

CALCITONINA

Sigla corrente

CT

Sinonimi

Calcitonina umana (hCT), Tirocalcitonina (TCT)

Struttura e caratteristiche molecolari

La CT è un ormone proteico sintetizzato dalle cellule parafollicolari (cellule C) della tiroide. Come mostrato in Figura 1, la CT matura origina dal clivaggio proteolitico di un pre-pro-peptide a grande peso molecolare, la pre-pro-calcitonina (PPCT) a 141 aminoacidi (AA), prodotto dal gene CALCA (*Calcitonin-Related Polypeptide Alpha*; precedente sigla: CALC1). Inizialmente, la PPCT è soggetta a clivaggio di un peptide segnale per formare la pro-calcitonina (pro-CT) a 116 AA. Nella porzione N-terminale della pro-CT si trova un peptide di 57 AA, chiamato amino-pro-CT (o PAS-57), mentre nella porzione C-terminale si trova un peptide di 21 AA chiamato CCP-1 (*Calcitonin Carboxyterminal Peptide*, detto anche Katalcalcina). Il peptide CT immaturo, costituito da 33 AA, è posizionato centralmente all'interno della molecola di pro-CT. Nei granuli secretori dalle cellule C, la pro-CT è ulteriormente processata per produrre la CT matura, peptide di 32 AA, con peso molecolare di 3,5 kD.

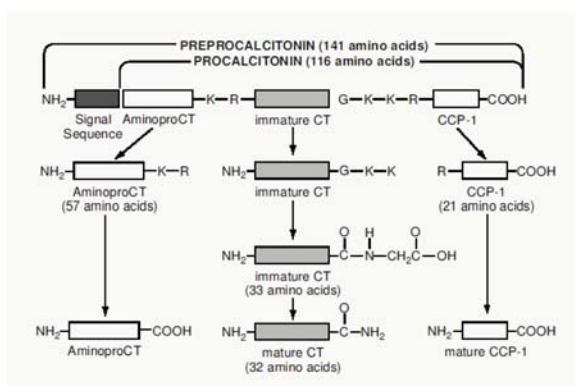


Figura 1
Sintesi della CT

Come evidenziato nella Figura 2 la struttura della CT matura, secreta in circolo, comprende una singola alfa elica e presenta tra i residui 1 e 7 un ponte disolfuro (che forma un anello N-terminale) e una prolina amidata in posizione C-terminale, la quale svolge un importante ruolo funzionale.

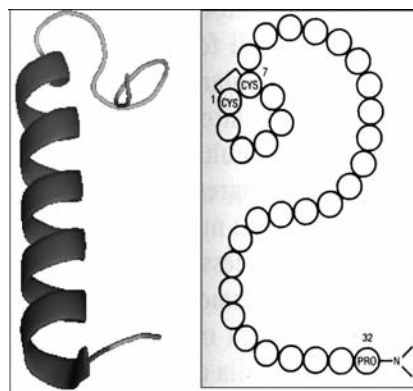


Figura 2
Struttura della CT

Nella normale fisiologia la CT è prodotta esclusivamente dalle cellule C della tiroide ed il suo tempo di dimezzamento è di 2-15 minuti. La sintesi ed il rila-

scio della CT sono strettamente associate alla concentrazione di calcio; tuttavia, la CT è secreta anche in risposta a CGRP (*Calcitonin Gene Related Peptide*, peptide composto da 37 AA e prodotto da *splicing* alternativo della CT), glucagone, gastrina, pentagastrina (polipeptide sintetico che ha effetto simile alla gastrina se somministrato per via parenterale), colecistochinina ed agenti β -adrenergici. Viceversa, la somatostatina sopprime il rilascio di CT. Benché le cellule C (neuroendocrine) siano la principale fonte della CT matura circolante, numerose altre categorie di cellule neuroendocrine contengono e secernono CT.

