

# ***Diagnóstico Laboratorial do Carcinoma Medular de Tiróide: Calcitonina Basal e Testes de Estímulo***

revisão

## RESUMO

A calcitonina é um hormônio secretado pelas células parafoliculares tiroideanas. O diagnóstico de carcinoma medular de tiróide (CMT) pode ser suscitado a partir do encontro de níveis aumentados de calcitonina basal ou após testes de estímulos específicos. Neste sentido, a calcitonina caracteriza-se como um importante marcador tumoral para o diagnóstico e seguimento de pacientes portadores de CMT. Neste artigo, revisamos alguns tópicos referentes à utilidade da dosagem de calcitonina basal em pacientes portadores de nódulos de tiróide para rastreamento de CMT. Comentamos a respeito dos principais testes de estímulo para secreção de calcitonina disponíveis e finalizamos com algumas observações sobre os ensaios para dosagem de calcitonina. (Arq Bras Endocrinol Metab 2003;47/5:529-533)

**Descritores:** Calcitonina; Carcinoma medular de tiróide; Testes de estímulo

## ABSTRACT

### **Biochemical Diagnosis of Medullary Thyroid Carcinoma: Basal Calcitonin and Provocative Tests.**

Calcitonin is a hormone secreted by the parafollicular thyroid cells. Diagnosis of medullary thyroid carcinoma (MTC) should be considered when high basal calcitonin levels or high calcitonin levels after specific provocative test are found. In this context, calcitonin is considered a relevant tumor marker for diagnosis and follow-up of MTC. In this manuscript, we review some issues related to the usefulness of measuring basal calcitonin in patients with thyroid nodules. The current available provocative tests for calcitonin are discussed. Finally, we comment on some aspects related to the assays for calcitonin measurement. (Arq Bras Endocrinol Metab 2003;47/5:529-533)

**Keywords:** Calcitonin; Medullary thyroid carcinoma; Provocative tests

**A** CALCITONINA É UM HORMÔNIO POLIPEPTÍDICO composto por 32 aminoácidos, cuja secreção é originária preponderantemente das células C ou parafoliculares tiroideanas. Do ponto de vista terapêutico, tem aplicações para o controle da hipercalcemia e também como agente anti-reabsortivo ósseo. Do ponto de vista diagnóstico, a calcitonina representa um marcador tumoral para o diagnóstico e seguimento de pacientes portadores de carcinoma medular de tiróide (CMT) (1).

O CMT é um tumor de células parafoliculares tiroideanas, respondendo por cerca de 4 a 10% dos carcinomas de tiróide. Cerca de 25% destes casos são familiares (CMT familiar isolado [CMTF] ou fazendo parte de neoplasias endócrinas múltiplas [NEM] tipo 2A ou 2B) e mutações específicas do proto-oncogene *RET* foram identificadas em 85 a 97% das famílias afetadas. Desta forma, em famílias sabidamente portadoras de CMT, a pesquisa de mutações do *RET* deve ser inicialmente realizada, com a fina-

**Omar M. Hauache**  
**José Gilberto H. Vieira**  
**Rui M.B. Maciel**

*Setor de Endocrinologia, Fleury –  
Centro de Medicina Diagnóstica; e  
Disciplina de Endocrinologia da  
Escola Paulista de Medicina,  
Universidade Federal de  
São Paulo, São Paulo, SP.*

*Recebido em 10/12/02  
Revisado em 24/04/03  
Aceito em 20/06/03*

lidade de identificação de indivíduos em risco de ter a doença. A maioria destas mutações situa-se em locais bem definidos do proto-oncogene *RET* (*hot spots*) e está associada a fenótipos distintos. Nestes casos, o estímulo anual de secreção de calcitonina com pentagastrina e/ou cálcio deve ser reservado apenas para determinados casos portadores de mutação do *RET*, no sentido de auxiliar a decisão do momento para indicação de tireoidectomia total. Com a possibilidade do teste molecular, CMTF pode ser diagnosticado precocemente, mesmo em fase pré-sintomática, resultando em taxas de cura elevadas nos indivíduos afetados (2,3).

