

Calcitonina monomérica plasmática e hipercalcemia em pacientes portadores de neoplasia pulmonar

R. COIFMAN, R.V.B. WEFORTE, T.S. KASAMATSU, L. FUKUSIMA, I. SANTORO, S. JAMNIK, J.G.H. VIEIRA, M.L. CASTRO

Disciplina de Endocrinologia, Universidade Federal de São Paulo — Escola Paulista de Medicina, São Paulo, SP.

RESUMO — A calcitonina (CT) é um hormônio peptídico relacionado ao metabolismo de cálcio produzido pelas células C da tiróide. Encontra-se com níveis plasmáticos bastante elevados no carcinoma medular de tiróide e mostra-se como excelente marcador dessa doença. No entanto, existem relatos na literatura que demonstraram níveis elevados deste peptídeo em pacientes portadores de outras neoplasias, principalmente no carcinoma de pulmão.

OBJETIVO. Avaliar a validade da dosagem da CT sérica como possível marcador tumoral em pacientes portadores de tumor de pulmão de diferentes tipos histológicos.

MÉTODOS. Foram dosados CT plasmática e cálcio ionizado sanguíneo em 56 pacientes portadores de tumores malignos de pulmão. Para as dosagens de CT os autores utilizaram um método de radio-

imunoensaio específico, realizado após extração prévia do soro em coluna de sílica.

RESULTADOS. Observou-se prevalência de hipercalcemia de 21,4%; apenas três (5,4%) dos 56 pacientes investigados apresentaram níveis pouco elevados de calcitonina, e o restante manteve níveis normais ou indetectáveis do peptídeo.

CONCLUSÃO. Os resultados demonstram que, com a utilização de um método bastante específico para dosagem da calcitonina em sua forma monomérica, não se encontram níveis elevados deste hormônio em pacientes portadores de neoplasia pulmonar, desestimulando sua utilização como marcador tumoral nesta patologia.

UNITERMOS: Calcitonina. Neoplasia pulmonar. Marcador tumoral. Hipercalcemia.

INTRODUÇÃO

A neoplasia de pulmão é a maior causa de morte por câncer em homens e é a segunda maior causa de óbito por câncer nas mulheres, após o câncer de mama¹. Devido a esta alta incidência, é constante a busca por marcadores tumorais eficientes, não apenas para detecção precoce da malignidade, mas também para a avaliação de prognóstico e acompanhamento após o tratamento cirúrgico, radioterápico ou clínico dos tumores de pulmão.

Os marcadores tumorais disponíveis mais utilizados são o antígeno carcinoembrionário (CEA) e a alfa-fetoproteína, com resultados que deixam muito a desejar em questão de sensibilidade e especificidade²⁻⁴. Muitos dos tumores pulmonares estão associados a secreções paraneoplásicas de hormônios peptídicos, que podem, até mesmo, levar a um quadro clínico específico, como a síndrome de Cushing nos tumores de pequenas células produtores de ACTH, ou a hipercalcemia associada à malignidade, nos casos de secreção de *PTH-related protein* (PTHrP) nos carcinomas espinocelulares. Nestes casos, pode-se utilizar as concentrações plasmáticas destes hormônios como marcadores tumorais^{5,6}.

A calcitonina, um outro hormônio polipeptídico secretado principalmente pelas células C da tiróide,

está relacionada à manutenção dos níveis normais de cálcio plasmático e à proteção do osso contra a desmineralização. Elevações agudas dos níveis de cálcio plasmático estimulam a secreção de calcitonina, que, por sua vez, exerce seu efeito hipocalcemiante inibindo a ação dos osteoclastos na reabsorção óssea e retardando a absorção intestinal de cálcio⁹. Sua presença em níveis bastante elevados é observada no sangue de pacientes portadores de carcinoma medular de tiróide. Neste caso, a CT é um excelente marcador tumoral, utilizado não somente para diagnóstico mas, também, como parâmetro de evolução e eficácia do tratamento⁹. Excluindo-se o carcinoma medular de tiróide, a presença de níveis elevados de CT foi descrita por alguns autores no plasma de pacientes portadores de outras neoplasias malignas, principalmente nos carcinomas pulmonares. São estudos relativamente antigos, que remontam à época de desenvolvimento dos primeiros radioimunoensaios para determinação de CT. No entanto, a partir destas descrições, a indicação da utilização da CT como marcador tumoral é constantemente citada em diversos trabalhos, até mesmo em livros textos clássicos de medicina¹⁰⁻¹³. Estudos *in vitro* mais recentes demonstraram a capacidade de algumas linhagens celulares de

tumores de pulmão e próstata^{12,14-17} de secretar calcitonina, além de outros hormônios polipeptídicos como ACTH, CGRP (*calcitonin gene-related peptide*) e PTHrP.