Funzione e significato biologico

La CT deve il nome al suo effetto ipocalcemico ed al fatto che viene secreta in risposta ad ipercalcemia indotta. Essa partecipa al metabolismo di calcio e fosforo, contrastando gli effetti del PTH: inibisce l'assorbimento intestinale di Ca^{++} ; inibisce l'attività di riassorbimento dell'osso mediato dagli osteoclasti; inibisce il riassorbimento di calcio e fosforo dai tubuli renali, aumentandone la clearance urinaria. Pertanto, la CT protegge l'organismo sia dalle conseguenze dannose di elevati livelli di calcio nel sangue che dalla perdita di Ca^{++} dallo scheletro nei periodi di "stress del calcio" (es. durante la gravidanza e l'allattamento) e previene l'ipercalcemia postprandiale conseguente all'assorbimento di Ca^{++} dagli alimenti. Il ruolo della CT nella regolazione dei livelli ematici di calcio è tuttavia molto più importante nei bambini ed in alcune malattie rispetto agli adulti normali: in età avanzata, infatti, i valori di CT tendono a scendere, essendo legati alla fisiologica involuzione senile dello scheletro. Nel sangue circolante possono essere presenti, oltre al monomero maturo, varie forme di CT: un monomero ossidato, un dimero, forme molecolari ad elevato peso molecolare e anche precursori della CT. La concentrazione di queste differenti molecole, con peso molecolare compreso tra 3,5 kD (monomeri) e 70 kD (forme polimeriche), può variare con le condizioni cliniche, la funzionalità renale e l'origine tissutale (produzione normale o ectopica). In passato e sino alla fine degli anni '80, i metodi RIA competitivi dosavano sia il monomero maturo di CT che altre forme circolanti (precursori e prodotti di degradazione): quindi, buona parte degli studi su manipolazioni fisiofarmacologiche e sull'influenza di età, sesso, gravidanza ed altre molecole ormonali sono state documentate con questi metodi meno specifici. Per la misura accurata del peptide maturo di CT libera (AA 1-32) è viceversa indispensabile l'identificazione selettiva della porzione C-terminale amidata della molecola e l'esclusione della CT immatura non-amidata di 33 AA, presente in alcuni precursori a maggior peso molecolare. Pertanto, l'utilizzo clinico ottimale della CT necessita oggi di dosaggi immunometrici a due siti per la misura del solo monomero maturo di CT: in questi metodi un anticorpo reagisce selettivamente con la regione amidata e l'altro con una differente porzione della molecola (frequentemente la porzione mediana), quindi questi dosaggi non evidenziano reazioni crociate con la CT immatura e quindi interferenza da parte della stessa nelle misurazioni analitiche.

Utilizzo Clinico

Nei soggetti normali i livelli basali di CT sono bassi e a malapena dosabili con gli attuali metodi di determinazione. Elevate quantità di CT sono prodotte nell'iperplasia delle cellule C (stato precanceroso benigno che può progredire per diventare carcinoma) e nel carcinoma midollare della tiroide (MTC), che rappresenta il 5-10% di tutti i tumori della tiroide ed è presente nello 0,4 -1,4% di tutti i portatori di noduli tiroidei. L'MTC è una neoplasia maligna il cui solo trattamento possibile è di tipo chirurgico: può diffondere rapidamente al di fuori della tiroide ed è di difficile cura se non è individuato precocemente. Circa il 75-80% dei casi di MTC sono sporadici, mentre il 20-25% è costituito da forme famigliari riferite a una mutazione ereditata con il gene RET che conduce a neoplasia endocrina multipla di tipo 2 (MEN 2), una sindrome associata con diverse malattie correlate tra loro, incluso il MTC. Il gene RET alterato è ereditato in modo autosomico dominante (è sufficiente solo una copia mutata del gene per avere un rischio fortemente aumentato di sviluppare MTC). Molti casi di MTC sporadici si sviluppano tra i 40 e i 50 anni e la prevalenza è più alta nel sesso femminile, ma l'MTC ereditaria colpisce in egual maniera entrambi i sessi e può comparire anche in età precoce. La misura della CT è quindi utile principalmente nella diagnosi differenziale tra MTC e malattia benigna, nel

