

Atualização

Diferenciação neuroendócrina dos carcinomas brônquicos. Neuroendocrine differentiation in bronchogenic carcinomas.

*Cyro Teixeira da Silva Junior¹, Gilberto Perez Cardoso², Leticia Maciel dos Santos³,
Mauro Zamboni⁴, Elizabeth Giestal de Araújo⁵.*

RESUMO

O fenótipo neuroendócrino define um grupo específico de células que possuem grânulos secretórios no seu citoplasma. Os tumores pulmonares neuroendócrinos possuem diferentes graus de agressividade. São exemplos: os carcinomas brônquicos de pequenas células, os tumores carcinóides típicos e atípicos, entre outros. Expressam marcadores neuroendócrinos em comum que podem ser demonstrados pela técnica de imuno-histoquímica. A cromogranina A e a enolase neurônio-específica são exemplos de marcadores neuroendócrinos. Diferentes síndromes paraneoplásicas podem acompanhar esses tumores. Os dois maiores subgrupos de carcinomas brônquicos podem ser difíceis de diagnosticar sem uma avaliação neuroendócrina. Os autores concluem que, atualmente, além do diagnóstico histopatológico, a expressão de fenótipo neuroendócrino deve fazer parte do estadiamento dos carcinomas brônquicos. Além de ser mais um parâmetro para auxiliar no diagnóstico, também tem significado como prognóstico e para o controle terapêutico.

Descritores: marcadores biológicos; neoplasias pulmonares.

ABSTRACT

The term neuroendocrine defines a specific group of cells by their secretory products. Neuroendocrine tumors are regarded by pathologists as a continuous spectrum of similar cell types of variable clinical aggressiveness. These tumors include the small cell lung carcinoma, atypical and typical carcinoid tumor and others. These tumors share some morphologic features and express common neuroendocrine markers, which can be demonstrated by immunohistochemical staining. Markers of neuroendocrine tumours of the lungs including chromogranin A, neuron specific enolase and others, to confirm the neuroendocrine origin of lung tumours. Not infrequently, patients with these tumors present with paraneoplastic syndromes. The two major subgroups of carcinoma, small cell (SCLC) and non-small cell lung cancer (NSCLC) can be difficult to distinguish without neuroendocrine evaluation. We concluded to the significance of expression of neuroendocrine markers in diagnostic, prognostic and treatment of lung cancers.

Keywords: biologic markers; lung neoplasms.

1. Professor Adjunto da Disciplina de Pneumologia do Departamento de Medicina Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense.
 2. Professor Titular do Departamento de Medicina Clínica da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense.
 3. Aluna da Disciplina de Iniciação Científica II da Faculdade de Medicina da Universidade Federal Fluminense.
 4. Pneumologista do Instituto Nacional do Cancer (INCA). Mestre em Ciências Médicas pela Universidade Federal Fluminense.
 5. Professora Adjunta do Departamento de Neurobiologia do Instituto de Biologia da Universidade Federal Fluminense.
- Trabalho realizado em conjunto pelos Programas de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Médicas e Neuroimunologia da Universidade Federal Fluminense, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil. Não há onflito de interesse.

Endereço para correspondência: Cyro Teixeira da Silva Junior. Rua da Conceição, 13/210, Centro, CEP: 24020-080, Niterói, RJ, Brasil.

e-mail: ctsilvajunior@predialnet.com.br

Recebido em 05/01/2006 e aceito em 17/03/2006, após revisão.