Tendo em nossas mãos um ensaio bastante sensível e específico para dosar CT, somado a um bem estruturado ambulatório de oncopneumologia, resolvemos avaliar a utilidade das dosagens de CT plasmáticas como marcador tumoral em pacientes portadores de neoplasia maligna de pulmão que freqüentaram esse ambulatório.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudados 56 pacientes de forma consecutiva, que freqüentaram o Ambulatório de Oncopneumologia da Disciplina de Pneumologia da Escola Paulista de Medicina, no período de abril a outubro de 1992. Todos apresentavam diagnóstico comprovado de neoplasia maligna pulmonar, em diferentes graus de estadiamento e submetidos a diferentes terapêuticas. Eram 38 homens e 18 mulheres, com idade média de 61,4 anos (35 a 87 anos), portadores dos seguintes tipos histológicos: 16 (28,5%) pacientes com carcinoma espinocelular (CEC); 24 (42,8%) pacientes com adenocarcinoma; 12 (21,4%) pacientes com carcinoma indiferenciado de pequenas células (CIPC); três (5,3%) pacientes com carcinoma indiferenciado (CI) e um (1,8%) paciente com blastoma. Em todos os pacientes foram dosados Ca ionizado (Cai) em sangue total e calcitonina sérica (CT). Os níveis de paratormônio (PTH) foram determinados nos pacientes que se apresentavam hipercalcêmicos na ocasião da coleta, com o objetivo de afastar um possível hiperparatiroidismo primário. Em 30 pacientes, a presença ou não de metástase óssea foi determinada por meio de mapeamento ósseo com tecnécio (^{99m}Tc). O Cai foi dosado por meio do método eletrodo íon-específico (Radiometer, ICA-2, Dinamarca), e o PTH aminoterminal por radioimunoensaio já descrito anteriormente^{18,19}.

O radioimunoensaio para dosagem de CT baseia-se no método descrito por Body *et al.*²⁰, e utiliza anti-soro produzido em coelhos contra CT humana sintética (Bachen Fine Chemicals, EUA), empregada no ensaio a uma diluição final de 1:40.000, que não apresenta reação cruzada com insulina, ACTH, gastrina, pentagastrina, colecistoquinina, PTH bovino ou humano. A mesma CT humana sintética foi utilizada como padrão para marcação com ¹²⁵I (Amershan). A marcação com ¹²⁵I empregou a técnica da Cloramina T (Merck), seguida de purificação em sistema de cromatografia líquida de alta performance (HLPC - Millipore).

Tabela — Dados clínicos e laboratoriais dos três pacientes portadores de neoplasia pulmonar com níveis de CT elevados

Sexo/Idade	Tipo histológico	Cai (mM)	CT (pmol/L)	Metástase óssea
masc/72a	CIPC	1,25	36	ausente
fem/49a	Adeno	1,25	20	presente
masc/49a	CEC	1,27	19,1	ausente

CIPC: carcinoma indiferenciado de pequenas células. Adeno: adenocarcinoma. CEC: carcinoma espinocelular. Valores normais: Cai — 1,13 - 1,29mmol/L; CT — até 18pmol/L.

Dois mililitros de soro das amostras eram extraídos previamente em coluna de Seppak C 18 (Millipore), com posterior reconstituição em 0,5mL de tampão do ensaio. Em seguida, as amostras extraídas eram incubadas com o anti-soro por 48 horas, quando então a CT marcada com ¹²⁵I era adicionada, seguidas de mais 48 horas de incubação. A separação era feita com o emprego de um segundo anticorpo anti-IgG de coelho produzido em carneiro. Após uma hora, polietilenoglicol (PEG - Merck) 6,4% era adicionado, as amostras centrifugadas por 30 minutos a 3.000rpm. O sobrenadante era decantado, e o precipitado medido em contador gama por um minuto. O limite de detecção do ensaio é da ordem de 1pmol/L. Todos os ensaios foram feitos em duplicata, considerando-se como normais valores de até 18pmol/L. A CT sérica também foi dosada em três indivíduos portadores de carcinoma medular de tireóide.

