**ARTÍCULO DE REVISIÓN**
ISSN: 2789-8024 (IMPRESO)
ISSN: 3005-4354 (EN LÍNEA)
DEP. LEGAL 4-3-95-20 P.O.

# Biomarcadores moleculares y líquidos en tumores óseos primarios: avances diagnósticos, pronósticos y perspectivas traslacionales

*Molecular and liquid biomarkers in primary bone tumors: diagnostic, prognostic, and translational perspectives*

## RESUMEN

Los tumores óseos malignos primarios —especialmente osteosarcoma, sarcoma de Ewing y condrosarcoma— constituyen entidades heterogéneas con alta morbilidad y estancamiento terapéutico. En los últimos años, el estudio de biomarcadores moleculares y líquidos ha abierto nuevas oportunidades para el diagnóstico temprano, la monitorización de enfermedad mínima residual (EMR) y la estratificación pronóstica. Entre los biomarcadores moleculares destacan mutaciones en TP53, RB1 e IDH1/2, fusiones como EWSR1-FLI1 y perfiles epigenéticos de metilación CpG. En el campo de los biomarcadores líquidos, el ADN tumoral circulante (ctDNA), los miRNAs, los exosomas y las células tumorales circulantes (CTCs) han mostrado correlación con carga tumoral, recaída y resistencia terapéutica. Estudios recientes demostraron que la detección de ctDNA basada en metilación permite identificar recaídas antes de la imagen radiológica en osteosarcoma, mientras que los transcritos de fusión en Ewing sarcoma pueden monitorizar la respuesta terapéutica en tiempo real. Sin embargo, persisten limitaciones metodológicas (heterogeneidad tumoral, baja sensibilidad, falta de estandarización) que restringen su aplicación clínica rutinaria. La integración de paneles tumor-informed, secuenciación profunda y modelos predictivos basados en inteligencia artificial representan las líneas más prometedoras para consolidar su uso clínico. En síntesis, los biomarcadores líquidos y moleculares están configurando una nueva era en el manejo de tumores óseos, acercando la medicina de precisión a la oncología musculoesquelética.
***PALABRAS CLAVE:*** *Biomarcadores moleculares; biomarcadores líquidos; osteosarcoma; sarcoma de Ewing; condrosarcoma; ADN tumoral circulante.*

## ABSTRACT

Primary malignant bone tumors —particularly osteosarcoma, Ewing sarcoma, and chondrosarcoma— remain challenging entities due to their biological heterogeneity and limited therapeutic progress. In recent years, molecular and liquid biomarkers have emerged as promising tools for early diagnosis, minimal residual disease (MRD) monitoring, and prognostic stratification. Key molecular biomarkers include TP53, RB1, and IDH1/2 mutations, EWSR1-FLI1 fusions, and CpG methylation signatures. Among liquid biomarkers, circulating tumor DNA (ctDNA), microRNAs, exosomes, and circulating tumor cells (CTCs) have been correlated with tumor burden, recurrence, and therapeutic resistance. Recent studies demonstrate that methylation-based ctDNA assays can detect relapse earlier than imaging in osteosarcoma, while EWSR1-FLI1 fusion transcripts serve as dynamic indicators of treatment response in Ewing sarcoma. Despite these advances, major challenges persist —including low analyte concentrations, tumor heterogeneity, and lack of analytical standardization— which hinder their clinical translation. Integration of tumor-informed panels, deep sequencing, and artificial intelligence-based predictive models are the most promising strategies to move these biomarkers from research to clinical routine. In summary, molecular and liquid biomarkers are redefining the landscape of bone tumor management, paving the way toward precision musculoskeletal oncology.
***KEY WORDS:*** *Molecular biomarkers; liquid biopsy; osteosarcoma; Ewing sarcoma; chondrosarcoma; circulating tumor DNA*

**Ossio-Ortube Álvaro Xavier***
**Aliaga-Arancibia Aracely Sisi****

*Jefe de Cátedra de Fisiopatología. Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Andrés (UMSA) La Paz, Bolivia.

