

Amélia João Alice Nkutxi

# Relatório de Estágio Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de Estágio Curricular no âmbito de Mestrado em Análises Clínicas, orientado pelo  
Doutor Frederico Fernando Monteiro Marques Valido e apresentado à  
Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra.

Julho 2013



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**AMÉLIA JOÃO ALICE NKUTXI**

Relatório de Estágio - Mestrado em Análises Clínicas

Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Relatório de Estágio do Mestrado em Análises Clínicas, decorrido no Serviço de Patologia Clínica do Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil E.P.E. – sob orientação do Dr. Frederico Valido, compreendidas entre Outubro e Junho de 2013 nas áreas de Imunologia e Hormonologia.

*Suba o Primeiro degrau com fé. Não é necessário que você veja toda a escada. Apenas dê o primeiro passo.*

*(Martin Luther King)*

## **AGRADECIMENTOS**

Deixo aqui expressos os meus agradecimentos a todos aqueles que de uma forma ou de outra, comigo colaboraram tornando possível a elaboração deste trabalho.

Agradeço ao Dr. Frederico Marques Valido, médico especialista em patologia clínica orientador do estágio e Diretor do Serviço de Patologia Clínica do Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil, E.P.E. (IPOCFG, E.P.E.) por todo o apoio, disponibilidade, dedicação e orientação que me dispensou.

À Professora Doutora Leonor Martins de Almeida, Professora Catedrática da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e coordenadora do mestrado em Análises Clínicas, vai o meu agradecimento por todo apoio, paciência, transmissão de conhecimentos, principalmente pela disponibilidade durante estes dois anos.

À Professora Doutora Maria do Céu Sousa, Professora Assistente da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra e responsável da cadeira de Parasitologia e Micologia Clínica no mestrado em Análises Clínicas, vai a minha gratidão pela orientação e apoio na revisão dos textos.

Ao Dr. Nuno Cunha - responsável do setor de Hormonologia/Imunologia, pela simpatia, disponibilidade, paciência prestadas, pela transmissão de conhecimentos e pelo aconselhamento e revisão dos textos, bem como pelo apoio valioso durante o estágio.

À Dra. Maria Alexandre, Farmacêutica e especialista em análises clínicas do SPC do IPOCFG vai o meu agradecimento por todo o apoio disponibilidade, aconselhamento e revisão dos textos, bem como pelo apoio durante o estágio.

A todos os elementos do SPC do (IPOCFG), pela disponibilidade e simpatia com que sempre me receberam.

À Ana Sílvia colega no mestrado e amiga obrigada pela disponibilidade, pelas sugestões, pela ajuda, pela força e por ter sido um exemplo a seguir como aluna e pessoa.

À toda a minha Família especialmente a minha mãe e irmãos o meu imenso obrigado pelo apoio incondicional, sem vocês nada seria possível.

Ao Manuel agradeço o seu amor, compreensão e palavras de incentivo, mesmo nos momentos de maior desalento. Sem o seu apoio e companheirismo nunca teria conseguido percorrer este caminho.

Ao meu filho Kiese pequeno de mais para perceber os meus momentos de ausência e cansaço, imensamente grandes no amor que me dedica, fica este trabalho.

## ÍNDICE

<b>ABREVIATURAS .....</b>	<b>X</b>
<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>2. CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO .....</b>	<b>2</b>
<b>3. ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS .....</b>	<b>3</b>
3.1. Setor de Hematologia .....	3
3.2. Setor de Microbiologia .....	3
3.3. Setor de Química Clínica .....	3
3.4. Setores de Imunologia e Hormonologia.....	4
<b>4. IMUNOENSAIOS EM IMUNOLOGIA E HORMONOLOGIA .....</b>	<b>6</b>
4.1. Radioimunoensaios e Ensaio Imunorradiométricos .....	7
4.2. Ensaio Imunoquimioluminescentes .....	8
4.3. Ensaio Electroquimioluminescentes.....	8
4.4. Imunoturbidimetria.....	8
4.5. Nefelometria.....	8
4.6. Analizadores automáticos utilizados nos setores de hormonologia/imunologia.....	9
4.7. Técnicas Manuais.....	12
<b>5. MARCADORES TUMORAIS .....</b>	<b>13</b>
5.1. Glicoproteínas .....	16
5.1.1. Antígeno Carcinoembrionário – CEA .....	17
5.1.2. Alfafetoproteína .....	17
5.1.3. Gonadotrofina Coriônica Humana.....	17
5.1.4. Antígeno Específico da Próstata.....	18
5.1.5. Antígeno Específico da Próstata livre.....	18
5.1.6. Antígeno do carcinoma de células escamosas .....	18
5.2. Glicoproteínas do Grupo das Mucinas .....	19
5.2.1. Antígeno Carbohidrato 15.3 - CA 15.3 .....	19
5.2.2. Antígeno carbohidrato 19.9 - CA19.9.....	19

5.2.3.	Antigénio Carbohidrato I25 - CA I25 .....	19
5.2.4.	Antigénio Carbohidrato 72.4 – CA 72.4.....	20
5.3.	Enzimas.....	20
5.3.1.	Enolase Neuro – Específica .....	20
<b>6.</b>	<b>OUTROS MARCADORES TUMORAIS .....</b>	<b>20</b>
6.1.	Cromogranina A .....	20
6.2.	Cromogranina B.....	20
6.3.	Citoqueratina - Cyfra 21.1 .....	21
6.4.	S100.....	21
<b>7.</b>	<b>HORMONOLOGIA.....</b>	<b>21</b>
7.1.	Hormonas Produzidas pelas Glândulas Suprarrenais .....	22
7.1.1.	Cortisol.....	22
7.1.2.	Dehidroepiandrosterona e Sulfato de Dehidroepiandrosterona .....	22
7.1.3.	$\Delta$ - 4-Androstenediona.....	23
7.1.4.	Renina e Aldosterona .....	23
7.2.	Medula Suprarrenal - Catecolaminas.....	23
7.2.1.	Ácido Vanilmandélico .....	24
7.2.2.	Metanefrinas e Normetanefrinas .....	24
7.3.	Tiróide.....	24
7.3.1.	Tiroglobulina.....	24
7.3.2.	Hormona Estimuladora da Tiróide.....	25
7.3.3.	Triiodotironina.....	25
7.3.4.	Tiroxina.....	25
7.3.5.	T3 e T4 Livre.....	25
7.3.6.	Anticorpos Antiperoxidase e Anticorpos Anti-tiroglobulina.....	26
7.3.7.	Anticorpos Anti – receptores da TSH - Trab's.....	26
7.3.8.	Iodo Urinário.....	26
7.3.9.	Calcitonina .....	26

7.4.	Paratiróide .....	27
7.4.1.	Paratormona .....	27
7.5.	Hipófise .....	27
7.5. 1.	Hormona adrenocorticotrópica .....	27
7.5.2.	Prolactina.....	28
7.5.3.	Hormona de Crescimento ou Somatotropina .....	28
7.5.4.	Fatores de Crescimento semelhantes à Insulina I e II.....	28
7.5.5.	Proteína de Ligação 3 IGF-I - IGF-BP3.....	29
7.5.6.	Hormona Estimulante do Folículo.....	29
7.5.7.	Hormona Luteinizante.....	29
7.6.	Gónadas .....	30
7.6.1.	Estradiol.....	30
7.6.2.	Progesterona .....	30
7.6.3.	17-OH – Progesterona .....	30
7.6.4.	Testosterona total.....	30
7.6.5.	Testosterona Livre.....	31
7.6.6.	Globulina de Transporte das Hormonas Sexuais.....	31
7.7.	Pâncreas Endócrino .....	31
7.7.1.	Insulina .....	31
7.7.2.	Peptídeo C .....	31
<b>8.</b>	<b>OUTROS DOSEAMENTOS .....</b>	<b>32</b>
8.1.	Eritropoietina.....	32
8.2.	$\beta$ 2 Microglobulina .....	32
<b>9.</b>	<b>CONTROLO DE QUALIDADE.....</b>	<b>32</b>
<b>10.</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>34</b>
<b>11.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA .....</b>	<b>36</b>



