

Universidade Federal do Maranhão  
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde  
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde  
**Doutorado**

**REGRESSÃO ESPONTÂNEA DE CORDOMA APÓS COVID-19**

LUIS FERNANDO MOURA DA SILVA JUNIOR

São Luís  
2021

LUIS FERNANDO MOURA DA SILVA JUNIOR

## **REGRESSÃO ESPONTÂNEA DE CORDOMA APÓS COVID-19**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para a obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Natalino Salgado Filho

Coorientador: Prof. Dr. Orlando José dos Santos

São Luís  
2021

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Moura da Silva Junior, Luis Fernando.

REGRESSÃO ESPONTÂNEA DE CORDOMA APÓS COVID-19 / Luis  
Fernando Moura da Silva Junior. - 2021.

65 p.

Coorientador(a): Orlando José dos Santos.

Orientador(a): Natalino Salgado Filho.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em  
Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão,  
São Luis, 2021.

1. Infecção por Coronavírus. 2. Notocorda. 3.  
Regressão Neoplásica Espontânea. 4. Sarcoma. I. dos  
Santos, Orlando José. II. Salgado Filho, Natalino. III.  
Título.

LUIS FERNANDO MOURA DA SILVA JUNIOR

**REGRESSÃO ESPONTÂNEA DE CORDOMA APÓS COVID-19**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Aprovada em     /     /

BANCA EXAMINADORA

---

**Prof. Dr. Natalino Salgado Filho (Orientador)**  
**Universidade Federal do Maranhão**

---

**Prof. Dr. Ricardo Ramina**  
**Hospital INC**

---

**Prof. Dr. Plínio da Cunha Leal**  
**Universidade Federal do Maranhão**

---

**Prof. Dra. Conceição de Maria Pedrozo e Silva de Azevedo**  
**Universidade Federal do Maranhão**

---

**Prof. Dr. Orlando Jorge Martins Torres**  
**Universidade Federal do Maranhão**

Dedico este trabalho a três pessoas que partiram desta vida muito cedo, mas que deixam belos exemplo e lições, porque souberam sorrir e amar integralmente durante cada segundo em que estiveram por aqui:

Tia Losiney, Tio Leal e Tia Leda.  
*(In memoriam)*

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Professor Dr. Natalino Salgado Filho, pela oportunidade de concluirmos um ciclo de formação acadêmica iniciado há 18 anos atrás com a criação da Liga Acadêmica de Cirurgia Experimental do Maranhão – LACEMA.

Ao Professor Dr. Orlando José dos Santos, pelos ensinamentos daquilo que precisamos aprender e não consta nos livros, ao longo de toda a minha formação médica e científica.

Ao Professor Dr. Antonio Marcus de Andrade Paes, pelo apoio, colaboração e pelas orientações fundamentais para a conclusão desta jornada com sucesso.

À Universidade Federal do Maranhão – UFMA, instituição onde comecei minha formação profissional e concluo mais esta etapa.

À Liga Acadêmica de Cirurgia Experimental do Maranhão – LACEMA, onde dei meus primeiros passos na vida científica e onde pude realizar parte das atividades experimentais do Doutorado.

Aos meus pais, Luis Fernando e Maria Carmen, pelo ensinamento prático de que o amor é a matriz da nossa existência e o elemento suficiente para alcançarmos a felicidade.

À minha irmã, Fernanda, pelo estímulo de sempre e pelas lições de que, em tudo, devemos ter simplicidade e tranquilidade.

À Letícia, minha companheira, incentivadora e colaboradora em todos os aprendizados e em todas as vitórias, por sempre ter uma palavra de confiança e por trazer leveza e cor para o meu caminho.

Aos Dr. Periguari Lucena e Aldemir Nunes Junior, os meus primeiros mestres da vida profissional, por todas as oportunidades únicas que me ofereceram e por todo o apoio para que eu pudesse construir uma base sólida na minha formação profissional.

Ao Dr. Ricardo Ramina, pela dedicação, pela confiança e pelo ensinamento da sua filosofia profissional que associa conhecimento técnico, proficiência cirúrgica e o eterno pensamento de que quando estamos trabalhando, estamos diante de alguém que nos confiou sua saúde e às vezes sua vida e, por isso, merece toda nossa dedicação e respeito.

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	13
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	14
<b>2.1 Regressão espontânea de tumores</b> .....	14
2.1.1    Conceito .....	14
2.1.2    Imunoedição tumoral.....	15
2.1.3    Regressão tumoral associada à infecção .....	18
<b>2.2 Cordomas</b> .....	27
2.2.1    Aspectos gerais.....	27
2.2.2 <i>Brachyury</i> e outros alvos moleculares .....	29
2.2.3    Microambiente imunológico .....	31
<b>2.3 COVID-19</b> .....	34
2.3.1    Resposta imunológica na COVID-19 .....	36
<b>3 OBJETIVO</b> .....	40
<b>3.1 Objetivo geral</b> .....	40
<b>3.2 Objetivos específicos</b> .....	40
<b>4 RESULTADO</b> .....	41
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	56
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	58
<b>ANEXO I</b> .....	65



## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

COVID-19	<i>Coronavirus disease 2019</i>
SARS-COV-2	Coronavirus 2 da síndrome respiratória aguda grave
NK	<i>Natural killers</i>
IFN	Interferon
CD	<i>Cluster of differentiation</i>
IL	Interleucina
CTL	Linfócito T citotóxico
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
TNF	Fator de necrose tumoral
BCG	Bacilo de Calmette-Guérin
TGF	Fator de crescimento transformador
EBV	Epstein-Barr vírus
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
HPV	Papiloma vírus humano
PMAP	Padrões moleculares associados a patógenos
DNA	Ácido desoxirribonucleico
NO	Óxido nítrico
RM	Ressonância magnética
EMA	Antígeno epitelial de membrana
TEM	Transição epitélio-mesenquimal
MVA	<i>Modified Vaccinia Ankara</i>
ICAM	Molécula de adesão intercelular
LFA	Antígeno associado a função linfocitária
HDAC	Histona deacetilase
SMARCB1	Regulador dependente de actina, associado à matriz e associado à SWI/SNF, membro 1 da subfamília B da cromatina
EZH2	Potenciador de Zeste homólogo-2
PDGFR	Receptor de fator de crescimento derivado de plaqueta
VEGFR	Receptor de fator de crescimento endotelial vascular
EGFR	Receptor do fator de crescimento epidérmico
HER2/neu	Receptor do fator de crescimento epidérmico humano tipo 2

PI3K	Fosfoinosítídeo 3-quinase
AKT	Proteína quinase B
PTEN	Fosfatase homóloga à tensina
mTOR	Alvo mecanístico da rapamicina
PD-L1	Ligante da proteína de morte celular programada 1
PARP	Poli ADP-ribose polimerase
LIF	Fator inibidor de leucemia
PD-1	Proteína de morte celular programada 1
RNL	Razão neutrófilo-linfócito
RPL	Razão plaqueta-linfócito
SII	<i>Systemic inflammation-immune index</i>
PNI	Índice prognóstico nutricional
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
TIL	Linfócitos infiltrantes de tumor
FOXP3	Escurfina ou <i>Forkhead box protein P3</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
RNA	Ácido ribonucleico
SARA	Síndrome da angústia respiratória aguda
LHS	Linfocitose hemofagocítica secundária
HLA-DR	<i>Human Leukocyte Antigen – DR isotype</i>
TIM3	<i>T cell immunoglobulin and mucin domain-containing protein 3</i>
LAG3	<i>Lymphocyte Activation Gene-3</i>
CTLA4	<i>Cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4</i>
NKG2A	<i>CD94/NK group 2 member A</i>
MERS-CoV	<i>Middle East respiratory syndrome coronavirus</i>
IgG	Imunoglobulina G
OS	<i>Overall survival</i>
GTR	<i>Gross total resection</i>
MRI	<i>Magnetic resonance image</i>
AST	<i>Aspartate aminotransferase</i>
ALT	<i>Alanine aminotransferase</i>
CRP	<i>C-reactive protein</i>

CT	<i>Computed tomography</i>
RT-PCR	<i>Reverse transcription polymerase chain reaction</i>
GFAP	<i>Glial fibrillary acidic protein</i>
KPS	<i>Karnofsky Performance Scale</i>
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
IHC	<i>Immunohistochemistry</i>
NSP12	<i>Non-structural protein 12</i>
RIPK1	<i>Receptor-interacting serine/threonine-protein kinase 1</i>
T2W	<i>T2-weighted</i>
T1W	<i>T1-weighted</i>

## RESUMO

Os estudos sobre a COVID-19 e os seus efeitos continuam trazendo novos conhecimentos à literatura, constantemente. A regressão espontânea de tumores é um evento que sempre despertou muito interesse de estudos da área médica. Em diversos casos da literatura, há a citação de eventos infecciosos concomitantes ao período de regressão do câncer. Em decorrência disso, a regressão tem sido atribuída a eventos imunológicos. Inclusive, foram esses eventos que despertaram o interesse para o estudo das imunoterapias oncológicas. Os cordomas são tumores de crescimento habitualmente lentos, mas agressivos localmente e associados a altas taxas de recorrência e mortalidade. Em relação a esses tumores, a literatura tem quatro casos de regressão publicados, mas nenhum associado à COVID-19. Até o momento, apenas um caso de linfoma teve a sua remissão associada à COVID-19. A COVID-19 provoca diversas alterações no funcionamento do sistema imunológico, podendo ter impacto direto no processo de oncogênese e imunoedição tumoral. O objetivo deste trabalho é relatar um caso de regressão espontânea de cordoma associado à infecção por SARS-COV-2, compilar os outros casos da literatura disponíveis para estabelecer aspectos comuns e propor possíveis mecanismos que possam explicar a associação desses eventos.

Palavras-chave: Regressão Neoplásica Espontânea; Infecção por Coronavírus; Notocorda; Sarcoma.

## **ABSTRACT**

Understanding COVID-19 and its effects constantly brings new knowledge to the literature. The spontaneous remission of tumors is an event that has always sparked much interest in medical studies. In several cases in the literature, infectious events are mentioned concomitantly with the period of cancer remission. As a result, remission has been attributed to immunological events. In fact, it was these events that aroused interest in the study of oncological immunotherapies. Chordomas are usually slow-growing tumors, but are locally aggressive and associated with high rates of recurrence and mortality. Regarding said tumors, the literature has four published cases of regression, but none associated with COVID-19. Only one case of lymphoma had its remission associated with COVID-19. COVID-19 causes several changes in the functioning of the immune system, which may have a direct impact on the oncogenesis process and tumor immunoediting. The present paper aims to report a case of spontaneous regression of chordoma associated with SARS-COV-2 infection, compile the other cases in the literature available to establish common aspects, and propose possible mechanisms that could explain the association of these events.

**Keywords:** Spontaneous Neoplastic Regression; Coronavirus Infection; Notochord; Sarcoma.

## 1. INTRODUÇÃO

A regressão espontânea de tumores é um evento que sempre despertou muito interesse de estudos da área médica. Esses casos são registrados na literatura médica desde 1742 e tal fenômeno é denominado tumor de São Peregrino. O nome faz referência a um jovem padre que, no século 14, teria apresentado uma lesão ulcerada na pele da perna, por um câncer adjacente na tíbia, com necessidade de amputação do membro e que o tumor teria regredido espontaneamente na noite que antecederia a cirurgia (KUCEROVA; CERVINKOVA, 2016).

Em diversos casos da literatura, há a citação de eventos infecciosos concomitantes ao período de regressão do câncer. Em decorrência disso, a regressão tem sido atribuída a eventos imunológicos. Inclusive, foram esses eventos que despertaram o interesse para o estudo das imunoterapias oncológicas (JESSY, 2011).

Diversos tipos histológicos já foram associados à regressão espontânea como tumores embrionários, tumores de mama, tumores renais, melanomas, sarcomas, tumores do sistema nervoso entre outros (THOMAS; BADINI, 2011).

Os cordomas são tumores de crescimento habitualmente lento, mas agressivos localmente e associados a altas taxas de recorrência e mortalidade (TENNY; VARACALLO, 2021). Em relação a esses tumores, a literatura tem quatro casos de regressão publicados. Em um deles a suspeita foi apenas radiológica sem confirmação histológica (PASSERI et al., 2020); outro teve aspectos da análise histopatológica e imunohistoquímica compatíveis, mas não citado teste para *brachyury* (RADL et al. 2005); num terceiro o achado histológico era sugestivo, mas a imunohistoquímica negativa para *brachyury* (BANDER et al, 2020) e, no mais recente, o diagnóstico foi confirmado por histopatologia e imunohistoquímica positiva para *brachyury* (VELLUTINI et al., 2021).

No que tange aos eventos infecciosos possivelmente associados, nesse momento, o mundo enfrenta sua maior pandemia, a COVID-19. Diversos efeitos imunológicos dessa doença estão sendo estudados e apenas um caso de regressão espontânea foi associado à infecção pelos SARS-COV-2. Trata-se de um paciente com linfoma de Hodgkin (CHALLENOR; TUCKER, 2021).

O estudo da associação de regressão espontânea de um tumor, que habitualmente é recorrente e localmente agressivo como os cordomas, com a COVID-19, pode levar à compreensão dos mecanismos subjacentes a regressão espontânea de tumores, podendo guiar a descoberta de novos tratamentos. Além disso, também se pode contribuir para o entendimento dos mecanismos de resposta imunológica da COVID-19, foco de grande atenção do mundo científico no contexto atual.

Esta tese será apresentada no formato de artigo. Para o desenvolvimento deste trabalho, foi realizado um levantamento da literatura atual em língua inglesa sobre aspectos imunológicos da regressão espontânea de tumores, casos de regressão de cordoma do clivus e sobre a resposta imunológica da COVID-19. Esses dados estão compilados na seção Referencial Teórico. Também foram coletadas as informações do caso novo a ser relatado na literatura. A partir de então, propõem-se possíveis mecanismos de interação entre a regressão tumoral e os eventos clínicos apresentados.

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Regressão espontânea de tumores**

#### **2.1.1 Conceito**

A regressão espontânea do câncer é um fenômeno que vem sendo observado há séculos ou talvez milênios. Apesar de inicialmente ter sido ponto de muitas controvérsias, hoje é aceita como um fato indiscutível. Esse conceito foi claramente definido por Everson e Cole nos anos 60 do século XX, como o “desaparecimento parcial ou completo de um tumor maligno na ausência de tratamento ou na presença de terapia considerada inadequada para exercer influência significativa sobre a doença”. Posteriormente, foi proposto ainda que houvesse comprovação do diagnóstico por exame histopatológico (JESSY, 2011; TADMOR, 2019).

### 2.1.2 Imunoedição tumoral

Conter a proliferação de células anormais é uma necessidade evolutiva dos mamíferos. A combinação das ações do sistema imunológico, tanto de proteção do hospedeiro quanto promotoras do desenvolvimento dos tumores, ao longo do processo oncogênico, é denominada imunoedição tumoral (SENGUPTA *et al.*, 2010). Isso permite ao sistema imunológico controlar e moldar o câncer, promovendo uma seleção negativa. Com isso, progressivamente, a interação entre o sistema imunológico e as células neoplásicas levam os tumores imunoeditados a se tornarem resistentes à ação do sistema imunológico.

Situações como *downregulation* da expressão de antígenos associados aos tumores em pacientes recebendo imunoterapia, maior incidência de câncer não-relacionado a vírus em pacientes imunossuprimidos pós-transplante em relação à população imunocompetente, o desenvolvimento de resposta imune espontânea em pacientes com câncer e a presença de linfócitos dentro dos tumores como indicador de bom prognóstico reforçam a evidência da imunoedição tumoral em humanos (RAJA *et al.*, 2018; SENGUPTA *et al.*, 2010).

O processo de imunoedição possui três fases: eliminação, equilíbrio e escape ou fuga. A eliminação contempla o reconhecimento das células tumorais e a sua eliminação (RAJA, 2018). Inicialmente, as células da imunidade inata são recrutadas por sinais inflamatórios induzidos pelo remodelamento do estroma, o que reflete o dano tecidual. Nessa etapa, as células *natural killers* (NK) são estimuladas a produzir interferon-gama (IFN- $\gamma$ ), que induzem a morte celular. Outras quimiocinas são produzidas para evitar angiogênese. Ocorre morte celular por apoptose e produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. Por fim, linfócitos CD4+ e CD8+ específicos do tumor se alojam no local da lesão e linfócitos T-citotóxicos destroem as células tumorais que expressam o antígeno e ainda permanecem no local. Essa fase ocorre antes de sintomas clínicos se tornarem evidentes e é possível que um grande número de potenciais tumores sejam erradicados nesse momento (Figura 1) (SENGUPTA *et al.*, 2010).