Já nos pacientes portadores de CMT na forma esporádica, identificam-se mutações ativadoras do *RET* em apenas 5 a 7% dos casos estudados. Pacientes com CMT esporádico muitas vezes têm sua apresentação inicial caracterizada pelo achado de nódulos de tiróide ao ultra-som ou, mais raramente, doença metastática pode ser evidenciada logo no início da investigação. Geralmente, estes tumores esporádicos são solitários e localizados na porção média ou superior de um lobo tiroideano. A maioria destes pacientes encontra-se entre a 5ª. e a 7ª. décadas de vida, e muitos têm linfadenopatia cervical (4). A coexistência de outras características de NEM 2A (feocromocitoma, hiperparatiroidismo primário) ou NEM 2B (feocromocitoma, neuromas, hábito marfanóide) com um nódulo de tiróide deve aumentar o grau de suspeita para CMT.

#### **Dosagem de calcitonina basal em pacientes portadores de nódulo de tiróide**

Como o estadio da doença é o fator prognóstico mais relevante, preconiza-se que pacientes com CMT esporádico devam ser identificados numa fase ainda precoce da doença. Diversos estudos foram publicados nos últimos anos abordando a utilidade da medida rotineira de calcitonina com a finalidade de permitir um diagnóstico precoce de CMT em pacientes com nódulos de tiróide. Estes estudos encontraram uma prevalência de CMT de 0,6 a 1,4% em pacientes portadores de bócio nodular. Baseado nestes resultados, a sugestão de inclusão de medida de calcitonina na avaliação rotineira de nódulos de tiróide passou a ser amplamente discutida (5-10).

Neste sentido, a pergunta a ser formulada é a seguinte: qual a utilidade ou o quanto é útil dosar calcitonina com o intuito de se fazer um diagnóstico pré-operatório de CMT esporádico? Tal resposta reside no conhecimento de que a calcitonina é um marcador sensível e específico para o diagnóstico de hiperplasia de células C e CMT. Diversos estudos publicados nos

últimos 10 anos sugerem que a medida de calcitonina basal em pacientes com doença nodular tiroideana deve ser considerada levando-se em conta o achado de CMT em até 41% dos pacientes que apresentam níveis de calcitonina basal elevados (8).

O custo para dosagem de calcitonina também é um fator importante quando pensamos na relação custo-benefício associada à abordagem de dosar calcitonina em pacientes portadores de nódulos tiroideanos. Nos Estados Unidos, uma dosagem de calcitonina custa cerca de 100 dólares (8). No estudo de Niccoli e cols. (7), no qual 1.167 pacientes portadores de um ou mais nódulos de tiróide foram estudados com dosagem basal de calcitonina sérica por método imunométrico, 16 casos foram diagnosticados como portadores de CMT. Desta forma, o custo para detecção destes casos foi de 5.800 dólares por caso. Apesar deste valor ser alto, a identificação de CMT como nódulo palpável de tiróide está associada com percentual elevado de metástases, implicando em tratamento adicional (8). Assim, o custo do rastreamento inicial com dosagem de calcitonina deve ser avaliado em comparação com a necessidade de diversas cirurgias, radioterapia e quimioterapia, esta última muitas vezes utilizada em pacientes com doença metastática.

Além disso, os níveis pré-operatórios de calcitonina correlacionam-se significativamente com o tamanho do tumor e com a possibilidade de metástases à distância. Cohen e cols. (11), utilizando método imunoradiométrico (IRMA) para dosagem de calcitonina, demonstraram que um nível basal pré-operatório de calcitonina superior a 1.000pg/mL correspondeu à mediana de tamanho tumoral de 25mm e associou-se ao encontro de metástases à distância em 10,5% dos casos, enquanto que casos com níveis inferiores a 1.000pg/mL apresentaram tumores com mediana de 7mm e metástases à distância em apenas 3,3 % dos casos. Nos casos com calcitonina menor que 100pg/mL, a mediana de tamanho tumoral correspondeu a 3mm. Neste mesmo trabalho, os autores descreveram que níveis pré-operatórios de calcitonina basal inferiores a 50pg/mL correlacionaram-se com normalização pós-operatória em 97,8% dos casos estudados.