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Esquema representativo de ensaios competitivos (Fonte: Kuby Immunology, 4th ed. (W. H. Freeman and Company, 2000), p. 162.) .....	7
<b>Figura 2:</b> Esquema representativo de ensaios não competitivos (Fonte: Kuby Immunology, 4th ed. (W. H. Freeman and Company, 2000), p. 162.) .....	7
<b>Figura 3:</b> CliniGamma 1272 da LKB Wallac™ (Fonte: SPC-IPOCFG) .....	9
<b>Figura 4:</b> Immulite 2000® XPI, da Siemens (Fonte: SPC-IPOCFG) .....	9
<b>Figura 5:</b> kryptor® da brahmstm (Fonte: SPC-IPOCFG) .....	10
<b>Figura 6:</b> Cobas 6000 da Roche (Fonte: SPC-IPOCFG) .....	11
<b>Figura 7:</b> Aparelho de Liaison® da Diasorin (Fonte SPC-IPOCFG) .....	11
<b>Figura 8:</b> Konelab 30®, da Thermo Electron Corporation (Fonte: SPC-IPOCFG) .....	12
<b>Figura 9:</b> Ilustração da curva de um marcador tumoral (PSA) relativo ao «cut-off». Determinação do PSA usando reagentes atualmente .....	15
<b>Figura 10:</b> Ilustração da curva de um marcador tumoral (PSA) relativo a especificidade e sensibilidade. Determinação do PSA usando um reagente «ideal» .....	15

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Analitos doseados no Sistema Automático immulite 2000® xpi, da Siemens .....	10
<b>Tabela 2:</b> Doseamento de marcadores tumorais no aparelho COBAS 6000 DA ROCHE .....	11
<b>Tabela 3:</b> Quantificação de produtos biológicos no setor de imunologia por técnicas manuais .....	13

## ABREVIATURAS

<b>ACTH</b>	Hormona adrenocorticotrópica
<b>AFP</b>	Alfa-fetoproteína
<b>ALP</b>	Fosfatase alcalina
<b>ALT</b>	Alanina aminotransferase
<b>AST</b>	Aspartato aminotransferase
<b>BMG</b>	□2-Microglobulina
<b>Ca 125</b>	Antigénio carbohidrato 125
<b>Ca 15.3</b>	Antigénio carbohidrato 15.3
<b>Ca 19.9</b>	Antigénio carbohidrato 19.9
<b>Ca 72.4</b>	Antigénio carbohidrato 72.4
<b>CAL</b>	Calcitonina
<b>CEA</b>	Antigénio carcinoembrionário
<b>CMIA</b>	Ensaio imunoquimioluminescente de micropartículas
<b>CGA</b>	Cromogranina A
<b>CGB</b>	Cromogranina B
<b>CLIA</b>	Ensaio imunoquimioluminescente
<b>COR</b>	Cortisol
<b>CRH</b>	Hormona libertadora da corticotropina
<b>DHEA</b>	Dihidroepiandrosterona
<b>DHEA-S</b>	Sulfato de dihidroepiandrosterona
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico
<b>ECLIA</b>	Ensaio electroquimioluminescente
<b>EDTA</b>	Ácido etilenodiamino tetracético
<b>EIA</b>	Ensaio imunoenzimático
<b>EPO</b>	Eritropoietina
<b>FPSA</b>	Fração livre do antigénio específico da próstata
<b>FSH</b>	Hormona estimuladora do folículo
<b>FT3</b>	Triiodotironina livre
<b>FT4</b>	Tiroxina livre
<b>GH</b>	Hormona de crescimento
<b>GnRH</b>	Hormona libertadora das gonadotropinas
<b>HBP</b>	Hiperplasia benigna da próstata
<b>IGF-I</b>	Fator de crescimento similar da insulina I

<b>IGF-2</b>	Fator de crescimento similar da insulina 2
<b>IGF-BP3</b>	Proteína de ligação 3 do IGF
<b>INSA</b>	Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge
<b>IPO</b>	Instituto Português de Oncologia
<b>IRMA</b>	Ensaio imunorradiométrico
<b>LDL</b>	Lipoproteína de baixa densidade
<b>LH</b>	Hormona luteinizante
<b>NSCLC</b>	Carcinoma de células não pequenas do pulmão
<b>NSE</b>	Enolase neuroespecífica"
<b>PCT</b>	Procalcitonina
<b>PIF</b>	Fator de inibição da prolactina
<b>PRF</b>	Fator de libertação da prolactina
<b>PRG</b>	Progesterona
<b>PRL</b>	Prolactina
<b>PSA</b>	Antigénio específico da próstata
<b>PTH</b>	Hormona paratiroideia
<b>RIA</b>	Radioimunoensaio
<b>RIQAS</b>	" <i>Randox International Quality Assessment Service</i> "
<b>SCC</b>	Carcinoma de células escamosas
<b>SCLC</b>	Carcinoma de células pequenas do pulmão
<b>SHBG</b>	Globulina de ligação das hormonas sexuais
<b>SNC</b>	Sistema nervoso central
<b>SPC</b>	Serviço de patologia clínica
<b>T3</b>	Triiodotironina total
<b>T4</b>	Tiroxina total
<b>TG</b>	Tiroglobulina
<b>TRIG</b>	Triglicéridos
<b>TSH</b>	Hormona estimuladora da tiróide
<b>HCG</b>	Gonadotropina coriónica humana

## **RESUMO**

O presente relatório descreve o estágio realizado no Serviço de Patologia Clínica do Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil, cujos objetivos foram conhecer a rotina do laboratório, aprender procedimentos analíticos, avaliação, interpretação de resultados e compreender a aplicação das diferentes técnicas utilizadas nos distintos setores do Serviço da referida área. Mais do que uma descrição das atividades desenvolvidas, o relatório pretende dar uma visão geral da rotina laboratorial existente no serviço, dos parâmetros realizados e metodologias utilizadas associado à prática laboratorial nas análises clínicas. Trata-se de um serviço complexo, em que os utentes são essencialmente doentes oncológicos em fase de rastreio, tratamento ou *follow up*, em regime de internamento ou ambulatório.

As áreas aprofundadas neste relatório são a Hormonologia e a Imunologia (marcadores tumorais), sem descurar uma referência às outras áreas, que na sua especificidade também são fundamentais para uma completa avaliação do doente.

**Palavras-Chave:** Processos fisiológicos, diagnóstico, tecnologia, hormonologia, marcadores tumorais

## **ABSTRACT**

This report describes the internship that took place at the Department of Patologia Clínica of the Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil de Coimbra. The main objectives were to understand daily laboratory routine, to learn about the analytical procedures, evaluation and interpretation of the analytical results and to understand the application of different techniques used in different sectors of the Department. In addition to the overall description of its activities, the report also aims to give an overview of the daily laboratory routine at this centre, the parameters performed and the methodologies associated with laboratory practice in clinical analysis. It is a complex Department whose users are mainly cancer patients undergoing screening, treatment or follow-up, inpatient or outpatient.

Fields detailed in report are hormonology and immunology (tumor markers), without neglecting a reference to other fields, which in their specificity are also critical for a complete assessment of the patient.

**Keywords:** Physiological processes, diagnosis, technology, hormonology, tumor markers

## **I. INTRODUÇÃO**

O Serviço de Patologia Clínica do Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil (SPC – IPOCFG) desenrola a sua atividade numa área da medicina que tem tido um crescimento exponencial nos últimos anos, em grande parte devido ao aumento do número de casos de doentes referenciados para a instituição e pelo aparecimento de novos parâmetros analíticos, nomeadamente na área da oncologia.