bilancio di base a diagnosi già accertata, per valutare l'efficacia chirurgica del trattamento per MTC, per monitorare i pazienti per ricaduta dopo la terapia del tumore primitivo e nel monitoraggio della terapia per la malattia avanzata. La valutazione della CT è anche usata nello screening dei famigliari di pazienti con MEN e per identificare precocemente eventuali tumori midollari in stadio pre-clinico. Poiché la manifestazione clinica di MTC è, in genere, costituita dalla comparsa di un nodulo tiroideo, singolo o nel contesto di un gozzo multinodulare, la misura routinaria della CT nella valutazione di noduli tiroidei facilita la diagnosi di MTC: quindi, nei pazienti di età superiore ai 50 anni, per lo studio e l'inquadramento dei noduli tiroidei viene raccomandato da molti autori (pur senza un totale accordo) anche il dosaggio della CT. I noduli tiroidei costituiscono un reperto clinico molto comune con una prevalenza del 3-7% alla palpazione, che sale al 30-50% utilizzando l'ultrasonografia, con un drammatico incremento delle diagnosi di noduli clinicamente inapparenti (incidentalomi). I noduli tiroidei sono più frequenti nel sesso femminile, negli anziani, nelle aree iodio-carenti e nei soggetti esposti a radiazioni ionizzanti. L'importanza clinica dei noduli tiroidei è legata alla necessità di escludere una lesione maligna, presente nel 2-5% dei casi, con una strategia diagnostica efficace anche sul piano gestionale ed economico. La misurazione routinaria della CT nei pazienti con noduli tiroidei consente di identificare casi di MTC occulto con una frequenza di 1 su 200-300 portatori di noduli e può migliorare la prognosi e sopravvivenza del paziente. Un recente studio teorico, costruito su dati epidemiologici reali relativi ad una popolazione americana, dimostra un vantaggioso rapporto costo-efficacia per lo screening con la CT nei pazienti con nodulo tiroideo, comparabile con la misura del TSH, della colonscopia e della mammografia. Tuttavia, solo il 10-40% di tutti i pazienti con noduli tiroidei ed elevati valori basali di CT hanno MTC, perché esistono altre cause di aumenti di CT e false positività che devono essere identificate. Una diagnosi differenziale è però possibile con impiego di metodi di dosaggio per la CT validati nei confronti di possibili interferenze (falsi positivi: anticorpi eterofili; falsi negativi: effetto gancio) e con l'esecuzione di test di stimolo con pentagastrina o infusione di calcio. Livelli aumentati di CT nel siero sono altamente suggestivi di MTC, dopo esclusione delle condizioni che possono causare valori moderatamente elevati di CT, quali: insufficienza renale cronica e dialisi (verosimilmente a causa di una ridotta clearance), produzione ectopica di CT in tumori neuro-endocrini (tumori della mammella, del polmone, del pancreas e del sistema APUD, come carcinoidi bronchiale e intestinale, gastrinomi, feocromocitoma). Valori elevati di CT sono stati descritti anche in gravidanza e allattamento, nell'anemia perniciosa, nell'ipergastrinemia, nelle patologie gastriche in terapia con inibitori di pompa, nello shock tossico, nella pancreatite, nell'ustione inalatoria, nell'insufficienza polmonare cronica, nell'iperparatiroidismo, nello pseudo-ipoparatiroidismo di tipo 1°, nello stato infiammatorio sistemico, nelle tireopatie autoimmuni, nel periodo neonatale ed anche l'attività fisica può indurre un modesto aumento di CT. Inoltre, i dosaggi di CT possono risultare falsamente positivi a causa di interferenze di legame da anticorpi eterofili circolanti, o da auto-anticorpi anti-CT indotti da precedenti trattamenti con CT. Sono stati descritti anche risultati di CT falsamente bassi o negativi con alcuni immunodosaggi a causa della presenza di effetto gancio, (riscontro di livelli erroneamente bassi di un'analita pur in presenza di concentrazioni estremamente elevate di antigene che inibiscono la capacità di legame dell'anticorpo del test). Pertanto, se si osservano bassi livelli di CT non corrispondenti alla situazione clinica (es. in pazienti con tumore esteso e/o metastatico) si dovrebbe sospettare la possibilità di un effetto gancio e si devono eseguire ulteriori misure di CT sul campione dopo diluizione seriate dello stesso. Livelli di CT molto alti (>500 pg/ml) sono un buon indicatore di possibile MTC; per confermare la diagnosi, però, sono necessari ulteriori accertamenti (biopsia tiroidea, ecografia, TAC). Quando un paziente ha risultati di CT indeterminati o normali, ma rimane il sospetto clinico, possono essere utili i test di stimolo; questi sono infatti più sensibili della sola misura basale della CT e comportano la somministrazione e.v. al paziente di calcio o penta gastrina (Pg test) per stimolare la produzione di CT. Campioni di sangue sono poi raccolti in tempi successivi (es. 2, 5, 15, 30 minuti) per valutare l'effetto della stimolazione. Il Pg test (interpretabile

