

Calcitonina pleural – Resultados preliminares e perspectivas

Pleural calcitonin - Preliminary results and future

Rodolfo Fred Behrsin¹, Cyro Teixeira da Silva Junior²,
Gilberto Perez Cardoso³

RESUMO

Introdução: a calcitonina é um hormônio polipeptídico cuja secreção é originária, principalmente, das células C ou parafoliculares tireoideanas. Níveis elevados ocorrem em pacientes com doença não maligna do pulmão e nas seguintes doenças malignas: câncer de mama, carcinóide, hepatoma, hipernefroma, câncer de pulmão, gastrinoma, tumores gastrointestinais e o carcinoma medular da tireóide. O objetivo do presente estudo foi avaliar a utilidade diagnóstica da calcitonina, dosada no líquido pleural, como marcador tumoral para o diagnóstico diferencial na síndrome do derrame pleural. **Pacientes e Método:** três líquidos pleurais, provenientes de três pacientes, com causas de síndrome do derrame pleural confirmada. Radioimunoensaio, tendo iodo como marcador, foi utilizado para dosagem de calcitonina pleural (CALC-L). **Resultados:** os níveis encontrados para CALC-L em pacientes com derrame pleural parapneumônico complicado, carcinoma brônquico de células não pequenas e adenocarcinoma pleural foram 68pg/mL, 89pg/mL e 46pg/mL respectivamente. O valor normal no soro varia de 23 e 71pg/mL. **Conclusão:** ainda não foi possível calcular o rendimento da CALC-L para diagnóstico diferencial na síndrome do derrame pleural. O valor de referência no líquido pleural ainda não pode ser estabelecido.

Descritores: calcitonina; derrame pleural.

ABSTRACT

Introduction: calcitonin is a peptide hormone produced and secreted by specialized C cells (paraffollicular cells) in the thyroid gland. The only known cause for excessive secretion of calcitonin is medullary carcinoma of the thyroid. Other disease states associated with increased concentration of calcitonin, in serum, include tuberculosis, carcinoid neoplasms, oat cell and squamous cell carcinoma of the lung. The aim of this study was to evaluate the pleural calcitonin (L-CALC) in differential diagnosis of patients with pleural effusion. **Material and methods:** an initial prospective analysis was performed in three pleural fluids from three patients. Radioimmunoassay was used to determine the levels of L-CALC. **Results:** in complicated parapneumonic effusion the value of L-CALC was 68pg/mL, in pleural adenocarcinoma of 46pg/mL and of 89pg/mL in patient with non-small cell lung carcinoma. Serum calcitonin levels of normal subjects with automated immunoradiometric assay: 23 – 71 pg/mL. **Conclusion:** is not possible yet to determinate the normal value in pleural fluid and its importance for the diagnosis with the number of cases studied.

Keywords: calcitonin; pleural effusion.

1- Mestre em Pneumologia pela Universidade Federal Fluminense.

2- Professor Adjunto do Departamento de Medicina Clínica da Universidade Federal Fluminense. Disciplina de Pneumologia. TE SBPT

3- Professor Titular do Departamento de Medicina Clínica da Universidade Federal Fluminense. Doutor em Endocrinologia pela Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Laboratório de Pesquisa em Líquido Pleural, Disciplina de Pneumologia, Universidade Federal Fluminense. Niterói - RJ

Endereço para correspondência: Cyro Teixeira da Silva Junior. Rua da Conceição, 13/210, Centro 24020 080 Niterói – RJ. E-mail: ctsilvajunior@predialnet.com.br

Artigo recebido para publicação no dia 22/04/2004 e aceito no dia 25/06/2004, após revisão.

Introdução

A calcitonina é um hormônio polipeptídico composto por 32 aminoácidos, cuja secreção é originária, principalmente, das células C ou parafoliculares tiroideanas. Normalmente a calcitonina é secretada em resposta a um aumento do nível sérico de cálcio. Ela inibe a liberação de cálcio pelo osso, diminuindo o nível do cálcio sérico¹.

Indivíduos normais têm níveis inferiores a 0,1 ng/mL ou até 0,55 ng/mL após infusão de cálcio¹.

Níveis elevados ocorrem em pacientes com doença não maligna do pulmão, na pancreatite, na doença de Paget óssea, no hiperparatireoidismo, na síndrome de Zollinger-Ellison, durante a gravidez e nas seguintes doenças malignas: câncer de mama, carcinóide, hepatoma, hipernefroma, câncer de pulmão, gastrinoma, tumores gastrointestinais e o carcinoma medular da tireóide (CMT)¹. Neste último, é de valor na triagem de pacientes com história familiar de carcinoma medular de tireóide. Os níveis de calcitonina também correlacionam-se com a extensão da doença e são importantes na avaliação da resposta à terapia¹.

