

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PADOVA

CORSO DI LAUREA MAGISTRALE IN MEDICINA E CHIRURGIA

DIPARTIMENTO DI MEDICINA - DIMED

DIRETTORE: CHIAR.MO PROF. ROBERTO VETTOR

U.O.C. DI ANATOMIA PATOLOGICA

DIRETTORE: CHIAR.MO PROF. ANGELO PAOLO DEI TOS

TESI DI LAUREA

**CONDROSARCOMA PRIMITIVO DELL'OSSO: SIGNIFICATO
PROGNOSTICO DELLA MUTAZIONE DEL GENE IDH1**

RELATORE: CHIAR.MO PROF. ANGELO PAOLO DEI TOS

CORRELATORE: PROF.SSA MARTA SBARAGLIA

LAUREANDO: MATTIA SCHIAVOLIN

Anno Accademico 2022-2023

SOMMARIO

RIASSUNTO	1
ABSTRACT	3
1. INTRODUZIONE	5
1.1 DEFINIZIONE.....	5
1.2 CLASSIFICAZIONE	5
1.3 EPIDEMIOLOGIA.....	8
1.4 EZIOLOGIA	10
1.5 PATOGENESI	13
1.6 PRESENTAZIONE CLINICA.....	14
1.7 IMAGING	16
1.8 ASPETTI MACROSCOPICI.....	22
1.9 RUOLO DELLA BIOPSIA.....	23
1.10 ASPETTI MICROSCOPICI.....	23
1.11 STADIAZIONE	29
1.12 PROGNOSI.....	31
1.13 TRATTAMENTO.....	34
1.14 GESTIONE DELLA RECIDIVA LOCALE.....	37
2. SCOPO DELLO STUDIO	39
3. MATERIALI E METODI	40
3.1 PAZIENTI SELEZIONATI	40
3.2 INTERVENTO CHIRURGICO.....	41
3.3 ESTRAZIONE DEL DNA	41
3.4 STATO MUTAZIONALE DI IDH.....	42
3.5 FOLLOW UP	42
3.6 MISUAZIONE DELL'OUTCOME.....	42
3.7 ANALISI STATISTICA	43
4. RISULTATI	44
4.1 CARATTERISTICHE GENERALI DELLA POPOLAZIONE	44

4.2	STATO MUTAZIONALE DI IDH.....	45
4.3	OUTCOME ONCOLOGICO E CORRELAZIONE CON STATO MUTAZIONALE DI IDH	48
5.	DISCUSSIONE.....	54
5.1	LIMITI DELLO STUDIO.....	59
6.	CONCLUSIONE	60
7.	RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI.....	61

RIASSUNTO

Introduzione - I condrosarcomi (CS) dell'osso sono un insieme di rare neoplasie eterogenee caratterizzate dalla produzione di matrice cartilaginea. Il condrosarcoma convenzionale rappresenta il sottotipo più frequente ed è classificato istologicamente in basso (G1), intermedio (G2) e alto grado (G3). I condrosarcomi di basso grado sono considerati neoplasie localmente aggressive, con un minimo rischio di metastatizzazione, mentre i condrosarcomi di intermedio e soprattutto di alto grado sono neoplasie maligne caratterizzate da alti tassi di recidiva locale e di metastasi, con una prognosi peggiore sulla sopravvivenza. I condrosarcomi sono generalmente considerati chemio e radioresistenti dato il basso tasso di crescita, e la chirurgia rimane l'unico approccio curativo per le forme localizzate, mentre per le forme di malattia avanzata la prognosi rimane infausta.

Mutazioni nei geni *IDH1/2*, codificanti per 2 isoforme di isocitrato deidrogenasi, sono presenti in varie neoplasie, tra cui gliomi e glioblastomi secondari, leucemia mieloide acuta e colangiocarcinoma, ed il loro ruolo prognostico è stato investigato. Recentemente, sono state riscontrate mutazioni di *IDH1/2* in circa il 50% dei CS convenzionali centrali e fino all'80% dei CS dedifferenziati; tuttavia, vi sono risultati contrastanti in letteratura circa l'impatto negativo sulla sopravvivenza che queste mutazioni possono avere. Lo scopo di questo studio è quello di valutare l'incidenza delle mutazioni di *IDH* nei CS e studiare gli esiti clinici dei pazienti in relazione allo stato mutazionale di *IDH*, così da chiarire meglio il ruolo prognostico che queste mutazioni possiedono.

Materiali e metodi - Sono stati arruolati in uno studio prospettico 45 nuovi pazienti con diagnosi istologica di CS, trattati chirurgicamente nel nostro centro dal 2017 al 2020. Tutti i casi sono stati valutati da due esperti di tumori dell'osso e dei tessuti molli ed il grading è stato assegnato in accordo con la corrente classificazione WHO 2020. Il DNA è stato estratto da 5 sezioni di 10 µm incluse in paraffina di ogni paziente utilizzando il kit per tessuti QIAmp FFPE (Qiagen) e quantificato utilizzando il fluorimetro Qubit® 3.0 e il kit Qubit® DNA BR Assay (Thermo Fisher Scientific). Lo stato mutazionale dei geni *IDH1* (codoni 105 e 132) e *IDH2* (codoni 140 e 172) è stato valutato mediante l'utilizzo del kit EasyPGX-ready

IDH1-2. Per ogni reazione, sono stati utilizzati 15-30 ng di DNA. I risultati sono stati analizzati con il software di analisi EasyPGX.

Risultati – È stato possibile valutare lo stato mutazionale di *IDH* solamente in 23 casi; questa serie include: 10 maschi e 13 femmine, con un età media di 56 anni (range, 15-98 anni). Sono stati diagnosticati sul campione operatorio finale 22 CS convenzionali (8 grado 1, 11 grado 2, 3 grado 3) e 1 CS dedifferenziato. Mutazioni di *IDH1/2* sono state riscontrate in 17 pazienti (12 *IDH1* R132, 3 *IDH1* G105, 2 *IDH2* R172) mentre 6 pazienti hanno mostrato *IDH1/2* wild-type. In particolare, la mutazione *IDH1* R132 è stata riscontrata in tutti i gradi di CS convenzionale e nel singolo caso di CS dedifferenziato. Nessun paziente è stato perso durante il follow-up. Ad un follow-up medio di 3.5 anni (range, 4 mesi – 5.6 anni), 13 pazienti erano vivi senza malattia, 3 vivi con malattia e 7 sono deceduti. Metastasi polmonari sono insorte in 8 pazienti, di cui 1 alla diagnosi, e recidiva locale in 7. La sopravvivenza globale dei pazienti a 2 e a 4 anni è stata rispettivamente dell'87% e del 61%. Correlando lo stato mutazionale di *IDH1/2* all'esito dei pazienti, è risultato che i pazienti con la mutazione *IDH1* R132 hanno una significativamente ridotta sopravvivenza globale ($p = 0.0031$), sopravvivenza libera da metastasi ($p = 0.001$) e sopravvivenza libera da recidiva locale ($p = 0.0235$) rispetto ai pazienti con le rimanenti mutazioni e con *IDH* wild-type.

Conclusioni - Abbiamo riscontrato che la mutazione *IDH1* R132 ha un impatto decisamente negativo sulla sopravvivenza del paziente affetto da condrosarcoma, evidenziando come possa avere un ruolo nella progressione di malattia e nella comparsa di metastasi, con conseguente morte del paziente. L'analisi molecolare dello stato mutazionale di *IDH1/2* potrebbe essere utile per stratificare meglio i pazienti affetti dalla malattia, così permettere una migliore gestione terapeutica dei pazienti ed un follow-up più ravvicinato. Ovviamente, questi risultati preliminari sono stati ottenuti su una casistica limitata e devono necessariamente essere confermati in una serie più ampia.

ABSTRACT

Background - Chondrosarcomas (CS) of the bone are a rare heterogeneous group of cartilaginous matrix-producing neoplasm. Conventional CS represents the most frequent subtype and is histologically classified into low (G1), intermediate (G2) and high grade (G3). Low-grade CS are considered locally aggressive neoplasm with minimal risk of metastasis, whereas intermediate and especially high grade CS are malignant neoplasms characterized by high rates of local recurrence and metastasis, with a worse prognosis on survival. Chondrosarcoma is generally considered chemo and radioresistant due to the low growth rate, and surgery remains the only curative approach for localized forms, while for advanced forms of disease the prognosis is poor. Mutations in the *IDH1/2* genes, coding for 2 isoforms of isocitrate dehydrogenase, are present in various malignant tumors, including gliomas and secondary glioblastomas, acute myeloid leukemia, and cholangiocarcinoma, and their prognostic role has been investigated. Recently, *IDH1/2* mutations have been found in about 50% of conventional central CS and up to 80% of dedifferentiated CS; however, there are conflicting results in the literature about the negative impact on survival that these mutations may have. The purpose of this study is to evaluate the incidence of *IDH* mutations in CSs and to study the clinical outcomes of patients in relation to *IDH* mutational status, in order to show the prognostic role these mutations may have.

Materials and Methods - 45 new patients with a histological diagnosis of CS who were surgically treated in our center from 2017 to 2020 were enrolled in a prospective study. All cases were evaluated by two expert bone and soft tissue pathologists and the grading was assigned according to the current WHO 2020 classification. DNA was extracted from five 10- μ m paraffin-embedded sections using the QIAmp FFPE tissue Kit (Qiagen) and quantified using the Qubit® 3.0 fluorometer and the Qubit® DNA BR Assay kit (Thermo Fisher Scientific) for each patient. Then mutational status of *IDH1* (codons 105 and 132) and *IDH2* (codons 140 and 172) genes was assessed using an EasyPGX-ready IDH1-2 kit. For each reaction, 15.30 ng of DNA was used. The results were examined using EasyPGX analysis software.

Results - *IDH* mutational status could only be evaluated in 23 cases; this series includes: 10 males and 13 females, with a mean age of 56 years (range, 15-98 years). There were 22 conventional CS (8 grade 1, 11 grade 2, 3 grade 3) and 1 dedifferentiated CS. 17 patients harbored *IDH1/2* mutation (12 *IDH1* R132, 3 *IDH1* G105 and 2 *IDH2* R172), while 6 patients showed wild-type *IDH*. Interestingly, the *IDH1* R132 was found in all grades of conventional CS and dedifferentiated CS. No patient was lost to follow-up. At a mean follow-up of 3.5 years (range, 4 months – 5.6 years), 13 patients were disease free, 3 alive with disease and 8 died. Metastasis occurred in 7 cases and local recurrence in 7 cases. Overall survival was 87% and 61% at 2 and 4 years, respectively. Correlating *IDH1/2* mutational status with patient outcome, patients with the *IDH1* R132 mutation had significantly lower overall survival ($p = 0.0015$), metastasis-free survival ($p=0.001$), and recurrence-free survival ($p= 0.0235$) compared with patients with the other mutations and wild-type *IDH*.

Conclusion - We found that *IDH1* R132 mutations negatively affect the prognosis of patients with bone CS, highlighting how they may play a role in disease progression and the occurrence of metastasis, resulting in patients death. Molecular analysis of *IDH* mutational could be useful for better stratification of patients with the disease, thus enabling better therapeutic management of patients and closer follow-up. Of course, these preliminary results were obtained on a limited case series and must necessarily be confirmed in larger series.

1. INTRODUZIONE

1.1 DEFINIZIONE

I condrosarcomi (CS) dell'osso sono un gruppo eterogeneo di neoplasie ossee maligne con differenziazione cartilaginea ialina, caratterizzati dalla produzione di matrice cartilaginea (1). Il termine "condrosarcoma", infatti, viene utilizzato per descrivere un ampio gruppo di lesioni con diverse caratteristiche morfologiche e comportamento clinico, il quale può variare da un tumore non metastatizzante a lenta crescita fino a sarcomi metastatizzanti molto aggressivi (2).

Il sottotipo di condrosarcoma più frequente è il condrosarcoma convenzionale, che rappresenta circa l'85% di tutti i CS (3). Sulla base di caratteristiche istologiche, possono essere suddivisi in 3 gradi. Circa il 90% dei CS convenzionali sono di basso grado (G1) e grado intermedio (G2) e caratterizzati da un comportamento indolente raramente metastatizzante, con un'ottima prognosi dopo adeguato trattamento chirurgico (3). Solo il 5-10% dei condrosarcomi sono di alto grado (grado 3) ed hanno un alto potenziale di recidiva locale e metastatico, con metastasi a distanza primariamente a livello polmonare. (4) I condrosarcomi convenzionali possono essere classificati, in base alla loro localizzazione nell'osso, in condrosarcomi centrali e periferici.

Vi sono poi altri sottotipi di condrosarcoma dell'osso, molto più rari, che compongono il 10-15% dei CS rimanenti: il condrosarcoma dedifferenziato, il condrosarcoma a cellule chiare, il condrosarcoma mesenchimale e il condrosarcoma periostale. Questi rari sottotipi possiedono presentazioni cliniche, quadri istopatologici, molecolari e radiografici distinti dal condrosarcoma convenzionale.

1.2 CLASSIFICAZIONE

Esistono varie modalità di classificazione del condrosarcoma convenzionale: può essere classificato in base alla sede d'origine in CS convenzionale centrale o

periferico. La grande maggioranza (>85%) è costituita da condrosarcomi centrali, definiti come tali in base alla loro localizzazione centrale all'interno della cavità midollare delle ossa. (5) Una minoranza (fino al 15%) di condrosarcomi convenzionali si sviluppa dalla superficie dell'osso, per lo più come risultato di una trasformazione maligna all'interno del cappuccio cartilagineo di un osteocondroma preesistente. Questi sono pertanto chiamati condrosarcomi periferici secondari. Una seconda modalità di classificazione prevede la distinzione in CS primitivo o secondario a neoplasie cartilaginee benigne preesistenti. I CS primari sono quasi sempre centrali intramidollari. I CS secondari possono essere centrali o, più comunemente, periferici, a seconda che derivino rispettivamente da un encondroma o da un osteocondroma (6).

Tuttavia, la classificazione più utile, sia per pianificare il corretto approccio chirurgico che per l'inquadramento prognostico, si basa sugli aspetti istomorfologici e sul grado istologico delle lesioni (2).

A livello istologico, nella classificazione WHO 2020, i condrosarcomi sono classificati in 8 istotipi:

- 1) Tumore cartilagineo atipico centrale (ACT) / condrosarcoma, grado 1 (CS1)
- 2) ACT / CS1 periferico secondario
- 3) Condrosarcoma centrale, gradi 2 e 3.
- 4) Condrosarcoma periferico secondario, gradi 2 e 3
- 5) Condrosarcoma periostale
- 6) Condrosarcoma a cellule chiare
- 7) Condrosarcoma mesenchimale
- 8) Condrosarcoma dedifferenziato

Con la classificazione WHO 2013 sono stati introdotti i Tumori Cartilaginei Atipici (ACT), termine inizialmente utilizzato come sinonimo di condrosarcoma di grado 1 (CS1), per identificare neoplasie localmente aggressive e riflettere il comportamento clinico di una lesione ben differenziata, di basso grado, con scarso potenziale maligno metastatico e con prognosi migliore rispetto ai CS grado 2 e 3 (7). L'ACT/CS1 può essere centrale, primitivo o secondario ad un encondroma, oppure può essere periferico secondario ad un osteocondroma.

Con la nuova classificazione WHO 2020 invece si compie un'ulteriore distinzione: con tumore cartilagineo atipico si intende un tumore cartilagineo localmente aggressivo localizzato a livello delle estremità degli arti, mentre il termine condrosarcoma di grado 1 dovrebbe essere riservato ai tumori dello scheletro assiale, tra cui il bacino, la scapola e la base del cranio (ossa piatte), riflettendo l'esito clinico più sfavorevole di questi tumori in queste sedi (8). Seppur istologicamente indistinguibili, ciò che contraddistingue un CS di basso grado e un ACT è la localizzazione, che determina poi un impatto diretto sulla prognosi del paziente. Questa terminologia ha il duplice vantaggio di essere semplice nell'applicazione pratica e di riflettere l'andamento peggiore per i tumori in questi siti, dove è necessario un intervento chirurgico più esteso e radicale (1,9).

SOTTOTIPI DI CONDROSARCOMA

Il condrosarcoma periostale è un sottotipo raro, rappresentante il 2% di tutti i CS. Si tratta di un tumore cartilagineo maligno, in stretta associazione con il periostio, che insorge e infiltra la superficie della corticale dell'osso (8). Il picco d'incidenza è attorno ai 30 anni, con una lieve predominanza nel sesso maschile. Le sedi d'insorgenza preferenziali sono il femore distale e l'omero prossimale (10). Istologicamente la maggioranza di queste neoplasie possiede caratteristiche morfologiche simili ai CS centrali G1 e G2 con i quali condividono inoltre occasionali mutazioni a carico del gene *IDH1/2* (8).

Il condrosarcoma a cellule chiare è una neoplasia maligna solitamente di basso grado caratterizzato dalla presenza di cellule con abbondante citoplasma chiaro, poiché ricche di glicogeno. Rappresenta meno del 2% di tutti i CS (8). A differenza del CS convenzionale, colpisce più frequentemente soggetti giovani, con una media tra la terza e la quinta decade. In più dei due terzi dei casi è localizzato nell'epifisi prossimale di femore e omero, a livello della testa femorale o della testa omerale (11,12). Tuttavia, ad oggi, il condrosarcoma a cellule chiare rimane un'entità distinta sia morfologicamente che a livello molecolare dal CS convenzionale in quanto non coinvolgente i geni *IDH* nella sua patogenesi.

Il condrosarcoma mesenchimale è una neoplasia maligna di alto grado che presenta una morfologia bifasica, costituita da una componente di piccole cellule rotonde

altamente indifferenziate commiste a isole di cartilagine ialina ben differenziata. Rappresenta circa il 2% di tutti i CS (8). Tipicamente si presenta in una fascia d'età molto giovane, con un picco di incidenza nella seconda e terza decade di vita, e in sedi anatomiche variabili dal tessuto osseo ai tessuti molli. Relativamente alla presentazione ossea, la regione craniofacciale è la più colpita (13). Il trascritto di fusione *HEY1::NCOA2* e la morfologia bifasica sono distintivi per quest'entità (8).

Il condrosarcoma dedifferenziato è un sarcoma di alto grado caratterizzato da un doppio aspetto morfologico, in cui vi è una componente di condrosarcoma convenzionale, solitamente di basso grado, affiancata ad un sarcoma non cartilagineo di alto grado, con una netta transizione tra le due componenti neoplastiche (8,14). Rappresenta circa il 10% di tutti i CS ed è caratterizzato da una prognosi pessima. Generalmente colpisce persone attorno ai 60-70 anni, ed è leggermente più frequente nei maschi. Ad oggi si è supposto che il condrosarcoma dedifferenziato sia un'evoluzione del 10-15% dei condrosarcomi convenzionali (15). Questa ipotesi è supportata dall'istopatologia che evidenzia la doppia componente caratteristica oltre che dalle analisi molecolari (14).