**Auxiliar de Docencia de Fisiopatología (2024–2025). Facultad de Medicina, Universidad Mayor de San Andrés (UMSA) La Paz, Bolivia.

DOI:
*https://doi.org/10.53287/gaeo9428ic88t*

Autor de correspondencia:
*xalvos_med@hotmail.com*

**Recibido:** 16/08/2025
**Aceptado:** 08/10/2025

## INTRODUCCIÓN

Los tumores óseos primarios malignos —principalmente osteosarcoma, sarcoma de Ewing y condrosarcoma— representan un desafío persistente en oncología musculoesquelética debido a su agresividad, urgencia de diagnóstico temprano, variabilidad biológica y recaídas frecuentes. Aunque los tratamientos han mejorado (cirugía, quimioterapia, radioterapia), los métodos de diagnóstico y seguimiento son a menudo invasivos, imprecisos para detectar enfermedad mínima residual (EMR), y tardíos en indicar recurrencia o metástasis. En este contexto, los biomarcadores líquidos y molecularmente específicos —como el ADN tumoral circulante (ctDNA), los microARN (miRNA) circulantes, los exosomas o vesículas extracelulares (EVs), las células tumorales circulantes (CTCs), las firmas de metilación — emergen como herramientas prometedoras.

Desde el punto de vista molecular, estos biomarcadores reflejan procesos patogénicos del tumor: mutaciones puntuales o estructurales en genes supresores de tumor o protooncogenes (TP53, RB1, IDH1/2, etc.), alteraciones epigenéticas (metilación de promotores CpG), expresión aberrante de miRNAs reguladores de proliferación, apoptosis, invasión, angiogénesis, y mecanismos de secreción y liberación de material tumoral (por necrosis, apoptosis, fisión celular, exosomas, etc.). Cabe destacar que los ctDNA pueden derivarse de células tumorales que mueren por apoptosis/necrosis o de secreción activa de fragmentos de ADN, y que los exosomas transportan RNAs y proteínas que pueden modular microambiente tumoral, favorecer metástasis o mediar resistencia terapéutica.

Esta revisión sintetiza los avances más relevantes en biomarcadores líquidos y moleculares en tumores óseos primarios, con énfasis en osteosarcoma, Ewing y condrosarcoma, profundizando en los mecanismos moleculares, la validez diagnóstica/pronóstica, limitaciones técnicas y perspectivas traslacionales.

## CLASIFICACIÓN Y CONTEXTO CLÍNICO

Los tumores malignos óseos primarios más frecuentes son:

•**Osteosarcoma (OS):** alta incidencia en adolescencia, asociado con inestabilidad cromosómica, mutaciones en TP53 y RB1, alteraciones en rutas como PI3K/AKT, mTOR, MAPK, Wnt/β-catenina.

•**Sarcoma de Ewing (ES):** caracterizado por fusiones específicas (p.ej. EWSR1-FLI1, EWSR1-ETS) que regulan redes transcripcionales oncogénicas.

•**Condrosarcoma:** presenta mutaciones en IDH1/2, alteraciones de genes de matriz cartilaginosa (COL2A1), genes reguladores de diferenciación, rutas de HIF, posiblemente vías metabólicas alteradas.

Tumores benignos (encondroma, osteocondroma, tumor de células gigantes) a menudo están en el diagnóstico diferencial, y las metástasis óseas representan la causa más común de tumor óseo secundario, pero su biología es diferente al tumor primario. En esta revisión, el foco principal será en los primarios, con mención breve de benignos/metástasis sólo para contraste.