Do ponto de vista terapêutico, tem aplicações para o controle da hipercalcemia e também como agente anti-reabsortivo ósseo¹.

Do ponto de vista diagnóstico habitual, a calcitonina representa um marcador tumoral para o diagnóstico e seguimento de pacientes portadores de carcinoma medular de tireóide².

O objetivo do presente estudo foi avaliar a utilidade diagnóstica da calcitonina, dosada no líquido pleural, como marcador tumoral para o diagnóstico diferencial da síndrome do derrame pleural.

Material e métodos

O estudo foi realizado no Laboratório de Pesquisa em Líquido Pleural, vinculado à Disciplina de Pneumologia, da Universidade Federal Fluminense, situada no município de Niterói, Estado do Rio de Janeiro.

A presente pesquisa foi, e está sendo, o início de um método de estudo epidemiológico primário, observacional, do tipo transversal, prospectivo, com a finalidade de diagnóstico³, realizada em líquidos

pleurais de pacientes que procuraram, espontaneamente ou referenciados, o Hospital Universitário Antônio Pedro durante o mês de fevereiro de 2004.

Todos os pacientes compareceram ao hospital, após diagnóstico clínico e por imagem de síndrome de derrame pleural, para realização de procedimentos e exames mínimos necessários que esclarecessem a causa da síndrome existente.

Até o momento, três dosagens de calcitonina, foram realizadas no líquido pleural (CALC-L) provenientes de três pacientes, obedecendo aos seguintes critérios de exclusão: líquidos pleurais de pacientes com infecção pelo HIV, síndrome de imunodeficiência adquirida, insuficiência renal crônica, hemotórax, hipercalcemia, uso de omeprazol ou outros inibidores de bomba de prótons, doenças tireoidianas, gravidez, pancreatite, hepatopatias, terapia anticoagulante e trombolítica, presença de fibrina, e naqueles em que o diagnóstico ficou indeterminado, apesar de exaustivamente investigados.

As amostras de líquido pleural, para dosagem de CALC-L, foram coletadas em frascos padronizados, sem anticoagulante, seco e estéril. Antes de serem testadas sofreram macro-centrifugação, após retração completa do coágulo, retirada da parte celular e bolhas. Clareamento em caso de turvação. Em caso de estocagem, ficaram armazenadas em refrigerador por até 24 horas entre 2 a 8 graus C e, após este período, em *freezer* a - 20 graus C. Quando transportadas, as amostras foram embaladas e rotuladas de acordo com as regulamentações nacionais e internacionais aplicáveis, referentes ao transporte de amostras clínicas.

A determinação quantitativa do CALC-L foi realizada através de radioimunoensaio, tendo como agente marcador o iodo⁴. Detecção de radioatividade efetuada em sistema automático de duplo canal.

Análise estatística: descrição dos resultados porque tratou-se de estudo inicial, ainda sem grupo controle.

Resultados

Os resultados dos exames da CALC-L e os diagnósticos comprovados das causas dos derrames pleurais investigados estão resumidos na tabela 1.

Tabela 1 – Resultados das dosagens quantitativas de CALC-L, com método de radioimunoensaio, em três pacientes com síndrome de derrame pleural e seus respectivos diagnósticos comprovados

Paciente	Idade (anos)	Sexo	CALC-L* (pg/mL)	Diagnóstico comprovado
1	87	Feminino	68, 0	Parapneumônico Complicado
2	68	Feminino	89, 0	Carcinoma não pequenas células
3	89	Masculino	46, 0	Adenocarcinoma

* Limiar de reatividade de calcitonina no soro (CALC-S): 23 - 71 pg/mL, segundo kit comercial

FONTE: Laboratório de Pesquisa em Líquido Pleural, Disciplina de Pneumologia, Universidade Federal Fluminense (fevereiro de 2004)

Discussão

a) Ensaios para dosagem de calcitonina e papel da calcitonina no diagnóstico do carcinoma medular da tireóide

Os primeiros testes para dosagem de calcitonina usavam a técnica de radioimunoensaio (RIE), e desta forma além da calcitonina monomérica circulante, também reconheciam moléculas precursoras da calcitonina e seus metabólitos. Sabe-se que várias formas de calcitonina imunorreativa são encontradas na circulação de indivíduos normais e com CMT. Estas formas diferentes de calcitonina circulantes têm peso molecular bastante variado (calcitonina monomérica com cerca de 3.400Da, calcitonina polimérica com 70.000Da)¹.

Alguns fatores como diferenciação tumoral, podem elevar mais precocemente e anormalmente as formas não monoméricas de calcitonina quando comparado com a forma monomérica. Desta forma, em alguns pacientes com CMT a dosagem de calcitonina por RIE pode estar elevada antes que qualquer alteração seja observada nos ensaios imunométricos¹.