No período de setembro de 2001 a setembro de 2002, realizamos 1.124 dosagens de calcitonina basal no Fleury – Centro de Medicina Diagnóstica, utilizando um ensaio imunoquimiluminométrico de dupla identificação que detecta a molécula de calcitonina intacta, com nível de detecção a partir de 2pg/mL (12). A maioria destas dosagens foi realizada em mulheres (n= 896). Do total destas 1.124 dosagens, 1.051 (93,5%) apresentaram calcitonina inferior a

10pg/mL. Nível inferior a 5pg/mL foi encontrado em 986 indivíduos (87,5%). Mais além, gostaríamos de destacar que 771 dosagens (68,5%) eram inferiores a 2pg/mL. Desta forma, apenas 73 dosagens (6,5%) foram superiores a 10pg/mL. A mediana do valor de calcitonina para ambos os sexos, descontando-se os valores indetectáveis (menor que 2pg/mL), foi de 4pg/mL (intervalo de confiança de 95%). Nossos dados são semelhantes aos dados relatados em estudo recente (13), que revelou valores basais de calcitonina inferiores a 1pg/mL em 87% dos homens normais e em 93% das mulheres normais estudadas (n= 340). Neste mesmo estudo (13), em 48 pacientes portadores de doenças tiroideanas benignas, a calcitonina foi menor que 1pg/mL em 87,5% dos casos, com concentração máxima de 7,9pg/mL. Em todos os indivíduos tireoidectomizados em razão de carcinoma diferenciado de tiróide (n= 30), os níveis basais de calcitonina foram inferiores a 1pg/mL. Assim como em nosso laboratório, o valor de calcitonina considerado normal é menor que 10pg/mL. Não temos acesso às informações clínicas de cada indivíduo, porém ressaltamos que, de acordo com a literatura, a hipótese de CMT deve ser considerada em pacientes com valores de calcitonina basal maiores que 10pg/mL (13).

#### Testes de estímulo para secreção de calcitonina

Além da dosagem de calcitonina basal, existe a possibilidade de realização de sua dosagem após testes específicos de estímulo (exemplos de secretagogos para calcitonina incluem cálcio e/ou pentagastrina, TRH e omeprazol) (14-19). Especificamente em casos de hiperplasia de células C, que corresponde a uma fase que antecede a malignização tumoral, ou em fase precoce do CMT, as concentrações basais de calcitonina podem estar levemente elevadas ou ainda estar dentro dos valores de referência. Tal limitação pode ser superada por meio do uso destes testes de estímulo para secreção de calcitonina.

O teste com pentagastrina é amplamente utilizado para o diagnóstico de CMT e para a avaliação de cura cirúrgica em pacientes operados de CMT com níveis basais de calcitonina indetectáveis (15). Após coleta da amostra basal, administra-se pentagastrina 0,5µg/kg, via endovenosa, e procede-se à coleta de amostras após 2, 5, 10 e 15min. É importante lembrar que a pentagastrina pode ter como efeitos colaterais *flushing*, sensação de queimação em face, desconforto epigástrico, náuseas, taquicardia, tontura e urgência em defecar. Os valores basais para adultos saudáveis do sexo masculino não devem ultrapassar 10pg/mL; para as mulheres saudáveis, o valor normal é até 5pg/mL.

Um valor de calcitonina após a administração de pentagastrina superior a 100pg/mL em qualquer tempo do teste é altamente sugestivo de presença de hiperplasia de células C ou de CMT. Valores máximos de calcitonina considerados normais para tal teste não devem ultrapassar 30 a 40pg/mL. Valores entre 40 e 100pg/mL são compatíveis com uma zona de incerteza e indica-se a reavaliação deste teste após 1 ano, ou mesmo antes, dependendo do grau de suspeita diagnóstica. Para os testes de estímulo com cálcio (gluconato de cálcio 2mg/Kg de peso, via endovenosa) ou com cálcio associado à pentagastrina, os mesmos valores de referência devem ser considerados (16). Os testes com outros secretagogos, como TRH e omeprazol, são pouco utilizados rotineiramente.

#### Ensaio para dosagem de calcitonina

É importante destacar algumas características relacionadas aos ensaios para dosagem de calcitonina. Um detalhe importante em qualquer estratégia que faça uso de dosagem de calcitonina para tomadas de decisão envolvendo doença nodular tiroideana diz respeito à sensibilidade e especificidade do ensaio utilizado. Neste sentido, tratando-se de um marcador tumoral, as dosagens periódicas de calcitonina para seguimento de pacientes portadores de CMT devem ser realizadas preferencialmente utilizando-se o mesmo ensaio ou ensaios comparáveis do ponto de vista metodológico.