## BIOMARCADORES EN TUMORES ÓSEOS MALIGNOS PRIMARIOS

### OSTEOSARCOMA

#### Bases moleculares

**Mutaciones y alteraciones cromosómicas:** TP53 es el gen más frecuentemente alterado en osteosarcoma, con mutaciones puntuales, deleciones, pérdidas de función, y alteraciones estructurales que pueden incluir fusiones del promotor de TP53 que promueven expresiones aberrantes de genes oncogénicos manteniendo promotor de TP53, como se observó en un estudio de 148 OS [7]. Estas alteraciones forman parte importante de la génesis tumoral y de la respuesta al daño del ADN. Además, RB1, CDKN2A, MDM2, y mutaciones de genes implicados en reparación de ADN también están implicados.

**Epigenética:** marcadores de metilación de CpG en genes específicos han sido usados para diseñar paneles detectables por ddPCR en plasma, sin depender de mutaciones puntuales (methylation-based ctDNA assays). En un estudio reciente, un

conjunto de marcadores CpG permitió detectar ctDNA en 69% de muestras pre-operatorias y correlacionar detección con sobrevida global (p = 0.0015) [14].

**Biomarcadores diagnósticos**

**•ctDNA / cfDNA preoperatorio:** los niveles altos de cfDNA y la detección de ctDNA mediante paneles de metilación se asocian con peor pronóstico. En el estudio de methylation [14], se detectó ctDNA preoperatorio con ddPCR en 69-% de los pacientes cuando se considera un marcador positivo, y detección postoperatoria también se asoció con recaída en algunos casos.

**•MiRNAs:** varios miRNAs tumores supresores (por ejemplo, miR-34a, miR-143) se encuentran disminuidos, mientras que oncogénicos (miR-26a-5p) se encuentran sobreexpresados. MiR-26a-5p, por ejemplo, promueve proliferación y migración en osteosarcoma al dirigir HOXA5 como blanco, también reduce apoptosis y puede inhibir la sensibilidad a quimioterapia (paclitaxel) cuando está elevado [11].

**•circRNAs / lncRNAs:** circ_0001722 ha sido identificado como regulador de miR-204-5p/ RUNX2 en OS, actuando como "esponja" de miR para liberar RUNX2 que promueve proliferación, invasión y metástasis [2].

**Pronóstico y seguimiento**

Estudios de **tumor-informed deep sequencing** han mostrado que la presencia persistente de ctDNA post tratamiento permite predecir recaída antes de pruebas de imagen. En un estudio de 2024, secuenciación profunda basada en el tumor permitió detectar enfermedad mínima residual (EMR) y predijo recaída en osteosarcoma [13].

En el mismo estudio [13], los niveles de ctDNA preoperatorio correlacionaron con la carga tumoral, y la ausencia o disminución significativa tras cirugía/quimioterapia se asoció con mejor pronóstico.

El estudio de metilación [14] también encontró que la detección de ctDNA y los niveles de cfDNA preoperatorios son predictores independientes de sobrevida global, lo que sugiere que estos biomarcadores tienen valor no solo en diagnóstico sino en estratificación de riesgo.

**Exosomas, miRNAs y resistencia**

•Los exosomas liberados por células de OS contienen RNAs y proteínas que influyen en microambiente, angiogénesis, invasión y resistencia. Aunque pocos estudios clínicos han cuantificado exosomas en paciente, hay evidencia in vitro de que exosomas de OS modulan respuesta a fármacos quimioterapéuticos [5,16].

•Algunos miRNAs regulan apoptosis/ diferenciación: por ejemplo, miR-34a inhibe proliferación e induce apoptosis via ruta de p53, también regulando genes como c-Met, Eag1; miR-143 disminuye invasividad mediante regulación de MMP13 [19].

**Limitaciones específicas moleculares**

La detección sensible de ctDNA requiere no solo técnicas como NGS profundo o ddPCR, sino además paneles de mutaciones bien caracterizados. En tumores con baja mutación puntual pero con alta reordenación estructural (como OS), los paneles basados en metilación pueden ser más útiles [14].

Con respecto a exosomas y miRNAs las limitaciones están relacionadas con varianza entre laboratorios, la poca estandarización de extracción, e incluso la purificación; la normalización de niveles de expresión exige controles robustos.