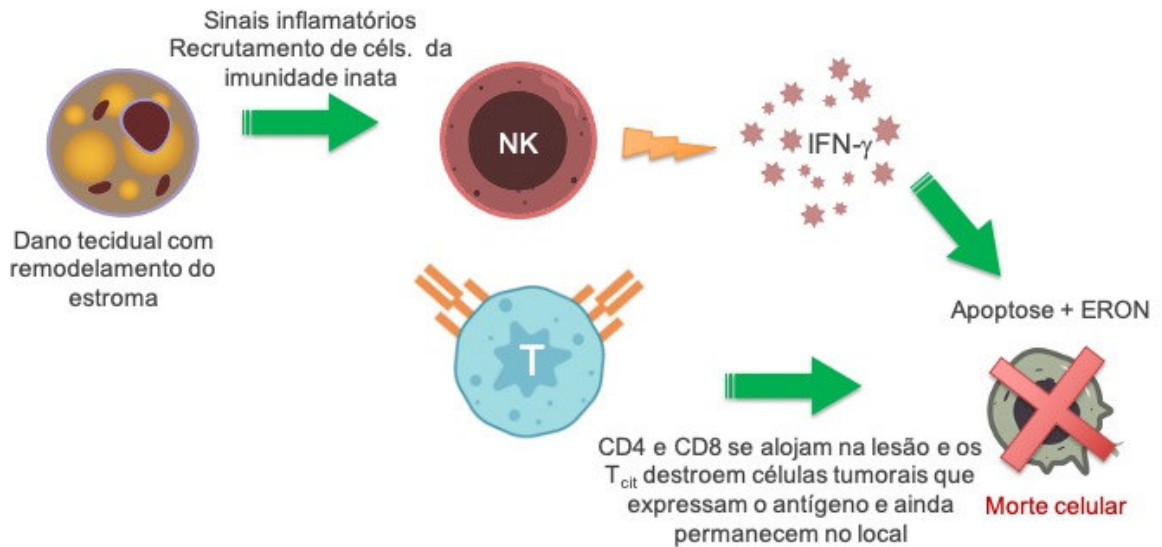


Figura 1. Primeira fase do processo de imunoeedição: eliminação. Representação do recrutamento de células da imunidade inata decorrente do dano tecidual, seguido da produção de IFN- $\gamma$  e outras citocinas pelas células NK. Morte celular por apoptose e produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio. Por fim, a destruição de células tumorais pelos linfócitos T citotóxicos após a invasão da lesão por células CD4+ e CD8+.

As células tumorais com variações que sobrevivem à primeira fase entram na fase de equilíbrio. Agora, as células residuais, geneticamente instáveis e mutantes, persistem no hospedeiro imunocompetente sob a pressão seletiva de linfócitos T CD8+, IFN- $\gamma$  e células dendríticas produtoras de IL-12p70, para seguirem sob controle, não progredirem e nem gerarem metástases (Figura 2) (RAJA *et al.*, 2018; SENGUPTA *et al.*, 2010).

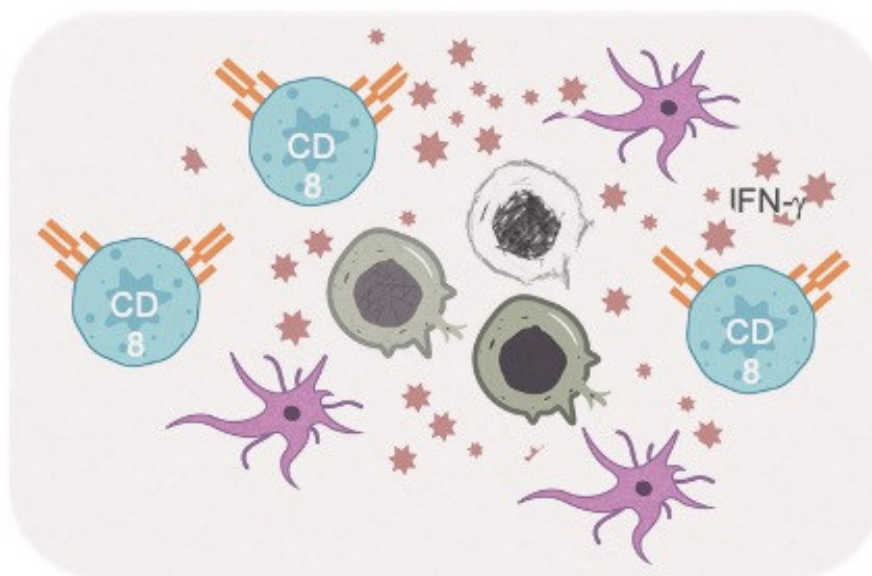


Figura 2. Segunda fase do processo de imunoeedição: equilíbrio. Representação da sustentação do equilíbrio com células instáveis e mutantes sob pressão seletiva das células CD8+, células dendríticas e IFN- $\gamma$ .

Percebe-se, portanto, que na fase de eliminação há imunidade inata e adaptativa, enquanto a fase de equilíbrio é sustentada apenas pela imunidade adaptativa.

Quando, ainda assim, as células se tornam resistentes a esse mecanismo protetor, entram na fase de escape e continuam a crescer e se expandir de maneira descontrolada, num processo que pode levar à malignidade.

Na fase de escape, tem-se anergia das células efetoras de proteção e predomínio de células e citocinas com perfil de tolerância. Esse escape ocorre por mecanismos, como: *upregulation* de vias-chaves tolerogênicas, alterações de proteínas celulares e receptores relacionados à apresentação de antígenos tumorais decorrentes de mutações, alterações na resposta imunológica efetora e disfunção do nicho imunológico (PÉREZ-ROMERO *et al.*, 2020; RAJA *et al.*, 2018).

A capacidade do sistema imunológico de combater células neoplásicas é variável entre indivíduos. Os leucócitos de algumas pessoas conseguem matar mais de 97% das células neoplásicas em menos de 24 horas; enquanto de outros, conseguem eliminar apenas 2% no mesmo tempo. Essa capacidade pode ser herdada geneticamente (THOMAS; BADINI, 2011).

Ocorre que um mesmo grupo de células do sistema imune pode agir de maneiras bem distintas, a depender do contexto em que estão inseridas. Nesse caso, trata-se do microambiente tumoral, parte fundamental no processo de malignização de células. O microambiente tumoral consiste nas células tumorais (parenquimais), fibroblastos/células mesenquimais estromais, sangue, linfáticos, células do sistema imune; bem com as condições em que estão inseridos como matriz extracelular, suprimento de oxigênio e nutrientes, fatores de crescimento, citocinas, pH intersticial, microbioma entre outros. Portanto, a presença de agregados linfoides ou mieloides em tumores não necessariamente indica a participação do sistema imune com efeito antitumoral, dado que essas células podem estar em diferentes estados de ativação, dependendo do microambiente tumoral (PÉREZ-ROMERO *et al.*, 2020).

Os linfócitos T são responsáveis pela imunidade mediada por células e os linfócitos B pela imunidade humoral. As células B têm papel importante na lise de células mediada por ativação do complemento e facilitam a toxicidade mediada por

células dependente de anticorpos. Receptores de lectina tipo-C e células NK são importantes na indução da lise. CTLs reconhecem os antígenos do MHC na membrana celular e as células NK procuram e destroem a célula tumor. Tem-se, portanto, nesse caso, um papel importante na prevenção de metástases (KUCEROVA; CERVINKOVA, 2016; THOMAS; BADINI, 2011).

Existe relato de caso de regressão sem a ocorrência de infecção. Uma possibilidade para explicar esse evento pode ser uma resposta inflamatória não-infecciosa (desencadeada após um procedimento cirúrgico com ressecção incompleta da lesão, por exemplo), que, teoricamente, poderia influenciar o processo de imunovigilância, ativar uma cascata de eventos envolvendo linfócitos T e desencadear uma resposta imunológica celular antitumoral (THOMAS; BADINI, 2011).

Um fenômeno bem conhecido de interação de tratamento com resposta imunológica é o efeito abscopal. Trata-se de uma situação em que um paciente submetido à radioterapia tem efeito de regressão tumoral em áreas (metástases) não-irradiadas. Atribui-se esse fato à capacidade da radioterapia em despertar resposta imune, pois o tecido irradiado libera antígenos que são detectados por células apresentadoras de antígenos, que, sendo ativadas, recrutam células T e promovem migração de células citotóxicas ao leito tumoral distante. Tem-se tanto resposta inata quanto adaptativa. Pode-se, inclusive, observar reversão da tolerância do sistema imune a tumores pouco imunogênicos (RODRÍGUEZ-RUIZ *et al.*, 2018).

Outro estímulo já relatado na literatura é o uso de drogas como anti-hipertensivos bloqueadores de canais de cálcio, suplementos alimentares e chá verde (TADMOR, 2019; THOMAS; BADINI, 2011).

### 2.1.3 Regressão tumoral associada à infecção

A suspeita empírica da relação entre infecção e regressão tumoral já existe há milênios, ainda bem antes de se saber que existiam microrganismos causadores de infecção. Já no Papiro Ebers, um dos tratados médicos mais antigos e importantes de que se tem conhecimento, escrito no Egito Antigo, aproximadamente, no ano 1550 a.C., existe uma recomendação de Imhotep (que viveu em 2600 a.C.), médico egípcio, considerado o primeiro grande sábio da humanidade, para o tratamento de

tumorações com cataplasmas seguido de uma incisão na lesão (que resultaria em infecção local, desconhecida até então) e posterior regressão da lesão (THOMAS; BADINI, 2011).

Um outro caso bastante conhecido é o do padre Peregrine Laziosi, que viveu entre 1265-1345 e sofria de um câncer na tíbia com a indicação de amputação da perna. A lesão cresceu tanto que rompeu a pele e houve infecção. Milagrosamente, quando a infecção cedeu e a cirurgia seria realizada, os médicos observaram que não havia mais sinais de tumor e não há relato de que tenha voltado a crescer (KUCEROVA; CERVINKOVA, 2016).

Nos séculos XVII e XVIII d.C., várias formas de imunoterapia foram reconhecidas e aceitas nos tratamentos dos tumores. Já no século XIX, em 1891, um cirurgião ortopédico chamado William Coley, após perder o seu primeiro paciente vítima de câncer, dedicou-se a estudar novos tratamentos para a doença. O pesquisador encontrou, então, um registro de um imigrante com um sarcoma de bochecha que, após duas ressecções cirúrgicas, recorreu de forma bem extensa. Nessa ocasião, pela grande perda tecidual não foi possível fechar primariamente a área e os enxertos de pele falharam. O tumor voltou a crescer e uma última cirurgia foi feita com ressecção parcial, porém, a ferida infectou gravemente por *Streptococcus pyogenes*, causando erisipela. O paciente, então, teve um quadro clínico exuberante com febre intensa. Pouco pôde ser feito para cessar a infecção na época, mas, surpreendentemente, após cessar o quadro de febre e inflamação, a úlcera melhorou e o tumor reduziu progressivamente até desaparecer. Após 7 anos de acompanhamento, o paciente apresentava uma cicatriz extensa na face, mas nenhum sinal de neoplasia e recebeu alta. Coley, então, suspeitou de que de alguma maneira a infecção teria sido responsável pela inexplicável cura (JESSY, 2011; KUCEROVA; CERVINKOVA, 2016).

Coley decidiu testar a sua suspeita e infectou 10 pacientes portadores de tumores com erisipela; mas a resposta à indução da infecção era muito variável, às vezes sem sucesso e às vezes levando o paciente a óbito. Ele optou, então, por desenvolver uma vacina (toxina de Coley), contendo duas bactérias mortas: *Streptococcus pyogenes* e *Serratia marcescens*. A toxina foi utilizada com sucesso,

apesar dos efeitos colaterais, até a década de 60 do século XX no tratamento de sarcomas e metástases (JESSY, 2011).

A pesquisadora Martha Tracy, que desenvolveu o processo técnico de produção da toxina de Coley, observou que a formulação mais efetiva era a que induzia tanto resposta local quanto sistêmica. Coley considerava alguns aspectos como cruciais para a sobrevivência do paciente. A capacidade de simular uma infecção aguda natural com indução de febre era a principal delas. Uma reação febril intensa era o sintoma mais associado à regressão dos tumores. Além do ganho de anos de sobrevivência, muitos pacientes viveram o resto das suas vidas sem evidência de câncer (JESSY, 2011).

Durante a febre, o organismo aumenta a sua atividade para reconhecer antígenos, tornando-se capaz de reconhecer tanto tumores quanto microrganismos invasores. Células apresentadoras de antígenos então comunicam a identidade do patógeno aos linfócitos e estabelece uma imunidade ativa contra alvos imunologicamente discretos (JESSY, 2011).

As células tumorais são mais sensíveis ao calor que células normais. A febre pode ter um papel na remissão do câncer, por liberar fatores pró-inflamatórios capazes de estimular células dendríticas e ativar células T (KUCEROVA; CERVINKOVA, 2016). Ademais, sendo mais suscetíveis a altas temperaturas e ocorrendo mais morte celular, há maior quantidade de debris celulares tumorais com antígenos expostos, que podem servir de ativadores de células dendríticas para promoverem uma resposta de células T mais intensa. A febre é um sinal clínico observado em 25 a 80% dos casos de regressão tumoral documentados. É possível que as exotoxinas possam funcionar como superantígenos, promovendo uma expansão policlonal de células (THOMAS; BADINI, 2011).

Nos experimentos de Coley, a regressão ocorreu em horas após a injeção da toxina e a descontinuidade da aplicação por um dia resultou no reaparecimento da lesão. Tal fato sugere que a regressão, nesses casos, é relacionada à imunidade celular, mediada mais pela resposta inata não especializada do que pelo sistema adaptativo, que é mais lento (JESSY, 2011; KUCEROVA; CERVINKOVA, 2016). Além disso, já foi demonstrado que a localização e densidade de células T CD3 e CD8 (Immunoscore) em tumores colorretais é um fator de bom prognóstico de sobrevivência

superior à classificação por tamanho e extensão (TNM). Um achado sugere que mesmo na fase mais tarde de resposta adaptativa, a imunidade mediada por células parece ter um papel mais relevante que a imunidade humoral (PÉREZ-ROMERO *et al.*, 2020; THOMAS; BADINI, 2011). É interessante destacar que apesar de se observarem células dentro e ao redor de alguns tumores, a inflamação local espontânea não é observada com frequência ou vista histológica ou clinicamente. Isso sugere que essas lesões devem estar na fase de escape ou fuga do processo de imunoeedição (SENGUPTA *et al.*, 2010).

O caso de imunoterapia induzida por microrganismo de maior sucesso é a aplicação de BCG (Bacilo de Calmette-Guérin ou *Mycobacterium bovis*) em tumores de bexiga superficiais. A vacina é aplicada diretamente na bexiga. Diversos estudos mostraram clara correlação entre o uso de BCG e diminuição nas taxas de recorrência ou postergação da recorrência. Nos casos operados, aproximadamente, 60% não têm sinais de recorrência tumoral. O efeito se dá por resposta imune local com produção de IL-2, TNF- $\alpha$  e INF- $\gamma$ . A administração intravesical da vacina, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18 e fatores estimuladores de colônias de macrófagos são detectáveis na urina durante o curso da doença. Infelizmente, o método tem toxicidade relevante e é ineficiente em 30-50% dos casos (KUCEROVA; CERVINKOVA, 2016).

Com o intuito de reduzir efeitos colaterais e aumentar a eficácia dos tratamentos, os microrganismos utilizados nas imunoterapias continuam sendo estudados e alguns critérios devem ser considerados para definir o que seria o microrganismo ideal para imunoterapia do câncer. O primeiro é que não seja tóxico ao hospedeiro. Deve-se, também, replicar apenas no tumor, ser móvel, se espalhar pelo tumor (inclusive em áreas de necrose e isquemia) e ser capaz de induzir lise de células tumorais. Além disso, é importante que seja lenta e completamente removido do organismo (JAIN; FORBES, 2001).

A instabilidade genética inerente à própria natureza da célula neoplásica faz com que ela continue se modificando, produzindo populações de células com imunogenicidades variáveis e, muitas vezes, escapando das etapas de eliminação e equilíbrio do processo de imunoeedição. Algumas células, por exemplo, reduzem a sua imunogenicidade com diminuição da expressão de MHC classe 1 na sua superfície,

aumentando a tolerância do sistema imune e secretando TGF- $\beta$ , que, por sua vez, inibe a atividade de macrófagos e linfócitos (THOMAS; BADINI, 2011).