Os primeiros ensaios para dosagem de calcitonina eram radioimunoensaios, que, além da calcitonina monomérica circulante, reconheciam moléculas precursoras da calcitonina e seus metabólitos. Diversas formas de calcitonina imunorreativa estão presentes na circulação de indivíduos normais e de portadores de CMT. Estas formas diferentes de calcitonina circulantes podem ter peso molecular que varia de 3.400 (calcitonina monomérica) a 70.000Da (calcitonina polimérica) (20). Na dependência de fatores como diferenciação tumoral, as formas não monoméricas de calcitonina podem elevar-se anormalmente e mais precocemente que a forma monomérica. Assim, em alguns pacientes portadores de CMT a dosagem de calcitonina por RIE pode estar elevada antes que qualquer alteração seja observada nos ensaios imunométricos (21).

Todos os estudos mencionados anteriormente utilizaram ensaios imunométricos com dois anticorpos monoclonais com elevada sensibilidade (em torno de 2pg/mL) e especificidade para o monômero de calcitonina. Assim, em pacientes com doença nodular de tiróide, é mandatória a utilização de ensaios imunométricos para dosagem de calcitonina com um

valor de *cutoff* menor ou igual a 10pg/mL, independentemente do uso de anticorpos monoclonais ou policlonais. Desta forma, como já foi dito, a hipótese de CMT deve ser considerada em pacientes com valores de calcitonina maiores que 10pg/mL. Em casos de elevação discreta do nível de calcitonina, recomenda-se a aplicação de um teste de estímulo e/ou repetição da dosagem utilizando-se outro ensaio.

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 policlonais. Insuficiência renal pode estar associada a valores elevados de calcitonina em alguns casos e níveis elevados de pró-calcitonina podem levar a reatividade cruzada com a calcitonina a ser dosada (13,22,23). O aumento dos níveis basais de calcitonina em vigência de insuficiência renal é conhecido, e possivelmente está relacionado ao diminuído *clearance* renal de calcitonina observado nestes pacientes (24). A pró-calcitonina (PCT) geralmente não é secretada para a circulação. Desta forma, os níveis plasmáticos de PCT são muito baixos em indivíduos saudáveis. Entretanto, os níveis de PCT podem aumentar significativamente em condições como sepsis. Nestes casos, alguns ensaios para medida de calcitonina podem apresentar reatividade cruzada com a PCT (11).

Recentemente, Saller e cols. (25), estudando pacientes com CMT, relataram um método para detecção em sangue periférico de células circulantes produtoras de calcitonina via RT-PCR e concluíram que esta metodologia, ainda que necessite de dados confirmatórios em número maior de pacientes, pode refletir a agressividade tumoral, podendo ser útil para a identificação precoce de doença disseminada e rapidamente progressiva.

Lembramos que, 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 e outras (26).

Em conclusão, nível de calcitonina basal superior a 10pg/mL em ensaio imunométrico pode ser sugestivo de hiperplasia de células C ou mesmo CMT, principalmente em casos suspeitos para tais condições. Em pacientes portadores de nódulos de tiróide sem suspeita clínica prévia, valores de calcitonina basal acima do valor de referência devem ser valorizados e investigados, alternativamente com dosagem de calcitonina basal por outro método, de maneira a afastar possíveis interferentes, e/ou aplicação de teste de estímulo para secreção de calcitonina.