Neste trabalho, não quero deixar de abordar o que é estagiar num hospital com características e especificidades muito próprias e estar em contato com o doente oncológico. Para além da ciência, da investigação, dos números e estatísticas, o cancro é uma doença incapacitante, que condiciona física e psicologicamente, o doente e as suas famílias, Embora seja reconfortante verificar os sucessos terapêuticos em muitos tipos de patologias oncológicas. A título pessoal posso também dizer que condicionou a minha forma de pensar, de agir, de ver a vida.

O SPC realiza diariamente análises clínicas em várias áreas, de forma a apoiar o clínico no diagnóstico e monitorização dos doentes e utentes do IPO nas diversas especialidades. Os setores são: Hematologia, Química Clínica, Microbiologia, Hormonologia e Imunologia. No âmbito deste estágio tive oportunidade de passar pelas diferentes áreas, tomando conhecimento e metodologias com as quais nunca tinha tido contato. Quero destacar duas áreas que pretendo aprofundar neste trabalho.

As áreas aprofundadas neste relatório são a Hormonologia e Imunologia (marcadores tumorais), sendo feita apenas uma referência genérica à Hematologia, Bioquímica e à Microbiologia.

## **2. CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO**

O estágio foi realizado no Serviço de Patologia Clínica (SPC) do Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil, EPE. Situado no edifício da Oncologia Médica e Laboratórios, é constituído por cinco setores distintos, sendo o diretor do serviço o Dr. Frederico Valido médico especialista em patologia clínica. O setor da Bioquímica está sob a responsabilidade do Dr. Luís Nina, o setor da Microbiologia da Dra. Paula Gama, o setor de Hematologia da Dra. Joana Diamantino e os setores de Imunologia e Hormonologia do Dr. Nuno Cunha. Para além destas áreas o Serviço de Patologia dispõe de diversos espaços comuns tais como, o atendimento/secretariado, as salas de colheitas e de triagem, o gabinete da direção, o gabinete médico, a zona de tratamento de material, arrumos e uma sala polivalente. Os recursos humanos do Serviço contemplam uma variedade de profissionais de saúde com especificidades próprias desde médicos patologistas clínicos, técnicos superiores de saúde (farmacêuticos, bioquímicos e biólogos), técnicos de diagnóstico e terapêutica (técnicos de análises clínicas), pessoal administrativo e auxiliares de ação médica. Os utentes deste Serviço são essencialmente doentes oncológicos em fase de rastreio, tratamento ou *follow up*, em regime de internamento ou ambulatório. As colheitas de sangue em regime de internamento são asseguradas por uma equipa de técnicos de análises clínicas que se deslocam às diferentes enfermarias todos os dias no início da manhã, e sempre que solicitados pelo médico assistente. Todos os outros produtos biológicos, devidamente identificados, provenientes dos doentes internados são transportados pelas técnicas que efetuam as colheitas ou por auxiliares de ação médica. As colheitas de sangue e outros produtos a analisar, de utentes em regime de ambulatório, são realizadas no Serviço, também por técnicos de análises clínicas, segundo um regime de prioridades estabelecido pela Direção do Serviço. Este sistema atribui prioridade aos utentes que chegam em maca ou cadeira de rodas, aos utentes diabéticos e aos utentes com requisições assinaladas pelo médico assistente como urgentes ou prioritárias, por esta ordem. Após o registo no secretariado em que é atribuído um número interno do serviço é realizada a colheita e os produtos são enviados aos diferentes setores. O Serviço tem em média 300 utentes diários. As áreas do SPC estão fisicamente divididas e compreendem diferentes equipamentos e tecnologias.

### **3. ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS**

#### **3.1. Setor de Hematologia**

Neste setor são determinados os mais variados parâmetros hematológicos, em sangue total, plasma, aspirados medulares ou outros líquidos biológicos. Para tal existem os seguintes equipamentos:

- 2 Equipamentos LH750, da Beckman Coulter®. Executam hemogramas completos (RBC, HGB, HTC, MCV, PLT, entre outros), contagem diferencial de leucócitos e contagem celular em líquidos orgânicos;
- 2 Equipamentos ACL TOPcts500, da Instrumentation Laboratory. Executam estudos da hemostase, como diversas provas de coagulação ou doseamento de fatores da coagulação;
- 2 Equipamentos Alifax® S.P.A. TEST. Para determinação da velocidade de sedimentação globular;
- 1 Equipamento WESCOR Aerospray® 7150 Hematology Slide-Cytocentrifuge. Para coloração de esfregaços sanguíneos;
- 1 Equipamento Beckman Coulter® TQ prep TM. Para estudos imunofenotípicos por citometria fluxo;
- Microscópio para a observação de esfregaços de sangue periférico e medulares.

#### **3.2. Setor de Microbiologia**

A este setor chegam vários tipos de amostras biológicas, como sejam urina, pus, hemocultura, expetoração, líquido cefalorraquídeo (LCR), fezes, entre outros, para fazer as análises devidas. Este setor encontra-se subdividido em duas áreas. Numa das áreas faz-se a análise da urina no cobas u 411 da Roche, enquanto na outra é feita a pesquisa de microrganismos, a sua identificação e antibiograma no VITEK® 2 Compact 15, da Biomerieux. O BACTEC™ 9050 da Becton Dickinson é utilizado para as hemoculturas. Conta também com uma câmara de fluxo laminar da Forma Scientific e uma incubadora da mesma marca. Numa outra sala independente encontram-se os microscópios onde são feitas as observações das lâminas (a fresco ou com coloração).

#### **3.3. Setor de Química Clínica**

Este setor executa uma grande variedade de análises tendo ao seu dispor um leque abrangente e evoluído de equipamentos que permitem através do doseamento de diversos



parâmetros perceber a dinâmica dos sistemas mais importantes do corpo humano (sistema renal, hepático, digestivo, muscular entre outros), permitindo estabelecer uma interligação entre os sistemas e fornecendo dados para a interpretação global dos resultados obtidos. Os equipamentos são:

- Autoanalísadores – Cobas® 6000 Analyser Series HITACHI, da Roche® (2 módulos c501 ligados em cadeia). Para o doseamento dos parâmetros bioquímicos mais comuns como por exemplo: LDL, HDL, COL, TRIG (ficha lipídica), AST, ALT, BILD, BILT (função hepática), creatinina, ureia (função renal), Na, K<sup>+</sup> e Cl<sup>-</sup> (ionograma), Ca, HbA1C, PT, PTU, ALB, CK, ALP, entre muitos outros;
- 1 Equipamento Cobas® c311, da Roche® Diagnostics. Usado como equipamento de apoio quando o modular se encontra em manutenção;
- 1 Equipamento Ciba Corning 850® Blood Gás Analyser, da Siemens. Para a execução de gasometrias;
- 2 Equipamentos ABL 555, da Radiometer® Copenhagen. Para o doseamento do cálcio ionizado;
- 1 Equipamento Reflotron®Plus, da Roche® Diagnostics. Analisador de química seca por refractometria, utilizado para confirmação dos resultados obtidos no Cobas® 6000;
- 1 Equipamento RapidChem TM 744, da Bayer®; Para a confirmação de ionogramas;
- 1 Equipamento Shimadzu Spectrophotometer UV-120-02; Espectrofotómetro utilizado para a leitura de técnicas manuais;
- Kits para a execução de técnicas de aglutinação.

#### 3.4. Setores de Imunologia e Hormonologia

Nestes sectores pude conhecer as várias técnicas e aparelhos utilizados no doseamento de hormonas e marcadores tumorais e avaliar os resultados obtidos de acordo com o histórico do doente e relacionando com a função de cada analito. Para isso, pude contar com a orientação do Dr. Nuno Cunha, Dra. Ângela Sofia Carreiro, Dr. Jorge Pimenta e Dra. Maria Alexandre.