É possível que a infecção aguda, em alguns casos, funcione como um gatilho para ativação do sistema imune de maneira mais intensa, otimizando a imunoeedição. Pode-se aí ter uma potencialização tanto da função imunológica de rastreio a células estranhas (imunovigilância), quanto a respostas inata e adaptativa mais efetivas no combate às células anormais.

Se por um lado as infecções agudas quando influenciam sobre processos neoplásicos chamam a atenção, as infecções crônicas já estão bem associadas à ocorrência de cânceres. A elas se atribui cerca de 15% de todos os casos. Agentes como *Helicobacter pylori*, Epstein-Barr vírus (EBV), vírus da imunodeficiência humana (HIV), papiloma vírus humano (HPV), herpes vírus tipo 8, vírus da hepatite B e C são reconhecidamente associados à ocorrência de cânceres específicos (SENGUPTA *et al.*, 2010). Nesses casos, a interação com o sistema imunológico é diferente e a infecção crônica por si só já reflete uma falha da resposta imunológica, o que tende a favorecer a ocorrência de neoplasias, assim como a imunossupressão tanto patológica quando induzida por medicamentos em pacientes submetidos a transplantes de órgãos.

Quando se trata da infecção tumoral direta, tem-se a infiltração de linfócitos e células apresentadoras de antígenos profissionais (como macrófagos e células dendríticas). A ligação de padrões moleculares associados a patógenos (PMAP), como lipolissacarídeos, resíduos de manose, peptidoglicanos, DNA hipometilado, DNA viral de dupla fita, a receptores de reconhecimento de padrões (RRP), como receptores *toll-like*, leva à ativação das células apresentadoras de antígenos. Há, então, a produção de moléculas coestimulatórias como B7, IL-12 e a ativação do sistema imune (KUCEROVA; CERVINKOVA, 2016). As células dendríticas, por sua vez, podem ser estimuladas primariamente por lipopolissacarídeos presentes bactérias gram-negativas ou outros PMAPs presentes em bactérias e vírus, mas ausentes em células tumorais. A infecção aguda num paciente com câncer ativa o reconhecimento das células neoplásicas e as apresenta aos linfócitos T, dando ao paciente um duplo benefício de uma resposta imune ativa e reforçada contra ambos os estímulos (infecioso e tumoral) (THOMAS; BADINI, 2011).

Na regressão associada à infecção, além de caracterizar se a infecção é diretamente das células tumorais ou se ocorre em outro sítio, é fundamental conhecer se ela se trata de um patógeno intracelular ou extracelular. Mais frequentemente, a ligação de PMAPs de patógenos extracelulares levam à ativação de neutrófilos, macrófagos, ativação do sistema complemento, opsonização e posterior resposta adaptativa de perfil Th2, com neutralização de toxinas por anticorpos. Já em relação aos patógenos intracelulares, ocorre uma resposta perfil Th1 mais semelhante à resposta aos vírus, com a ativação de macrófagos, neutrófilos, células NK e posterior resposta adaptativa via com linfócitos T citotóxicos, produção de IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ . Há, ainda, características específicas de cada germe, que podem contribuir na interação, como enzimas e toxinas produzidas pelas bactérias (KUCEROVA; CERVINKOVA, 2016).

A infecção direta da célula tumoral pelo patógeno infeccioso pode levar a aumento na apresentação de antígenos e despertar do sistema de imunovigilância, mas também pode promover regressão por reações no microambiente tumoral. Em células de melanoma de camundongo infectadas por *T. gondii* foi relatada regressão tumoral sem ativação de receptores de lectina tipo-C (CTL), de células NK, sem produção de NO por macrófagos e nem IL-12 ou TNF. Os autores consideraram que o tecido infectado produziu fatores antiangiogênicos que levaram à necrose e morte celular do tumor, abrindo a possibilidade de efeito terapêutico para inibidores endógenos da angiogênese (endostatinas) (KUCEROVA; CERVINKOVA, 2016).

Em casos de infecção não relacionada diretamente às células tumorais, pode ocorrer regressão por reação cruzada entre antígenos do patógeno e antígenos tumorais. Houve reatividade entre soro de pacientes infectados com *Echinococcus* e soro de pacientes portadores de carcinomas. Os anticorpos contra esse antígeno podem tanto aumentar destruição direta das células, quando aumentar a apresentação de antígenos tumorais para células T, induzindo uma resposta antitumoral (OIKONOMOPOULOU *et al.*, 2013).

Outro mecanismo interessante de regressão com infecção direta do tumor, relatado no tratamento com a toxina de Coley, é a ativação de plasminogênio. No caso citado, a estreptoquinase (produzida por *Streptococcus pyogenes*) levou à liberação de



plasmina que, ativando uma cascata de proteases, levou à destruição de proteínas da matriz extracelular. Desse modo, há a morte do tecido tumoral (MAGER, 2006).

Além de diversas bactérias e protozoários, fungos e vírus também já foram associados a regressão tumoral. (TADMOR, 2019).

No que diz respeito aos vírus, trata-se de vírus denominados oncolíticos. Esses microorganismos têm a capacidade de infectar e promover lise de células tumorais de maneira seletiva, não acometendo os tecidos normais. Tal afinidade decorre de diversos mecanismos com a superexpressão de receptores virais nas células tumorais e falhas nos mecanismos de defesa antivirais intracelulares (COCKLE; SCOTT, 2018; LAWLER *et al.*, 2017). Também são importantes para a seletividade por células tumorais, sua rápida divisão celular com altas taxas metabólicas e de reprodução, dando suporte para a replicação viral, comparado às células normais quiescentes, bem como o fato de vários tumores serem deficientes na sinalização antiviral (tipo 1) do IFN, o que facilita a replicação viral (LAWLER *et al.*, 2017).

Os vírus oncolíticos podem ocorrer naturalmente ou serem geneticamente modificados para aprimorar a especificidade tumoral, otimizar as suas propriedades imunostimulantes e aumentar a segurança do seu uso clínico (COCKLE; SCOTT, 2018).

As associações mais consistentes de regressão tumoral são publicadas a partir do início do século XX. Em 1904, George Dock relatou um caso de remissão completa temporária de leucemia aguda em um paciente com influenza (DOCK, GEORGE, 1904). No meio do século um estímulo à viroterapia oncolítica ocorreu com a inoculação de soro de pacientes infectados por hepatite em pacientes com doença de Hodgkin, numa tentativa de se beneficiar do efeito oncolíticos (LETTIERI *et al.*, 2012). Nos anos 60 e 70 do mesmo século, alguns ensaios clínicos foram propostos; porém foram prejudicados pela alta taxa de complicações infecciosas decorrentes do uso de vírus selvagens. Já no fim do século, na última década, com o advento da engenharia genética, os vírus foram modificados para terem tropismo específico pelas células tumorais. Esse fato inaugura uma nova era nos estudos da viroterapia oncolítica (COCKLE; SCOTT, 2018).

O primeiro vírus oncolíticos aprovado para uso clínico pelas agências regulatórias dos Estados Unidos, Europa e Austrália foi o *talimogene laherparepvec*.

Trata-se de um vírus do herpes simples expressando fator estimulador de colônia de macrófago-granulócitos). Esse vírus apresentou resultados positivos em pacientes com melanoma em um estudo de fase III (COCKLE; SCOTT, 2018; GORADEL *et al.*, 2021).

Ensaio clínico testaram uma ampla variedade de vírus com potencial oncolítico, como Coxsackie vírus, vírus da doença de New Castle, parvovirus, reovirus e Senecavirus A. Ademais, isso aconteceu com o vírus do herpes simples, adenovírus, vírus do sarampo, vírus da pólio, retrovírus, vaccínia vírus e o vírus da estomatite vesicular. Porém, estes últimos foram modificados para aumentar a segurança do seu uso, bem como otimizar a especificidade pelas células tumorais (COCKLE; SCOTT, 2018; LAWLER *et al.*, 2017). Cockle e Scott (2018) citaram em 2017 que, até aquele momento, nenhuma transmissão para contactantes de pacientes foi diagnosticada, nem houve mutação viral para formas patogênicas originais (COCKLE; SCOTT, 2018).

O vírus oncolítico do herpes simples tem características que tornam o seu uso bastante favorável no desenvolvimento de novos tratamentos. Ele tem um genoma estável que infecta a maioria das células em diversas espécies tendo, portanto, um amplo potencial citotóxico. O seu genoma grande também o favorece, pois torna-o mais adequado para incorporação de transgenes que facilitam o processo de oncólise. E, ainda, em caso de ocorrência de sintomas clínicos relacionados ao vírus, existem drogas disponíveis para o tratamento (LETTIERI *et al.*, 2012).

A administração do vírus é um dos grandes desafios dessa proposta de tratamento. A administração sistêmica é limitada a via intravenosa ou intranasal, não sendo disponível por via oral. Além disso, a administração sistêmica pode ser neutralizada pela resposta imunológica do paciente ao vírus antes que ele chegue o seu alvo tumoral. Já a administração intratumoral direta, pela demanda técnica e incidência de complicações (como pneumotórax em lesões pulmonares) limita as oportunidades de tratamento (COCKLE; SCOTT, 2018). Outra opção é a utilização de transportadores celulares que protegeriam o vírus de ser reconhecido pelo organismo antes de sua chegada às células-alvo (LAWLER *et al.*, 2017). Definir, portanto, o vírus e a forma de administração são o maior desafio da viroterapia oncolítica (MONDAL *et al.*, 2020).

Diferentes mecanismos levam à morte celular induzida por vírus oncolíticos, incluindo apoptose, necrose, piroptose ou autofagia. Além disso, pode ser estimulada a imunogenicidade no microambiente tumoral pela liberação de debris celulares, antígenos virais, citocinas e padrões moleculares associados a dano celular que podem induzir uma resposta imune inata facilitando o processo de imunoeedição ou adaptativa similar a uma vacinação antitumoral (COCKLE; SCOTT, 2018; GORADEL *et al.*, 2021; LAWLER *et al.*, 2017; LETTIERI *et al.*, 2012).

Os vírus oncolíticos têm, então, duplo papel: de agentes citotóxicos diretos e de imunoterapêuticos. O primeiro aproveita o ciclo natural de vida do vírus. Após replicação e lise, partículas virais repetem o ciclo lítico infectando células vizinhas, fazendo com que a própria terapia se amplifique enquanto for necessária. Esse ciclo segue até que a resposta imune atenua a replicação viral ou que haja depleção das células susceptíveis. Como imunoterapêutico, além do efeito direto sobre a célula, os vírus podem afetar células não infectadas. Já foi demonstrado que o vaccínia vírus interrompe a angiogênese tumoral, reduzindo o aporte sanguíneo e de oxigênio, levando à hipóxia por afecção de células vasculares (GORADEL *et al.*, 2021).

Essas potencialidades podem ser exploradas, inclusive na associação com outras terapias, seja quimioterapia, radioterapia ou imunoterapia (MONDAL *et al.*, 2020). O adenovírus OBP-301 e a radiação ionizante foram testados em linhagens celulares de sarcomas de partes moles com alta e moderada radiosensibilidade, tanto em monoterapia quanto associados. A combinação do vírus com a radiação mostrou efeitos antitumorais mais consistentes que a monoterapia em ambas as linhagens tanto *in vitro* quanto em modelos experimentais de xenoenxerto em subcutâneo (OMORI *et al.*, 2021). Já o adenovírus OBP-702 demonstrou, também *in vitro* e em modelo experimental de xenotransplante, a capacidade de reverter a quimiorresistência de osteossarcomas a doxorrubicina (SUGIU *et al.*, 2021).

O sistema imunológico age transitando entre duas funções principais: defesa e reparação. Quando ativado para o padrão de defesa, como nos casos de infecções concomitantes ao tumor, ou a sua infecção direta, há estimulação da resposta imune que pode promover a regressão por motivos já citados, seja a lesão direta da célula tumoral ou por aumento na apresentação de antígenos, melhorando a imunovigilância e evitando mecanismos de ocultação e fuga do tumor à ação do sistema imune.

Quando o sistema está ativado para a função de reparação, com a produção de citocinas imunossupressoras, fatores de crescimento, fatores angiogênicos e metaloproteinases da matriz pode haver facilitação da progressão do tumor e até desenvolvimento de metástases.

Conforme citado na descrição da imunoedição, uma das grandes dificuldades do sistema imunológico combater os tumores é a capacidade que eles têm de se tornarem não-reconhecidos como tecidos estranhos ao organismo. A imunossupressão, por diminuir a função do sistema imunológico, associada a essa capacidade das células neoplásicas na fase de fuga ou escape se torna uma grande desvantagem.

Diversos tratamentos do arsenal oncológico, sejam procedimentos cirúrgicos, tratamentos radioterápicos ou quimioterapia podem levar à imunossupressão e a esse mesmo mecanismo de facilitação da progressão tumoral. Por isso, as imunoterapias específicas têm sido consideradas grandes expectativas. Nesses casos, teoricamente, ter-se-á o efeito imunológico de defesa contra o tumor sem o prejuízo da imunossupressão da quimioterapia citotóxica. Um contraponto à rápida progressão dessa estratégia, além da alta complexidade para sua produção e do custo, é que não há um evento imunológico único responsável pela regressão tumoral. Todas as respostas imunológicas decorrem de diversas reações complexas e vias interligadas, liberando produtos e estimulando células em quantidades e qualidades específicas, sendo praticamente impossível reproduzir isso *in vitro*, à luz do conhecimento atual.

## **2.2 Cordomas**

### **2.2.1 Aspectos gerais**

Os cordomas são um subtipo raro de sarcoma, originados de células remanescentes da notocorda. A notocorda é uma estrutura embrionária da mesoderme que serve para sinalizar organização e diferenciação de tecidos. Ao final do desenvolvimento, com a regressão, a notocorda se torna o núcleo pulposo dos discos intervertebrais (TENNY; VARACALLO, 2021). Essas células podem ocorrer em qualquer lugar ao longo do esqueleto axial e, portanto, acometem os ossos e partes

moles da base do crânio e coluna vertebral (FREZZA *et al.*, 2019) Anteriormente, acreditava-se que eram mais comuns na região sacral, mas as estatísticas mais atuais sugerem uma distribuição quase equivalente na coluna (32,8%), base do crânio (32%) e sacro (29,2%). A ocorrência em outros sítios é mais rara, em torno de 6% (YANIV *et al.*, 2020).

A incidência ajustada para idade é de aproximadamente 0,08 casos/100.000 habitantes com pico entre a quinta e sétima décadas de vida e predominância no sexo masculino (1,2-2 homens : 1 mulher) (FREZZA *et al.*, 2019; YANIV *et al.*, 2020; ZOU *et al.*, 2018).

Zou *et al.* (2018), numa revisão sistemática com meta-análise, definiram os principais fatores prognósticos em cordomas da base do crânio. O déficit visual pré-operatório, a idade avançada, a ressecção não total ou o esvaziamento da lesão foram fatores preditivos negativos. Um subtipo condroide foi um fator preditivo positivo (ZOU *et al.*, 2018).

Apesar de classificados como tumores de grau baixo a intermediário e de crescimento lento, eles apresentam comportamento local bastante agressivo e 5-40% dos casos podem desenvolver metástases (FREZZA *et al.*, 2019; ZOU *et al.*, 2018). Elas ocorrem em menos de 10% dos casos de cordomas da base do crânio e em 20-40% das lesões da coluna vertebral (GULLUOGLU *et al.*, 2016).

O tratamento padrão-ouro é a ressecção completa *en bloc*. Porém, nem sempre isso é possível, pela alta morbidade e pelo envolvimento de estruturas neurovasculares adjacentes (OZAIR *et al.*, 2020).

Muitos cirurgiões indicam a radioterapia após qualquer tipo de ressecção de cordoma pelo alto risco de recorrência local. A radioterapia nunca deve ser considerada como modalidade isolada de tratamento primário quando se fala de tentar a cura do paciente (TENNY; VARACALLO, 2021; YANIV *et al.*, 2020). Como são lesões radorresistentes, elas necessitam de altas doses de radiação (pelo menos 74Gy, se realizado o fracionamento tradicional de 1,8-2Gy por fração). A recorrência de lesões residuais pequenas pode ser controlada com radiocirurgia por Gamma Knife (YANIV *et al.*, 2020).

Como tem crescimento lento, os cordomas são resistentes à maioria de agentes quimioterápicos citotóxicos. A sobrevida média dos pacientes é de 7,7 anos

e a sobrevida geral em 5 anos varia de 50% a 70%. Já em casos de ressecção completa com margens negativas, isso aumenta para 65% e, em casos inoperáveis, reduz-se para 40%. O paciente deve seguir o tratamento sempre com RM de controle, independente do tempo e evolução (GULLUOGLU *et al.*, 2016; TENNY; VARACALLO, 2021).