## REFERÊNCIAS

1. 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.
2. Brandi ML, Gagel RF, Angeli A, Bilezikian JP, Beck-Pecoz P, Bordi C, et al. Consensus: guidelines for diagnosis and therapy of MEN type 1 and type 2. **J Clin Endocrinol Metab** 2001;86:5658-71.
3. Puñales MK, Graf H, Gross JL, Maia AL. Rastreamento genético do carcinoma medular de tireóide: identificação de mutações no proto-oncogene Ret. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2002;46:632-9.
4. Wohllk N, Cote GJ, Bugalho MM, et al. Relevance of RET proto-oncogene mutations in sporadic medullary thyroid carcinoma. **J Clin Endocrinol Metab** 1996;81:3740-5.
5. Pacini F, Fontanelli M, Fugazzola L, et al. Routine measurements of serum calcitonin in nodular thyroid diseases allows the preoperative diagnosis of unsuspected sporadic medullary thyroid carcinoma. **J Clin Endocrinol Metab** 1994;76:826-9.
6. Dunn JT. Editorial: When is a thyroid nodule a sporadic medullary carcinoma? **J Clin Endocrinol Metab** 1994;76:824-5.
7. Niccoli P, Wion-Barbot N, Caron P, et al. Interest of routine measurement of serum calcitonin: study in a large series of thyroidectomized patients. **J Clin Endocrinol Metab** 1997;82:338-41.
8. Horvit PK, Gagel RF. Editorial: The goitrous patient with an elevated serum calcitonin – what to do? **J Clin Endocrinol Metab** 1997;82:335-7.
9. Rieu M, Lame MC, Richard A, et al. Prevalence of sporadic medullary thyroid carcinoma: the importance of routine measurement of serum calcitonin in the diagnostic evaluation of thyroid nodules. **Clin Endocrinol** 1995;42:453-60.
10. Ozgen AG, Hamulu F, Bayratkar F, et al. Evaluation of routine basal serum calcitonin measurement for early diagnosis of medullary thyroid carcinoma in seven hundred seventy-three patients with nodular goiter. **Thyroid** 1999;9:579-82.
11. Cohen R, Campos JM, Salaün C, et al. Pre-operative calcitonin levels are predictive of tumor size and post-operative calcitonin normalization in medullary thyroid carcinoma. **J Clin Endocrinol Metab** 2000;85:919-22.
12. 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.
13. d'Herbonnez M, Leclerc L, Vantyghem MC, Fourrier F, Proye C, Wemeau JL. Clinical evaluation of a new sensitive calcitonin assay: study of specificity. **Clin Chim Acta** 2001;311:149-55.
14. Maciel RMB. O laboratório no diagnóstico e seguimento de doenças auto-imunes e neoplásicas de tiróide. **Arq Bras Endocrinol Metab** 2002;46:65-71.
15. Vitale G, Ciccarelli A, Caraglia M, et al. Comparison of two provocative tests for calcitonin in medullary thyroid carcinoma: omeprazole vs. pentagastrin. **Clin Chem** 2002;48:1505-10.

17. Vieira JGH, Maciel RMB, Hauache OM. **Manual de provas funcionais em endocrinologia e metabologia.** Fleury – Centro de Medicina Diagnóstica, 2001.
18. Guilloteau D, Perdrisot R, Calmettes C, et al. JC. Diagnosis of medullary carcinoma of the thyroid (MCT) by calcitonin assay using monoclonal antibodies: criteria for the pentagastrin stimulation test in hereditary MCT. **J Clin Endocrinol Metab** 1990;71:1064-7.
19. Barbot N, Calmettes C, Schuffenecker I, et al. Pentagastrin stimulation test and early diagnosis of medullary thyroid carcinoma using an immunoradiometric assay of calcitonin: comparison with genetic screening in hereditary medullary thyroid carcinoma. **J Clin Endocrinol Metab** 1994;78:114-20.
20. Scheuba C, Kaserer K, Weinshäusl A, et al. Is medullary thyroid cancer predictable? A prospective study of 86 patients with abnormal pentagastrin tests. **Surgery** 1999;126:1089-96.
21. Body JJ, Heath III H. Estimates of circulating monomeric calcitonin: physiological studies in normal and thyroidectomized man. **J Clin Endocrinol Metab** 1983;57:897-903.
22. 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.
23. Engelbach M, Görge R, Forst T, et al. Improved diagnostic methods in the follow-up of medullary thyroid carcinoma by highly specific calcitonin measurements. **J Clin Endocrinol Metab** 2000;85:1890-4.
24. Saller B, Görge 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.
25. Niccoli P, Brunet P, Roubicek C, et al. Abnormal calcitonin basal levels and pentagastrin response in patients with chronic renal failure on maintenance hemodialysis. **Eur J Endocrinol** 1995;132:75-81.
26. Saller B, Feldmann G, Haupt K, et al. RT-PCR-based detection of circulating calcitonin-producing cells in patients with advanced medullary thyroid cancer. **J Clin Endocrinol Metab** 2002;87:292-6.
27. Friedman RB, Young DS. **Effects of disease on clinical laboratory tests.** 3<sup>rd</sup> ed. Washington: AACCC Press; 1997.

**Endereço para correspondência:**

Omar M. Hauache  
Setor de Endocrinologia – Fleury –  
Centro de Medicina Diagnóstica  
Rua General Waldomiro de Lima 508  
04344-070 São Paulo, SP  
Fax: (011) 5014-7425  
e.mail: omar.hauache@fleury.com.br