



SEAP

Calle Ancora, 3, 2º B
28045 MADRID
Tfno. y Fax 91 539 86 28
MAIL: SEAP@SEAP.ES



Programa de Garantía de
Calidad en Patología

Módulo de IHQ GENERAL

Ronda nº8

Antígeno probado: Calcitonina

Tejido probado: Tiroides

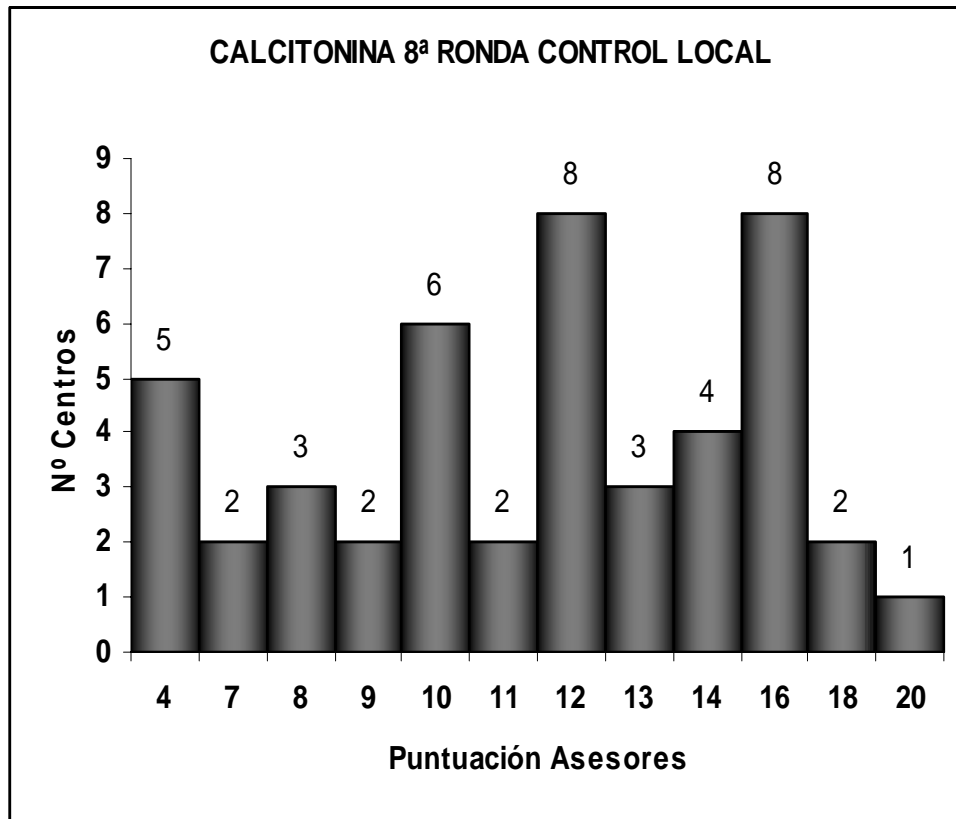
Instrucciones: Los participantes fueron invitados a realizar la técnica de inmunohistoquímica para ver la expresión de Calcitonina en la preparación remitida por el programa (tiroides fijado en formol al 10%, pH 7 durante 24 horas) y su propia preparación control, devolviendo ambas preparaciones para su evaluación.

Número de laboratorios participantes:

- Remitidos: 94

- Contestados: 51 **GCP** (54,2%) y 47 (50%) **Control Local**

Estudio de los controles de cada centro: Los resultados de la evaluación fueron los siguientes:



