



Universidad de Oviedo

Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud

Grado en Medicina

Curso 2021/2022

TRABAJO FIN DE GRADO

SARCOMA DE EWING

**Características clínicas, diagnósticas y del
tratamiento**

Autora:

Laura Martínez Rodríguez

Tutores:

Dr. Daniel Núñez Batalla

Dr. Alejandro Braña Vigil

ÍNDICE

ABREVIATURAS.....	1
RESUMEN.....	2
SUMMARY.....	3
INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN.....	4
MATERIAL Y MÉTODOS.....	5
DESARROLLO DE LA REVISIÓN.....	6
1. GENERALIDADES.....	6
2. DIAGNÓSTICO.....	8
• Clínica.....	8
• Datos de Laboratorio.....	9
• Pruebas de imagen.....	9
• Biopsia.....	11
3. ESTADIAJE.....	12
• Estadíos pronósticos AJCC.....	12
• Sistema de Estadiaje de Enneking.....	13
4. TRATAMIENTO.....	14
5. ALGORITMO DE TRATAMIENTO.....	16
• Enfermedad localizada.....	16
• Enfermedad metastásica.....	17
• Enfermedad recidivante.....	17
6. PRONÓSTICO.....	21
7. BIOMARCADORES CON VALOR PRONÓSTICO.....	24

8. CASO CLÍNICO.....	24
COMENTARIOS DE INTERÉS PARA LA PRÁCTICA CLÍNICA.....	27
CONCLUSIONES.....	28
BIBLIOGRAFÍA.....	29
ANEXOS.....	37
ANEXO 1 (Mutaciones genéticas).....	37
ANEXO 2 (Clasificación TNMG del AJCC).....	38
ANEXO 3 (Estadíos pronósticos AJCC).....	39
ANEXO 4 (Estadíos pronósticos Sistema de Enneking).....	39
ANEXO 5 (Nuevas líneas de tratamiento).....	40
ANEXO 6 (Ensayos Clínicos).....	41
ANEXO 7 (Biomarcadores con valor pronóstico).....	42

ÍNDICE DE IMÁGENES

IMÁGENES 1 y 2 (Histología del SE).....	43
IMÁGENES 3 y 4 (Rx de tibia y peroné de SE).....	44
IMÁGENES 5 y 6 (RM de peroné).....	44
IMÁGENES 7 y 8 (Biopsia por punción con trócar y biopsia incisional).....	45
IMÁGENES 9 y 10 (Aloinjerto y prótesis en SE).....	45
IMAGEN 11 (Rx pelvis antes de la cirugía).....	46
IMAGEN 12 (RM de pelvis).....	46
IMAGEN 13 (PET-TC de pelvis).....	47
IMAGEN 14 (Reordenamiento cromosómico).....	47
IMÁGENES 15 y 16 (Pieza quirúrgica).....	48
IMAGEN 17 (Rx de pelvis tras cirugía).....	48

ABREVIATURAS

- **18-FDG** = Fluorodesoxiglucosa
- **AJCC** = American Joint Committee of Cancer
- **ALDH** = Aldehído Deshidrogenasa
- **CCT6A** = Chaperonin containing TCP1 complex 6A
- **EGR2** = Early Growth Response 2
- **GD2** = Digangliósido
- **HER2** = Receptor 2 del factor de crecimiento epidérmico humano
- **HGF** = Factor de crecimiento hepatocítico
- **IGF-1** = Factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1
- **KDM5A** = Lysine Demethylase 5A
- **LDH** = Lactato Deshidrogenasa
- **NCBI** = Centro Nacional para la Información Biotecnológica
- **NGS** = secuenciación de nueva generación
- **PAAF** = Punción-aspiración con aguja fina
- **PARP** = Poli ADP-ribosa polimerasa
- **PCR** = Proteína C reactiva
- **PDGFR** = Receptores del factor de crecimiento derivado de plaquetas
- **PET-TC** = Tomografía por emisión de Positrones
- **PHF2** = PHD Finger Protein 2
- **PNET** = Tumores Neuroectodérmicos Primitivos
- **QT** = Quimioterapia
- **RING1B** = Ring Finger Protein 1 B
- **RM** = Resonancia Magnética
- **RT** = Radioterapia
- **SE** = Sarcoma de Ewing
- **SPRY1** = Proteína Sprouty 1
- **STAG2** = Stromal Antigen 2
- **SUV** = Standardized Uptake Value
- **TC** = Tomografía Computarizada
- **TRU-CUT** = Biopsia con aguja gruesa
- **VEGFR** = Receptores del factor de crecimiento del endotelio vascular
- **VSG** = Velocidad de sedimentación globular

RESUMEN

El sarcoma de Ewing (SE) es un tumor óseo maligno de alto grado que aparece típicamente en niños y adultos jóvenes. Representa el segundo tumor óseo primario más frecuente en esa franja de edad, por detrás del osteosarcoma, aunque en España sería el más frecuente según datos del Registro Nacional de Tumores Infantiles (2016). Afecta a las diáfisis de huesos largos y también a huesos planos. Es un tumor formado por células redondas de pequeño tamaño, CD99 positivas, con alta expresión de ALDH (Aldehído deshidrogenasa) y LDH A (Lactato deshidrogenasa). En la mayoría de los casos (en torno al 85%) están implicados genes EWSR1 y FLI1, localizados en el brazo largo del cromosoma 22 y en el brazo largo del cromosoma 11, respectivamente. La translocación entre estos dos cromosomas hace que se fusionen los genes EWSR1-FLI1.

El diagnóstico de la enfermedad se basa en la anamnesis, la exploración física y son muy importantes las pruebas de imagen, especialmente la Resonancia Magnética (RM). El diagnóstico definitivo se hace en base a biopsia, bien sea por punción o incisional. En el momento del diagnóstico, en torno al 25% de los pacientes tienen metástasis. El tratamiento es multidisciplinar y se basa en Quimioterapia (QT), Cirugía siempre que sea posible y Radioterapia (RT). Para los casos más refractarios o, cuando haya metástasis a distancia, se puede recurrir a otras estrategias terapéuticas como irradiación pulmonar bilateral, dosis altas de QT y trasplante de células madre.

El pronóstico va a depender fundamentalmente de dos grupos de factores: uno que precede al tratamiento, como es el tamaño y la localización tumoral, la edad y el sexo del paciente, la presencia de metástasis; y otro que depende de la reacción al tratamiento inicial, donde se tiene en cuenta la calidad de la cirugía y la respuesta a la poli-QT y, en los casos recidivantes, al tiempo transcurrido hasta que aparece la recidiva, así como su localización. Recientemente se han descubierto nuevos biomarcadores con valor pronóstico en el SE: CCT6A, SPRY1, KDM5A y PHF2, RNIG1B.

PALABRAS CLAVE: sarcoma óseo, sarcoma de Ewing.

SUMMARY

Ewing sarcoma (ES) is a high-grade malignant bone tumor that appears in children and young adults. It's the second most common primary bone tumor in that age group, after osteosarcoma, although in Spain it's the most common, according to the data from the National Registry of Childhood Tumors (2016). It affects the diaphysis of long and flat bones. It's a tumor formed by small round cells, CD99 positive, with high expression of ALDH (Aldehyde dehydrogenase) and LDH A (Lactate dehydrogenase). In most cases (around 85%) are involved EWSR1 and FLI1 genes, located on the long arm of chromosome 22 and on the long arm of chromosome 11 respectively. The translocation between these two chromosomes causes the EWSR1-FLI1 genes fusion.

Diagnosis of the disease is based on anamnesis, physical examination and imaging tests are very important, especially the Magnetic Resonance (MR). The definitive diagnosis is made by biopsy: puncture or incisional biopsy. At the time of diagnosis, around 25% of patients have metastases. Treatment is multidisciplinary and is based on chemotherapy (QT), surgery whenever possible, and radiotherapy (RT). For more refractory cases or when there are distant metastases, other therapeutic strategies such as bilateral lung irradiation, high doses of QT and stem cell transplantation may be used.

Prognosis will depend on two groups of factors: one that precedes treatment, such as tumor size and location, age and sex of the patient, presence of metastases; and another that depends on the response to initial treatment, which takes into account the response to neoadjuvant poly-QT and, in recurrent cases, the time to recurrence, as well as the location of the recurrence. New biomarkers with prognostic value in ES have been discovered recently: CCT6A, SPRY1, KDM5A and PHF2, RING1B.

KEY WORDS: Bone sarcoma, Ewing sarcoma.

INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN

La incidencia de tumores óseos, especialmente los sarcomas óseos primarios, es muy rara con respecto a los tumores malignos en general. Revisiones de series largas revelan que aproximadamente sólo alrededor del 0,5% de todas las neoplasias corresponden a sarcomas óseos. En edad pediátrica esta incidencia es más elevada, correspondiendo fundamentalmente a osteosarcoma y sarcoma de Ewing (SE).

El SE representa aproximadamente el 5-15% de los tumores óseos primitivos malignos y, en general, es el cuarto tumor óseo primario más común detrás de mieloma, condrosarcoma y osteosarcoma. Aproximadamente el 90% de los casos aparecen entre los 5 y los 30 años, siendo la incidencia más alta entre los 10 y los 15 años. Por otra parte, se trata de un tumor de pronóstico incierto, con altas tasas de recidiva local y de producción de metástasis a distancia, especialmente en aquellos pacientes con enfermedad diseminada al diagnóstico o las localizaciones en el esqueleto axial.

Las modernas combinaciones terapéuticas, como veremos en el trabajo que presento, han cambiado drásticamente el pronóstico de la enfermedad, aunque el SE sigue siendo un tumor maligno de pronóstico incierto.

El SE es un sarcoma óseo raro que afecta fundamentalmente a niños y adolescentes y su manejo clínico constituye un ejemplo de trabajo multidisciplinar. Por otra parte, se trata de un tumor en el que tienen aplicación directa los más recientes conocimientos de biología molecular y quimioterapia avanzada.

El objetivo de este trabajo es realizar una revisión del SE, mostrando los avances en el conocimiento de la biología molecular, en la cirugía y RT, así como la introducción de nuevos agentes quimioterápicos que permiten realizar una medicina personalizada, e ilustrarlo con la presentación de un caso clínico significativo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se han seleccionado artículos utilizando el motor de búsqueda PubMed, integrado en el Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI), el cual recopila revistas y artículos de la Biblioteca Nacional de Medicina de Estados Unidos. También se ha consultado la herramienta de colaboración científica en internet ResearchGate, con el objetivo de aclarar conceptos y abarcar más información disponible, y la biblioteca electrónica SciELO. Además, se han revisado los datos disponibles sobre el SE en el Registro de Tumores del HUCA y en el archivo de pacientes del Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología del HUCA.

DESARROLLO DE LA REVISIÓN

1. GENERALIDADES

El Sarcoma de Ewing (SE), reconocido por primera vez por Lücke, en 1866, fue estudiado e individualizado por James Ewing en 1921. [\(1\)](#)

Ewing incluyó dentro de la misma familia tumoral 4 tipos diferentes, todos ellos con características histológicas similares [\(2\)](#):



Dr. James Ewing

- Sarcoma de Ewing esquelético: el más frecuente.
- Sarcoma de Ewing extraesquelético: localización en tejidos blandos.
- Tumores Neuroectodérmicos Primitivos (PNET): se desarrollan en tejido nervioso y se pueden localizar en muchas partes del organismo.
- Tumor de Askin: es un tipo de PNET que se localiza en la pared torácica.

El SE es un tumor maligno de alto grado que afecta a pacientes jóvenes con una edad media de aparición a los 15 años, siendo raro antes de los 5 años. Es el segundo tumor óseo primario maligno más frecuente en niños y adultos jóvenes, por detrás del osteosarcoma, aunque en España, teniendo en cuenta el Registro Nacional de Cáncer Pediátrico de 2016, es el tumor óseo primario maligno más frecuente [\(3,4\)](#). Es ligeramente más prevalente en varones que en mujeres y es raro en la raza negra, representando este último grupo étnico aproximadamente el 2% de los casos, posiblemente debido a un polimorfismo en el gen EGR2 [\(5,6\)](#).

Es una tumoración que afecta a la diáfisis de huesos largos y también a huesos planos. Las localizaciones más frecuentes son: fémur (20-27%), tibia y peroné (15-23%), húmero (11%),

seguido de pelvis (20-26%), costillas (7-11%) y columna vertebral (8%) [\(4\)](#). La etiología no está clara, pues no se ha visto que la aparición del SE esté relacionada directamente con factores ambientales ni antecedentes familiares de cáncer, aunque no hay muchos estudios retrospectivos de casos y controles en este aspecto [\(2, 7\)](#).

