

ISSN 0120-4157

# Biomédica

Revista del Instituto Nacional de Salud

## PUBLICACIÓN ANTICIPADA EN LINEA

El Comité Editorial de *Biomédica* ya aprobó para publicación este manuscrito, teniendo en cuenta los conceptos de los pares académicos que lo evaluaron. Se publica anticipadamente en versión pdf en forma provisional con base en la última versión electrónica del manuscrito pero sin que aún haya sido diagramado ni se le haya hecho la corrección de estilo.

Siéntase libre de descargar, usar, distribuir y citar esta versión preliminar tal y como lo indicamos pero, por favor, recuerde que la versión impresa final y en formato pdf pueden ser diferentes.

### Citación provisional:

**Cañas A, Jiménez E, Hakim F, Mejía JA, Ramón JF, Gómez D, et al.**

Importancia pronóstica de las mutaciones del promotor de la transcriptasa inversa de la telomerasa en los meningiomas de alto grado. *Biomédica*. 2022;42 (4).

Recibido: 27-04-21

Aceptado: 11-08-22

Publicación en línea: 17-08-22

**Importancia pronóstica de las mutaciones del promotor de la transcriptasa inversa de la telomerasa en los meningiomas de alto grado**

**Importancia de *TERT* en meningiomas de alto grado**

**Prognostic significance of telomerase reverse transcriptase promoter mutations in high grade meningiomas**

Alejandro Cañas <sup>1,J</sup>, Enrique Jiménez <sup>1</sup>, Fernando Hakim <sup>1</sup>, Juan Armando Mejía <sup>1</sup>, Juan Fernando Ramón <sup>1</sup>, Diego Gómez <sup>1</sup>, Daniel Jaramillo-Velásquez <sup>1</sup>, Sonia Bermúdez <sup>2</sup>, Nicolás Useche <sup>2</sup>, Diego Pineda <sup>3</sup>, Hernando Cifuentes <sup>4</sup>, Antonio Becerra <sup>5</sup>, Álvaro Muñoz <sup>6</sup>, Nicolás Santoyo <sup>7,8,J</sup>, Alejandro Ruíz-Patiño <sup>7,8,J</sup>, Carolina Sotelo <sup>7,8,J</sup>, Pilar Archila <sup>7,8</sup>, July Rodríguez <sup>7,8</sup>, Jenny Ávila <sup>7,8</sup>, Camila Ordóñez-Reyes <sup>7,8,J</sup>, Juan Esteban García-Robledo <sup>8,9</sup>, Luisa Ricaurte <sup>7,8,10</sup>, Leonardo Rojas <sup>8,11,12</sup>, Oscar Feo <sup>5</sup>, Remberto Burgos <sup>5</sup>, Carlos Ramírez <sup>5</sup>, Oscar Arrieta <sup>13</sup>, Lucía Zatarain-Barrón <sup>13</sup>, Carlos Vargas <sup>7,8,11</sup>, Hernán Carranza <sup>7,8,11</sup>, Jorge Otero <sup>7,8,11</sup>, Andrés F. Cardona <sup>7,8,11,\*J</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Neurocirugía, Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, D. C., Colombia

<sup>2</sup> Departamento de Imágenes Diagnósticas, Sección Neuro-radiología, Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, D. C., Colombia

<sup>3</sup> Departamento de Radiología, Sección Neuro-radiología, Clínica del Country, Bogotá, D. C., Colombia

<sup>4</sup> Departamento de Neurocirugía, Clínica del Country, Bogotá, D. C., Colombia

<sup>5</sup> Departamento de Neurocirugía, Clínica Colsanitas, Bogotá, D. C., Colombia

<sup>6</sup> Departamento de Radio-oncología, Instituto de Cáncer Carlos Ardila Lülle, Fundación Santa Fe de Bogotá, Bogotá, D. C., Colombia

<sup>7</sup> Fundación para la Investigación Clínica y Molecular Aplicada del Cáncer, Bogotá, D. C., Colombia

<sup>8</sup> Grupo de Investigación en Oncología Molecular y Sistemas Biológicos, Universidad El Bosque, Bogotá, D. C., Colombia

<sup>9</sup> División de Hematología y Oncología, Clínica Mayo, Scottsdale, Estados Unidos

<sup>10</sup> Departamento de Patología, Clínica Mayo, Rochester, Estados Unidos

<sup>11</sup> Departamento de Oncología Clínica, Clínica Colsanitas, Bogotá, Colombia

<sup>12</sup> Grupo Oncología Clínica y Traslacional, Clínica del Country, Bogotá, Colombia

<sup>13</sup> Laboratorio Oncología Personalizada, Instituto Nacional de Cancerología, Ciudad de México, México

*Los presentes autores contribuyeron de forma equitativa en el estudio.*

### **Correspondencia:**

Andrés Felipe Cardona, Grupo Oncología Clínica y Traslacional, Sección Oncología Torácica y Tumores Cerebrales, Clínica del Country, Bogotá, D. C., Colombia.

Calle 116 No. 9 – 72, c. 318, Bogotá, D. C., Colombia

Teléfono: (+57) (1) 6190052; fax: (+57) (1) 6190053.

andres.cardona@clinicadelcountry.com; a\_cardonaz@yahoo.com

### **Contribución de los autores:**

Enrique Jiménez, Fernando Hakim, Juan Armando Mejía, Juan Fernando Ramón, Diego Gómez, Sonia Bermúdez, Nicolás Useche, Diego Pineda, Hernando Cifuentes, Álvaro Muñoz, Pilar Archila, July Rodríguez y Andrés F. Cardona: contribuciones sustanciales a la concepción o diseño del trabajo.

Daniel Jaramillo-Velásquez, Alejandro Ruíz-Patiño, Nicolás Santoyo, Carolina Sotelo, July Rodríguez, Jenny Ávila, Camila Ordóñez-Reyes, Juan Esteban García-Robledo, Luisa Ricaurte, Leonardo Rojas, Oscar Feo, Lucía Zatarain-Barrón: adquisición, análisis o interpretación de datos.

Andrés F. Cardona, Antonio Becerra, Álvaro Muñoz, Alejandro Ruíz-Patiño, Camila Ordóñez-Reyes, Oscar Arrieta, Lucía Zatarain-Barrón, Remberto Burgos, Carlos Ramírez, Carlos Vargas, Hernán Carranza y Jorge Otero: revisión crítica de estudio y redacción del manuscrito.

Alejandro Cañas participó en todas las etapas del estudio.

**Introducción.** Las mutaciones en la región promotora de la transcriptasa inversa de la telomerasa ocurren con frecuencia en meningiomas.

**Objetivo.** Estimar el valor pronóstico de mutaciones de la transcriptasa inversa de la telomerasa en pacientes colombianos con meningioma grado II y III.

**Materiales y métodos.** Estudio de cohorte retrospectivo multicéntrico de pacientes diagnosticados con meningioma refractario o recidivante grado II y III de la OMS, reclutados entre 2011 y 2018, manejados con terapia sistémica (sunitinib, everolimus+/-octreotide y bevacizumab). El estado de la mutación del promotor de la transcriptasa inversa de la telomerasa se realizó por medio de PCR.

**Resultados.** Se incluyeron 40 pacientes, de los cuales en 21 (52,5%) se encontraron mutaciones en la transcriptasa inversa de la telomerasa, siendo las variantes más frecuentes C228T y C250T, 87,5% y 14,3% respectivamente. Estas fueron más frecuentes entre los pacientes con meningiomas anaplásicos ( $p=0,18$ ), con  $>2$  recurrencias ( $p=0,04$ ), y en las lesiones de la región parasagital y fosa anterior ( $p=0,05$ ). Los sujetos caracterizados por tener alteraciones puntuales se expusieron con mayor frecuencia a la secuencia E→Su→Bev ( $p=0,06$ ). La supervivencia global tras el inicio del tratamiento médico fue 23.7 meses (IC95% 13,1-34,2) y 43.4 meses (IC95% 37,5-49,3;  $p=0,0001$ ) entre los sujetos con y sin mutaciones, respectivamente. En análisis multivariado demostró que solo el número de recurrencias y la presencia de mutaciones en la transcriptasa inversa de la telomerasa afectaron negativamente la supervivencia global.

**Conclusiones.** La transcriptasa inversa de la telomerasa permite identificar los pacientes de alto riesgo y podría ser de utilidad para seleccionar la mejor secuencia de tratamiento médico.

Palabras clave: meningioma; mutación con ganancia de función; telomerasa.

**Introduction:** Mutations in the promoter region of telomerase reverse transcriptase occur frequently in meningiomas.

**Objective:** To estimate the prognostic value of telomerase reverse transcriptase mutations in Colombian patients with grade II and III meningioma.

**Materials and methods:** Multicenter retrospective cohort study of patients diagnosed with refractory or recurrent WHO grade II and III meningioma, recruited between 2011 and 2018, managed with systemic therapy (sunitinib, everolimus +/- octreotide and bevacizumab). Mutation status of the telomerase reverse transcriptase promoter was performed by PCR.

**Results:** 40 patients were included, of which telomerase reverse transcriptase mutations were found in 21 (52.5%), the most frequent variants being C228T and C250T, 87.5% and 14.3%, respectively. These were more frequent among patients with anaplastic meningiomas ( $p = 0.18$ ), with  $>2$  recurrences ( $p = 0.04$ ), and in lesions of the parasagittal region and anterior fossa ( $p = 0.05$ ). Subjects characterized as having punctual alterations were more frequently exposed to the sequence E  $\rightarrow$  Su  $\rightarrow$  Bev ( $p = 0.06$ ). OS after initiation of medical treatment was 23.7 months (95% CI 13.1-34.2) and 43.4 months (95% CI 37.5-49.3;  $p = 0.0001$ ) between subjects with and without mutations, respectively. In multivariate analysis, it was shown that only the number of recurrences and the presence of telomerase reverse transcriptase mutations negatively affected OS.

**Conclusions:** Telomerase reverse transcriptase allows identifying high-risk patients and could be useful to select the best sequence of medical treatment.

**Keywords:** Meningioma; gain of function mutation; telomerase

Los meningiomas representan ~40% de los tumores intracraneales con una incidencia global próxima a los 8.1 casos por 100.000 habitantes (Registro Central de Tumores Cerebrales de Estados Unidos - CBTRUS), siendo la mayoría lesiones de bajo grado (grado I según la clasificación de la Organización Mundial de la Salud – OMS); no obstante, una pequeña fracción de las neoplasias meningoteliales se categorizan como lesiones de alto grado, particularmente, tumores atípicos (OMS II, 5-20%) y anaplásicos (OMS III, 1-3%)(1,2). En los Estados Unidos se diagnostican anualmente 370 adultos con meningiomas de alto grado, 2.690 viven actualmente con la enfermedad, y la supervivencia global (SG) a 5 años se estima en 63%(3).

Los meningiomas grado II incluyen variantes morfológicas atípicas, de células claras y coroideas, y se definen clásicamente por la evidencia de 4-19 mitosis por 10 CGA, por la invasión cerebral o la presencia de 3 de 5 características histopatológicas asociadas con atipia (2,4). Éstas incluyen crecimiento laminar, necrosis, alteración en la relación núcleo/citoplasma, nucléolos prominentes y mayor celularidad (2). Clásicamente, la presencia de 1 o 2 características atípicas en un meningioma grado I se asocian con un mayor riesgo de progresión y recurrencia (5). Las neoplasias anaplásicas incluyen un índice mitótico de 20 o más por 10 CGA e incluyen las variantes papilar y rabdoide (5,6). Con el advenimiento de la genómica tumoral existen esfuerzos para mitigar la recurrencia de los meningiomas de alto grado, incluyendo la identificación de blancos moleculares potencialmente modulables. Inicialmente se describieron numerosas mutaciones puntuales, deleciones y reordenamientos asociados a la

neurofibromina (*NF2* en 22q12.2) (7), complejo que explica cerca del 50% de los casos esporádicos. Adicionalmente, se han documentado alteraciones recurrentes en *SMO*, *AKT1* (E17K), *PIK3CA*, *POLR2A*, *SMARCB1*, *SWI-SNF*, *KLF4*, y *TRAF7* (K409Q) (8-10). Estas alteraciones son típicas de los tumores de bajo grado, pero suelen estar ausentes en los meningiomas atípicos y anaplásicos (11). En oposición, los meningiomas de alto grado presentan ganancias y pérdidas cromosómicas, y alteraciones en el número de copias. En particular, suelen tener pérdidas en el cromosoma 22 o tienen modificaciones alélicas en 1p, 6q, 10, 14q y 18q. La pérdida de 1p predice un comportamiento biológico más agresivo, excepto en los tumores anaplásicos de patrón rabdoide. De forma similar, las pérdidas en 9p21 que alberga los inhibidores dependientes de ciclinas *CDKN2A* y *CDKN2B*, sugiere una mayor probabilidad de cambio en grado en los tumores grado I y II (12,13). La figura suplementaria 1 muestra el espectro de alteraciones cromosómicas de los meningiomas.