Os carcinomas brônquicos representam grande desafio para os pneumologistas, uma vez que, apesar de todos os avanços diagnósticos e terapêuticos, a taxa de sobrevivência global, em cinco anos, permanece inalterada nos países desenvolvidos (variando entre 13% e 21%) e nos países em desenvolvimento (variando entre 7% e 10%). A média mundial estimada é de 11%. São a principal causa de morte oncológica entre os homens e a segunda principal, entre as mulheres.¹

Os carcinomas brônquicos podem ser classificados em dois grandes grupos com diferentes comportamentos biológicos e prognósticos: carcinoma de pequenas células (SCLC), com características neuroendócrinas predominantes, e carcinoma não de pequenas células (NSCLC).¹

O NSCLC corresponde a um grupo heterogêneo composto de três principais tipos histológicos distintos: carcinoma epidermóide, adenocarcinoma e carcinoma de células grandes. Ocorre em cerca de 75% dos pacientes diagnosticados com câncer brônquico. Dentre os tipos do SCLC, destaca-se o carcinoma indiferenciado de células pequenas, com os três subtipos celulares: o linfocitóide (*oat cell*), o intermediário e o combinado (de células pequenas mais carcinoma epidermóide ou adenocarcinoma).¹

Carcinomas não de pequenas células também apresentam heterogeneidade fenotípica, sendo a cura e a sobrevivência associadas à sua ressecabilidade. Por esta razão, a subclassificação precisa do tipo celular é menos importante do que o diagnóstico diferencial entre SCLC e NSCLC.²

Cerca de 75% dos SCLC e 20% a 25% dos NSCLC têm fenótipo neuroendócrino, definido como a expressão de dois ou mais marcadores pela técnica de imuno-histoquímica. A prevalência desta diferenciação neuroendócrina é variável na literatura e depende do critério imuno-histoquímico usado.³

Os tumores neuroendócrinos do pulmão derivam do sistema celular neuroendócrino, que está amplamente distribuído pelo corpo. São um raro e heterogêneo grupo de neoplasias, caracterizado por diferenças embriológicas, biológicas e histopatológicas. A ordem decrescente de agressividade dos tumores neuroendócrinos do pulmão incluem: SCLC, carcinoma neuroendócrino de grandes células, carcinóide atípico, carcinóide típico, *tumorlet* e hiperplasia celular neuroendócrina difusa.⁴ Apesar de ser o mais agressivo tumor pulmonar neuroendócrino, o SCLC é aquele que tem a imagem mais específica em sua apresentação: adenomegalia hilar ou mediastinal.⁵

Alguns estudos da literatura têm mostrado que o fenótipo neuroendócrino associa-se a uma melhor resposta à quimioterapia e um aumento na sobrevivência dos pacientes com SCLC. O desenvolvimento da técnica imuno-histoquímica permitiu comprovar que alguns NSCLC que apresentam diferenciação neuroendócrina são mais agressivos e com disseminação

mais precoce do que os não-endócrinos.^{6,7}

A enzima enolase neurônio-específica (NSE) está sendo estudada como expressão do fenótipo neuroendócrino, porque é um dos marcadores tumorais mais sensíveis para diagnosticar diferenciação neuroendócrina. A presença de NSE e de outros marcadores tumorais neuroendócrinos também ajuda a diferenciar os mimetizadores mais frequentes no diagnóstico histopatológico convencional do carcinoma brônquico, que são o carcinoma de mama e os linfomas.⁸

O estudo de marcadores tumorais é importante na prática, porque o diagnóstico definitivo dos grandes grupos de carcinoma brônquico em pequenas amostras de tecidos, tais como aquelas resultantes de biópsias pleurais com agulha, biópsias transtorácicas com agulha fina e biópsia transbrônquica, ainda permanece um desafio, mesmo para patologistas mais experientes.⁹

DIAGNÓSTICO DOS CARCINOMAS BRÔNQUICOS NEUROENDÓCRINOS

Grandes avanços têm ocorrido no diagnóstico e no estudo dos tumores pulmonares, devido a uma explosão no desenvolvimento das técnicas especiais nos campos da imuno-histoquímica, citometria de fluxo, hibridização *in situ* e biologia molecular. Estes exames têm revolucionado a acurácia diagnóstica de certos tipos de tumores pulmonares e o melhor entendimento de sua histogênese e patogenia.