Histológicamente, el SE está formado por células redondas de pequeño tamaño con núcleo grande y citoplasma rico en glucógeno (**IMÁGENES 1 y 2**). Tiene positividad para CD99, una proteína transmembrana codificada por el gen MIC2, que se utiliza como marcador para diferenciar el SE de otros tumores de células redondas pequeñas [\(8, 9, 10, 11\)](#). Aunque esta proteína está presente en torno al 95% de los casos no es específica del SE, ya que está también presente en otros tipos de sarcomas [\(12, 13\)](#). Además, las células del SE expresan altos niveles de ALDH (Aldehído deshidrogenasa) [\(14, 15\)](#), que favorece la resistencia de este tumor a la quimioterapia convencional usada para el tratamiento de sarcomas, así como también de LDH A (Lactato deshidrogenasa) [\(16\)](#).

Genéticamente, en torno al 85% de los SE tienen implicados a los genes EWSR1 (Ewing Sarcoma RNA-binding protein 1, perteneciente a la familia de proteínas TET) localizado en el brazo largo del cromosoma 22, y FLI1 (protooncogén perteneciente a la familia ETS de factores de transcripción) localizado en el brazo largo del cromosoma 11 [\(9, 17, 18\)](#). La proteína EWS presenta un dominio de unión en el extremo C-terminal al ARN y un dominio de activación de la transcripción en el extremo N-terminal. Por su parte, FLI1 tiene un dominio de unión al ADN con capacidad para reconocer secuencias GGAA/T y un dominio de activación transcripcional en el extremo N-terminal [\(19\)](#). La translocación entre los cromosomas 11 y 22 [t (11; 22) (q24; q12)] [\(17\)](#).

[20](#)) hace que se fusionen los genes EWSR1 y FLI1, donde el dominio del extremo N-terminal de FLI1 es reemplazado por el extremo N-terminal de EWSR1. El tipo de fusión más habitual es el tipo I, en el que se fusiona el exón 7 de EWSR1 con el exón 6 de FLI1, estando presente en torno al 85% de los casos [\(8, 11, 21\)](#). Se ha demostrado que los pacientes con SE localizado que presentan esta fusión tienen mejor pronóstico que los que presentan otras fusiones [\(21\)](#).

La fusión EWS-FLI1 actúa sobre el epigenoma de las células tumorales del SE, ocasionando modificaciones importantes sobre las marcas epigenéticas de los promotores. La marca epigenética que más se ve afectada es la acetilación de la histona H3K27 [\(22\)](#). EWS-FLI1 produce también una importante desregulación de la expresión génica a través de la activación o inhibición de la transcripción de distintos genes involucrados en el desarrollo oncogénico [\(23\)](#).

En el SE también existen otras alteraciones, tales como la translocación no recíproca entre los cromosomas 1 y 16 [t (1; 16) (q12; q11.2)], ganancias en los cromosomas 2, 5, 8, 9, 12 y 15, deleciones en el brazo corto del cromosoma 6 y trisomía del cromosoma 20, la cual podría guardar relación con una mayor agresividad del SE [\(20\)](#).

También hay ciertas mutaciones en diferentes genes que no responden bien a los tratamientos con terapias dirigidas, lo que las hace recidivantes [\(24, 25, 26\)](#). **(ANEXO 1)**

2. DIAGNÓSTICO

El diagnóstico correcto de todo tumor óseo requiere la evaluación de una serie de procedimientos que llamamos procedimientos diagnósticos. Son los siguientes:

- **Clínica**: Suele comenzar con un dolor insidioso, profundo, en la región afectada que, al principio, puede ceder con analgésicos y antiinflamatorios, pero a medida que avanza la enfermedad se va haciendo cada vez más intenso y deja de responder al tratamiento

farmacológico. Al ser el dolor un síntoma poco específico es bastante habitual que el diagnóstico se retrase semanas o incluso meses. Cuando la masa crece se puede palpar y en la mayoría de los casos aparecerá tumefacción en la zona, pues es muy frecuente que haya afectación de los tejidos blandos vecinos. Es muy típico y significativo el deterioro del estado general, con fiebre y pérdida de peso [\(9\)](#).

- **Datos de Laboratorio:** En las pruebas de laboratorio, se observará leucocitosis, elevación de la Proteína C Reactiva (PCR), elevación de la Velocidad de Sedimentación Globular (VSG), anemia, elevación de la Lactato deshidrogenasa (LDH) y elevación de la Fosfatasa Alcalina, especialmente en los pacientes con gran destrucción ósea [\(9\)](#).
- **Pruebas de imagen:** son determinantes para llegar al diagnóstico de presunción de un SE y nos van a precisar la localización, el grado de afectación ósea y de las estructuras vecinas al hueso, así como la existencia o no de metástasis a distancia.
 - **Radiografía simple:** el SE es un tumor que asienta preferentemente en la diáfisis de huesos largos, en huesos planos y en esqueleto axial, produciendo típicamente una reacción osteolítica en el hueso afecto. Se suele ver una reacción perióstica continua, en “capas de cebolla”, sobre la zona donde se localiza la lesión. Esta reacción perióstica no es específica del SE, pero sí muy característica, apareciendo en aproximadamente el 50% de los casos. Es frecuente encontrar un patrón permeativo, con lesiones óseas en forma apolillada y con bordes mal definidos [\(27\)](#). En los huesos planos aparece un patrón mixto con lesiones líticas y blásticas, predominando el componente lítico que alterna con zonas de esclerosis [\(4\)](#). Siempre hay gran componente de extensión extraósea. **(IMÁGENES 3 y 4)**

- Resonancia Magnética (RM): es la prueba de imagen más sensible para el diagnóstico del SE. Permite definir de forma precisa la afectación de las partes blandas, así como el edema tumoral y la afectación medular. Se puede apreciar una lesión destructiva, hipointensa en secuencia T1 e hiperintensa en secuencia T2. Es importante obtener imágenes de la totalidad del hueso afecto para descartar focos metastásicos que puedan estar localizadas en él (Skip metástasis) [\(21, 27\)](#). **(IMÁGENES 5 y 6)**
- Tomografía Computarizada (TC) [\(27\)](#): se emplea para hacer el estudio de extensión de la enfermedad, obteniéndose imágenes de tórax, abdomen y pelvis con las que comprobar si hay metástasis a esos niveles.
- Tomografía por emisión de positrones (PET-TC) [\(27\)](#): es una técnica de imagen funcional que nos permite apreciar la actividad metabólica del cuerpo humano mediante el seguimiento de un radiofármaco de vida media ultracorta; el más utilizado es la Fluorodesoxiglucosa (18 FDG). Con ello podemos detectar y cuantificar (SUV: Standarized Uptake Value) el consumo celular de glucosa y, por tanto, la actividad celular patológica asociada a la neoplasia. El resultado de esta prueba sirve como factor pronóstico y de valoración de la eficacia de los tratamientos en función del nivel de captación que muestren las células tumorales. Tiene mayor sensibilidad para diagnosticar metástasis óseas que la Gammagrafía. El PET-TC es también útil para detectar metástasis y para seguimiento, aunque se utiliza preferentemente el TC tóraco-abdomino-pélvico.

Es importante hacer diagnóstico diferencial con otras patologías: osteomielitis e histiocitosis de células de Langerhans (granuloma eosinófilo), que podrían dar una clínica

parecida. En el caso del granuloma eosinófilo, también pueden observarse imágenes de reacción perióstica en “capas de cebolla” muy parecidas a las observadas en el SE. Los resultados de las pruebas de laboratorio suelen estar más alterados en el caso de la osteomielitis. Las pruebas de imagen, como la Resonancia Magnética (RM), también nos facilitan el diagnóstico diferencial entre ambas patologías que, por supuesto, debe ser aclarada con la biopsia ósea [\(9, 28, 29\)](#).

- **Biopsia:** la biopsia es la prueba diagnóstica básica que nos permite realizar el diagnóstico definitivo de la enfermedad [\(27\)](#). Hay distintos tipos de biopsia:
 - **Biopsia cerrada** (guiada por TC o, incluso, por radiografía simple o ecografía):
 - **PAAF** (Punción-aspiración con aguja fina): no está indicada como elemento diagnóstico en este tipo de tumor.
 - **TRU-CUT** (biopsia con aguja gruesa): raramente indicada para diagnóstico en tumores óseos, aunque podría tener su indicación en la toma de muestras de la infiltración neoplásica extraesquelética.
 - **TRÓCAR:** con él se obtiene una muestra tisular del tumor, con lo que podemos llegar al diagnóstico definitivo con mayor precisión. Es muy importante que la muestra se realice de una zona tumoral representativa, pues de lo contrario podríamos obtener falsos negativos.
 - **Biopsia abierta:** se indica cuando la biopsia cerrada no permite establecer un diagnóstico firme o pueda tener riesgos su realización. Haremos un abordaje lo más pequeño posible, con hemostasia cuidadosa y dejando un drenaje para evitar la formación de hematoma y, con ello, la posible diseminación local del tumor. Debemos asegurarnos de obtener una cantidad suficiente de tejido que permita al patólogo establecer el diagnóstico teniendo en cuenta que las muestras van a ser procesadas

para un importante número de determinaciones: histología simple, marcadores tumorales, inmunohistoquímica y biología molecular. **(IMÁGENES 7 y 8)**

Es muy importante la experiencia, tanto del cirujano ortopédico encargado de hacer la biopsia como del patólogo, con el fin de disminuir los riesgos de error diagnóstico y aumentar la eficacia del procedimiento. Este es uno de los aspectos esenciales que justifican el mantenimiento de Centros de Referencia para el tratamiento de los sarcomas [\(30\)](#).

3. **ESTADIAJE**

El sistema de estadiaje más frecuentemente utilizado en el SE es la clasificación TNMG del American Joint Committee of Cancer (AJCC) [\(8, 31\)](#) **(ANEXO 2)**. En ella se incluye:

- **T**: tamaño del tumor y si afecta a diferentes partes del mismo hueso
- **N**: afectación ganglionar
- **M**: presencia de metástasis a distancia
- **G**: grado histológico. En el grado histológico se tiene en cuenta la diferenciación celular, el recuento del número de mitosis y el grado de necrosis.

ESTADÍOS PRONÓSTICOS DEL SARCOMA DE EWING [\(31\)](#)

El SE es considerado un tumor de alto grado, por lo que el Estadío I no existe. Se empieza a estadiar a partir del Estadío II **(ANEXO 3)**:

- o **Estadío II A**: la masa tumoral mide menos de 8 cm, no hay afectación ganglionar ni metástasis a distancia. Alto grado. **(T1, N0, M0, G3)**.

- **Estadio II B:** la masa tumoral mide más de 8 cm, no hay afectación ganglionar ni metástasis a distancia. Alto grado. **(T2, N0, M0, G3).**
- **Estadio III:** afectación tumoral en distintas localizaciones dentro del mismo hueso, no hay afectación ganglionar ni metástasis a distancia. Alto grado. **(T3, N0, M0, G3).**
- **Estadio IV:** cualquier T (el tumor puede ser de cualquier tamaño o haber afectación tumoral en distintas localizaciones dentro del mismo hueso con metástasis a distancia). Puede haber o no afectación ganglionar. Hay metástasis a distancia, que en función de su localización se distingue entre:
 - **M1 a:** las metástasis son pulmonares
 - **M1 b:** las metástasis están a otros niveles como el hueso

SISTEMA DE ESTADIAJE DE ENNEKING [\(32\)](#)

Menos utilizado en nuestro medio, tiene en cuenta el grado (G1: bajo grado / G2: alto grado), la localización (T1: intracompartimental / T2: extracompartimental) y si existen o no metástasis a distancia (M0: no hay metástasis/ M1: sí hay metástasis).

Con estos datos, podemos diferenciar los siguientes estadios:

- **Estadio I A:** Tumor de bajo grado; intracompartimental; sin metástasis a distancia. **(G1, T1, M0).** No en el Sarcoma de Ewing.
- **Estadio I B:** tumor de bajo grado; extracompartimental; sin metástasis a distancia. **(G1, T2, M0).** No en el Sarcoma de Ewing.
- **Estadio II A:** tumor de alto grado; intracompartimental; sin metástasis. **(G2, T1, M0).**
- **Estadio II B:** tumor de alto grado; extracompartimental sin metástasis. **(G2, T2, M0).**
- **Estadio III:** cualquier grado; cualquier localización; hay metástasis. **(G1/G2, T1/T2, M1).**

Teniendo en cuenta que el SE es un tumor de alto grado, los estadíos I A y I B no existen. Por tanto, los estadíos del SE según en Sistema de Estadiaje de Enneking son los que se exponen en el **ANEXO 4**.

