

## Small cell neuroendocrine carcinoma: a case study in gynecologic cytopathology

Machado BG<sup>1</sup>, Luís A<sup>2</sup> and Mendonça P<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa– Instituto Politécnico de Lisboa, Portugal

<sup>2</sup>Hospital CUF Descobertas, Lisboa, Portugal

Received: January 2015/ Published: April 2015

### **Corresponding author:**

Bruno Gomes Machado

Rua das Forças Armadas, n.º 232, 2.º esquerdo, 2870-712 Atalaia Montijo

[brunogomesmachado@portugalmail.pt](mailto:brunogomesmachado@portugalmail.pt)

### **ABSTRACT**

The present study shows the case of a 62 years old woman, whose only clinical data was a suspected cervical sarcoma. A liquid-based cytology and biopsies from the cervix and the endometrium were done and sent for diagnostic laboratory.

The cytology showed numerous groups of a variable number of monotonous, small and round cells, having scarce cytoplasm in a diathesis background. The nuclei featured molding, hyperchromasia, “salt-and-pepper” chromatin and no nucleoli. Similar observations could be found with the biopsies, where atypical gland-like groups were also detected.

This neoplasia showed positive immunostaining for neuron specific enolase, synaptophysin and cytokeratin (AE1/AE3 clone antibodies), and a proliferative activity demonstrated by the nuclear marker Ki67/Mib1 immunoreactivity.

The cytological, histological and imunohistochemical findings were consistent with the diagnosis of a small cell neuroendocrine carcinoma. Of all the cervical tumors, this sort of malignancy is one of the rarest and has a very aggressive behavior, with poor prognosis and without effective treatment. Its cause may be related to the Human Papillomavirus infection, but this still remains in study.

**Key-words:** Colpocytology; Small Cell Neuroendocrine Carcinoma

## **Carcinoma neuroendócrino de pequenas células: um estudo de caso em citopatologia ginecológica**

Machado BG<sup>1</sup>; Luís A<sup>2</sup> e Mendonça P<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa – Instituto Politécnico de Lisboa, Portugal

<sup>2</sup>Hospital CUF Descobertas, Lisboa, Portugal

### **RESUMO**

O presente estudo reporta o caso de uma mulher de 63 anos da qual a única informação clínica era a suspeita de um sarcoma da cérvix. Simultaneamente à colpocitologia, foram enviadas biópsias do colo e do endométrio para diagnóstico.

A visualização da amostra citológica revelou vários agregados de número variável de células monótonas, com tamanho pequeno, formato redondo e citoplasma escasso, num fundo com diátese. Os núcleos apresentavam moldagem, hipercromasia, cromatina “sal-e-pimenta” e ausência de nucléolos.

O aspeto microscópico das biópsias foi concordante com os achados citológicos, tendo sido igualmente identificados focos glanduliformes com características atípicas. A neoplasia mostrou expressão imunohistoquímica dos antigénios enolase neurónio-específica (*neuron specific enolase, NSE*), sinaptofisina e citoqueratina (clones AE1/AE3), e uma elevada atividade proliferativa demonstrada pela imunorreatividade para o marcador nuclear Ki67/Mib1.

Os achados citológicos, histológicos e imunohistoquímicos foram consistentes com o diagnóstico de carcinoma neuroendócrino de pequenas células. Dos tumores cervicais, esta neoplasia maligna é das mais raras, mostrando um comportamento muito agressivo, com prognóstico muito pobre, em que as terapêuticas existentes são pouco consensuais quanto à sua eficácia. A sua etiologia ainda é estudada, podendo estar relacionada com a infeção pelo Vírus do Papiloma Humano.

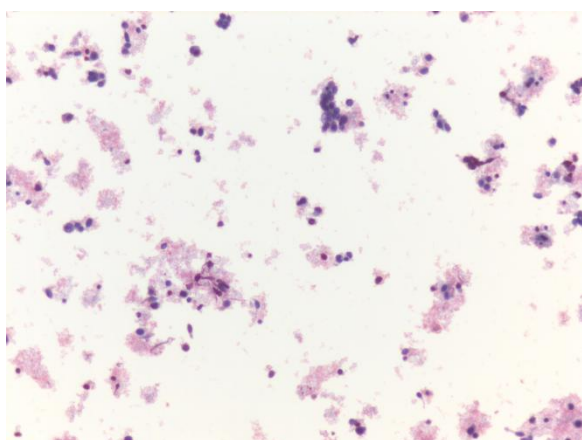
**Palavras-chave:** Colpocitologia, Carcinoma Neuroendócrino de Pequenas Células

## APRESENTAÇÃO DO CASO

O caso em análise diz respeito a uma mulher de 63 anos, cuja informação clínica era uma suspeita de sarcoma da cérvix. Para a Unidade de Anatomia Patológica foi enviada uma citologia ginecológica em meio líquido, juntamente com biópsias do colo uterino e do endométrio para efetuar o diagnóstico anátomo-patológico.