RESULTADOS

Foram encontrados níveis normais ou indetectáveis de calcitonina em 53 indivíduos (94,6%) portadores de neoplasia pulmonar. Em apenas três pacientes (5,4%) esses níveis ultrapassaram o limite superior da normalidade, e em dois deles os valores estavam apenas discretamente elevados (tabela).

Hipercalcemia (Cai > 1,29mmol/L) foi detectada em 12 pacientes (21,4%): cinco portadores de CIPC (41,6%), cinco de CEC (41,6%) e dois de adenocarcinoma (16,5%). Todos os pacientes hipercalcêmicos mantiveram níveis de PTH sérico suprimidos ou normais, afastando o diagnóstico de hiperparatiroidismo primário. Apesar da hipercalcemia, nenhum destes pacientes apresentou níveis elevados de calcitonina, e em cinco (41,7%) os valores de calcitonina estavam indetectáveis. Todos os três pacientes com níveis elevados de CT apresentavam-se normocalcêmicos (fig. 1). Dezoito (60%) dos 30 pacientes submetidos à investigação de metástase óssea apresentaram mapeamento ósseo com

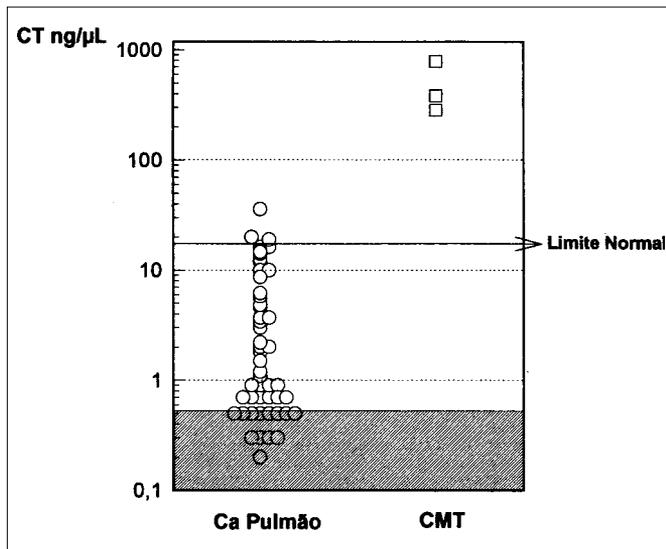


Fig. — Níveis plasmáticos de calcitonina monomérica em pacientes portadores de câncer de pulmão (Ca pulmão) e carcinoma medular de tiróide (CMT).

concentração anômala do radioindicador, e apenas um destes possuía níveis de calcitonina discretamente elevados. Os pacientes portadores de carcinoma medular de tiróide apresentaram níveis elevados de CT, acima de 200pmol/L (figura).

DISCUSSÃO

A CT é secretada pelas células C da tiróide, e utilizada como um eficiente marcador tumoral no diagnóstico e seguimento do carcinoma medular da tiróide. Na década de 70 diversos autores relataram casos de aumento da secreção deste peptídeo em portadores de neoplasia maligna pulmonar, em 50% a 60% dos casos^{11,13-15}. Nesses mesmos estudos demonstrou-se que os níveis da calcitonina diminuíram após o tratamento antitumoral específico, fazendo com que os autores preconizassem o uso desse hormônio como marcador tumoral no diagnóstico e prognóstico desses tumores. Nossos resultados contrapõem-se a esses achados, pois encontramos níveis elevados de CT em apenas três (5,4%) dos 56 pacientes investigados, desestimulando o uso da CT como marcador tumoral. Os níveis encontravam-se apenas discretamente elevados, contrastando com os obtidos nos pacientes portadores de carcinoma medular de tiróide. Como uma parte desses pacientes estava em vigência de algum tipo de terapêutica antitumoral, poderíamos pensar que estivessem em remissão e, devido a isso, apresentassem níveis normais de CT plasmática. Doze (21,4%) desses pacientes, no entanto, apresentavam-se hipercalcêmicos no momento do

estudo, indicando doença em plena atividade^{21,22}. Apesar disso, em nenhum deles foram constatados níveis elevados de calcitonina.

Uma correlação entre níveis elevados de CT e a presença de metástases ósseas foi observada em um dos trabalhos citados²³; entretanto, encontramos CT elevada em apenas um dos 18 pacientes portadores de metástases ósseas por nós avaliados.