La disrupción del genoma exhibe una fuerte asociación con la ubicación del primario, independiente del grado tumoral. Los meningiomas de la base del cráneo no suelen albergar alteraciones en el número de copias, mientras que los de la convexidad (falcina y parasagital) poseen abundantes alteraciones cromosómicas, y los de la región lateral se encuentran en un punto intermedio. Estos patrones sugieren que las mutaciones putativas de los meningiomas de alto grado se agrupan en diversas ubicaciones anatómicas, sugiriendo ontogénias divergentes (14). En concordancia, los meningiomas de alto grado se asocian con pocas mutaciones somáticas recurrentes, incluyendo *NF2*, *SMARCE1*, *BAP1*, y

transcriptasa inversa de la telomerasa (*TERT*) (15); este último, más frecuente en las lesiones secundarias y con una expresión diferencial entre diferentes regiones geográficas (14-18).

La pérdida de la capacidad de mantener los telómeros se considera un sello distintivo de las neoplasias, dado que >90% de las células malignas sobreexpresan la enzima telomerasa, que contrarresta activamente su acortamiento (19). Las mutaciones en el promotor de *TERT* (*TERTp*, 5p15.33) se descubrieron inicialmente en los melanomas, y posteriormente se documentaron en diversos tumores sólidos, entre ellos, los meningiomas de alto grado. Además de las mutaciones en *TERTp*, la expresión aberrante de la telomerasa puede ser causada por reordenamientos del gen, por amplificación, fusiones o metilación (19). Las alteraciones en *TERT* traducen en aumento significativo de la expresión funcional de la proteína que tiene cuatro dominios (el N-terminal esencial para la telomerasa, el dominio de la transcriptasa inversa, el de unión al ARN, y el de la extensión C-terminal) (14). Las alteraciones más comunes son las mutaciones puntuales C250T y C228T localizadas en la región promotora del gen (19). Un metaanálisis con datos de pacientes individuales que incluyó a 677 sujetos con meningiomas grado I-III proporcionó evidencia de que las mutaciones en *TERTp* constituyen un factor pronóstico negativo independiente del grado tumoral (20). Los estudios iniciales para valorar la correlación genómica que incluyeron entre 21 y 58 pacientes demostraron que la frecuencia de mutaciones en *TERTp* oscila entre el 14 y 23% (20-24). Por el momento, solo un estudio comparó la expresión de mutaciones en *TERTp* en un subgrupo de pacientes con meningiomas de alto

grado primarios y secundarios, sugiriendo que el gen constituye una alteración promotora de la evolución clonal de las neoplasias meningoteliales (23). Las dos mutaciones encontradas en *TERT*<sub>p</sub> permiten mantener la longitud del telómero inmortalizando la célula tumoral a través de la formación de una superfamilia de factores de transcripción conocida como E26/complejo del factor ternario (ETS/TFC, por su sigla en inglés), evento que facilita la sobreexpresión del gen. Otro suceso que facilita el aumento de la expresión del mRNA de *TERT* es la hipermetilación del promotor (20).

Pocos estudios han validado el valor pronóstico de TERT en pacientes con meningiomas de alto grado tratados con diversas intervenciones farmacológicas en secuencia. También se desconoce la frecuencia de las mutaciones puntuales C228T y C250T en meningiomas de alto grado originados en poblaciones mixtas de origen hispano. El presente estudio incluye el análisis detallado de 40 pacientes con meningiomas de alto grado caracterizados según TERT, tratados y seguidos de forma homogénea en dos instituciones de Bogotá, Colombia.

## **Materiales y métodos**

### ***Diseño y población de estudio***

Este es un estudio de cohorte retrospectivo, multicéntrico de pacientes diagnosticados con meningioma grado II y III confirmado por histopatología (n = 59) tratados en dos centros de referencia de Bogotá, Colombia entre diciembre de 2011 y enero de 2018. Los criterios de inclusión fueron: edad >18 años con diagnóstico histológico de meningioma atípico o anaplásico con disponibilidad de tejido para evaluar el estado de la mutación del promotor de TERT. Los pacientes

fueron categorizados en dos grupos para el análisis: TERT silvestre y TERT mutado. Los registros médicos fueron revisados para obtener la información clínica y demográfica.

Durante el período de reclutamiento, se recolectaron 40 pacientes (67%) con meningiomas agresivos recurrentes o en progresión que fueron tratados con acetato de octreótido LAR [O] / everolimus [E] (30 mg IM c/28 días / 10 mg VO c/día), sunitinib [Su] (50 mg VO c/día durante los días 1 a 28 en un ciclo de 42 días) o bevacizumab [Bev] (10 mg/kg IV los días 1 y 15). Todos los pacientes (n = 16/40%) expuestos al análogo de somatostatina tenían sobreexpresión de SSTR2 (receptor 2 de la somatostatina). La información clínica fue revisada para establecer las características socio-demográficas (edad al momento del diagnóstico, número de recurrencias, y compromiso neurológico basal) y del tratamiento previo (extensión de la resección, tipo y dosis de radioterapia), eventos adversos y desenlaces clínicos. Todos los procedimientos en el estudio fueron realizados bajo los estándares éticos del Comité de Investigación Institucional de la Clínica del Country (LR23-2016), conforme a la declaración de Helsinki de 1964. En todos los casos, se obtuvo la firma previa del consentimiento informado para iniciar con la recolección de la información clínica, la revisión histopatológica y la caracterización genómica. La tipificación histológica se realizó de acuerdo con los criterios de clasificación para tumores del sistema nervioso central propuestos por la Organización Mundial de la Salud – OMS 2016 (versión 1.0, 2016) (25). La Figura suplementaria 2 muestra las características histológicas de un meningioma atípico y anaplásico. En este estudio se incluyeron pacientes mayores de 18 años

con evidencia radiológica de progresión tumoral luego de resección quirúrgica y radioterapia (IMRT o radiocirugía). El tratamiento fue homogéneo, de acuerdo a las recomendaciones actuales de terapia con el inhibidor mTOR solo o en combinación, el inhibidor de tirosin quinasa multidiaria y el anticuerpo monoclonal antiangiogénico (anti-VEGF). Las tres secuencias estándar fueron  $E \rightarrow Su \rightarrow Bev$  (1ª / 2ª / 3ª línea),  $Su \rightarrow E \rightarrow Bev$ , y  $E \rightarrow Su$  según la elección del médico tratante. El tratamiento fue interrumpido al presentar progresión de la enfermedad o toxicidad dosis-dependiente de acuerdo con las recomendaciones del Common Terminology Criteria for Adverse Events – CTCAE, versión 4.0 (<https://evs.nci.nih.gov/ftp1/CTCAE/About.html>). En general, los pacientes fueron evaluados mediante un examen físico cada tres semanas y con resonancia contrastada cada 8-10 semanas. La evaluación de la respuesta se basó en los criterios de evaluación radiológica en neuro-oncología (RANO) diseñados para pacientes con meningiomas incluidos en experimentos clínicos (26). Durante el seguimiento, se realizaron exámenes de laboratorio de rutina mensual o antes según criterio médico.

### ***Aislamiento del ADN***

La extracción del ADN genómico se realizó a partir de tejido tumoral embebido en parafina y fijado con formalina (FFPE, *por sus siglas en inglés*) previa microdissección de 3mm. El equipo de patología tumoral analizó las muestras para garantizar un contenido de células tumorales >90% y demarcar el área del tumor. La purificación y cuantificación del ADN se realizó utilizando protocolos

estandarizados, por nanoespectrofotometría en un NanoDrop ND-2000 Thermo Scientific (Waltham, MA) usando la relación de absorbancia (260/280 nm).

### ***Análisis de mutaciones en el promotor de TERT***

La región promotora de la telomerasa transcriptasa inversa (*TERT*) que contiene las mutaciones C228T, C250T, 7, 8 y C229A9, así como el polimorfismo rs2853669 (c.-245T> C) se amplificaron usando 25 ng de ADN genómico analizado con el kit HotStar Taq Mastermix (Qiagen), la solución aditiva Q (Qiagen) y los cebadores S 5'-AGTGGATTCGCGGGCACAGA-3' y AS 5'-CAGCGCTGCCTGAAACTC-3'. El análisis dio como resultado de la PCR un producto de 235 pb. La confirmación de la calidad se realizó mediante electroforesis en gel de poliacrilamida, seguida de una limpieza por PCR utilizando el kit de un paso Illustra ExoProStar (GE Healthcare Life Sciences). Los productos de PCR se secuenciaron usando el kit de secuenciación de ciclos BigDye Terminator v1.1 (Applied Biosystems) y el secuenciador Applied Biosystems 3130 siguiendo los procedimientos estándar descrito por el productor. Todas las muestras se verificaron en dirección directa e inversa, y se utilizó el software SeqScape v3.0 (Applied Biosystems) para el análisis de mutaciones y el ensamblaje de los fragmentos (27). La figura suplementaria 3 muestra el esquema de la región promotora de *TERT* con la numeración de los nucleótidos en el cromosoma 5. También, la secuencia de ADN de la región “hotspot” con una hebra de tipo salvaje y una mutada, más los cromatogramas para las mutaciones heterocigotas C228T y C250T.

## ***Análisis estadístico***

Los resultados se obtuvieron y describieron por medio de la determinación de frecuencias absolutas, relativas, medidas de tendencia central y de dispersión. El cruce de variables se realizó con tablas de contingencia sometidas a pruebas de dependencia y asociación usando el estadístico Chi cuadrado ( $X^2$ ) o el test exacto de Fisher cuando fue necesario. Para todos los casos, el nivel de significancia fue  $P < 0.05$ . Las estimaciones de supervivencia se hicieron utilizando el modelo no paramétrico del límite del producto (método de Kaplan-Meier), y sus funciones se compararon mediante la prueba Log-rank. Con el fin de valorar los factores que influyeron sobre la mortalidad se realizó un análisis multivariado usando el modelo de riesgo proporcional (Cox). Todos Los análisis estadísticos se realizaron utilizando SPSS versión 23.0 (IBM Corp. IBM SPSS Statistics para Windows, Armonk, NY: IBM Corp Released 2015).

## **Resultados**

### ***Características Demográficas de los pacientes***

Un total de 40 pacientes con meningiomas atípicos o anaplásicos recurrentes se incluyeron en el estudio. Las características demográficas de los pacientes se resumen en el cuadro 1. La mayoría de la población fueron mujeres con una distribución 2:1 y predominio del diagnóstico en pacientes mayores de 60 años (52.5%). Según la localización, las lesiones atípicas surgieron en la convexidad ( $n = 4/36.4\%$ ), la fosa media ( $n = 5/45.5\%$ ) y la anterior ( $n = 2/18.2\%$ ). En comparación, las lesiones anaplásicas se encontraron especialmente a nivel parasagital ( $n = 10/34.5\%$ ) y en la fosa anterior ( $n = 16/55.2\%$ ). Además, 10 de los

pacientes (25%) tuvieron enfermedad multicéntrica, 8 de los cuales tenía un fenotipo anaplásico con especial localización en la fosa media y posterior ( $p = 0.043$ ).