1.3 EPIDEMIOLOGIA

Escludendo le neoplasie ematologiche e le metastasi ossee, il condrosarcoma rappresenta la seconda neoplasia primitiva maligna dell'osso più frequente, dopo l'osteosarcoma. La frequenza è variabile tra il 20% e il 27% di tutti i sarcomi primitivi ossei (2). L'incidenza del condrosarcoma convenzionale è cresciuta negli ultimi anni, arrivando a raggiungere 8,48 casi su 1.000.000 nel periodo 2005-2013, contro i 2,88 su 1.000.000 nel periodo 1989-1996. L'aumento dell'incidenza è dovuta ad un incremento di diagnosi di ACT/CS1, dall'1,20 per 1.000.000 nel periodo 1989-1996 al 6,63 nel periodo 2005-2013. Si può supporre sia stato reso possibile sia a causa dell'invecchiamento della popolazione, sia dal miglioramento delle tecniche d'imaging diagnostiche (1). L'incidenza media dei CS 2 e 3 ha trovato una minore variazione, dallo 0,95 per 1.000.000 nel periodo 1989-1996 al 1,81 nel periodo 2005-2013. (1)

Il condrosarcoma dedifferenziato (DCS), il condrosarcoma mesenchimale (MCS) e il condrosarcoma a cellule chiare sono istotipi di condrosarcoma estremamente rari, con un'incidenza stabile di $<0,1$ su 100 000 /anno. (16)

Il condrosarcoma convenzionale è un tumore che colpisce prevalentemente la popolazione adulta e anziana e non vi è distinzione legata al sesso o all'etnia. La distribuzione per età dei pazienti mostra un graduale aumento a partire dai 30 anni, con il picco di incidenza che si verifica durante la sesta e la settima decade di vita. La maggior parte dei pazienti ha un'età superiore ai 50 anni. I condrosarcomi in persone di età inferiore ai 45 anni rimangono comunque rari (5). Condrosarcomi nelle prime decadi di vita sono più frequentemente secondari ad encondromatosi, le cui forme più frequenti sono la Malattia di Ollier e la Sindrome di Maffucci (encondromi multipli con emangiomi) se a localizzazione centrale, oppure secondari a osteocondromatosi multipla ereditaria, se a localizzazione periferica. Nei pazienti con encondromatosi, il rischio complessivo di sviluppare un condrosarcoma è di circa il 40%, che è minore quando gli encondromi sono confinati alle mani e ai piedi, e aumenta quando sono coinvolte anche le ossa lunghe o le ossa del bacino. (17)

Tabella 1: Distribuzione dei sottotipi di condrosarcoma dell'osso ed età tipica d'insorgenza

SOTTOTIPI CONDROSARCOMA	DI	FREQUENZA	ETA' (anni)
Condrosarcoma convenzionale, di cui:		85%	> 50
Centrale		75%	
Periferico		10%	
Condrosarcoma periostale		2.5%	20 - 40
Condrosarcoma a cellule chiare		< 2%	25 - 50
Condrosarcoma mesenchimale		< 2%	20 - 30
Condrosarcoma dedifferenziato		10%	60 - 70

1.4 EZIOLOGIA

La maggior parte dei condrosarcomi insorge *de novo*, in assenza di lesioni predisponenti o fattori di rischio. Tuttavia, ci sono delle sindromi che predispongono all'insorgenza di CS secondari. Esse sono:

- Encondromatosi, le cui forme più comuni sono la Malattia di Ollier e la Sindrome di Maffucci, entrambe malattie non ereditarie caratterizzate dalla presenza di encondromi multipli. Predispongono all'insorgenza di CS centrale secondario.
- Osteocondromi multipli, malattia ereditaria autosomica dominante causata prevalentemente da mutazioni dei geni *EXT1* e *EXT2*. Predispongono all'insorgenza di CS periferico secondario.

ENCONDROMATOSI

Per encondromatosi si intende un disturbo eterogeneo dello scheletro in cui i pazienti presentano neoplasie cartilaginee multiple sintomatiche che hanno origine nella midollare dell'osso. Le due forme più frequenti di encondromatosi sono la Malattia di Ollier e la Sindrome di Maffucci.

La malattia di Ollier è una malattia non ereditaria caratterizzata dalla presenza di encondromi multipli, i quali si sviluppano nella maggior parte dei casi nelle prime due decadi di vita. Si stima che la prevalenza della Malattia di Ollier sia di 1:100.000 (18). La Sindrome di Maffucci è una malattia non ereditaria caratterizzata, oltre che dalla presenza degli encondromi multipli, anche dalla presenza di emangiomi cutanei, dei tessuti molli o più raramente viscerali.

In entrambe le forme di encondromatosi, gli encondromi multipli sono prevalentemente localizzati a livello delle ossa lunghe degli arti, ma anche le ossa piatte, in particolare le ossa del bacino, la scapola e le coste, possono venire colpite. La distribuzione degli encondromi è asimmetrica, con un lato del corpo generalmente più colpito con una grande variabilità nel numero e nelle dimensioni delle neoplasie cartilaginee (19). Possono manifestarsi deformità scheletriche, asimmetria degli arti e in alcuni casi fratture patologiche (18,19).

In queste due forme di encondromatosi, sono state ritrovate mutazioni somatiche di *IDH 1/2* nel 87% degli encondromi, e nel 70% dei CS e degli emangiomi a cellule fusate (solamente nella sindrome di Maffucci in questo caso). In particolare, è stato rilevato che la mutazione più frequente in assoluto è a carico di *IDH1* (98%), di cui la mutazione R132C è la più rappresentata (65%), seguita da R132H (15%). Raramente sono state evidenziate anche mutazioni di *IDH2* nella malattia di Ollier (2%), mentre non sono state osservate nella sindrome di Maffucci. (20,21). La distribuzione asimmetrica e non ereditaria delle lesioni potrebbe suggerire una mutazione somatica a mosaico (22).

Il rischio di trasformazione in condrosarcoma centrale secondario è variabile tra il 5 e il 50%. La causa dell'ampia variabilità nell'incidenza è da imputare nel numero esiguo di pazienti analizzati negli studi finora, soprattutto per quanto riguarda i pazienti affetti da sindrome di Maffucci (17,23). Tuttavia, studi più recenti sembrano dimostrare come il rischio di trasformazione sia circa del 40%, con una differenza importante in base alla sede d'origine degli encondromi multipli. In particolare, i pazienti con encondromi multipli nelle ossa delle mani e piedi hanno un rischio del 15%, mentre i pazienti con encondromi multipli che interessano sia le ossa piccole che quelle lunghe o piatte hanno un rischio del 46% (17). Il rischio è particolarmente elevato in caso di localizzazione pelvica. Inoltre, circa il 26% dei pazienti presenta condrosarcomi multipli (17).

Per quanto riguarda il grado istologico, nello studio condotto da Verdegaal SHM et al, comprendente una casistica di 144 pazienti con Malattia di Ollier e 17 con Sindrome di Maffucci, nel 52% dei casi furono gradati come ACT/CS1, nel 32% come CS2, nel 6% come CS3; nel 10% non è stato possibile identificare un grado (17). Oltre al rischio di sviluppare un condrosarcoma, i pazienti con Malattia di Ollier sembrano avere anche un rischio maggiore di sviluppare tumori maligni non scheletrici, in particolare gliomi (23,24) e tumori ovarici a cellule della granulosa giovanili (19,23).

OSTEOCONDROMI MULTIPLI

Con il termine “ostecondromi multipli” (MO), (precedentemente chiamata esostosi multipla ereditaria (HME)), si intende una sindrome ereditaria autosomica dominante caratterizzata dalla formazione di multipli osteocondromi, neoplasie

osteo-cartilaginee benigne che insorgono sulla superficie esterna dell'osso, e il cui midollo osseo appare radiograficamente in continuità con quello dell'osso nativo (25). In più del 90% dei casi è dovuta a mutazioni con perdita di funzione di due possibili geni, esostosina 1 (*EXT 1*) ed esostosina 2 (*EXT2*). I prodotti genici sono coinvolti nella biosintesi dell'eparan solfato (26), molecola fondamentale in moltissime vie di segnale e necessaria per la polimerizzazione delle catene di proteoglicani che formano la cartilagine ialina (27).

Mutazioni di *EXT1* o *EXT2*, in combinazione alla perdita dell'allele wild-type del gene sono gli eventi patogenetici negli osteocondromi ereditari. Nell'osteochondroma sporadico invece, si riscontra una delezione omozigote biallelica di *EXT1* nell'80% dei casi (28).

La sindrome ereditaria degli osteocondromi multipli ha una prevalenza di 1:50.000 (25). La formazione degli osteocondromi, prevalentemente localizzati a livello della metafisi delle ossa lunghe, avviene durante il periodo di sviluppo scheletrico, e normalmente cessa con il raggiungimento della pubertà e la scomparsa del piatto d'accrescimento epifisario. In aggiunta, si possono manifestare diverse deformità ossee; in particolare una tipica deformità dell'avambraccio è rappresentata dall'accorciamento dell'ulna con conseguente inarcamento del radio, presente fino al 60% dei casi (29). Altre manifestazioni scheletriche sono la disuguaglianza nella lunghezza degli arti (10-50%), deformità della caviglia (29) e bassa statura sproporzionata. (30)

Nei pazienti affetti da MO, il rischio di trasformazione in CS secondario periferico si attesta attorno al 5%, contro meno dell'1% di probabilità in caso di un osteochondroma sporadico (29,30). Elementi che permettono di sospettare la trasformazione in un CS secondario periferico sono una crescita di un osteochondroma dopo la pubertà, una nuova comparsa o aumento del dolore, un aumento dello spessore del cappuccio cartilagineo dell'esostosi di almeno 2 cm (8). In circa il 90% dei casi evolve in un ACT/CS1 periferico secondario, mentre in meno del 10% può evolvere in un CS2 o 3 periferico secondario. (31)

Il fatto che sia gli osteocondromi che i condrosarcomi periferici secondari, caratterizzati da mutazioni in *EXT1* e *EXT2*, non presentano mutazioni in *IDH1/IDH2* supporta l'attuale ipotesi che questi sottogruppi neoplastici

rappresentano entità neoplastiche distinte rispetto ai tumori di origine centrale (32,33).

1.5 PATOGENESI

I condrosarcomi centrali di alto grado sono caratterizzati da cariotipo aneuploide e complesso, specialmente il CS3. Amplificazioni di 12q13 e perdita di 9p21 sono tra le più frequenti alterazioni cromosomiche riscontrabili. La regione 12q13 contiene i geni *MDM2*, codificante per la medesima proteina coinvolta nella via di p53, e *CDK4*. La regione 9p21 invece contiene il locus di *CDKN2A*, che codifica per la proteina p16/INK4A, anch'essa coinvolta nell'arresto del ciclo cellulare (34). Alterazioni della via segnaletica di Rb sono descritte fino al 90% dei CS di alto grado, incluse le amplificazioni di CDK4 e la perdita di p16. Rb si lega al fattore di trascrizione E2F e lo inibisce, arrestando il passaggio tra la fase G1 alla fase S del ciclo cellulare. (35) Mutazioni del gene TP53 sono presenti nel 20-50% dei CS convenzionali di alto grado e dei CS dedifferenziati (36).

La pathway di Indian Hedgehog (IHH)/PTHrP svolge normalmente un ruolo importante nella proliferazione e differenziazione dei condrociti all'interno della normale placca d'accrescimento epifisaria. Nei CS di alto grado, un'aumentata espressione di PTHrP insieme ad una diminuzione del segnale di IHH è associata ad una progressione del grado istologico, mentre non vi è differenza nell'espressione di questa via tra gli encondromi e gli ACT/CS1, dimostrandone il ruolo non fondamentale nella trasformazione maligna di un encondroma (37).

RUOLO DI IDH NEI CONDROSARCOMI CENTRALI

Le proteine isocitrato deidrogenasi (IDH) sono una famiglia di enzimi coinvolti principalmente nella conversione dell'isocitrato in α -chetoglutarato nel ciclo degli acidi tricarbossilici, implicati nella produzione di energia cellulare. Sono state identificate tre isoforme di IDH: IDH1 nel citoplasma e nei perossisomi, IDH2 e 3 nei mitocondri (38). È stato descritto come mutazioni con guadagno di funzione di IDH causino un accumulo dell'oncometabolita D-2-idrossiglutarato (D-2HG), responsabile di modificazioni epigenetiche, in particolare ipermetilazione degli

istoni e del DNA, compromettendo la normale differenziazione cellulare e promuovendo la tumorigenesi (39,40). Nell'ambito dei tumori cartilaginei, è noto ormai che aumentati livelli di D-2HG inibiscono la differenziazione osteogenica e promuovono invece la differenziazione condrogenica delle cellule staminali mesenchimali (MSCs), svolgendo un ruolo cruciale nella formazione degli encondromi benigni. (41)

Le mutazioni dei geni *IDH* sono presenti in molti altri tumori come glioblastomi secondari e gliomi (42), leucemia mieloide acuta (43), colangiocarcinoma (44,45), carcinoma della tiroide (46), carcinoma della prostata (47) e nel melanoma (48).

Nei tumori cartilaginei centrali, è stato dimostrato che mutazioni di *IDH*, in particolare mutazioni di R132 per *IDH1*, e R140 o R172 per *IDH2*, sono presenti nel 52% degli encondromi solitari e fino al 90% nelle lesioni cartilaginee di pazienti con encondromatosi. Inoltre, a differenza dei gliomi, in cui l'88% delle mutazioni di *IDH1* coinvolge l'istidina al codone 132 (R132H), R132C rappresenta la mutazione *IDH1* più comune nei tumori cartilaginei (40%), con la variante R132H che costituisce il 17%. (32)

Mutazioni a carico di *IDH1/2* sono presenti nel 52-59% dei CS centrali primari e fino al 70-80% dei CS secondari ad encondromatosi (20,21,32). La presenza di mutazioni di *IDH* negli encondromi benigni e nei CS maligni supporta l'idea che esse siano un evento precoce nell'insorgenza di queste lesioni senza tuttavia indicarne un preciso potenziale metastatico e di aggressività locale.

Un altro dato interessante sottolineato nello studio di Amary et al. del 2011, è che anche il condrosarcoma dedifferenziato possiede mutazioni di *IDH1/2* nel 50-87% dei casi; questo è un ulteriore dato a favore dell'origine comune dei due istotipi di CS. (32)

1.6 PRESENTAZIONE CLINICA

LOCALIZZAZIONE ANATOMICA

Potenzialmente tutte le porzioni scheletriche del corpo che hanno subito il processo di ossificazione encondrale possono essere affette da condrosarcoma. Tuttavia, le sedi preferenziali sono le ossa piatte e la porzione prossimale delle ossa lunghe.

Infatti, il CS è un tumore che insorge prevalentemente nel tronco, che viene coinvolto nel 40% dei casi. Le sedi più colpite sono la pelvi (20%), in particolare l'ileo, e le coste (15%). Altre sedi frequenti sono il femore prossimale (15%) e l'omero prossimale (15%). A livello delle ossa lunghe il condrosarcoma ha una localizzazione preferenzialmente metafisaria. La scapola è un altro sito d'insorgenza del condrosarcoma nel 5% dei casi mentre è raro il coinvolgimento della colonna vertebrale e della base del cranio (2). Ancora più raro è il coinvolgimento acrale; lesioni cartilaginee riscontrate radiologicamente a livello delle ossa corte delle mani e dei piedi solitamente sono encondromi, la cui diagnosi differenziale riguarda principalmente gli ACT/CS1. Pertanto, a livello acrale risulta sempre fondamentale nel differenziare le lesioni cartilaginee la correlazione tra il quadro clinico, radiologico e istologico. La distribuzione anatomica complessiva del condrosarcoma differisce in modo significativo da quella dell'encondroma, anche se esiste un certo grado di sovrapposizione (8).

In alcuni casi si può avere anche un coinvolgimento extrascheletrico da parte del condrosarcoma, ad esempio a livello della cartilagine laringea. Tuttavia, sono delle entità istopatologiche e cliniche completamente diverse dal CS dell'osso.

Come per altri sarcomi ossei, il condrosarcoma convenzionale presenta identiche caratteristiche microscopiche e potenziale biologico, indipendentemente dalla sua localizzazione anatomica. Tuttavia, il significato clinico, la possibilità di asportazione completa e di conseguenza la possibilità di guarigione differiscono in relazione alla sede anatomica. Pertanto, la localizzazione è considerata un importante fattore prognostico (2).

SEGNI E SINTOMI

Il CS convenzionale dell'osso, come altri sarcomi primitivi ossei, si può manifestare con un'ampia varietà di sintomi in base alle dimensioni della neoplasia e alla localizzazione (13). Il dolore è generalmente il sintomo che il paziente tende a riferire più frequentemente, il quale viene descritto come un dolore osseo sordo, talvolta intermittente. La presenza di dolore notturno deve sempre porre il sospetto per una neoplasia maligna, specie se un dolore continuo durante la giornata peggiora durante la notte (49). Se il tumore fosse localizzato a ridosso di un'articolazione, potrebbe inoltre causare una diminuzione del movimento

articolare. Il rigonfiamento locale nella zona del tumore, dovuto all'espansione della corticale ed eventualmente all'invasione dei tessuti molli da parte della neoplasia, può essere presente. In caso di CS periferico secondario ad osteocondroma o CS periostale, si può avere una sintomatologia legata alla compressione vascolare, nervosa o tendinea delle strutture circostanti (50). Occasionalmente, il quadro d'esordio di un paziente affetto da condrosarcoma è caratterizzato da una frattura patologica a causa dell'invasione tumorale dell'osso circostante e dell'indebolimento della normale architettura ossea, in particolare nei condrosarcomi di alto grado (51).

Tuttavia, è importante sottolineare che inizialmente alcuni pazienti possono non presentare alcun segno e sintomo; in questi casi, i tumori sono riscontrati in maniera accidentale (49). Soprattutto quando insorgono nel bacino, ma anche a livello costale, i condrosarcomi possono crescere sino a raggiungere grandi dimensioni prima di diventare sintomatici. I condrosarcomi pelvici sono infatti spesso di grandi dimensioni e si presentano con dolore lombare che si può irradiare agli arti inferiori, sintomi urinari dovuti alla pressione sul collo della vescica, gonfiore unilaterale dell'arto inferiore dovuto all'ostruzione della vena iliaca (6).

La sola presentazione clinica comunque non è mai dirimente per la diagnosi, e deve sempre essere approfondita con tutti gli esami del caso. La presenza di dolore assume una importanza nella diagnosi differenziale tra una neoplasia cartilaginea benigna e maligna. Lesioni benigne intramidollari come l'encondroma, sono generalmente asintomatiche e sono quasi sempre riscontrate come reperto incidentale all'imaging.

1.7 IMAGING

RADIOGRAFIA

L'esecuzione di una radiografia convenzionale sui due piani antero-posteriore e latero-laterale dovrebbe essere la prima indagine radiologica da effettuare nell'iter diagnostico dei tumori cartilaginei. (16)

Le lesioni cartilaginee generalmente appaiono alla radiografia con un aspetto di radiolucenza tipica con calcificazioni opache puntiformi o ad aspetto ad anello ed arco (ring and arc calcification) distribuite in modo più o meno uniforme. Il livello

di mineralizzazione può variare da lesione a lesione in quanto vi possono essere lesioni molto calcificate, difficilmente distinguibili dall'osso normale, con la tipica calcificazione ad anello. Viceversa, possono prevalere aree litiche la cui natura cartilaginea può essere difficile da identificare (2). Solitamente lesioni di alto grado tendono a mostrare minore area di mineralizzazione e maggiore osteolisi (52).

L'ACT/CS1 centrale appare radiologicamente come una lesione litica con distruzione a carta geografica, con margini mal definiti e con le tipiche calcificazioni cartilaginee a "pop corn". Solitamente è presente un'erosione della superficie endostale ed espansione della corticale con assottigliamento della stessa senza però causare rottura completa della corticale ed invasione dei tessuti molli (53). Nelle ossa lunghe, tuttavia, la diagnosi differenziale con l'encondroma può risultare complessa sulla base dell'RX poiché gli stessi pattern possono essere presenti anche in caso di neoplasia benigna (53,54) Tra gli aspetti più indicativi che prepongono per una diagnosi di ACT/CS1 rispetto ad un encondroma sono (52,53,55):

- Localizzazione assiale
- Dimensione della lesione cartilaginea > 5 cm
- Scalloping endostale profondo (maggiore due terzi della profondità della corticale)
- Enhancement visibile alla RM dinamica con gadolinio entro 10 secondi dall'inizio dell'enhancement arterioso.

Altri aspetti utili e suggestivi di CS centrale sono il rimodellamento e l'ispessimento corticale e la reazione periostale (52). In ogni caso la differenziazione dei tumori cartilaginei benigni da quelli maligni si basa su una decisione presa in un gruppo multidisciplinare che tiene conto dei risultati clinici, di imaging e patologici e non deve basarsi solamente sul quadro radiologico (52). La differenziazione delle due lesioni risulta importante poiché encondromi asintomatici non necessitano di trattamento, mentre gli ACT/CS1 sono trattati chirurgicamente tramite curettage o resezione (56).

Nello scheletro assiale qualsiasi tumore cartilagineo deve essere attentamente valutato e seguito nel tempo, poiché gli encondromi sono estremamente rari in questa sede (57). In caso di crescita della lesione, o nuova comparsa di espansione corticale, si deve porre il sospetto di CS.



Figura 1: Radiografia anteroposteriore del ginocchio raffigurante un condrosarcoma di basso grado centrale localizzato a livello della tibia prossimale. Delimitata dalle frecce si può notare una lesione sclerotica con la tipica mineralizzazione della matrice “ad arco e ad anello”(52).

I condrosarcomi centrali di alto grado appaiono alla radiografia come una lesione fortemente osteolitica, con un pattern di distruzione ossea tarlato o permeativo. L'erosione della corticale dell'osso è spesso profonda e, talvolta, la lesione si estende nei tessuti molli adiacenti (54). Tuttavia, nonostante queste differenze radiografiche rispetto ai CS di basso grado, le radiografie semplici non sono affidabili nella determinazione del grado del tumore e bisognerebbe sempre approfondire il quadro radiologico con esami di secondo livello, in particolare TC e RM (54).