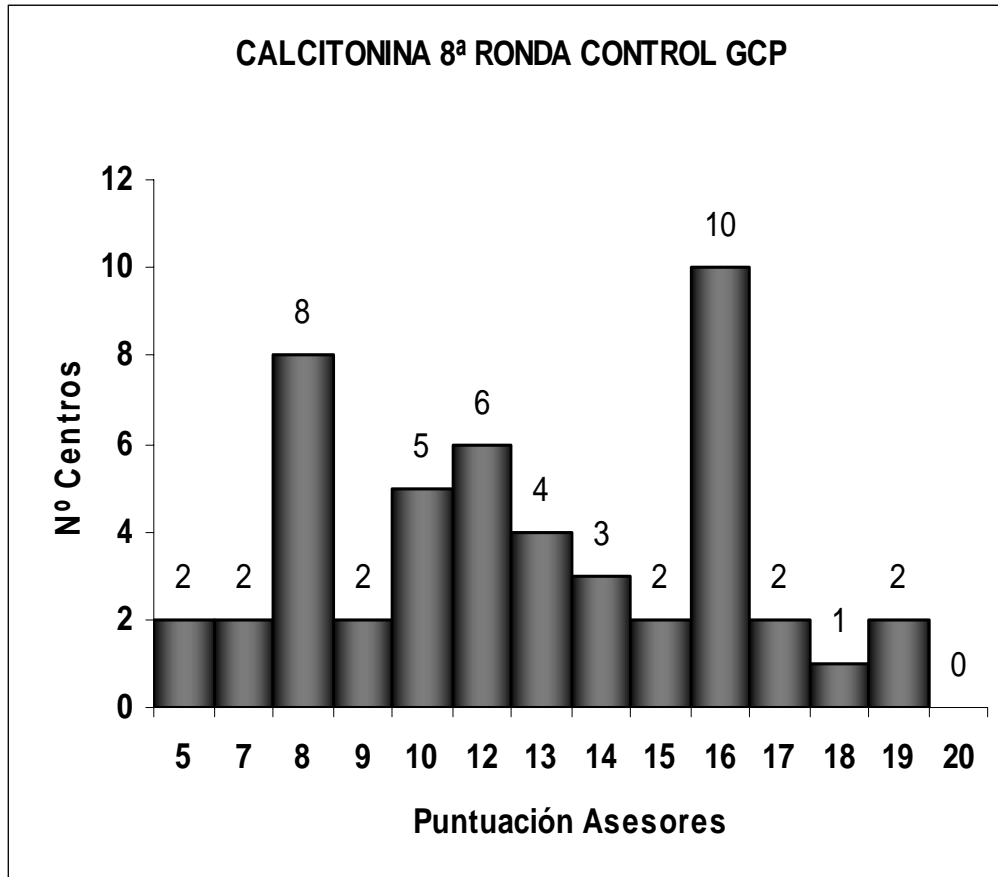
Considerando que una puntuación igual o superior a 12 se considera aceptable, el 57,4% de las preparaciones remitidas se consideraron aceptables. Un 23,4% obtuvieron una puntuación igual o superior a 16/20, consideradas como óptimas o muy cerca de la tinción óptima. El principal problema detectado ha sido una intensidad de la tinción o un número de células teñidas inferior al esperable, con una menor frecuencia de ligera o moderada tinción de fondo. Este hecho puede tener como consecuencia una disminución de la sensibilidad de la técnica, con posibles problemas para la detección de casos con relativa escasez de antígeno. Como en rondas anteriores siguen observándose artefactos técnicos generales (hidratación, contraste inadecuado por exceso o defecto, defectos en la manipulación con rotura del corte, etc), que suponen una merma global de la calidad de la técnica.

Los tejidos utilizados como control, en los laboratorios que lo especificaron fueron:

- Tiroides: 43
- Metástasis en ganglio de Carcinoma medular: 4
- Tejidos sin identificar: 4

No disponían de este Anticuerpo 10 de los Laboratorios participantes, y uno de ellos sólo envió el tejido Control.