No SPC os setores de imunologia e hormonologia, apesar de distintos, estas áreas encontram-se fisicamente juntos partilhando equipamentos e metodologias, em termos práticos funcionam como se fosse um único setor bastante vasto onde se realizam os estudos e quantificação de uma grande diversidade de parâmetros desde os marcadores tumorais, hormonas, proteínas de fase aguda, enzimas cardíacas, drogas terapêuticas,

serologia infecciosa. Os últimos quatro parâmetros não são abordados neste relatório, dando-se apenas ênfase aos marcadores tumorais e hormonas. A maioria dos marcadores tumorais e hormonas são quantificadas num conjunto sofisticado de autoanalisadores de imunoquímica, fazendo destes setores os mais automatizados do Serviço. No entanto, existem ainda determinados parâmetros cuja quantificação ainda se executa por processos manuais, como por exemplo: o iodo urinário (reação química colorimétrica) assim como algumas hormonas e seus metabolitos (reações de RIA com  $I^{125}$ ). Pela sua relevância, e especial importância num instituto oncológico, são merecedores de destaque neste relatório. Segue-se a lista de equipamentos existentes:

- 1 Equipamento Immulite 2000® XPI, da Siemens;
- 1 Equipamento Immulite 2000®, da Siemens;
- 1 Equipamento Liaison®, da DiaSorin;
- 1 Equipamento Konelab 30®, da Thermo Electron Corporation;
- 1 Equipamento Cobas e6000 Analyser®, da Roche® Diagnostics;
- 1 Equipamento Kryptor®, da Brahms;
- 1 Equipamento Viva-E, da Siemens;
- 1 Equipamento Contador gamma;
- 1 Equipamento Hydrasys®, da Sebia;
- 1 Equipamento BNProspect, da Siemens;
- 1 Centrífuga refrigerada;
- 1 Ultracentrífuga;
- 1 Hotte;
- 1 Balança de precisão;
- 1 Medidor de pH;
- 1 Arca congeladora a  $-70^{\circ}\text{C}$ .

Os sectores de imunologia/hormonologia como anteriormente referidos, na prática funcionam como uma única secção abrangente onde são executados os mais diversos parâmetros analíticos. Trabalham com um sistema de registo interno onde é atribuído um número sequencial a cada requisição que chega, isto é, é feito um novo registo. Com dados do utente, do Serviço, clínico requisitante e número interno atribuído no secretariado principal do SPC. O *software* funciona em rede LIS (bidireccional), em modo *query* com os autoanalisadores, permitindo o envio dos parâmetros a efetuar para os diferentes equipamentos e a receção correta dos resultados na ficha do respetivo doente, onde ficam a

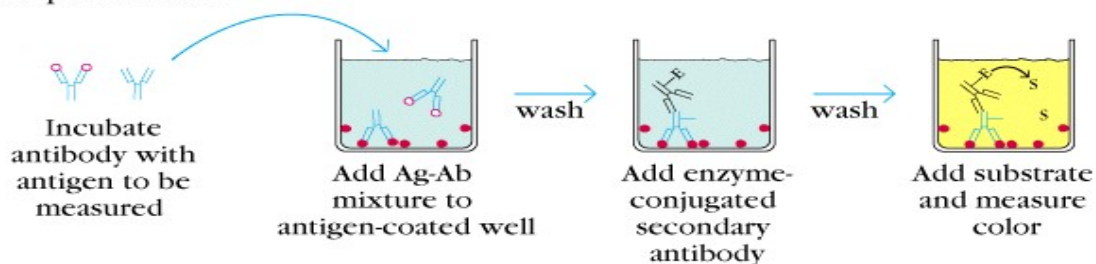
aguardar validação biopatológica. Todo este circuito é processado pelo software OMEGA 3000, da Roche® Diagnostics.

#### 4. IMUNOENSAIOS EM IMUNOLOGIA E HORMONOLOGIA

Todos os imunoensaios realizados envolvem o uso de anticorpos específicos para os antígenos a dosear (hormonas, marcadores tumorais etc...). No entanto, estas técnicas de determinação dos parâmetros analíticos podem diferir no princípio do imunoensaio (ensaio competitivo ou não-competitivo/*sandwich*) e no método de deteção do complexo antígeno-anticorpo (métodos radioactivos, fluorescentes, quimioluminescentes, electroquimioluminescentes, Time-Resolved Amplified Cryptate Emission (TRACE) e imunoturbidimetria). Os Imunoensaios são testes baseados na interação antígeno-anticorpo, que deve ser a mais específica e sensível possível. A especificidade é obtida pela utilização de anticorpos monoclonais que se ligam a um local específico da molécula a determinar. A sensibilidade é conseguida pela elevada afinidade do anticorpo [1]. As técnicas mais usadas utilizam reagentes que marcam o antígeno ou o anticorpo com um radioisótopo (RIA), com um fluorocromo (TRACE), com marcadores quimioluminescentes (CMIA), ou ainda que permitem reações imunoenzimáticas (EIA), para além destas técnicas existem ainda as técnicas que utilizam reagentes não marcados como a seroaglutinação, nefelometria, imunoturbidimetria, imunoeletroforese e imunoprecipitação. Os imunoensaios com reagentes marcados podem ser homogéneos ou heterogéneos, sendo que os heterogéneos incluem um passo de remoção do excesso de antígeno ou anticorpo do local de ligação. Os ensaios homogéneos, pela inexistência do passo de lavagem, são mais rápidos e simples de executar.

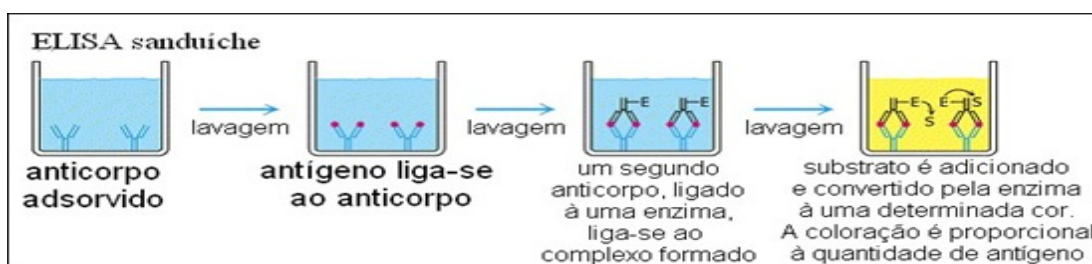
**Ensaio competitivo:** o antígeno a determinar na amostra compete diretamente com um antígeno análogo marcado pelo local de ligação aos anticorpos que estão adsorvidos à superfície de uma fase sólida. É então medida a quantidade de antígeno marcado ligado ao anticorpo, sendo esta inversamente proporcional à quantidade de antígeno a determinar [2,9].

(c) Competitive ELISA



**Figura 1:** Esquema representativo de ensaios competitivos (Fonte: Kuby Immunology, 4th ed. (W. H. Freeman and Company, 2000), p. 162.).

**Ensaio não competitivo:** também chamados de ensaios tipo “sanduíche” utilizam um segundo anticorpo marcado como sinalizador da formação do complexo anticorpo/antigénio. Nestes ensaios o segundo anticorpo só se liga ao antigénio se já estiver formado o complexo anticorpo (em fase sólida) – antigénio. Assim a quantidade de anticorpo marcado é diretamente proporcional à concentração do antigénio a determinar <sup>[2,9]</sup>.



**Figura 2:** Esquema representativo de ensaios não competitivos (Fonte: Kuby Immunology, 4th ed. (W. H. Freeman and Company, 2000), p. 162.).

Nos setores de Imunologia e Hormonologia são usados diferentes tipos de imunoensaios. É importante perceber o fundamento de cada imunoensaio, tendo sempre em consideração as variantes específicas de cada casa comercial. As variações podem ser devidas ao tipo de marcador usado, à enzima usada, ao clone de anticorpo, ao número de lavagens etc.. Apesar de tudo o referido, o fundamento imunológico (não competitivo) é transversal a todos os equipamentos de imunoquímica.