### **Tratamiento**

Todos los pacientes fueron sometidos a resección quirúrgica, y la mediana del número de procedimientos parciales o radicales fue de 2 (rango, 1-5). En el grupo de pacientes con tumores atípicos ( $n = 11$ ), todos menos uno (90.9%) tuvieron resecciones Simpson III en comparación con el grupo de sujetos con tumores anaplásicos, entre los cuales el 65% ( $n = 13$ ) tuvieron procedimientos quirúrgicos Simpson I y II ( $p = 0.0089$ ). No se encontraron diferencias entre los dos grupos según el número de recurrencias ( $p = 0.36$ ). Además, todos los pacientes fueron tratados con IMRT ( $n = 20$ , 65%) o radiocirugía estereotáctica ( $n = 11$ , 35%), y el tiempo medio transcurrido entre la radioterapia y el comienzo de la primera línea de tratamiento sistémico fue de 22.9 meses (IC95% 1.8-189.0). De manera similar, no hubo diferencias en la supervivencia libre de progresión (SLP) entre los pacientes tratados con IMRT o radiocirugía estereotáctica (23,6 frente a 19,4 meses;  $p = 0.47$ ) y la SG fue superior para los tumores atípicos sobre los anaplásicos ( $p = 0.013$ ; figura suplementaria 4)

Al momento de comenzar la terapia médica, el diámetro medio del tumor era de 42.3 mm (DE +/- 12.2) sin diferencias entre los grados tumorales II y III ( $p = 0.85$ ). Antes de recibir sunitinib o el tratamiento basado en everolimus, un sujeto (3.2%) recibió hidroxiurea/imatinib sin beneficio. Diecinueve pacientes fueron expuestos a everolimus o everolimus/octreótrido como primera línea (61.3%) y 11 a sunitinib

(35.5%). La relación para la segunda línea se invirtió, 18 pacientes recibieron sunitinib (58.1%), 4 (12.9%) tratamiento basado en everolimus y uno bevacizumab (3.2%). Ocho pacientes (25.8%) siguen aún en el tratamiento de primera línea. Después de una mediana de seguimiento de 31.8 meses (IC 95% 13.6-47), 10 pacientes (32.3%) recibieron la secuencia E → Su → Bev, 9 pacientes (29.0%) recibieron E → Su y 4 (12.9%) fueron expuestos a la secuencia Su → E → Bev.

### ***Resultados del tratamiento***

La mediana de SG para la cohorte después del inicio del tratamiento médico fue de 37.3 meses (IC 95% 28.5-42.1) y 78.1 meses (IC95% 42.5-98.2) después del diagnóstico inicial (figura 1a y b). Al comparar a los pacientes tratados en primera línea con las dos estrategias más comunes, everolimus ± octeotride o sunitinib, la mediana de SG 36 meses (IC95% 25.3-41.7) y 29.5 meses (IC95% 22.5-37.5;  $p = 0.349$ ), respectivamente (figura 2a). La SLP fue de 12.1 meses (IC95% 9.2-21.1) contra 9.1 meses (IC95% 6.8-16.8;  $p = 0.43$ ) para las mismas intervenciones, respectivamente (figura 2b). Por otro lado, la tasa de respuesta para la primera línea de acuerdo con los criterios RANO (meningiomas) fue 6 (43%) pacientes que alcanzaron enfermedad estable (EE) y 4 (28.6%) que lograron respuesta parcial (RP) con everolimus ± octeotride en contraste con 7 (63.6%) pacientes que alcanzaron enfermedad estable y 4 (36.4%) RP cuando recibieron sunitinib. El beneficio clínico (respuesta completa, parcial y enfermedad estable) mostró una tendencia a prolongar la SG sin una asociación estadísticamente significativa ( $p = 0.246$ ). La SLP para los pacientes que recibieron sunitinib y everolimus ± octeotride en la segunda línea fue de 9.13 (95 % CI 2.4-13.6) y 10.17 (IC95%

6.13-14.5), respectivamente. La SG fue superior cuando se usó la secuencia E → Su → Bev versus todas las demás posibilidades (figura 3;  $p = 0.0001$ ) independientemente de la extensión de la cirugía inicial ( $p = 0.94$ ), del tiempo entre el diagnóstico y el inicio del tratamiento médico ( $< o > 20$  meses;  $p = 0.17$ ), del número de recurrencias ( $< o > 3$  recurrencias;  $p = 0.47$ ), de la edad ( $< o > 65$  años;  $p = 0.64$ ), y el género ( $p = 0.30$ ). La figura 4 muestra la evolución clínica y por imágenes de varios pacientes tratados con las secuencias E → Su → Bev, Su → E → Bev y everolimus/bevacizumab.

#### ***Desenlaces de acuerdo con la presencia de mutaciones en TERT***

En 21 pacientes (52.5%) se encontraron mutaciones en *TERT*, siendo las variantes C228T ( $n = 18$ ) y C250T ( $n = 3$ ), en el 87.5% y 14.3%, respectivamente. Las mutaciones en *TERT* fueron más frecuentes entre los pacientes con meningiomas anaplásicos (17 meningiomas OMS III versus 4 tumores OMS II;  $p = 0.18$ ), entre aquellos con  $>2$  recurrencias ( $p = 0.04$ ), y en las lesiones localizadas en la región parasagital y en la fosa anterior ( $p = 0.05$ ). De igual forma, los sujetos caracterizados por tener alteraciones puntuales en *TERT* se expusieron con mayor frecuencia a la secuencia E → Su → Bev ( $n = 6$ ;  $p = 0.06$ ). La SG tras el inicio del tratamiento médico fue 23.7 meses (IC95% 13.1-34.2) y 43.4 meses (IC95% 37.5-49.3;  $p = 0.0001$ ) entre los sujetos con y sin mutaciones en *TERT*, respectivamente (figura 5). La presencia de mutaciones en *TERT* no afectó la SLP para la primera ( $p = 0.059$ ), segunda ( $p = 0.31$ ) y tercera líneas ( $p = 0.09$ ). No obstante, cuando este análisis se hizo exclusivamente para el Bev en segunda y tercera línea, se encontró que dichas mutaciones influenciaron negativamente la

SG tras la exposición al antiangiogénico ( $p = 0.004$ ). En adición, la SG fue estadísticamente inferior para el subgrupo de pacientes con tumores anaplásicos *TERT* positivos ( $p = 0.031$ ; figura suplementaria 5).

En el análisis multivariado se encontró que solo dos variables impactaron la SG, el número de recurrencias (Exp(B) 10.5, IC95% 1.1-98.3) y la presencia de mutaciones en el *pTERT* (Exp(B) 150.9, IC95% 4.7-4756.3).

## **Discusión**

Los meningiomas atípicos y anaplásicos se relacionan con una mayor morbimortalidad, siendo la edad, el género masculino, el estado funcional (medido por la escala de Karnofsky), la tasa mitótica, el número de recurrencias e intervenciones quirúrgicas, y el compromiso del nervio óptico los principales factores clínicos relacionados con el pronóstico (28). Los meningiomas de alto grado suelen ser más frecuentes en los pacientes jóvenes (edad media al diagnóstico 57 años) y usualmente están relacionados con mutaciones somáticas *de novo* o con la evolución fenotípica y clonal a partir de lesiones de menor grado (28). En general, la localización de la lesión tiende a predecir el grado de diferenciación, teniendo en cuenta que la mayoría de los tumores ubicados en la fosa media y anterior suelen tener un patrón meningotelial típico o transicional. Por el contrario, algunas de las neoplasias de la fosa media, y la mayoría de las encontradas en la fosa posterior presentan mutaciones en el promotor de *TERT* y un linaje secretor. Globalmente, la frecuencia de alteraciones en *TERT* oscila entre el 14 y 23%, siendo mayor en los tumores recurrentes y en las lesiones de alto grado (23,24,29,30). La incidencia de los meningiomas anaplásicos

catalogados como silvestres y mutados en TERT se ha estimado en 2 y 8 casos por millón de habitantes/año (29). Nuestro estudio documentó el doble de mutaciones en el *pTERT* (52%) debido a que la población fue altamente seleccionada. Quince de los pacientes que tuvieron dichas mutaciones tenían como antecedente  $\geq 2$  recurrencias, y de ellos, 5 tuvieron más de cuatro eventos quirúrgicos previos. En concordancia con otras descripciones (29,30), nuestros hallazgos corroboran que la mutación TERT<sup>C228T</sup> fue la alteración más frecuente, y que la multicentricidad fue común en los tumores anaplásicos mutados y recurrentes.

Mirian y colaboradores encontraron una supervivencia libre de recurrencia (SLR) posterior a la cirugía inicial de 14 y 101 meses para los pacientes con y sin alteraciones puntuales en el *pTERT*, respectivamente (30). En adición, la razón de riesgo (HR) para la recaída entre los sujetos mutados de TERT fue 3.74 en referencia con la población silvestre, segmento que también presentó una mejoría significativa en la mediana para la SG (58 meses para los pacientes con mutaciones en el *pTERT* versus 160 meses para los silvestres; HR 2.77,  $p = 0.0001$ ). El significado pronóstico de las mutaciones de *pTERT* se confirmó a partir del análisis sistemático de casos, que demostró una tasa de recurrencia 4.8 veces mayor en aquellos sujetos mutados con meningiomas OMS I y II en comparación con los pacientes portadores de tumores anaplásicos silvestres. De igual forma, la tasa de mortalidad fue 2.7 veces mayor en los pacientes con tumores OMS I y II mutados en el *pTERT* versus el subgrupo de anaplásicos no mutados (30). En nuestra serie, el 74% de los pacientes con mutaciones en el *pTERT* recurrieron en

los primeros 20 meses de seguimiento tras la cirugía inicial ( $p = 0.035$ ), y la mediana de SG desde el diagnóstico en los sujetos mutados fue 41.5 meses (IC95% 28.1-54.8) contra 114 meses (IC95% 83.0-146.0) en la población silvestre ( $p = 0.0001$ ; figura suplementaria 6). Las mutaciones en el *pTERT* también afectaron el pronóstico de la enfermedad (SG) tras el inicio del tratamiento médico sin afectar la SLP, sin embargo, no fue posible encontrar un efecto determinante sobre la SG respecto del tipo de mutación en el *pTERT* (variantes C228T y C250T), posiblemente por limitación de la muestra ( $p = 0.58$ ; figura suplementaria 7). Como se describió en el presente estudio, el análisis multivariado para la SG solo se vio afectado por el número de recurrencias y por las mutaciones en el *pTERT*, información consistente con la literatura (30) que podría permitir estratificar a los meningiomas de alto grado para definir el requerimiento temprano de la radioterapia o la adición de diversas intervenciones farmacológicas.

Recientemente, Harmanci y colaboradores especularon que la adquisición de las mutaciones en el *pTERT* pueden ser un paso temprano en la transición de los meningiomas atípicos (31). Como prueba de la evolución clonal, Juratli y colaboradores (21) demostraron que la expresión de las mutaciones en *pTERT* puede ser heterogénea geográficamente en un mismo tumor recurrente, lo que soporta el modelo de progresión tumoral acelerado que influye sobre los desenlaces de forma independiente al grado tumoral. En consonancia con las alteraciones en *TERT*, el índice de proliferación medido por el Ki<sub>67</sub> ha permitido discriminar el pronóstico de los meningiomas agresivos, según el análisis de la SG y de la SLP tras la ejecución de la IMRT o el tratamiento médico (32,33). Nuestro

análisis confirma estos hallazgos, al encontrar un impacto negativo del Ki<sub>67</sub> ≥20% sobre la SG a partir del diagnóstico ( $p = 0.012$ ) y del inicio del tratamiento médico ( $p = 0.013$ ; figuras no incluidas). Además de las mutaciones en el *pTERT*, otros factores como las fusiones en *LPCAT1-TERT*, las pérdidas por heterocigocidad del cromosoma 18q, las deleciones en *CDKN2A/B*, mutaciones en *NF2*, *ARID1A*, y *BAP1*, así como la expresión de *RB1*<sup>S780</sup>, también se asocian con un pronóstico precario(15,34-37).