4. TRATAMIENTO

El tratamiento del SE es multidisciplinar, estando involucrados especialistas en Cirugía Ortopédica y Traumatología, Oncología Médica y Oncología Radioterápica, además de Radiodiagnóstico, Rehabilitación, Nutrición y Psicología clínica, fundamentalmente.

Dado que en el momento del diagnóstico un porcentaje de los pacientes presentan metástasis ocultas, está indicada QT combinando diferentes fármacos de entrada (poliquimioterapia) y después realizar control local de la enfermedad mediante exéresis quirúrgica, siempre que sea posible, y, finalmente, RT [\(33, 34\)](#). Para aquellos casos que no respondan al tratamiento médico se podrá recurrir al Trasplante de células madre con QT a altas dosis [\(35, 36\)](#).

- **QT:** se utiliza una combinación de diferentes fármacos (poliquimioterapia): Vincristina (V), Doxorrubicina (D), Ciclofosfamida (C), Ifosfamida (I), Etopósido (E). Se administran 6 ciclos de QT neoadyuvante (previo a la cirugía) y, posteriormente, se continúa con QT adyuvante hasta alcanzar los 14 ciclos [\(33, 37, 38, 39, 40\)](#).
- **Cirugía** [\(33, 40\)](#): tras la administración de QT (por lo general 6 ciclos), siempre que sea posible se hará una resección quirúrgica amplia, es decir, extirpación total del tumor con márgenes libres o una resección radical, extirpando todo el compartimento en el que se encuentra localizado el tumor. La resección tumoral ha de incluir no sólo el área de afectación ósea sino también la extensión extraósea de la enfermedad. Esto

supone, muchas veces, una gran pérdida de tejido óseo que debe ser reconstruida para que no haya menoscabo funcional o que éste sea el menor posible. La reconstrucción de la superficie reseca puede realizarse con:

- Aloinjertos óseos estructurales: son el procedimiento de elección en pacientes jóvenes y dan buen resultado en cuanto a consolidación con el huésped y capacidad de recuperación funcional. Tienen como inconvenientes mayores que la duración de la cirugía es más prolongada y que se ve retrasado considerablemente el tiempo de consolidación. **(IMAGEN 9)**
- Prótesis de reconstrucción: también dan muy buen resultado en cuanto a recuperación funcional, pero su elevado coste y los problemas que pueden plantear a largo plazo (aflojamiento y/o desgaste) deben ser considerados a la hora de planificar la cirugía y elegir este procedimiento de reconstrucción.

(IMAGEN 10)

- **RT**: el SE es un tumor radiosensible por lo que, en caso de ser necesario, responde bien a la RT. La RT externa, como tratamiento único de la enfermedad local, se reserva para aquellos casos en los que no sea posible hacer cirugía o como tratamiento complementario cuando, a pesar de haber hecho cirugía, no haya sido posible realizar una resección amplia con márgenes que se consideren suficientes [\(21, 33, 40\)](#). El esquema de tratamiento se basa en RT externa con fotones, administrando en una primera fase 45 Gy en todo el volumen y, posteriormente una dosis de sobreimpresión de 9 Gy.
- **Trasplante de células madre**: para casos concretos de enfermedad con escasa respuesta al tratamiento quimioterápico inicial, presencia de metástasis o enfermedad recidivante [\(35, 36, 38\)](#).

5. ALGORITMO DE TRATAMIENTO

El algoritmo de tratamiento del SE se basa en la combinación de QT, cirugía y RT, teniendo gran peso en el tratamiento la administración de poliquimioterapia en neoadyuvancia y adyuvancia con un total de 14 ciclos.

- **En enfermedad localizada:** el tratamiento se basará en QT y Cirugía, valorando en cada caso la posibilidad de administrar RT.
 - **QT:** 6 ciclos de poliquimioterapia (VDC/IE) neoadyuvante y posteriormente adyuvante hasta completar todos los ciclos [\(41, 42\)](#). Los pacientes con buena respuesta a los 6 ciclos de poliquimioterapia neoadyuvante tienen, por lo general, un menor riesgo de sufrir complicaciones, con una supervivencia libre de eventos a los 3 años de aproximadamente el 76%, y un 85% si nos referimos a supervivencia global de estos pacientes [\(43\)](#).
 - **Cirugía:** está indicada siempre que sea posible la resección de la masa tumoral, siendo esencial la obtención de márgenes quirúrgicos libres de tumor [\(40\)](#).
 - **RT:** cuando en la cirugía no se haya conseguido una resección con márgenes libres, o bien éstos se consideren insuficientes (cirugía marginal) se administra RT adyuvante. También debe valorarse su uso en el lecho quirúrgico, aunque la cirugía haya sido correcta, con el fin de mejorar el control local de la enfermedad. En los casos en los que la masa tumoral no pueda ser resecada con seguridad (pelvis, raquis) se admite el tratamiento local exclusivo con RT [\(44\)](#). La RT de haz de protón parece ser más eficaz a la hora de preservar mayor cantidad de tejido sano en las zonas adyacentes al tumor primario [\(45\)](#). Cuando no haya sido posible una resección quirúrgica amplia, la dosis de radiación dependerá de la cantidad

de tumor residual que haya quedado tras la cirugía. Se recomiendan 45 Gy sobre la zona en la que asentaba el tumor a todos los pacientes con enfermedad residual: si la enfermedad residual es macroscópica se añaden otros 10,8 Gy más (total 55,8 Gy); en caso de que sea microscópica se añaden 5,4 Gy a la dosis inicial (total 50,4 Gy) [\(46\)](#). La RT presenta el inconveniente de que a la larga puede aumentar el riesgo de aparición de tumores radioinducidos [\(47\)](#).

- **En enfermedad metastásica:** en aproximadamente el 25% de los pacientes, la enfermedad ya es metastásica en el momento del diagnóstico, lo que hace que el pronóstico sea más desfavorable [\(27, 48\)](#). Si las metástasis son sólo pulmonares (es lo habitual) y la masa tumoral primaria es resecable el tratamiento será igual que en la enfermedad localizada: QT neoadyuvante y adyuvante acompañada de Cirugía [\(49\)](#), valorando la administración de RT y tratando además quirúrgicamente las metástasis del pulmón [\(35\)](#).
- **En caso de recidiva:** en el SE las recidivas aparecen más frecuentemente (80%) en los primeros dos años después del diagnóstico. En un porcentaje mucho más pequeño de pacientes la recidiva aparece posteriormente, incluso cinco años o más después del diagnóstico, y es lo que se conoce como recidiva tardía. A pesar del bajo porcentaje de recidiva tardía (por debajo del 13%) es más habitual que ésta aparezca en el SE que en otros tipos de tumores sólidos en la edad pediátrica [\(50, 51\)](#).

Para seleccionar el tratamiento que mejor se adapte a la situación de recidiva, hay que tener en cuenta distintos aspectos, tales como la localización en la que asienta la recidiva, el tratamiento previo al que ha sido sometido el paciente y los aspectos individuales de cada caso:

- **QT:** se pueden dar diferentes combinaciones de fármacos quimioterápicos: Temozolamida + Irinotecán han demostrado ser eficaces en el tratamiento de enfermedad recidivante en combinación con Temsirolimus, un análogo de la Rapamicina, inhibidor de la vía de señalización mTOR (diana de Rapamicina en células de mamífero) [\(52, 53\)](#) ± Vincristina o Ciclofosfamida + Topotecán. También se ha demostrado eficaz la combinación Docetaxel + Gemcitabina o Irinotecán [\(54, 55\)](#). En pacientes que presentan recidiva del tumor tras haber recibido tratamiento previo con Ifosfamida a dosis estándar, está indicado administrar el mismo fármaco a dosis más altas [\(56\)](#).
- **RT:** se puede administrar RT dirigida a la zona en modo paliativo, siempre y cuando no sea posible hacer una resección radical. En aquellos pacientes con enfermedad recidivante que presenten metástasis pulmonares y que no recibieron en su momento RT, puede estar indicada la radiación pulmonar en toda su extensión [\(57\)](#) y, si tras esto hay enfermedad residual, se valora la extirpación quirúrgica.

En los casos en los que la enfermedad sea metastásica o cuando sea recidivante, además del tratamiento señalado anteriormente, se puede recurrir a otras estrategias terapéuticas, como son:

- **Radiación pulmonar bilateral:** consiste en administrar RT en los dos pulmones una vez completados todos los ciclos de QT, y a pesar de que ésta haya sido efectiva sobre las metástasis a ese nivel. La dosis de radiación dependerá tanto del tamaño pulmonar como

de su funcionamiento, siendo normalmente de 12 – 15 Gy. En estos pacientes se logra una tasa de supervivencia en torno al 40% a los 5 años [\(58\)](#).

- **QT a altas dosis con apoyo de células madre** [\(35\)](#): se lleva a cabo una vez terminado el ciclo final del esquema correspondiente, es decir, después de haber administrado todos los ciclos de QT y haber hecho una resección quirúrgica si ha sido posible. Consiste en administrar altas dosis de QT, acompañada o no de RT, para mejorar la eficacia de los citostáticos y evitar que al infundir las células madre procedentes de un donante sano el sistema inmunitario las rechace. No está claramente demostrado que la QT a dosis altas con apoyo de células madre sea mucho más eficaz que la QT convencional en pacientes con primera recidiva en cuanto a supervivencia libre de eventos se refiere [\(59\)](#).

- **Anticuerpos contra el receptor del factor de crecimiento similar a la insulina-1 (IGF-1R) y otros inhibidores tirosín-quinasa** [\(60, 61\)](#): se ha demostrado que la activación de diferentes tirosín-quinasas facilitan el crecimiento tumoral y el desarrollo de metástasis. El uso anticuerpos dirigidos contra este receptor, en combinación con Temsirolimus ha demostrado ser efectivo en el SE recidivante [\(62\)](#). Además, en un estudio fase II se ha visto que el uso combinado de Temsirolimus con Doxorubicina liposomal puede disminuir la expresión de altos niveles de ALDH y, por ende, la quimiorresistencia en pacientes con enfermedad recidivante o refractaria al tratamiento convencional [\(14\)](#).

Se ha comprobado también que la combinación de EC-70124 (un inhibidor multiquinasa) con Doxorubicina aumenta la actividad de ésta última en el tratamiento del SE [\(63\)](#).

- **Inmunoterapia con células T antígeno-específicas**: en este caso se actúa contra antígenos presentes en el SE mediante receptores quiméricos: Receptor del Factor de Crecimiento Epidérmico (HER2) [\(64\)](#), Digangliósido (GD2) [\(65\)](#), CD99 [\(66\)](#).

El SE expresa además altos niveles de Delta-133p53, una isoforma de la proteína p53 que favorece la secreción de Factor de Crecimiento Hepatocítico (HGF), y consecuentemente el crecimiento tumoral y el desarrollo de metástasis [\(67\)](#). Recientemente se ha demostrado en estudios preclínicos que el uso combinado de anti-GD2 CAR-T con el anticuerpo neutralizador del receptor HGF permite inhibir de forma sinérgica el crecimiento tumoral y la enfermedad metastásica [\(67, 68\)](#). El uso de inhibidores de la histona desacetilasa como el Vorinostat, junto con Vincristina, Irinotecán y Temozolomida, también ha demostrado, en estudios preclínicos y clínicos, ser efectivo en el tratamiento del SE [\(69\)](#).