#### 4.1. Radioimunoensaios e Ensaio Imunorradiométricos

Ambos utilizam um radioisótopo como marcador (ex: Iodo125) sendo que os radioimunoensaios (RIA) são imunoensaios competitivos e os ensaios imunorradiométricos (IRMA) são imunoensaios não competitivos.

#### 4.2. Ensaios Imunoquimioluminescentes

Este método baseia-se na produção de luz como resultado de uma reação química na ausência de um estímulo luminoso prévio. A energia resultante da reação química é transferida para uma molécula instável capaz de passar a um estado eletrónico excitado e que ao regressar ao estado fundamental emite luz. Esta luz varia conforme a molécula usada na reação. Neste tipo de imunoensaio, o anticorpo conjugado com enzima reage com o substrato luminogénico com consequente emissão de luz que é depois detetada por um luminómetro. Tal como em outros imunoensaios, também aqui, é observada proporcionalidade inversa à concentração do analito nos ensaios competitivos e proporcionalidade direta em ensaios não competitivos <sup>[2]</sup>.

#### 4.3. Ensaios Electroquimioluminescentes

Os ensaios Electroquimioluminescentes utilizam a emissão de luz que é modulada aplicando-se adequadamente potenciais de oxidação ou redução a um eléctrodo imerso em soluções contendo moléculas emissoras de radiação, como complexos de ruténio. Os analitos a determinar ligam-se a anticorpos marcados com complexos de ruténio e só depois a uma fase sólida que se liga ao eléctrodo. Após a eliminação dos elementos não ligados é aplicada uma corrente no eléctrodo que induz a emissão de luz pelo complexo de ruténio, luz essa detetada por um fotomultiplicador. Nos ensaios não competitivos, a luz detetada é diretamente proporcional à concentração do analito, e inversamente proporcional à concentração nos ensaios competitivos <sup>[2,13]</sup>.

#### 4.4. Imunoturbidimetria

A Imunoturbidimetria à semelhança da nefelometria, é também uma técnica baseada na imunoprecipitação de complexo antigénio – anticorpo. Mede a luz que consegue atravessar uma solução na presença de complexos imunológicos. Difere da nefelometria porque aqui é detetada a luz não difratada <sup>[3]</sup>.

#### 4.5. Nefelometria

Os imunoensaios por nefelometria baseiam-se na imunoprecipitação de complexos imunológicos e na medição da quantidade de luz difratada devido à presença dos complexos formados. Para isso são utilizados reagentes não marcados <sup>[1]</sup>. A determinação nefelométrica de antigénios (proteínas séricas) é conseguida pela adição de quantidades constantes de anticorpos purificados (reagentes). Os complexos antigénio – anticorpo formados são lidos

numa cuvete atravessada por um feixe de luz. Uma célula fotoelétrica regista a medição da quantidade de luz dispersa aquando da passagem da luz pela solução ou suspensão como densidade ótica. A correta determinação dos antigénios é feita na zona ascendente da curva das precipitinas, onde existe uma relação direta entre a concentração do antigénio e a densidade ótica [2].

#### 4.6. Analizadores automáticos utilizados nos setores de hormonologia/imunologia.

As técnicas Imunoradiactivas combinam reações imunológicas e a deteção de rádio-isótopos. O rádio-isótopo mais usado nestas determinações é o  $I^{251}$ , sendo a sua radioatividade medida no contador gama automático, CliniGamma 1272® da LKB Wallac™.



**Figura 3:** CliniGamma 1272 da LKB Wallac™ (Fonte: SPC-IPOCFG).

O Instrumento Automático de Imunoensaios Immulite 2000® XPI, da Siemens (Figura 4) é um instrumento de acesso aleatório que efetua imunoensaios de quimioluminescência (CLIA). O sistema utiliza amostras de soro, plasma e/ou de urina para diagnósticos *in vitro*. Este utiliza esferas de poliestireno revestidas com uma camada de anticorpos como fase sólida. Uma esfera revestida é dispensada num tubo de reação especialmente concebido para o efeito, que serve como recipiente para os processos de incubação, lavagem e desenvolvimento do sinal.

Neste autoanalisador (Figura 4) são doseados os analitos referenciados na Tabela I.



**Figura 4:** Immulite 2000® XPI, da Siemens (Fonte: SPC-IPOCFG).

Após a amostra ser incubada com um anticorpo ou antígeno ligado à fosfatase alcalina, a mistura é separada da esfera revestida pelo movimento de rotação do tubo de reação. O fluido é transferido para uma câmara de lavagem onde vai sofrer quatro processos de lavagem. O complexo formado é, então, quantificado utilizando um substrato de dioxetano para produzir luz. A luz é emitida quando o substrato quimioluminescente reage com a fosfatase alcalina. A quantidade de luz emitida é proporcional (no caso de uma ensaio tipo “sandwich”) ou inversamente proporcional (no caso de um ensaio competitivo) à quantidade de analito presente na amostra. A emissão de luz é detetada pelo tubo fotomultiplicador e os resultados são calculados para cada amostra. Neste analisador são efetuadas as quantificações de grande parte dos parâmetros pedidos neste setor.

**Tabela 1:** Analitos doseados no Sistema Automático immulite 2000® xpi, da Siemens.

Analitos	Parâmetros
Marcadores tumorais	CEA,AF, $\alpha$ 2- MG, PSA Total e Livre
Hormonas	TSH, T3 Livre, T4Livre, T3 Total, T4 Total, TG, GH, FSH, Calcitonina, Adrecorticotropica, Hormona,PTH, ACTH, LH, PRL, E <sub>2</sub> , PRG, HCG, SO <sub>4</sub> – DHEA, EPO e Gastrina
Outros Parâmetros	Anticorpos anti-TG, Anticorpos anti-peroxidase IGF - BP3

O instrumento Kryptor (Figura 5) baseia-se no princípio da tecnologia TRACE (Time Resolved Amplified Cryptate Emission).



**Figura 5:** kryptor® da brahmstm (Fonte: SPC-IPOCFG).

Neste aparelho (Kryptor® da Brahmsm) são efetuadas as quantificações dos seguintes parâmetros: CA15.3, NSE, SCC, Procalcitonina, Prolactina e PSA total (confirmatório).

O Cobas 6000 (Figura 6) utiliza a tecnologia ECL (Eletrochemiluminescencia) nas determinações de vários parâmetros.



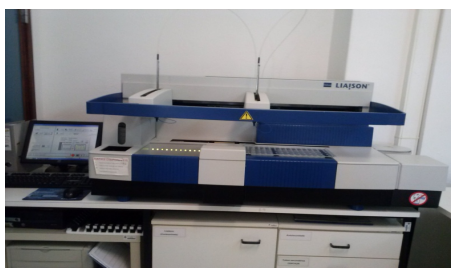
**Figura 6:** Cobas 6000 da Roche (Fonte: SPC-IPOCFG).

Neste aparelho (Cobas 6000 da Roche) doseiam-se marcadores tumorais que estão assinalados na Tabela 2.

**Tabela 2:** Doseamento de marcadores tumorais no aparelho Cobas 6000 da Roche.

Analitos	Parâmetros
Marcadores tumorais	Antigénio Carbohidrato 19.9 (, CA 19.9), Antigénio Carbohidrato 125 (CA 125), Antigénio Carbohidrato 72.4 (CA 72.4), CYFRA 21
Hormonas	FT3, FT4, PTH, Insulina, Cortisol Salivar, peptídeo C
Outros Parâmetros	Vitamina B12, ácido fólico, 25-OH-Vitamina D3, e TRAB's (Anticorpos anti-receptores da TSH).