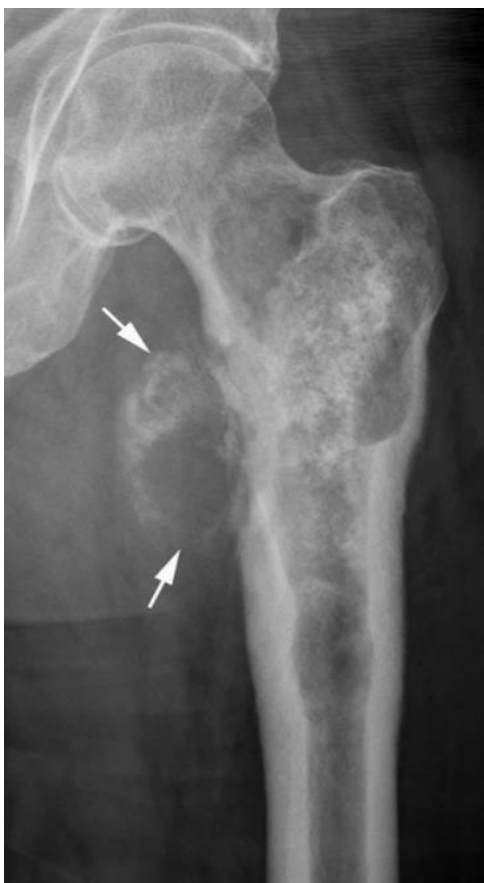


Figura 2: Radiografia anteroposteriore del femore prossimale sinistro raffigurante un condrosarcoma centrale di alto grado. Si può notare la tipica mineralizzazione ad arco e anello delle lesioni cartilaginee. È visibile la distruzione della corticale e l'estensione del tumore nei tessuti molli, come indicato dalle frecce bianche che mostrano una mineralizzazione extra-ossea (52).

TOMOGRAFIA COMPUTERIZZATA

La tomografia computerizzata (TC) permette di mettere in evidenza eventuali reperti che possono non essere sempre ben visibili alla radiografia convenzionale. In particolare, il suo utilizzo è particolarmente indicato per indagare meglio la mineralizzazione della matrice e l'erosione della superficie interna della corticale nella pelvi e nelle altre ossa piatte. Attraverso la TC si può valutare più precisamente l'erosione della corticale e l'estensione del tumore nei tessuti molli, anche se la risonanza magnetica ha una maggiore precisione nel caratterizzare quest'ultima (52).

RISONANZA MAGNETICA

La risonanza magnetica (RM) con e senza mezzo di contrasto rappresenta il gold standard nella diagnostica per immagini dei tumori cartilaginei (16). La RM è indispensabile per la valutazione dell'estensione intramidollare del tumore, l'invasione nei tessuti molli e i rapporti con le strutture circostanti (13). Di fronte ad un tumore cartilagineo, è necessario tenere in considerazione le dimensioni della massa, il pattern lobulato dei noduli cartilaginei, la presenza di scalloping endostale e rottura della corticale, l'estensione nei tessuti molli, reazioni infiammatorie e edema perilesionale ed infine eventuale enhancement durante la somministrazione del gadolinio come mezzo di contrasto. (58)

I tumori cartilaginei presentano un pattern lobulato con iperintensità di segnale nelle sequenze T2-pesate, dovuto all'alta percentuale di acqua che compone la matrice non mineralizzata. I lobuli sono separati da sottili setti fibrovascolari ipointensi. Nelle sequenze T1-pesate invece, i tumori possono apparire ipointensi o isointensi rispetto alla muscolatura circostante, dimostrando sempre un pattern lobulato, con piccole aree iperintense dovute all'intrappolamento di cellule adipose del midollo giallo, in particolare nei condrosarcomi di basso grado. Vi possono essere anche aree punteggiate di assenza di segnale ("segnale vuoto") dovuto alla matrice condroide mineralizzata (52). Dopo la somministrazione del mezzo di contrasto endovenoso con gadolinio, si ha un tipico enhancement periferico e settale ad "anello ed arco", tipico sia di ACT/CS1 che di CS2 o 3. Tuttavia, nei CS di alto grado spesso si ha una zona centrale non captante il mezzo di contrasto. Solitamente questo corrisponde macroscopicamente ad una zona cistica emorragica o di necrosi all'interno del tumore. (59,60)

Come per la radiografia, tuttavia, anche qui la diagnosi differenziale tra encondroma e ACT/CS1 non risulta facile alla RM, perché condividono spesso le medesime caratteristiche all'imaging. Il riscontro di ispessimento corticale, edema intramidollare, espansione ossea (che non sia localizzata a livello delle falangi) e intrappolamento del midollo giallo sono suggestivi di un ACT ma non sono diagnostici (61). Ne deriva che la diagnosi differenziale tra ACT ed encondroma non possa essere effettuata solamente sulla base dell'imaging. Unitamente alle caratteristiche all'imaging diagnostico, la localizzazione del tumore e il riscontro clinico di un dolore localizzato non attribuibile ad altre cause sono gli indicatori più

utili per sospettare un condrosarcoma (61). Anche l'esecuzione di RM con sequenze DWI e la PET-CT non hanno dimostrato una sensibilità e specificità sufficiente per differenziare gli ACT dagli encondromi. (62,63)

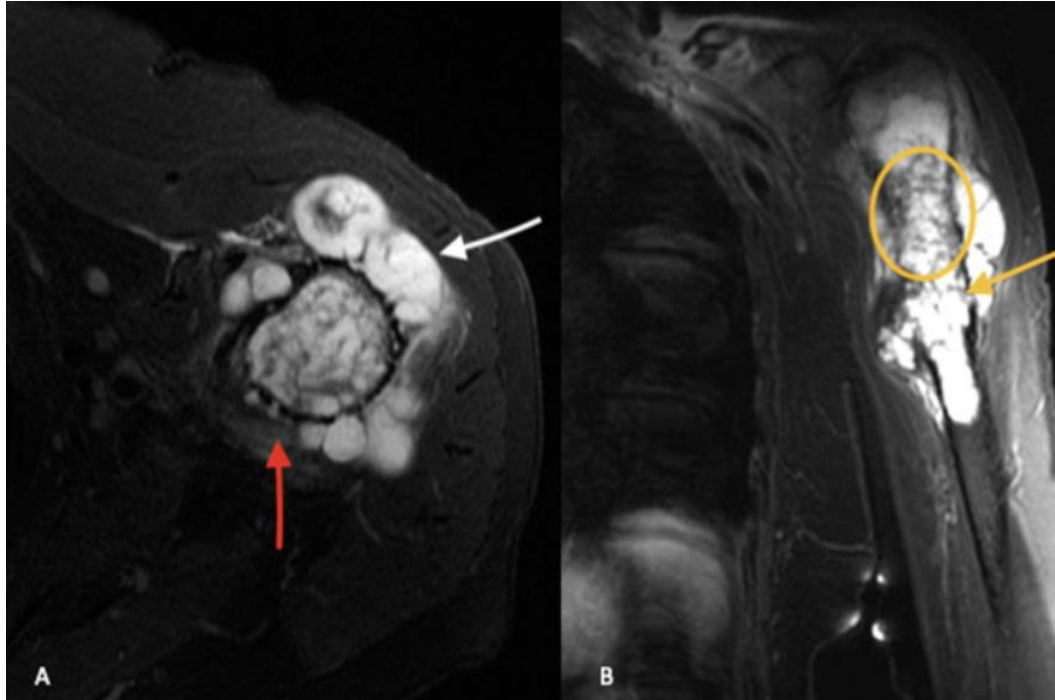


Figura 3A-B: Risonanza magnetica con sequenze T2-pesate con saturazione del grasso in sezione A) assiale e B) coronale. Le immagini mostrano un condrosarcoma di alto grado localizzato nell'omero prossimale. La lesione condroide mostra la tipica architettura lobulata iperintensa nelle sequenze T2-pesate. La freccia bianca indica la distruzione corticale e l'estensione della massa nei tessuti molli adiacenti. La freccia rossa indica la presenza di edema perilesionale (13).

Viceversa, le immagini diagnostiche di un CS di alto grado sono più suggestive. Alla RM si possono apprezzare frequentemente l'espansione dell'osso con assottigliamento della corticale, distruzione corticale, estensione del tumore nei tessuti molli, reazione infiammatoria perilesionale nell'osso e nel tessuto molle e periostite. (60)

La RM può quindi essere un ulteriore strumento in grado di aiutare a differenziare i CS di basso grado da quelli di alto grado. L'intrappolamento di cellule adipose visibile nelle sequenze T1-pesate all'interno del CS suggeriscono fortemente un CS di basso grado, mentre la distruzione corticale e l'estensione dei tessuti molli sono altamente indicative di CS di alto grado (13,52,58,60).

PET-CT

Il ruolo della PET-CT con somministrazione di ^{18}F -FDG sta diventando sempre più importante nella diagnosi iniziale dei CS di alto grado, sebbene il suo utilizzo nella pratica clinica non sia ancora routinario. L'utilizzo della ^{18}F -FDG-PET-CT si è dimostrato utile nel differenziare i CS di alto grado dagli encondromi e dall'ACT/CS1 (63,64). Tutto ciò riflette le caratteristiche istologiche di queste entità tumorali. I condrosarcomi di basso grado infatti possiedono una bassa cellularità e un ridotto indice mitotico; di conseguenza, si avrà una ridotta captazione di ^{18}F -FDG (64). Tuttavia, nemmeno la PET-CT si è rivelata un affidabile strumento diagnostico per differenziare i tumori benigni cartilaginei dagli ACT/CS1. Il valore di captazione standardizzato (SUV) tumorale pre-terapeutico ottenuto con la PET FDG è un parametro utile per definire il grading del tumore e la previsione dell'outcome nei pazienti con condrosarcoma. La combinazione di SUV e grado istopatologico del tumore ha consentito di identificare i pazienti ad alto rischio di recidiva locale o di malattia metastatica (63).

1.8 ASPETTI MACROSCOPICI

All'esame macroscopico, generalmente la natura cartilaginea della lesione è facilmente riconoscibile. Infatti, soprattutto per i CS di basso grado e grado intermedio, si ha un'architettura lobulata, composta di noduli grigiastri translucidi che ricordano la cartilagine normale. I lobuli possono essere accentuati da una mineralizzazione delle porzioni più periferiche bianco-giallastre. Nei CS di alto grado possono essere presenti aree cistiche centrali e aree di materiale mixoide ed emorragico. Nelle lesioni più aggressive, possono essere presenti aree rossastre dovute ad un'emorragia. Aree macroscopiche di necrosi sono rare e maggiormente riscontrate nei CS di alto grado o dedifferenziati. Macroscopicamente si può apprezzare l'erosione della superficie corticale, che corrisponde allo scalloping endostale visibile agli esami radiologici e nei tumori di alto grado si può notare l'invasione dei tessuti molli (8).

1.9 RUOLO DELLA BIOPSIA

La biopsia e la successiva analisi istomorfologica con grading istologico deve essere eseguita in ogni lesione sospetta, poiché ha un ruolo fondamentale nel determinare la prognosi del paziente e il corretto approccio terapeutico. Tuttavia, l'esame istologico deve essere sempre affiancato alle caratteristiche epidemiologiche, cliniche e radiologiche per giungere alla diagnosi definitiva. Campioni di tessuto possono essere ottenuti tramite tecnica chirurgica a cielo aperto oppure per via percutanea, spesso guidata dagli esami strumentali (65). Sebbene la biopsia chirurgica rimanga il gold standard, l'agobiopsia percutanea imaging-guidata presenta diversi vantaggi, tra cui la minor invasività della procedura, una minor rischio di seeding tumorale e costi ridotti. (66,67)

1.10 ASPETTI MICROSCOPICI

Caratteristica fondamentale per poter parlare di tumore a differenziazione cartilaginea è la presenza di sola matrice cartilaginea e assenza di matrice osteoide. Talvolta possono essere presenti aree di matrice mixoide oppure focolai di ossificazione encondrale. L'architettura è generalmente lobulare, i cui singoli lobuli possono variare in forma e dimensioni, separati da sottili setti fibrovascolari. Un aspetto importante per differenziare i condrosarcomi da tumori cartilaginei benigni è la presenza un pattern di crescita permeativo, con intrappolamento di trabecole ossee lamellari preesistenti (68,69). L'intrappolamento è definito come la presenza del tumore attorno a tre lati di una normale trabecola ossea midollare (8). Le cellule sono simili ai condrociti non neoplastici e sono localizzati in spazi lacunari all'interno della matrice cartilaginea. Tuttavia, aspetti tipici istologici e citologici che possono essere riscontrati nei CS rispetto alle lesioni benigne sono un'umentata cellularità, comparsa di atipie cellulari, presenza di cellule binucleate con pleomorfismo e variabile presenza di figure mitotiche. Generalmente, con l'aumento del grado istologico, si ha un aumento di tutte queste componenti istopatologiche (70).

GRADING

Nei sarcomi ossei, il sottotipo istologico spesso determina il comportamento clinico e di conseguenza anche il grado. Ad esempio, il condrosarcoma dedifferenziato e il condrosarcoma mesenchimale sono sempre considerati di alto grado, mentre il condrosarcoma a cellule chiare è classificato come sarcoma di basso grado.

Il condrosarcoma convenzionale è uno dei pochi sarcomi ad avere un grading istologico, formulato originariamente da Evans et al nel 1977 (71). Il grado correla molto bene con il comportamento biologico del tumore, e rappresenta uno dei più importanti fattori prognostici. Il grading secondo Evans si basa sulla valutazione del background intercellulare, dimensioni del nucleo, cellularità e conta mitotica.

Il grading dovrebbe essere valutato nella zona a più alto grado del tumore. Sulla base di questi parametri, individuiamo 3 gradi del CS convenzionale:

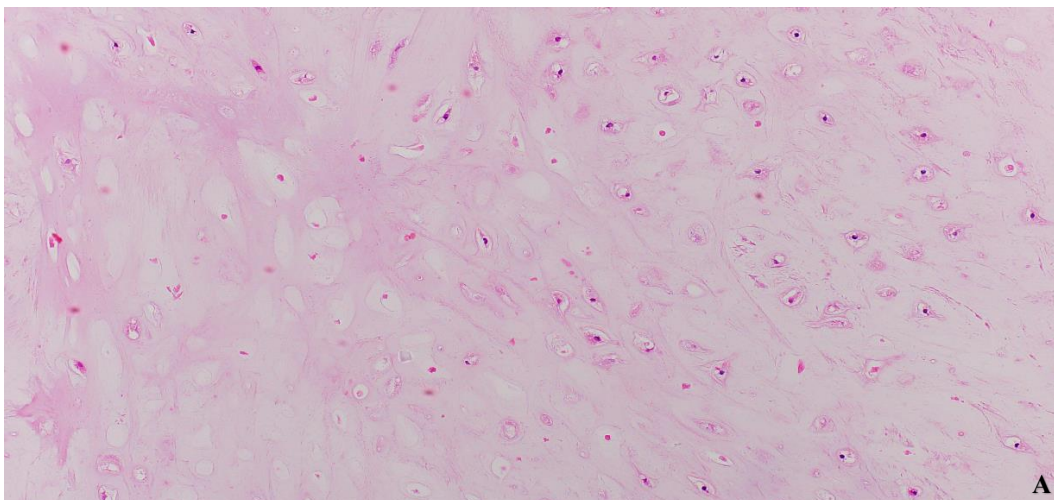
- Condrosarcoma di grado 1 / di basso grado: Il CS1 è istologicamente molto simile all'encondroma. La cellularità, sebbene non sia elevata, è solitamente maggiore rispetto al tumore benigno. Il background è generalmente condroide, anche se lievi alterazioni mixoidi della matrice possono essere riscontrate. Le cellule sono occasionalmente binucleate, ma le mitosi sono assenti. Il pleomorfismo nucleare è scarso ed i nuclei sono di piccole dimensioni, talora nucleolati.

Come già riportato nella sezione di classificazione, ad oggi si è svolta un'importante distinzione tra il tumore cartilagineo atipico, localizzato nelle estremità, e il condrosarcoma di grado 1, a localizzazione assiale o nelle ossa piatte del bacino. Tuttavia, si sottolinea nuovamente come a livello istologico non vi sia alcuna differenza (8).

- Condrosarcoma di grado 2 / di grado intermedio: nel CS2 i nuclei cominciano ad apparire più grandi, e sono visibili delle mitosi, anche se non superano le 2 mitosi per 10HPF (x40). Vi è un'iper cellularità franca localizzata soprattutto alla periferia del lobulo cartilagineo tumorale ed il background stromale va incontro ad una maggiore degenerazione mixoide a discapito della matrice cartilaginea ialina. Atipie nucleari possono essere presenti ma solitamente non sono severe.

- Condrosarcoma di grado 3 / di alto grado: la caratteristica principale del CS3 è di avere 2 o più mitosi per 10 HPF (x40). Come nel CS2, vi è una ipercellularità importante, soprattutto nella periferia del lobulo, tale per cui la matrice cartilaginea può essere scarsamente o del tutto non visibile. Inoltre, possono esserci cambiamenti mixoidi o mucoidi della matrice. In periferia si ha la comparsa di cellule fusate. Le atipie nucleari sono frequenti, con un forte pleomorfismo nucleare. I lobuli cartilaginei appaiono meno definiti con una minore differenziazione. Quando presenti, l'erosione della corticale ossea e l'estensione ai tessuti molli sono ben visibili anche all'esame istologico.

Tuttavia, è importante sottolineare anche che recenti studi hanno dimostrato come l'assegnazione del grading istologico sia soggetta a variabilità interindividuale. Questo potrebbe avere importanti ripercussioni dal momento che la prognosi e la gestione terapeutica del paziente differiscono molto in base grado del tumore. (54,68)



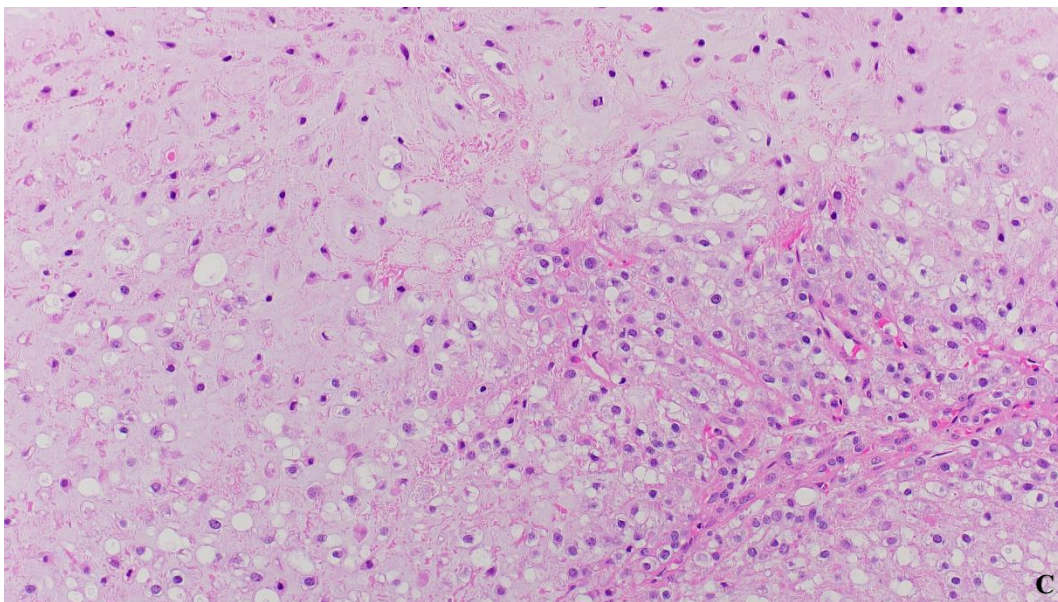
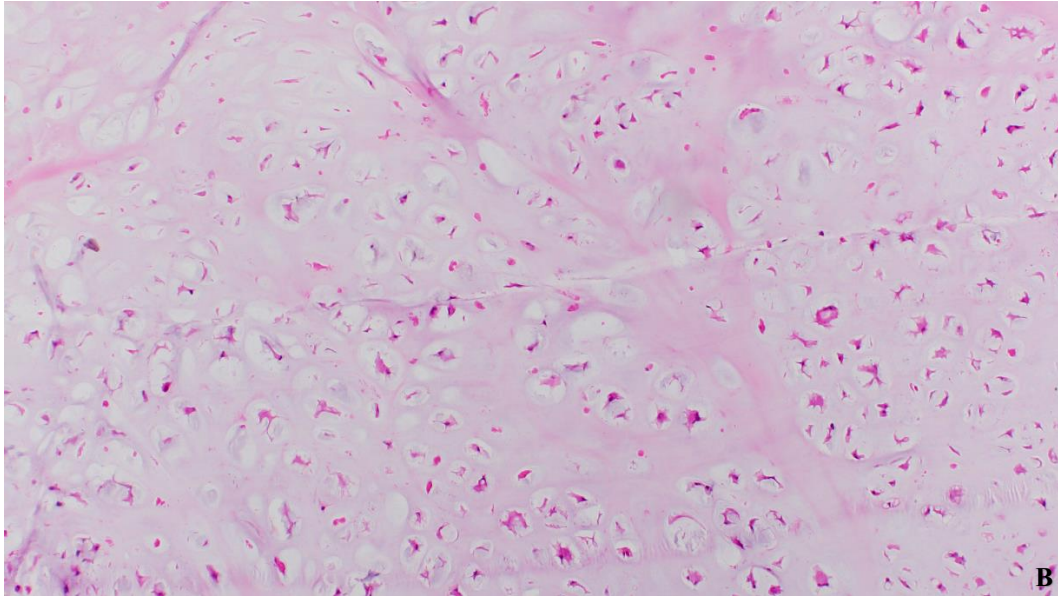


Figura 4A-B-C: Istologia di vari gradi di condrosarcoma. In ordine, A) CS di grado 1, B) CS di grado 2 e C) CS di grado 3. Si può notare come all'aumentare del grado istologico si abbia un aumento della cellularità ed un aumento dell'attività mitotica.