Recientemente se ha descrito el papel prometedor de diversos perfiles de metilación para subestratificar a los pacientes con meningiomas según su riesgo de recurrencia e impacto sobre desenlaces como la SLP y SG. Olar y colaboradores, demostraron a través de una agrupación no supervisada que la metilación del loci 64-CpG afectó los desenlaces más representativos de forma independiente al grado tumoral, el índice mitótico, la escala Simpson, el sexo, la ubicación y el número de copias (38). Utilizando métodos similares, Sahm y colaboradores identificaron seis clases únicas de metilación en los diferentes grados del meningioma, documentando un perfil específico para el grado I de alto riesgo, y otro, para los tumores grado 2 de buen pronóstico (39). Múltiples estrategias moleculares, con mayor o menor complejidad permitirán seleccionar a los pacientes según su riesgo para acelerar el uso de terapias blanco-dirigidas o su secuencialidad después de la cirugía y radioterapia.

Gracias al conocimiento adquirido sobre las características citogenéticas basales de los meningiomas de alto grado, su heterogeneidad, y capacidad de escape a través de variaciones subclonales que explican la sensibilidad y resistencia a los

diferentes tratamientos, hoy disponemos de tratamientos diferentes a la cirugía, radioterapia y quimioterapia clásica (40). Un número significativo de los meningiomas de alto grado presentan pérdidas en 22q que se asocia con la presentación de mutaciones inactivantes en NF2, gen que codifica la neurofibromina 2 (Merlina), proteína implicada en las vías de señalización intracelular PI3K/AKT/mTOR, y de forma paralela con eIF3c, CD44, la proteína quinasa A y p21. De forma similar, hasta el 70% de los meningiomas sobre expresan SSTR2A, lo que sugiere un entorno propicio para el uso de medicamentos como el everolimus y el octeotride (41,42). Previamente, Graillon y colaboradores demostraron *in vitro* que el everolimus disminuyó la viabilidad celular de los meningiomas agresivos, induciendo de forma concomitante la activación de AKT, lo que generó un efecto antiproliferativo paradójico. Este evento se corrigió con la inhibición cooperativa del everolimus más el octeotride, análogo que revirtió la fosforilación de AKT, la transducción a través de 4EB-P1, y el control del ciclo celular por p27Kip1 y la ciclina D1 (42). Con base en estos hallazgos, el mismo grupo diseñó y llevó a cabo el estudio CEVOREM (43) que demostró en 20 pacientes con tumores recurrentes (18 OMS II y III) que el uso de la combinación de everolimus/octeotride alcanzó una SLP6 (supervivencia libre de progresión a los 6 meses) del 55% (IC95% 31.3-73.5), y una SG a los 6 y 12 meses del 90% (IC95% 65.6-94.7) y 75% (IC95% 50-88), respectivamente. En adición, la tasa de respuesta global (TRG) fue del 78% después de 3 meses de intervención. Anteriormente, nuestro grupo demostró una SLP de 12.1 meses

(IC95% 9.2-21.1) para el mismo régimen, datos consistentes con los descritos previamente (44).

Normalmente, más del 80% de los meningiomas agresivos sobre expresan VEGFR y PDGFR- $\beta$ , y cerca del 50% Axl, y EGFR (45). A partir de esta información, se intentó el uso del sunitinib, inhibidor de tirosin quinasa multidiana que se exploró en 36 pacientes con meningiomas de alto grado (30 atípicos y 6 anaplásicos) e historia de múltiples recurrencias (mediana de 5, rango 2 a 10) (46). La SLP6 fue del 42%, la mediana de la SLP fue 5.2 meses (IC95% 2.8-8.3), y la de SG fue 24.6 meses (IC95% 16.5-38.4). La expresión de VEGFR2 predijo una SLP de 1.4 y 6.4 meses para los casos negativos y positivos, respectivamente ( $p = 0.005$ ) (46). En el mismo sentido, nosotros encontramos una SLP de 9.1 meses (IC95% 6.8-16.8) para el sunitinib utilizado como primera línea de intervención. El presente estudio permitió demostrar un beneficio significativo para la SG respecto de la secuencia de tratamiento, a favor de la serie E  $\rightarrow$  Su  $\rightarrow$  Bev seguida de Su  $\rightarrow$  E  $\rightarrow$  Bev y Su  $\rightarrow$  Bev  $\rightarrow$  E. Por el momento, la información integrada para el bevacizumab sigue siendo limitada y ha permitido encontrar una SLP de 16.8 meses (IC95% 6.5-22) y una SLP6 del 73% (IC95% 44-93) (47,48). Nuestros datos demuestran que las mutaciones en el *pTERT* no afectan la SLP para la primera, segunda y tercera línea, no obstante, dichas mutaciones influenciaron negativamente la SG tras la exposición al antiangiogénico.

Para todos los meningiomas, el tratamiento de elección sigue siendo la resección quirúrgica óptima, particularmente en los casos que debutan con tumores  $>4$  cm, en aquellos que tienen una tasa de crecimiento  $\geq 20\%$  en presencia de un diámetro

mayor <2.5 cm, en los que exhiben signos de invasión ósea o cerebral, y en los que tienen un aumento en el tamaño >1 cm en 1 año (49). Después del procedimiento neuroquirúrgico, la adición de la radioterapia proporciona una SLP a 5 años del 76.5% y 56% para los pacientes con meningiomas atípicos y anaplásicos, respectivamente. Adicionalmente, la SG a 5 años es del 77% para los pacientes con tumores OMS II y del 44% para aquellos con neoplasias OMS III, punto en el que la toxicidad acumulada oscila entre el 12% y 35% (49). Por el momento, la radioterapia ha sustituido a la cirugía como primera elección en tumores pequeños de la base del cráneo o en aquellos con afectación de estructuras neurovasculares (nervio óptico y/o seno cavernoso), sin embargo, la introducción de diversos medicamentos sigue estando reservada para los pacientes con tumores agresivos, recurrentes, y refractarios a la cirugía y radiación. Estudios como el nuestro, contribuyen en la construcción de conocimiento necesario para optimizar el manejo los meningiomas agresivos, explorando nuevos blancos terapéuticos y caracterizando el comportamiento biológico de la enfermedad según su perfil molecular (50,51).

En conclusión, el presente estudio aporta datos novedosos sobre la caracterización de los meningiomas de alto grado, por primera vez en una población Hispana. Adicionalmente, resalta el valor del análisis de las mutaciones del *pTERT* al impactar de forma significativa en la supervivencia global en aquellos casos con múltiples recurrencias y podría ser de utilidad para seleccionar la mejor secuencia de tratamiento médico, utilizando fármacos como el everolimus +/- octreotide, el sunitinib y el bevacizumab. Se requieren estudios adicionales que

busquen evaluar el valor pronóstico de otros biomarcadores en diferentes etapas de la evolución natural del meningioma y a su vez determinar factores predictores de respuesta a terapias como la sistémica y la radioterapia.

### **Conflictos de interés**

Andrés F. Cardona declara haber recibido apoyo para la investigación por parte de Merck Sharp & Dohme, Boehringer Ingelheim, Roche, Bristol-Myers Squibb, Foundation Medicine, Roche Diagnostics, Termo Fisher, Broad Institute, Amgen, Flatiron Health, Teva Pharma, Bayer, INQBox y la Fundación para la Investigación Clínica y Molecular Aplicada del Cáncer - FICMAC. Además, ha recibido honorarios como asesor, ha participado como orador y dio testimonio experto a Eisai, Merck Serono, Janssen Pharmaceutical, Merck Sharp & Dohme, Boehringer Ingelheim, Roche, Bristol-Myers Squibb, Pfizer, Novartis, Celldex Therapeutics, Foundation Medicine, Eli Lilly, Guardant Health, Illumina, y a la Fundación para la Investigación Clínica y Molecular Aplicada del Cáncer - FICMAC.

### **Financiación**

**Incluir la fuente de financiación**

### **Referencias**

1. Perry A, Scheithauer BW, Stafford SL, Lohse CM, Wollan PC. "Malignancy" in meningiomas: a clinicopathologic study of 116 patients, with grading implications. *Cancer*. 1999;85:2046–56. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0142\(19990501\)85:9<2046::aid-cnrc23>3.0.co;2-m](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0142(19990501)85:9<2046::aid-cnrc23>3.0.co;2-m)

2. Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK, Burger PC, Jouvet A, et al. The 2007 WHO classification of tumours of the central nervous system. *Acta Neuropathol.* 2007;114:97-109. <https://doi.org/10.1007/s00401-007-0243-4>
3. Ostrom QT, Gittleman H, Liao P, Vecchione-Koval T, Wolinsky Y, Kruchko C, et al. CBTRUS Statistical Report: Primary brain and other central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2010-2014. *Neuro Oncol.* 2017;19(Suppl. 5):v1–88. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox158>
4. Olar A, Wani KM, Sulman EP, Mansouri A, Zadeh G, Wilson CD, et al. Mitotic index is an independent predictor of recurrence-free survival in meningioma. *Brain Pathol.* 2015;25:266–75. <https://doi.org/10.1111/bpa.12174>
5. Wang YC, Chuang CC, Wei KC, Chang CN, Lee ST, Wu CT, et al. Long term surgical outcome and prognostic factors of atypical and malignant meningiomas. *Sci Rep.* 2016;6:35743. <https://doi.org/10.1038/srep35743>
6. Durand A, Labrousse F, Jouvet A, Bauchet L, Kalamaridès M, Menei P, et al. WHO grade II and III meningiomas: a study of prognostic factors. *J Neurooncol.* 2009;95:367–75. <https://doi.org/10.1007/s11060-009-9934-0>
7. Agnihotri S, Suppiah S, Tonge PD, Jalali S, Danesh A, Bruce JP, et al. Therapeutic radiation for childhood cancer drives structural aberrations of NF2 in meningiomas. *Nat Commun.* 2017;8:186. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00174-7>
8. Christiaans I, Kenter SB, Brink HC, van Os TA, Baas F, van den Munckhof P, et al. Germline SMARCB1 mutation and somatic NF2 mutations in familial

multiple meningiomas. *J Med Genet.* 2011;48:93-7.

<https://doi.org/10.1136/jmg.2010.082420>

9. Bi WL, Abedalthagafi M, Horowitz P, Agarwalla PK, Mei Y, Aizer AA, et al. Genomic landscape of intracranial meningiomas. *J Neurosurg.* 2016;125:525–35. <https://doi.org/10.3171/2015.6.JNS15591>
10. Clark VE, Erson-Omay EZ, Serin A, Yin J, Cotney J, Ozduman K, et al. Genomic analysis of non-NF2 meningiomas reveals mutations in TRAF7, KLF4, AKT1, and SMO. *Science.* 2013;339:1077-80. <https://doi.org/10.1126/science.1233009>
11. Yuzawa S, Nishihara H, Tanaka S. Genetic landscape of meningioma. *Brain Tumor Pathol.* 2016;33:237-47. <https://doi.org/10.1007/s10014-016-0271-7>
12. Bi WL, Greenwald NF, Abedalthagafi M, Wala J, Gibson WJ, Agarwalla PK, et al. Erratum: Genomic landscape of high-grade meningiomas. *NPJ Genom Med.* 2017;2:26. <https://doi.org/10.1038/s41525-017-0023-6>
13. Perry A, Banerjee R, Lohse CM, Kleinschmidt-DeMasters BK, Scheithauer BW. A role for chromosome 9p21 deletions in the malignant progression of meningiomas and the prognosis of anaplastic meningiomas. *Brain Pathol.* 2002;12:183-90. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3639.2002.tb00433.x>
14. Youngblood MW, Miyagishima DF, Jin L, Gupte T, Li C, Duran D, et al. Associations of meningioma molecular subgroup and tumor recurrence. *Neuro Oncol.* 2021;23:783–94. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noaa226>