Em alguns casos, é proposta uma biópsia para confirmar o diagnóstico e planejar a ressecção cirúrgica. É importante destacar que, nesses casos, no planejamento da biópsia é crítico definir bem o trajeto, pois deve ser incluído na área ressecada junto com o tumor para evitar disseminação e recorrência (TENNY; VARACALLO, 2021).

### 2.2.2 *Brachyury* e outros alvos moleculares

Os cordomas clássicos apresentam positividade na imunohistoquímica para citoqueratinas, S-100, EMA e brachyury (FREZZA *et al.*, 2019; GULLUOGLU *et al.*, 2016). O gene da brachyury, também chamado de gene T, localizado no cromossomo 6q27, codifica um fator de transcrição essencial para a formação da mesoderme e a regulação da sua diferenciação em notocorda no processo de embriogênese (YANIV *et al.*, 2020). Essa proteína atua na migração do mesoderma na linha primitiva, na proliferação e na transição epitélio-mesenquimal (TEM) (OZAIR *et al.*, 2020).

Além da embriogênese, a TEM está envolvida em outros processos orgânicos como cicatrização, fibrose de órgãos, invasão e desenvolvimento de metástases em câncer. Já foi sugerido que haja alguma influência da TEM nos cordomas. Um estudo de cordomas do clivus mostrou que existe uma correlação inversa na expressão de E-caderina e N-caderina. O *downregulation* da E-caderina e *upregulation* da N-caderina estão correlacionados a um aumento na probabilidade de recorrência e morte. As células epiteliais, para ganharem capacidade de migração e invasão tecidual, perdem as suas adesões célula-célula e se tornam células mesenquimais móveis. A redução da expressão de E-caderina tem, portanto, papel fundamental na TEM acelerando a expressão fenotípica de invasibilidade e desenvolvimento de metástases (OZAIR *et al.*, 2020).

O termo brachyury vem do grego e significa “cauda pequena”. Essa proteína pertence à família das proteínas de transcrição T-box. Além de cordomas, a sua ação oncogênica e expressão também se dá em tumores de mama, cólon, pulmão próstata, outros sarcomas e neoplasias hematológicas. A expressão de brachyury em adultos é normalmente restrita ao testículo e partes da tireoide (GULLUOGLU *et al.*, 2016; OZAIR *et al.*, 2020).

A essa proteína já foram atribuídas propriedades imunogênicas com a demonstração de lesão de células tumorais expressoras de brachyury por linfócitos T citotóxicos. Foi desenvolvida uma vacina de levedura com uma melhora da resposta específica para brachyury de linfócitos T CD4+ e CD8+. Essa proteína, inclusive, entra no rol de possibilidades terapêuticas-alvo no tratamento dos cordomas (GULLUOGLU *et al.*, 2016). Outra vacina com vetor MVA (*Modified Vaccinia Ankara*), codificação de brachyury e moléculas coestimulatórias (B7.1, ICAM-1 e LFA-3) foi testada também com geração de resposta CD4 e CD8 específica para brachyury, porém, o efeito não foi sustentado (OZAIR *et al.*, 2020).

A proteína brachyury é expressa em 95% dos cordomas e não ocorre em outras neoplasias mesenquimais. A sua detecção está associada a um menor tempo para progressão da doença em pacientes com cordoma da base do crânio (YANIV *et al.*, 2020). A alta expressão de brachyury foi associada ao *upregulation* de genes associados à via PI3K/Akt (GILL *et al.*, 2020). O processo de expressão é dependente do recrutamento de histonas-demetilases H3K27 (KDM6A ou UTX e KDM6B ou JMJD3). A inativação farmacológica ou a deleção genética dessas demetilases leva a *downregulation* da proteína brachyury e dos seus genes alvos, tanto em linhagens celulares de cordomas quanto em tumores primários (OZAIR *et al.*, 2020).

Cordomas também expressam múltiplas histona-deacetilases (HDACs), particularmente HDAC6 em altos níveis. O tratamento de cordomas com inibidores de pan-histona-deacetilases resultou num aumento da mortalidade celular (SCHEIPL *et al.*, 2013). Então, a modulação com drogas que inibem acetilação H3K4 ou trimetilação H3K27 pode ser um novo caminho para o tratamento dessas lesões.

Nas crianças, um outro regulador epigenético frequentemente delatado em casos de cordoma é o SMARCB1. Esse gene tem função supressora tumoral e antagonista de EZH2. A sua perda leva ao desequilíbrio na metilação H2K27. Foi

publicada uma resposta terapêutica em dois pacientes pediátricos ao tratamento com tazemetostat, um inibidor EZH2, em pacientes SMARCB1 deletados (GOUNDER *et al.*, 2019).

Quatro vias de sinalização principais já foram testadas em tratamentos de cordomas. Houve a utilização de imatinib e dasatinib visando PDGFR e KIT; sorafenib, pazopanib e sunutinib visando VEGFR; gefitinib, lapatinib, erlotinib e cetuximab visando EGFR e HER2/neu; sirolimus e temsirolimus visando PI3K/AKT/PTEN/mTOR. Porém, os estudos normalmente incluem pacientes com doença avançada em recorrência local ou metástases, além de terem número limitado de pacientes. Dentre as terapias com alvos moleculares, a primeira linha hoje são os inibidores de PDGFR. O imatinib tem efeitos modestos sobre a sobrevida livre de progressão (mediana de 9,9 meses) e sobrevida total. Nos casos de falha, os inibidores de EGFR aparecem como opção (MENG *et al.*, 2019). Existe uma expectativa de melhor eficácia com o uso de inibidor de EGFR chamado afatinib, pois ele além de inibir a via EGFR, promoveu degradação da brachyury em diversas linhagens celulares de cordomas e inibiu o crescimento de xenotransplantes de tumores *in vivo* (MAGNAGHI *et al.*, 2018).

Estudos pré-clínicos buscando resultado pela citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpos testaram avelumab (anti PD-L1), cetuximab (anti-EGFR) e olaparib (anti-PARP). Avelumab e cetuximab aumentaram essa citotoxicidade em culturas de linhagens de cordomas co-cultivadas com células NK. O *upregulation* de PD-L1 aumentou ainda mais a citotoxicidade e lise de células tumorais, o que abre espaço para associação de uma dessas drogas com imunoterapias, que promovam o aumento da expressão de PD-L1. O olaparib aumentou a sensibilidade das células à citotoxicidade por células NK com cetuximab e avelumab, também *in vitro* (OZAIR *et al.*, 2020).

### 2.2.3 Microambiente imunológico

Se, por um lado, conforme citado, o cordoma é radorresistente e não tem boa resposta a quimioterapia, a imunoterapia pode ser um tratamento promissor. O conhecimento do microambiente imunológico do tumor é uma etapa fundamental para a compreensão dos mecanismos envolvidos e proposição de novos tratamentos.



Algumas características do microambiente têm impacto direto no processo de imunoeedição. Apesar da infiltração importante de células imunológicas no microambiente, os efetores estão provavelmente promovendo um ambiente anti-inflamatório. Os macrófagos, por exemplo, estão em polo M2 (anti-inflamatório) e a expressão elevada de CD47 reduz a ação pró-inflamatória dos macrófagos (DANCSOK *et al.*, 2020).

A expressão de TNF- $\alpha$  e LIF (fator inibidor de leucemia), que são citocinas, em linhagens de células de cordoma potencializou a sua atividade pró-tumoral e metastática. Foi observada migração celular, aumento da capacidade de invasão e crescimento independente de ancoragem. Um fato relevante é que ambas as citocinas regulam positivamente tanto a sua expressão gênica quanto a da outra, estando relacionadas ao crescimento e aumento de volume do tumor (HOFFMAN *et al.*, 2020).

O TNF- $\alpha$  também age regulando positivamente vias antiangiogênicas e antiapoptóticas, com dificuldade na ação do sistema imunológico no combate ao tumor. Em relação à transição epitélio-mesenquimal, já citada como evento importante do processo oncogênico, o TNF- $\alpha$  demonstrou promover alteração na expressão gênica. Após a exposição, houve a redução na expressão do marcador epitelial e o aumento da expressão do marcador mesenquimal (GULLUOGLU *et al.*, 2019).

Outra característica importante do microambiente é que abundância de matriz extracelular observada nos cordomas pode colaborar na distribuição de linfócitos. A razão estroma-tumor elevada foi associada à redução da infiltração diminuída de células T efectoras e a uma densidade elevada de células T reguladoras dentro da lesão (HOFFMAN *et al.*, 2020).

Alguns autores sugerem que a expressão de proteínas da via PD-1/PD-L1 é observada em cordomas primários ou recidivados. O PD-L1, habitualmente, é expressado nas linhagens celulares de cordomas em baixos níveis, mas é detectável pela imunohistoquímica. A concentração de PD-L1, inclusive, já foi demonstrada ser maior nos macrófagos do que nas células tumorais. Diante disso, mudanças no microambiente podem ser uma estratégia de tratamento (OZAIR *et al.*, 2020). Nesse caso, o microambiente limita a penetração de efetores pró-inflamatórios e ainda altera a expressão de possíveis alvos de imunoterapia. Células expostas ao TNF- $\alpha$  exibiram o aumento de PD-L1, mas, por outro lado, estão associadas à regulação negativa da

expressão do gene T, podendo comprometer imunoterapias com alvo na brachyury (HOFFMAN *et al.*, 2020).

O microambiente é um preditor importante do diagnóstico pela potencial correlação entre o estado imunológico/inflamatório sistêmico e do microambiente tumoral. Dentro desse contexto, alguns escores, baseados em células imunológica que infiltram os tumores, foram desenvolvidos.

Para cordomas da base do crânio, foram estudadas a razão neutrófilo-linfócito (RNL), razão plaqueta-linfócito (RPL), o SII (*systemic inflammation-immune index*) e o PNI (*prognostic nutritional index*). O SII é uma análise integrada de neutrófilos, linfócitos e plaquetas. Já o PNI é um índice de avaliação que indica estado nutricional e imunológico dos pacientes, avaliando a albumina sérica mais a contagem de linfócitos. A RNL aumentada foi correlacionada com textura moderada a consistente. A RLP alta foi associada a tumores de maior volume e o PNI baixo foi correlacionado a idade mais avançada e sexo feminino na amostra analisada. Entre os quatro preditores, SII+PNI formaram o mais preciso em relação à sobrevida. Já pacientes com alto SII e PNI baixo tiveram o pior prognóstico (LI *et al.*, 2021).

É comum que ocorra um aumento da inflamação sistêmica e uma redução da resposta imune. Os neutrófilos são supostamente envolvidos na formação e progressão dos tumores por múltiplos mecanismos, incluindo a angiogênese mediada por VEGF e supressão imunológica do tumor. Os linfócitos, incluindo citotóxicos e auxiliares, refletem o estado imunológico e medeiam a resposta imune ao câncer. O efeito antitumoral dos linfócitos ocorre pela supressão de proliferação celular e de invasão tecidual, além de apoptose de células tumorais (LI *et al.*, 2021).

Esses pacientes com SII alto devem se beneficiar de imunoterapias ou terapias anti-inflamatórias e explicam o motivo pelo qual o prognóstico é pior nesse grupo.

Para cordomas da coluna vertebral, foi proposto um escore de risco imunológico (IRS) como modelo preditivo de sobrevida, também baseado no microambiente tumoral. O escore se baseou nos níveis de linfócitos infiltrantes de tumor (TILs) nas áreas do tumor e região estromal. Foram avaliados PD-1, CD3, CD8, CD20 e FOXP3. Os casos de PD-1 e FOXP3 positivo no tumor com CD8 e FOXP3 positivos no estroma tiveram correlação significativa com a sobrevida. Também foi observado que os TILs distribuídos no tumor e no estroma foram bem correlacionados

com o tecido do cordoma, principalmente considerando os mesmos subtipos de TILs. Percebeu-se então que, durante a progressão tumoral, TILs intratumorais e estromais parecem ter origem celular semelhante e mesmo padrão de migração têmporo-espacial (ZOU *et al.*, 2020).

Uma outra grande série que analisa microambiente imunológico de cordomas propôs que as células de cordoma não expressam PD-L1, apenas células imunológicas do microambiente. Essa divergência já é proposta, também, em outros estudos, concernentes às técnicas imunohistoquímicas de identificação do marcador, que variam mesmo entre clones já bem estabelecidos. Também divergindo de Zou *et al.* (2021), foi proposto um pior prognóstico nos casos positivos para PD-L1, apresentando maior volume e maior vascularização. A densidade vascular também foi associada à maior presença de células inflamatórias (DRIDI *et al.*, 2021; ZOU *et al.*, 2020).

### 2.3 COVID-19

A COVID-19 (*corona virus disease*) é causada pelo SARS-COV-2, um *betacoronavirus* de DNA de fita simples, transmitido por gotículas respiratórias, sendo identificada, pela primeira vez, em pacientes com pneumonia em Wuhan, na China em 2019. Desde então, o surto infeccioso se espalhou pelo mundo e a pandemia passou a ser considerada uma emergência de saúde pública pela OMS (Organização Mundial de Saúde) (MELENOTTE *et al.*, 2020).

Segundo dados do Ministério da Saúde do Brasil, com a atualização de 26/07/21 às 19:30 (GMT -3), o Brasil tinha 19.707.662 de casos e 550.502 óbitos. No mundo, segundo dados da Johns Hopkins University, havia em 26/07/21 às 13:30 (GMT -3) 194.080.019 casos informados e 4.162.304 mortes (MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL, 2021; CSSE AT JOHNS HOPKINS UNIVERSITY, 2021).

Os Coronavírus são vírus envelopados, em forma de coroa, pertencentes à família dos *Coronaviridae*. Eles possuem quatro proteínas estruturais básicas: membrana (M), envelope (E), proteína *spike* (S) e nucleocapsídeo (N). A proteína S permite a infecção, ligando-se ao receptor da enzima conversora de angiotensina 2 (ECA 2). Há, então, clivagem dessa proteína e a ativação pela protease serina 2

permite a fusão da membrana viral com o hospedeiro, promovendo a entrada do vírus na célula. Esse evento é acoplado à produção de TNF- $\alpha$  (TAEFEHSHOKR *et al.*, 2020; TUFAN *et al.*, 2020). O vírus então começa a se propagar com uma resposta imunológica inata limitada e, nessa fase, pode ser detectado por swab nasal. Com a propagação, ele atinge o trato respiratório e aí encontra uma resposta inata mais robusta, o que leva à manifestação clínica da doença (CHOWDHURY *et al.*, 2020).

Existe semelhança da sequência de RNA do SARS-CoV-2 com 80% da sequência do SARS-CoV e 50% do MERS-CoV, porém, o SARS-CoV-2 exibe outras regiões genômicas adicionais. Comparativamente com SARS-CoV e com outros coronavírus, a proteína S do vírus causador da COVID-19 tem 20-30 aminoácidos a mais. O vírus compartilha, portanto, de mecanismos de evasão imune com os outros da mesma família, mas é possível que hajam mecanismos específicos do SARS-COV-2 (CHOWDHURY *et al.*, 2020). Entre os mecanismos imunológicos de escape, foram propostos supressão de apresentação de antígenos pelo MHC I e II, inibição da produção de interferon e inativação/exaustão da citotoxicidade mediada por células NK (TAEFEHSHOKR *et al.*, 2020).

Estima-se que 80% dos casos possam ser assintomáticos ou oligossintomáticos (formas leves), mais restritas às vias aéreas superiores (CHOWDHURY *et al.*, 2020). Contudo, o curso da doença também pode ser marcado por reação imunológica/inflamatória exacerbada, dano endotelial com alterações trombóticas e lesão pulmonar grave (SARA). Diversos outros sistemas são afetados e as alterações extrapulmonares mais comuns são: cardiovasculares, hepatobiliares, neurológicas, cutâneas, gastro-intestinais e renais (MELENOTTE *et al.*, 2020).

A hipercoagulabilidade é observada em até 72% dos casos de pacientes infectados por SARS-CoV-2. Eventos como imobilização prolongada durante a doença, estado inflamatório sistêmico agudo e desidratação podem aumentar o risco de eventos trombóticos. Atribui-se que a “imunotrombose” seja iniciada por neutrófilos, especialmente os imaturos, que podem promover liberação espontânea de armadilhas extracelulares de neutrófilos levando à lesão endotelial e hipercoagulabilidade (MELENOTTE *et al.*, 2020).