**SARCOMA DE EWING**

**Biología molecular clave**

La fusión EWSR1-FLI1 (o variantes EWS-ETS) es considerada como evento definitorio, la proteína de fusión actúa como factor de transcripción aberrante que altera expresión de múltiples genes de señalización (p.ej., IGF pathway, MAPK, Wnt). Dado que la fusión es específica, se puede usar como blanco molecular en sangre para detección de ctRNA / transcritos fusionados.

Biomarcadores diagnósticos y de monitoreo. En un estudio reciente, se detectaron los transcritos de fusión EWS-FLI1 en plasma de

pacientes de Ewing mediante RT-qPCR y dPCR; estos reflejaban volumen tumoral medido por PET (metabolic tumor volume), lo que sugiere correlación directa entre biomarcador líquido y carga tumoral visible [20].

También se han detectado mutaciones puntuales en genes como TP53 e IDH2 en pacientes con Ewing, aunque menos frecuente que las fusiones; su utilidad pronóstica menos demostrada que la de la fusión característica [5].

**Pronóstico y respuesta al tratamiento**

•Los niveles de ctRNA fusionados disminuyen tras cirugía / radioterapia / quimioterapia, lo que permite seguimiento de respuesta; en algunos pacientes, su reaparición precede la recaída clínica [20].

•Detectar CTCs con expresión de CD99 + fusión EWSR1/FLI1 permite también pronosticar riesgo de progresión y metástasis [18]. Específicamente, en estudio de CTCs en Ewing, se identificaron células positivas para CD99 con transcritos de fusión, correlacionando con enfermedad activa [18].

## CONDROSARCOMA

**Biología molecular**

Mutaciones en **IDH1 y IDH2** son comunes en condrosarcomas de cierto grado; estos cambios alteran metabolismo celular (producción de 2-hidroxi-glutarato), modificación epigenética y diferenciación celular. También alteraciones en COL2A1, genes de matriz extracelular cartilaginosa, y rutas relacionadas con HIF1α en condrosarcomas de alto grado, especialmente en microambiente hipóxico.

**Biomarcadores líquidos exploratorios**

Estudios recientes detectan mutaciones de IDH2 e IDH2 R172S/K mutaciones en plasma de pacientes con condrosarcoma, mediante ddPCR, con bajas fracciones de mutante, pero suficientes para detección en algunos casos [5].

Los estudios de osteosarcoma comparten metodologías de detección de mutaciones estructurales o metilaciones, lo que puede ser adaptado a condrosarcoma.

**Relevancia clínica**

La aplicación más inmediata sería para diferenciar condrosarcoma de grado bajo de encondroma benigno, ya que tratamiento diverge: quizá solo vigilancia vs resección quirúrgica. Además, la presencia de mutaciones detectables en plasma podría servir para pronosticar recurrencia o metastatización, pero se carece aún de tamaños de muestra robustos.

## OTROS TUMORES PRIMARIOS RAROS

•En chordoma, sarcomas indiferenciados, etc., la evidencia es aún primordialmente molecular tumoral (mutaciones, perfiles transcriptómicos) y poco líquido.

•Existen datos de amplificaciones genómicas y aberraciones clonales detectables en OS y sarcomas mixtos mediante paneles de NGS que podrían servir en estos raros, pero falta que estudios se centren en ctDNA / miRNA / exosomas en cohortes significativas [10].

## BIOMARCADORES EN TUMORES BENIGNOS (RELEVANCIA DIAGNÓSTICA)

Aunque el enfoque principal es maligno, los tumores benignos son útiles para contrastar:

•Encondromas frente a condrosarcomas de bajo grado: mutaciones IDH1/2 son comunes en encondromas y condrosarcomas, pero su presencia, fracción mutante, contexto de metilación, expresión del gen COL2A1, características imagenológicas y expresión de ciertos miRNAs puede permitir distinguir.