Kobayashi e colaboradores¹⁰ concluíram que somente usando os marcadores tumorais, por meio das técnicas de imuno-histoquímica e biologia molecular, podemos distinguir os vários subtipos dos tumores pulmonares neuroendócrinos.

Atualmente, além das características clínicas e patológicas, as características moleculares também vêm sendo estudadas e apontadas como fatores determinantes da sobrevivência nos pacientes com NSCLC.¹¹

Os fatores mais importantes para avaliação prognóstica são: a capacidade funcional, o estadiamento clínico e a perda de peso.¹¹ Estas características são utilizadas como parâmetros para avaliar o impacto na sobrevivência dos novos fatores prognósticos pesquisados, tais como a concentração sérica dos marcadores tumorais.¹²

MARCADORES TUMORAIS

Um marcador tumoral ou biológico define alterações celulares e moleculares presentes, tanto em células normais, quanto naquelas associadas a transformação maligna.¹³ Podem ser de dois tipos:

a) marcadores biológicos intermediários ou precoces – que medem as alterações celulares e moleculares antes do aparecimento do tumor. Existe grande expectativa na detecção precoce de neoplasias malignas. Apesar do exame citopatológico do escarro, da radiografia de tórax e da tomografia computadorizada do tórax serem utilizados na clínica para detecção precoce

do câncer brônquico, é com a biologia molecular que trabalhos atuais estão sendo realizados. As anormalidades genéticas e epigenéticas associadas a alterações histopatológicas vêm sendo estudadas, com vistas a serem utilizadas como biomarcadores para detecção precoce de transformação celular.¹³

b) marcadores biológicos diagnósticos - presentes em associação com o tumor. Os marcadores biológicos diagnósticos são substâncias que podem ser medidas quantitativamente por métodos bioquímicos, imunológicos e moleculares, nos líquidos orgânicos ou nos tecidos corporais, associados a neoplasias e com o órgão de origem.¹³

Nas últimas décadas, várias proteínas e pequenos peptídeos têm sido identificados como produtos de secreção de diferentes neoplasias sólidas, podendo ser utilizados como marcadores tumorais diagnósticos.⁷

Os marcadores biológicos diagnósticos expressam diferentes características biológicas dos carcinomas brônquicos e podem ser utilizados no manejo clínico dos pacientes, auxiliando nos processos de diagnóstico, estadiamento, avaliação de resposta terapêutica, detecção de recidivas e prognóstico.¹⁴ Além do mais, esses marcadores vêm atualmente tomando papel importante no desenvolvimento de novas modalidades de tratamento, direcionadas a quebrar o ciclo biológico da progressão tumoral.

Dentre os marcadores séricos mais estudados em pacientes com carcinomas brônquicos, incluem-se: CEA (antígeno carcino-embrionário), TPA (antígeno polipeptídeo tecidual), SCC-Ag (antígeno do carcinoma de células escamosas), Chr A (cromogranina A), NSE (enolase neurônio-específica), CYFRA 21-1, NCAM (molécula de adesão celular neural), CPK-BB (creatina fosfoquinase-BB) e sIL-2R (receptor de interleucina solúvel-2).¹² Recentemente, um novo marcador neuroendócrino foi descrito, a secretagogina. Este marcador está localizado, junto com outros marcadores (cromogranina A, NSE, sinaptofisina), em células neuroendócrinas de criptas de mucosa normal de cólon e em tumores carcinóides.¹⁵

CASUÍSTICA SOBRE MARCADORES TUMORAIS NO BRASIL

Poucos pesquisadores brasileiros estudaram o papel dos marcadores biológicos em pacientes com carcinoma brônquico.