Entretanto, a principal causa de mortalidade é o comprometimento respiratório com SARA. A linfocitose hemofagocítica secundária (LHS) ou síndrome de

ativação macrófaga, muitas vezes, não é diagnosticada. Trata-se de um hipercitocinemia fulminante e fatal com disfunção de múltiplos órgãos. Em 3.7-4,3% dos casos de sepse em adultos ocorre essa síndrome e ela pode ser desencadeada por infecções virais. A LHS tem um perfil de citocinas que se assemelha ao da COVID-19 e está associada à sua gravidade. Nesses casos, observa-se o aumento de IL-2, IL-6, IL-7, TNF, proteína 10 induzida pelo IFN- $\gamma$ , fator estimulante de colônia de granulócitos, proteína inflamatória de macrófago 1- $\alpha$ , proteína quimioatraente de monócitos-1 e ferritina (CHOWDHURY *et al.*, 2020; TUFAN *et al.*, 2020). Em casos de LHS decorrente da infecção por Epstein Barr Virus, o bloqueio sistêmico de PD-1 com nivolumab abrandou o quadro, sugerindo que os inibidores de *check-point* podem ser uma estratégia a essa reação imune anormal (LIU *et al.*, 2020).

### 2.3.1 Resposta imunológica na COVID-19

Uma marca da COVID-19 é a linfopenia. A literatura concentra estudos de mecanismo de desregulação imune no papel das células T, destacando que isso tem impacto direto sobre outras populações de linfócitos, incluindo células B, células NK, células linfoides inatas e células T $\gamma\delta$  (CHEN; JOHN WHERRY, 2020).

Em pacientes com COVID-19, tanto níveis de linfócitos T auxiliares (CD3+ e CD4+), quando de linfócitos T citotóxicos (CD3+ e CD8+), células T regulatórias, células NK e linfócitos B estão reduzidos. Nos pacientes graves, a redução dos auxiliares e regulatórios é maior ainda em relação aos não-graves. Além disso, o percentual de linfócitos T auxiliares *naïve* é amplificado enquanto o de auxiliares de memória e CD28+ citotóxicos supressores são reduzidos. O equilíbrio entre células T *naïve* e de memória é fundamental para uma resposta imunológica eficiente (TUFAN *et al.*, 2020). Alguns autores sugerem que o impacto é maior nas células CD8+ (CHEN; JOHN WHERRY, 2020).

A principal função das células T CD4+ é regular a atividade das células T CD8+ e células B. A função das células T CD8+ é predominantemente via ataque e morte de células infectadas pelo vírus, enquanto os anticorpos produzidos pelas células B podem bloquear as proteínas da superfície viral, aglutinar vírions, então, prevenindo a infecção (TAEFEHSHOKR *et al.*, 2020).

Diferente de outros Coronavírus conhecidos, como MERS-CoV e SARS-CoV, o SARS-CoV-2 não infecta células T, segundo as evidências atuais. Diversos mecanismos têm sido propostos para explicar esse evento, como as possibilidades que: o SARS-CoV-2 pode infectar diretamente e destruir folículos linfoides esplênicos (observados em análises *post mortem*); haja sequestro de linfócitos nos tecidos lesados, especialmente nos pulmões; pode haver exaustão da produção de precursores linfoides na medula óssea e timo, impedindo a reposição das células lesadas no processo imunológico; seja decorrente de uma resposta persistente com produção de IFN-1 ativada pelos PMAPs (seja ssRNA, dsRNA ou proteínas virais) e altos níveis de glicocorticoides típicos da resposta de estresse também podem corroborar para a linfopenia (MELENOTTE *et al.*, 2020; TAEFEHSHOKR *et al.*, 2020).

O efeito indireto das citocinas liberadas por outras células como dendríticas e neutrófilos, pode levar à redução dos linfócitos. Ademais, a hiperativação dos linfócitos e o aumento na expressão de moléculas pró-apoptóticas, como CD95, TRAIL ou caspases também podem levar à depleção de células T (CHEN; JOHN WHERRY, 2020).

Apesar de estarem reduzidos no sangue periférico, foi relatado em pacientes com SARA, que esses linfócitos CD4+ e CD8+ exibiram estado de hiperativação, sugerido pelo aumento na expressão de IL-17, HLA-DR em linfócitos T CD4+ e CD38+ em linfócitos T CD8+. As células CD8+ também tinham altas concentrações de perforina e granulicina em grânulos citotóxicos (MELENOTTE *et al.*, 2020). Outros autores sugerem que a ativação de CD8+ seja mais intensa e relatam também a ativação de marcadores HLA-DR em linfócitos CD8+. Porém, há um estudo que sugere que a ativação de CD4+ em maiores níveis pode ser responsável por um pior prognóstico (CHEN; JOHN WHERRY, 2020).

Pacientes do sexo feminino apresentam ativação HLA-DR mais intensa comparada aos homens. Os homens possuem maiores níveis de citocinas de imunidade inata. Essas diferenças podem sugerir diferentes mecanismos de progressão de doença nos diferentes sexos. Os homens se beneficiam do aumento da resposta de células T, enquanto a ativação da imunidade inata mais branda pode ser mais efetiva para as mulheres nas fases iniciais da doença (TAKAHASHI *et al.*, 2020).

A hiperativação mediada por células citotóxicas e aumento da expressão Th17 contribui em parte para lesões graves de origem imunológica nesses pacientes. Em formas graves da COVID-19, os linfócitos T CD4+ são rapidamente ativados e diferenciados em auxiliares patogênicos com perfil Th1. Essas células, em colaboração com monócitos inflamatórios, contribuem para a gravidade do quadro pulmonar desses pacientes (TAEFEHSHOKR *et al.*, 2020).

Por outro lado, em contraste à essa hiperativação, a exaustão de células T pode representar a causa da síndrome inflamatória severa. No contexto da COVID-19, os linfócitos T falharam na produção de citocinas do perfil Th1, de acumular grânulos citolíticos e aumentaram a expressão de receptores inibitórios, como PD-1, TIM3, LAG3, CTLA4, NKG2A e CD39. Observa-se, também, que tanto os CD4+ quanto os CD8+ mostram outra evidência de exaustão com a redução de IFN- $\gamma$  e IL-21. Entretanto, essa expressão de receptores pode apenas significar ativação recente e não fica claro se as células T são levadas à exaustão ou apenas à hiperativação (CHEN; JOHN WHERRY, 2020; MELENOTTE *et al.*, 2020; TAEFEHSHOKR *et al.*, 2020).

O tempo em que a resposta imune ocorre pode influenciar no quadro clínico do paciente. Uma resposta precoce de células T CD4+ e CD8+ contra o SARS-CoV-2 parece ter efeito protetor, com melhor prognóstico. Já as mais tardias, parecem amplificar uma resposta imune desregulada contribuindo para a tempestade de citocinas e inflamação grave. De maneira curiosa, em pacientes graves os níveis séricos de IL-6, IL-10 e TNF- $\alpha$  são inversamente proporcionais à contagem de linfócitos. A resolução do quadro inflamatório é associada à restauração dos níveis normais de linfócitos e redução das citocinas (MELENOTTE *et al.*, 2020).

Em relação à resposta adaptativa, pacientes que produzem precocemente resposta de anticorpos à proteína S têm maior risco de morte do que os que desenvolvem mais tardiamente. Essa evolução se dá pelo aumento na polarização de macrófagos alveolares para o fenótipo pró-inflamatório M1, aumentando a inflamação e prejudicando a cicatrização pulmonar. A potencialização da doença associada a resposta de anticorpos foi descrita tanto para SARS-CoV quanto para MERS-CoV (TAEFEHSHOKR *et al.*, 2020).

A reação cruzada de resposta das células T tem sido proposta, considerando que linfócitos T CD4+ reativos à SARS-CoV-2 foram identificados em 40-60% de indivíduos não expostos ao vírus. Foi sugerido que essa resposta seria um reconhecimento a outros Coronavírus sazonais (HKU1, NL63, 229E e OC43) (MELENOTTE *et al.*, 2020).

A literatura até o momento não consegue ser precisa se os pacientes com formas graves evoluem dessa maneira por hiperativação de células T ou pela sua ineficiência. É, inclusive, possível que a doença ocorra de maneira distinta entre pacientes por haver um espectro mais influenciado pelos processos patológicos mediados pelo próprio vírus e outro espectro decorrente da desregulação imune de células T (CHEN; JOHN WHERRY, 2020).

No que tange à resposta imune adaptativa, anticorpos contra receptores de entrada na célula como da proteína S podem dificultar a interação entre a proteína viral e sua célula alvo no hospedeiro, evitando a ligação e a infecção. Eles também podem agir para remoção de células infectadas com anticorpos ligando-se às proteínas expressas pela célula e direcionando células NK, para eliminar via citotoxicidade dependente de anticorpos. Porém, a ativação inapropriada de células B pode contribuir para a fisiopatologia da COVID-19 com anticorpos que podem potencializar a infecção (TAEFEHSHOKR *et al.*, 2020).

A formação de anticorpos (IgG) neutralizantes de IFN ocorre em 15% dos pacientes com formas graves, sugerindo que esse anticorpo, em pacientes com COVID-19, pode ser um fator de risco para a doença grave e a mortalidade. Um subgrupo de pacientes graves tem deficiências inatas do IFN 1 (BASTARD *et al.*, 2020). Esses baixos níveis de IFN contribuem para déficits de células B e T, potencializando a fisiopatologia da doença.

Durante a fase ativa da doença não há correlação entre titulação de anticorpos e gravidade da doença. Porém, paciente que apresentam formas mais graves, tem posteriormente títulos mais altos. Isso sugere que a doença na sua forma grave pode levar à formação de células de memória, então elevando os níveis de anticorpos (GOZALBO-ROVIRA *et al.*, 2020). Ainda não foi definido se esses títulos conferem maior proteção à reinfeção.



### **3 OBJETIVO**

#### **3.1 Objetivo geral**

O objetivo deste trabalho é relatar um caso de regressão espontânea de cordoma, associado à infecção por SARS-COV-2 (diagnóstico confirmado de COVID-19).

#### **3.2 Objetivos específicos**

- a) Realizar a revisão do tema na forma de Referencial Teórico sobre regressão espontânea de tumores, regressão espontânea de cordomas e resposta imunológica da COVID-19;
- b) Sumarizar as informações os outros casos de regressão de cordoma disponíveis na literatura;
- c) Propor possíveis mecanismos que possam explicar a associação dos eventos do caso relatado.

## 4 RESULTADO

ARTIGO

TÍTULO: CHORDOMA SPONTANEOUS REGRESSION AFTER COVID-19

PERIÓDICO SUBMETIDO: Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry

QUALIS CAPES: A1

CHORDOMA SPONTANEOUS REGRESSION AFTER COVID-19

Luis Fernando Moura da Silva Junior<sup>1,2,3,4,5</sup>

Gyl Eanes Barros Silva<sup>4,5</sup>

Antonio Augusto Lima Teixeira Júnior<sup>6</sup>

Ramon Moura Santos<sup>7</sup>

Orlando José dos Santos<sup>5</sup>

Natalino Salgado Filho<sup>1,5</sup>

1 Federal University of Maranhao, Postgraduate Program in Health Sciences (PPGCS)

2 NOZ Neurocentro

3 Cancer Hospital of Maranhao State “Dr. Tarquinio Lopes Filho”

4 Sao Domingos Hospital

5 Federal University of Maranhao - UFMA/University Hospital of UFMA

6 University of São Paulo Faculty of Medicine of Ribeirao Preto, Postgraduate Program in Genetics

7 Dr. Carlos Macieira Hospital

KEYWORDS (MeSH): Spontaneous Neoplastic Regression; Coronavirus Infection; Notochord; Sarcoma.

Number of references: 14

Word count: 1507 words

Abstract count: 250 words

## ABSTRACT

Background: Chordomas are low-to-intermediate grade slow-growing subtype of sarcoma, but shows propensity to grow and invade locally with recurrence and metastasis in 10-40% of the cases. Especially when located in the skull base involving nerves and vessels, gross total resection is often not possible without causing significant morbidity. Four cases of spontaneous chordoma regression has been reported in the literature. Recently, a case of Hodgkin-lymphoma was supposed to undergo remission induced by SARS-CoV-2 infection, firstly associating COVID-19 to tumor regression. Case: We describe the first case of spontaneous regression of solid tumor (histologically and immunohistochemically-proven chordoma) after COVID-19. A female patient with suspect of clival chordoma underwent occipitocervical fixation prior to tumor resection. In early post-operative she was diagnosed with COVID-19. Six months after COVID-19 she came back to endoscopic endonasal resection of the tumor and pre-operative MRI surprisingly showed 98.9% regression of the tumor volume. After resection, histopathological and immunohistochemistry confirmed diagnosis of chordoma with positive brachyury. She improved completely right hemiparesis and left-sided tongue palsy. Tumor had abundant infiltrating-inflammatory cells. CD3 and CD68 were positive suggesting presence of T-lymphocytes and macrophages. CD20 and CD56 were negative suggesting absence of B-lymphocytes and NK-cells. Conclusions: Authors believe that the onset of COVID-19 exacerbated immune response and improved anti-tumor immunity. T-cells, which are involved in COVID-19 immune response and were found infiltrating the tumor, were supposed as a critical pathway to this event. Further studies are encouraged in order to have a better understanding of the SARS-CoV-2-chordoma interaction.

## INTRODUCTION

Although considered a low-to-intermediate grade, chordomas are aggressive and have a propensity to grow in a locally destructive and invasive way with tendency to local recurrence and metastasis in 10-40% of the cases.<sup>1,2</sup>

Spontaneous tumor regression has been reported in the literature for a long time. In some cases, they are related to concurrent infections. Recently, a case of Hodgkin lymphoma was supposed to undergo remission induced by SARS-CoV-2 infection, firstly associating COVID-19 to tumor regression.<sup>3</sup> To the best of our knowledge, no case of solid tumor regression related to COVID-19 has been published to date.

We present the first case of spontaneous regression of histologically and immunohistochemically-proven chordoma after COVID-19 infection.

## CASE DESCRIPTION

A 35-year-old adult woman came to our Department referred for biopsy. She reported 9 months of recurrent headache and 1 month of right hemiparesis (grade III) with a left-sided deviation of the tongue (Figure 1). MRI showed a 6.5cm x 4.5cm x 3.5cm heterogeneous lesion in the anterior aspect of the craniocervical junction from the clivus to odontoid process causing mass effect over brainstem and cervical spinal cord (Figure 2). We proposed occipitocervical fixation and subsequent.

She presented progression of symptoms with intense cervical pain, headache and was unable to walk. MRI was repeated with the same finding. Physical examination showed hyperreflexia, right hemiparesis and persisted with left tongue paralysis.

She underwent the proposed spine procedure uneventfully. Cervical pain improved immediately in post-operative course. CT scan showed adequate placement of screws

and rods. On postoperative day 3, she started feeling back pain in cervical and dorsal region, fever and cough. Chest computed tomography (CT) showed bilateral ground-glass opacities. Hypothesis of SARS-CoV-2 infection was considered and RT-PCR test was performed with positive result. Treatment was started with ceftriaxone, clindamycin, azithromycin, hydroxychloroquine, ivermectin, prednisone, zinc, and d-vitamin. Patient had moderate symptoms with mild dyspnea requiring O2 through nasal catheter and clinical support.

After treatment and COVID-19 recovery, she decided to go back home and return after pandemic showed some improvement to perform tumor resection.

At hospital admission 6 months later, a noticeable improvement in motor and sensory function was observed. She could walk alone, strength improved to grade IV. So, another MRI was performed to re-evaluate the tumor and define surgical plan. A surprising regression of the tumor was noticed. A 1cm x 1.6cm x 0.7cm lesion was restricted to the left side of skull base, no extraosseous component or mass effect were observed (Figure 2). Endonasal endoscopic approach was performed to remove residual tumor. Procedure was successful with GTR of the lesion and drilling adjacent bone. Histopathological analysis was compatible with chordoma and immunohistochemistry showed positive reactions to panCK, EMA, Ki67 (<10%), S-100 protein and brachyury. CD34, GFAP, and synaptophysin were negative. Patient continued improving and completely recovered from deficits. Nowadays, she is totally independent (KPS 100) with surveillance MRI negative for recurrence neither residual tumor. As association with COVID-19 occurred, SARS-CoV-2 screening in the specimen was performed with PCR and immunohistochemistry. Both were negative.