15. Shankar GM, Abedalthagafi M, Vaubel RA, Merrill PH, Nayyar N, Gill CM, et al. Germline and somatic BAP1 mutations in high-grade rhabdoid meningiomas. *Neuro Oncol.* 2017;19:535–45. <https://doi.org/10.1093/neuonc/now235>
16. Smith MJ, O’Sullivan J, Bhaskar SS, Hadfield KD, Poke G, Caird J, et al. Loss-of-function mutations in SMARCE1 cause an inherited disorder of multiple spinal meningiomas. *Nat Genet.* 2013;45:295–8. <https://doi.org/10.1038/ng.2552>
17. Tauziède-Espariat A, Parfait B, Besnard A, Lacombe J, Pallud J, Tazi S, et al. Loss of SMARCE1 expression is a specific diagnostic marker of clear cell meningioma: a comprehensive immunophenotypical and molecular analysis. *Brain Pathol.* 2018;28:466–74. <https://doi.org/10.1111/bpa.12524>
18. Vasudevan H, Braunstein S, Phillips JJ, Pekmezci M, Wu A, Reis G, et al. GENE-04. Comprehensive genomic characterization of aggressive meningiomas identifies molecular signatures that predict clinical outcomes. *Neuro-Oncology.* 2017;19(Suppl. 6):vi92–3. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox168.379>
19. Barthel FP, Wei W, Tang M, Martinez-Ledesma E, Hu X, Amin SB, et al. Systematic analysis of telomere length and somatic alterations in 31 cancer types. *Nat Genet.* 2017;49:349–57. <https://doi.org/10.1038/ng.3781>
20. Yuan P, Cao J lin, Abuduwufuer A, Wang LM, Yuan XS, Lv W, et al. Clinical characteristics and prognostic significance of TERT promoter mutations in cancer: a cohort study and a meta-analysis. *PLoS One.* 2016;11:e0146803. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146803>

21. Juratli TA, Thiede C, Koerner MVA, Tummala SS, Daubner D, Shankar GM, et al. Intratumoral heterogeneity and TERT promoter mutations in progressive/higher-grade meningiomas. *Oncotarget*. 2017;8:109228–37. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.22650>
22. Peyre M, Gauchotte G, Giry M, Froehlich S, Pallud J, Graillon T, et al. De novo and secondary anaplastic meningiomas: a study of clinical and histomolecular prognostic factors. *Neuro Oncol*. 2018;20:1113-21. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nox231>
23. Sahm F, Schrimpf D, Olar A, Koelsche C, Reuss D, Bissel J, et al. TERT promoter mutations and risk of recurrence in meningioma. *J Natl Cancer Inst*. 2016;108:djv377. <https://doi.org/10.1093/jnci/djv377>
24. Spiegl-Kreinecker S, Lötsch D, Neumayer K, Kastler L, Gojo J, Pirker C, et al. TERT promoter mutations are associated with poor prognosis and cell immortalization in meningioma. *Neuro Oncol*. 2018;20:1584–93. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noy104>
25. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. *Acta Neuropathol*. 2016;131:803–20. <https://doi.org/10.1007/s00401-016-1545-1>
26. Huang RY, Bi WL, Weller M, Kaley T, Blakeley J, Dunn I, et al. Proposed response assessment and endpoints for meningioma clinical trials: report from the Response Assessment in Neuro-Oncology Working Group. *Neuro Oncol*. 2019;21:26–36. <https://doi.org/10.1093/neuonc/noy137>

27. Killela PJ, Reitman ZJ, Jiao Y, Bettegowda C, Agrawal N, Diaz LA, et al. TERT promoter mutations occur frequently in gliomas and a subset of tumors derived from cells with low rates of self-renewal. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2013;110:6021-6. <https://doi.org/10.1073/pnas.1303607110>.
28. Apra C, Peyre M, Kalamarides M. Current treatment options for meningioma. *Expert Rev Neurother*. 2018;18:241–9. <https://doi.org/10.1080/14737175.2018.1429920>
29. Goutagny S, Nault JC, Mallet M, Henin D, Rossi JZ, Kalamarides M. High incidence of activating TERT promoter mutations in meningiomas undergoing malignant progression. *Brain Pathol*. 2014;24:184–9. <https://doi.org/10.1111/bpa.12110>
30. Mirian C, Duun-Henriksen AK, Juratli T, Sahm F, Spiegl-Kreinecker S, Peyre M, et al. Poor prognosis associated with TERT gene alterations in meningioma is independent of the WHO classification: an individual patient data meta-analysis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2020;91:378–87. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2019-322257>
31. Harmancı AS, Youngblood MW, Clark VE, Coşkun S, Henegariu O, Duran D, et al. Integrated genomic analyses of de novo pathways underlying atypical meningiomas. *Nat Commun*. 2018 Apr 20;9:16215. <https://doi.org/10.1038/ncomms14433>
32. Maier A, Brøchner CB, Bartek J, Eriksson F, Ugleholdt H, Broholm H, et al. Mitotic and proliferative indices in WHO grade III meningioma. *Cancers (Basel)*. 2020;12:E3351. <https://doi.org/10.3390/cancers12113351>

33. Maier AD, Stenman A, Svahn F, Mirian C, Bartek J, Juhler M, et al. TERT promoter mutations in primary and secondary WHO grade III meningioma. *Brain Pathol.* 2021;31:61–9. <https://doi.org/10.1111/bpa.12892>
34. Williams EA, Santagata S, Wakimoto H, Shankar GM, Barker FG, Sharaf R, et al. Distinct genomic subclasses of high-grade/progressive meningiomas: NF2-associated, NF2-exclusive, and NF2-agnostic. *Acta Neuropathol Commun.* 2020;8:171. <https://doi.org/10.1186/s40478-020-01040-2>
35. Barresi V, Simbolo M, Fioravanzo A, Piredda ML, Caffo M, Ghimenton C, et al. Molecular profiling of 22 primary atypical meningiomas shows the prognostic significance of 18q heterozygous loss and CDKN2A/B homozygous deletion on recurrence-free survival. *Cancers (Basel).* 2021;13:903. <https://doi.org/10.3390/cancers13040903>
36. Rutland JW, Gill CM, Loewenstern J, Arib H, Pain M, Umphlett M, et al. NF2 mutation status and tumor mutational burden correlate with immune cell infiltration in meningiomas. *Cancer Immunol Immunother.* 2021;70:169–76. <https://doi.org/10.1007/s00262-020-02671-z>
37. Gill CM, Loewenstern J, Rutland JW, Arib H, Pain M, Umphlett M, et al. SWI/SNF chromatin remodeling complex alterations in meningioma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2021;147:3431-40. <https://doi.org/10.1007/s00262-020-02671-z>
38. Olar A, Wani KM, Wilson CD, Zadeh G, DeMonte F, Jones DTW, et al. Global epigenetic profiling identifies methylation subgroups associated with

recurrence-free survival in meningioma. *Acta Neuropathol.* 2017;133:431–44.

<https://doi.org/10.1007/s00401-017-1678-x>

39. Sahm F, Schrimpf D, Stichel D, Jones DTW, Hielscher T, Schefzyk S, et al. DNA methylation-based classification and grading system for meningioma: a multicentre, retrospective analysis. *Lancet Oncol.* 2017;18:682–94.  
[https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(17\)3015](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(17)3015)
40. Nazem AA, Ruzevick J, Ferreira MJ. Advances in meningioma genomics, proteomics, and epigenetics: insights into biomarker identification and targeted therapies. *Oncotarget.* 2020;11:4544-53.  
<https://doi.org/10.18632/oncotarget.27841>
41. Graillon T, Romano D, Defilles C, Saveanu A, Mohamed A, Figarella-Branger D, et al. Octreotide therapy in meningiomas: in vitro study, clinical correlation, and literature review. *J Neurosurg.* 2017;127:660–9.  
<https://doi.org/10.3171/2016.8.JNS16995>
42. Graillon T, Defilles C, Mohamed A, Lisbonis C, Germanetti AL, Chinot O, et al. Combined treatment by octreotide and everolimus: Octreotide enhances inhibitory effect of everolimus in aggressive meningiomas. *J Neurooncol.* 2015;124:33–43. <https://doi.org/10.1007/s11060-015-1812-3>
43. Graillon T, Sanson M, Campello C, Idbaih A, Peyre M, Peyrière H, et al. Everolimus and octreotide for patients with recurrent meningioma: results from the Phase II CEVOREM Trial. *Clin Cancer Res.* 2020;26:552–7.  
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-19-2109>

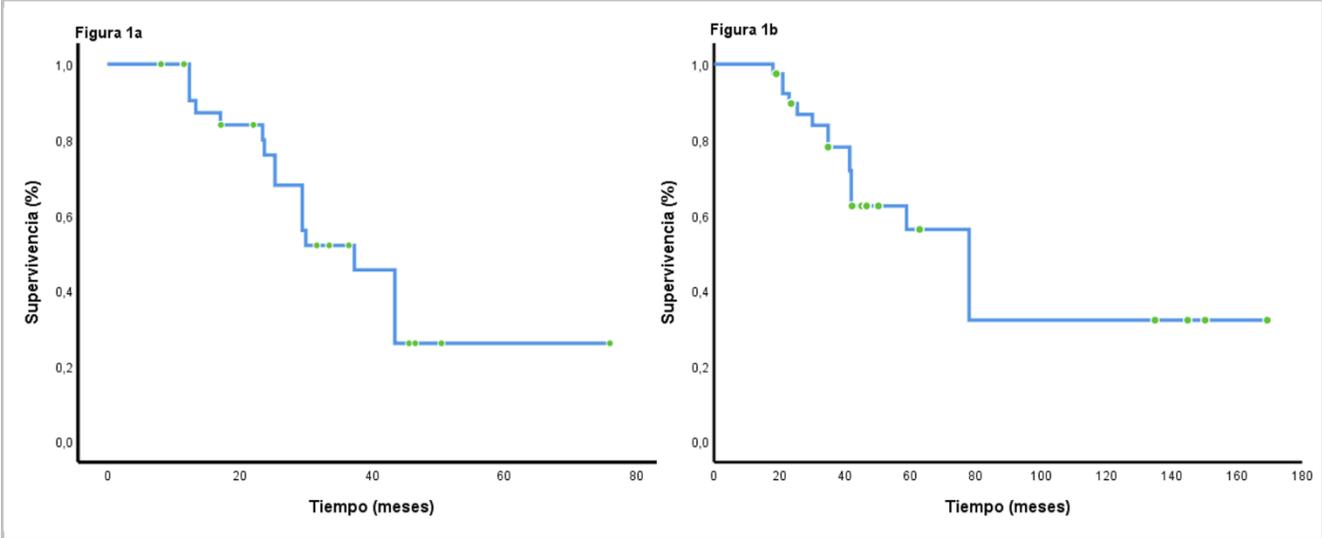
44. Cardona AF, Ruiz-Patiño A, Zatarain-Barrón ZL, Hakim F, Jiménez E, Mejía JA, et al. Systemic management of malignant meningiomas: A comparative survival and molecular marker analysis between Octreotide in combination with Everolimus and Sunitinib. *PLoS One*. 2019;14:e0217340.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0217340>
45. Hilton DA, Shivane A, Kirk L, Bassiri K, Enki DG, Hanemann CO. Activation of multiple growth factor signalling pathways is frequent in meningiomas. *Neuropathology*. 2016;36:250-61. <https://doi.org/10.1111/neup.12266>
46. Kaley TJ, Wen P, Schiff D, Ligon K, Haidar S, Karimi S, et al. Phase II trial of sunitinib for recurrent and progressive atypical and anaplastic meningioma. *Neuro Oncol*. 2015;17:116–21. <https://doi.org/10.1093/neuonc/nou148>
47. Scerrati A, Mongardi L, Visani J, Lofrese G, Cavallo MA, Fiorentino A, et al. The controversial role of Bevacizumab in the treatment of patients with intracranial meningioma: a comprehensive literature review. *Expert Rev Anticancer Ther*. 2020;20:197–203.  
<https://doi.org/10.1080/14737140.2020.1736567>
48. Franke AJ, Skelton WP, Woody LE, Bregy A, Shah AH, Vakharia K, et al. Role of bevacizumab for treatment-refractory meningiomas: A systematic analysis and literature review. *Surg Neurol Int*. 2018;9:133.  
[https://doi.org/10.4103/sni.sni\\_264\\_17](https://doi.org/10.4103/sni.sni_264_17)
49. Unterberger A, Nguyen T, Duong C, Kondajji A, Kulinich D, Yang I. Meta-analysis of adjuvant radiotherapy for intracranial atypical and malignant

meningiomas. *J Neurooncol.* 2021;152:205–16. <https://doi.org/10.1007/s11060-020-03674-7>