in base alla Tabella 1) consente di differenziare il MTC dalla iperplasia delle cellule C ed è di grande aiuto per l'identificazione di soggetti affetti nei casi di patologia ereditaria. Misure di CT basali e dopo Pg test sono eseguite di routine nel monitoraggio post-operatorio dei pazienti tiroidectomizzati e per localizzare sospette recidive o metastasi.

Tabella 1
Interpretazione del Pg test nella malattia nodulare tiroidea (valori indicativi):

Picco di CT dopo stimolazione (pg/mL)	Significato Clinico
<10	Assenza di malattia delle cellule C
>10 ma <100	Indeterminato (probabile risultato falso-positivo)
>100 ma <500	Probabile iperplasia delle cellule C
>500 ma <1.000	Probabile carcinoma midollare della tiroide (MTC)
>1.000	MTC

Benché il dosaggio della CT basale e dopo Pg test sia la metodica con migliore sensibilità per la diagnosi di MTC, essa è tuttavia di scarso aiuto nella localizzazione delle sedi di recidive loco-regionali e metastasi in pazienti tiroidectomizzati. Recentemente è stata documentata l'efficacia del dosaggio della CT nel liquido di lavaggio dell'agoaspirato con ago sottile (FNAB) per l'identificazione di lesioni primarie, metastasi linfonodali e recidive locoregionali da MTC. Usando un limite arbitrario per i livelli di CT sul liquido di lavaggio da FNAB (CT-FNAB) pari a 36 pg/mL (Immulite Calcitonin), corrispondente a 3 volte il più alto valore di CT-FNAB osservato nelle lesioni benigne, questa metodica presenta elevate sensibilità e specificità diagnostiche (entrambe del 100%). Il test CT-FNAB sembra quindi rappresentare una valida integrazione all'esame citologico da effettuare nei casi sospetti di MTC o di recidiva locoregionale. La sopravvivenza dei pazienti con MTC correla fortemente con i tempi di raddoppio dei loro livelli di CT, il monitoraggio dei quali (eventualmente in associazione al monitoraggio dei livelli di CEA) può essere tra i più potenti indicatori prognostici nel follow-up e trattamento dell'MTC. Tempi di raddoppio di CT superiori a 2 anni sembrano essere associati ad una migliore prognosi a lungo termine rispetto a tempi di raddoppio di CT inferiori a 6 mesi. Per una corretta valutazione dei tempi di raddoppio è raccomandato l'impiego di almeno 4 valori di CT, possibilmente distribuiti in un periodo di 2 anni ed è essenziale che tutti i dati di CT siano ottenuti nello stesso laboratorio con la stessa metodica.

DETERMINAZIONE

Matrice biologica

Siero o plasma.