Estudio de los controles remitidos por el programa GCP:

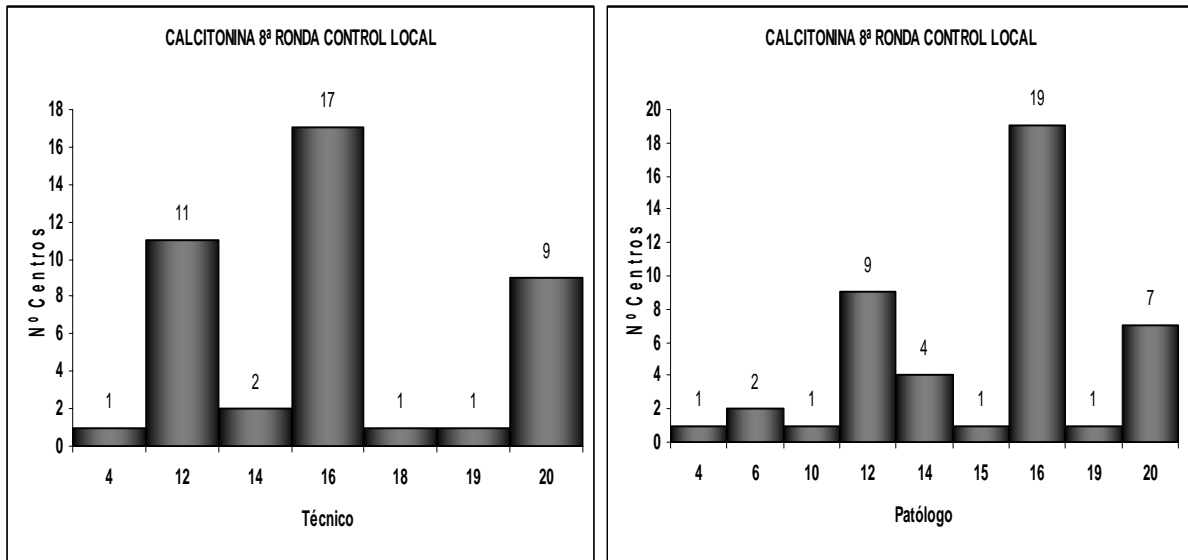


Considerando que una puntuación igual o superior a 12 se considera aceptable, el 59% de las preparaciones remitidas se consideraron como aceptables, con un 29,4% con una puntuación igual o superior a 16/20, consideradas como óptimas o próximas al grado óptimo. Los principales problemas detectados han sido una alta frecuencia de pretratamiento excesivo (sobrecalentamiento, pH inadecuado) de forma generalizada, así como ligera tinción de fondo y marcaje inadecuado de algunas células. En los casos con menor puntuación, además, destacaban los artefactos técnicos generales (tinción irregular debida a hidratación, contraste inadecuado por exceso o defecto, defectos en la manipulación con rotura del corte, etc).

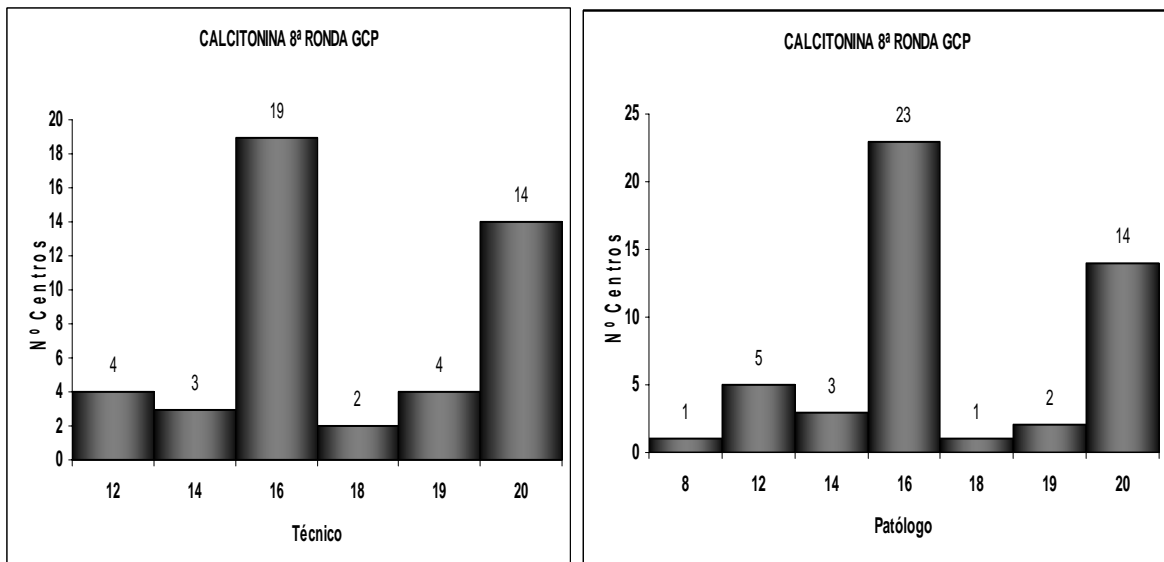
Resultados de la autoevaluación: Como se indica en las instrucciones remitidas, la autoevaluación es una parte importante del programa de Garantía de Calidad. El 89,3 % de los técnicos y el 95,7 % de los patólogos participantes remitieron su valoración de los controles locales y el 90,2% y