Acreditamos que esses resultados conflitantes se devam, principalmente, ao método de dosagem de CT utilizados nos diferentes estudos. A forma monomérica da calcitonina é constituída por apenas 32 aminoácidos e apresenta níveis circulantes baixos, na ordem de alguns picomoles/L⁹. Os estudos anteriores nunca atingiam essa faixa, e seus níveis normais eram muito superiores a estes¹³⁻¹⁵. A grande maioria dos indivíduos normais apresentava níveis indetectáveis, mostrando que a sensibilidade desses métodos deixava muito a desejar. A constatação da existência de formas heterogêneas de CT circulantes, reconhecidas indiscriminadamente por diversos anti-soros utilizados nesses radioimunoensaios, comprovou serem esses métodos também inespecíficos^{24,25}. A utilização de extração prévia do soro possibilitou uma melhora sensível dos ensaios, concentrando a amostra e isolando apenas a forma monomérica da CT, considerada a biologicamente ativa. O método utilizado por nós apresenta exatamente estas características: utiliza extração prévia e um anti-soro altamente sensível e específico, chegando muito próximo à faixa de normalidade. Portanto, acreditamos que esses achados antigos traduzem, provavelmente, a inespecificidade dos métodos utilizados, e que os níveis elevados encontrados por esses autores não sejam exclusivamente de CT, mas de uma série de outros peptídeos, fragmentos de molécula ou precursores que pudessem estar sendo produzidos por esses tumores^{24,25}.

Nossos dados salientam, também, um outro aspecto interessante. Como a CT é um hormônio liberado quando ocorre aumento dos níveis de Ca no plasma, seria de se esperar níveis elevados desse peptídeo nos pacientes que se encontravam hipercalcêmicos. Mas, ao contrário, todos apresentavam-se com níveis normais ou indosáveis de CT, confirmando, assim, a perda da resposta das células C à hipercalcemia crônica já descrita por outros pesquisadores^{26,27}. Estudos *in vitro* demonstram haver uma diminuição da sensibilidade das células C a níveis suprafisiológicos de Ca, após exposição prolongada²⁸.

Concluindo, os resultados obtidos nesse trabalho demonstram que a CT plasmática monomérica não é um marcador tumoral útil no acompanhamento dos tumores de pulmão, como os ensaios inespecíficos utilizados em estudos anteriores.

SUMMARY

Monomeric plasmatic calcitonin and hypercalcemia in lung cancer patients

BACKGROUND. Calcitonin (CT) is a peptidic hormone produced by the thyroid C cells and related to calcium metabolism. High plasmatic levels of this hormone are found in patients with medullary thyroid carcinoma, what makes it an excellent tumor marker for this disease. However, there are reports that showed an increase of plasmatic CT levels in patients with other tumors, mainly in lung cancer.

PURPOSE. These data prompt us to investigate the validity of the CT level determinations as a potential tumor marker in different histologic lung cancer, and its correlation with hypercalcemia, a very common complication in these tumors.

METHOD. Blood were sampled from 56 patients with malignant lung disease for the CT and ionized calcium determinations. Calcitonin was measured using a specific radioimmunoassay for the monomeric form of the molecule, in a previous silica extracted serum probe.

RESULTS. We did not find elevated levels of monomeric CT in lung cancer. Only 3 patients had mild elevated levels, while in the others CT was normal or undetectable. Hypercalcemia was found in 21.4% of these patients, but only one with supranormal CT levels.

CONCLUSION. Monomeric CT serum levels are normal in lung cancer, what makes the latter use an unreliable tumor marker. [Rev Ass Med Brasil 1997; 43(2): 105-8.]