A partir de 1987, estudos foram realizados no Laboratório de Imunopatologia do Hospital Universitário Antônio Pedro, vinculado à Universidade Federal Fluminense (UFF), em Niterói, Rio de Janeiro, com casuística do Ambulatório de Pesquisa em Pleurologia. O antígeno carcinoembrionário no soro (CEA-S) e líquido pleural (CEA-L) de 44 pacientes com síndrome do derrame pleural foi dosado pelo método de ELISA. A dissertação resultante, de Ana Cristina Oliveira Braga, foi a primeira publicação no Brasil sobre CEA-L.¹⁶ Após serem calculados valores de referência no soro, de 5

ng/mL, e no líquido pleural, de 20ng/mL, foi concluído que a sensibilidade do CEA-S foi de 40% e do CEA-L 65%, para os derrames pleurais malignos de diversas causas, com maior frequência para os secundários aos adenocarcinomas.

Em 2004, trabalho publicado pelo Grupo de Pesquisa em Líquido Pleural, da UFF, encontrou sensibilidade de 70% e especificidade de 90%, como parâmetros diagnósticos do CEA-L para derrame pleural maligno por adenocarcinomas, pelo ensaio imunoenzimático de micropartículas (MEIA). O limiar de reatividade calculado foi maior ou igual a 20 ng/mL.¹⁷

Estudos realizados no Hospital Universitário da Universidade Federal do Rio de Janeiro demonstraram que a NSE, aferida por método imunoenzimático ELISA, no soro, depois de estabelecido o ponto de corte de 37ng/mL, possuiu sensibilidade de 65%, especificidade de 95%, valor preditivo positivo de 86,7%, valor preditivo negativo de 84,4%, razão de verossimilhança positiva de 13, razão de verossimilhança negativa de 0,37 e acurácia de 85% para o carcinoma de pulmão de pequenas células. Nestes trabalhos, observaram-se, ainda, sua presença consistentemente mais elevada na doença extensa do que na localizada.¹⁸

Em 1992, Takagaki¹⁴ analisou o papel dos marcadores biológicos diagnósticos, em 60 pacientes com carcinoma broncogênico. Observou que o CEA foi o marcador mais freqüentemente aumentado, nestes pacientes, e que o CA 72.4 o que melhor se correlacionou com a extensão da neoplasia.

Em 1999, Gross¹⁹ estudou 103 pacientes com NSCLC e observou que, no soro, o CYFRA21-1 foi o marcador mais elevado (55%), seguido pelo CA 72.4 (50%), CEA (44,4%), enolase neurônio-específica (35,7%), CA15.3 (31%) e CA19.9 (14,7%). Neste estudo, isoladamente, nenhum dos marcadores biológicos diagnósticos teve valor prognóstico independente, porém a associação de marcadores biológicos elevados pode auxiliar na identificação dos pacientes com pior sobrevida.

DIFERENCIAÇÃO NEUROENDÓCRINA

Estatisticamente, a enolase neurônio-específica é o marcador mais sensível para expressar o fenótipo neuroendócrino dos carcinomas brônquicos, possuindo, segundo Capelozzi, 93% a 100% de sensibilidade para os SCLC e 27% a 57% para os NSCLC.¹³ A enolase neurônio-específica e a creatina-fosfoquinase BB são marcadores séricos potenciais para acompanhar o curso clínico de pacientes com câncer pulmonar de pequenas células.

Além dos marcadores enzimáticos neurais, o SCLC produz uma grande variedade de hormônios peptídeos que podem levar a síndromes paraneoplásicas.⁷

A vasopressina arginina (AVP) e o hormônio adrenocorticotrófico (ACTH) são responsáveis por síndromes clínicas paraneoplásicas. Outros exemplos: calcitonina, gastrina, peptídeo liberador de gastrina (bombe-

sina), hormônio do crescimento, oxitocina, fisalaemina e somatostatina podem ser detectados laboratorialmente, mas não possuem repercussão clínica.⁷

Um conjunto de 13 anticorpos, em 473 casos de NSCLC, foi avaliado por Ulbrich-Kulczynski²⁰ por meio da técnica de imuno-histoquímica. O autor utilizou três marcadores tumorais gerais (CEA, gonadotrofina coriônica e glucagon), dois marcadores endócrinos (NSE e cromogranina A) e oito produtos secretórios (hormônios adrenocorticotrófico, tireotrófico, luteinizante, folículo-estimulante, do crescimento, prolactina, serotonina e insulina). A prevalência para marcadores endócrinos ou produtos secretórios isolados foi de 44,8% dos casos. A prevalência de CEA foi de 94,7%, de glicoproteínas placentárias 18,2% e do glucagon 8,0%.