A colpocitologia foi processada no equipamento *ThinPrep*® 5000 e corada com a coloração de *Papanicolaou*. A biópsia foi processada, tendo sido realizados cortes para proceder à coloração de hematoxilina-eosina e a um estudo imunohistoquímico.

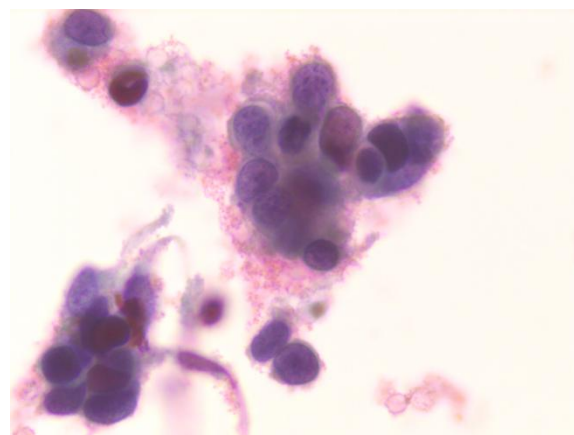
No exame microscópico em baixa ampliação, dispersos sobre diátese, observaram-se múltiplos grupos com número variável de células, de tamanho pequeno e forma redonda, não se tendo identificado qualquer tipo de célula epitelial que se pudesse considerar normal (**Fig.1**).



**Fig.1** – Aspeto global da lâmina citológica (*ThinPrep*, *Papanicolaou*, 10x).

Em maior ampliação verificou-se que os grupos apresentavam células com citoplasma escasso, cujos núcleos eram hipercromáticos e redondos a ovalados, possuindo tamanho e forma relativamente constantes entre si, com moldagem e sem nucléolo. A cromatina, por sua vez, possuía um padrão pontilhado, delicado e bem distribuído (**Fig.2**).

Observaram-se pontuais estiramentos celulares, sugestivos de artefacto de esmagamento.



**Fig.2** – Agrupamento celular atípico (*ThinPrep*, *Papanicolaou*, 63x).

## PROPOSTA INICIAL DE DIAGNÓSTICO

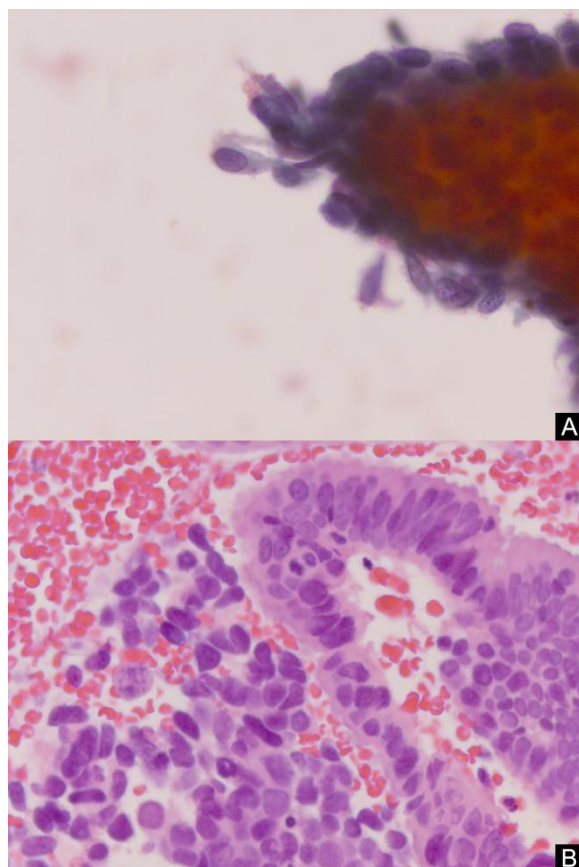
De acordo com as características citológicas que constam na descrição anterior, existiram critérios sugestivos de carcinoma de pequenas células<sup>1-7</sup>.