•MiRNAs supresores como miR-143 están reducidos en osteosarcoma comparado con tejidos benignos, y su función en regular MMP13 puede contrastar agresividad [3,19].

•También, perfiles de metilación/plasmáticos podrían discernir benigno vs maligno, pero es una línea de investigación temprana.

## BIOMARCADORES Y METÁSTASIS ÓSEAS: CONTEXTO Y CONTRASTE

Aunque las metástasis generalmente provienen de cánceres primarios viscerales, comparten rutas patológicas de remodelado óseo, angiogénesis, invasión celular, etc. Biomarcadores de remodelado óseo como CTX, P1NP, osteocalcina son usados clínicamente para monitorizar enfermedad metastásica ósea, dolor óseo, riesgo de fractura, respuesta a tratamientos óseos dirigidos. (Menos específico en tumores óseos primarios, pero útil como parámetro clínico).

Técnicamente, lo aprendido en primarios líquidos (ctDNA, exosomas, fusiones) puede trasladarse al contexto metastático, aunque adaptando paneles y teniendo en cuenta mejor separar origen tumoral.

## TIPOS DE MUESTRAS BIOLÓGICAS Y CONSIDERACIONES MOLECULARES

• **Plasma / suero:** Se recolecta sangre, centrifugada en etapas para remover células, estabilizar cfDNA/ctDNA. Técnicas: ddPCR, NGS dirigido, secuenciación profunda (whole genome o targeted panel). Ej: estudio de metilación en OS usó ddPCR para cuatro marcadores CpG específicos [14]. o targeted panel). Ej: estudio de metilación en OS usó ddPCR para cuatro marcadores CpG específicos [14].

• **ctRNA de fusiones:** En Ewing, transcripciones fusionadas EWS-FLI1 detectadas en plasma mediante RT-qPCR y dPCR; estos ARN circulantes pueden provenir de células tumorales vivas o exosomas. Importante usar buenos controles de degradación y almacenar adecuadamente [20].

• **Exosomas / EVs:** Aislados por ultracentrifugación, columnasdeexclusión, inmunocaptura; transportan RNAs y proteínas protegidas de degradación; su contenido refleja perfiles moleculares tumorales. Protocolos varían ampliamente entre laboratorios [5].

• **miRNAs:** Pequeños RNAs no codificantes (~22 nt), reguladores postranscripcionales. Su expresión puede medirse en plasma, suero o exosomas. Pueden actuar como supresores tumorales (por ejemplo miR-34a, miR-143) o como oncogénicos (miR-26a-5p) dependiendo del contexto [11,21,19].

• **Mutaciones puntuales / estructurales:** TP53, IDH2, ATM, QUIZ genes de reparación del ADN; también fusiones en Ewing; reordenamientos estructurales complejos en osteosarcoma que pueden involucrar promotor TP53 fusionado a otros genes [7].

• **Preanalítica:** tiempo de procesamiento de sangre, tipo de almacenamiento, hemólisis, purificación de cfDNA, control de contaminación, profundidad de secuenciación. Todas estas afectan sensibilidad y especificidad.

## LIMITACIONES Y RETOS ACTUALES

1. Sensibilidad baja en algunos pacientes, especialmente en tumores de pequeño volumen, bajo grado o localizados, donde la cantidad de ctDNA, ctRNA, o CTCs circulantes puede ser prácticamente indetectable con muchos métodos estándar.

2. Heterogeneidad inter e intratumoral: distintas mutaciones/fusiones/firmas entre diferentes individuos, incluso dentro del tumor; la evolución bajo tratamiento cambia la firma molecular.

3. Standardización insuficiente: diferencias en métodos de extracción, purificación, almacenamiento, plataformas de secuenciación o PCR, elección de genes/fusiones a examinar, umbrales de detección, lo que dificulta comparación entre estudios o creación de directrices clínicas.