Tabella 2: Caratteristiche essenziali nella determinazione del grado istologico del condrosarcoma convenzionale

GRADO	CELLULARITA'	ASPETTI ISTOLOGICI
<i>Grado 1</i>	Ipocellularità	Nuclei piccoli Cellule occasionalmente binucleate Mitosi assenti Prevalenza di matrice condroide Calcificazioni e ossificazioni encondrali presenti
<i>Grado 2</i>	Aumento della cellularità, specialmente nella periferia del lobulo	Nuclei di dimensioni aumentate Cellule binucleate frequenti Basso tasso mitotico (< 2 per 10 HPF) Comparsa di matrice mixoide e diminuzione della matrice condroide
<i>Grado 3</i>	Ipercellularità diffusa Periferia del lobulo ipercellulata, con comparsa di cellule fusate	Nuclei di grandi dimensioni e pleomorfi Pleomorfismo severo Mitosi > 2 per 10 HPF Matrice condroide quasi assente, importanti cambiamenti mucomixoidi Necrosi frequente

IMMUNOISTOCHEMICA

L'analisi immunoistochimica ha un ruolo marginale nella diagnosi del condrosarcoma. Possiamo riscontrare una positività ai marker di differenziazione cartilaginea come SOX9 e S-100, i quali però non permettono di discriminare tra lesioni cartilaginee benigne e maligne; tuttavia, nei CS di grado 3, ci può essere una perdita focale dell'espressione di S-100, soprattutto nelle aree meno differenziate (72).

Anche la ricerca immunistochimica della proteina IDH ha un ruolo limitato nella diagnosi. Infatti, gli anticorpi IDH1 R132-specifici riconoscono solamente una piccola percentuale delle mutazioni di IDH nel condrosarcoma, e pertanto ad oggi sono poco utilizzati (20,21,32).

DIAGNOSI DIFFERENZIALE

Le principali diagnosi differenziali da eseguire nell'iter diagnostico del condrosarcoma sono:

- Encondroma: Risulta molto difficile differenziare un encondroma da un ACT/CS1. Gli aspetti istologici principali da valutare sono l'aumentata cellularità, la distribuzione irregolare delle cellule e la presenza di cellule binucleate, anche se come già detto tutte queste caratteristiche possono essere ritrovate anche nell'encondroma. Questo risulta ancora più vero in caso di encondromatosi o in caso di encondromi localizzati nella falange (73). Un aspetto molto importante da valutare è il pattern di crescita: il tipico pattern di nuova calcificazione e deposizione ossea reattiva attorno ad un lobulo cartilagineo tumorale, tipico di tumori a crescita molto lenta ed indolente come l'encondroma, sono quasi sempre assenti nel condrosarcoma di basso grado. Invece, un aspetto caratteristico di CS di basso grado è l'intrappolamento di osso trabecolare preesistente. (inserire citazioni nuovo libro foto) Anche la presenza di un'alterazione mixoide della matrice > 20% è indicativa di ACT/CS1.

In ogni caso, la differenziazione istologica tra le due entità tumorali è spesso quasi impossibile, e deve sempre essere correlata al quadro epidemiologico, clinico e radiologico (69), in particolare la localizzazione della lesione (nelle ossa corte di mani e piedi contro lo scheletro assiale) e l'età del paziente (74).

- Osteosarcoma condroblastico: L'osteosarcoma condroblastico è una variante istologica dell'osteosarcoma caratterizzata dalla presenza di predominante matrice cartilaginea. Istologicamente, risulta molto difficile differenziarlo da un CS di grado 3. L'aspetto fondamentale da ricercare è la presenza di matrice osteoide neoplastica nell'osteosarcoma condroblastico, che per definizione i condrosarcomi non possiedono (70). Anche lo stato

mutazionale di *IDH* può aiutare a differenziare le due neoplasie. Infatti, mentre abbiamo già sottolineato essere presenti nel 50% dei condrosarcomi convenzionali, mutazioni di *IDH* non sono state riscontrate in casi di osteosarcoma (32,75).

In ogni caso, rimane sempre fondamentale l'integrazione delle caratteristiche cliniche e radiologiche, dal momento che le due neoplasie differiscono notevolmente. L'osteosarcoma infatti generalmente insorge in soggetti più giovani, generalmente prima dei 25 anni nel 60% dei casi. Per quanto riguarda l'aspetto radiologico, l'osteosarcoma, soprattutto se caratterizzato da abbondante matrice cartilaginea, mostra maggiori aspetti riconducibili a una lesione osteoblastica. La reazione periostale in risposta alla distruzione corticale è più evidente; inoltre, l'aspetto tipico "a sole radiante" dell'osteosarcoma appare molto raramente all'imaging di un condrosarcoma (libro).

1.11 STADIAZIONE

Le attuali linee guida raccomandano l'utilizzo della radiografia convenzionale ed in particolare della RM con e senza mezzo di contrasto per la valutazione della sede tumorale, con particolare attenzione alla presenza di lesioni discontinue nello stesso osso (definite "skip metastasis", parametro molto importante della stadiazione TNM), l'estensione nei tessuti molli, e i rapporti con le strutture circostanti. Nel caso di dubbi alla RM, si può ricorrere all'utilizzo di una TC. Una TC del torace dovrebbe essere sempre eseguita per valutare la presenza di metastasi polmonari. Attualmente si raccomanda anche l'utilizzo di una ¹⁸FDG-PET-CT o in alternativa una scintigrafia ossea con ^{99m}Tecnezio per la ricerca di metastasi scheletriche (16).

Non esiste uno specifico sistema di stadiazione per il condrosarcoma; i due sistemi solitamente più usati sono la stadiazione chirurgica di Enneking e la stadiazione TNM secondo l'AJCC (American Joint Committee on Cancer).

La stadiazione di Enneking (76) è una stadiazione chirurgica molto utilizzata nell'ambito dei tumori muscolo-scheletrici perché attraverso la suddivisione in tre

stadi permette di orientarsi facilmente sul corretto approccio chirurgico da scegliere. Nell'ambito dei sarcomi, vengono presi in considerazione tre parametri. Il primo parametro indicato da G definisce il grado del tumore, dividendo i sarcomi in basso grado (G1) e alto grado (G2). Il parametro T valuta l'estensione del tumore al di fuori dell'osso, dividendoli in tumore extracapsulare intracompartimentale (T1) e extracapsulare extracompartimentale (T2). Essendo in questo caso utilizzata per un sarcoma osseo, il compartimento fa riferimento all'osso stesso. Quindi ad un condrosarcoma dell'osso che si estende nei tessuti molli verrà assegnato il parametro T2. Infine, con il parametro M si definisce l'assenza (M0) o la presenza (M1) di metastasi a distanza. Attraverso questa stadiazione, è possibile quindi definire tre stadi di tumore maligno muscolo-scheletrico, come evidenziato dalla tabella 3.

Tabella 3: Stadiazione di Enneking dei sarcomi muscolo-scheletrici

STADIO	G (grado)	T (estensione del tumore)	M (metastasi)
<i>Stadio IA</i>	G1	T1 (intracompartimentale)	M0
<i>Stadio IB</i>	G1	T2 (extracompartimentale)	M0
<i>Stadio IIA</i>	G2	T1 (extracompartimentale)	M0
<i>Stadio IIB</i>	G2	T2 (extracompartimentale)	M0
<i>Stadio III</i>	Qualunque G	Qualunque T	M1

La stadiazione TNM fornita dall'AJCC (77) invece considera anche le dimensioni del tumore, la presenza di metastasi linfonodali e la localizzazione anatomica. Il parametro T definisce le dimensioni del tumore primitivo, che varia a seconda del sito anatomico coinvolto. Nell'ultima edizione, infatti, è stata fatta una distinzione per i tumori della pelvi e della colonna vertebrale, per riflettere la prognosi peggiore in queste sedi. Considerando lo scheletro appendicolare, il tronco, il cranio e le ossa

facciali, la distinzione tra T1 e T2 si basa sul cut-off di 8 cm; T3 è definito dalla presenza di “skip” metastasi, definite dalla presenza di lesioni discontinue all'interno dello stesso osso. Il parametro N valuta la presenza di metastasi linfonodali, indicando con N0 la loro assenza e con N1 la loro presenza. Infine, il parametro M valuta la presenza di metastasi a distanza, indicando con M0 l'assenza di metastasi, M1a la presenza di metastasi polmonari, M1b la presenza di metastasi a distanza in altre sedi non polmonari. Inoltre, nella stadiazione TNM per i tumori ossei, si tiene conto anche del grado tumorale (G1, G2, G3). Sulla base di tutti questi parametri, si ottiene la stadiazione TNM per i tumori ossei dello scheletro appendicolare, del tronco, del cranio e delle ossa facciali, come mostrato nella tabella 4. Non esiste una stadiazione invece per i tumori della pelvi e della colonna vertebrale.

Tabella 4: Stadiazione TNM dei tumori ossei dello scheletro appendicolare, del tronco, del cranio e delle ossa facciali

STADIO	T	N	M	G
<i>Stadio IA</i>	T1	N0	M0	G1
<i>Stadio IIB</i>	T2, T3	N0	M0	G1
<i>Stadio IIA</i>	T1	N0	M0	G2, G3
<i>Stadio IIB</i>	T2	N0	M0	G2, G3
<i>Stadio III</i>	T3	N0	M0	G2, G3
<i>Stadio IVA</i>	Qualunque T	N0	M1a	Qualunque G
<i>Stadio IVB</i>	Qualunque T	N1	Qualunque M	Qualunque G
	Qualunque T	Qualunque N	M1b	Qualunque G

1.12 PROGnosi

Il grado istologico del tumore rimane il fattore prognostico più importante nel determinare la sopravvivenza del paziente. Gli ACT/CS1, dal momento che sono neoplasie localmente aggressive, hanno un'ottima prognosi, con una sopravvivenza globale a 5 anni compresa tra 87 e 99% e una sopravvivenza globale a 10 anni compresa tra 88e e 95% (1,71,78–80). La sopravvivenza prossima al 100% degli

ACT è dovuta alla facile accessibilità chirurgica del tumore localizzato nelle estremità. In ogni caso, il rischio di recidiva locale si attesta attorno al 10% e un aumento di grado in caso di recidiva può essere riscontrato del 10% dei casi (71,81). Le metastasi invece sono molto rare nei CS di basso grado, dove la morte può invece più frequentemente avvenire per l'incontrollata crescita di una recidiva locale non aggredibile chirurgicamente (71,82).

Per quanto riguarda i condrosarcomi di grado intermedio e alto grado invece, la sopravvivenza a 5 anni per i CS2 si attesta invece attorno al 74-99% mentre per i CS3 è attorno al 31-77%. La sopravvivenza a 10 anni, per i CS2 è del 58-86% mentre per i CS3 è del 26-55% (1,71,78-80). Il rischio di recidiva locale è simile nei due tumori, con un rischio del 19% per il CS2 ed uno rischio del 26% per i CS3. Ciò che differisce notevolmente, e che determina quindi la minore sopravvivenza, è la comparsa di metastasi, anche dopo molto tempo, che nel CS2 è stimata essere presente nel 10-30% dei casi e che nel CS3 raggiunge fino al 70% dei casi (71,79,80). La differenza più evidente per quanto riguarda il comportamento clinico si ha quindi tra i CS2 e i CS3.

Il riscontro di recidiva locale è un fattore prognostico negativo indipendente dal grado del tumore. La recidiva locale generalmente insorge dai 5 ai 10 anni dopo l'intervento chirurgico, anche se vi sono stati dei casi di recidiva anche dopo i 10 anni (78,83). Anche la presenza di metastasi è un fattore prognostico indipendente legato alla sopravvivenza del paziente (83). Il sito più frequente di metastasi a distanza è il polmone, mentre siti meno frequenti sono il fegato, i reni, il cervello. Metastasi linfonodali, pur essendo rare, sono più frequenti rispetto ad altri sarcomi ossei. La presenza di metastasi è un fattore prognostico indipendente legato alla sopravvivenza del paziente. In recenti studi, è stato evidenziato come pazienti con malattia metastatica presente alla diagnosi abbiano una sopravvivenza a 5 anni del 28%, con una mediana di sopravvivenza di 14 mesi (84).

Anche la localizzazione anatomica del tumore rappresenta un importante fattore prognostico, poiché da essa dipende la pianificazione dell'intervento chirurgico e quindi la possibilità di eradicazione della malattia. A prescindere dal grado, condrosarcomi con localizzazione assiale hanno una prognosi peggiore rispetto ai

condrosarcomi delle estremità, in particolare se localizzati a livello pelvico (1,80,85). I pazienti con tumori pelvici tendono ad essere diagnosticati tardivamente con tumori di dimensioni maggiori. Inoltre, data la complessità della zona anatomica, la resezione chirurgica dei condrosarcomi pelvici è impegnativa e frequentemente non si riesce a garantire una chirurgia con margini negativi (9). In alcuni report sono stati riscontrati tassi di recidiva locale più elevati per i tumori dello scheletro assiale a prescindere dal grado istologico, con una maggiore tendenza alla metastatizzazione e/o alla progressione (86), mentre altri non sono stati in grado di confermare queste associazioni (83).

Ulteriori fattori prognostici negativi sono le dimensioni del tumore e l'estensione del tumore nei tessuti molli, entrambi implicati al rischio di recidiva locale e metastatica per ottenimento di margini non oncologicamente radicali (79). Infine, l'età è stata dimostrato essere un altro importante fattore prognostico negativo (5,87).

Tabella 5: *Fattori prognostici nel condrosarcoma convenzionale*

FATTORI PROGNOSTICI	POSITIVI	NEGATIVI
GRADO ISTOLOGICO	Basso grado	Intermedio – alto grado
LOCALIZZAZIONE ANATOMICA	Estremità	Scheletro assiale, in particolare pelvi.
RECIDIVA LOCALE	Assente	Presente
METASTASI	Assenti	Presenti
ETA'	Infantile	Avanzata
DIMENSIONI DEL TUMORE	< 8 cm	> 8 cm
ESTENSIONE NEI TESSUTI MOLLI	Assente	Presente

1.13 TRATTAMENTO

Il condrosarcoma è generalmente riconosciuto essere un tumore resistente a chemioterapia e radioterapia. Pertanto, l'unico approccio curativo che rimane ai pazienti affetti da condrosarcoma è la chirurgia.

CHIURGIA

L'obiettivo della chirurgia è l'asportazione del tumore con margini chirurgici negativi, con lo scopo di garantire il minor rischio possibile di recidiva locale, di metastasi e di morte dovuta alla malattia, cercando allo stesso tempo di risparmiare il massimo della funzionalità del paziente. Non vi è tuttavia una procedura univoca adeguata, poiché nella corretta scelta dell'intervento chirurgico entrano in gioco moltissimi fattori; il più importante da considerare è il grado istologico ma non è l'unico. La localizzazione anatomica, le dimensioni del tumore, l'estensione nei tessuti molli, il rapporto con le strutture anatomiche adiacenti, oltre al fatto di essere di fronte ad una malattia localizzata o metastatica, sono tutti importanti fattori da tenere in considerazione.

Non vi è una singola indicazione per il trattamento dei condrosarcomi di basso grado. I tumori cartilaginei atipici, localizzati nelle ossa lunghe delle estremità, sono trattati con curettage intralesione seguito da trattamento adiuvante locale (fenolizzazione o criochirurgia con azoto liquido) e riempimento della cavità con innesto osseo o con polimetilmetacrilato (PMMA), garantendo un buon risultato nel controllo della malattia locale (88). La letteratura attuale suggerisce che il curettage intralesionale dia risultati simili relativi al rischio di recidiva e di metastasi rispetto a procedure di resezione più ampie, garantendo però un miglior esito funzionale (89). Tuttavia, non tutti gli ACT/CS1 vengono trattati seguendo queste indicazioni. Infatti, gli ACT/CS1 con caratteristiche radiologiche di aggressività (come espansione delle ossa lunghe, distruzione corticale ed estensione nei tessuti molli), CS1 dello scheletro assiale e della pelvi devono essere invece trattati con resezione con ampi margini, per avere un maggiore controllo della malattia e minimizzare il rischio di recidiva locale e di metastasi (85,88,90).

I pazienti con condrosarcoma di alto grado devono invece essere trattati con resezioni en bloc completa del tumore con ampi margini negativi (82,83). L'ottenimento di margini chirurgici negativi è fondamentale, in quanto potrebbe essere l'unico fattore di rischio modificabile nel trattamento del condrosarcoma (83). Le successive opzioni ricostruttive variano in base alle caratteristiche del paziente (età, comorbilità, possibilità di eseguire l'intervento, bisogni funzionali), sede anatomica del tumore e scelta del chirurgo. Ad oggi, generalmente si opta per una ricostruzione con endoprotesi, evitando l'utilizzo di allotrapianti di osso o combinazioni di allotrapianto e protesi combinate (APC) (91,92).

Storicamente, la maggior parte dei pazienti veniva trattata con l'amputazione per massimizzare il controllo locale e ridurre il rischio di metastasi. Tuttavia, grazie ai progressi della diagnostica per immagini, la maggior parte dei pazienti è sottoposta a procedure di salvataggio degli arti (93). Ad oggi, l'amputazione è riservata ai casi di CS delle estremità con malattia massivamente estesa nei tessuti molli e/o con importante invasione delle strutture neurovascolari (94).

Per i pazienti con condrosarcoma avanzato dovuto a tumori non resecabili o a diffusione metastatica, le opzioni terapeutiche sono limitate a causa della scarsa risposta alla chemioterapia e alla radioterapia (13).

RADIOTERAPIA

Nell'ambito dei condrosarcomi l'utilizzo della radioterapia è limitato al trattamento dei siti che sono difficilmente aggredibili chirurgicamente in cui non è possibile ottenere ampi margini. I siti anatomici in cui viene utilizzata più frequentemente sono la base del cranio e la colonna vertebrale, a causa del rapporto con strutture anatomiche che non possono essere danneggiate, come i nervi cranici o il midollo spinale. Tuttavia, queste strutture non possono sopportare le alte dosi di radiazioni richieste per il controllo locale del condrosarcoma, limitando ulteriormente la probabilità di guarigione. Infatti, a scopo terapeutico, devono essere somministrate dosi superiori a 60 Gy per ottenere il controllo della malattia locale, dosi che i tessuti neurologici non tollerano. Questo, oltre al fatto che il condrosarcoma è un tumore a lenta crescita con poche cellule in mitosi, rende ragione della scarsa risposta alla radioterapia del condrosarcoma. Nel caso di condrosarcomi inoperabili, la radioterapia può essere utilizzata a scopo palliativo per il controllo della sintomatologia locale (70,82).