## ANÁLISE E DISCUSSÃO DO CASO

À primeira observação microscópica em baixa ampliação, os achados citológicos encontrados – **Fig.1** – poderiam ser interpretados como o padrão atrófico expectável numa mulher de 63 anos, devido à inexistência de células pavimentosas maduras e à presença de material granular de fundo<sup>5</sup>. No entanto, a elevada celularidade, nem sempre comum na atrofia, poderia indicar um processo inflamatório (ex.: cervicite crónica), que faria aumentar a quantidade de células pequenas e redondas exfoliadas (ex.: linfócitos), ou outro processo patológico.

Verificou-se a existência de grupos com elevada densidade celular, numa configuração que proporcionava percepção de tridimensionalidade, havendo núcleos à periferia, simulando *feathering* (**Fig.3**). Esta imagem assemelhava-se aos tradicionais grupos de adenocarcinoma *in situ*, o que poderia sugerir então a presença de uma lesão glandular concomitante. Estes grupos também foram observados nas biópsias, tendo sido descritos como «*focos glanduliformes com características atípicas*». Estas componentes celulares adenomatosas são

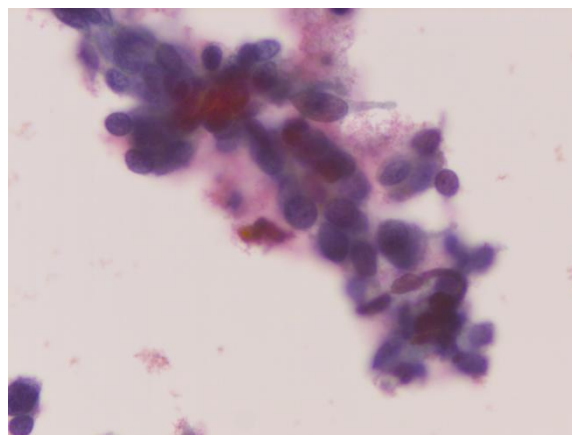
relatadas na literatura como possíveis ocorrências em paralelo, parecendo até melhorar o prognóstico da neoplasia original<sup>6</sup>. A presença de diátese, ainda assim, não é uma característica de adenocarcinoma *in situ*<sup>5</sup>.



**Fig.3** – Focos glanduliformes com características atípicas: A) Grupo que se assemelha a uma atipia glandular (ThinPrep, Papanicolaou, 63x); B) Imagem histológica (Hematoxilina-Eosina, 40x).

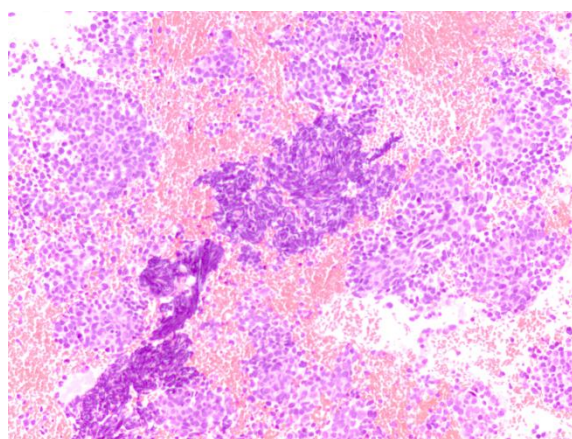
A ausência de células oranjófilas e de pleomorfismo exuberante não favoreceu o diagnóstico de carcinoma pavimento-celular, em qualquer estado de diferenciação<sup>5</sup>. Para excluir a hipótese de linfoma, concorreu a inexistência de núcleos com membrana sinuosa e a existência de células agrupadas e não dispostas em toalha<sup>1</sup>. O sarcoma do endométrio faz diagnóstico diferencial com o carcinoma de pequenas células, havendo pelo menos um grupo citológico neste caso que parecia exemplificar esta neoplasia<sup>5</sup> (**Fig.4**). Tal como a literatura refere, mostrava células com pouco

citoplasma e de aspeto fusiforme, além de uma cromatina pouco densa e de um intenso *debris*<sup>8</sup>.



**Fig.4** – Agrupamento com aparência sarcomatosa e uma amostra de cromatina do tipo neuroendócrino (ThinPrep, Papanicolaou, 63x).