Histopathological analysis also showed abundant tumoral infiltrating-inflammatory cells. Leukocytes profile was defined by CD3 and CD68 positive cells, suggesting tumor-infiltrating T-lymphocytes and macrophages; CD20 was negative, suggesting absence of B-lymphocytes; and CD56 was scarce and rarely seen in inflammatory cells, suggesting absence of NK-cells. Clear border limiting areas were observed between necrotic area with eosinophilic cytoplasm and adjacent tumoral inflammatory cells infiltrated area (Figure 2).

## DISCUSSION

We describe the first solid tissue with possible regression influenced by COVID-19. Previously, reports suggested that hematologic malignancies have been associated with this pandemic disease. Pasin et al., 2020 have published one case of a transient remission of lymphoma during the course of COVID-19. The tumor derived from NK T-cells, which are mainly suppressed (or even functionally exhausted) in the context of COVID-19. This promotes abnormal immune responses, being less effective, and a cytokine release syndrome. While both diseases were active together, COVID-19 lead to its normal NK T-cells suppression/exhaustion, which are the cells that originate the tumor, leading to remission. As far as COVID-19 stopped, lymphoma relapsed. <sup>4</sup>

In 2021, a 61 years-old man achieved remission of Hodgkin lymphoma after diagnosis of COVID-19. Authors attributed the event to an anti-tumor immune response triggered by SARS-CoV-2. <sup>3</sup>

Regarding chordomas, there are four cases of regression published. In one case, the patient had just a suspected diagnosis since no biopsy was performed. This patient presented partial regression after dermatologic infection by *Mycobacterium marinum*

with a 33% reduction of its volume after regression.<sup>5</sup> Other two cases had confirmed diagnosis by histopathological analysis but none of them had positive brachyury. One had complete regression associated to post-biopsy *Escherichia coli* infection.<sup>6</sup> Other had no report of concomitant infection but maybe some medication, including herbal supplement and oils, could have triggered the 61.8% reduction in volume after regression.<sup>7</sup> In the most recently published case, not related to infection, diagnosis was confirmed by histopathological analysis and positive brachyury immunohistochemical staining. No measure of tumor volume is cited, only noticeable shrinkage of tumor.<sup>8</sup> Our case showed the most considerable volume reduction with 98.9% after regression and was both histopathological and immunohistochemical-proven to be a chordoma.

Theoretical explanation of tumor regression usually considers trigger mechanisms that stimulate host innate response to induce autoimmune immunotherapy against tumor cells. But defining these triggers remain a challenge.

Especially in dealing with cancer, IFN- $\gamma$  has an interesting paradox of anti-tumor and pro-tumor contradictory effects. It influences both tumor and immune cells. By upregulation of MHC I molecules in tumor cells, it enhances their antigenicity. It also enhances cytotoxic activities of NK and CD8+ cells and induces apoptotic cells death of multiple cancer cell types. Besides reducing angiogenesis and inducing apoptosis, IFN- $\gamma$  induces necroptosis. On the other hand, IFN- $\gamma$  stimulates development of myeloid-derived suppressor cells, decreases neutrophils recruitment, reduces apoptosis, and facilitates immune evasion. But it is not clear what determines IFN- $\gamma$  to act in a more anti-tumoral or pro-tumoral way. It is probably a combination of factors including cancer type, tumor microenvironment, and personal immune system status.<sup>9</sup>

When acting as oncolytic virus, SARS-CoV-2 may stimulate or refresh an already existing but inefficient anti-tumor immunity or induce a novel non-self antigen response. The virus, by enhancing antigen recognition and subsequent immune activation, stimulates a pro-inflammatory environment. In this context, it can avail tolerogenic mechanisms aimed to facilitate viral infection to kill cells that are not protected by the immune system. <sup>10</sup>

In our case, IHC and PCR screening of SARS-COV-2 in tumoral cells were negative. This is crucial to understand that possible COVID-19 mechanisms related to the tumor regression do not arise from the direct presence of the virus inside tumor cells eliciting viral-targeted immune response. Indeed, the influence should be indirect mainly by improvement in detection of tumor cells by reducing evasion tumoral strategies, improvement of the function of immune effectors directed to find and kill tumor cells, by cross-reaction with common antigens expressed by the tumor.

Abundant tumoral infiltrating-inflammatory cells observed in this case reinforces this possibility of a pro-inflammatory tumoral microenvironment with presence of CD3 T-cells and absence of CD20 B-cells. CD56 was scarce and this can be justified by NK T-cells suppression/exhaustion that occurs in the context of COVID-19. CD68 showed considerable macrophage infiltration of the tumor suggesting the process of elimination of the tumor probably by an immunemediated process. The clear border limiting areas observed between necrotic area adjacent tumoral richly inflammatory cells infiltrated area also support the hypothesis of an exacerbated immune process against tumor with enhanced immunoediting process.

Tumor cells are more sensitive to heat than normal cells. Fever is observed in 25-80% of the cases of tumoral regression and can have a role in this process. During a fever



onset the immune system increases its activity to antigen recognition, being able to identify both infectious agents and tumor cells; increases release of pro-inflammatory factors able to stimulate dendritic and T-cells.<sup>11,12</sup> Being more sensitive to heat, more cellular death will occur, and more tumoral cellular debris will be expressing antigens that could activate antigen-presenting cells to a more powerful T-cell response.<sup>13</sup> Heat-Shock-Proteins, like HSP70, can participate in this process. They are not immunogenic per se but carry antigens peptides that awake specific immunity to cancers.<sup>14</sup> Our patient presented episodes of high fever during COVID-19 course.

## CONCLUSION

Authors believe that in this case, the onset of COVID-19 with exacerbated immune response and improvement in anti-tumor immunity (detection and elimination) had a fundamental role in this surprisingly chordoma regression with reduction of 98.9% of tumor volume. As T-cells are clearly involved in COVID-19 immune response and were richly found infiltrating the tumor, we considered that this cell can be a critical pathway to this event. As the tumoral piece resected in surgery was too small, it was not possible to perform additional analysis to elicit the interactions and define the mechanism that could lead to this regression. We encourage further immune analysis in patients with chordoma and confirmed COVID-19 in order to have a better understanding of the SARS-CoV-2 and chordoma interaction.

## REFERENCES

1. Gulluoglu S, Turksoy O, Kuskucu A, *et al.* The molecular aspects of chordoma. *Neurosurg Rev* 2016;39(2):185–96; discussion 196.

2. Tenny S, Varacallo M. Chordoma [Internet]. In: *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 [cited 2021 Jul 14]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430846/>
3. Challenor S, Tucker D. SARS-CoV-2-induced remission of Hodgkin lymphoma. *Br J Haematol* 2021;192(3):415.
4. Pasin F, Mascalchi Calveri M, Calabrese A, *et al.* Oncolytic effect of SARS-CoV2 in a patient with NK lymphoma. *Acta Biomed* 2020;91(3):ahead of print.
5. Passeri T, Giammattei L, Froelich S. Letter to the Editor regarding spontaneous regression of a clival chordoma. Case report. *Acta Neurochir (Wien)* 2020;162(2):437–9.
6. Radl R, Leithner A, Kastner N, *et al.* Disappearance of a cervical spine chordoma after nonoperative treatment. A case report. *J Bone Joint Surg Am* 2005;87(8):1822–7.
7. Bander ED, Kocharian G, Liechty B, *et al.* Spontaneous regression of a clival chordoma. Case report. *Acta Neurochir (Wien)* 2020;162(2):433–6.
8. Vellutini E de AS, Stamm AEC, de Oliveira MF. Spontaneous Regression of a Clival Chordoma: An Unusual Case Report. *J Neurol Surg A Cent Eur Neurosurg* 2021; DOI: 10.1055/s-0040-1720990. Online ahead of print.
9. Zaidi MR. The Interferon-Gamma Paradox in Cancer. *J Interferon Cytokine Res* 2019;39(1):30–8.
10. Raja J, Ludwig JM, Gettinger SN, *et al.* Oncolytic virus immunotherapy: future prospects for oncology. *J Immunother Cancer* 2018;6(1):140.
11. Jessy T. Immunity over inability: The spontaneous regression of cancer. *J Nat Sci Biol Med* 2011;2(1):43–9.
12. Kucerova P, Cervinkova M. Spontaneous regression of tumour and the role of microbial infection--possibilities for cancer treatment. *Anticancer Drugs* 2016;27(4):269–77.
13. Thomas JA, Badini M. The role of innate immunity in spontaneous regression of cancer. *Indian J Cancer* 2011;48(2):246–51.
14. Srivastava PK. Peptide-binding heat shock proteins in the endoplasmic reticulum: role in immune response to cancer and in antigen presentation. *Adv Cancer Res* 1993;62:153–77.

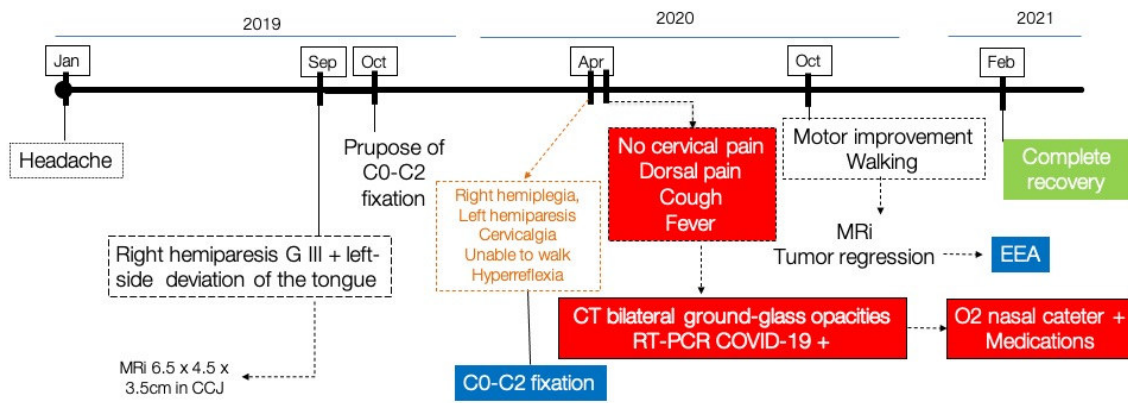


Figure 1. Case summary in timeline.

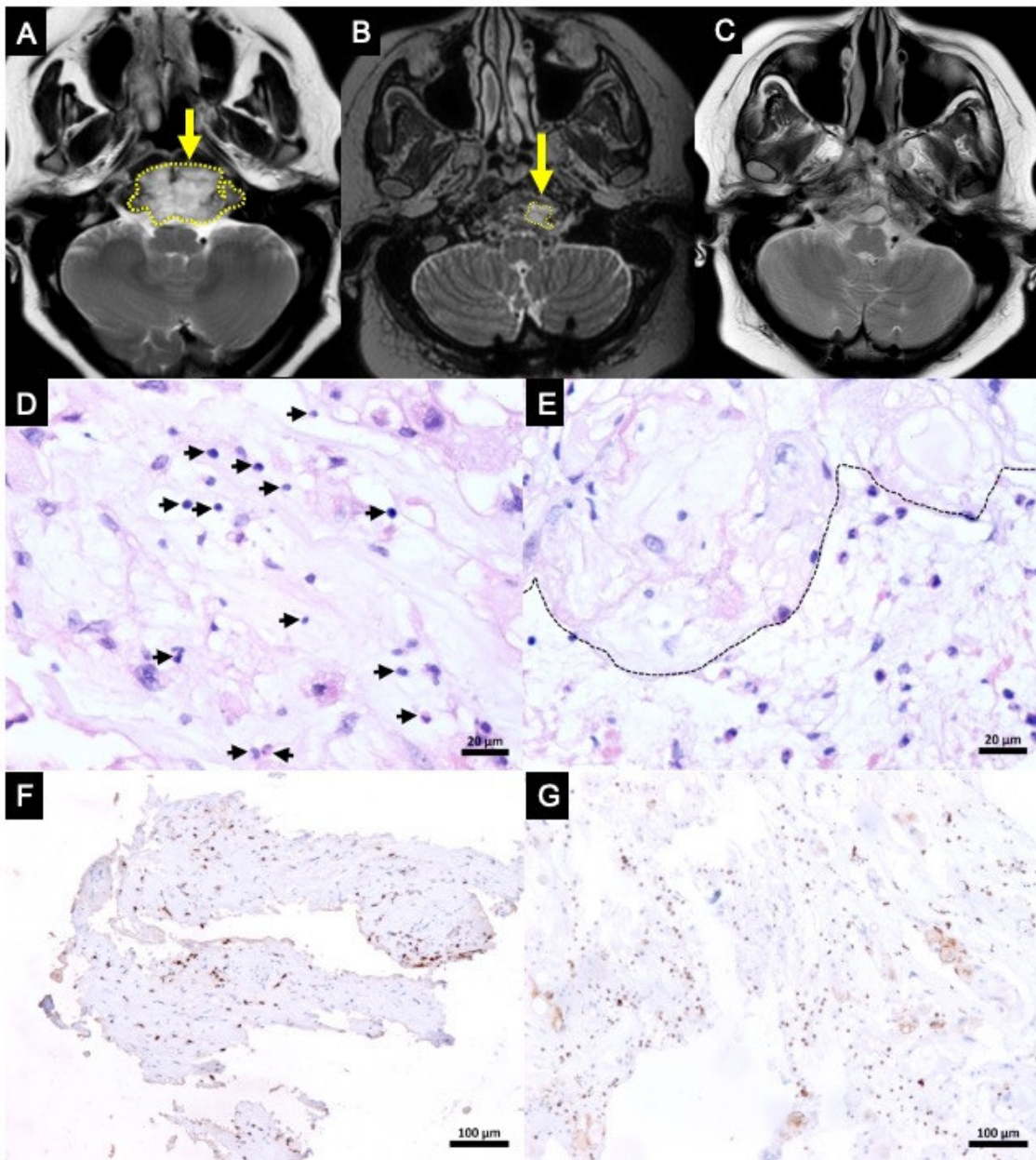


Figure 2. A – Pre-COVID-19 T2W MRi in axial plane. Arrow points to the tumor. Dotted line at the limits of the tumor. Lesion measure: 6.5 x 3.5 x 4.5cm. B – Post-COVID-19 T2W MRi in axial plane. Arrow points to the remnant tumor. Dotted line at the limits of the tumor. Lesion measures: 1.6 x 0.7 x 1cm. C – Post-operative T2W MRi in axial plane showing complete resection at skull base. D – H&E stain showing abundant tumoral infiltrating-inflammatory cells (arrows). E – H&E stain showing dotted line separating necrotic area with eosinophilic cytoplasm above the line and adjacent tumoral inflammatory cells infiltrated area under the line. F - Positive CD3 immunohistochemistry stain (marked in brown) showing tumor-infiltrating lymphocytes. G - Positive CD68 immunohistochemistry stain (marked in brown) showing tumor-infiltrating macrophages.