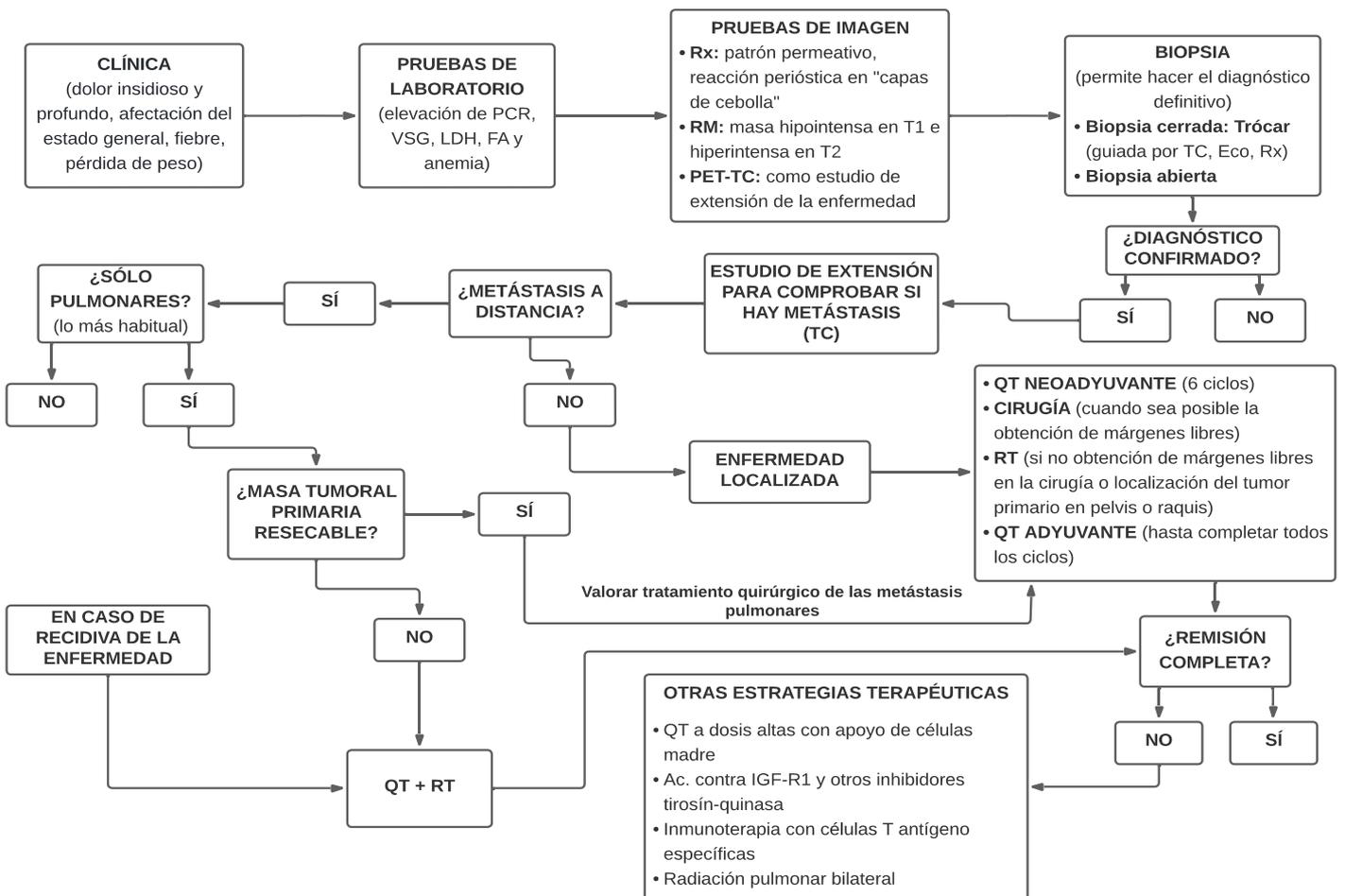
- **CRISPR/Cas9**: un estudio reciente ha demostrado que el uso de CRISPR/Cas9 consigue inactivar completamente la fusión EWSR1-FLI1 en el SE de la línea celular A673. Se ha visto que la expresión de EWS/FLI1 en las células del SE pueden variar. Niveles de expresión altos estarían relacionados con un alto índice de proliferación celular y con una baja capacidad de diseminación; por el contrario, bajos niveles de expresión de EWS/FLI1 tendrían un bajo índice de proliferación tumoral pero una alta capacidad para la diseminación, lo cual complicaría la buena respuesta a la QT. Esto es importante, ya que, si con el tratamiento no se consigue una inactivación completa de EWS/FLI1, estaríamos favoreciendo la expresión de niveles bajos y, consecuentemente, aumentando las posibilidades de diseminación y desarrollo de metástasis [\(70\)](#).

Se han desarrollado también distintos agentes quimioterápicos que, en fase de prueba han demostrado no ser, por el momento, completamente eficaces, puesto que algunos de ellos presentaron alta toxicidad y, además, gran probabilidad de aparición de resistencias, ya que para

poder bloquear completamente la unión EWSR/FLI1 es necesaria una larga duración del tratamiento [\(15, 53, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78\)](#). **(ANEXO 5)**

En la actualidad hay en curso varios ensayos clínicos sobre el tratamiento del SE. **(ANEXO 6)**

ESQUEMA DE ALGORITMO DE MANEJO DEL SE:



6. PRONÓSTICO

El SE es un tumor óseo agresivo y de pronóstico que depende de múltiples factores, como es la presencia de metástasis al diagnóstico, la localización tumoral, la respuesta a la QT y la calidad de la cirugía. Estos son los elementos pronósticos de mayor importancia, pero no los únicos.

Finalmente, el porcentaje de necrosis tumoral inducida por la QT neoadyuvante es uno de los predictores pronósticos de mayor relevancia. Pacientes con necrosis superior al 90% del volumen tumoral total tienen índices de supervivencia libres de enfermedad a 3 años del 79%. *Picci et al.* proponen una clasificación simple en 3 grados de necrosis, que tendrían distintas tasas de supervivencia [\(79\)](#):

- Grado I (escasa necrosis): 32%.
- Grado II (necrosis parcial, 50-60%): 53%.
- Grado III (necrosis amplia, 90% o más): hasta 90% de supervivencia.

Factores pronósticos que preceden al tratamiento

- Localización y tamaño tumoral: la localización con mejor pronóstico en el SE son las extremidades. La localización en pelvis y en otras zonas del esqueleto axial tienen peor pronóstico. En cuanto al tamaño, hay mejor pronóstico cuanto más pequeño sea el tumor [\(3, 34, 80, 81\)](#).
- Edad y sexo: el pronóstico empeora por encima de los 18 años. Las niñas tienen, por lo general, mejor pronóstico que los niños [\(5, 80, 81, 82\)](#).
- Concentración de LDH sérica: altas concentraciones de LDH antes de iniciar el tratamiento conllevan un peor pronóstico del SE, ya que en muchos casos se relaciona directamente con presencia de metástasis [\(3, 82\)](#).
- Metástasis: constituyen el factor pronóstico de mayor importancia en el SE [\(38\)](#). En torno a un 25% de los pacientes tiene metástasis en el momento del diagnóstico de la enfermedad que, si son de localización exclusivamente pulmonar, tienen mejor

pronóstico que si son extrapulmonares [\(80, 81\)](#). El estadio IV previo al tratamiento es un factor de muy mal pronóstico.

- ADN tumoral circulante detectable en sangre periférica: cuando se detecta material genético tumoral en sangre periférica el pronóstico es peor. Esto se ha visto mediante técnicas de secuenciación de nueva generación (NGS) del ADN y se asocia con enfermedad metastásica y con un mayor tamaño tumoral [\(83\)](#).
- Sobreexpresión de p53, ki67 y pérdida de 16q: implican peor pronóstico [\(84, 85\)](#).
- Sobreexpresión de Glutación S-transferasa microsómica: es una enzima con resistencia a Doxorrubicina, lo que empeora el pronóstico [\(84\)](#).

Factores pronósticos en relación con respuesta al tratamiento:

Aquellos pacientes en los que el tumor no tenga una respuesta adecuada a la QT neoadyuvante tienen un riesgo mayor de presentar recidiva tumoral y metástasis y, por tanto, el pronóstico es en líneas generales, mucho peor [\(80, 86\)](#). También la obtención de cirugías adecuadas con márgenes libres de tumor son un factor pronóstico de mucha importancia. En los casos de enfermedad recidivante la tasa de supervivencia a los 5 años es baja, oscilando entre el 10 y el 15% [\(51\)](#). El pronóstico en estos pacientes depende básicamente de dos factores:

- Tiempo transcurrido hasta que aparece la recidiva: cuando ocurre antes de los 2 años tras el diagnóstico la tasa de supervivencia es mucho menor que cuando la recidiva aparece tras más de dos años desde el diagnóstico [\(50, 51\)](#).
- Lugar donde se localiza la recidiva: si la recidiva se produce en el sitio primario y además aparecen metástasis, el pronóstico es peor [\(50, 51\)](#).

7. NUEVOS BIOMARCADORES CON VALOR PRONÓSTICO EN EL SARCOMA DE EWING

El SE es uno de los tumores en los que más se está desarrollando el estudio de la biología molecular del cáncer, hasta tal punto que las técnicas de análisis de biología molecular son esenciales en el diagnóstico de esta enfermedad. Recientemente se ha incrementado la disponibilidad de nuevos biomarcadores que tienen valor para el conocimiento del pronóstico del SE [\(87, 88, 89, 90\)](#). **(ANEXO 7)**

8. PRESENTACIÓN DE CASO CLÍNICO

Mujer de 18 años que acudió a consulta en noviembre de 2020 por dolor en la región de la cadera izquierda, de unos 6 meses de evolución e iniciados sin antecedentes precisos. La paciente refería dolores casi continuos, incluso en reposo, y dificultad creciente para la deambulación.

En la exploración física no se apreciaba tumoración, pero sí dolor a la presión en la base de la rama iliopubiana izquierda y en la tuberosidad isquiática del mismo lado. Además, la movilidad pasiva de la cadera era dolorosa.

Se solicitaron pruebas de imagen (Rx y RM) obteniendo los siguientes hallazgos: tumoración de carácter permeativo, localizada en la hemipelvis izquierda, con afectación del cotilo (zona 2) y de la rama ilioisquiática (zona 3), así como de las partes blandas adyacentes. También se realizó un PET-TC como estudio de extensión, en el que no se objetivó la presencia de metástasis a distancia. **(IMÁGENES 11, 12 y 13)**

Ante estos hallazgos, se realizó una biopsia por punción con trócar, en la que se tomaron varias muestras significativas que fueron informadas como "Sarcoma de familia Ewing". En el mismo tiempo quirúrgico se colocó un reservorio (Porta-Cath) que facilitaría la posterior

administración del tratamiento intravenoso. Por estudio citogenético se confirmó la presencia de reordenamiento del gen EWSR1 mediante técnica FISH (break-apart). **(IMAGEN 14)**

Una vez conocidos los resultados de la biopsia y comprobada mediante el PET-TC la ausencia de metástasis a distancia, se llevó el caso a la Sesión de Sarcomas, donde se decidió la pauta terapéutica convencional para este tipo de tumor de alto grado, consistente en:

QT neoadyuvante + Cirugía + RT adyuvante + QT adyuvante.

Se inició QT neoadyuvante según el protocolo “EuroEwing2012”, de acuerdo con la Guía Terapéutica SEHOP 2020 (Vincristina – Ciclofosfamida – Doxorrubicina). Tras 6 ciclos de tratamiento, se realizaron de nuevo una RM y un PET-TC, donde se mostró una notable disminución del metabolismo en la tumoración pélvica, así como disminución del volumen tumoral extraóseo.

Una vez finalizado el programa de QT neoadyuvante, en abril de 2021, la paciente fue intervenida quirúrgicamente para extirpación de las zonas 2 y 3 de la hemipelvis izquierda **(IMÁGENES 15 y 16)**, con reconstrucción de la articulación iliofemoral mediante soporte en malla de Trevira® (teraftalato de polietileno) **(IMAGEN 17)**. El postoperatorio discurrió sin complicaciones y la paciente reanudó la bipedestación con ortesis 6 semanas después de la cirugía.

La Anatomía Patológica de la pieza quirúrgica confirmó respuesta completa al tratamiento neoadyuvante, al no haber evidencia de tumor residual.

En mayo de 2021 se inició tratamiento adyuvante de consolidación con Altas Dosis de QT (BUMEL) con rescate autólogo de progenitores hematopoyéticos (en marzo de 2021 se había realizado aféresis de progenitores hematopoyéticos). A ello se asoció tratamiento rehabilitador durante el ingreso hospitalario, así como seguimiento por los servicios de Nutrición y Psicología de apoyo. El tratamiento con la administración de RT adyuvante, de acuerdo con el programa

previsto, administrándose 45 Gy en 25 fracciones (1,8 Gy por fracción), con fotones de 18 Mv y utilizando la técnica de Arcoterapia de Intensidad Modulada. En una segunda fase se administró boost de 9 Gy en 5 fracciones (1,8 Gy por fracción).

La paciente presentó buena tolerancia a los tratamientos, que fueron completados en septiembre de 2021, 10 meses después del diagnóstico.

En el momento actual, la paciente está libre de enfermedad, camina con un bastón y hace marcha independiente, con buena evolución funcional 19 meses después del inicio del proceso terapéutico.

COMENTARIOS DE INTERÉS PARA LA PRÁCTICA CLÍNICA

El reconocimiento precoz del SE y su manejo en un Centro de Referencia de Sarcomas permitirá realizar el tratamiento multidisciplinar ajustado a cada caso concreto, lo que mejora muy considerablemente el pronóstico de esta enfermedad.