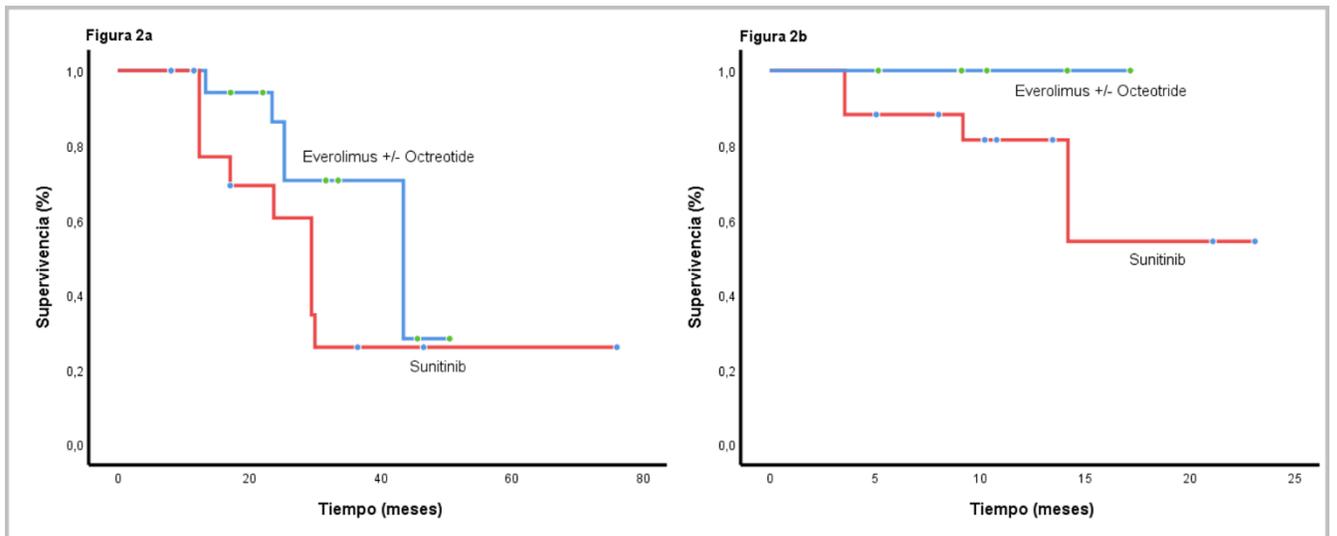
50. Goldbrunner R, Minniti G, Preusser M, Jenkinson MD, Sallabanda K, Houdart E, et al. EANO guidelines for the diagnosis and treatment of meningiomas. *Lancet Oncol.* 2016 Sep;17(9):e383-391. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(16\)30321-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(16)30321-7)
51. Stögbauer L, Stummer W, Senner V, Brokinkel B. Telomerase activity, TERT expression, hTERT promoter alterations, and alternative lengthening of the telomeres (ALT) in meningiomas - a systematic review. *Neurosurg Rev.* 2020;43:903–10. <https://doi.org/10.1007/s10143-019-01087-3>

**Figura 1a.** Supervivencia global después del inicio del tratamiento médico. **b.**

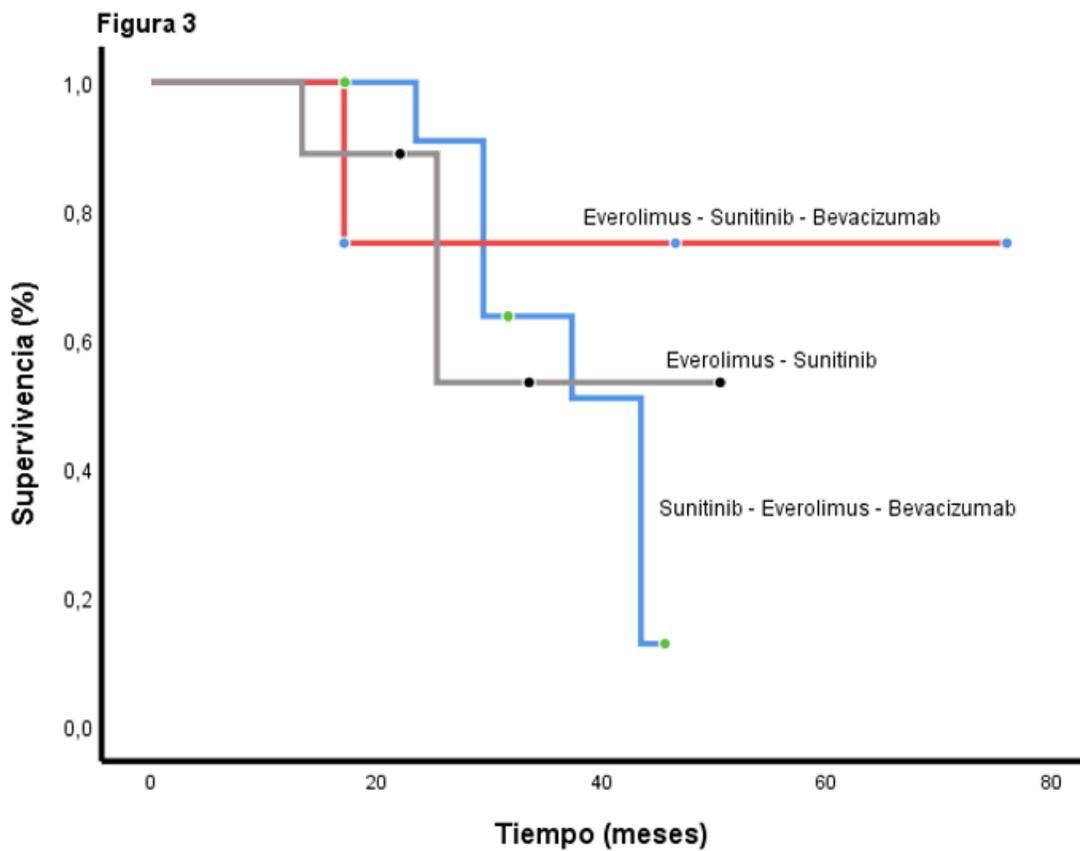
Supervivencia global después del diagnóstico de la enfermedad.



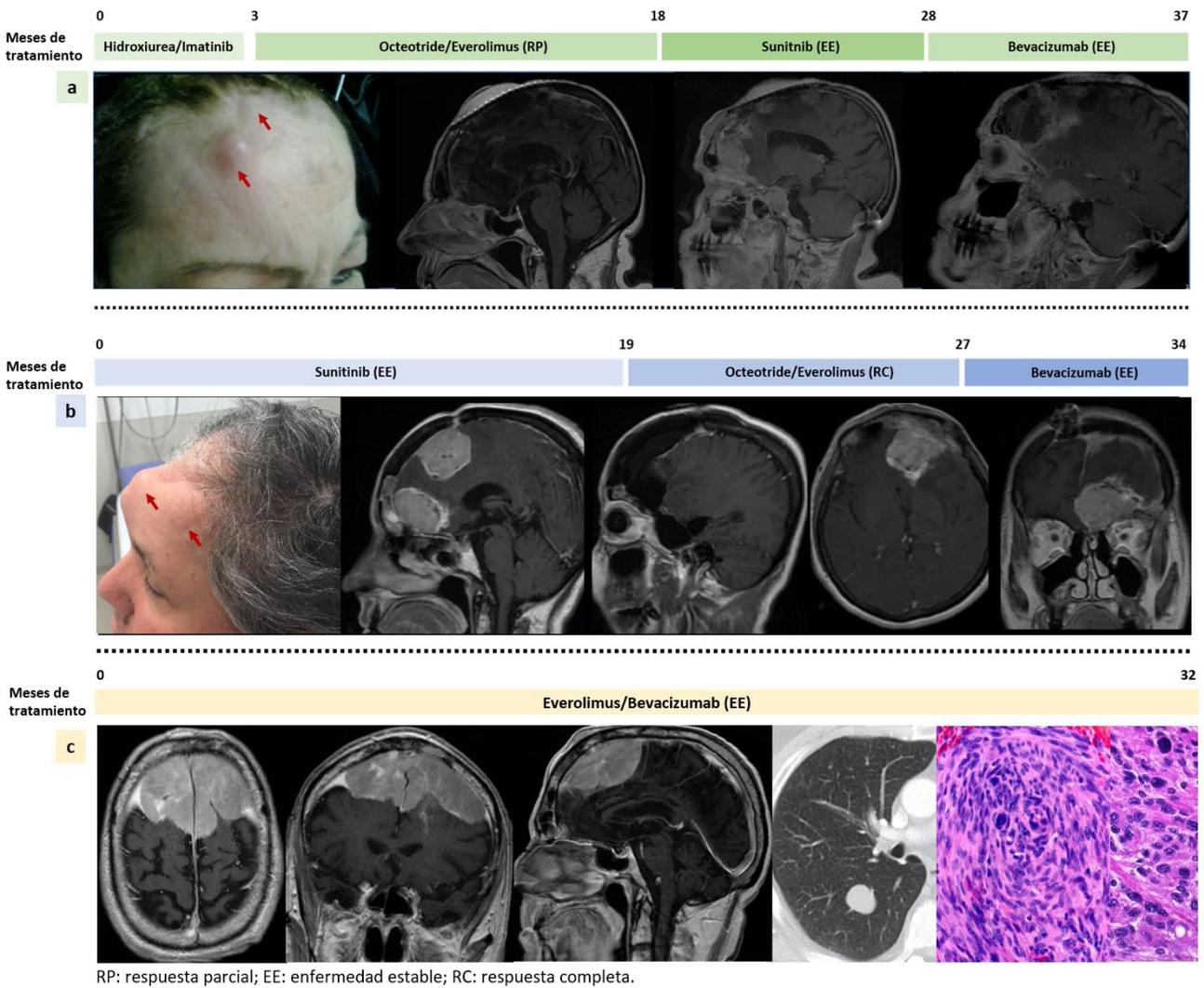
**Figura 2a.** Mediana para la supervivencia global según el tratamiento de primera línea con everolimus 36 meses (IC 95% 25.3-41.7) y sunitinib 29.5 meses (IC 95% 22.5-37.5;  $p = 0,349$ ). **2b.** Mediana para la supervivencia libre de progresión de acuerdo al tratamiento de primera línea con everolimus (12.1 meses, IC95% 9.2-21.1) y sunitinib (9.1 meses, IC95% 6.8-16.8;  $p = 0.43$ ).



**Figura 3.** Supervivencia global según la secuencia de tratamiento, siendo 43.4 meses para la serie E → Su → Bev (IC95% 37.1-49.7), 37.4 meses para la serie Su → E → Bev (IC95% 26.3-48.0), y 27.7 meses para la sucesión Su → Bev → E (IC95% 12.4-46.0; p = 0.0001).