MARCADORES BIOLÓGICOS DIAGNÓSTICOS HISTOLÓGICOS PARA CARCINOMAS NEUROENDÓCRINOS BRÔNQUICOS NA MICROSCOPIA ELETRÔNICA

Diferentes características microscópicas têm sido identificadas para distinguir os tumores pulmonares.²¹

Dos 41 carcinomas de pulmão considerados como carcinomas anaplásicos de grandes células, à microscopia de luz, Capelozzi e colaboradores²¹ encontraram oito (40%) com ausência de evidências ultra-estruturais de diferenciação. Os 33 remanescentes mostraram alguma evidência de diferenciação escamosa (desmossomos e tonofilamentos), glandular (microvilos ou microácinos) ou neuroendócrina.

REFERÊNCIAS

1. Instituto Nacional do Cancer. Ministério da Saúde do Brasil. [cited in oct, 2005]. Available at: <http://www.inca.gov>
2. Cibas ES, Ducatman BS. Cytology: Diagnostic Principles and Clinical Correlates. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1996.
3. Slodkowska J, Zych J, Szturmowicz M, Demkow U, Rowinska-Zakrzewska E, Roszkowski-Sliz K. Neuroendocrine phenotype of non-small cell lung carcinoma: immunohistological evaluation and biochemical study. *Int J Biol Markers* 2005; 20(4):217-26.
4. Franklin WA. Diagnosis of Lung Cancer. Pathology of Invasive and Preinvasive Neoplasia. *Chest* 2000;117:80-95.
5. Chong S, Lee KS, Chung MJ, Han J, Kwon OJ, Kim TS. Neuroendocrine tumors of the lung: clinical, pathologic and imaging findings. *Radiographics* 2006;26(1):41-57.
6. Gazdar AF, Kadoyama C, Venzon D. The association between histologic type and neuroendocrine differentiation on drug sensitivity of lung cancer cell lines. *J Natl Cancer Inst* 1992;13:191-6.
7. Silva Junior CT, Cardoso GP. Endocrine expression in bronchogenic carcinoma. *Rev Port de Pneum* 2003;IX(2):109-15.
8. Banner BF, Warren WH, Gould VE. Cytomorphology and marker expression of malignant neuroendocrine cells in pleural effusions. *Acta Cytol* 1986;30(2):99-104.
9. Flieder DB. Neuroendocrine tumors of the lung: recent developments in histopathology. *Curr Opin Pulm Med* 2002;8(4):275-80.
10. Kobayashi Y, Tokuchi Y, Hashimoto T, Hayashi M, Nishimura H, Ishikawa Y, Nakagawa K, Sato Y, Takahashi A, Tsuchiya E. Molecular markers for reinforcement of histological subclassification of neuroendocrine lung tumors. *Cancer Sci* 2004;95(4):334-41.
11. Younes RN. Lung cancer: role of surgery in the treatment of non-small cell lung cancer stages I, II and III. *South Am J Cancer* 1997;1:153.
12. Barbuto JAM. Marcadores tumorais. In: Rentani MN, Coelho RG, Iyeyasu H, Kowalski LP, editores. Bases da Oncologia. São Paulo:

Os SCLC, independente do subtipo, apresentam núcleo redondo ou oval, com cromatina finamente dispersa, citoplasma escasso e organelas esparsas. Desmossomos podem ser identificados. Dentro dos processos citoplasmáticos, pequenos grânulos neurosecretórios podem ser identificados.²¹ Os SCLC diferem dos tumores carcinóides pela presença, nestes, de maior número de grânulos neurosecretórios.²²