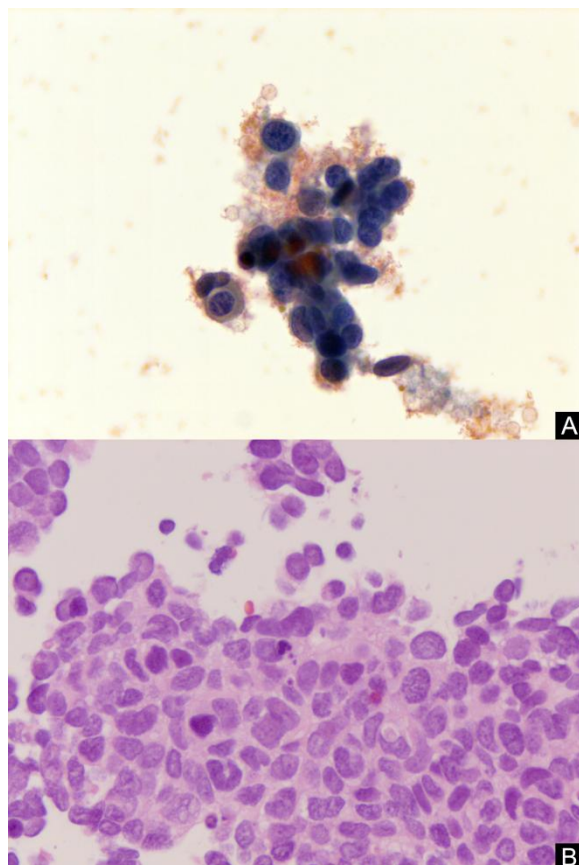
Citando a descrição microscópica das biópsias, este caso consistiu numa «neoplasia constituída por células (...) com relação núcleo-citoplasma aumentada sem citoplasma evidente, com núcleos hipercromáticos com esboço de moldagem e (...) observam-se áreas de necrose» (**Fig.5**). Tudo isto foi sobreponível ao assinalado através da citologia.



**Fig.5** – Biópsia do endométrio (Hematoxilina-Eosina, 10x).

Em ambas as amostras biológicas registou-se um infiltrado de células atípicas e monótonas, com moldagem nuclear, nucléolo inconspícuo e cromatina “sal-e-pimenta”<sup>4,6</sup> (**Fig.6**). Percebeu-se que as células tumorais eram frágeis devido a exibirem um artefacto de esmagamento, havendo focos na citologia e extensões na histologia similares aos da **Fig.7**, sendo

o esperado de acordo com a bibliografia<sup>1,7</sup>. Assim, tendo em conta o que foi exposto até aqui, realizou-se um estudo imunohistoquímico, a fim de permitir o diagnóstico diferencial com outras neoplasias de células pequenas (como o linfoma e o sarcoma)<sup>9</sup>.

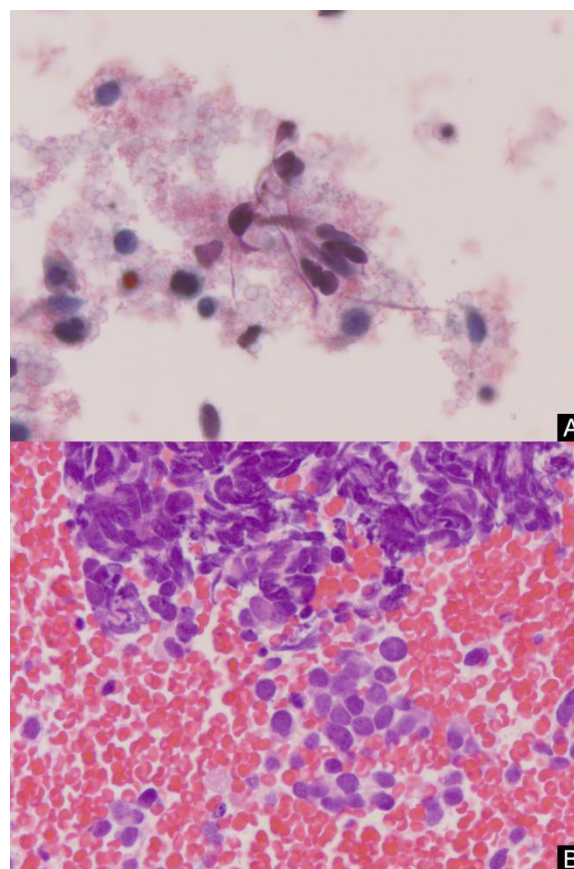


**Fig.6** – Padrão da cromatina: A) Grupo celular da lâmina citológica (*ThinPrep*, *Papanicolaou*, 40x); B) Imagem histológica (Hematoxilina-Eosina, 40x).