TERAPIA SISTEMICA

Dal momento che il condrosarcoma convenzionale è tipicamente chemioresistente nei pazienti con tumore inoperabile o malattia metastatica le opzioni terapeutiche sono molto limitate. Le ipotesi che cercano di spiegare questo fenomeno sono molteplici. Innanzitutto, il condrosarcoma convenzionale nella maggior parte dei casi è un tumore a lento tasso di crescita con una ridotta frazione di cellule in attiva divisione mitotica, che potenzialmente riduce l'azione degli agenti chemioterapici. Inoltre, si ritiene che il farmaco chemioterapico non riesca a raggiungere le cellule tumorali in concentrazioni sufficienti sia a causa dell'abbondante matrice cartilaginea che a causa della ridotta vascolarizzazione tumorale (34,95). Infine, sembra che un ruolo importante nella chemioresistenza nei CS di alto grado sia dato dall'iperespressione delle proteine anti-apoptotiche della famiglia Bcl-2 (96). Vi sono degli studi retrospettivi che supportano l'utilizzo di doxorubicina e cisplatino, dimostrando modesti miglioramenti con una sopravvivenza globale a 3 anni del 26% contro 8% nei pazienti che non hanno ricevuto la terapia sistemica (97). Tuttavia, la tossicità e gli effetti collaterali derivanti da questi farmaci devono essere sempre presi in considerazione dal momento che l'efficacia è limitata (97).

A causa della mancanza di opzioni terapeutiche ad oggi valide, sono in corso numerosi studi volti a valutare l'efficacia di terapie molecolari sistemiche nel trattamento della malattia avanzata. Il recente riscontro di mutazioni nei geni *IDH1/2* in circa il 50% dei CS convenzionali primari (32) ha portato ad ipotizzare che esse possano essere un possibile target terapeutico; recentemente, l'EMA ha approvato l'utilizzo di Ivosidenib, un inibitore di *IDH1*, per il trattamento della leucemia mieloide acuta e del colangiocarcinoma *IDH1* mutati (citazione sito EMA). In un recente studio di fase I, sono state valutate sicurezza e attività clinica dello stesso farmaco nel contesto del CS (98). Nel CS convenzionale e dedifferenziato non resecabile o metastatico, la risposta migliore è stata la stabilizzazione della malattia (52%, n = 11). Circa la metà (52,4%) dei pazienti valutati era stata trattata in precedenza. La durata della risposta è stata molto variabile, con quattro pazienti con malattia stabile a un follow-up di 30 mesi. Tuttavia, non sono state osservate risposte complete o parziali nella coorte complessiva.

Promettente sembra anche l'utilizzo di antiangiogenetici; nel CS convenzionale è stata rilevata una maggiore espressione di VEGF-A rispetto agli altri sottotipi di CS, suggerendo un possibile bersaglio terapeutico (99). È stato disegnato uno studio di fase I volto ad analizzare Pazopanib, un inibitore delle tirosin chinasi multitarget con attività antiangiogenetica, il quale ha mostrato malattia stabile a 7,6 e 19,8 mesi in due pazienti (100). Vista la potenziale efficacia, è stato disegnato uno studio prospettico di fase 2, per indagare l'uso di Pazopanib nel CS convenzionale non reseccabile o metastatico (101): il tasso di controllo della malattia era del 43% a 16 settimane (95% CI, 11,3-35,0 mesi), PFS mediana di 7,9 mesi (95% CI 3,7-12,6 mesi) e OS mediana di 17,6 mesi (95% CI, 11,3-35 mesi) nei 47 partecipanti dello studio. La risposta migliore è stata quella di 1 paziente con risposta parziale. Tuttavia, 12 pazienti (26%) hanno avuto effetti collaterali che hanno portato all'interruzione del farmaco; tra gli eventi avversi di grado 3 e 4, il più frequente è l'ipertensione, dato in linea con le precedenti analisi del farmaco.

L'utilizzo dell'immunoterapia è stato ipotizzato anche nel condrosarcoma. Tuttavia, analisi dell'espressione di PD-L1 e del carico mutazionale del tumore (TMB) nel CS convenzionale hanno mostrato risultati scoraggianti (102,103).

1.14 GESTIONE DELLA RECIDIVA LOCALE

Nei casi di recidiva locale, la chirurgia ancora una volta rappresenta l'unica opzione curativa per i pazienti con condrosarcoma convenzionale. Tutte le recidive locali dovrebbero essere considerate per il trattamento chirurgico con ottenimento di margini negativi, specialmente perché ci può essere un aumento del grado istologico, aumentando così il rischio di metastasi e quindi di decesso (71,81).

Se una singola recidiva locale insorge a livello delle ossa lunghe degli arti, diagnosticata istologicamente come ACT, senza coinvolgimento dei tessuti molli e senza aumento del grado istologico, il trattamento di scelta rimane il curettage intralesione con utilizzo di trattamento adiuvante locale. Se invece la recidiva è localizzata nei tessuti molli, allora è raccomandata una resezione en bloc con ampi margini, nonostante sia un condrosarcoma di basso grado localizzato nelle estremità. Le recidive locali CS1 dello scheletro assiale e delle ossa piatte devono

essere sempre trattate con resezione en bloc con ampi margini, vista la localizzazione a prognosi peggiore. La recidiva locale di CS 2 e 3 invece è sempre trattata con resezione en bloc con ampi margini, a prescindere dalla sede anatomica della lesione (82).

2. SCOPO DELLO STUDIO

I condrosarcomi sono tumori altamente eterogenei con prognosi e approcci terapeutici distinti a seconda del grado. Mentre nel caso di CS di basso grado (G1) la rimozione chirurgica rimane una valida alternativa curativa, i CS di alto grado (G2, G3) hanno una prognosi infausta, con un rischio di recidiva locale e di metastasi elevato. Infatti, tra i fattori prognostici legati alla sopravvivenza, sicuramente rientrano il grado istologico del tumore, la localizzazione e l'età; tuttavia, ad oggi non vi è alcun marcatore immunoistochimico o molecolare che permetta di stratificare meglio la prognosi dei pazienti all'interno di uno stesso grado istologico.

Mutazioni del gene *IDH* sono già state descritte in numerose neoplasie, in particolare nei gliomi e glioblastomi secondari, leucemie mieloidi acute, colangiocarcinomi, melanomi, carcinomi della tiroide, della mammella e della prostata, ed il loro ruolo come fattore prognostico è stato descritto nelle prime due categorie di tumori (43,104–106).

Solo recentemente è stata identificata la presenza di mutazioni a carico di *IDH* anche nel condrosarcoma. Tuttavia, sebbene ci siano stati diversi studi svolti negli ultimi anni, il loro impatto a livello prognostico è ancora controverso.

Con il seguente studio si è voluto andare a studiare l'incidenza delle mutazioni di *IDH* e gli esiti clinici dei pazienti affetti da condrosarcoma convenzionale, cercando una possibile correlazione con lo stato mutazionale di *IDH*, con l'obiettivo di verificarne il possibile ruolo prognostico e predittivo al fine di aiutare nell'inquadramento clinico del paziente e nella corretta gestione terapeutica della malattia.

3. MATERIALI E METODI

3.1 PAZIENTI SELEZIONATI

Per questo studio di tipo longitudinale sono stati selezionati 45 pazienti consecutivi affetti da condrosarcoma sottoposti ad intervento chirurgico presso il Dipartimento di Ortopedia e Oncologia Ortopedica dell’Azienda Ospedale Università Padova tra Aprile 2017 e Giugno 2020. Lo studio è stato eseguito seguendo gli standard etici decretati dalla Dichiarazione di Helsinki (107). Il comitato etico locale ha approvato lo studio (4306/AO/17).

I criteri d’inclusione sono stati i seguenti:

- 1) Diagnosi istologica confermata di CS dell’osso;
- 2) Dati completi radiografici preoperatori e di follow-up;
- 3) Intervento chirurgico effettuato in accordo con il grado istologico del CS;
- 4) Follow-up minimo di due anni dopo l’intervento chirurgico.

Dei 45 casi analizzati, 2 si sono rivelati essere condrosarcomi extrascheletrici ed 1 un condrosarcoma a cellule chiare, i quali non sono stati presi in considerazione per lo studio.

Sono stati esaminati i dati relativi a sesso, età, diagnosi istologica, sede, presenza di frattura patologica, tipo di chirurgia, margini, recidiva locale e metastasi.

Tutti i pazienti sono andati incontro a stadiazione clinica e sottoposti a biopsie trocar (8 gauge) fluoroscopia-guidate prima dell’intervento. Tutti i casi sono stati valutati da due patologi esperti di patologia dell’osso e tessuti molli presso l’U.O.C di Anatomia Patologia dell’Azienda Ospedale Università Padova. Il grading è stato assegnato in accordo con la corrente classificazione WHO 2020.

3.2 INTERVENTO CHIRURGICO

Tutti i pazienti sono stati operati chirurgicamente con le seguenti indicazioni:

- 1) Curettage esteso con utilizzo di polimetilmetacrilato (PMMA) come adiuvante locale e riempimento del difetto osseo per gli ACT/CS1, considerato il basso rischio di metastasi e di recidiva locale.
- 2) Resezione con ampi margini per i CS di alto grado e per i CS1 della pelvi o con caratteristiche radiologiche aggressive (ad esempio un'importante espansione dell'osso con rottura della corticale) o con massivo coinvolgimento metafisario.
- 3) Amputazione per i CS la cui estensione abbia coinvolto le strutture neurovascolari, dove il salvataggio funzionale dell'arto si è dimostrato inutile.

In accordo con ciò, sono state eseguite ampie resezioni in 31 casi, curettage e utilizzo di PMMA in 5 casi, amputazione in 6 casi. I margini oncologici ottenuti sono risultati soddisfacenti in tutti i casi ed ampi in tutti i casi di resezione o amputazione; margini intralesionali per i tumori andati incontro a curettage. Dopo la chirurgia, i campioni di tessuto sono stati analizzati dagli stessi patologici che avevano analizzato i campioni biopsici pre-operatori. Vi è stata concordanza nella diagnosi istopatologica tra le biopsie e i campioni chirurgici in tutti i casi tranne uno: la biopsia pre-operatoria di una lesione pelvica aveva mostrato un CS grado 1 ma la diagnosi finale è stata di CS grado 2. Ai fini dello studio, tutte le analisi presenti in questo lavoro si sono basate sul referto finale.

3.3 ESTRAZIONE DEL DNA

5 sezioni di 10 µm incluse in paraffina sono state utilizzate per ogni paziente per estrarre il DNA utilizzando il kit per tessuti QIAmp FFPE (Qiagen) secondo le istruzioni del produttore. Il DNA estratto è stato quantificato utilizzando il fluorimetro Qubit® 3.0 e il kit Qubit® DNA BR Assay (Thermo Fisher Scientific).

3.4 STATO MUTAZIONALE DI IDH

Lo stato mutazione dei geni *IDH1* (codoni 105 e 132) e *IDH2* (codoni 140 e 172) è stato valutato mediante l'utilizzo del kit EasyPGX-ready IDH1-2, secondo le istruzioni del produttore (diatech pharmacogenetics). Questo test basato sulla PCR real-time consente la co-amplificazione degli alleli mutati (sonde marcate con FAM) e di un gene endogeno di controllo (sonde marcate con HEX). L'amplificazione del gene di controllo permette di valutare la qualità del DNA. Per ogni reazione, sono stati utilizzati 15-30 ng di DNA. I risultati sono stati analizzati con il software di analisi EasyPGX.

3.5 FOLLOW UP

Il protocollo di follow-up ha incluso esame obiettivo, TC polmonare, imaging (radiografie e RM o TC con mezzo di contrasto), del sito trattato chirurgicamente ogni tre mesi nei primi tre anni, ogni quattro mesi nel quarto anno, ogni sei mesi nel quinto anno e poi annualmente per gli altri cinque anni.

3.6 MISUAZIONE DELL'OUTCOME

Gli esiti oncologici sono stati valutati in base all'esordio dei seguenti eventi: recidiva locale, metastasi o morte. I pazienti sono stati classificati all'ultimo controllo di follow-up con la seguente terminologia:

- Nessuna evidenza di malattia = No Evidence of Disease (NED)
- Vivi con malattia = Alive With Disease (AWD)
- Morti per malattia = Dead of Disease (DWD)

Sono state inoltre definite:

- Sopravvivenza globale (OS): tempo trascorso dall'intervento chirurgico all'ultimo controllo o morte

- Sopravvivenza libera da recidiva (RFS): tempo trascorso dall'intervento chirurgico al riscontro di recidiva locale.
- Sopravvivenza libera da metastasi (MFS): tempo trascorso dall'intervento chirurgico al riscontro di metastasi.

3.7 ANALISI STATISTICA

La sopravvivenza è stata analizzata utilizzando le curve di Kaplan-Meier e il confronto delle curve è stato stimato utilizzando il test log-rank, considerando statisticamente significativo una $p < 0.05$.

4. RISULTATI

4.1 CARATTERISTICHE GENERALI DELLA POPOLAZIONE

Dei 42 casi finali andati incontro ad intervento chirurgico per diagnosi di CS, la diagnosi istopatologica finale sul campione chirurgico ha evidenziato i seguenti risultati: 38 diagnosi di condrosarcoma convenzionale, 4 diagnosi di condrosarcoma dedifferenziato.

Tra i 42 pazienti finali considerati, 18 sono di sesso femminile (43%) e 24 di sesso maschile (57%). L'età media alla diagnosi è di 55 anni (range, 15-98 anni). La localizzazione più frequente si è rivelata l'arto inferiore con 18 casi (43%), di cui 7 nel femore prossimale (16,5%), seguita dall'arto superiore con 11 casi (26%), di cui 10 nell'omero prossimale (24%), dalla pelvi con 8 casi (19%) ed infine dalla scapola con 5 casi (12%). Nessun paziente ha avuto fratture patologiche e solamente un paziente si è presentato con metastasi alla diagnosi.

La diagnosi finale di CS convenzionale include anche la suddivisione nei 3 gradi istologici, effettuata secondo la classificazione WHO 2020. Dalle analisi effettuate risulta che sono stati diagnosticati 15 casi di tumore cartilagineo atipico / condrosarcoma di grado 1 (36%). Di questi, 13 sono ACT, in particolare 11 centrali e 2 periferici. 2 casi invece sono CS1, localizzati entrambi a livello scapolare. Non c'è stato alcun riscontro di CS1 del bacino. Per quanto riguarda i condrosarcomi di grado 2, ne sono stati diagnosticati 18 casi (43%), in particolare 10 casi erano localizzati a livello delle estremità, 7 casi erano localizzati a livello della pelvi ed 1 a livello della scapola. Di questi, 17 erano CS2 centrali mentre 1 era un CS2 periferico, localizzato a livello pelvico. 1 caso di CS2 centrale è insorto in una paziente con Malattia di Ollier, a livello del femore prossimale. Infine, per i condrosarcomi di grado 3, sono stati diagnosticati 5 casi (12%), di cui 2 a livello scapolare, 1 a livello del femore prossimale e 1 a livello del condilo femorale laterale. Inoltre, vi è stato 1 caso di CS3 centrale localizzato a livello del perone prossimale in un paziente con Sindrome di Maffucci. Per quanto riguarda i 4 casi di condrosarcoma dedifferenziato (9%), 2 erano localizzati nel femore prossimale, 1 nell'omero prossimale e 1 nella pelvi.

Tabella 6: Distribuzione delle caratteristiche analizzate della popolazione in studio

	Popolazione – N. 42
Sesso - n (%)	
Maschi	24 (57)
Femmine	18 (42)
Età anni, media (range)	55 (15-98)
Localizzazione - n (%)	
Arto inferiore	18 (43)
<i>Femore prossimale</i>	7 (16)
<i>Femore distale</i>	4 (9,5)
<i>Tibia prossimale</i>	1 (2,5)
<i>Perone prossimale</i>	1 (2,5)
<i>Calcagno</i>	1 (2,5)
<i>Falange</i>	2 (5)
<i>Coscia tessuti molli</i> <i>(ricidiva)</i>	2 (5)
Arto superiore	11 (25)
<i>Omero prossimale</i>	9 (21)
<i>Omero distale</i>	1 (2)
<i>Mano/avambraccio</i> <i>(ricidiva)</i>	1 (2)
Pelvi	8 (19)
Scapola	5 (12)
Istologia -n (%)	
ACT/CS1	15 (36)
CS grado 2	18 (43)
CS grado 3	5 (12)
CS dedifferenziato	4 (9)

CS =Condrosarcoma; ACT/CS1= tumore cartilagineo atipico / condrosarcoma, grado 1;

4.2 STATO MUTAZIONALE DI IDH

Dei 42 pazienti arruolati nello studio, solamente in 23 si è riusciti ad effettuare l'analisi molecolare per la valutazione dello stato mutazionale dei geni *IDH*. Dei 23

pazienti analizzati, 10 sono di sesso maschile (43%) e 13 di sesso femminile (57%), con un'età media di 56 anni (range, 15-98 anni). Sono stati analizzati 22 condrosarcomi convenzionali, di cui 8 ACT/CS1, 11 CS2 e 3 CS3, ed 1 condrosarcoma dedifferenziato. La localizzazione più frequente si è rivelata l'arto inferiore con 11 casi (48%), di cui 6 a livello del femore prossimale (26%), seguita dall'arto superiore con 5 casi di cui tutti a livello dell'omero prossimale (22%), dalla pelvi con 4 casi (17%) e infine dalla scapola con 3 casi (13%). La casistica completa è fornita dalla tabella 7.

Mutazioni di *IDH* sono state riscontrate in 17 pazienti (74%), mentre 6 pazienti (26%) sono risultati wild-type (WT). La mutazione più frequentemente riscontrata è stata *IDH1* R132 in 12 casi (52%), seguita da *IDH1* G105 in 3 casi (13%) e *IDH2* R172 in 2 casi (9%). Non sono state riscontrate mutazioni di *IDH2* R140.

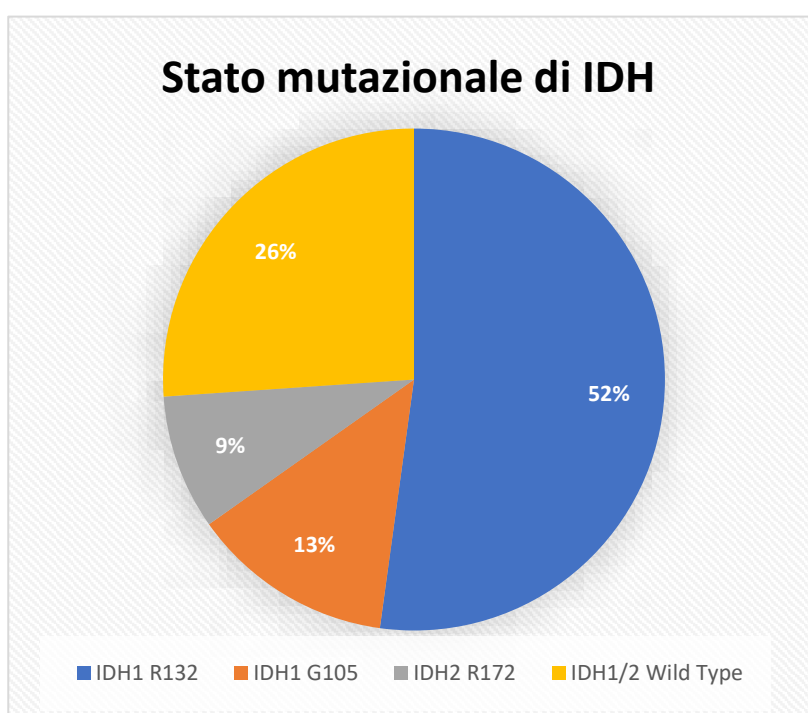


Figura 5: Frequenza delle mutazioni di *IDH1/2* riscontrate nella serie dei 23 casi analizzati

Tabella 7: Distribuzione delle caratteristiche analizzate della popolazione in studio

	Popolazione – N. 23
Sesso - n (%)	
Maschi	10 (53)
Femmine	13 (57)
Età anni, media (range)	56 (15-98)
Localizzazione - n (%)	
Arto inferiore	11 (48)
<i>Femore prossimale</i>	6 (26)
<i>Femore distale</i>	1 (4,33)
<i>Tibia prossimale</i>	1 (4,33)
<i>Perone prossimale</i>	1 (4,33)
<i>Calcagno</i>	1 (4,33)
<i>Falange</i>	1 (4,33)
Arto superiore	5 (22)
<i>Omero prossimale</i>	5 (22)
Pelvi	4 (17)
Scapola	3 (13)
Istologia - n (%)	
ACT/CS1	8 (35)
CS grado 2	11 (48)
CS grado 3	3 (13)
CS dedifferenziato	1 (4)

CS =Condrosarcoma; ACT/CS1= tumore cartilagineo atipico/condrosarcoma, grado 1;

Per quanto riguarda il profilo mutazionale relativo al sottotipo e al grado istologico del tumore, gli ACT/CS1 hanno mostrato *IDH* WT in 4 casi mentre sono state riscontrate mutazioni di *IDH1/2* negli altri 4 casi (1 *IDH1* R132, 2 *IDH1* G105, 1 *IDH2* R172). I CS2 hanno mostrato *IDH* WT in 2 casi, mentre sono state evidenziate 9 mutazioni di *IDH1/2* (8 *IDH1* R132, 1 *IDH1* G105) di cui una in una paziente con Malattia di Ollier (*IDH1* R132). I CS 3 si sono rivelati tutti e 3 *IDH1/2* mutati (2 *IDH1* R132, 1 *IDH2* R172), di cui uno in una paziente con Sindrome di Maffucci (*IDH1* R132). Come si può notare, mutazioni di *IDH1* R132 sono state

riscontrate in tutti i gradi di CS convenzionale. Infine, anche nel CS dedifferenziato è stata riscontrata la mutazione *IDH1* R132.