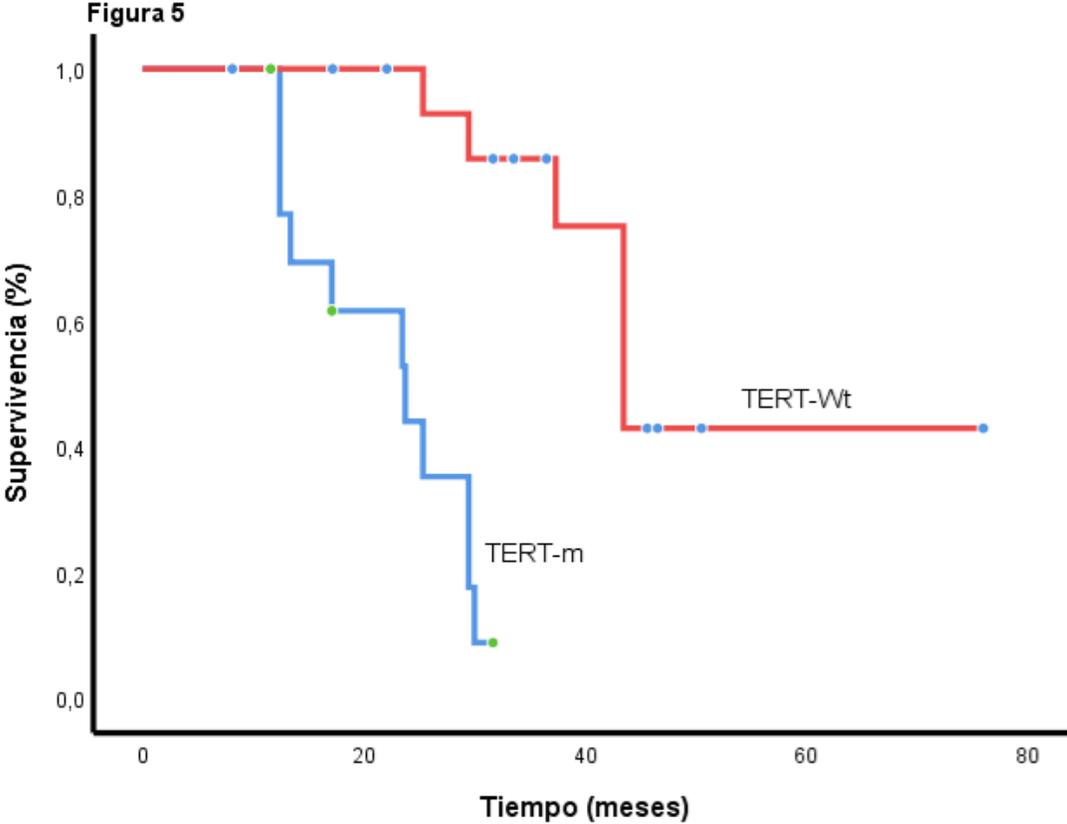


**Figura 4a.** Mujer de 54 años con el diagnóstico de meningioma anaplásico recurrente en 3 oportunidades y con TERT silvestre, tratado en tres oportunidades con cirugía, IMRT, radiocirugía, y con la secuencia  $E \rightarrow Su \rightarrow Bev$  intervención con la que alcanzó una SG de 37 meses. **b.** Mujer de 59 años en quien se diagnosticó meningioma anaplásico portador de la mutación **TERT<sup>C228T</sup>** rápidamente evolutivo a pesar de la ejecución de dos intervenciones neuroquirúrgicas parciales, el uso de IMRT y la administración de la secuencia  $Su \rightarrow E \rightarrow Bev$ , manejo con el que se logró supervivencia global de 39.5 meses, 34 de los cuales estuvo en tratamiento médico. **c.** Hombre de 47 años con meningioma anaplásico bifrontal TERT<sup>C228T</sup> de gran tamaño con extensión ósea y pulmonar tratado con exéresis parcial, IMRT y la combinación *Eerolimus/Bevacizumab*, intervención con la que alcanzó estabilidad global de la enfermedad por 32 meses (en curso).



RP: respuesta parcial; EE: enfermedad estable; RC: respuesta completa.

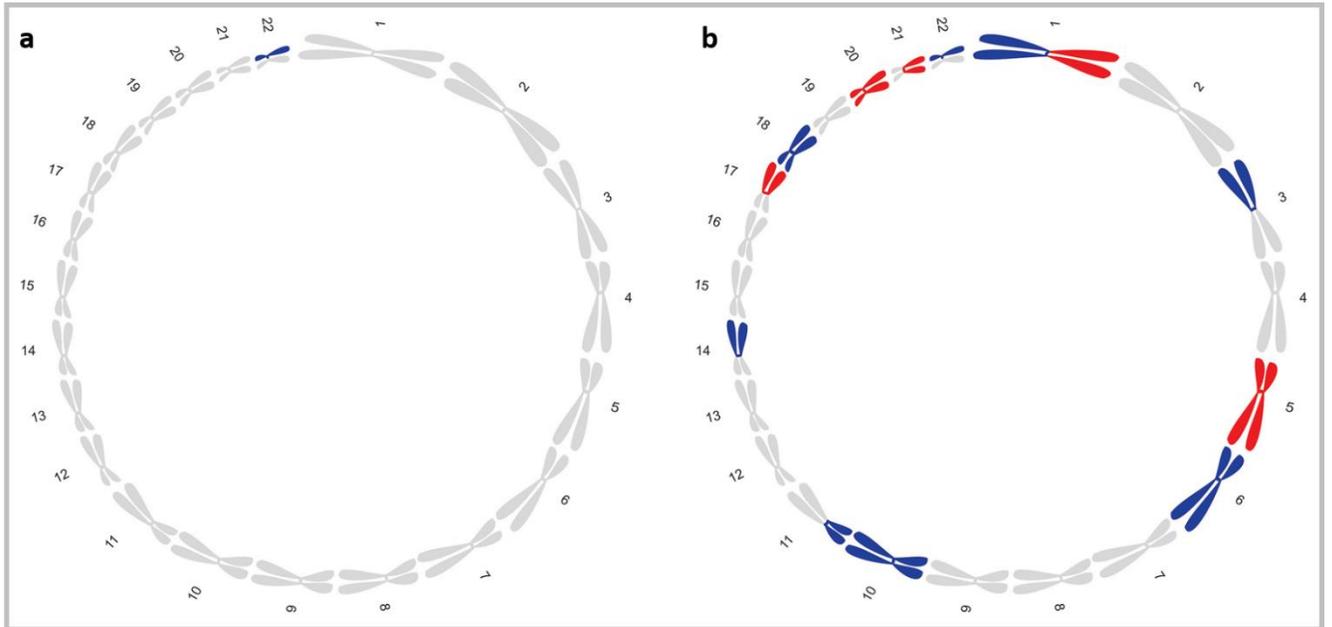
Figura 5. Supervivencia global según la presencia de mutaciones en TERT.



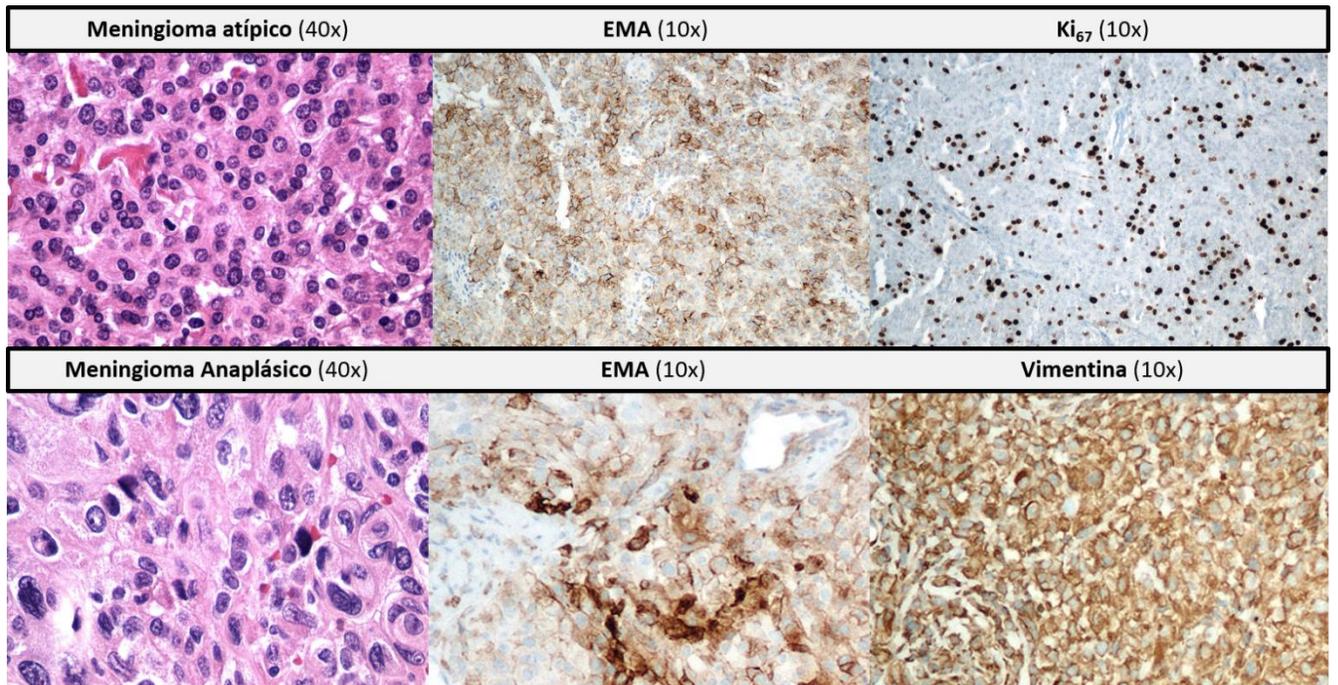
**Tabla 1.** Características de los pacientes.

<b>Variable</b>	<b>Valor</b>	<b>%, rango o IC95%</b>
Edad (media)	51.3 años (DE+/- 14.9)	28 -88 años
Mujeres N (%)	25	62.5%
<b>Patología</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
OMS II/Atípico recurrente N (%)	11	27.5
OMS III/Anaplásico N (%)	29	72.5
<b>Numero de recurrencias antes de iniciar el tratamiento médico</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
1	8	20.0
2	11	27.5
3	10	25.0
4	8	20.0
5	3	7.5
<b>Localización primaria</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Convexidad	4	10.0
Parasagital	10	25.0
Fosa anterior	18	45.0
Fosa media	5	12.5
Fosa posterior	3	7.5
<b>Multicentricidad</b>	10	25
<b>Número de cirugías previas</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
1	4	10.0
2	23	57.5
3	7	17.5
4	3	7.5
5	3	7.5
<b>Extensión de la resección</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Resección total	20	50.0
Resección subtotal	20	50.0