Construiu-se um painel que contemplava marcadores epiteliais, mesenquimatosos, neuroendócrinos, linfocíticos e outros como um melanocítico, cujos resultados se encontram na **Tabela 1**. A neoplasia demonstrou expressão imunohistoquímica de enolase neurónio-específica, de sinaptofisina e de citoqueratinas (clones AE1/AE3) e a atividade proliferativa, estimada através do binómio Ki67/Mib1, considerou-se elevada (75%).

A literatura reporta que acima de 80% dos carcinomas de pequenas células identificados primeiro através da coloração de hematoxilina-eosina revelam posteriormente positividade para marcadores

neuroendócrinos e, por esta razão, um carcinoma de pequenas células na cérvix costuma ser sinónimo de uma neoplasia neuroendócrina<sup>9,10</sup>.



**Fig.7** – Artefacto de esmagamento: A) Grupo celular da lâmina citológica (*ThinPrep*, *Papanicolaou*, 63x); B) Imagem histológica (Hematoxilina-Eosina, 40x).

Além disso, enquanto a variante de pequenas células do carcinoma pavimento-celular (a qual também faz diagnóstico diferencial) pode ser completamente negativa para marcadores neuroendócrinos, os carcinomas neuroendócrinos de pequenas células podem apresentar positividade variável para citoqueratinas, cuja expressão é útil para excluir outros tumores de células pequenas e azuis como um linfoma ou um sarcoma<sup>3,4</sup>.

Uma vez excluída a suspeita clínica, comprovou-se que as células malignas possuíam uma expressão epitelióide, tendo-se identificado igualmente as citoqueratinas de componentes epiteliais mais diferenciados como os focos glanduliformes atípicos.

**Tabela 1** – Registo dos resultados nas marcações imunohistoquímicas da neoplasia.

| Marcador                             | Marcação das células neoplásicas |
|--------------------------------------|----------------------------------|
| <i>Neuron Specific Enolase</i> (NSE) | Intensa e Difusa                 |
| Sinaptofisina                        | Intensa e Difusa                 |
| Pan-Citoqueratinas (clones AE1/AE3)  | Intensa e Difusa                 |
| Citoqueratinas 8/18                  | Intensa e Difusa                 |
| Vimentina                            | Ligeira                          |
| Desmina                              | Ligeira e Focal                  |
| Cromogranina A                       | Ligeira e Focal                  |
| Actina do Músculo Liso               | Ausência de Imunoreactividade    |
| CD10                                 | Ausência de Imunoreactividade    |
| CD99                                 | Ausência de Imunoreactividade    |
| Melan A                              | Ausência de Imunoreactividade    |
| Ki67/Mib1                            | 75%                              |

## CONCLUSÃO

O perfil imunohistoquímico deste caso corroborou a diferenciação neuroendócrina da neoplasia, reconhecida inicialmente na citologia. Isto fez com que o diagnóstico completo fosse carcinoma neuroendócrino de pequenas células.

É de realçar que o trato genital feminino possui células do sistema neuroendócrino difuso e que os tumores neuroendócrinos consistem num espectro de malignidades provenientes dessas células, essencialmente de tamanho pequeno<sup>4,9</sup>.

De acordo com a literatura, é frequente a ocorrência de massas protuberantes na cérvix, ou de corrimento vaginal como sinais clínicos de carcinomas de pequenas células cervicais, mas a sua manifestação não é obrigatória<sup>4,6,9</sup>. Além disso, este tipo de neoplasia pode também fazer-se acompanhar de alterações hormonais, exceto se tiver uma diferenciação neuroendócrina<sup>6</sup>.

Esta entidade é de especial relevância pela sua raridade na genitália feminina, embora os números variem entre estudos, localiza-se abaixo dos 10% de todos os tumores cervicais<sup>2,9-11</sup>. Trata-se de uma neoplasia com um comportamento muito agressivo, com alto índice mitótico e necrose extensa<sup>9</sup>.