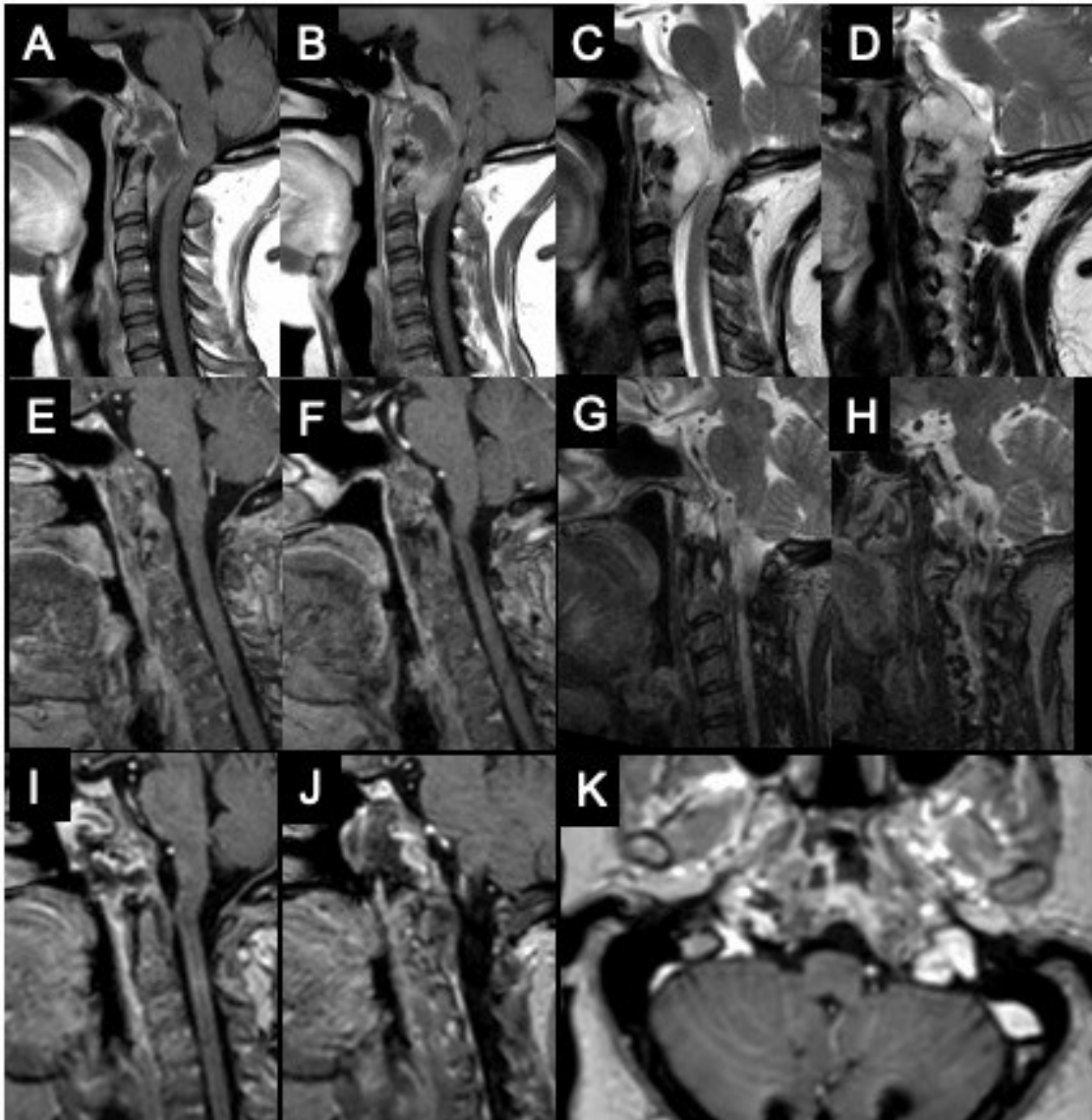


Figure 3. Suppl. Pre-COVID. A, B: Contrast Enhanced T1W MRi in sagittal plane showing the lesion. C, D: T2W MRi in sagittal plane showing the lesion. Post-COVID Pre-Resection. E, F: Contrast Enhanced T1W MRi in sagittal showing lesion after regression. G, H: T2W MRi in sagittal plane showing the lesion after regression. Post-COVID Post-Resection: I, J: Contrast Enhanced T1W MRi in sagittal plane showing complete resection. K: Contrast Enhanced T1W MRi in axial plane showing complete resection.

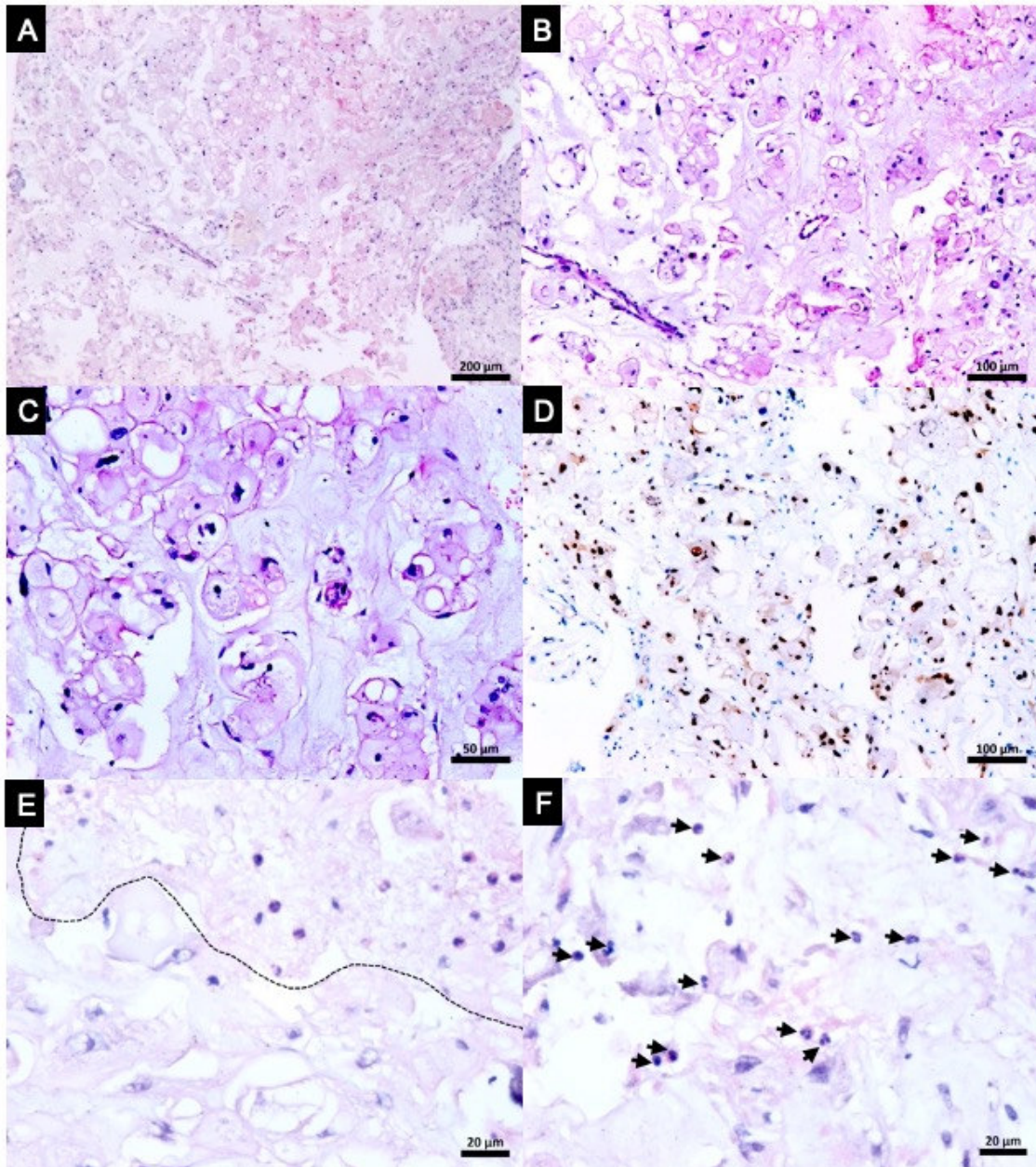


Figure 4. Suppl. H&E stain A, B, C - Small groups of tumor cells with clear cytoplasm in a hyalinemyxoid matrix. Positive brachyury immunohistochemical stain (marked in brown) and abundant negative-stain stromal inflammatory-cells (marked in blue). D - Positive brachyury immunohistochemical stain (marked in brown) and abundant negative-stain stromal inflammatory-cells (marked in blue). E - H&E stain showing dotted line separating necrotic area with tumoral cells karyolysis under the line and adjacent tumoral inflammatory cells infiltrated area above the line. F - Abundant tumoral infiltrating-inflammatory cells (arrows).

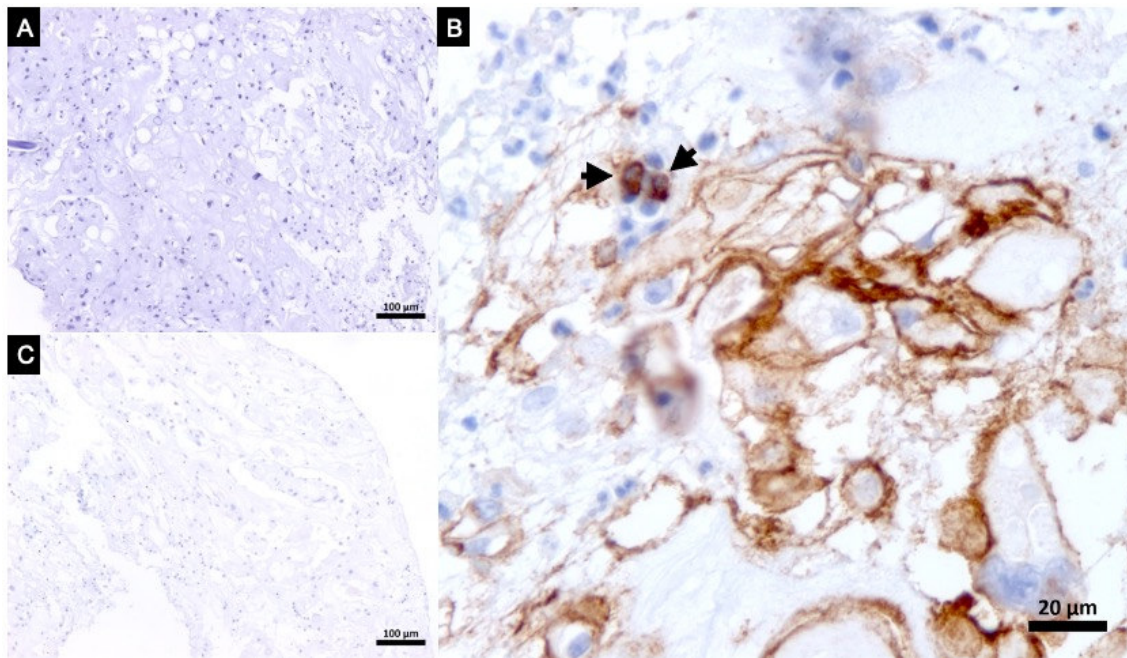


Figure 5. Suppl. A - Negative coronavirus immunohistochemistry stain. B - Positive CD56 immunohistochemical stain (marked in brown) in chordoma cells and abundant negative-stain stromal inflammatory-cells (marked in blue). Two positive CD56 lymphocytes (arrows) which can be NK-cells. C - Negative CD20 immunohistochemistry stain.

Table 1: Summarized data of reported cases of chordoma spontaneous regression

	Radl et al.,2005	Bander et al.,	Passeri et al.,	Vellutini et al.,	This case
Location	Spine (C2)	Clivus	Clivus	Clivus	Clivus, C1-C2
Gender	Male	Female	Male	Female	Female
Symptoms	Neck pain, paresthesia, urinary and bowel dysfunction, hyperreflexia	Stabbing headache	No.	Headache	Headache, neck pain, right hemiplegia, tongue palsy
Measure pre-regression	2.5 x 2 x 4cm	3.1 x 1.9 x 3cm (8.84cm <sup>3</sup> )	36.9cm <sup>3</sup>	-	6.5 x 3.5 x 4.5cm (102.37cm <sup>3</sup> )
Measure post-regression	-	2.3 x 2.1 x 1.4cm (3.38cm <sup>3</sup> )	24.7cm <sup>3</sup>	-	1.6 x 0.7 x 1cm (1.12cm <sup>3</sup> )
Medications used	Dexamethasone, ciprofloxacin	Gabapentin, famotidine, loratadine, hydroxyzine, atenolol, nitroglycerin patch, vitamin B2, B6, B12. Complex of resveratrol, E-alpha-lipoic acid, hyaluronic acid, Astaxanthin, Echinacea, Badger fat/oil tablets, Sea buckhorn oil.	Corticosteroids, clarithromycin, doxycycline	-	Dexamethasone, meropenem, amikacin, ceftriaxone, clindamycin, azithromycin, hydroxychloroquine, ivermectin, prednisone, zinc and d-vitamin, gabapentin, amitriptyline
Infection associated	Yes. Local abscess.	No.	Yes. Inflammatory bullous dermatosis.	No	Yes. Hand and arm abscesses. COVID-19.
Agent	Escherichia coli	-	Mycobacterium marinum	-	Klebsiella sp., SARS-CoV-2
Pre-regression Surgery	2. Biopsies.	No	No	No	Fixation C0-C1-C2
Post-regression treatment	No. Complete regression.	Resection	Wait-and-see	Resection	Resection
PO fever	Yes	No	-	-	Yes
Histopathology	Chordoma	Chordoma	Chordoma	Chordoma	Chordoma
IHC	CK, VIM, EMA, S-100	CK CAM 5.2, EMA, S-100, INI-1, Ki67 (focally 9%)	-	CK, CD99, EMA, S-100, Ki67 (<50%), Brachyury	panCK, EMA, S-100, Ki67 (<10%), Brachyury
Brachyury	-	Negative	-	Positive	Positive



## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O caso relatado de regressão de cordoma após COVID-19 é inédito. A literatura tem apenas quatro casos de regressão espontânea de cordoma publicados, sendo que um tem apenas suspeita diagnóstica pela imagem. Após a COVID-19, há apenas um relato de neoplasia hematológica. Como se trata de uma condição rara, os relatos disponíveis apenas sugerem, de maneira geral, que eventos imunológicos ou medicações podem ter interferido nos tumores, sem aprofundar mecanismos possíveis.

No caso relatado, foi pesquisada presença do vírus no tumor por imunohistoquímica e PCR, ambos negativos. Foi observada presença marcante de neutrófilos infiltrados no tecido tumoral. E, destaca-se, foram observadas áreas de limite claro entre regiões ricas em células inflamatórias adjacentes a áreas perinecroticas. Já quanto à caracterização imunohistoquímica das células houve marcação positiva para CD3 e CD68, definindo a presença marcante de células-T e macrófagos; resultado negativo para CD20 sugerindo ausência de linfócitos-B; e marcação esparsa (em apenas 2 células) de CD56 sugerindo ocorrência irrelevante de células NK.

Entende-se, portanto, que o SARS-COV-2 num curto intervalo de tempo pode ter exacerbado a função do sistema imunológico, promovendo o aumento antigenicidade da lesão, a facilitação de processos de identificação imunológica da lesão e os mecanismos de ação direta da imunidade celular, mecanismos envolvendo células-T e macrófagos.

Quanto à proteína brachyury, positiva no caso relatado, pode haver propriedade imunogênica, bem como a reação cruzada de antígenos da brachyury e do SARS-CoV-2. Além disso, a febre pode ter facilitado o processo, por auxiliar o sistema imunológico na detecção de células anormais e pelo fato de que as células tumorais são mais sensíveis à elevação de temperatura.

Sugere-se que os casos de cordoma operados em vigência da COVID-19 sejam submetidos a estudos dos mecanismos relatados, para que se possa compreender melhor os seus aspectos imunológicos e a ocorrência da sua regressão espontânea. Também é importante que bancos de tumores possam interagir com grupos de

pesquisas de COVID-19 e possam ser realizados testes de reação cruzada de antígenos.

**REFERÊNCIAS**

BASTARD, P.; ROSEN, L. B.; ZHANG, Q.; MICHAILIDIS, E.; HOFFMANN, H.-H.; ZHANG, Y.; DORGHAM, K.; PHILIPPOT, Q.; ROSAIN, J.; BÉZIAT, V.; MANRY, J.; SHAW, E.; HALJASMÄGI, L.; PETERSON, P.; LORENZO, L.; BIZIEN, L.; TROUILLET-ASSANT, S.; DOBBS, K.; DE JESUS, A. A.; BELOT, A.; KALLASTE, A.; CATHERINOT, E.; TANDJAOUI-LAMBIOTTE, Y.; LE PEN, J.; KERNER, G.; BIGIO, B.; SEELEUTHNER, Y.; YANG, R.; BOLZE, A.; SPAAN, A. N.; DELMONTE, O. M.; ABERS, M. S.; AIUTI, A.; CASARI, G.; LAMPASONA, V.; PIEMONTI, L.; CICERI, F.; BILGUVAR, K.; LIFTON, R. P.; VASSE, M.; SMADJA, D. M.; MIGAUD, M.; HADJADJ, J.; TERRIER, B.; DUFFY, D.; QUINTANA-MURCI, L.; VAN DE BEEK, D.; ROUSSEL, L.; VINH, D. C.; TANGYE, S. G.; HAERYNCK, F.; DALMAU, D.; MARTINEZ-PICADO, J.; BRODIN, P.; NUSSENZWEIG, M. C.; BOISSON-DUPUIS, S.; RODRÍGUEZ-GALLEGO, C.; VOGT, G.; MOGENSEN, T. H.; OLER, A. J.; GU, J.; BURBELO, P. D.; COHEN, J. I.; BIONDI, A.; BETTINI, L. R.; D'ANGIO, M.; BONFANTI, P.; ROSSIGNOL, P.; MAYAUX, J.; RIEUX-LAUCAT, F.; HUSEBYE, E. S.; FUSCO, F.; URSINI, M. V.; IMBERTI, L.; SOTTINI, A.; PAGHERA, S.; QUIROS-ROLDAN, E.; ROSSI, C.; CASTAGNOLI, R.; MONTAGNA, D.; LICARI, A.; MARSEGLIA, G. L.; DUVAL, X.; GHOSN, J.; HGID LAB; NIAID-USUHS IMMUNE RESPONSE TO COVID GROUP; COVID CLINICIANS; COVID-STORM CLINICIANS; IMAGINE COVID GROUP; FRENCH COVID COHORT STUDY GROUP; MILIEU INTÉRIEUR CONSORTIUM; COV-CONTACT COHORT; AMSTERDAM UMC COVID-19 BIOBANK; COVID HUMAN GENETIC EFFORT; TSANG, J. S.; GOLDBACH-MANSKY, R.; KISAND, K.; LIONAKIS, M. S.; PUEL, A.; ZHANG, S.-Y.; HOLLAND, S. M.; GOROCHOV, G.; JOUANGUY, E.; RICE, C. M.; COBAT, A.; NOTARANGELO, L. D.; ABEL, L.; SU, H. C.; CASANOVA, J.-L. Autoantibodies against type I IFNs in patients with life-threatening COVID-19. *Science (New York, N.Y.)*, v. 370, n. 6515, p. eabd4585, 2020.