Tabella 8: *Differenti mutazioni di IDH riscontrate nei pazienti con condrosarcoma (n = 23)*

Diagnosi	Wild Type	IDH1 G105	IDH1 R132	IDH2 R172
CS grado 1	4	2	1	1
CS grado 2	2	1	8	-
CS grado 3	-	-	2	1
CS dedifferenziato	-	-	1	-

IDH = isocitrato deidrogenasi; CS = condrosarcoma

4.3 OUTCOME ONCOLOGICO E CORRELAZIONE CON STATO MUTAZIONALE DI IDH

Nessun paziente è stato perso al follow-up: il follow-up medio è stato di 3.5 anni (range, 4 mesi – 5.6 anni). Considerando i 42 pazienti iniziali, la sopravvivenza globale è stata dell'88% e del 70% rispettivamente a 2 e a 4 anni (figura 6A). Inoltre, essa è stata associata anche al grado istologico dimostrando una differenza statisticamente significativa tra i condrosarcomi di basso grado e i condrosarcomi di alto grado ($p = 0.0011$) (figura 6B).

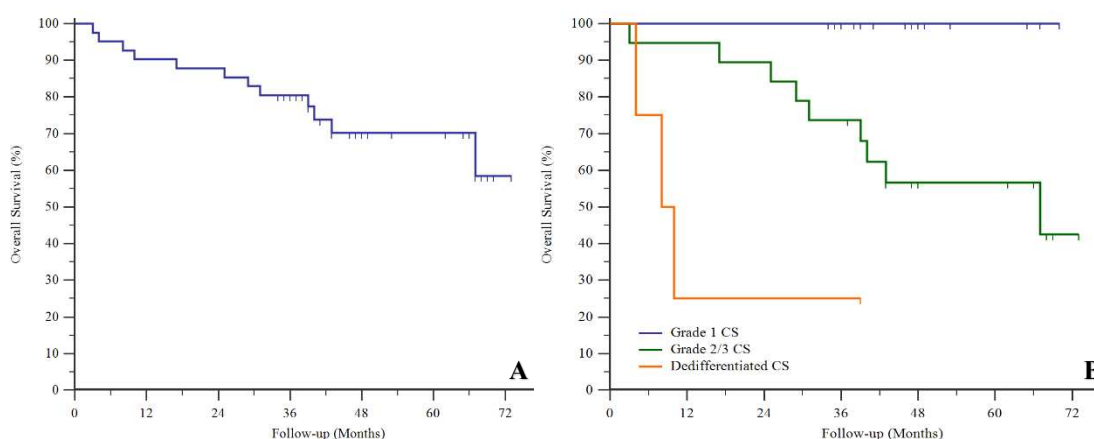


Figura 6A-B. *I grafici mostrano le curve di sopravvivenza Kaplan-Meier relative ai 42 pazienti con condrosarcoma: A) La OS a 2 e a 4 anni è risultata rispettivamente dell'88% e del 70%. B) La OS è stata associata anche al grado istologico, dimostrando una differenza statisticamente significativa ($p = 0.0011$)*

Dati simili relativi alla sopravvivenza sono stati ottenuti anche nel campione di 23 pazienti in cui si è riusciti ad analizzare il materiale genomico. La sopravvivenza globale è stata dell'87% e del 61% rispettivamente a 2 e a 4 anni (figura 7A). È stata valutata anche la OS in relazione al grado istologico, evidenziando una differenza statisticamente significativa tra i condrosarcomi di basso grado e i condrosarcomi di alto grado ($p = 0.0011$) (figura 7B). Inoltre, è stata messa in relazione anche la OS con localizzazione anatomica, mostrando una diminuzione della sopravvivenza nei CS pelvici rispetto ai CS delle estremità, sebbene non significativa ($p = 0.0515$) (figura 7C).

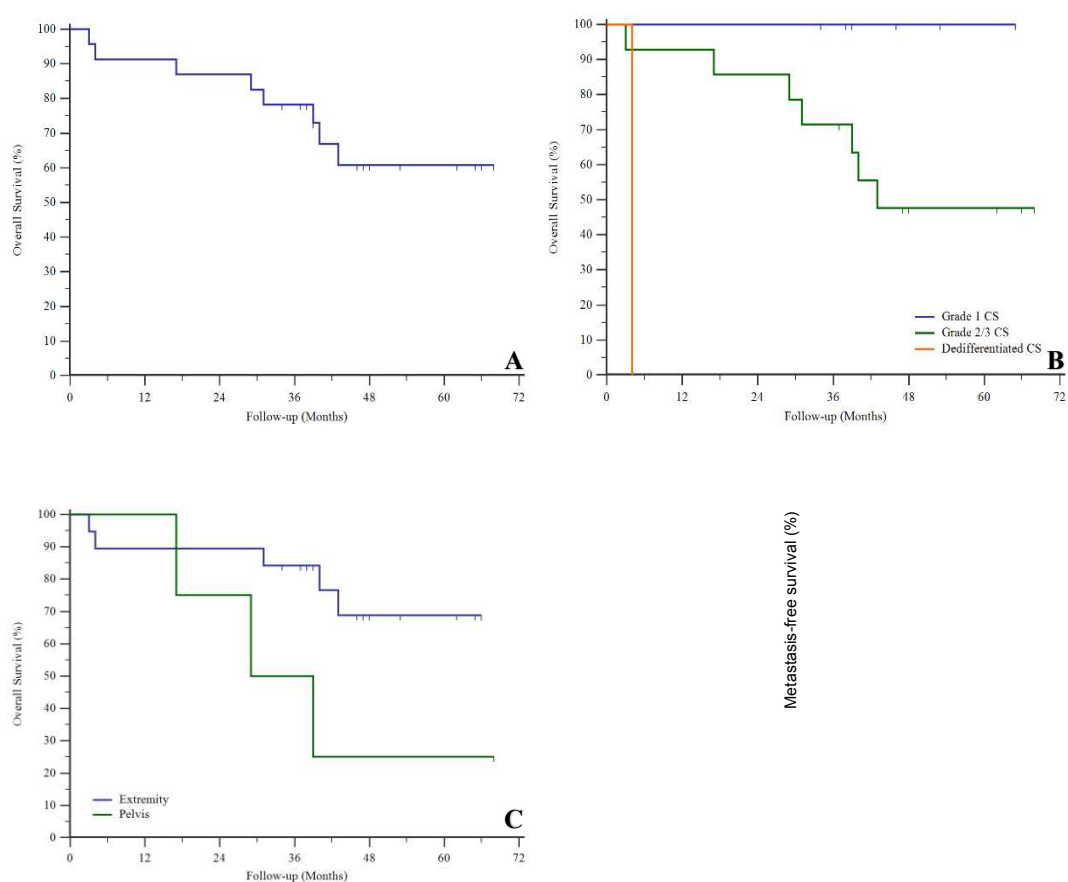


Figura 7A-B-C: I grafici mostrano le curve di sopravvivenza Kaplan-Meier relative ai 23 pazienti in cui lo stato mutazionale di IDH è stato analizzato: A) la OS a 2 e 4 anni è risultata rispettivamente dell'87 e del 61%; La OS è stata associata anche al B) grado istologico ($p = 0.0011$) e alla C) localizzazione anatomica, sebbene senza una differenza statisticamente significativa ($p = 0.0515$)

Sette pazienti hanno sviluppato una recidiva locale ad una media di 22 mesi (range, 12-30 mesi): di questi, quattro sono andati incontro a reintervento di resezione con ampi margini mentre uno ha subito un'amputazione dell'arto. Due pazienti sono stati considerati inoperabili: uno è deceduto a causa della rapida progressione, l'altro ha ricevuto chemioterapia e protonterapia. Una progressione istologica dal grado 2 al grado 3 o dedifferenziazione è stata osservata in 4 casi di recidiva locale.

Sette pazienti hanno sviluppato nuove metastasi polmonari ad una media di 12 mesi dopo la chirurgia (range, 2 – 22 mesi). Per 3 di questi pazienti, il trattamento delle metastasi multiple sviluppate ha previsto la somministrazione di chemioterapia palliativa in accordo con il protocollo EURO- B.O.S.S. (cisplatino, adriamicina, ifosfamida). Quattro pazienti invece non hanno ricevuto alcuna terapia sistemica palliativa a causa delle scarse condizioni generali dovute all'età avanzata, e sono deceduti poco dopo il primo intervento chirurgico. Quattro pazienti hanno avuto sia recidiva locale che metastasi polmonare.

All'ultimo follow-up, 3 pazienti erano AWD, 7 erano DWD e 13 erano NED (2 dopo trattamento della recidiva locale).

Le mutazioni di *IDH* sono state correlate con gli outcome oncologici (tabella 9). Solamente mutazioni di *IDH1* R132 sono state correlate ad una progressione di malattia e a morte. I pazienti che possedevano mutazioni *IDH1* G105 e *IDH2* R172 o con *IDH* WT invece sono rimasti vivi senza malattia in tutti i casi (2 però dopo trattamento della recidiva locale). Entrambi i pazienti con *IDH* WT e recidiva locale erano stati precedentemente trattati in altri centri con margini inadeguati.

Nei pazienti con *IDH1* R132, la recidiva locale è insorta in 5 casi e le metastasi polmonari sono insorte in 8. All'ultimo follow-up, dei 12 pazienti con questa mutazione, 2 erano NED, 3 AWD e 7 DWD.

Tabella 9: Correlazione tra gli outcome oncologici e le mutazioni di IDH nei pazienti con condrosarcoma (n = 23)

Diagnosi	NED	AWD	DWD	Recidiva locale	Metastasi
Wild Type	6	-	-	2	-
IDH1 G105	3	-	-	-	-
IDH2 R172	2	-	-	-	-
IDH1 R132	2	3	7	5	8 (1 alla diagnosi)

NED = Nessuna Evidenza di Malattia; AWD = Vivi con Malattia; DWD = Morti con Malattia; IDH = Isocitrato deidrogenasi.

Analizzando gli outcome oncologici in accordo con lo stato mutazionale di IDH, abbiamo trovato che la sopravvivenza globale dei pazienti con qualsiasi mutazione di IDH è minore rispetto ai pazienti con IDH WT ($p = 0.0409$) (figura 8A); inoltre, analizzando le singole mutazioni di IDH, abbiamo riscontrato come i pazienti che possiedono la mutazione IDH1 R132 dimostrano una OS minore rispetto a quelli con mutazioni di IDH1 G105 e IDH2 R172 (figura 8B).

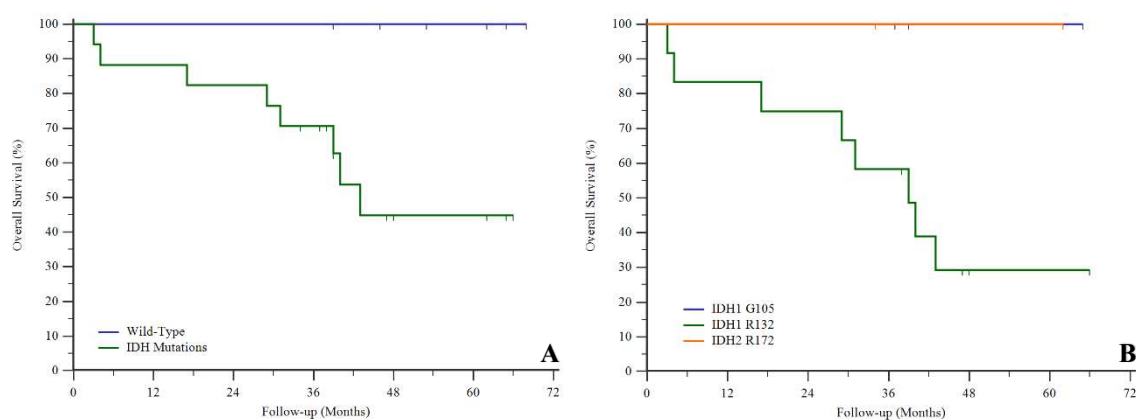


Figura 8A-B: Le curve di sopravvivenza Kaplan-Meier mostrano A) una diminuita sopravvivenza per i pazienti con qualsiasi mutazione di IDH ($p = 0.0409$) rispetto ai pazienti wild-type. B) Inoltre, si può notare una diminuita sopravvivenza nei pazienti con la mutazione di IDH1 R132, rispetto alle altre mutazioni IDH1 G105 e IDH2 R172.

Successivamente, è stata valutata la OS dei pazienti con mutazione di IDH1 R132 in confronto alle altre mutazioni e ai pazienti WT raggruppati insieme, ed anche in questo caso è stata osservata una diminuzione della sopravvivenza statisticamente significativa nei pazienti con la specifica mutazione IDH1 R132 rispetto a tutti gli altri ($p = 0.0031$) (figura 9A). Il dato più interessante riguarda i condrosarcomi di

grado 2. Infatti, i pazienti con CS2 e mutazione di *IDH1* R132 hanno avuto una OS inferiore rispetto ai pazienti che possiedono le mutazioni alternative o con *IDH* WT. ($p = 0.0484$) (figura 9B).

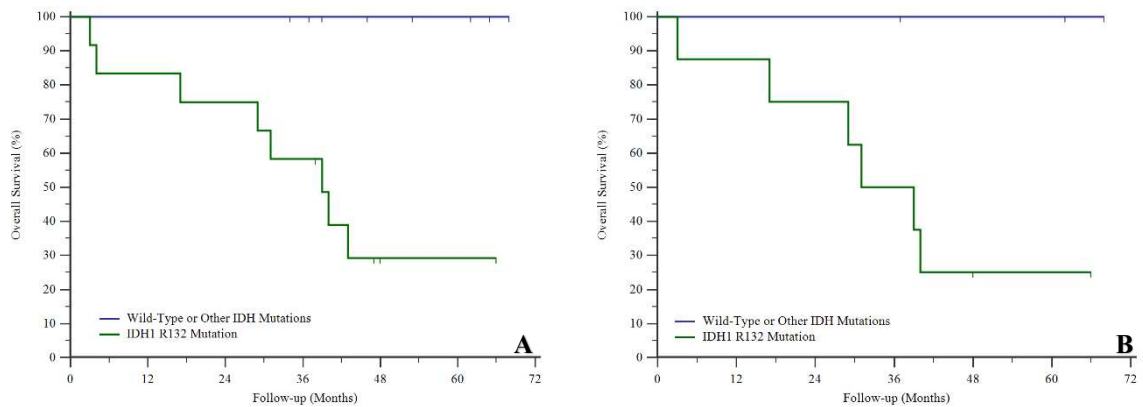


Figura 9A-B: Le curve di sopravvivenza Kaplan-Meier mostrano una sopravvivenza nettamente inferiore nei pazienti con la mutazione *IDH1* R132 A) in tutte le serie analizzate ($p = 0.0031$) e b) in particolare considerando solamente i pazienti con condrosarcoma di grado 2 ($p = 0.0484$).

Anche la MFS si è dimostrata significativamente diminuita nei pazienti con mutazioni di *IDH1* R132 rispetto a chi non la possiede ($p = 0.001$) (figura 10). Infine, è stata analizzata anche la RFS confrontando i pazienti con mutazione di *IDH1* R132 e i pazienti che possiedono mutazione alternative di *IDH* o *IDH* WT; essa si è dimostrata inferiore per il primo gruppo, ma non statisticamente significativa ($p = 0.1002$). Tuttavia, se escludiamo dalle analisi i quattro pazienti trattati precedentemente in altri centri con margini inadeguati, la RFS si è dimostrata significativamente inferiore nei pazienti con mutazione di *IDH1* R132 ($p = 0.0235$) (figura 11).

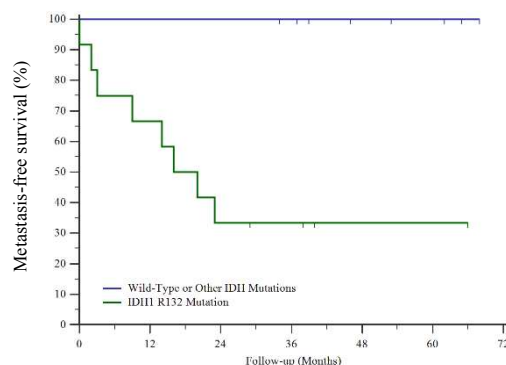


Figura 10: Le curve di sopravvivenza Kaplan-Meier mostrano una sopravvivenza libera da metastasi nettamente minore nei pazienti con la mutazione *IDH1* R132 ($p = 0.001$)

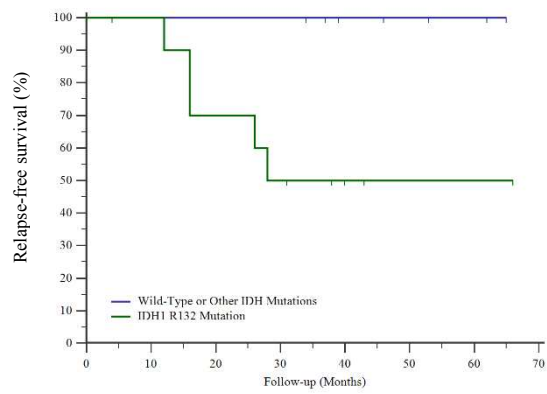


Figura 11: Le curve di sopravvivenza Kaplan-Meier mostrano una sopravvivenza libera da recidiva locale nettamente minore nei pazienti con la mutazione IDH1 R132 ($p=0.0235$)

5. DISCUSSIONE

Mutazioni nei geni *IDH1/2* sono ormai note essere presenti in molti tumori, come gliomi e glioblastomi multiformi, leucemia mieloide acuta, colangiocarcinoma, melanoma, carcinoma della tiroide, della mammella e della prostata. Il loro riscontro nel condrosarcoma è relativamente recente ed è stato primariamente evidenziato grazie ad uno studio condotto da Amary et al. nel 2011 (32).