É frequente a metastização precoce (via linfática/hematológica), principalmente para o osso, para os pulmões ou para nódulos linfáticos, estando associada a baixas taxas de cura e a altas taxas de recorrência<sup>2,6,9</sup>. A terapêutica não é consensual, mas a combinação de radioterapia com quimioterapia pode ser uma via de tratamento, não sendo totalmente eficaz<sup>2,3,9,10</sup>. A irradiação cranioencefálica foi proposta como medida profilática, à semelhança do que acontece para este tipo de neoplasia no pulmão, por forma a reduzir antecipadamente a possibilidade de implantação de metástases cerebrais<sup>10-12</sup>. Outros estudos referem potenciais tratamentos através de terapia dirigida contra tumores HER2+ ou o recurso a moléculas de adesão como alvo<sup>2,9</sup>.

Por fim, tem sido estudada a associação com o Vírus do Papiloma Humano, havendo artigos que descrevem a expressão de partículas virais e levantam assim a hipótese da etiologia deste carcinoma cervical poder diferir do seu homónimo pulmonar, o que parece, no entanto, não reunir consenso<sup>1,5,11,13-15</sup>.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cibas E, Ducatman B. Cytology: Diagnostic Principles and Clinical Correlates. 3 ed. China: Saunders; 2009.
2. Bifulco G, Mandato VD, Giampaolino P, Piccoli R, Insabato L, Rosa N, et al. Small Cell Neuroendocrine Cervical Carcinoma with 1-Year Follow-up: Case Report and Review. *Anticancer Research*. 2009;29:477-84.
3. Kaminski JM, Anderson PR, Han AC, Mitra RK, Rosenblum NG, Edelson MI. Primary Small Cell Carcinoma of the Vagina. *Gynecologic Oncology*. 2003;88(3):451-5.
4. Pavithra V, Sai Shalini C, Priya S, Rani U, Rajendiran S, Joseph LD. Small Cell Neuroendocrine Carcinoma of the Cervix: a Rare Entity. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2014;8(2):147-8.
5. Solomon D, Nayar R. The Bethesda System for Reporting Cervical Cytology: Definitions, Criteria and Explanatory Notes. 2 ed. New York: Springer; 2004.
6. Collinet P, Lanvin D, Declerck D, Chevalier-Place A, Leblanc E, Querleu D. Neuroendocrine Tumors of the Uterine Cervix Clinicopathologic Study of Five Patients. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*. 2000;91:51-7.
7. Bavikatty NR, Michael CW. Cytologic Features of Small-Cell Carcinoma on ThinPrep. *Diagnostic cytopathology*. 2003;29(1):8-12.
8. Hologic. ThinPrep(R) Pap Test Morphology Reference Atlas.
9. Gardner GJ, Reidy-Lagunes D, Gehrig PA. Neuroendocrine Tumors of the Gynecologic Tract: A Society of Gynecologic Oncology (SGO) Clinical Document. *Gynecologic Oncology*. 2011;122(1):190-8.
10. Viswanathan AN, Deavers MT, Jhingran A, Ramirez PT, Levenback C, Eifel PJ. Small Cell Neuroendocrine Carcinoma of the Cervix: Outcome and Patterns of Recurrence. *Gynecologic Oncology*. 2004;93(1):27-33.
11. Weed JC, Graff AT, Shoup B, Tawfik O. Small Cell Undifferentiated (Neuroendocrine) Carcinoma of the Uterine Cervix. *Journal of the American College of Surgeons*. 2003;197(1):44-51.
12. Aupérin A, Arriagada R, Pignon J-P, Pécoux C, Gregor A, Stephens R, et al. Prophylactic Cranial Irradiation for Patients with Small-Cell Lung Cancer in Complete Remission. *The New England Journal of Medicine*. 1999;341(7):476-86.
13. Atienza-Amores M, Guerini-Rocco E, Soslow RA, Park KJ, Weigelt B. Small Cell Carcinoma of the Gynecologic Tract: a Multifaceted Spectrum of Lesions. *Gynecologic Oncology*. 2014;134(2):410-8.
14. Grayson W, Taylor L, Allard U, Tiltman A. Detection of Human Papillomavirus in Large Cell Neuroendocrine Carcinoma of the Uterine Cervix: a Study of 12 Cases. *Journal of Clinical Pathology*. 2002;55:108-14.
15. Masumoto N, Fujii T, Ishikawa M, Saito M, Iwata T, Fukuchi T, et al. p16INK4a Overexpression and Human Papillomavirus Infection in Small Cell Carcinoma of the Uterine Cervix. *Human Pathology*. 2003;34(8):778-83.