Variabilità preanalitica del soggetto

Non sono necessarie particolari preparazioni del paziente. I livelli sono influenzati da insufficienza renale cronica e fumo di sigaretta. Dovrebbero essere accertati precedenti trattamenti con anticorpi monoclonali a causa della potenziale interferenza con i test immunometrici degli anticorpi umani anti-Ig di topo (HAMA).

del campione

Le provette di raccolta del campione con barriere di gel o additivi che favoriscono la coagulazione possono avere effetti importanti a seconda del metodo di dosaggio utilizzato. I risultati di CT possono essere interferiti anche da emolisi evidente o da lipemia, tali campioni sono quindi da evitare.

Stabilità - conservabilità

La CT nel siero o plasma è instabile e i campioni prelevati devono essere rapidamente posti in bagno di ghiaccio. Gli eritrociti devono essere separati entro 30 minuti dal prelievo per centrifugazione a freddo ed i campioni di siero o plasma, se non processati immediatamente, congelati a -20°C.

Metodo di riferimento

Non disponibile.

Standard internazionale di riferimento WHO 2nd International Standard 89/620

Unità di misura	pg/mL (ng/L) o μ IU/mL
SI	pmol/L
Fattore di conversione	1 pg WHO 2nd IS 89/620 = 0,2926 pmol WHO 2nd IS 89/620 1 pg WHO 2nd IS 89/620 = 0,1902 μ IU WHO 2nd IS 89/620
Metodologie utilizzabili	Immunochimiche (RIA e IRMA manuali, ICMA automatizzati)
Variabilità biologica	
intraindividuo	Non disponibile
interindividuo	Non disponibile
Refertazione	
Valori di riferimento	In generale, i metodi di dosaggio per la CT matura riportano valori basali inferiori ai 10 pg/mL per i soggetti normali e per il 90% dei pazienti con anomalie della tiroide diverse da MTC con livelli massimi di CT più elevati nei maschi rispetto alle femmine. I valori di CT dipendono anche dall'età del paziente, il fumo di sigaretta può aumentare la concentrazione di CT (in particolare nei maschi). Non esiste, tuttavia, un livello univoco per i valori di riferimento della CT, in quanto i diversi immunodosaggi non si possono considerare equivalenti in termini di standardizzazione e specificità: pertanto la classificazione dei pazienti nei confronti di valori limite di CT dipende dal metodo utilizzato ed il referto del laboratorio deve includere l'indicazione della metodica in uso e l'intervallo di riferimento specifico per quella metodica.

DISPONIBILITA' DI MERCATO (vengono indicati i prodotti dotati di marchio CE)

Produttore	Distributore	Prodotto	Tecnica	Strumentazione necessaria
CIS bio Bioassays	CIS bio S.p.A. Milano www.ria-cis.com	IRMA HCT	IRMA	Gamma-counter
DiaSorin	Diasorin S.p.A. Saluggia (VC) www.diasorin.com	Liaison Calcitonin	ICMA	Sistema Liaison
DIAsource ImmunoAssays	Pantec S.r.l. Torino www.pantec.it	Calcitonin-U.S. IRMA	IRMA	Gamma-counter
IBL International GmbH	IBL International GmbH Hamburg (Germany) www.ibl-hamburg.com	Human Calcitonin IRMA	IRMA	Gamma-counter
Medipan GmbH	Medipan GmbH Dahlewitz/Berlin (Germany) www.medipan.de	Calcitonin-IRMA magnum, SELco Calcitonin	IRMA	Gamma-counter
Radim Diagnostics	Radim S.p.A. Pomezia (RM) www.radim.com	Calcitonina IRMA CT	IRMA	Gamma-counter
Scantibodies Laboratory, Inc	Scantibodies Laboratory, Inc. Santee, CA (USA) www.scantibodies.com	Calcitonin IRMA	IRMA	Gamma-counter
Siemens Healthcare Diagnostics	Medical Systems S.p.A. Genova www.medicalsystems.it Siemens Healthcare Diagnostics S.r.l. Milano www.diagnostics.siemens.com	Immulite Calcitonin	ICMA	Sistema Immulite (Immulite 1000, Immulite 2000, Immulite 2500, Immulite XPi)

BIBLIOGRAFIA ESSENZIALE

- Pacini F, Schlumberger M, Dralle H, et al.** European Thyroid Cancer Taskforce. European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the follicular epithelium. Eur J Endocrinol. 2006 ;154:787-803.