CONCLUSIONES

- ⇒ El SE es el segundo tumor óseo primario maligno más frecuente en niños y adultos jóvenes, por detrás del osteosarcoma (primero según el Registro Nacional del Cáncer Pediátrico).
- ⇒ La RM es la prueba de imagen más sensible en el SE, ya que permite definir de forma precisa la afectación de partes blandas, el edema tumoral y la afectación medular.
- ⇒ Un estudio de extensión (TC tóraco-abdomino-pélvico) es necesario para el estadiaje de la enfermedad. El PET-TC también es útil para detectar metástasis y para seguimiento, pero se utiliza preferentemente el TC tóraco-abdomino-pélvico.
- ⇒ Es importante hacer diagnóstico diferencial con otras patologías como osteomielitis e histiocitosis de células de Langerhans (granuloma eosinófilo).
- ⇒ El diagnóstico definitivo del SE lo da la biopsia, mediante punción con trócar obteniendo una muestra tisular del tumor, o mediante biopsia incisional.
- ⇒ El tratamiento debe ser multidisciplinar. Está basado en: poliQT neoadyuvante + cirugía + RT + QT adyuvante. En los casos con enfermedad metastásica y/o recidivante se puede recurrir a otras estrategias terapéuticas.
- ⇒ La cirugía con márgenes amplios tiene una importancia terapéutica grande. Si no es posible por la localización tumoral (esqueleto axial o pelvis), el tratamiento se basa en QT y RT.
- ⇒ El pronóstico del SE ha mejorado considerablemente en los últimos años, con una tasa de supervivencia a los 5 años del 82% si la enfermedad es localizada y del 39% en caso de que haya metástasis en el momento del diagnóstico, gracias a los avances en el conocimiento de la biología molecular del tumor, los avances en la cirugía y RT y la introducción de nuevos agentes quimioterápicos que permiten realizar medicina personalizada.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ewing J. The Modern Attitude Toward Traumatic Cancer. Bull NY Acad Med. 1935 May; 11 (5): 281-333. PMID: 19311953; PMCID: PMC1965788.
2. Durer S, Shaikh H. Ewing Sarcoma [Updated 2021 Jul 26]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. PMID: 32644609
3. López Guerra JL, Márquez-Vega C, Ramírez-Villar GL, et al. Prognostic factors for overall survival in paediatric patients with Ewing sarcoma of bone treated according to multidisciplinary protocol. Clin Transl Oncol. 2012 Apr; 14 (4): 294-301
4. Borrego-Paredes E, Prada-Chamorro E, Chacón-Cartaya S, et al. Ewing sarcoma, analysis of survival at 6 years with multidisciplinary therapy. Revista Española de Cirugía Ortopédica y Traumatología (English Edition), Volume 63, Issue 2, March–April 2019, Pages 86-94
5. Jawad MU, Cheung MC, Min ES, et al. Ewing sarcoma demonstrates racial disparities in incidence-related and sex-related differences in outcome: an analysis of 1631 cases from the SEER database, 1973-2005. Cancer. 2009 Aug 1; 115 (15): 3526-3536. doi: 10.1002/cncr.24388. PMID: 19548262
6. Grünewald TG, Bernard V, Gilardi-Hebenstreit P, et al. Chimeric EWSR1-FLI1 regulates the Ewing sarcoma susceptibility gene EGR2 via a GGAA microsatellite. Nat Genet. 2015 Sep; 47 (9): 1073-8. doi: 10.1038/ng.3363. Epub 2015 Jul 27. PMID: 26214589; PMCID: PMC4591073
7. Gargallo P, Yáñez Y, Juan A, et al. Review: Ewing Sarcoma Predisposition. Pathol Oncol Res. 2020 Oct; 26 (4): 2057-2066. doi: 10.1007/s12253-019-00765-3. Epub 2019 Oct 26. PMID: 31656020
8. Mangham DC, Athanasou NA. Guidelines for histopathological specimen examination and diagnostic reporting of primary bone tumors. Clin Sarcoma Res. 2011; 1 (1): 6. doi:10.1186/2045-3329-1-6
9. Moore DD, Haydon RC. (2014) Ewing's Sarcoma of Bone. In: Peabody T., Attar S. (eds) Orthopaedic Oncology. Cancer Treatment and Research, vol 162. Springer, Cham
10. De Feo A, Sciandra M, Ferracin M, et al. Exosomes from CD99-deprived Ewing sarcoma cells reverse tumor malignancy by inhibiting cell migration and promoting neural differentiation. Cell Death Dis. 2019; 10 (7): 471. Published 2019 Jun 17. doi:10.1038/s41419-019-1675-1
11. Khoury JD. Ewing sarcoma family of tumors. Adv Anat Pathol. 2005 Jul; 12 (4): 212-220. doi: 10.1097/01.pap.0000175114.55541.52. PMID: 16096383
12. Marcilla D, Machado I, Grünewald T, et al. Ewing Sarcoma, 2021, Volume 2226, Part II (5): 47-64. ISBN: 978-1-0716-1019-0

13. Parham DM, Hijazi Y, Steinberg SM, et al. Neuroectodermal differentiation in Ewing's sarcoma family of tumors does not predict tumor behavior. *Hum Pathol.* 1999 Aug; 30 (8): 911-8. doi: 10.1016/s0046-8177(99)90244-7. PMID: 10452503
14. Trucco MM, Meyer CF, Thornton KA et al. A phase II study of temsirolimus and liposomal doxorubicin for patients with recurrent and refractory bone and soft tissue sarcomas. *Clin Sarcoma Res* 8, 21 (2018). <https://doi.org/10.1186/s13569-018-0107-9>
15. Awad O, Yustein JT, Shah P, et al. High ALDH activity identifies chemotherapy-resistant Ewing's sarcoma stem cells that retain sensitivity to EWS-FLI1 inhibition. *PLoS One.* 2010 Nov 11; 5 (11): e13943. doi: 10.1371/journal.pone.0013943. PMID: 21085683; PMCID: PMC2978678
16. Yeung C, Gibson AE, Issaq SH, et al. Targeting Glycolysis through Inhibition of Lactate Dehydrogenase Impairs Tumor Growth in Preclinical Models of Ewing Sarcoma. *Cancer Res.* 2019; 79 (19): 5060-5073. doi:10.1158/0008-5472. CAN-19-0217
17. Downing JR, Head DR, Parham DM, et al. Detection of the (11;22) (q24; q12) translocation of Ewing's sarcoma and peripheral neuroectodermal tumor by reverse transcription polymerase chain reaction. *American Journal Pathology.* 1993; 143 (5): 1294-1300
18. Thorner P, Squire J, Chilton-MacNeil S, et al. Is the EWS/FLI-1 fusion transcript specific for Ewing sarcoma and peripheral primitive neuroectodermal tumor. A report of four cases showing this transcript in a wider range of tumor types. *American Journal Pathology.* 1996; 148 (4): 1125-1138
19. Truong AH, Ben-David Y. The role of Fli-1 in normal cell function and malignant transformation. *Oncogene.* 2000 Dec 18; 19 (55): 6482-9. doi: 10.1038/sj.onc.1204042. PMID: 11175364
20. Roberts P, Burchill SA, Brownhill S, et al. Ploidy and karyotype complexity are powerful prognostic indicators in the Ewing's sarcoma family of tumors: a study by the United Kingdom Cancer Cytogenetics and the Children's Cancer and Leukaemia Group. *Genes Chromosomes Cancer.* 2008 Mar; 47 (3): 207-20. doi: 10.1002/gcc.20523. PMID: 18064647
21. Ozaki T. Diagnosis and treatment of Ewing sarcoma of the bone: a review article. *J Orthop Sci.* 2015; 20 (2): 250-263. doi:10.1007/s00776-014-0687-z
22. Tomazou EM, Sheffield NC, Schmidl C, et al. Epigenome mapping reveals distinct modes of gene regulation and widespread enhancer reprogramming by the oncogenic fusion protein EWS-FLI1. *Cell Rep.* 2015; 10 (7): 1082-1095. doi: 10.1016/j.celrep.2015.01.042
23. Cidre-Aranaz F, Alonso J. EWS/FLI1 Target Genes and Therapeutic Opportunities in Ewing Sarcoma. *Front Oncol.* 2015 Jul 20; 5: 162. doi: 10.3389/fonc.2015.00162. PMID: 26258070; PMCID: PMC4507460

24. Tirode F, Surdez D, Ma X, et al. Genomic landscape of Ewing sarcoma defines an aggressive subtype with co-association of STAG2 and TP53 mutations. *Cancer Discov* 4 (11): 1342-53, 2014
25. Brohl AS, Solomon DA, Chang W, et al. The genomic landscape of the Ewing Sarcoma family of tumors reveals recurrent STAG2 mutation. *PLoS Genet* 10 (7): e1004475, 2014
26. Crompton BD, Stewart C, Taylor-Weiner A, et al. The genomic landscape of pediatric Ewing sarcoma. *Cancer Discov* 4 (11): 1326-41, 2014
27. Zöllner Sk, Amatruda, JF, Bauer S, et al. Ewing Sarcoma - Diagnosis, Treatment, Clinical Challenges and Future Perspectives. *J. Clin. Med.* 2021 Apr; 10 (8), 1685. doi: 10.3390/jcm10081685
28. Kasalak Ö, Overbosch J, Adams HJ, et al. Diagnostic value of MRI signs in differentiating Ewing sarcoma from osteomyelitis. *Acta Radiologica*. 2019; 60 (2): 204-212
29. McCarville MB, Chen JY, Coleman JL, et al. Distinguishing Osteomyelitis from Ewing Sarcoma on Radiography and MRI. *AJR Am J Roentgenol*. 2015 Sep; 205 (3): 640-650; quiz 651. doi: 10.2214/AJR.15.14341. PMID: 26295653; PMCID: PMC5744678
30. 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. doi: 10.2106/00004623-199605000-00004. PMID: 8642021
31. Kazuhiro Tanaka, Toshifumi Ozaki. New TNM classification (AJCC eighth edition) of bone and soft tissue sarcomas: JCOG Bone and Soft Tissue Tumor Study Group, *Japanese Journal of Clinical Oncology*, Volume 49, Issue 2, February 2019, Pages 103–107
32. Jawad MU, Scully S.P. In Brief: Classifications in Brief: Enneking Classification: Benign and Malignant Tumors of the musculoskeletal System. *Clin Orthop Relat Res*. 2010; 468 (7): 2000-2002. Doi: 10.1007/s11999-010-1315-7
33. Reed DR, Hayashi M, Wagner L, et al. Treatment pathway of bone sarcoma in children, adolescents, and young adults. *Cancer*. 2017; 123 (12): 2206-2218. doi:10.1002/cncr.30589
34. Jagodzińska-Mucha P, Ługowska I, Świtaj T, et al. The clinical prognostic factors and treatment outcomes of adult patients with Ewing sarcoma. *Int J Clin Oncol*. 2020 Nov; 25 (11): 2006-2014. doi: 10.1007/s10147-020-01741-7. Epub 2020 Jul 25. PMID: 32712877
35. Burdach S, Thiel U, Schöniger M, et al. Total body MRI-governed involved compartment irradiation combined with high-dose chemotherapy and stem cell rescue improves long-term survival in Ewing tumor patients with multiple primary bone metastases. *Bone Marrow Transplant* 45, 483-489 (2010)
36. Thiel U, Schober SJ, Ranft A, et al. No difference in survival after HLA mismatched versus HLA matched allogeneic stem cell transplantation in Ewing sarcoma patients with advanced disease. *Bone Marrow Transplant* 56, 1550–1557 (2021)