O Liaison (Figura 7) baseia-se em imunoensaios de CMIA do tipo “sandwich”, podendo ocorrer em uma, duas ou três etapas.



**Figura 7:** Aparelho Liaison® da Diasorin (Fonte SPC-IPOCFG).

Neste aparelho são doseados os marcadores cardíacos (Troponina I, CK-MB massa, Mioglobina), marcadores virais como anticorpos anti-Rubéola (IgG e IgM), anticorpos anti-EBV (VCA-IgG, VCA-IgM, EBNA-IgG, EA-IgG), e outros parâmetros como Anticorpos anti-Toxoplasmose (IgG e IgM), S-100, Peptídeo C, Renina plasmática, Timidina quinase, anticorpos anti-DS DNA e anticorpos anti-cardiolipina (IgG e IgM).



O Konelab (Figura 8) utiliza a imunoturbidimetria como técnica para fazer a determinação de uma grande variedade de parâmetros. Um anti-soro específico é adicionado em excesso às amostras. O aumento da absorvância é causado pela formação de imunocomplexos entre o analítico medido e o anticorpo específico, sendo medida até a reação atingir o seu ponto final. A diferença de absorvâncias é tanto maior quanto maior for a quantidade de antigénio na solução [3].



**Figura 8:** Konelab 30®, da Thermo Electron Corporation (Fonte: SPC-IPOCFG).

Este equipamento é utilizado na quantificação de imunoglobulinas (IgM, IgG, IgA), PCR AAT, Haptoglobinas, Transferrina, Fator Reumatoide (FR), Título de estreptolisina (TASO), complemento C<sub>3</sub> e C<sub>4</sub>, e cadeias leves livres kappa e lambda.

#### 4.7. Técnicas Manuais

Relativamente aos métodos RIA e IRMA, nas técnicas manuais o antigénio é marcado radioativamente com um isótopo I<sup>125</sup>, detetado e quantificado depois num contador gama – Automatic Gamma Counter. A intensidade do sinal medido é inversamente proporcional à concentração de antigénio na amostra testada no método RIA. Na técnica IRMA é o anticorpo secundário que é marcado radioativamente e detetado pelo mesmo método. A intensidade da radiação é então diretamente proporcional à quantidade de antigénio presente na amostra [2]. As concentrações das amostras dos pacientes são calculadas a partir de curvas de calibração, elaboradas com padrões de concentrações conhecidas. Estes tipos de técnicas têm sido lentamente substituídos nos últimos anos por tecnologia igualmente sensíveis mas mais automatizadas e mais limpas libertando os técnicos para outras atividades no Serviço. Em hormonologia existem ainda parâmetros para os quais não há alternativa automatizada pelo que as técnicas de radioimunoensaio ainda são vulgarmente utilizadas. As quantificações não realizadas em “batch ou seja congelam-se os soros e realiza-se a técnica quando existe uma série de soros já significativa num menor espaço temporal possível. O facto do marcador radioativo ter uma semi-vida relativamente curta ( $\pm 3$  meses) é um inconveniente, levando a que em parâmetros pouco solicitados existe algum desperdício de

reagente, nestas determinações, estes ensaios são demorados e requerem incubações de algumas horas e técnicos com bastante experiência.

**Tabela 3:** Quantificação de produtos biológicos no setor de imunologia por técnicas manuais.

<b>Produto biológico</b>	<b>Parâmetros</b>
Soro	Aldosterona, Cromogranina A, Cromogranina B, Androstenediona, Factor de Crescimento Insulin- like II, Testosterona Livre, Metanefrinas, Normetanefrinas, Dehidroepiandrostenediona
Urina	Ácido 5- Hidroxil- Indol- Acético, Iodo, Cortisol livre, Metanefrinas e Ácido Vanilmandélico,

## 5. MARCADORES TUMORAIS

Uma neoplasia consiste num processo proliferativo de etiologia desconhecida que escapa ao controlo e regulação biológica. O processo é desencadeado por uma alteração no DNA celular que ocorre por diferentes motivos. Podem ser causas diretas, como mutações por radiações ou agentes químicos, ou indiretas como consequência da expressão de alguns oncogenes de origem celular <sup>[4,5]</sup>. O processo, independentemente da causa que o inicia, conduz ao aparecimento de células que reúnem características muito particulares: a) tornam-se “imortais”; b) adquirem a capacidade de se reproduzir de forma autónoma e independente das células vizinhas; c) sobrevivem separadas das outras células do organismo, podendo por isso dar origem a metástases à distância por disseminação linfática ou hemática; d) perdem a sua diferenciação e características originais adquirindo por vezes uma diferenciação anómala como o caso do aparecimento de antígenos novos na sua superfície celular <sup>[6]</sup>. É nesta última característica que se tem apostado para detetar precocemente a presença destas células. Contudo, e apesar de todas as alterações funcionais da célula neoplásica, a sua estrutura mantém-se semelhante à das células normais, o que representa um obstáculo na obtenção de marcadores de especificidade elevada para os diferentes tipos de neoplasias.

De um modo geral um marcador tumoral (MT) é uma molécula que pode ser usada como indicador de malignidade <sup>[1]</sup>. Do ponto de vista bioquímico, os marcadores tumorais são

geralmente proteínas ligadas a hidratos de carbono ou a lípidos, que podem comportar-se como antigénios celulares (ex.: CA 125), hormonas (ex.: calcitonina), enzimas (ex.: NSE) ou proteínas séricas (ex. imunoglobulinas). Os marcadores tumorais podem ser substâncias:

➤ **Secretadas pelo tumor**

Constituem a maioria dos marcadores com interesse clínico: proteínas embrionárias – CEA e AFP (antigénios oncofetais) e HCG (proteína placentar); e os marcadores de células maduras – catecolaminas, PTH, ACTH e ácido 5-OH-indolacético (hormonas), enzimas e os antigénios tumorais, que são caracterizados por anticorpos monoclonais (CA 125, CA 15.3, CA 19.9, PSA, CA 72.4, NSE, SCC, TPS,...).

➤ **Presentes no tumor**

Não são excretados para a circulação sendo impossíveis de determinar quer no sangue periférico quer noutros produtos biológicos.

➤ **Produzidas pelo organismo hospedeiro em resposta à presença do tumor**

Estes não são específicos de uma patologia tumoral, no entanto, a sua quantificação permite a avaliação da evolução tumoral: Tiroglobulina,  $\alpha$ 2-microglobulina. Um marcador tumoral ideal deveria ser 1) específico do respetivo tumor, 2) libertado proporcionalmente ao volume do tecido tumoral, 3) detetável num estágio precoce da doença e 4) doseável com fiabilidade. Porém, como essa substância ideal não existe na prática, o valor diagnóstico dum marcador tumoral depende da sua especificidade da sua sensibilidade.

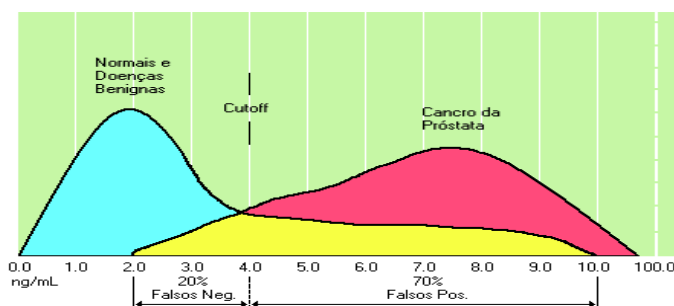
### **Especificidade**

A especificidade refere-se à percentagem de indivíduos saudáveis ou com situações benignas para os quais foram obtidos resultados negativos corretos.