Todos os estudos mencionados por Hauche e cols.¹ utilizaram ensaios imunométricos com dois anticorpos monoclonais e elevada sensibilidade e especificidade para o monômero de calcitonina, o que torna obrigatório em pacientes com doença nodular de tireóide, a utilização de ensaios imunométricos para dosagem de calcitonina, independentemente, do uso de anticorpos monoclonais ou policlonais. Assim, a hipótese de CMT deve ser considerada em pacientes com valores de calcitonina maiores que 10pg/mL. Caso nos defrontemos com uma elevação discreta do nível de calcitonina, em caso de suspeita de CMT, deve-se proceder a repetição da dosagem com outro método ou um teste de estímulo¹.

A incidência de elevações não específicas dos níveis de calcitonina parece ser menor nos ensaios que fazem uso de anticorpos monoclonais quando comparados aos ensaios que utilizam anticorpos policlonais¹.

Valores elevados de calcitonina podem ser encontrados na insuficiência renal, porém, em alguns casos, níveis elevados de pró-calcitonina podem levar a reatividade cruzada com a calcitonina a ser dosada. O aumento dos níveis basais de calcitonina em vigência de insuficiência renal é conhecido, e, possivelmente, está relacionado ao diminuído clearance renal de calcitonina. A pró-calcitonina (PCT) geralmente não é secretada para a circulação e desta forma, os níveis plasmáticos de PCT são muito baixos em indivíduos saudáveis. No entanto a PCT pode aumentar em

condições como sepsis e em tais situações alguns ensaios para medida da calcitonina podem apresentar reatividade cruzada com a PCT¹.

Em um estudo de pacientes com CMT, Saller e cols.⁵, descreveram um método para detecção no sangue periférico de células circulantes capazes de produzir calcitonina via RT-PCR e concluíram que esta metodologia, apesar de ainda necessitar confirmação em estudos com número maior de pacientes, pode refletir a agressividade tumoral, podendo ser aplicada para a identificação precoce de doença disseminada e rapidamente progressiva.

Os níveis pré-operatórios de calcitonina tem significativa relação com o tamanho do tumor e com a possibilidade de metástases à distância. Cohen e cols.⁶, utilizando método imunorradiométrico (IRMA) para dosagem de calcitonina, demonstraram que um nível basal pré-operatório de calcitonina superior a 1000pg/mL, associou-se ao encontro de metástases à distância em 10,5% dos casos, enquanto que casos com níveis inferiores a 1000pg/mL, associou-se a metástases à distância em apenas 3,3% dos casos.

Descreveram também que níveis pré-operatórios de calcitonina inferiores a 50pg/mL estava relacionado com normalização pós-operatória em 97,8% dos casos avaliados.

Desta forma, níveis de calcitonina basal acima de 10pg/mL em ensaio imunométrico sugere hiperplasia de células C ou CMT, principalmente, quando há suspeita de tais condições. Pacientes com nódulos de tireóide sem prévia suspeita clínica, valores de calcitonina basal acima do valor de referência devem ser investigados, dosando-se a calcitonina basal por outro método, com o objetivo de excluir possíveis interferentes, e/ou aplicação de teste de estímulo para secreção de calcitonina.

Outras técnicas imunológicas, tais como a quimioluminescência, também estão disponíveis para dosagem quantitativa de calcitonina^{7,8}.

b) Calcitonina como marcador tumoral

Apesar da calcitonina ser reconhecidamente um marcador tumoral para CMT, outras doenças podem ser acompanhadas de elevação dos níveis séricos de calcitonina, tais como carcinoma pulmonar, síndrome carcinóide, carcinoma de mama, tuberculose, doença pulmonar obstrutiva crônica, pneumonia aguda, fumantes e outras⁹.

Assim como outros peptídeos hormonais, a calcitonina sérica pode ser utilizada como marcador tumoral para carcinoma broncogênico de células

pequenas (SCLC) e nos carcinomas não pequenas células⁸.

A calcitonina está presente nas células neuroendócrinas do epitélio brônquio normal e é, freqüentemente, secretada por tumores neuroendócrinos, incluindo 18% a 60% dos casos de SCLC, mas sem manifestações clínicas ou síndromes clínicas definidas¹⁰.

Banner e cols¹¹ estudaram três casos de tumores pulmonares neuroendócrinos com derrame pleural maligno, com objetivo de avaliar se a expressão dos marcadores tumorais estudados na massa do tumor broncogênico eram os mesmos no líquido pleural. Calcitonina não foi expressa no líquido pleural e também não na massa tumoral.

c) Dosagem de calcitonina pleural

Trabalhos com dosagem de calcitonina pleural como marcador diagnóstico não foram encontrados, por qualquer método de dosagem, após pesquisa extensa no banco de dados do Medline.