37. Meyers PA. Systemic therapy for osteosarcoma and Ewing sarcoma. *Am Soc Clin Oncol Educ Book*. 2015: e644-7. doi: 10.14694/EdBook_AM.2015.35. e644. PMID: 25993235
38. Rodriguez-Galindo C, Spunt SL, Papo AS. Treatment of Ewing sarcoma family of tumors: current status and outlook for the future. *Med Pediatr Oncol*. 2003 May; 40 (5): 276-87. doi: 10.1002/mpo.10240. Erratum in: *Med Pediatr Oncol*. 2003 Dec; 41 (6): 594. PMID: 12652615
39. Metts J, Russell T, Reed D, et al. A Proposed Trial Design for the Treatment of Widely Metastatic Ewing Sarcoma Inspired by Evolutionary Dynamics. *Cancers* 2022,14,736. [https://doi.org/ 10.3390/cancers14030736](https://doi.org/10.3390/cancers14030736)
40. Mallett KE, Heidenreich MJ, Joseph ZM, et al. Long-term Outcome of Acral Ewing Sarcoma. *Anticancer Res*. 2022 Mar;42(3):1377-1380. doi: 10.21873/anticancerres.15607. PMID: 35220230
41. Womer RB, West DC, Krailo MD, et al. Randomized controlled trial of interval-compressed chemotherapy for the treatment of localized Ewing sarcoma: a report from the Children's Oncology Group. *J Clin Oncol*. 2012 Nov 20; 30 (33): 4148-54. doi: 10.1200/JCO.2011.41.5703. Epub 2012 Oct 22. Erratum in: *J Clin Oncol*. 2015 Mar 1; 33 (7): 814
42. Grier HE, Krailo MD, Tarbell NJ, et al. Addition of ifosfamide and etoposide to standard chemotherapy for Ewing's sarcoma and primitive neuroectodermal tumor of bone. *N Engl J Med* 348 (8): 694-701, 2003
43. Le Deley MC, Paulussen M, Lewis I, et al. Cyclophosphamide compared with ifosfamide in consolidation treatment of standard-risk Ewing sarcoma: results of the randomized noninferiority Euro-EWING 99-R1 trial. *J Clin Oncol*. 2014 Aug 10; 32 (23): 2440-8. doi: 10.1200/JCO.2013.54.4833. Epub 2014 Jun 30. PMID: 24982464
44. Krasin MJ, Rodriguez-Galindo C, Billups CA et al. Efficacy of combined surgery and irradiation for localized Ewing's sarcoma family of tumors. *Pediatr Blood Cancer*. 2004 Sep; 43 (3): 229-36. doi: 10.1002/pbc.20095. PMID: 15266406
45. Rombi B, DeLaney TF, MacDonald SM, et al. Proton radiotherapy for pediatric Ewing's sarcoma: initial clinical outcomes. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2012 Mar 1; 82 (3): 1142-1148. doi: 10.1016/j.ijrobp.2011.03.038. Epub 2011 Aug 18. PMID: 21856094
46. Granowetter L, Womer R, Devidas M, et al. Dose-intensified compared with standard chemotherapy for nonmetastatic Ewing sarcoma family of tumors: a Children's Oncology Group Study. *J Clin Oncol*. 2009; 27 (15): 2536-2541. doi:10.1200/JCO.2008.19.1478
47. Kuttlesch JF Jr, Wexler LH, Marcus RB, et al. Second malignancies after Ewing's sarcoma: radiation dose-dependency of secondary sarcomas. *J Clin Oncol*. 1996 Oct; 14 (10): 2818-2825. doi: 10.1200/JCO.1996.14.10.2818. PMID: 8874344

48. Esiashvili N, Goodman M, Marcus RB Jr. Changes in incidence and survival of Ewing sarcoma patients over the past 3 decades: Surveillance Epidemiology and End Results data. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2008 Jun; 30 (6): 425-430. doi: 10.1097/MPH.0b013e31816e22f3. PMID: 18525458
49. Pinkerton CR, Bataillard A, Guillo S, et al. Treatment strategies for metastatic Ewing's sarcoma. *Eur J Cancer.* 2001 Jul; 37 (11): 1338-1344. doi: 10.1016/s0959-8049(01)00131-9. PMID: 11435062
50. Leavey PJ, Mascarenhas L, Marina N, et al. Prognostic factors for patients with Ewing sarcoma (EWS) at first recurrence following multi-modality therapy: A report from the Children's Oncology Group. *Pediatr Blood Cancer.* 2008; 51 (3): 334-338. doi:10.1002/pbc.21618
51. Stahl M, Ranft A, Paulussen M, et al. Risk of recurrence and survival after relapse in patients with Ewing sarcoma. *Pediatr Blood Cancer.* 2011 Oct; 57 (4): 549-553. doi: 10.1002/pbc.23040. Epub 2011 Mar 25. PMID: 21442722
52. Kurucu N, Sari N, Ilhan IE. Irinotecan and temozolomide treatment for relapsed Ewing sarcoma: a single-center experience and review of the literature. *Pediatr Hematol Oncol.* 2015 Feb; 32 (1): 50-9. doi: 10.3109/08880018.2014.954070. Epub 2014 Sep 24. PMID: 25252096
53. Stewart E, Goshorn R, Bradley C, et al. Targeting the DNA repair pathway in Ewing sarcoma. *Cell Rep.* 2014; 9 (3): 829-41. Epub 2014/12/02. doi: S2211-1247 (14) 00811-0 [pii] doi: 10.1016/j.celrep.2014.09.028 PMID: 25437539
54. Fox E, Patel S, Wathen JK, et al. Phase II study of sequential gemcitabine followed by docetaxel for recurrent Ewing sarcoma, osteosarcoma, or unresectable or locally recurrent chondrosarcoma: results of Sarcoma Alliance for Research Through Collaboration Study 003. *Oncologist.* 2012; 17 (3): 321. doi: 10.1634/theoncologist.2010-0265. Epub 2012 Feb 23. PMID: 22363068; PMCID: PMC3316916
55. Mora J, Cruz CO, Parareda A, et al. Treatment of relapsed/refractory pediatric sarcomas with gemcitabine and docetaxel. *J Pediatr Hematol Oncol.* 2009 Oct; 31 (10): 723-9. doi: 10.1097/MPH.0b013e3181b2598c. PMID: 19727011
56. Ferrari S, del Prever AB, Palmerini E, et al. Response to high-dose ifosfamide in patients with advanced/recurrent Ewing sarcoma. *Pediatr Blood Cancer.* 2009 May; 52 (5): 581-584. doi: 10.1002/pbc.21917. PMID: 19142994
57. Rodriguez-Galindo C, Billups CA, Kun LE, et al. Survival after recurrence of Ewing tumors: the St Jude Children's Research Hospital experience, 1979-1999. *Cancer.* 2002 Jan 15; 94 (2): 561-9. doi: 10.1002/cncr.10192. PMID: 11900241
58. Paulussen M, Ahrens S, Craft AW, et al. Ewing's tumors with primary lung metastases: survival analysis of 114 (European Intergroup) Cooperative Ewing's Sarcoma Studies patients. *J Clin Oncol.* 1998 Sep; 16 (9): 3044-3052. doi: 10.1200/JCO.1998.16.9.3044. PMID: 9738574

59. Haveman LM, van Ewijk R, van Dalen EC, et al. High-dose chemotherapy followed by autologous haematopoietic cell transplantation for children, adolescents, and young adults with first recurrence of Ewing sarcoma. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2021, Issue 9. Art. No.: CD011406. DOI: 10.1002/14651858.CD011406.pub2
60. Juergens H, Daw NC, Geoerger B, et al. Preliminary efficacy of the anti-insulin-like growth factor type 1 receptor antibody figitumumab in patients with refractory Ewing sarcoma. *J Clin Oncol.* 2011; 29 (34): 4534-4540. doi:10.1200/JCO.2010.33.0670
61. Jin W. The Role of Tyrosine Kinases as a Critical Prognostic Parameter and Its Targeted Therapies in Ewing Sarcoma. *Front Cell Dev Biol.* 2020; 8: 613. Published 2020 Jul 9. doi:10.3389/fcell.2020.00613
62. Naing A, LoRusso P, Fu S, et al. Insulin growth factor-receptor (IGF-1R) antibody cixutumumab combined with the mTOR inhibitor temsirolimus in patients with refractory Ewing's sarcoma family tumors. *Clin Cancer Res.* 2012; 18 (9): 2625-2631. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0061
63. Estupiñan O, Santos L, Rodriguez A, et al. The multikinase inhibitor EC-70124 synergistically increased the antitumor activity of doxorubicin in sarcomas. *Int J Cancer.* 2019 Jul 1; 145 (1): 254-266. doi: 10.1002/ijc.32081. Epub 2019 Jan 14. PMID: 30575954
64. Ahmed N, Brawley VS, Hegde M, et al. Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (HER2)-Specific Chimeric Antigen Receptor-Modified T Cells for the Immunotherapy of HER2-Positive Sarcoma. *J Clin Oncol.* 2015; 33 (15): 1688-1696. doi:10.1200/JCO.2014.58.0225
65. Kailayangiri S, Altvater B, Meltzer J, et al. The ganglioside antigen G(D2) is surface-expressed in Ewing sarcoma and allows for MHC-independent immune targeting. *Br J Cancer.* 2012; 106 (6): 1123-1133. doi:10.1038/bjc.2012.57
66. Scotlandi K, Baldini N, Cerisano V, et al. CD99 engagement: an effective therapeutic strategy for Ewing tumors. *Cancer Res* 60 (18): 5134-42, 2000
67. Charan M, Dravid P, Cam M, et al. GD2-directed CAR-T cells in combination with HGF-targeted neutralizing antibody (AMG102) prevent primary tumor growth and metastasis in Ewing sarcoma. *Int J Cancer.* 2020 Jun 1; 146 (11): 3184-3195. doi: 10.1002/ijc.32743. Epub 2019 Nov 6. PMID: 31621900; PMCID: PMC7440656
68. Golinelli G, Grisendi G, Dall'Ora M, et al. Anti-GD2 CAR MSCs against metastatic Ewing's sarcoma [published online ahead of print, 2021 Oct 12]. *Transl Oncol.* 2022; 15 (1): 101240. doi: 10.1016/j.tranon.2021.101240
69. Sampson VB, Vetter NS, Kamara DF, et al. Vorinostat Enhances Cytotoxicity of SN-38 and Temozolomide in Ewing Sarcoma Cells and Activates STAT3/AKT/MAPK Pathways. *PLoS One.* 2015 Nov 16; 10 (11): e0142704. doi: 10.1371/journal.pone.0142704. PMID: 26571493; PMCID: PMC4646493

70. Cervera S.T, Rodríguez-Martín C, Fernández-Tabanera E, et al. Therapeutic Potential of EWSR1-FLI1 Inactivation by CRISPR/Cas9 in Ewing Sarcoma. *Cancers* 2021, 13(15), 3783; Received: 19 April 2021 / Revised: 13 July 2021 / Accepted: 23 July 2021 / Published: 27 July 2021
71. Harlow ML, Maloney N, Roland J, et al. Lurbinectedin Inactivates the Ewing Sarcoma Oncoprotein EWS-FLI1 by Redistributing It within the Nucleus. *Cancer Res.* 2016 Nov 15; 76 (22): 6657-6668. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-16-0568. Epub 2016 Oct 3. PMID: 27697767; PMCID: PMC5567825
72. Ordóñez JL, Amaral AT, Carcaboso AM, et al. The PARP inhibitor olaparib enhances the sensitivity of Ewing sarcoma to trabectedin. 2017 Jun 27; 8 (26): 43592]. *Oncotarget.* 2015; 6 (22): 18875-18890. doi:10.18632/oncotarget.4303
73. Barber-Rotenberg JS, Selvanathan SP, Kong Y, et al. Single Enantiomer of YK-4-279 Demonstrates Specificity in Targeting the Oncogene EWS-FLI1. *Oncotarget* 2012 Feb 6; 3 (2): 172-182
74. Osgood CL, Maloney N, Kidd CG, et al. Identification of Mithramycin Analogues with Improved Targeting of the EWS-FLI1 Transcription Factor. *Clin Cancer Res.* 2016; 22 (16): 4105-4118. doi:10.1158/1078-0432. CCR-15-2624
75. Boro A, Pretre K, Rechfeld F, et al. Small- molecule screen identifies modulators of EWS/FLI1 target gene expression and cell survival in Ewing's sarcoma. *Int J Cancer* 2012; 131: 2153–2164
76. Keir ST, Morton CL, Wu J, et al. Initial testing of the multitargeted kinase inhibitor pazopanib by the Pediatric Preclinical Testing Program. *Pediatr Blood Cancer.* 2012; 59 (3): 586-588. doi:10.1002/pbc.24016
77. Thierry Alcindor. (2015). Response of refractory Ewing sarcoma to pazopanib. *Acta Oncologica*, 54 (7): 1063-1064. DOI: 10.3109/0284186X.2014.971938
78. Kolb EA, Gorlick R, Reynolds CP, et al. Initial testing (stage 1) of eribulin, a novel tubulin binding agent, by the pediatric preclinical testing program. *Pediatr Blood Cancer.* 2013; 60 (8): 1325–1332
79. Picci R, Rougraff BT, Bacci G, et al. Prognostic significance of histopathologic response to chemotherapy in nonmetastatic Ewing sarcoma of the extremities. *J Clin. Oncol* 1993; 11: 1763-1769
80. Umeda K, Miyamura T, Yamada K, et al. Prognostic and therapeutic factors influencing the clinical outcome of metastatic Ewing sarcoma family of tumors: A retrospective report from the Japan Ewing Sarcoma Study Group. *Pediatr Blood Cancer.* 2021 Mar; 68 (3): e28844. doi: 10.1002/pbc.28844. Epub 2020 Dec 19. PMID: 33340261
81. Karski EE, McIlvaine E, Segal MR, et al. Identification of Discrete Prognostic Groups in Ewing Sarcoma. *Pediatr Blood Cancer.* 2016; 63 (1): 47-53. doi:10.1002/pbc.25709