CHEN, Z.; JOHN WHERRY, E. T cell responses in patients with COVID-19. *Nature Reviews. Immunology*, v. 20, n. 9, p. 529–536, 2020.

CHOWDHURY, M. A.; HOSSAIN, N.; KASHEM, M. A.; SHAHID, M. A.; ALAM, A. Immune response in COVID-19: A review. *Journal of Infection and Public Health*, v. 13, n. 11, p. 1619–1629, 2020.

COCKLE, J. V.; SCOTT, K. J. What is oncolytic virotherapy?. *Archives of Disease in Childhood. Education and Practice Edition*, v. 103, n. 1, p. 43–45, 2018.

DANCSOK, A. R.; GAO, D.; LEE, A. F.; STEIGEN, S. E.; BLAY, J.-Y.; THOMAS, D. M.; MAKI, R. G.; NIELSEN, T. O.; DEMICCO, E. G. Tumor-associated macrophages and macrophage-related immune checkpoint expression in sarcomas. *Oncoimmunology*, v. 9, n. 1, p. 1747340, 2020.

DOCK, GEORGE. The influence of complicating diseases upon leukaemia. *The American Journal of the Medical Sciences (1827-1924)*, v. 127, n. 4, p. 561–592, 1904.

DRIDI, M.; KREBS-DROUOT, L.; MEYRONET, D.; DUMOLLARD, J. M.; VASSAL, F.; JOUANNEAU, E.; JACQUESSON, T.; BARREY, C.; GRANGE, S.; BOUTONNAT, J.; PÉOC'H, M.; KARPATHIU, G. The Immune Microenvironment of Chordomas: An Immunohistochemical Analysis. *Cancers*, v. 13, n. 13, p. 3335, 2021.

FREZZA, A. M.; BOTTA, L.; TRAMA, A.; DEI TOS, A. P.; STACCHIOTTI, S. Chordoma: update on disease, epidemiology, biology and medical therapies. *Current Opinion in Oncology*, v. 31, n. 2, p. 114–120, 2019.

GILL, C. M.; FOWKES, M.; SHRIVASTAVA, R. K. Emerging Therapeutic Targets in Chordomas: A Review of the Literature in the Genomic Era. *Neurosurgery*, v. 86, n. 2, p. E118–E123, 2020.

GORADEL, N. H.; BAKER, A. T.; ARASHKIA, A.; EBRAHIMI, N.; GHORGHANLU, S.; NEGAHDARI, B. Oncolytic virotherapy: Challenges and solutions. *Current Problems in Cancer*, v. 45, n. 1, p. 100639, 2021.

GOUNDER, M. M.; ZHU, G.; ROSHAL, L.; LIS, E.; DAIGLE, S. R.; BLAKEMORE, S. J.; MICHAUD, N. R.; HAMEED, M.; HOLLMANN, T. J. Immunologic Correlates of the Abscopal Effect in a SMARCB1/INI1-negative Poorly Differentiated Chordoma after

EZH2 Inhibition and Radiotherapy. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, v. 25, n. 7, p. 2064–2071, 2019.

GOZALBO-ROVIRA, R.; GIMENEZ, E.; LATORRE, V.; FRANCÉS-GÓMEZ, C.; ALBERT, E.; BUESA, J.; MARINA, A.; BLASCO, M. L.; SIGNES-COSTA, J.; RODRÍGUEZ-DÍAZ, J.; GELLER, R.; NAVARRO, D. SARS-CoV-2 antibodies, serum inflammatory biomarkers and clinical severity of hospitalized COVID-19 patients. *Journal of Clinical Virology: The Official Publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, v. 131, p. 104611, 2020.

GULLUOGLU, S.; TURKSOY, O.; KUSKUCU, A.; TURE, U.; BAYRAK, O. F. The molecular aspects of chordoma. *Neurosurgical Review*, v. 39, n. 2, p. 185–196; discussion 196, 2016.

GULLUOGLU, S.; TUYSUZ, E. C.; SAHIN, M.; YALTIRIK, C. K.; KUSKUCU, A.; OZKAN, F.; DALAN, A. B.; SAHIN, F.; TURE, U.; BAYRAK, O. F. The role of TNF- $\alpha$  in chordoma progression and inflammatory pathways. *Cellular Oncology (Dordrecht)*, v. 42, n. 5, p. 663–677, 2019.

HOFFMAN, S. E.; AL ABDULMOHSEN, S. A.; GUPTA, S.; HAUSER, B. M.; MEREDITH, D. M.; DUNN, I. F.; BI, W. L. Translational Windows in Chordoma: A Target Appraisal. *Frontiers in Neurology*, v. 11, p. 657, 2020.

JAIN, R. K.; FORBES, N. S. Can engineered bacteria help control cancer?. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, v. 98, n. 26, p. 14748–14750, 2001.

JESSY, T. Immunity over inability: The spontaneous regression of cancer. *Journal of Natural Science, Biology, and Medicine*, v. 2, n. 1, p. 43–49, 2011.

KUCEROVA, P.; CERVINKOVA, M. Spontaneous regression of tumour and the role of microbial infection--possibilities for cancer treatment. *Anti-Cancer Drugs*, v. 27, n. 4, p. 269–277, 2016.

LAWLER, S. E.; SPERANZA, M.-C.; CHO, C.-F.; CHIOCCA, E. A. Oncolytic Viruses in Cancer Treatment: A Review. *JAMA oncology*, v. 3, n. 6, p. 841–849, 2017.

LETTIERI, C. K.; HINGORANI, P.; KOLB, E. A. Progress of oncolytic viruses in sarcomas. *Expert Review of Anticancer Therapy*, v. 12, n. 2, p. 229–242, 2012.

LI, M.; BAI, J.; WANG, S.; ZHAI, Y.; ZHANG, S.; LI, C.; DU, J.; ZHANG, Y. Clinical Implication of Systemic Immune-Inflammation Index and Prognostic Nutritional Index in Skull Base Chordoma Patients. *Frontiers in Oncology*, v. 11, p. 548325, 2021.

LIU, P.; PAN, X.; CHEN, C.; NIU, T.; SHUAI, X.; WANG, J.; CHEN, X.; LIU, J.; GUO, Y.; XIE, L.; WU, Y.; LIU, Y.; LIU, T. Nivolumab treatment of relapsed/refractory Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults. *Blood*, v. 135, n. 11, p. 826–833, 2020.

MAGER, D. L. Bacteria and cancer: cause, coincidence or cure? A review. *Journal of Translational Medicine*, v. 4, p. 14, 2006.

MAGNAGHI, P.; SALOM, B.; COZZI, L.; AMBOLDI, N.; BALLINARI, D.; TAMBORINI, E.; GASPARRI, F.; MONTAGNOLI, A.; RADDRIZZANI, L.; SOMASCHINI, A.; BOSOTTI, R.; ORRENIUS, C.; BOZZI, F.; PILOTTI, S.; GALVANI, A.; SOMMER, J.; STACCHIOTTI, S.; ISACCHI, A. Afatinib Is a New Therapeutic Approach in Chordoma with a Unique Ability to Target EGFR and Brachyury. *Molecular Cancer Therapeutics*, v. 17, n. 3, p. 603–613, 2018.

MELENOTTE, C.; SILVIN, A.; GOUBET, A.-G.; LAHMAR, I.; DUBUISSON, A.; ZUMLA, A.; RAOULT, D.; MERAD, M.; GACHOT, B.; HÉNON, C.; SOLARY, E.; FONTENAY, M.; ANDRÉ, F.; MAEURER, M.; IPPOLITO, G.; PIACENTINI, M.; WANG, F.-S.; GINHOUX, F.; MARABELLE, A.; KROEMER, G.; DEROSA, L.; ZITVOGEL, L. Immune responses during COVID-19 infection. *Oncoimmunology*, v. 9, n. 1, p. 1807836, 2020.

MENG, T.; JIN, J.; JIANG, C.; HUANG, R.; YIN, H.; SONG, D.; CHENG, L. Molecular Targeted Therapy in the Treatment of Chordoma: A Systematic Review. *Frontiers in Oncology*, v. 9, p. 30, 2019.

MONDAL, M.; GUO, J.; HE, P.; ZHOU, D. Recent advances of oncolytic virus in cancer therapy. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, v. 16, n. 10, p. 2389–2402, 2020.

OIKONOMOPOULOU, K.; BRINC, D.; KYRIACOU, K.; DIAMANDIS, E. P. Infection and cancer: reevaluation of the hygiene hypothesis. *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, v. 19, n. 11, p. 2834–2841, 2013.

OMORI, T.; TAZAWA, H.; YAMAKAWA, Y.; OSAKI, S.; HASEI, J.; SUGIU, K.; KOMATSUBARA, T.; FUJIWARA, Tomohiro; YOSHIDA, A.; KUNISADA, T.; URATA, Y.; KAGAWA, S.; OZAKI, T.; FUJIWARA, Toshiyoshi. Oncolytic virotherapy promotes radiosensitivity in soft tissue sarcoma by suppressing anti-apoptotic MCL1 expression. *PloS One*, [s. l.],. 16, n. 4, p. e0250643, 2021.

OZAIR, M. Z.; SHAH, P. P.; MATHIOS, D.; LIM, M.; MOSS, N. S. New Prospects for Molecular Targets for Chordomas. *Neurosurgery Clinics of North America*, v. 31, n. 2, p. 289–300, 2020.

PÉREZ-ROMERO, K.; RODRÍGUEZ, R. M.; AMEDEI, A.; BARCELÓ-COBLIJN, G.; LOPEZ, D. H. Immune Landscape in Tumor Microenvironment: Implications for Biomarker Development and Immunotherapy. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 15, p. E5521, 2020.

RAJA, J.; LUDWIG, J. M.; GETTINGER, S. N.; SCHALPER, K. A.; KIM, H. S. Oncolytic virus immunotherapy: future prospects for oncology. *Journal for Immunotherapy of Cancer*, v. 6, n. 1, p. 140, 2018.

RODRÍGUEZ-RUIZ, M. E.; VANPOUILLE-BOX, C.; MELERO, I.; FORMENTI, S. C.; DEMARIA, S. Immunological Mechanisms Responsible for Radiation-Induced Abscopal Effect. *Trends in Immunology*, v. 39, n. 8, p. 644–655, 2018.

SCHEIPL, S.; LOHBERGER, B.; RINNER, B.; FROEHLICH, E. V.; BEHAM, A.; QUEHENBERGER, F.; LAZÁRY, A.; PAL VARGA, P.; HAYBAECK, J.; LEITHNER, A.; LIEGL, B. Histone deacetylase inhibitors as potential therapeutic approaches for chordoma: an immunohistochemical and functional analysis. *Journal of Orthopaedic Research: Official Publication of the Orthopaedic Research Society*, v. 31, n. 12, p. 1999–2005, 2013.

SENGUPTA, N.; MACFIE, T. S.; MACDONALD, T. T.; PENNINGTON, D.; SILVER, A. R. Cancer immunoediting and “spontaneous” tumor regression. *Pathology, Research and Practice*, v. 206, n. 1, p. 1–8, 2010.

SUGIU, K.; TAZAWA, H.; HASEI, J.; YAMAKAWA, Y.; OMORI, T.; KOMATSUBARA, T.; MOCHIZUKI, Y.; KONDO, H.; OSAKI, S.; FUJIWARA, Tomohiro; YOSHIDA, A.; KUNISADA, T.; UEDA, K.; URATA, Y.; KAGAWA, S.; OZAKI, T.; FUJIWARA, Toshiyoshi. Oncolytic virotherapy reverses chemoresistance in osteosarcoma by suppressing MDR1 expression. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, v. 88, n. 3, p. 513–524, 2021.

TADMOR, T. Time to Understand More about Spontaneous Regression of Cancer. *Acta Haematologica*, v. 141, n. 3, p. 156–157, 2019.

TAEFEHSHOKR, N.; TAEFEHSHOKR, S.; HEIT, B. Mechanisms of Dysregulated Humoral and Cellular Immunity by SARS-CoV-2. *Pathogens (Basel, Switzerland)*, v. 9, n. 12, p. E1027, 2020.

TAKAHASHI, T.; ELLINGSON, M. K.; WONG, P.; ISRAELOW, B.; LUCAS, C.; KLEIN, J.; SILVA, J.; MAO, T.; OH, J. E.; TOKUYAMA, M.; LU, P.; VENKATARAMAN, A.; PARK, A.; LIU, F.; MEIR, A.; SUN, J.; WANG, E. Y.; CASANOVAS-MASSANA, A.; WYLLIE, A. L.; VOGELS, C. B. F.; EARNEST, R.; LAPIDUS, S.; OTT, I. M.; MOORE, A. J.; YALE IMPACT RESEARCH TEAM; SHAW, A.; FOURNIER, J. B.; ODIO, C. D.; FARHADIAN, S.; DELA CRUZ, C.; GRUBAUGH, N. D.; SCHULZ, W. L.; RING, A. M.; KO, A. I.; OMER, S. B.; IWASAKI, A. Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. *Nature*, v. 588, n. 7837, p. 315–320, 2020.

TENNY, S.; VARACALLO, M. Chordoma. *In: STATPEARLS. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2021. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430846/>. Acesso em: 14 jul. 2021.*

THOMAS, J. A.; BADINI, M. The role of innate immunity in spontaneous regression of cancer. *Indian Journal of Cancer*, v. 48, n. 2, p. 246–251, 2011.



TUFAN, A.; AVANOĞLU GÜLER, A.; MATUCCI-CERINIC, M. COVID-19, immune system response, hyperinflammation and repurposing antirheumatic drugs. *Turkish Journal of Medical Sciences*, v. 50, n. SI-1, p. 620–632, 2020.

YANIV, D.; SOUDRY, E.; STRENOV, Y.; COHEN, M. A.; MIZRACHI, A. Skull base chordomas review of current treatment paradigms. *World Journal of Otorhinolaryngology - Head and Neck Surgery*, v. 6, n. 2, p. 125–131, 2020.

ZOU, M.-X.; LV, G.-H.; ZHANG, Q.-S.; WANG, S.-F.; LI, J.; WANG, X.-B. Prognostic Factors in Skull Base Chordoma: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis. *World Neurosurgery*, v. 109, p. 307–327, 2018.

ZOU, M.-X.; PAN, Y.; HUANG, W.; ZHANG, T.-L.; ESCOBAR, D.; WANG, X.-B.; JIANG, Y.; SHE, X.-L.; LV, G.-H.; LI, J. A four-factor immune risk score signature predicts the clinical outcome of patients with spinal chordoma. *Clinical and Translational Medicine*, v. 10, n. 1, p. 224–237, 2020.

# ANEXO I

## SUBMISSÃO DO ARTIGO PARA A REVISTA

ScholarOne Manuscripts

03/09/2021 22:55

ScholarOne Manuscripts™ Luis Fernando Silva Junior ▾ Instructions & Forms Help

Journal of  
**Neurology, Neurosurgery  
& Psychiatry**

Home Author

Author Dashboard / Submission Confirmation

## Submission Confirmation

Thank you for your submission

<b>Submitted to</b>	Journal of Neurology, Neurosurgery, and Psychiatry
<b>Manuscript ID</b>	jnp-2021-327961
<b>Title</b>	CHORDOMA SPONTANEOUS REGRESSION AFTER COVID-19: IS SARS-COV-2 LEADING ACTOR, SUPPORTING ACTOR OR EXTRA?
<b>Authors</b>	Silva Junior, Luis Fernando Silva, Gyl Eanes Lima Junior, Antonio Augusto Santos, Ramon dos Santos, Orlando Salgado Filho, Natalino
<b>Date Submitted</b>	03-Sep-2021

Author D