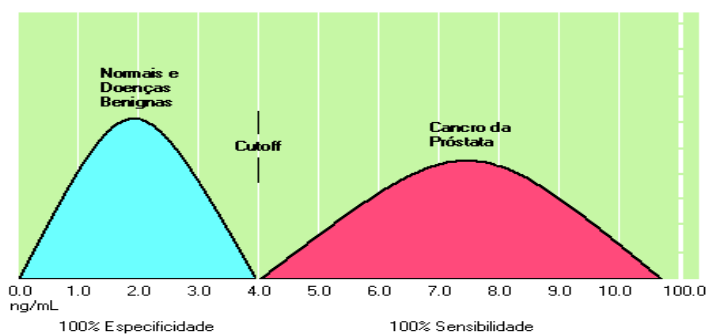
### **Sensibilidade**

A sensibilidade refere-se à percentagem de doentes nos quais o resultado é corretamente positivo na presença de tumor. Assim, o marcador será tanto mais específico quanto mais baixa for a probabilidade de fornecer resultados falsos positivos, e tanto mais sensível, quanto maior for a probabilidade de fornecer resultados positivos nos casos confirmados de tumor.

O «cut-off» de cada marcador é o limite superior da concentração do mesmo no plasma de pessoas saudáveis ou com doenças benignas (Figura 9). Se for estabelecido um valor de «cut-off» elevado, então a sensibilidade é baixa e a especificidade é alta (aumentam os falsos negativos). Se for definido um baixo valor de «cut-off», consegue-se uma elevada sensibilidade, no entanto, a especificidade é baixa (aumentam os falsos positivos).



**Figura 9:** Ilustração da curva de um marcador tumoral (PSA) relativo ao «cut-off». Determinação do PSA usando reagentes atualmente.



**Figura 10:** Ilustração da curva de um marcador tumoral (PSA) relativo a especificidade e sensibilidade. Determinação do PSA usando um reagente «ideal».

O facto de não haver sobreposição das curvas com o reagente «ideal», permitiria 100% de especificidade e de sensibilidade (Figura 10). As intersecções das duas curvas, acarreta a possibilidade de se obterem resultados positivos ou negativos falsos (Figura 9).

Quando a sensibilidade aumenta para um determinado valor de *cut-off* a especificidade diminui. De uma maneira geral, a especificidade e a sensibilidade dos marcadores tumorais é baixa o que limita a sua aplicação na clínica. Na prática os marcadores tumorais não são usados no diagnóstico de tumores localizados mas são largamente utilizados na avaliação da extensão e evolução do tumor, deteção de recidivas ou aparecimento de metástases antes e sobretudo após a instituição e monitorização da terapêutica médica ou cirúrgica.

A determinação simultânea de mais de um marcador aumenta a certeza no resultado, visto que as mutações, metastização e medidas terapêuticas podem originar uma variação no marcador.

Só a observação cinética do marcador tumoral, isto é, das alterações da concentração de um marcador em determinados intervalos de tempo é que possui um valor informativo mais seguro e não um único valor isolado de marcador tumoral [3]. Dependendo das características, um segundo aumento na concentração do marcador a seguir à normalização resultante de cirurgia é fortemente indicativa de recidiva ou mesmo metástase.

Um decréscimo após o início da quimioterapia é uma evidência na eficácia terapêutica. Assim, geralmente as alterações na concentração de marcadores tumorais estão relacionadas com alterações na condição clínica dos pacientes, embora durante os primeiros dias de radioterapia ou quimioterapia ou outra manipulação do tumor, possa ocorrer um aumento transitório dos níveis dos marcadores como consequência da lise tumoral.

Assim sendo, o doseamento de marcadores e a sua correta interpretação pode beneficiar os pacientes permitindo avaliar a eficiência da terapêutica, monitorizar o decurso da bioquímica, possibilitar a identificação de proliferação de metástases ou recorrência da doença meses antes de se manifestar clinicamente. Alterações continuadas dos marcadores tumorais sugerem um alerta para futuras investigações imagiológicas da doença.

Estes ensaios permitem também a identificação de tumores residuais ou a presença de múltiplos tumores, demonstrado pelo incompleto decréscimo dos níveis séricos dos marcadores, após a terapêutica.

Os setores de Imunologia e Hormonologia do SPC realizam uma vasta gama destes marcadores tumorais. O doseamento destes marcadores desde o primeiro dia em que o doente se apresenta no IPOC até que é instituída a terapêutica (cirurgia, quimioterapia ou radioterapia), e durante a monitorização desempenha um importante papel na compreensão do comportamento tumoral próprio de cada doente oncológico/ tipo de tumor. Nos pontos que se seguem é feita uma breve descrição dos parâmetros.

### 5.1. Glicoproteínas

As glicoproteínas funcionam como antigénios (possuem os determinantes antigénicos na cadeia polipeptídica), não sendo contudo tumores específicos, podem derivar de tecidos

placentários ( $\alpha$ -hCG) ou de tecidos fetais (CEA, AF), ocorrendo em pequenas quantidades nos tecidos adultos.

#### 5.1.1. Antígeno Carcinoembrionário – CEA

O CEA é uma glicoproteína presente na superfície do glicocálix das células que revestem o trato gastrointestinal durante o primeiro e o segundo trimestre de vida fetal. A sua produção é interrompida antes do nascimento podendo iniciar-se mais tarde no caso de ocorrer desenvolvimento neoplásico. Inicialmente estava associado apenas ao carcinoma do colón mas tem vindo a ser relacionado com inúmeros carcinomas (estômago, pâncreas, pulmão, mama, ovário e mesmo tiróide o que lhe confere pouca especificidade. Pode também aparecer elevado em colites ulcerosas, doenças hepáticas ou outras patologias não oncológicas <sup>[6]</sup>. Apesar disso, é importante quando associado a outros marcadores tumorais podendo auxiliar no diagnóstico, resposta terapêutica e prognóstico dos diferentes tumores. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI.

#### 5.1.2. Alfafetoproteína

A AFP é uma glicoproteína oncofetal sintetizada pela membrana do saco vitelino e hepatócitos e, em menor grau, pelos rins e trato gastrointestinal fetais. Após o nascimento a alfafetoproteína baixa e permanece baixa nas crianças e adultos saudáveis. Os seus níveis aumentam em carcinomas hepatocelulares, em tumores de células germinativas e saco embrionário. Podem também surgir ligeiramente elevada em caso de cirrose e hepatite e transitoriamente aumentada na gravidez <sup>[6]</sup>. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI.

#### 5.1.3. Gonadotrofina Coriônica Humana

A HCG é uma glicoproteína, sintetizada e libertada pelas células do trofoblasto da placenta. É uma hormona composta por duas cadeias, uma beta (exclusiva) e uma alfa (semelhante à LH, FSH e TSH), ligadas de forma não covalente. É a cadeia beta que tem atividade biológica e por isso interesse na sua determinação. Esta hormona encontra-se em quantidades elevadas em pacientes portadores de tumores trofoblásticos e das células germinativas. Ocorre ainda algum aumento em tumores da mama, pulmão, ovário e sistema gastrointestinal. Também em situações não neoplásicas como gravidez, úlceras duodenais, cirroses ou mesmo doença inflamatória do intestino podem surgir valores elevados. De salientar que o doseamento da

hCG em tumores seminomatosos do testículo é uma ferramenta importante no seguimento e prognóstico, uma vez que nenhum outro marcador tumoral se encontra elevado nestes pacientes [6,11]. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI.

#### 5.1.4. Antígeno Específico da Próstata

O PSA é uma glicoproteína monomérica produzida pelas células prostáticas, alveolares e do epitélio ductal. Apresenta atividade proteolítica mas não atividade fosfatase, sendo por isso distinta da PAP (fosfatase ácida prostática). Está presente tanto em tecido prostático normal como patológico. Apesar disso é um marcador específico e exclusivo da próstata, pois não é produzido por mais nenhum tecido [11,16]. O PSA, em doseamento isolado e por si só, não faz diagnóstico de carcinoma da próstata, mas alerta para a necessidade de serem realizados mais exames. É no *follow-up* do doente após tratamento que o PSA se torna uma valiosa ferramenta. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI e no Immulite 2000. É também doseado no Kryptor, pelo método “*Trace Technology*”, em amostras de soro, como confirmatório.