Nel nostro studio, l'incidenza delle mutazioni nei condrosarcomi è risultata simile rispetto ai dati forniti dalla letteratura. Tuttavia, non tutti i dati sono risultati sempre congrui con vari altri studi con casistiche più ampie della nostra, soprattutto per quanto riguarda la presenza delle mutazioni in relazione al grado istologico, dal momento che la frequenza delle mutazioni nei condrosarcomi di alto grado è risultata essere superiore rispetto a quelli di basso grado nel nostro lavoro. Questo probabilmente è dovuto alla minore casistica di pazienti analizzati nello studio. Il 74% dei pazienti con CS possiede una mutazione di *IDH1/2* (17 casi su 23); in particolare la mutazione più frequente si è rivelata essere *IDH1* R132, presente nel 52% dei casi (12/23). Analizzando la correlazione tra lo stato mutazionale di *IDH* ed il grado istologico, è risultato che il 50% dei condrosarcomi di basso grado (ACT/CS1) possiede mutazioni di *IDH1/2* (4/8), mentre per quanto riguarda i condrosarcomi di alto grado, l'82% dei condrosarcomi di grado 2 (9/11) e il 100% dei condrosarcomi di grado 3 (3/3) è risultato *IDH1/2* mutato. Analogamente è stata riscontrata la mutazione *IDH1* R132 anche nel singolo caso di condrosarcoma dedifferenziato. È interessante sottolineare come entrambi i casi di condrosarcoma centrale secondario ad encondromatosi sono risultati *IDH1* R132 mutati, in accordo con la letteratura che evidenzia come essi siano maggiormente mutati rispetto ai primitivi (20,21). Amary et al. (32) ha riportato, considerando una casistica di 138 pazienti, una presenza di mutazioni di *IDH1/2* nel 54% dei CS centrali analizzati. Correlando la presenza della mutazione con il grado istologico, hanno riscontrato mutazioni di *IDH* nel 52% dei condrosarcomi di basso grado (39/75) e nel 59% dei condrosarcomi di grado 2 e grado 3 (23/38). Inoltre, su 23 casi di CS dedifferenziato, la mutazione è stata riscontrata nel 56,5% dei casi (13/23). Cleven et al. (108) nel 2017 ha valutato una casistica di 67 pazienti con diagnosi di condrosarcoma, riscontrando la presenza di mutazioni di *IDH* nel 67% dei casi

(45/67), in tutti i gradi di CS. Correlando lo stato mutazionale di *IDH* in relazione al grado istologico, hanno riscontrato una frequenza della mutazione *IDH1/2* nel 50% degli ACT/CS1 (14/28), nel 66% dei CS2 (18/27) e nel 58% dei CS3 (7/12). L'anno seguente anche lo studio condotto da Lugowska et al. (109) ha riportato una percentuale del 34% (27/80) su una casistica di 80 pazienti, sottolineando la maggiore frequenza delle mutazioni nei condrosarcomi di alto grado rispetto a quelli di basso grado. Hanno riportato una percentuale di mutazioni rispettivamente del 21% negli ACT/CS1, 39% nei CS2 e 44% nei CS3. Nel 2020, Zhu et al. (110) ha trovato mutazioni di *IDH1/2* nel 45% dei pazienti inclusi nello studio (36/79). In particolare, hanno riscontrato la mutazione nel 34% dei CS di basso grado, 47% dei CS di alto grado e 54% dei CS dedifferenziati. Recentemente, uno studio retrospettivo condotto da Nakagawa et al. (111) ha riportato, considerando una casistica di 38 pazienti trattati tra il 1995 e il 2015, una frequenza di mutazioni di *IDH1/2* nel 52% dei pazienti con diagnosi di condrosarcoma, di cui la mutazione più frequente è risultata la *IDH1 R132*, presente nel 34% dei casi (13/38). Tuttavia, anche loro non hanno dimostrato una differenza nel grado istologico tra i tumori *IDH* wild-type e *IDH* mutati.

Dal momento che nel nostro studio è risultato che mutazioni wild-type sono maggiormente presenti nei condrosarcomi di basso grado mentre i condrosarcomi di alto grado possiedono più una mutazione di *IDH1/2*, questo potrebbe suggerire un possibile ruolo nella progressione del grado istologico. Tuttavia, la casistica rimane limitata per analizzare statisticamente questo dato, anche in virtù del fatto che gli studi sopracitati non mostrano una sostanziale differenza nella distribuzione della mutazione tra i vari gradi.

Riguardo la presenza di fattori prognostici che influenzino negativamente la sopravvivenza del paziente, il grado istologico si è dimostrato il fattore più importante. La correlazione tra la OS e il sito anatomico ha mostrato invece una diminuzione della sopravvivenza in caso di localizzazione pelvica, tuttavia senza dimostrare una significatività statistica. In ogni caso, entrambi i dati trovano riscontro nella letteratura (5,71,85). Data la limitata numerosità dei casi, si è riusciti solamente ad evidenziare una sufficiente significatività statistica relativa al grado istologico, mentre i restanti fattori prognostici noti dalla letteratura come la

presenza di metastasi e di recidiva locale, le dimensioni del tumore, l'età e l'estensione nei tessuti molli non sono state valutate.

Riguardo l'utilizzo dello stato mutazionale di *IDH1/2* nella pratica clinica, ad oggi è assodato come possa risultare utile nella diagnosi differenziale di un condrosarcoma dedifferenziato con altri sarcomi dell'osso, come l'osteosarcoma condroblastico e il sarcoma pleomorfo indifferenziato (74,112), dal momento che, come provato dallo studio di Amary et al (32), i restanti sarcomi dell'osso non possiedono queste mutazioni. La ricerca molecolare della mutazione invece non è di alcuna utilità nel differenziare tra tumori cartilaginei benigni e maligni, e ancora tra i vari gradi del condrosarcoma convenzionale, dal momento che tutte queste entità possono possederla. In ambito terapeutico invece, mutazioni di *IDH1/2* potrebbero rappresentare un potenziale target terapeutico, sebbene studi clinici siano ancora all'inizio nell'ambito del condrosarcoma (98).

Relativamente all'utilizzo dello stato molecolare di *IDH* come fattore prognostico nei tumori, vi sono degli studi che hanno evidenziato come mutazioni di *IDH1/2* siano associate ad una migliore prognosi del paziente nei gliomi e glioblastomi (104,105). Nell'ambito della leucemia mieloide acuta invece è stato evidenziato come esse siano un fattore prognostico negativo (43,106).

Rimane controverso invece se lo stato mutazionale di *IDH1/2* possa essere associato all'outcome clinico dei pazienti con condrosarcoma. Amary et al. (32) ha evidenziato come non vi è alcuna differenza nella sopravvivenza globale tra i pazienti con e senza la mutazione di *IDH*. Cleven et al. (108) hanno paragonato la sopravvivenza malattia-specifica tra i pazienti con qualsiasi mutazione di *IDH* e pazienti con *IDH* wild-type, indipendentemente dal grado istologico del tumore, non dimostrando una differenza statisticamente significativa tra le due coorti ($p = 0.183$). Lo stesso dato è stato analizzato dividendo le differenti mutazioni di *IDH* singolarmente o in combinazione (*IDH1* R132C e R132G contro *IDH1* R132H, R132I, R132S e *IDH2* R172S e *IDH1/2* WT) senza tuttavia dimostrare una differenza nell'outcome ($p = 0.726$). Nemmeno la sopravvivenza libera da metastasi è risultata associata allo stato mutazionale di *IDH* ($p = 0.96$). Lugowska et al. (109) invece ha riportato un impatto prognostico negativo delle mutazioni di *IDH1/2* relativo alla sopravvivenza, evidenziando una sopravvivenza globale a 5 anni del 63% nei pazienti con qualsiasi mutazione di *IDH1/2* rispetto al 93% nei pazienti

senza la mutazione, dimostrando quindi una differenza statisticamente significativa ($p < 0.001$). Lo studio condotto da Zhu et al. (110) invece ha dimostrato una differenza della sopravvivenza globale statisticamente significativa in accordo con il grado istologico ($p < 0.0001$), tuttavia senza evidenziare differenze tra i pazienti con qualsiasi mutazione di *IDH1/2* e pazienti con *IDH* wild-type, confermando gli studi di Amary et al. e di Cleven et al. precedenti. Inoltre, valutando la presenza di metastasi in questi due gruppi, ha riscontrato come esse siano presenti nel 57% dei pazienti con *IDH1/2* wild type e nel 58% dei pazienti con *IDH1/2* mutato, non evidenziando quindi un ruolo della mutazione nell'avanzamento della malattia. Inaspettatamente, il tempo di metastasi è risultato più lungo nei pazienti con mutazione di *IDH* rispetto a chi non la possiede (50 contro 19 mesi nei CS di alto grado e 16 vs 5.5 mesi nel CS dedifferenziato) Infine, lo studio di Nakagawa et al. (111) ha invece dimostrato come la sopravvivenza globale dei pazienti con qualsiasi mutazione di *IDH* sia minore rispetto ai pazienti wild-type. Tuttavia, non hanno invece riscontrato differenze nella sopravvivenza libera da metastasi e sopravvivenza libera da recidiva.

Nel nostro studio invece per correlare l'outcome dei pazienti con lo stato mutazionale, abbiamo inizialmente diviso i pazienti in chi possiede qualsiasi mutazione di *IDH1/2* da chi ha *IDH1/2* WT, individuando una differenza nella sopravvivenza globale nel primo gruppo; successivamente è stata valutata la sopravvivenza globale solamente in relazione alle singole mutazioni, dividendole in *IDH1* R132, *IDH1* G105 e *IDH2* R172, dimostrando sempre come essa sia minore nei pazienti con mutazione di *IDH1* R132. Sebbene le seguenti osservazioni siano in disaccordo con il lavoro svolto da Cleven et al, bisogna tuttavia sottolineare come nel nostro studio il confronto dell'outcome relativo alla singola mutazione è stato svolto dividendo le mutazioni di *IDH1* R132 da tutte le altre mutazioni non R132 e da *IDH* wild type, il che potrebbe spiegare i diversi risultati ottenuti sulla sopravvivenza dei pazienti.

Infine, i vari outcome oncologici sono stati analizzati dividendo la popolazione in studio in pazienti con mutazione di *IDH1* R132 contro pazienti con le mutazioni alternative e *IDH1/2* WT insieme. Il nostro rappresenta il primo studio in cui è stato osservato che vi è una correlazione significativamente negativa tra i pazienti con mutazione di *IDH1* R132 e la sopravvivenza globale, la sopravvivenza libera da

metastasi e la sopravvivenza libera da recidiva. Quello che è emerso dal nostro studio è che, prendendo singolarmente in esame la mutazione di *IDHI* R132, la sopravvivenza globale dei pazienti è risultata sempre diminuita, con una OS a 2 anni del 75% e una OS a 4 anni del 35%. Un dato interessante evidenziato dal nostro studio riguarda la distribuzione della mutazione di *IDHI* R132 nel condrosarcoma di grado 2. In particolare, è risultato che l'82% dei tumori possiede una mutazione di *IDHI/2*, di cui la mutazione più frequentemente riscontrata è la mutazione *IDHI* R132 (8 casi su 11; 73%). Questo dato è leggermente superiore rispetto agli studi precedentemente citati, che riportano una frequenza circa del 50%. Inoltre, confrontando la sopravvivenza globale (OS) a 2 e a 4 anni tra i pazienti con diagnosi di condrosarcoma di grado 2 con e senza la mutazione di *IDHI* R132, è risultata nettamente diminuita nel primo gruppo, *con una OS di 75% e 25% rispettivamente a 2 e a 4 anni contro il 100% nel secondo gruppo* ($p = 0.0484$). Alla luce di questi risultati, si potrebbe suggerire un possibile utilizzo dell'analisi molecolare per la valutazione dello stato mutazionale di *IDH* soprattutto tra i pazienti con diagnosi di CS grado 2, con lo scopo di ottenere una migliore stratificazione della prognosi dei pazienti, così da poter individuare quali pazienti beneficino di un intervento chirurgico più aggressivo e di un follow-up più ristretto. Tuttavia, bisogna sempre considerare che la casistica è molto limitata e l'associazione sicuramente dovrebbe essere approfondita con ulteriori studi che confermino i nostri risultati prima che lo stato mutazionale venga utilizzato nella pratica clinica.

Infine, anche la MFS e la RFS sono risultate significativamente ridotte nei pazienti con mutazione di *IDHI* R132 rispetto alle mutazioni alternative e al *IDH* wild-type. Da tutte queste considerazioni si può quindi ipotizzare che la presenza della mutazione di *IDHI* R132 abbia un ruolo prognostico negativo relativo alla sopravvivenza del paziente e al rischio di sviluppo di metastasi e di recidiva locale, anche in relazione al grado istologico, il cui dato più interessante riguarda sicuramente il condrosarcoma, grado 2.

5.1 LIMITI DELLO STUDIO

La limitazione più grande dello studio rimane senza dubbio l'esiguo numero di popolazione preso in considerazione per lo studio, mentre tutti gli altri studi presi in analisi hanno dimostrato casistiche superiori. Bisogna sottolineare tuttavia che il condrosarcoma rimane comunque una malattia rara, i cui ultimi dati epidemiologici attestano la sua incidenza si attesta attorno a 0.8 su 100.000 abitanti.

6. CONCLUSIONE

Il condrosarcoma si conferma una neoplasia molto eterogenea, caratterizzata da una buona prognosi nel caso di un CS di basso grado, nel quale l'intervento chirurgico correttamente pianificato ed eseguito permette la guarigione dalla malattia; la gestione clinica del paziente con CS di alto grado rimane invece più complessa, soprattutto nei casi di malattia localmente estesa o metastatica, in cui la chemioterapia e la radioterapia non garantiscono un'efficacia ottimale. Il fattore prognostico più importante rimane sempre il grado istologico, il quale determina il comportamento clinico del tumore.

Sebbene la letteratura riporti dati controversi, il nostro studio ha evidenziato come lo stato mutazionale di *IDH* sembra avere un impatto negativo importante sulla sopravvivenza del paziente. In particolare, questo è stato il primo studio in cui si è preso in considerazione la singola mutazione *IDH1* R132, dimostrando una sopravvivenza nettamente inferiore nei pazienti con questa specifica mutazione rispetto ai pazienti con le altre mutazioni di *IDH1/2* e ai pazienti con *IDH1/2* wild-type. Inoltre, anche la sopravvivenza libera da metastasi e la sopravvivenza libera da recidiva sono risultate significativamente inferiori, suggerendo un possibile ruolo di *IDH1* R132 nella progressione della malattia. Alla luce di questi dati, si potrebbe suggerire l'implementazione dell'analisi molecolare in tutte le biopsie e campioni chirurgici di condrosarcoma, con lo scopo di valutare lo stato mutazionale di *IDH*. Questo potrebbe permettere una migliore stratificazione dei pazienti anche all'interno dello stesso grado istologico, soprattutto per quanto riguarda il condrosarcoma di grado 2, così da poter aiutare a pianificare un approccio chirurgico più aggressivo e un follow-up più ristretto in quei pazienti a rischio. Tuttavia, questi primi risultati sono stati ottenuti in una casistica molto ristretta e sicuramente i dati dovranno essere confermati in studi con una popolazione più ampia prima di entrare nella pratica clinica.

7. RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

1. van Praag Veroniek VM, Rueten-Budde AJ, Ho V, Dijkstra PDS, Study group Bone and Soft tissue tumours (WeBot), Fiocco M, et al. Incidence, outcomes and prognostic factors during 25 years of treatment of chondrosarcomas. *Surg Oncol.* settembre 2018;27(3):402–8.
2. Czerniak B. *Dorfman and Czerniak's Bone Tumors.* Elsevier Health Sciences; Amsterdam, The Netherlands: 2015.
3. Gelderblom H, Hogendoorn PCW, Dijkstra SD, van Rijswijk CS, Krol AD, Taminau AHM, et al. The clinical approach towards chondrosarcoma. *Oncologist.* marzo 2008;13(3):320–9.
4. Chow WA. Update on chondrosarcomas. *Curr Opin Oncol.* luglio 2007;19(4):371–6.
5. Giuffrida AY, Burgueno JE, Koniaris LG, Gutierrez JC, Duncan R, Scully SP. Chondrosarcoma in the United States (1973 to 2003): an analysis of 2890 cases from the SEER database. *J Bone Joint Surg Am.* maggio 2009;91(5):1063–72.
6. Shmookler B, Bickels J, Jelinek J, Sugarbaker P, Malawer M. Bone and Soft-tissue Sarcomas: Epidemiology, Radiology, Pathology and Fundamentals of Surgical Treatment. In: *Musculoskeletal Cancer Surgery [Internet].* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 2004 [citato 31 maggio 2023]. p. 3–35.
7. Choi JH, Ro JY. The 2020 WHO Classification of Tumors of Bone: An Updated Review. *Advances in Anatomic Pathology.* maggio 2021;28(3):119.
8. WHO Classification of Tumours Editorial Board eds. *World Health Organization classification of tumours of soft tissue and bone.* 5th ed. Lyon: IARC Press. 2020;
9. Bus MPA, Campanacci DA, Albergo JI, Leithner A, van de Sande MAJ, Gaston CL, et al. Conventional Primary Central Chondrosarcoma of the Pelvis: Prognostic Factors and Outcome of Surgical Treatment in 162 Patients. *JBJS.* 21 febbraio 2018;100(4):316.
10. Cleven AHG, Zwartkruis E, Hogendoorn PCW, Kroon HM, Briaire-de Bruijn I, Bovée JVMG. Periosteal chondrosarcoma: a histopathological and

molecular analysis of a rare chondrosarcoma subtype. *Histopathology*. ottobre 2015;67(4):483–90.

11. Ayoub KS, Grimer RJ, Carter SR, Mangham DC, Davies AM, Tillman RM. Clear cell chondrosarcoma of bone. *Sarcoma*. 1999;3(2):115–9.
12. Bjornsson J, Unni KK, Dahlin DC, Beabout JW, Sim FH. Clear cell chondrosarcoma of bone. Observations in 47 cases. *Am J Surg Pathol*. marzo 1984;8(3):223–30.
13. Gazendam A, Popovic S, Parasu N, Ghert M. Chondrosarcoma: A Clinical Review. *J Clin Med*. 26 marzo 2023;12(7):2506.
14. Sopta J, Dordević A, Tulić G, Mijucić V. Dedifferentiated chondrosarcoma: our clinico-pathological experience and dilemmas in 25 cases. *J Cancer Res Clin Oncol*. febbraio 2008;134(2):147–52.
15. Frassica FJ, Unni KK, Beabout JW, Sim FH. Dedifferentiated chondrosarcoma. A report of the clinicopathological features and treatment of seventy-eight cases. *J Bone Joint Surg Am*. ottobre 1986;68(8):1197–205.
16. Strauss SJ, Frezza AM, Abecassis N, Bajpai J, Bauer S, Biagini R, et al. Bone sarcomas: ESMO–EURACAN–GENTURIS–ERN PaedCan Clinical Practice Guideline for diagnosis, treatment and follow-up☆. *Annals of Oncology*. 1 dicembre 2021;32(12):1520–36.
17. Verdegaal SHM, Bovée JVMG, Pansuriya TC, Grimer RJ, Ozger H, Jutte PC, et al. Incidence, Predictive Factors, and Prognosis of Chondrosarcoma in Patients with Ollier Disease and Maffucci Syndrome: An International Multicenter Study of 161 Patients. *Oncologist*. dicembre 2011;16(12):1771–9.
18. Silve C, Jüppner H. Ollier disease. *Orphanet J Rare Dis*. 22 settembre 2006;1:37.
19. Pansuriya TC, Kroon HM, Bovée JV. Enchondromatosis: insights on the different subtypes. *Int J Clin Exp Pathol*. 26 giugno 2010;3(6):557–69.
20. Amary MF, Damato S, Halai D, Eskandarpour M, Berisha F, Bonar F, et al. Ollier disease and Maffucci syndrome are caused by somatic mosaic mutations of IDH1 and IDH2. *Nat Genet*. dicembre 2011;43(12):1262–5.

21. Pansuriya TC, van Eijk R, d'Adamo P, van Ruler MAJH, Kuijjer ML, Oosting J, et al. Somatic mosaic IDH1 and IDH2 mutations are associated with enchondroma and spindle cell hemangioma in Ollier disease and Maffucci syndrome. *Nat Genet.* 6 novembre 2011;43(12):1256–61.
22. D'Angelo L, Massimi L, Narducci A, Di Rocco C. Ollier disease. *Childs Nerv Syst.* giugno 2009;25(6):647–53.
23. Schwartz HS, Zimmerman NB, Simon MA, Wroble RR, Millar EA, Bonfiglio M. The malignant potential of enchondromatosis. *J Bone Joint Surg Am.* febbraio 1987;69(2):269–74.
24. Bendel CJ, Gelmers HJ. Multiple enchondromatosis (Ollier's disease) complicated by malignant astrocytoma. *Eur J Radiol.* 1991;12(2):135–7.
25. Pannier S, Legeai-Mallet L. Hereditary multiple exostoses and enchondromatosis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* marzo 2008;22(1):45–54.
26. McCormick C, Leduc Y, Martindale D, Mattison K, Esford LE, Dyer AP, et al. The putative tumour suppressor EXT1 alters the expression of cell-surface heparan sulfate. *Nat Genet.* giugno 1998;19(2):158–61.
27. Chow WA. Chondrosarcoma: biology, genetics, and epigenetics. *F1000Res.* 2018;7:F1000 Faculty Rev-1826.
28. Hameetman L, Szuhai K, Yavas A, Knijnenburg J, van Duin M, van Dekken H, et al. The role of EXT1 in nonhereditary osteochondroma: identification of homozygous deletions. *J Natl Cancer Inst.* 7 marzo 2007;99(5):396–406.
29. Schmale GA, Conrad EU, Raskind WH. The natural history of hereditary multiple exostoses. *J Bone Joint Surg Am.* luglio 1994;76(7):986–92.
30. Wicklund CL, Pauli RM, Johnston D, Hecht JT. Natural history study of hereditary multiple exostoses. *Am J Med Genet.* 2 gennaio 1995;55(1):43–6.
31. Ahmed AR, Tan TS, Unni KK, Collins MS, Wenger DE, Sim FH. Secondary chondrosarcoma in osteochondroma: report of 107 patients. *Clin Orthop Relat Res.* 1 giugno 2003;(411):193–206.
32. Amary MF, Bacsi K, Maggiani F, Damato S, Halai D, Berisha F, et al. IDH1 and IDH2 mutations are frequent events in central chondrosarcoma and

central and periosteal chondromas but not in other mesenchymal tumours. *The Journal of Pathology*. 2011;224(3):334–43.