el 96% respectivamente del control del GCP. Estas cifras han aumentado respecto a las rondas previas.

Los resultados obtenidos en esta ronda son los siguientes:



Como se puede observar en los gráficos, al igual que en las rondas anteriores la percepción local sobre los resultados de la técnica es superior a la valoración de los observadores externos. Para los técnicos participantes el 66,6 % de los casos tenían una puntuación igual o superior a 16/20. Este porcentaje era del 60% en el caso de los patólogos. Estos valores son más del cuádruple de lo observado de acuerdo con la valoración externa.



Los resultados ligeramente inferiores al control local, con un 84,8 % de preparaciones con una puntuación igual o superior a 16/20 para los técnicos, y un 81,6% para los patólogos. Es evidente la notable discrepancia con las

valoraciones de los asesores externos (29,4% frente a 83% de media). La apreciación de los técnicos y de los patólogos sigue siendo muy superior a la de los asesores externos, y quizás fuera adecuada una labor de instrucción sobre la valoración de la técnica, en la que puede ser útil la consulta a las imágenes en la web de la SEAP, con ejemplos de diferentes casos representativos de cada una de las valoraciones, así como de los criterios empleados por éstos para valorar una inmunotinción óptima.

Inmunotinción óptima: Se consideró una inmunotinción óptima a la que mostraba teñidas con un patrón citoplasmático o citoplasmático, con una adecuada relación en la intensidad de la tinción con respecto al contraste empleado y con mínimo o ausente artefacto tanto de técnica inmunohistoquímica (degradación del tejido por sobrecalentamiento, tinción de fondo, p. ej.) como de técnica histológica (contraste adecuado, ausencia de hidratación, etc). Los criterios generales de puntuación empleados son los reflejados en las hojas de resultados individuales remitidas. Para ejemplos de las diferentes valoraciones se puede visitar la página web de la SEAP, en el apartado del programa de Garantía de Calidad.

Anticuerpos empleados:

Los anticuerpos empleados de acuerdo con la información proporcionada por los diferentes laboratorios son:

DAKO Policlonal): 23

DAKO Monoclonal (Clon 3F5): 2

Master Diagnostica Policlonal (Clon Sp-17): 8

Novocastra Policlonal: 3

Menarini Policlonal: 3

Biogenex Policlonal : 2

Zymed: 3

Biocare (No especifica poli o monoclonalidad): 1

Biomeda :2

Zymed: 3

Vitro: 2

Sin especificar: 2

En resumen, 49 laboratorios (98 %) utilizaron un anticuerpo policlonal frente a 2 que emplearon un anticuerpo monoclonal.