No paciente com derrame pleural parapneumônico complicado, pode-se observar que o valor encontrado de 68 pg/mL para CALC-L está dentro dos limites de normalidade do *kit* para dosagem quantitativa de calcitonina no soro (23 – 71 pg/mL).

No paciente com derrame pleural maligno por carcinoma broncogênico, o diagnóstico foi realizado pelo procedimento de broncofibroscopia e consequente histopatologia de biópsia de mucosa brônquica, com laudo de carcinoma de células não pequenas. Diagnosticou-se o derrame pleural como paramaligno, pois não foi encontrado células malignas pela citologia convencional no líquido pleural e nem histopatologia conclusiva de fragmentos de pleura parietal, obtido por biópsia da cavidade com agulha de Cope. O valor encontrado de 89pg/mL para CALC-L está acima dos limites de normalidade do *kit* para dosagem quantitativa de calcitonina no soro.

No paciente com derrame pleural maligno por adenocarcinoma o diagnóstico foi confirmado pela presença de células malignas encontradas no líquido pleural de aspecto sanguinolento. O valor encontrado, de 46pg/mL para CALC-L, está dentro dos limites de normalidade do *kit* para dosagem quantitativa de calcitonina no soro.

Além de derrames pleurais parapneumônicos, empiemas pleurais; e tuberculose, outras causas; serão necessárias no grupo controle para parâmetros diagnósticos e validação do exame da CALC-L.

Finalmente, não podemos esquecer que hipercalcemia pode ocorrer na evolução dos

carcinomas broncogênicos, por mecanismos patogênicos diversos, resultando em aumento dos níveis séricos de calcitonina¹².

Outro aspecto a ser considerado em discussões futuras é que a calcitonina tem sido extraída da traquéia, brônquios e pulmões normais, com maiores concentrações encontradas no lobo médio e lobos superiores⁹.

Resta responder, se os níveis encontrados nas diversas causas de síndrome do derrame pleural, serão úteis para o diagnóstico diferencial.

No presente estudo, com o número de pacientes pesquisados, ainda não foi possível concluir parâmetros da CALC-L para o diagnóstico diferencial na síndrome do derrame pleural. Do mesmo modo, valor de referência ou limite de reatividade ou *cut off* no líquido pleural ainda não pode ser estabelecido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hauache OM, Vieira JGH, Maciel RMB. Diagnóstico laboratorial do carcinoma medular de tiróide: calcitonina basal e testes de estímulo. Arq Bras Endocrinol Metab 2003;47(5):529-33.
2. Zaidi M, Inzerillo AM, Moonga BS, Bevis PJR, Huang CLH. Forty years of calcitonin – where are we now? A tribute to the work of Ian Macintyre, FRS. Bone 2002; 30:655-63.
3. Campana AO. Investigação científica na área médica. São Paulo: Manole; 2001.
4. Saller B, Görges R, Reinhardt W, Haupt K, Janssen O, Mann K. Sensitive calcitonin measurement by two-site immunoradiometric assays: implications for calcitonin screening in nodular thyroid disease. Clin Lab 2002;48:191-200.
5. Saller B, Feldmann G, Haupt K. RT-PCR-based detection of circulating calcitonin-producing cells in patients with advanced medullary thyroid cancer. J Clin Endocrinol Metab 2002;87:292-6.
6. Cohen R, Campos JM, Salaün C. Pre-operative calcitonin levels are predictive of tumor size and postoperative calcitonin normalization in medullary thyroid carcinoma. J Clin Endocrinol Metab 2000;85:919-22.
7. Grauer A, Raue F, Ziegler R. Clinical usefulness of a new chemiluminescent two-site immunoassay for human calcitonin. Exp Clin Endocrinol Diabetes 1998;106: 353-9.
8. Abelin N, Gomes S, Ivanoff MT, Ezabella MCL, Hayashida CY, Toledo SPA. Abordagem clínica e laboratorial do bócio uninodular sólido: vantagem da determinação da calcitonina sérica por métodos

- distintos. *Arq Bras Endocrinol Metab* 1999;43:104-13.
9. Becker KL, Gazdar AF. *The endocrine lung*. Philadelphia: W.B.Saunders Co; 1984.
 10. Silva Junior CT, Cardoso GP. Endocrine expression in bronchogenic carcinoma. *Rev Port Pneumol*;2002;IX(2):109-15.
 11. Banner BF, Warren WH, Gould VE. Cytomorphology and marker expression of malignant neuroendocrine cells in pleural effusions. *Acta Cytol* 1986;30(2):99-104.
 12. Bender RA, Hansen H. Hypercalcemia in bronchogenic carcinoma. *Ann Intern Med* 1974;80:205-8. ■
-