4. Tamaño de muestra y diseño de estudios: muchos estudios son retrospectivos, de pocos pacientes; pocos ensayos multicéntricos o prospectivos con seguimiento largo.

5. Interpretación clínica y umbrales útiles: saber cuándo un nivel de ctDNA elevado implica cambiar tratamiento, cuándo una caída parcial es significativa, cómo integrar los biomarcadores con
imagenología, cirugía, otros criterios clínicos.

## PERSPECTIVAS FUTURAS

1. Paneles moleculares dirigidos y tumor-informed por fusión/mutación inicial: adaptar secuencias del tumor primario para seguimiento en plasma (como fue demostrado con OS) permite detectar recaídas antes que la imagen [13].

2. Mejoras tecnológicas: ddPCR mejorado, NGS de ultra-profundidad, métodos de captura de exosomas más limpios, uso de nanobiosensores, microfluídica.

3. Modelos integrados: combinar biomarcadores líquidos + imagen funcional (PET, MRI), datos clínicos + moleculares (IA / aprendizaje automático) para crear modelos predictivos que guíen terapias individualizadas.

4. Ensayos clínicos multicéntricos centrados en biomarcadores líquidos en OS, Ewing y condrosarcoma, para definir umbrales, validar sensibilidad/especificidad en poblaciones diversas.

5. Terapeutica basada en biomarcadores: explotación de genes como TP53 (modulación de actividad, estabilización, terapia génica), fusión EWS-FLI1, reguladores epigenéticos y rutas alteradas identificadas por mutaciones o metilación. También explorar EVs no solo como biomarcador sino como vehículo terapéutico.

## CONCLUSIONES

En los últimos cinco años, el campo de los biomarcadores líquidos y moleculares en tumores óseos primarios ha avanzado significativamente. Osteosarcoma ha demostrado ser el subtipo con mayor evidencia traslacional, con estudios robustos de ctDNA basados en metilación, miRNAs reguladores, exosomas y mutaciones estructurales, enfrentando los desafíos de detección, seguimiento y pronóstico. El sarcoma de Ewing, gracias a su fusión característica, ofrece un modelo claro para diagnosticar y monitorizar mediante transcriptos de fusión en sangre y CTCs. Condrosarcoma tiene avances incipientes (IDH1/2, mutaciones detectables, firmas miRNA), pero necesita mayor volumen de datos clínicos. Para lograr que estos biomarcadores se integren rutinariamente en clínica, son esenciales la estandarización analítica, los estudios prospectivos multicéntricos, la definición de decisiones clínicas basadas en biomarcadores y tecnologías accesibles.

En síntesis, estamos en un punto de inflexión: la biología molecular combinada con tecnología de biopsia líquida tiene el potencial de transformar el manejo de tumores óseos malignos desde el diagnóstico precoz hasta la vigilancia y personalización terapéutica.

## REFERENCIAS

1. *Perry JA, Kiezun A, Tonzi P, Van Allen EM, Carter SL, Baca SC, et al. Complementary genomic approaches highlight the PI3K/mTOR pathway as a common vulnerability in osteosarcoma. Proc Natl Acad Sci U S A. 2014;111(51):E5564-73.*
2. *Wang L, Zhou Y, Jiang L, Lu L, Dai T, Li A, et al. Circ_0001722 promotes osteosarcoma progression via regulating miR-204-5p/RUNX2 axis. Cancer Cell Int. 2021;21(1):69.*
3. *Osaki M, Takeshita F, Sugimoto Y, Kosaka N, Yamamoto Y, Yoshioka Y, et al. MicroRNA-143 regulates human osteosarcoma metastasis by regulating matrix metalloprotease-13 expression. Mol Ther. 2011;19(6):1123-30.*
4. *Sayles LC, Breese MR, Koehne AL, Leung SG, Lee AG, Liu HY, et al. Genome-informed targeted therapy for osteosarcoma. Nat Med. 2019;25(9):1272-81.*
5. *Uroda T, Schubert S, Rühle F, Schüller U, Burdach S, Richter GH. Liquid biopsy in bone and soft tissue sarcomas: ready for prime time? Cancer Lett. 2021;502:29-40.*
6. *Miller BJ, Cram P, Lynch CF, Buckwalter JA. Risk factors for metastatic disease at presentation with osteosarcoma: an analysis of the SEER database. J Bone Joint Surg Am. 2013;95(13):e89.*