Mejores métodos

A (puntuación de 20/20 en las preparaciones del GCP):

Método: ABC- Streptavidin

Bloqueo: Agua oxigenada

Automatización: DAKO AUTOSTAINER

Digestión enzimática: NO

Recuperación antigénica con calor: NO

Anticuerpo primario: DAKO policlonal

Cromógeno: DAB DAKO 10 min a temperatura ambiente

B (puntuación de 18/20 en las preparaciones del GCP):

Método: ABC Streptavidina, Envision

Bloqueo: Agua oxigenada

Automatización: DAKO AUTOSTAINER, TECH-MATE

Digestión enzimática: NO

Recuperación antigénica con calor: Olla a presión 2 minutos en tampón citrato a pH 6

Anticuerpo primario: DAKO policlonal y Master Diagnostica

Cromógeno: DAB DAKO 10 min a temperatura ambiente.

Comentarios: En conjunto, la mayoría de los resultados son adecuados para su utilización rutinaria excepto las preparaciones con una puntuación inferior a 10, estas presentan, por lo general, una tinción inadecuada de algunas células y/o tinción inexistente esto hace que la técnica empleada no sea la correcta para su aplicación diagnóstica.

En los carcinomas medulares se observan dos marcajes de las células C, uno muy intenso y otro más débil, siendo ambos específicos y útiles para diagnóstico.

En 1962, Copp *et al.* descubrieron una hormona hipocalcemiante a la que denominaron calcitonina (CT), creyendo que era de origen paratiroideo. En 1964 el grupo de McIntyre confirmó la existencia de esta hormona y mostró claramente su procedencia tiroidea. Estudios posteriores de inmunohistoquímica, localizaron su origen en las células parafoliculares (células C) del tiroides. Todo ello culminó con la extracción de las células C del tiroides de un péptido con potente acción hipocalcemiante, finalmente se extrajo, purificó y secuenció la calcitonina humana de tejido procedente de un carcinoma medular de tiroides.¹

La CT es una hormona peptídico de 32 aminoácidos, derivada de un precursor que contiene 136 aminoácidos y una secuencia líder en el extremo aminoterminal, la secuencia se conserva fuertemente en distintas especies

dentro de la región del bucle aminoterminal, pero exhibe divergencia en el resto de la secuencia.²

La CT junto con la paratohormona y la vitamina D, son responsables de la regulación del calcio; mientras la calcitonina produce una inhibición de la actividad de los osteoclastos, y por consiguiente una disminución de los niveles de calcio circulantes, la paratohormona presenta una actividad contrapuesta. Se la utiliza clínicamente para diagnóstico y seguimiento de carcinoma de células C, carcinoma de médula tiroidea y en algunos tumores no tiroideos.

La expresión de calcitonina se puede utilizar para la identificación de un espectro de las anormalidades proliferativas de las células C que se extienden desde la hiperplasia de las células C a los tumores invasores. La expresión de calcitonina en el carcinoma medular de la tiroides produce un patrón granular fino en el citoplasma. Los depósitos amiloideos dentro del tumor pueden también exhibir grados que varían de la actividad de la calcitonina.⁴

La calcitonina es un marcador de tumores fiable, ya que es secretada por las células C normales y en el carcinoma de médula tiroidea (MTC). El MTC puede ser esporádico (aproximadamente el 75% de los casos) o familiar (alrededor del 25% de los casos); este último tiene un patrón de herencia autosómica dominante^{1,3}

Bibliografía

1. Ramon Perez Cano, Maria Jose Montoya Garcia: Calcitonina: Acciones Biológicas. Manual Práctico de Osteoporosis y Enfermedades del Metabolismo Mineral. Madrid. Jarpyo Editores. 2004. Pag. 35-40. ISBN: 84-88992-91-2.
2. Hayashida CY, Alves VAF, Kanamura CT, Ezabella CL, Abelin NM, Nicolau W, et al. Immunohistochemistry of medullary thyroid carcinoma and C-cell hyperplasia by an affinity-purified anti-human calcitonin antiserum. *Cancer* 1993;72:1356-63
3. Giuffrida D, Gharib H. Current diagnosis and management of medullary thyroid carcinoma. *Ann Oncol* 1998;9:695-701
4. NeoMarkers; IVD/ASR Data Sheet