 1;79(11):2095–106.
18. Unni KK. Osteosarcoma of bone. *J Orthop Sci.* 1998;3(5):287–94.
19. Choong PF, Pritchard DJ, Rock MG, Sim FH, McLeod RA, Unni KK. Low grade central osteogenic sarcoma. A long-term followup of 20 patients. *Clin Orthop Relat Res.* 1996 Jan;(322):198–206.
20. Raymond AK. Surface osteosarcoma. *Clin Orthop Relat Res.* 1991 Sep;(270):140–8.
21. Abramovici LC, Hytiroglou P, Klein RM, Karkavelas G, Drevelegas A, Panousi E, et al. Well-differentiated extraskeletal osteosarcoma: report of 2 cases, 1 with dedifferentiation. *Hum Pathol.* 2005 Apr;36(4):439–43.
22. Martin JW, Squire JA, Zielenska M. The Genetics of Osteosarcoma. *Sarcoma.* 2012;2012:1–11.
23. Selvarajah S, Yoshimoto M, Park PC, Maire G, Paderova J, Bayani J, et al. The breakage-fusion-bridge (BFB) cycle as a mechanism for generating genetic heterogeneity in osteosarcoma. *Chromosoma.* 2006 Dec;115(6):459–67.
24. van Harn T, Foijer F, van Vugt M, Banerjee R, Yang F, Oostra A, et al. Loss of Rb proteins causes genomic instability in the absence of mitogenic signaling. *Genes Dev.* 2010 Jul 1;24(13):1377–88.
25. Pellín A, Boix-Ferrero J, Carpio D, López-Terrada D, Carda C, Navarro S, et al. Molecular alterations of the RB1, TP53, and MDM2 genes in primary and xenografted human osteosarcomas. *Diagn Mol Pathol.* 1997 Dec;6(6):333–41.
26. Manning AL, Dyson NJ. pRB, a tumor suppressor with a stabilizing presence. *Trends Cell Biol.* 2011 Aug;21(8):433–41.
27. Heinsohn S, Evermann U, Zur Stadt U, Bielack S, Kabisch H. Determination of the prognostic value of loss of heterozygosity at the retinoblastoma gene in osteosarcoma. *Int J Oncol.* 2007 May;30(5):1205–14.
28. Miller CW, Aslo A, Won A, Tan M, Lampkin B, Koeffler HP. Alterations of the p53, Rb and MDM2 genes in osteosarcoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 1996;122(9):559–65.
29. Smida J, Baumhoer D, Rosemann M, Walch A, Bielack S, Poremba C, et al. Genomic alterations and allelic imbalances are strong prognostic predictors in osteosarcoma. *Clin Cancer Res.* 2010 Aug 15;16(16):4256–67.
30. López-Guerrero JA, López-Ginés C, Pellín A, Carda C, Llombart-Bosch A. Deregulation of the G1 to S-phase cell cycle checkpoint is involved in the pathogenesis of human osteosarcoma. *Diagn Mol Pathol.* 2004 Jun;13(2):81–91.
31. Mejia-Guerrero S, Quejada M, Gokgoz N, Gill M, Parkes RK, Wunder JS, et al. Characterization of the 12q15 MDM2 and 12q13-14 CDK4 amplicons and clinical correlations in osteosarcoma. *Genes Chromosomes Cancer.* 2010 Jun;49(6):518–25.
32. Tsuchiya T, Sekine K, Hinohara S, Namiki T, Nobori T, Kaneko Y. Analysis of the