CÉLULAS PULMONARES NEUROENDÓCRINAS

As células pulmonares neuroendócrinas (NEPCs) também são chamadas de células de KULCHITSKY (Nicholas Kulchitsky, 1856 – 1925). Estão presentes nos brônquios normais e no epitélio respiratório bronquiolar, junto à membrana basal da mucosa, nos homens e nos animais.²³

As NEPCs possuem reatividade imuno-histoquímica e ultraestrutura semelhantes a dos tumores neuroendócrinos. Acredita-se que são as células que dão origem aos carcinomas neuroendócrinos do pulmão. Os locais mais freqüentes de tumores neuroendócrinos são o tubo gastrointestinal (75% dos casos) e o sistema broncopulmonar (25% dos casos).²⁴

Os autores concluem que, atualmente, além do diagnóstico histopatológico, a expressão de fenótipo neuroendócrino deve fazer parte do estadiamento dos carcinomas brônquicos. Além de ser mais um parâmetro para auxiliar no diagnóstico, também tem significado como prognóstico e para o controle terapêutico.

13. Capelozzi VL. Understanding the role of biological markers in lung cancer. *J Pneum* 2001;27(6):321-8.
14. Takagaki TY. Marcadores tumorais em carcinoma broncogênico [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 1992.
15. Birkenkamp-Demtroder K, Wagner L, Brandt Sorensen F, Bording Astrup L, Gartner W, Scherubl H, Heine B, Christiansen P, Orntoft TF. Secretagogin Is a Novel Marker for Neuroendocrine Differentiation. *Neuroendocrinology* 2006;82(2):121-38.
16. Braga ACO. Estudo do antígeno carcinoembrionário no diagnóstico dos derrames pleurais [dissertação]. Niterói (Rio de Janeiro): Universidade Federal Fluminense; 1990.
17. Silva Junior CT, Cardoso GP, Braga ACO. Antígeno carcinoembrionário pleural: casuística do Hospital Universitário Antônio Pedro (1993-1998). *Pulmão RJ* 2004;13(1):13-8.
18. Pacheco FA, Paschoal MEM, Costa MGC. Marcadores tumorais no câncer de pulmão: um caminho para a terapia biológica. *J Pneum* 2002;28(3):143-9.
19. Gross JL. Marcadores tumorais séricos em pacientes com carcinoma de pulmão não pequenas células [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 1999.
20. Ulbrich-Kulczynski JM. Estudo Imuno-Histoquímico de 473 Casos de Carcinomas Não de Pequenas Células do Pulmão [tese]. Porto Alegre (RS): Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 1997.
21. Capelozzi VL, Dewar A, Saldiva PHN, Sheppard MN. Morphometric characterization of typical carcinoid, atypical carcinoid, large cell neuroendocrine carcinoma and small cell carcinoma of the lung based on ultrastructural and stereological procedure. *Chest* 1994;106(Suppl):90S.

22. Bernardi FDC, Capelozzi VL, Takagaki T, Younes R, Saldiva PHN. Usefulness of morphometric evaluation of histopathological slides is useful in predicting long-term outcome of patients with squamous cell carcinoma of the lung. A preliminary report. *Chest* 1995;107:614-20.
23. Boers J, den Brok J, Koudstaal J, Arends J, Thunnissen F. Number and proliferation of neuroendocrine cells in normal human airway epithelium. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 154:758-63.
24. Bajetta E, Catena L, Procopio G, Bichisao E, Ferrari L, Della Torre S, De Dosso S, Iacobelli S, Buzzoni R, Mariani L, Rosai J. Is the new WHO classification of neuroendocrine tumours useful for selecting an appropriate treatment? *Ann Oncol* 2005; 16 (8):1374-80.