Scheda tecnica

2. American Association of Clinical Endocrinologists (AACE), Associazione Medici Endocrinologi (AME). Medical Guidelines for Clinical Practice for the Diagnosis and Management of Thyroid Nodules. AACE/AME Task Force on Thyroid Nodules. Thyroid Nodule Guidelines, *Endocr Pract.* 2006;12:63.
3. British Thyroid Association (BTA), Royal College of Physicians (RCP). Guidelines for the Management of Thyroid Cancer. Second edition. 2007.
4. **Giovanella L.** Medicina di laboratorio e carcinomi tiroidei. *RIMeL - IJLaM*, 2009; 5:, 264-73.
5. **van Veelen W., de Groot JWB, Acton DS, et al.** Medullary thyroid carcinoma and biomarkers: past, present and future. *Journal of Internal Medicine.* 2009; 266:126–40.
6. **Elisei R, Bottici V, Luchetti F, et al.** Impact of routine measurement of serum calcitonin on the diagnosis and outcome of medullary thyroid cancer: experience in 10,864 patients with nodular thyroid disorders. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89:163-8.
7. **Cheung K, Roman SA, Wang TS, et al.** Calcitonin measurement in the evaluation of thyroid nodules in the United States: a cost-effectiveness and decision analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:2173-80.
8. **Schott M, Willenberg HS, Sagert C, et al.** Identification of occult metastases of medullary thyroid carcinoma by pentagastrin-stimulated intravenous calcitonin sampling followed by targeted surgery. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2007;66:405-9.
9. **Siqueira D, Rocha AP, Puñales MK, Maia AL.** Identification of occult metastases of medullary thyroid carcinoma by calcitonin measurement in washout fluid from fine needle aspiration of cervical lymph node. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2009 ;53:479-81.
10. **Barbet J, Champion L, Kraeber-Bodéré F, et al.** GTE Study Group. Prognostic impact of serum calcitonin and carcinoembryonic antigen doubling-times in patients with medullary thyroid carcinoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:6077-84.
11. **Toledo SPA, Lourenço Jr DM, Santos MA, et al.** Hypercalcitoninemia is not pathognomonic of medullary thyroid carcinoma. *Clinics.* 2009;64:699-706.
12. **Giovanella L, Maffioli M, Suriano S, et al.** Elevated calcitonin and procalcitonin levels in non-medullary benign and malignant thyroid nodules. *RIMeL - IJLaM*, 2009; 5: 304-7.
13. **Costante G, Durante C, Francis Z, et al.** Determination of calcitonin levels in C-cell disease: clinical interest and potential pitfalls. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* 2009 ;5:35-44.
14. **Cavalier E, Carlisi A, Chapelle J, Delanaye P.** Analytical quality of calcitonin determination and its effect on the adequacy of screening for medullary carcinoma of the thyroid. *Clin Chem* 2008;54:929-30.
15. **Bieglmayer C, Vierhapper H, Dudczak R, et al.** Measurement of calcitonin by immunoassay analyzers. *Clin Chem Lab Med* 2007;45:662-6.
16. **d'Herbomez M, Caron P, Bauters C, et al.** French Group GTE (Groupe des Tumeurs Endocrines). Reference range of serum calcitonin levels in humans: Influence of calcitonin assays, sex, age, and cigarette smoking. *Eur J Endocrinol* 2007;157:749-755.
17. **Tommasi M, Raspanti S.** Comparison of calcitonin determinations by polyclonal and monoclonal IRMAs. *Clin Chem.* 2007;53:798-9.
18. **Tommasi M, Raspanti S.** Hook effect in calcitonin immunoradiometric assay. *Clin Chem Lab Med.* 2007;45:1073-4.