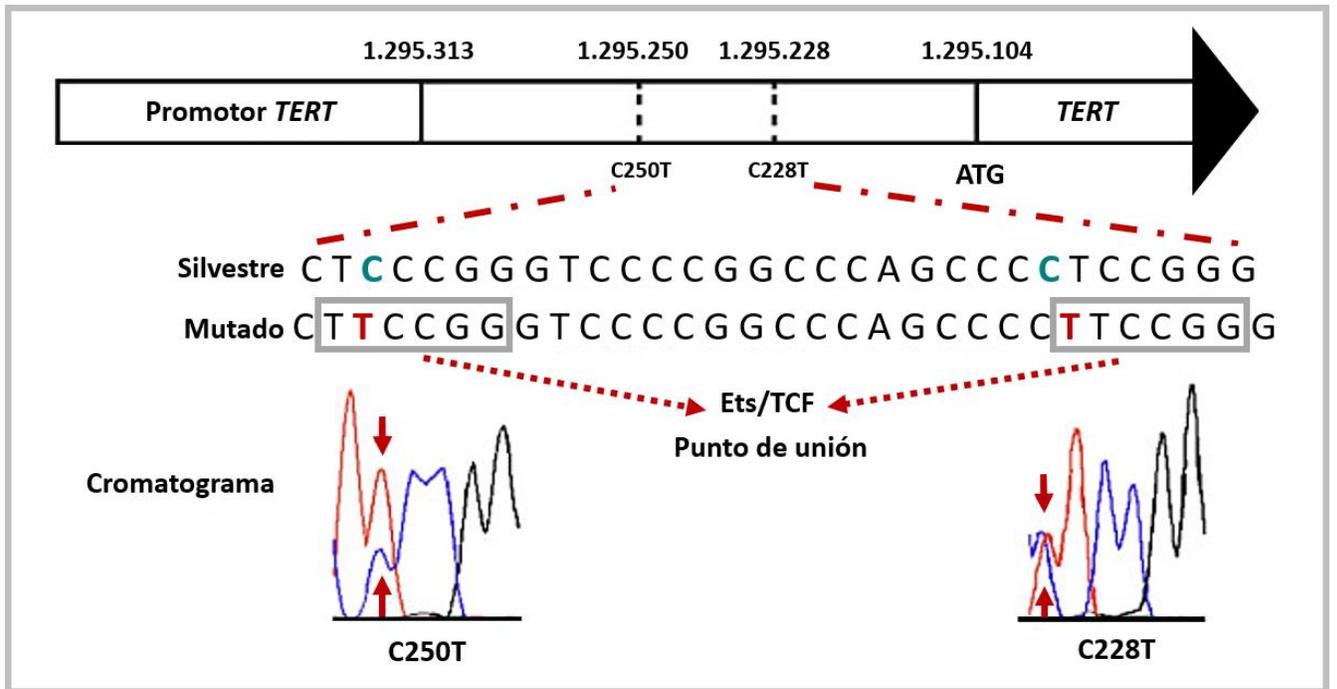
## Figuras suplementarias



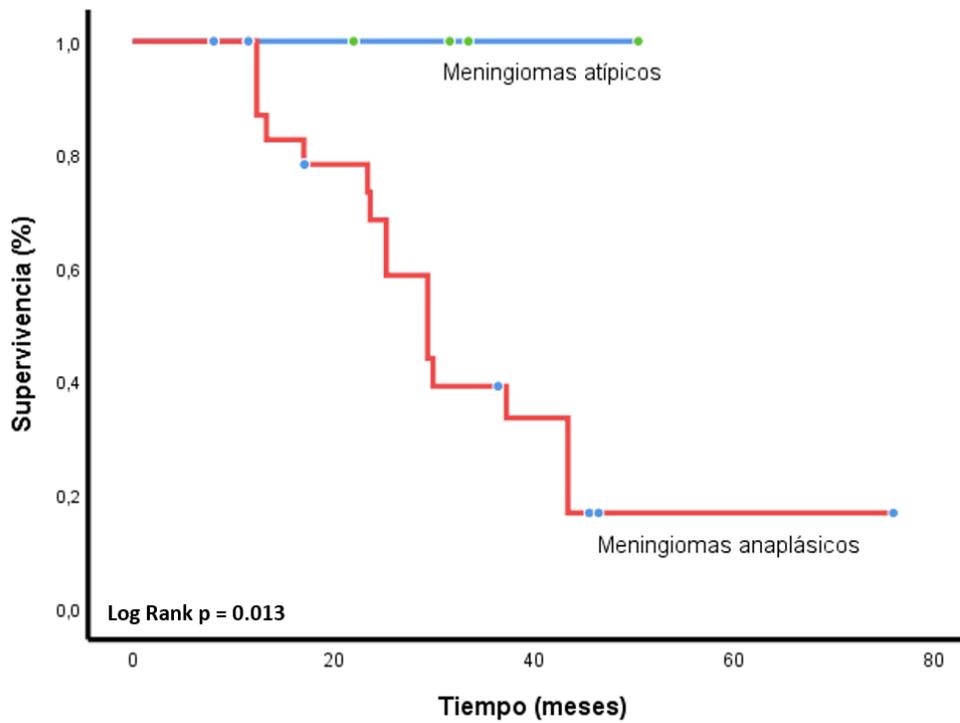
**Figura suplementaria 1.** Alteraciones cromosómicas más frecuentes en los meningiomas grado I-III. **a.** La monosomía 22 es la alteración relacionada con ganancia en el número de copias más común en los meningiomas y, con frecuencia, el único evento en los tumores grado I. **b.** Las alteraciones recurrentes en el número de copias de los cromosomas coloreados son un sello distintivo representan a los meningiomas de alto grado. El azul, denota la pérdida cromosómica, y el rojo, la ganancia.



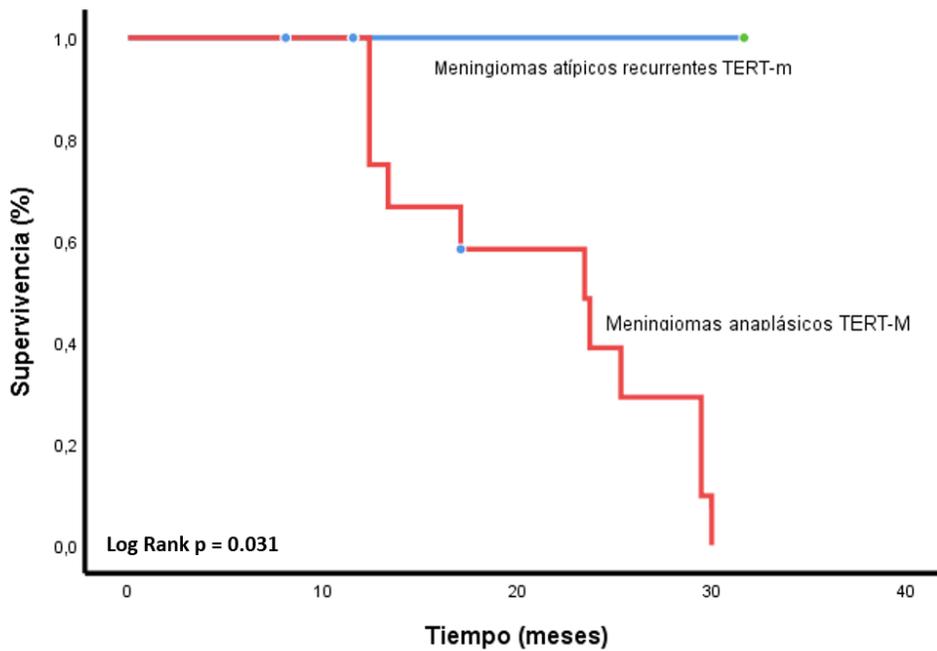
**Figura suplementaria 2.** En la franja superior se muestra la secuencia patológica de un meningioma atípico (OMS II) con un alto índice mitótico ( $\geq 4/10$  HPF) y arquitectura de laminación, formación de células pequeñas, hipercelularidad, macronucléolos y necrosis. Las imágenes ilustran además la proliferación medida por el Ki67, al igual que la expresión del antígeno epitelial de membrana (EMA). En la porción inferior de la imagen se encuentra la histología de un meningioma anaplásico (OMS III) con  $>20$  mitosis por 10 HPF, marcado pleomorfismo celular y nuclear y aspecto sarcomatoide.



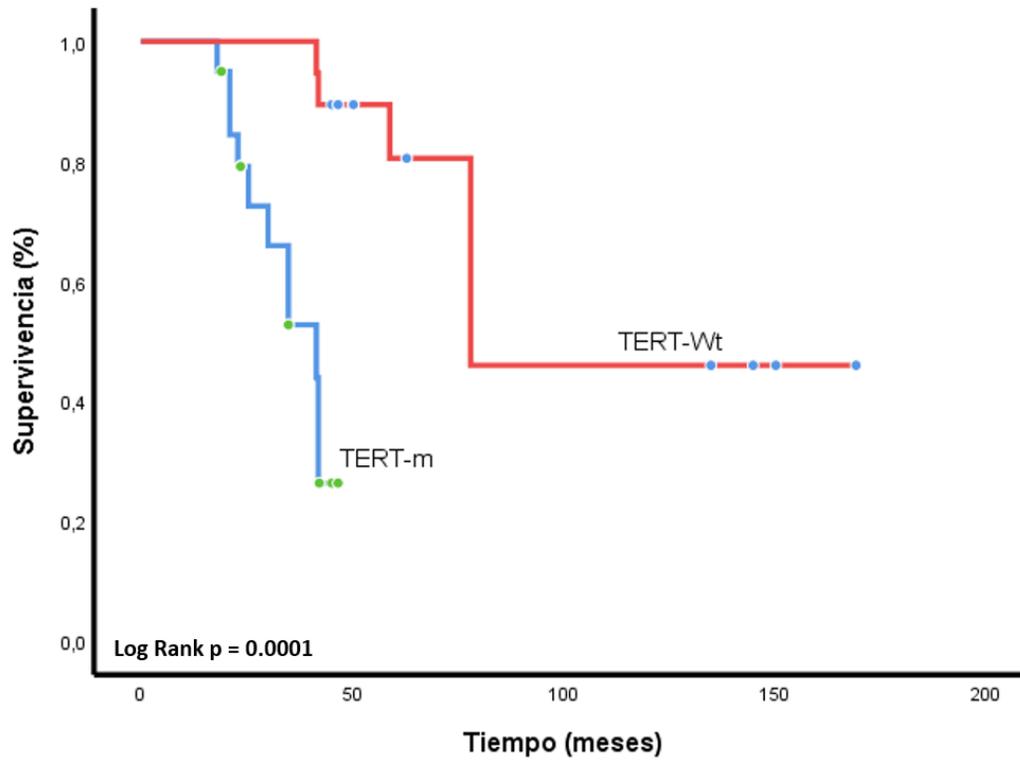
**Figura suplementaria 3.** Esquema de la región promotora de *TERT* con la numeración de los nucleótidos en el cromosoma 5. También, la secuencia de ADN de la región “hotspot” con una hebra de tipo silvestre y una mutada, donde se demuestra el intercambio de una citosina por una timina (representada en rojo). Cada mutación conduce a un nuevo punto de unión para los factores de transcripción de E-26 y para los complejos de los factores ternarios (Ets/TCF) (resaltados por rectángulos de color gris). Los cromatogramas de secuenciación representativos muestran las mutaciones heterocigotas C228T y C250T (indicadas por las flechas).



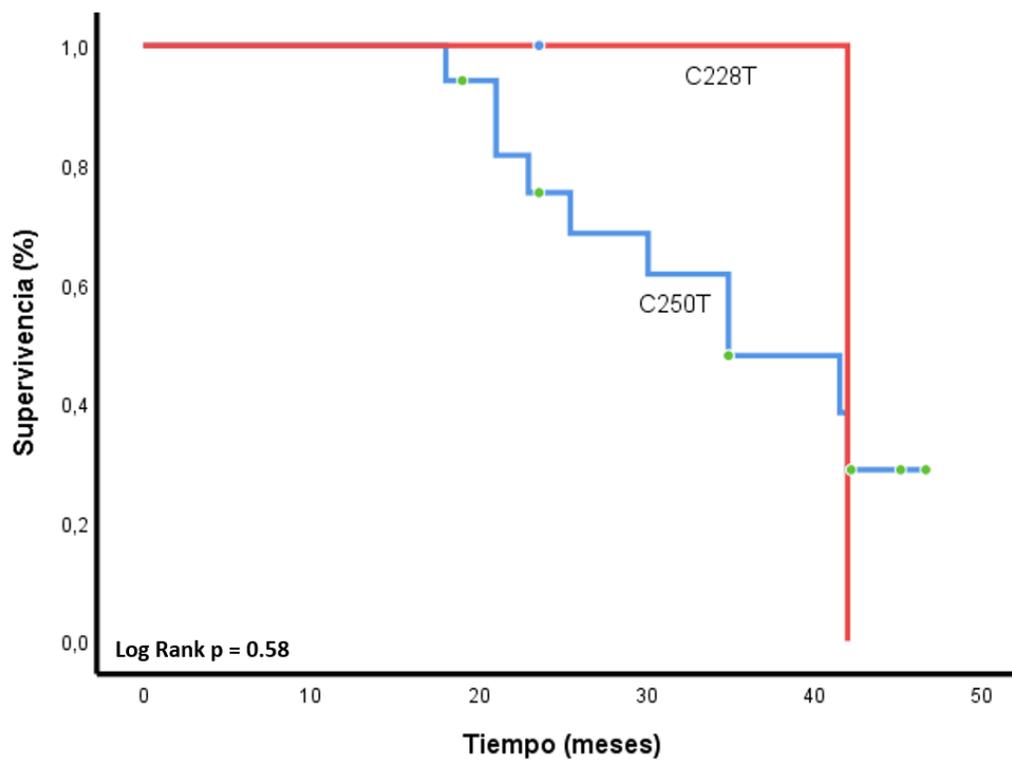
**Figura suplementaria 4.** Supervivencia global para los meningiomas atípicos y anaplásicos a partir del inicio del tratamiento médico.



**Figura suplementaria 5.** Supervivencia global a partir del inicio del tratamiento según la presencia de mutaciones en el *pTERT* y el grado tumoral (atípicos y anaplásicos).



**Figura suplementaria 6.** Supervivencia global desde el diagnóstico según la presencia de mutaciones en el *pTERT*.



**Figura suplementaria 7.** Supervivencia global desde el diagnóstico en los pacientes con mutaciones en el *pTERT* según su variante.