- p16INK4, p14ARF, p15, TP53, and MDM2 genes and their prognostic implications in osteosarcoma and Ewing sarcoma. *Cancer Genet Cytogenet*. 2000 Jul 15;120(2):91–8.
33. Lorenz S, Barøy T, Sun J, Nome T, Vodák D, Bryne JC, et al. Unscrambling the genomic chaos of osteosarcoma reveals extensive transcript fusion, recurrent rearrangements and frequent novel TP53 aberrations. *Oncotarget*. 2016 Feb 2;7(5):5273–88.
  34. Atiye J, Wolf M, Kaur S, Monni O, Böhling T, Kivioja A, et al. Gene amplifications in osteosarcoma-CGH microarray analysis. *Genes Chromosomes Cancer*. 2005 Feb;42(2):158–63.
  35. Martin JW, Yoshimoto M, Ludkovski O, Thorner PS, Zielenska M, Squire JA, et al. Analysis of segmental duplications, mouse genome synteny and recurrent cancer-associated amplicons in human chromosome 6p21-p12. *Cytogenet Genome Res*. 2010 Jun;128(4):199–213.
  36. Bayani J, Zielenska M, Pandita A, Al-Romaih K, Karaskova J, Harrison K, et al. Spectral karyotyping identifies recurrent complex rearrangements of chromosomes 8, 17, and 20 in osteosarcomas. *Genes Chromosomes Cancer*. 2003 Jan;36(1):7–16.
  37. Ozaki T, Schaefer KL, Wai D, Buerger H, Flege S, Lindner N, et al. Genetic imbalances revealed by comparative genomic hybridization in osteosarcomas. *Int J Cancer*. 2002 Dec 1;102(4):355–65.
  38. Noguera R, Navarro S, Triche TJ. Translocation (11;22) in small cell osteosarcoma. *Cancer Genetics and Cytogenetics*. 1990 Mar;45(1):121–4.
  39. Nishio J, Gentry JD, Neff JR, Nelson M, Daniels W, Perry D, et al. Monoallelic deletion of the p53 gene through chromosomal translocation in a small cell osteosarcoma. *Virchows Arch*. 2006 Jun;448(6):852–6.
  40. Bridge JA, Nelson M, McComb E, McGuire MH, Rosenthal H, Vergara G, et al. Cytogenetic findings in 73 osteosarcoma specimens and a review of the literature. *Cancer Genet Cytogenet*. 1997 May;95(1):74–87.
  41. Tarkkanen M, Böhling T, Gamberi G, Ragazzini P, Benassi MS, Kivioja A, et al. Comparative genomic hybridization of low-grade central osteosarcoma. *Mod Pathol*. 1998 May;11(5):421–6.
  42. Park HR, Jung WW, Bertoni F, Bacchini P, Park JH, Kim YW, et al. Molecular analysis of p53, MDM2 and H-ras genes in low-grade central osteosarcoma. *Pathol Res Pract*. 2004;200(6):439–45.
  43. Fortuno C, James PA, Spurdle AB. Current review of TP53 pathogenic germline variants in breast cancer patients outside Li-Fraumeni syndrome. *Hum Mutat*. 2018 Dec;39(12):1764–73.
  44. Aedma SK, Kasi A. Li-Fraumeni Syndrome. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [cited 2024 Jul 31]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK532286/>
  45. Ishaq H, Patel BC. Retinoblastoma. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [cited 2024 Jul 31]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545276/>