82. Bacci G, Longhi A, Ferrari S, et al. Prognostic factors in non-metastatic Ewing's sarcoma tumor of bone: an analysis of 579 patients treated at a single institution with adjuvant or neoadjuvant chemotherapy between 1972 and 1998. *Acta Oncol.* 2006; 45 (4): 469-75. doi: 10.1080/02841860500519760. PMID: 16760184
83. Shulman DS, Klega K, Imamovic-Tuco A, et al. Detection of circulating tumour DNA is associated with inferior outcomes in Ewing sarcoma and osteosarcoma: a report from the Children's Oncology Group. *Br J Cancer.* 2018 Aug; 119 (5): 615-621. doi: 10.1038/s41416-018-0212-9. Epub 2018 Aug 21. Erratum in: *Br J Cancer.* 2019 Apr; 120 (8): 869. PMID: 30131550; PMCID: PMC6162271
84. Scotlandi K, Remondini D, Castellani G, et al. Overcoming resistance to conventional drugs in Ewing sarcoma and identification of molecular predictors of outcome. *J Clin Oncol.* 2009 May 1; 27 (13): 2209-16. doi: 10.1200/JCO.2008.19.2542. Epub 2009 Mar 23. PMID: 19307502
85. López-Guerrero JA, Machado I, Scotlandi K, et al. Clinicopathological significance of cell cycle regulation markers in a large series of genetically confirmed Ewing's sarcoma family of tumors. *Int J Cancer.* 2011 Mar 1; 128 (5): 1139-50. doi: 10.1002/ijc.25424. PMID: 20473914
86. Lin PP, Jaffe N, Herzog CE, et al. Chemotherapy response is an important predictor of local recurrence in Ewing sarcoma. *Cancer.* 2007 Feb 1; 109 (3): 603-11. doi: 10.1002/cncr.22412. PMID: 17177205
87. Jiang J, Liu C, Xu G, et al. CCT6A, a novel prognostic biomarker for Ewing sarcoma. *Medicine (Baltimore).* 2021; 100 (4): e24484. doi:10.1097/MD.00000000000024484
88. Cidre-Aranaz F, Grünewald TG, Surdez D, et al. EWS-FLI1-mediated suppression of the RAS-antagonist Sprouty 1 (SPRY1) confers aggressiveness to Ewing sarcoma. *Oncogene.* 2017 Feb 9; 36 (6):766-776. doi: 10.1038/onc.2016.244. Epub 2016 Jul 4. PMID: 27375017
89. McCann TS, Parrish JK, Hsieh J, et al. KDM5A and PHF2 positively control expression of pro-metastatic genes repressed by EWS/Fli1 and promote growth and metastatic properties in Ewing sarcoma. *Oncotarget.* 2020; 11 (43): 3818-3831. Published 2020 Oct 27. doi:10.18632/oncotarget.27737
90. Sánchez-Molina S, Figuerola-Bou E, Blanco E, et al. RING1B recruits EWSR1-FLI1 and cooperates in the remodeling of chromatin necessary for Ewing sarcoma tumorigenesis. *Sci Adv.* 2020; 6 (43): eaba3058. Published 2020 Oct 23. doi:10.1126/sciadv.aba3058

ANEXOS

ANEXO 1: Mutaciones genéticas.

En el SE hay ciertas mutaciones genéticas que no responden bien a los tratamientos con terapias dirigidas, lo que facilita las recidivas.

MUTACIÓN EN TP53	Presente en un bajo porcentaje de pacientes, en torno al 7%, e implica mal pronóstico de la enfermedad. Si aparecen al mismo tiempo que mutaciones en STAG2, el pronóstico es aún peor.
MUTACIONES EN STAG2	Aparecen en aproximadamente el 20% de los pacientes. Guardan relación directa con estadíos avanzados de la enfermedad.
TRISOMÍA DEL CROMOSOMA 8	Es la alteración cromosómica más frecuente en el SE, estando presente en casi el 50% de los casos.
PÉRDIDA DEL 16q Y GANANCIA DEL 1q	Suelen aparecer a la vez, y se relacionan con un peor pronóstico de la enfermedad. Esta mutación está presente en el 20% de los pacientes aproximadamente.

ANEXO 2: Clasificación TNMG del American Joint Committee on Cancer (AJCC).

Tamaño tumoral

Tx	No se puede evaluar el tumor primario
T0	No hay evidencia del tumor primario
T1	Tumor menor o igual a 8 cm
T2	Tumor mayor de 8 cm
T3	Afectación tumoral en distintas localizaciones dentro del mismo hueso

Afectación ganglionar

Nx	No se puede evaluar afectación ganglionar
N0	No hay afectación ganglionar
N1	Hay afectación ganglionar en los ganglios linfáticos regionales

Metástasis a distancia

Mx	No se pueden evaluar metástasis a distancia
M0	No hay metástasis a distancia
M1	Hay metástasis a distancia: <ul style="list-style-type: none">- M1a: las metástasis son pulmonares- M2b: metástasis a distancia extrapulmonares

Grado histológico

Gx	No se puede evaluar el grado histológico
G1	Bajo grado, bien diferenciados
G2	Grado intermedio, moderadamente diferenciados
G3	Alto grado, pobremente diferenciados
G4	Alto grado, dediferenciados o anaplásicos

Puntuaciones Grado histológico

Diferenciación celular	<ul style="list-style-type: none">• Bien diferenciado: 1 punto• Poco diferenciados: 2 puntos• Indiferenciados: 3 puntos
Número de mitosis	<ul style="list-style-type: none">• 0-9: 1 punto• 10-19: 2 puntos• 20 ó más: 3 puntos
Grado de necrosis	<ul style="list-style-type: none">• Sin necrosis: 0 puntos• Menos del 50% de necrosis: 1 punto• Más del 50% de necrosis: 2 puntos

ANEXO 3: Resumen de los estadios pronósticos del SE según el AJCC.

	<u><i>T</i></u>	<u><i>N</i></u>	<u><i>M</i></u>	<u><i>G</i></u>
<i>II A</i>	T1	N0	M0	G3
<i>II B</i>	T2	N0	M0	G3
<i>III</i>	T3	N0	M0	G3
<i>IV</i>	T1/T2/T3	N0/N1	M1a/M1b	G4

ANEXO 4: Estadios del SE según el Sistema de Estadiaje de Enneking.

<u><i>ESTADÍO</i></u>	<u><i>GRADO</i></u>	<u><i>LOCALIZACIÓN</i></u>	<u><i>METÁSTASIS</i></u>
<i>II A</i>	G2	T1	M0
<i>II B</i>	G2	T2	M0
<i>III</i>	G2	T1/T2	M1

ANEXO 5: Desarrollo de nuevas líneas de tratamiento médico.

Trabectedina	Aunque está aprobada para el tratamiento de sarcomas de partes blandas, en el SE no ha presentado una clara función como tratamiento único en casos de recidiva, tal y como se ha comprobado en un ensayo clínico de fase II; sin embargo, en combinación con Olaparib, un inhibidor de la poli ADP-ribosa polimerasa (PARP) sí podría usarse como tratamiento en el SE. El Olaparib y otros inhibidores de la PARP como el Veliparib, se ha visto que pueden ver incrementada su acción en el SE si se combinan con Irinotecán y Temozolomida.
YK-4-279	Es una molécula pequeña que interacciona con la ARN helicasa A e inhibe los factores de transcripción ETS. Tiene dos enantiómeros, de los cuales, se ha visto que uno puede bloquear la unión EWS/FLI1. No se sabe el sitio de unión exacto, por lo que su uso aún no está establecido en el tratamiento de SE.
Mitramicina y análogos EC-8042 y EC-8105	El primero demostró ser menos tóxico y el segundo más potente que la Mirtamicina, pues en ensayos clínicos de fase II la Mitramicina presentaba una alta toxicidad, de ahí que se hayan desarrollado estos análogos para el tratamiento del SE.
Midostaurina	Es un inhibidor multiquinasa con función antiangiogénica (PKC412) que ha demostrado ser efectiva en el tratamiento del SE, por lo que podría tener aplicación terapéutica en este tumor.
Pazopanib	Es un inhibidor de la tirosina quinasa que actúa sobre receptores del factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGFR 1, 2, 3), receptores del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFR α y β) y receptor c-KIT inhibiendo la angiogénesis. En un estudio preclínico en el que se administró este fármaco por vía oral durante 28 días se ha visto un retraso en el crecimiento tumoral. Además, se ha descrito un caso de SE refractario con respuesta a este fármaco, lo que demuestra que el uso de antiangiogénicos en monoterapia o en combinación con otros fármacos quimioterápicos pueden ser útiles en el tratamiento de estos casos.
Eribulina	Es un inhibidor no taxano de los microtúbulos que bloquea el ciclo celular en la fase G2/M y favorece la apoptosis. En ensayos preclínicos se ha comparado con Vincristina, y se ha demostrado su actividad en el SE.

ANEXO 6: Ensayos clínicos sobre tratamiento del SE.

ADVL1622	Ensayo clínico fase II sobre el uso de Cabozantinib en el tratamiento de enfermedad recidivante o refractaria al tratamiento.
ADVL1412	Este ensayo trata sobre el uso combinado de Nivolumab (anticuerpo monoclonal que se une al receptor de muerte programada 1 de los linfocitos T) con Ipilimumab (anticuerpo monoclonal inhibidor de CTLA-4) en el tratamiento del SE.
ADVL1615	Estudio en fase I sobre el uso combinado de Pevonedistat (inhibidor selectivo de la enzima activadora de Nedd8 que participa en la división celular) con Irinotecán y Temozolomida. El Pevonedistat ha demostrado, en estudios preclínicos, una función antitumoral en el SE.
TK216-01	Estudio en fase I/II sobre el uso de TK216, que es un fármaco diseñado para inhibir la fusión EWSR1/FLI1 disminuyendo su actividad de transcripción.
GEIS-34	Ensayo en fase III, aleatorizado y controlado sobre el tratamiento de los pacientes con SE de reciente diagnóstico (EE2012).
GEIS-35	Ensayo en fase II/III, aleatorizado y controlado de QT para el tratamiento del SE recurrente y refractario primario.
GEIS-39	Ensayo en fase II de nab-paclitaxel para el tratamiento de los tumores desmoides y los tumores desmoplásicos de células redondas múltiples recidivantes/refractarios y el SE.

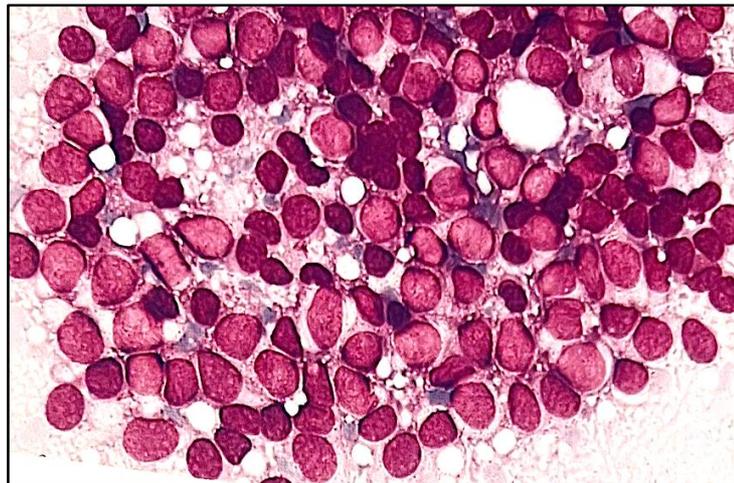
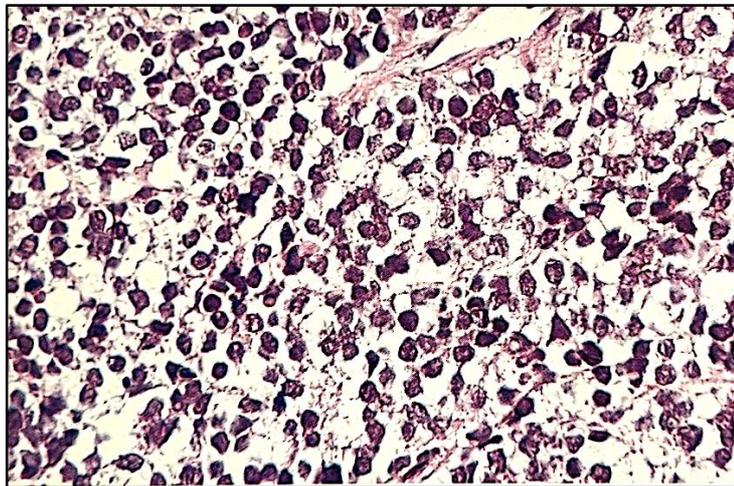
ANEXO 7: Biomarcadores con valor pronóstico en el SE.