KEY WORDS: Calcitonin. Lung cancer. Tumor marker. Hypercalcemia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Wittman C, Binderman I. Lung cancer: to operate or not? *Am Rev Respir Dis* 1977; 116: 477-89.
2. Zamchick N. The present status of CEA in diagnoses, detection of recurrence, prognoses and evaluation of therapy of colonic and pancreatic cancer. *Clin Gastroenterol* 1976; 5: 625-37.
3. Waldmann TA, Mc Intire KR. The use of radioimmunoassay for alpha-feto protein in the diagnoses of malignancy. *Cancer* 1974; 34: 1.510-6.
4. Rosen SW, Weintraub BD, Vaitukaitis JL, Sussman HH, Hershman JM, Murgia FM. Placental proteins and their subunits as tumor markers. *Ann Intern Med* 1975; 82: 71-6.
5. Gewitz G, Yalow RS. Ectopic ACTH production in carcinoma of the lung. *J Clin Invest* 1974; 53: 1.022-8.
6. Wolfsen AR, Odell WD. Pro ACTH use for early detection of lung cancer. *Am J Med* 1979; 66: 765-9.
7. Stewler GJ, Nissenson RA. Non parathyroid hypercalcemia. *Adv Intern Med* 1987; 32: 235-59.
8. Ng KW, Martin TJ. Humoral hypercalcemia of malignancy. *Clin Biochemistry* 1990; 23: 11-25.
9. Raue F. Recent results in cancer research. *Medullary thyroid carcinoma*. Heildeberg, Springer-Verlag, 1992; 1-89.
10. Odell WD. Humoral manifestations of cancer. In: *Williams textbook of endocrinology*, Foster W (ed), WB Saunders, Philadelphia, 1985; 1.338-9.
11. Combes RC, Hillyard C, Grenberg PB, Mc Intyre I. Plasma immunoreactive calcitonin in patients with non thyroid tumors. *Lancet* 1974; 1: 1.080-3.
12. Shulkes A, Fletcher DR, Rubinstin C, Ebeling PR, Martin TJ. Production of calcitonin gene related peptide, calcitonin and PTHrp by a prostatic adenocarcinoma. *Clin Endocrinol* 1991; 34: 387-93.
13. Silva OL, Becker KL, Primack A, Doppman JL, Snider RH. Ectopic secretion of calcitonin by oat-cell carcinoma. *N Engl J Med* 1974; 16: 1.122-3.
14. Silva OL, Becker KL, Primack A, Doppman JL, Snider RH. Increased serum calcitonin levels in bronchogenic cancer. *Chest* 1976; 69(4): 495-9.
15. Silva O.L, Broder LE, Snider RH, Moore C, Cohen MM, becker KL. Calcitonin as a marker for bronchogenic cancer. *Cancer* 1979; 44: 680-4.
16. Martin EME, Gould VE, Rosen ST, Radosevich JA, Deftos LJ. PTHrp, chromogranin A, and calcitonin gene products in the neuroendocrine skin carcinoma cell lines MKL1 and MKL2. *Bone Mineral* 1991; 14: 113-20.
17. Gerbaud P, Segond N, Monkthar MM, Evain-Brion D. Calcitonin and CGRP chemotactic for F9 embryonal carcinoma cells. *Endocrinology* 1991; 1.229(5): 2.530-4.
18. Vieira JGH, Oliveira MAD, Russo EMK, Maciel RMB, Pereira AB. Egg yolk as a source of antibodies for human parathyroid hormone radioimmunoassay. *J Immunoassay* 1984; 5: 121-6.
19. Vieira JGH, Keutmann FHT, Neer RM. Characterization of a high affinity antiserum specific for the amino-terminal sequence of hPTH. *Braz J Med Biol Res* 1987; 20: 721-6.
20. Body JJ, Heath III. Estimates of circulating monomeric calcitonin: physiological studies in normal and thyroidectomized man. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 57: 897-903.
21. Bajuronas DR, Muggia FM, Mundy GR, Singer FR. Advances in the hypercalcemia of malignancy. *Semin Oncol* 1990; 17(2,5): 3-25.
22. Kao PC, Klee GG, Taylor RL, Heath III I. PTHrp in plasma of patients with hypercalcemia and malignant lesions. *Mayo Clin Proc* 1990; 65: 1.399-418.
23. Dambacher MA, Hunziker W, Fisher JA. Die Bedeutung des plasma-calcitonins für die klinische Diagnostik. *Aktuelle Diagnostik* 1977; 33(19): 1.191-3.
24. Singer FR, Habener JF. Multiple immunoreactive forms of calcitonin in human plasma. *Biochem Biophys Res Commun* 1974; 61(2): 660-6.
25. Deftos LJ, Roos BA, Bronzert D, Parthemore JG. Immunochemical heterogeneity of calcitonin in plasma. *J Clin Endocrinol Metab* 1975; 40: 409-12.
26. Raue F, Deuschle L, Kuortzel C, Ziegler R. Reversible diminished calcitonin secretion in the rat during chronic hypercalcemia. *Endocrinology* 1984; 154: 2.362-7.
27. Tiegs RD, Body JJ, Barta JM, Heath III I. Plasma calcitonin in primary hyperparathyroidism: failure of C-cell response to sustained hypercalcemia. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 63: 785-92.
28. Mekonnen Y, Raue F, Ziegler R. In vitro secretion of calcitonin from a rat C cell line: effect of a repetitive stimulation with the calcium channel agonist Bay K 8644. *Horm Metab Res* 1992; 24: 272-5.