46. Calvert GT, Randall RL, Jones KB, Cannon-Albright L, Lessnick S, Schiffman JD. At-risk populations for osteosarcoma: the syndromes and beyond. *Sarcoma*. 2012;2012:152382.
47. Wang LL, Plon SE. Rothmund-Thomson syndrome. In: Adam MP, Mirzaa GM, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJ, Gripp KW, et al., editors. *GeneReviews* [Internet]. Seattle: University of Washington; 1993 [cited 2024 Aug 1]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1237/>
48. Siitonen HA, Kopra O, Kääriäinen H, Haravuori H, Winter RM, Säämänen AM, et al. Molecular defect of RAPADILINO syndrome expands the phenotype spectrum of RECQL diseases. *Hum Mol Genet*. 2003 Nov 1;12(21):2837–44.
49. Sickles CK, Gross GP. Progeria. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [cited 2024 Aug 1]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507797/>
50. Arora H, Chacon AH, Choudhary S, McLeod MP, Meshkov L, Nouri K, et al. Bloom syndrome. *Int J Dermatol*. 2014 Jul;53(7):798–802.
51. Gadhiya K, Wills C. Diamond Blackfan Anemia. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [cited 2024 Aug 1]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545302/>
52. Jiang ZY, Liu JB, Wang XF, Ma YS, Fu D. Current Status and Prospects of Clinical Treatment of Osteosarcoma. *Technol Cancer Res Treat*. 2022;21:15330338221124696.
53. Zoumpoulidou G, Alvarez-Mendoza C, Mancusi C, Ahmed RM, Denman M, Steele CD, et al. Therapeutic vulnerability to PARP1,2 inhibition in RB1-mutant osteosarcoma. *Nat Commun*. 2021 Dec 3;12(1):7064.
54. Wu W, Jing D, Meng Z, Hu B, Zhong B, Deng X, et al. FGD1 promotes tumor progression and regulates tumor immune response in osteosarcoma via inhibiting PTEN activity. *Theranostics*. 2020;10(6):2859–71.
55. Penel N, Mir O, Wallet J, Ray-Coquard I, Le Cesne A, Italiano A, et al. A double-blind placebo-controlled randomized phase II trial assessing the activity and safety of regorafenib in non-adipocytic sarcoma patients previously treated with both chemotherapy and pazopanib. *Eur J Cancer*. 2020 Feb;126:45–55.
56. Frankel P, Ruel C, Uche A, Choy E, Okuno S, Somiah N, et al. Pazopanib in Patients with Osteosarcoma Metastatic to the Lung: Phase 2 Study Results and the Lessons for Tumor Measurement. *J Oncol*. 2022;2022:3691025.
57. Gong L, Zhang Y, Liu C, Zhang M, Han S. Application of Radiosensitizers in Cancer Radiotherapy. *Int J Nanomedicine*. 2021;16:1083–102.
58. Xu M, Wang Z, Yu XC, Lin JH, Hu YC. Guideline for Limb-Salvage Treatment of Osteosarcoma. *Orthop Surg*. 2020 Aug;12(4):1021–9.
59. Supra R, Agrawal DK. Immunotherapeutic Strategies in the Management of Osteosarcoma. *J Orthop Sports Med*. 2023;5(1):32–40.
60. Yu Z, Ma B, Zhou Y, Zhang M, Long H, Wang Y, et al. Allogeneic tumor vaccine produced by electrofusion between osteosarcoma cell line and dendritic cells in the

induction of antitumor immunity. *Cancer Invest.* 2007;25(7):535–41.

61. Smrke A, Anderson PM, Gulia A, Gennatas S, Huang PH, Jones RL. Future Directions in the Treatment of Osteosarcoma. *Cells.* 2021 Jan 15;10(1):172.
62. Zhu J, Simayi N, Wan R, Huang W. CAR T targets and microenvironmental barriers of osteosarcoma. *Cytotherapy.* 2022 Jun;24(6):567–76.
63. Wu CC, Wang YA, Livingston JA, Zhang J, Futreal PA. Prediction of biomarkers and therapeutic combinations for anti-PD-1 immunotherapy using the global gene network association. *Nat Commun.* 2022 Jan 10;13(1):42.

## 12. Životopis

Zara Gumzej rođena je 15. travnja 1998. godine u Zagrebu. Od 2005. do 2013. pohađala je Osnovnu školu „Šimun Kožićić Benje“ u Zadru nakon čega upisuje Gimnaziju „Juraj Baraković“ u Zadru. Po završetku gimnazijskog školovanja upisuje Medicinski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. U akademskoj godini 2018./2019. osvaja drugo mjesto u ekipnoj konkurenciji UNISPORTZG ŠAH natjecanju. Tijekom studiranja bila je član studentskog dijela uredništva STUDMEF-a od 2019. do 2021. godine te aktivni član Studentske sekcije za pedijatriju i Studentske sekcije za patologiju. Bila je demonstratorica na Katedri za histologiju u akademskoj godini 2023./2024. Tijekom studija razvila je poseban interes za onkologiju, imunologiju i patologiju. Sudjelovala je na brojnim domaćim i međunarodnim studentskim i stručnim kongresima. Kao prva autorica dobila je nagradu za najbolji poster na međunarodnom studentskom kongresu Croatian Student Summit 18 (CROSS 18) te kao koautorica dobila je nagradu za najbolje izlaganje na međunarodnom studentskom kongresu 7th International Medical Student Congress Sarajevo (SaMED 7). Autorica je i koautorica na više radova i sažetaka iz područja psihijatrije, pedijatrije, kardiologije i onkologije. Tijekom studija sudjelovala je u kliničkim rotacijama u Sjedinjenim Američkim Državama, gdje je unaprijedila svoja klinička znanja i vještine te stekla vrijedno iskustvo u međunarodnom medicinskom okruženju.