CCT6A	<p>Es un biomarcador que puede tenerse en cuenta como factor pronóstico en el Sarcoma de Ewing. Inmunohistoquímicamente se ha comprobado que la expresión de altos niveles de CCT6A se relacionan con menor tasa de supervivencia. En pacientes con enfermedad metastásica se expresaba más que en los casos en los que la enfermedad era localizada o recidivante, por lo que puede decir que la expresión de este biomarcador guarda relación directa con el desarrollo de metástasis en el Sarcoma de Ewing.</p>
SPRY1	<p>La expresión de altos niveles de SPRY1 tiene efectos protectores en el SE mejorando la supervivencia de los pacientes; sin embargo, se ha comprobado que los pacientes con bajos niveles de expresión de esta proteína, tienen mayor riesgo de presentar metástasis en el momento del diagnóstico.</p>
KDM5A y PHF2	<p>Son dos genes reguladores que favorecen el desarrollo de metástasis y, además, facilitan que la expresión de otros genes normalmente reprimidos por EWS/FLI1 y que a su vez tienen capacidad pro-metastásica, como L1CAM. Por tanto, la expresión de altos niveles de KDM5A y PHF2 implicarán peor pronóstico al desencadenar el desarrollo de enfermedad metastásica en el SE.</p>
RING1B	<p>Se localiza en la misma zona del genoma en la que se encuentra EWSR1/FLI1, y es el encargado de dirigir a dicha proteína de fusión a las distintas zonas del genoma mediante su reclutamiento. Altos niveles de expresión de RINGB1 favorecen por tanto el desarrollo y crecimiento tumoral, por lo que implican un peor pronóstico de la enfermedad.</p>

IMÁGENES

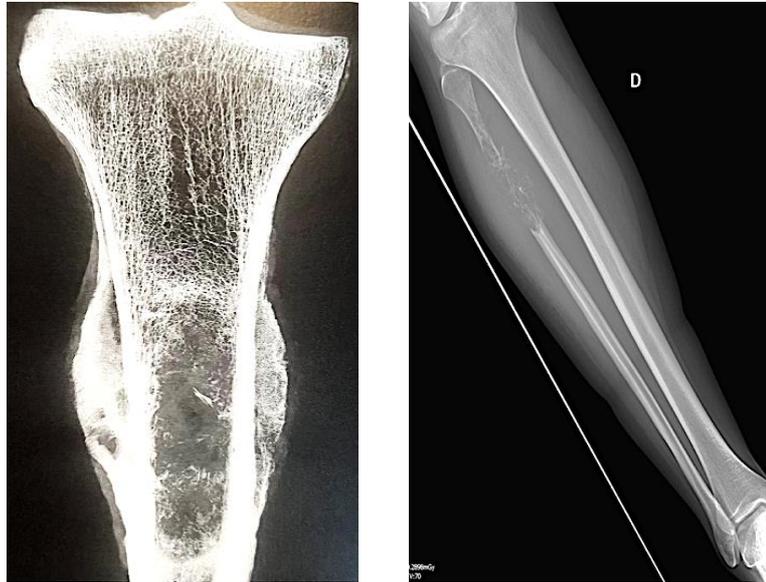
IMÁGENES 1 y 2: Histología del SE.

Los hallazgos microscópicos esenciales son la proliferación de células redondas pequeñas y uniformes, sin producción de matriz ósea. El SE convencional está formado por acúmulos densos de células con núcleos redondos y sin características distintivas en su citoplasma. Hay una forma excepcional de SE cuyas células son de mayor tamaño y más pleomórficas: esta variedad se conoce como SE atípico o SE de células grandes



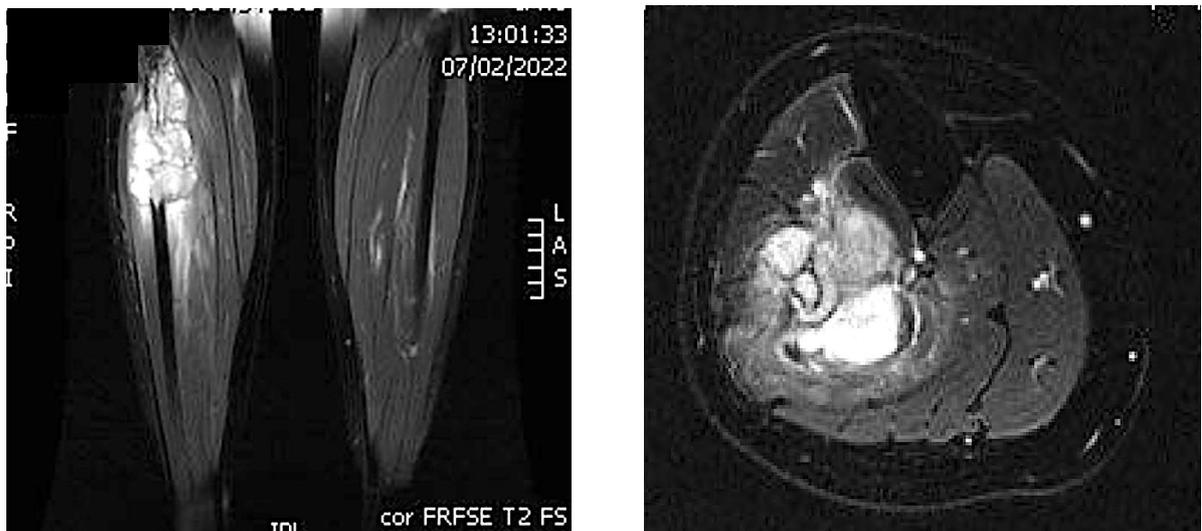
IMÁGENES 3 y 4: Rx de SE en tibia y peroné.

Lesiones osteolíticas (tibia, peroné), con reacción perióstica y extensión a los tejidos blandos vecinos.



IMÁGENES 5 y 6: RM de peroné.

La RM permite apreciar con claridad la afectación de los tejidos blandos extraóseos.



IMÁGENES 7 y 8: Biopsia.

Básicamente, se realiza biopsia mediante punción con trócar o biopsia abierta (biopsia incisional).



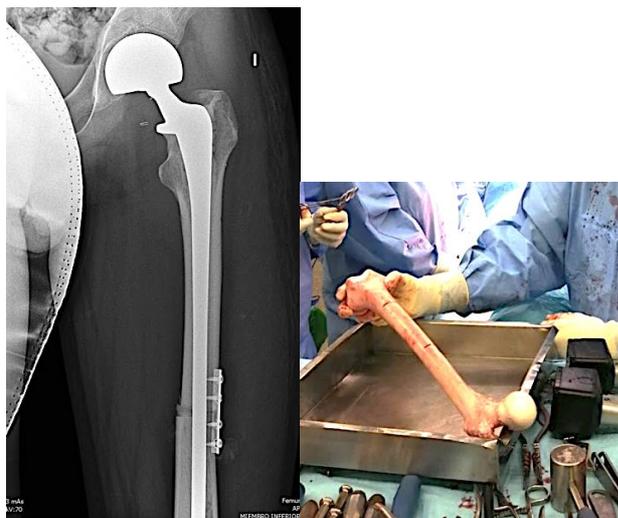
Trócar de biopsia ósea



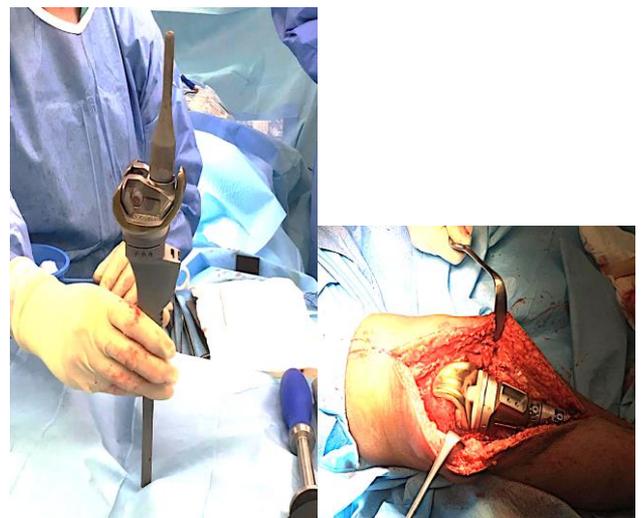
Biopsia incisional

IMÁGENES 9 y 10: Aloinjerto y prótesis en SE.

La reconstrucción del defecto óseo generado por la cirugía puede realizarse mediante aloinjertos estructurales o mediante prótesis modulares de reconstrucción.



Aloinjerto



Prótesis

IMAGEN 11: Rx de pelvis en proyección AP previa a la cirugía.

Se aprecia afectación de las zonas 2 y 3 de la hemipelvis izquierda (zona cotoidea y zona de cuadro obturador).



IMAGEN 12: RM de pelvis.

Es notable la gran extensión tumoral intrapélvica.



IMAGEN 13: PET-TC de pelvis.

Muestra la afectación ósea y de tejidos blandos en la región de la cadera izquierda.

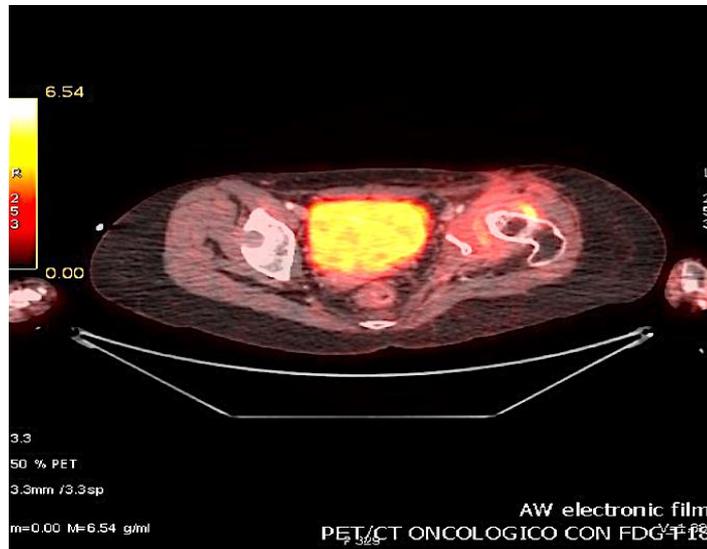
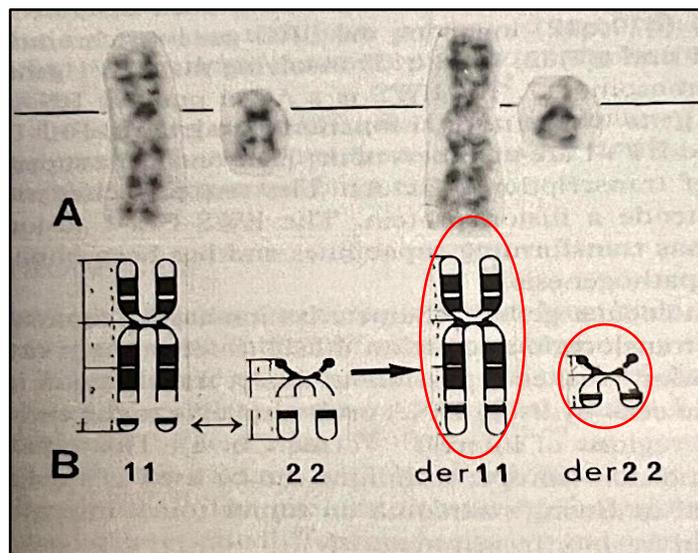


IMAGEN 14: Reordenamiento del gen EWSR1.

Translocación entre los cromosomas 11 y 22 que hace que se fusionen los genes EWSR1 y FLI1. El extremo N-terminal de FLI1 (cromosoma 11) es reemplazado por el extremo N-terminal de EWSR1 (cromosoma 22).



IMÁGENES 15 y 16: pieza quirúrgica.

Extirpación con márgenes amplios (zonas 2 y 3).



Pieza quirúrgica



Rx de la pieza quirúrgica

IMAGEN 17: Rx de pelvis tras cirugía.

Rx de pelvis en proyección AP 17 meses postcirugía, en la que se aprecia el mantenimiento de una neoarticulación iliofemoral.