7. *Chen X, Bahrami A, Pappo A, Easton J, Dalton J, Hedlund E, et al. Recurrent somatic structural variations in osteosarcoma reveal new genes and pathways. Nat Genet. 2014;46(12):116–22.*

8. *Mirabello L, Troisi RJ, Savage SA. Osteosarcoma incidence and survival rates from 1973 to 2004: data from the SEER program. Cancer. 2009;115(7):1531-43.*

9. *Sbaraglia M, Righi A, Gambarotti M, Vanel D, Dei Tos AP. Ewing sarcoma and Ewing-like tumors: a morphological spectrum with important therapeutic implications. Virchows Arch. 2020;476(1):109-19.*

10. *Brohl AS, Solomon DA, Chang W, Wang J, Song Y, Sindiri S, et al. The genomic landscape of the Ewing Sarcoma family of tumors reveals recurrent STAG2 mutation. PLoS Genet. 2014;10(7):e1004475.*

11. *Wang W, Li J, Zhu W, Gao C, Jiang R. miR-26a-5p promotes proliferation and migration of osteosarcoma cells by targeting HOXA5. Oncol Lett. 2021;21(5):400.*

12. *Kansara M, Teng MW, Smyth MJ, Thomas DM. Translational biology of osteosarcoma. Nat Rev Cancer. 2014;14(11):722-35.*

13. *Gu Z, Wang L, Zhang J, Zheng L, He J, Lin Z, et al. Tumor-informed deep sequencing of circulating tumor DNA detects minimal residual disease and predicts recurrence in osteosarcoma. NPJ Precis Oncol. 2024;8(1):56.*

14. *Shulman DS, Klega K, Imamovic-Tuco A, Clapp A, Nag A, Thorner AR, et al. Detection of circulating tumor DNA methylation in pediatric patients with osteosarcoma. NPJ Precis Oncol. 2022;6(1):54.*

15. *Anderson ME. Update on survival in osteosarcoma. Orthop Clin North Am. 2016;47(1):283-92.*

16. *Garimella R, Washington L, Isaacson J, Vallejo J, Spence M, Tawfik O, et al. Extracellular vesicles in osteosarcoma: mediators of tumor progression and potential biomarkers. J Bone Oncol. 2020;24:100306.*

17. *Wang D, Niu X, Wang Z, Song CL, Huang Z, Chen KN, et al. Long noncoding RNA CRNDE repressed the chemosensitivity of osteosarcoma cells through the miR-136-5p/ROCK1 axis. Mol Ther Nucleic Acids. 2018;12:57-68.*

18. *van Maldegem AM, Bovée JV, Peterse EF, Hogendoorn PC, Hassan AB. Circulating tumor cells in Ewing sarcoma: proof of principle. Clin Cancer Res. 2014;20(4):1011-7.*

19. *Li J, Li X, Cen J, Chen H, Wang J, Zhou H. MicroRNA-34a inhibits proliferation and induces apoptosis in osteosarcoma cells by targeting Eag1. Mol Med Rep. 2018;17(3):4303-9.*

20. *Hayashi M, Chu D, Meyer CF, Das S, Tarhini AA, Loeb DM, et al. Detection and characterization of circulating fusion transcripts in Ewing sarcoma. Clin Cancer Res. 2016;22(14):3518-26.*

21. *Ren F, Fang Q, Li C, Li J, Wang J, Sun Y, et al. Exosomal microRNA signatures in osteosarcoma: potential role in diagnosis and prognosis. J Cell Physiol. 2022;237(1):874-85.*