33. Szuhai K, Jennes I, de Jong D, Bovée JVMG, Wiweger M, Wuyts W, et al. Tiling resolution array-CGH shows that somatic mosaic deletion of the EXT gene is causative in EXT gene mutation negative multiple osteochondromas patients. *Hum Mutat*. febbraio 2011;32(2):E2036-2049.
34. Bovée JVMG, Hogendoorn PCW, Wunder JS, Alman BA. Cartilage tumours and bone development: molecular pathology and possible therapeutic targets. *Nat Rev Cancer*. luglio 2010;10(7):481–8.
35. Schrage YM, Lam S, Jochemsen AG, Cleton-Jansen AM, Taminiou AH, Hogendoorn PC, et al. Central chondrosarcoma progression is associated with pRb pathway alterations: CDK4 down-regulation and p16 overexpression inhibit cell growth in vitro. *J Cell Mol Med*. settembre 2009;13(9a):2843–52.
36. S B, Gb B, C B, Cj H, J D, U L. [TP53 gene aberrations in chondromatous neoplasms: correlation with immunohistochemical p53 accumulation and MDM2 expression]. *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie* [Internet]. 1998 [citato 7 giugno 2023];82.
37. Rozeman LB, Hameetman L, Cleton-Jansen AM, Taminiou AHM, Hogendoorn PCW, Bovée JVMG. Absence of IHH and retention of PTHrP signalling in enchondromas and central chondrosarcomas. *J Pathol*. marzo 2005;205(4):476–82.
38. Plaut GW, Cook M, Aogaichi T. The subcellular location of isozymes of NADP-isocitrate dehydrogenase in tissues from pig, ox and rat. *Biochim Biophys Acta*. 18 ottobre 1983;760(2):300–8.
39. Chowdhury R, Yeoh KK, Tian YM, Hillringhaus L, Bagg EA, Rose NR, et al. The oncometabolite 2-hydroxyglutarate inhibits histone lysine demethylases. *EMBO Rep*. 1 maggio 2011;12(5):463–9.
40. Xu W, Yang H, Liu Y, Yang Y, Wang P, Kim SH, et al. Oncometabolite 2-hydroxyglutarate is a competitive inhibitor of α -ketoglutarate-dependent dioxygenases. *Cancer Cell*. 18 gennaio 2011;19(1):17–30.
41. Suijker J, Baelde HJ, Roelofs H, Cleton-Jansen AM, Bovée JVMG. The oncometabolite D-2-hydroxyglutarate induced by mutant IDH1 or -2 blocks osteoblast differentiation in vitro and in vivo. *Oncotarget*. 20 giugno 2015;6(17):14832–42.

42. Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W, et al. IDH1 and IDH2 mutations in gliomas. *N Engl J Med*. 19 febbraio 2009;360(8):765–73.
43. Mardis ER, Ding L, Dooling DJ, Larson DE, McLellan MD, Chen K, et al. Recurring mutations found by sequencing an acute myeloid leukemia genome. *N Engl J Med*. 10 settembre 2009;361(11):1058–66.
44. Kipp BR, Voss JS, Kerr SE, Barr Fritcher EG, Graham RP, Zhang L, et al. Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 mutations in cholangiocarcinoma. *Hum Pathol*. ottobre 2012;43(10):1552–8.
45. Wang P, Dong Q, Zhang C, Kuan PF, Liu Y, Jeck WR, et al. Mutations in isocitrate dehydrogenase 1 and 2 occur frequently in intrahepatic cholangiocarcinomas and share hypermethylation targets with glioblastomas. *Oncogene*. 20 giugno 2013;32(25):3091–100.
46. Hemerly JP, Bastos AU, Cerutti JM. Identification of several novel non-p.R132 IDH1 variants in thyroid carcinomas. *Eur J Endocrinol*. novembre 2010;163(5):747–55.
47. Yen KE, Bittinger MA, Su SM, Fantin VR. Cancer-associated IDH mutations: biomarker and therapeutic opportunities. *Oncogene*. dicembre 2010;29(49):6409–17.
48. Shibata T, Kokubu A, Miyamoto M, Sasajima Y, Yamazaki N. Mutant IDH1 confers an in vivo growth in a melanoma cell line with BRAF mutation. *Am J Pathol*. marzo 2011;178(3):1395–402.
49. Leddy LR, Holmes RE. Chondrosarcoma of bone. *Cancer Treat Res*. 2014;162:117–30.
50. Lin PP, Moussallem CD, Deavers MT. Secondary chondrosarcoma. *J Am Acad Orthop Surg*. ottobre 2010;18(10):608–15.
51. Albergo JI, Gaston CL, Jeys LM, Khajuria A, Carter SR, Tillman RM, et al. Management and prognostic significance of pathological fractures through chondrosarcoma of the femur. *Int Orthop*. maggio 2015;39(5):943–6.
52. Douis H, Saifuddin A. The imaging of cartilaginous bone tumours. II. Chondrosarcoma. *Skeletal Radiol*. maggio 2013;42(5):611–26.
53. Geirnaerd MJ, Hermans J, Bloem JL, Kroon HM, Pope TL, Taminiau AH, et al. Usefulness of radiography in differentiating enchondroma from central

- grade 1 chondrosarcoma. *AJR Am J Roentgenol.* ottobre 1997;169(4):1097–104.
54. Skeletal Lesions Interobserver Correlation among Expert Diagnosticians (SLICED) Study Group. Reliability of histopathologic and radiologic grading of cartilaginous neoplasms in long bones. *J Bone Joint Surg Am.* ottobre 2007;89(10):2113–23.
55. Murphey MD, Walker EA, Wilson AJ, Kransdorf MJ, Temple HT, Gannon FH. From the archives of the AFIP: imaging of primary chondrosarcoma: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics.* 2003;23(5):1245–78.
56. Ryzewicz M, Manaster BJ, Naar E, Lindeque B. Low-grade cartilage tumors: diagnosis and treatment. *Orthopedics.* gennaio 2007;30(1):35–46; quiz 47–8.
57. van de Sande MAJ, van der Wal RJP, Navas Cañete A, van Rijswijk CSP, Kroon HM, Dijkstra PDS, et al. Radiologic differentiation of enchondromas, atypical cartilaginous tumors, and high-grade chondrosarcomas-Improving tumor-specific treatment: A paradigm in transit? *Cancer.* 1 ottobre 2019;125(19):3288–91.
58. Deckers C, Steyvers MJ, Hannink G, Schreuder HWB, de Rooy JWJ, Van Der Geest ICM. Can MRI differentiate between atypical cartilaginous tumors and high-grade chondrosarcoma? A systematic review. *Acta Orthop.* agosto 2020;91(4):471–8.
59. Geirnaerdt MJ, Bloem JL, Eulderink F, Hogendoorn PC, Taminiau AH. Cartilaginous tumors: correlation of gadolinium-enhanced MR imaging and histopathologic findings. *Radiology.* marzo 1993;186(3):813–7.
60. Yoo HJ, Hong SH, Choi JY, Moon KC, Kim HS, Choi JA, et al. Differentiating high-grade from low-grade chondrosarcoma with MR imaging. *Eur Radiol.* dicembre 2009;19(12):3008–14.
61. Crim J, Schmidt R, Layfield L, Hanrahan C, Manaster BJ. Can imaging criteria distinguish enchondroma from grade 1 chondrosarcoma? *Eur J Radiol.* novembre 2015;84(11):2222–30.
62. Douis H, Jeys L, Grimer R, Vaiyapuri S, Davies AM. Is there a role for diffusion-weighted MRI (DWI) in the diagnosis of central cartilage tumors? *Skeletal Radiol.* luglio 2015;44(7):963–9.

63. Annovazzi A, Anelli V, Zoccali C, Rumi N, Persichetti A, Novello M, et al. 18F-FDG PET/CT in the evaluation of cartilaginous bone neoplasms: the added value of tumor grading. *Ann Nucl Med*. novembre 2019;33(11):813–21.
64. Brenner W, Conrad EU, Eary JF. FDG PET imaging for grading and prediction of outcome in chondrosarcoma patients. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. febbraio 2004;31(2):189–95.
65. Saifuddin A, Oliveira I, Singla N, Chavda A, Khoo M, O'Donnell P. The importance of MRI review following the diagnosis of atypical cartilaginous tumour using image-guided needle biopsy. *Skeletal Radiol*. febbraio 2021;50(2):407–15.
66. Kiatisevi P, Thanakit V, Sukunthanak B, Boonthatip M, Bumrunchart S, Witoonchart K. Computed tomography-guided core needle biopsy versus incisional biopsy in diagnosing musculoskeletal lesions. *J Orthop Surg (Hong Kong)*. agosto 2013;21(2):204–8.
67. Pohlig F, Kirchhoff C, Lenze U, Schauwecker J, Burgkart R, Rechl H, et al. Percutaneous core needle biopsy versus open biopsy in diagnostics of bone and soft tissue sarcoma: a retrospective study. *Eur J Med Res*. 1 novembre 2012;17(1):29.
68. Eefting D, Schrage YM, Geirnaerd MJA, Le Cessie S, Taminiau AHM, Bovée JVMG, et al. Assessment of interobserver variability and histologic parameters to improve reliability in classification and grading of central cartilaginous tumors. *Am J Surg Pathol*. gennaio 2009;33(1):50–7.
69. Mirra JM, Gold R, Downs J, Eckardt JJ. A new histologic approach to the differentiation of enchondroma and chondrosarcoma of the bones. A clinicopathologic analysis of 51 cases. *Clin Orthop Relat Res*. dicembre 1985;(201):214–37.
70. Riedel RF, Larrier N, Dodd L, Kirsch D, Martinez S, Brigman BE. The clinical management of chondrosarcoma. *Curr Treat Options Oncol*. aprile 2009;10(1–2):94–106.
71. Evans HL, Ayala AG, Romsdahl MM. Prognostic factors in chondrosarcoma of bone: a clinicopathologic analysis with emphasis on histologic grading. *Cancer*. agosto 1977;40(2):818–31.
72. Weiss AP, Dorfman HD. S-100 protein in human cartilage lesions. *J Bone Joint Surg Am*. aprile 1986;68(4):521–6.

73. Bovée JV, van der Heul RO, Taminiau AH, Hogendoorn PC. Chondrosarcoma of the phalanx: a locally aggressive lesion with minimal metastatic potential: a report of 35 cases and a review of the literature. *Cancer*. 1 novembre 1999;86(9):1724–32.
74. de Andrea CE, San-Julian M, Bovée JVMG. Integrating Morphology and Genetics in the Diagnosis of Cartilage Tumors. *Surg Pathol Clin*. settembre 2017;10(3):537–52.
75. Kerr DA, Lopez HU, Deshpande V, Hornicek FJ, Duan Z, Zhang Y, et al. Molecular distinction of chondrosarcoma from chondroblastic osteosarcoma through IDH1/2 mutations. *Am J Surg Pathol*. giugno 2013;37(6):787–95.
76. Enneking WF, Spanier SS, Goodman MA. A system for the surgical staging of musculoskeletal sarcoma. *Clin Orthop Relat Res*. 1980;(153):106–20.
77. American Joint Committee on Cancer. *AJCC Cancer Staging Manual*. 8th ed. New York: American Joint Committee on Cancer; 2017.
78. Kr D, Cf L, Ja B, Bj M. Estimated cause-specific survival continues to improve over time in patients with chondrosarcoma. *Clinical orthopaedics and related research*. agosto 2014;472(8).
79. Angelini A, Guerra G, Mavrogenis AF, Pala E, Picci P, Ruggieri P. Clinical outcome of central conventional chondrosarcoma. *J Surg Oncol*. dicembre 2012;106(8):929–37.
80. Fromm J, Klein A, Baur-Melnyk A, Knösel T, Lindner L, Birkenmaier C, et al. Survival and prognostic factors in conventional central chondrosarcoma. *BMC Cancer*. 24 agosto 2018;18(1):849.
81. Kristensen IB, Sunde LM, Jensen OM. Chondrosarcoma. Increasing grade of malignancy in local recurrence. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand A*. marzo 1986;94(2):73–7.
82. Gelderblom H, Hogendoorn PCW, Dijkstra SD, van Rijswijk CS, Krol AD, Taminiau AHM, et al. The Clinical Approach Towards Chondrosarcoma. *The Oncologist*. 1 marzo 2008;13(3):320–9.
83. Fiorenza F, Abudu A, Grimer RJ, Carter SR, Tillman RM, Ayoub K, et al. Risk factors for survival and local control in chondrosarcoma of bone. *J Bone Joint Surg Br*. gennaio 2002;84(1):93–9.

84. Wang Z, Chen G, Chen X, Huang X, Liu M, Pan W, et al. Predictors of the survival of patients with chondrosarcoma of bone and metastatic disease at diagnosis. *J Cancer*. 2019;10(11):2457–63.
85. Donati D, El Ghoneimy A, Bertoni F, Di Bella C, Mercuri M. Surgical treatment and outcome of conventional pelvic chondrosarcoma. *J Bone Joint Surg Br*. novembre 2005;87(11):1527–30.
86. Weber KL, Pring ME, Sim FH. Treatment and outcome of recurrent pelvic chondrosarcoma. *Clin Orthop Relat Res*. aprile 2002;(397):19–28.
87. Nota SPFT, Braun Y, Schwab JH, van Dijk CN, Bramer JAM. The Identification of Prognostic Factors and Survival Statistics of Conventional Central Chondrosarcoma. *Sarcoma*. 2015;2015:623746.
88. Leerapun T, Hugate RR, Inwards CY, Scully SP, Sim FH. Surgical management of conventional grade I chondrosarcoma of long bones. *Clin Orthop Relat Res*. ottobre 2007;463:166–72.
89. Dierselhuis EF, Goulding KA, Stevens M, Jutte PC. Intralesional treatment versus wide resection for central low-grade chondrosarcoma of the long bones. *Cochrane Database Syst Rev*. 7 marzo 2019;3(3):CD010778.
90. Pring ME, Weber KL, Unni KK, Sim FH. Chondrosarcoma of the pelvis. A review of sixty-four cases. *J Bone Joint Surg Am*. novembre 2001;83(11):1630–42.
91. Lozano Calderón SA, Kuechle J, Raskin KA, Hornicek FJ. Lower Extremity Megaprotheses in Orthopaedic Oncology. *J Am Acad Orthop Surg*. 15 giugno 2018;26(12):e249–57.
92. Hennessy DW, Raskin KA, Schwab JH, Lozano-Calderón SA. Endoprosthetic Reconstruction of the Upper Extremity in Oncologic Surgery. *J Am Acad Orthop Surg*. 15 aprile 2020;28(8):e319–27.
93. Evans DR, Lazarides AL, Visgauss JD, Somarelli JA, Blazer DG, Brigman BE, et al. Limb salvage versus amputation in patients with osteosarcoma of the extremities: an update in the modern era using the National Cancer Database. *BMC Cancer*. 14 ottobre 2020;20(1):995.
94. Erstad DJ, Ready J, Abraham J, Ferrone ML, Bertagnolli MM, Baldini EH, et al. Amputation for Extremity Sarcoma: Contemporary Indications and Outcomes. *Ann Surg Oncol*. febbraio 2018;25(2):394–403.

95. Polychronidou G, Karavasilis V, Pollack SM, Huang PH, Lee A, Jones RL. Novel therapeutic approaches in chondrosarcoma. *Future Oncol.* marzo 2017;13(7):637–48.
96. van Oosterwijk JG, Herpers B, Meijer D, Briaire-de Bruijn IH, Cleton-Jansen AM, Gelderblom H, et al. Restoration of chemosensitivity for doxorubicin and cisplatin in chondrosarcoma in vitro: BCL-2 family members cause chemoresistance. *Ann Oncol.* giugno 2012;23(6):1617–26.
97. van Maldegem AM, Gelderblom H, Palmerini E, Dijkstra SD, Gambarotti M, Ruggieri P, et al. Outcome of advanced, unresectable conventional central chondrosarcoma. *Cancer.* 15 ottobre 2014;120(20):3159–64.
98. Tap WD, Villalobos VM, Cote GM, Burris H, Janku F, Mir O, et al. Phase I Study of the Mutant IDH1 Inhibitor Ivosidenib: Safety and Clinical Activity in Patients With Advanced Chondrosarcoma. *J Clin Oncol.* 20 maggio 2020;38(15):1693–701.
99. Kalinski T, Krueger S, Sel S, Werner K, Ropke M, Roessner A. Differential expression of VEGF-A and angiopoietins in cartilage tumors and regulation by interleukin-1beta. *Cancer.* 1 maggio 2006;106(9):2028–38.
100. Hurwitz HI, Dowlati A, Saini S, Savage S, Suttle AB, Gibson DM, et al. Phase I trial of pazopanib in patients with advanced cancer. *Clin Cancer Res.* 15 giugno 2009;15(12):4220–7.
101. Chow W, Frankel P, Ruel C, Araujo DM, Milhem M, Okuno S, et al. Results of a prospective phase 2 study of pazopanib in patients with surgically unresectable or metastatic chondrosarcoma. *Cancer.* 1 gennaio 2020;126(1):105–11.
102. Kostine M, Cleven AH, de Miranda NFCC, Italiano A, Cleton-Jansen AM, Bovée JVMG. Analysis of PD-L1, T-cell infiltrate and HLA expression in chondrosarcoma indicates potential for response to immunotherapy specifically in the dedifferentiated subtype. *Mod Pathol.* settembre 2016;29(9):1028–37.
103. Chalmers ZR, Connelly CF, Fabrizio D, Gay L, Ali SM, Ennis R, et al. Analysis of 100,000 human cancer genomes reveals the landscape of tumor mutational burden. *Genome Med.* 19 aprile 2017;9(1):34.
104. Sanson M, Marie Y, Paris S, Idbaih A, Laffaire J, Ducray F, et al. Isocitrate dehydrogenase 1 codon 132 mutation is an important prognostic biomarker in gliomas. *J Clin Oncol.* 1 settembre 2009;27(25):4150–4.

- 105.Chen JR, Yao Y, Xu HZ, Qin ZY. Isocitrate Dehydrogenase (IDH)1/2 Mutations as Prognostic Markers in Patients With Glioblastomas. *Medicine (Baltimore)*. marzo 2016;95(9):e2583.
- 106.Marcucci G, Maharry K, Wu YZ, Radmacher MD, Mrózek K, Margeson D, et al. IDH1 and IDH2 gene mutations identify novel molecular subsets within de novo cytogenetically normal acute myeloid leukemia: a Cancer and Leukemia Group B study. *J Clin Oncol*. 10 maggio 2010;28(14):2348–55.
- 107.World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *Jama*. 2013;310:2191-2194.
- 108.Cleven AHG, Suijker J, Agrogiannis G, Briaire-de Bruijn IH, Frizzell N, Hoekstra AS, et al. IDH1 or -2 mutations do not predict outcome and do not cause loss of 5-hydroxymethylcytosine or altered histone modifications in central chondrosarcomas. *Clin Sarcoma Res*. 2017;7:8.
- 109.Lugowska I, Teterycz P, Mikula M, Kulecka M, Kluska A, Balabas A, et al. IDH1/2 Mutations Predict Shorter Survival in Chondrosarcoma. *J Cancer*. 2018;9(6):998–1005.
- 110.Zhu GG, Nafa K, Agaram N, Zehir A, Benayed R, Sadowska J, et al. Genomic Profiling Identifies Association of IDH1/IDH2 Mutation with Longer Relapse-Free and Metastasis-Free Survival in High-Grade Chondrosarcoma. *Clin Cancer Res*. 15 gennaio 2020;26(2):419–27.
- 111.Nakagawa M, Sekimizu M, Endo M, Kobayashi E, Iwata S, Fukushima S, et al. Prognostic impact of IDH mutations in chondrosarcoma. *J Orthop Sci*. novembre 2022;27(6):1315–22.
- 112.Chen S, Fritchie K, Wei S, Ali N, Curless K, Shen T, et al. Diagnostic utility of IDH1/2 mutations to distinguish dedifferentiated chondrosarcoma from undifferentiated pleomorphic sarcoma of bone. *Hum Pathol*. luglio 2017;65:239–46.