#### 5.1.5. Antígeno Específico da Próstata livre

O antígeno específico da próstata livre é a forma livre do PSA, uma vez que pode circular na sua forma complexada ou livre. A percentagem de PSA livre varia em função da patologia prostática mas surge em menor quantidade em pacientes com carcinoma da próstata. Este facto permite auxiliar na distinção entre hiperplasia benigna da próstata (HBP) e carcinoma da próstata. O seu doseamento pode permitir a redução do número de biópsias realizadas principalmente em valores de PSA total no intervalo de 4 a 10ng/L [11,16]. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI.

#### 5.1.6. Antígeno do carcinoma de células escamosas

O SCC é uma glicoproteína de superfície celular detetada em epitélios escamosos. Os níveis séricos de SCC encontram-se elevados em doentes com carcinomas de células escamosas do colo do útero, pulmão, cabeça e pescoço. Embora não seja um marcador precoce destes carcinomas é importante no acompanhamento e monitorização da terapêutica. Valores moderadamente elevados podem ser encontrados em pacientes com patologias benignas do foro dermatológico [6,15]. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método “*Trace Technology*”, no Kryptor.

## 5.2. Glicoproteínas do Grupo das Mucinas

### 5.2.1. Antígeno Carbohidrato 15.3 - CA 15.3

O CA15.3 é uma glicoproteína de alto peso molecular associada a células de tumores mamários primários. Por norma os níveis elevados deste antígeno estão correlacionados com o tamanho do tumor e por isso são importantes na avaliação da resposta à terapêutica [4]. Níveis pré operatórios elevados estão associados a mau prognóstico, sendo que os níveis elevados pós operatórios podem indicar recidiva ou metastização tumoral. Níveis elevados podem também ser encontrados em carcinomas do ovário, cólon rectal, fígado e pulmão, e em situações não oncológicas como cirrose hepática, hepatite crónica, sarcoidose ou Lúpus Eritematoso Sistémico. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método “*Trace Technology*”, no Kryptor.

### 5.2.2. Antígeno carbohidrato 19.9 - CA19.9

O CA 19.9 é uma mucina e pertence ao grupo dos antígenos carbohidratos produzidos pelo tumor. É libertado pelas células do pâncreas, vias biliares, do epitélio gástrico, cólico, endometrial e salivar. Em pacientes normais, os seus níveis são reduzidos sendo um parâmetro importante no diagnóstico, acompanhamento e controlo terapêutico de tumores do pâncreas, fígado, estômago, cólon e trato biliar. Com igual utilidade no seguimento de carcinomas do ovário. Em menor frequência surge elevado em tumores da mama, pulmão, cabeça e pescoço [6,12]. Algumas situações não oncológicas também registam, por vezes, aumentos de CA19.9 como pancreatites e algumas patologias hepáticas. A sua presença em níveis elevados, após tratamento, pode indicar uma recidiva ou metastização do tumor. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no Cobas e 6000.

### 5.2.3. Antígeno Carbohidrato 125 - CA 125

O CA 125 é uma glicoproteína produzida por uma variedade de células principalmente por células tumorais do ovário. Pode também surgir em carcinomas do endométrio ou até mesmo em carcinomas do pulmão, cólon ou mama. Situações não oncológicas também podem cursar com valores significativos de CA125 como endometriose, quistos ováricos, cirroses, pancreatites, hepatites ou mesmo durante a gravidez. O CA125 útil na avaliação da eficácia do tratamento e monitorização pós tratamento de pacientes com cancro do ovário



seroso e não diferenciado [6,12]. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no Cobas e 6000.

#### 5.2.4. Antigénio Carbohidrato 72.4 – CA 72.4

O CA 72.4 é também denominado TAG 72. É um antigénio tipo mucina associado ao tumor. Surge elevado em carcinomas do cólon, estômago e tumores de células não pequenas do pulmão. Atualmente o CA72-4 é um marcador útil na monitorização da eficácia da terapêutica em pacientes com carcinoma gástrico, devido à sua especificidade para este tipo de tumor. É valioso na discriminação entre tumor maligno e doenças benignas gastrointestinais [6]. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no Cobas e 6000.

### 5.3. Enzimas

#### 5.3.1. Enolase Neuro – Específica

A NSE é uma das cinco isoenzimas da enolase da via glicolítica que se encontra nas células neuroendócrinas e no tecido neuronal. É um instrumento valioso para o diagnóstico de carcinoma de pequenas células do pulmão, neuroblastomas, feocromocitoma e também em casos de melanoma, carcinoma medular da tiroide e tumores endócrinos do pâncreas [10,15]. Os níveis de NSE correlacionam-se com o estadio da doença, possui interesse prognóstico no carcinoma de pequenas células do pulmão (SCLC) e permite diferenciar este tipo de tumor de outros tipos histológicos de cancro do pulmão. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método “Trace Technology”, no Kryptor.

## 6. OUTROS MARCADORES TUMORAIS

### 6.1. Cromogranina A

A CGA aumenta em tumores neuroendócrinos como os feocromocitomas, em carcinomas medulares da tiroide, no carcinoma de pequenas células do pulmão, no adenoma hipofisário e carcinoma dos ilhéus pancreáticos [6]. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método “Trace Technology”, no Kryptor.

### 6.2. Cromogranina B

À semelhança da CGA a CGB é uma proteína (gramina) presente nos grânulos cromafins das células neuroendócrinas. O seu doseamento vem colmatar as limitações da CGA em que

células neuroendócrinas não produtoras de cromogranina A eram consideradas negativas. As células negativas para CGA podem ser positivas para CGB e estarem presentes em tumores neuroendócrinos, como feocromocitomas. O seu doseamento é feito em amostras de soro, por técnica manual pelo método RIA com Iodo125.

### 6.3. Citoqueratina - Cyfra 21.1

A Cyfra 21.1 é um antigénio formado por um fragmento de citoqueratina 19 que pode ser encontrado no soro. As citoqueratinas são elementos antigénicos que permitem distinguir tecidos patológicos. O CYFRA 21.1 tem alta sensibilidade para carcinomas de células escamosas. É expresso nos carcinomas de células não pequenas do pulmão (NSCLC) e em tumores da bexiga <sup>[14,15]</sup>.

É um fator de prognóstico e evolução da doença em ambos os tipos de tumor para além de poder fazer diagnóstico diferencial entre NSCLC e carcinoma de células pequenas do pulmão (SCLC). O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no Cobas e 6000.

### 6.4. S100

O S100 é uma proteína ácida intracelular pertencente à família das proteínas fixadoras do cálcio. É sintetizado principalmente no SNC e é um útil marcador em melanomas malignos (aumento da síntese) e nos casos em que há danos cerebrais com rompimento da barreira hemato-encefálica <sup>[6]</sup>. Pode estar ainda aumentado em patologias não neoplásicas principalmente associadas a insuficiências renais, mas também em hepatopatias, patologias do sistema nervoso e em patologias cutâneas, que não o melanoma maligno. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência (CMIA), no Liaison.

## 7. HORMONOLOGIA

O hipotálamo e a hipófise formam uma unidade que controla a função de várias glândulas endócrinas (tiróide, supra-renais e gónadas), bem como uma ampla variedade de atividades fisiológicas. As ações e interações dos sistemas endócrino e nervoso, pelas quais o sistema nervoso regula o sistema endócrino e a atividade endócrina modelam a ação do sistema nervoso central, constituem os principais mecanismos reguladores em praticamente todas as atividades fisiológicas <sup>[5]</sup>. Existe todo um sistema de retro controlo, positivo e negativo, que permite manter uma “harmonia” fisiológica no organismo e que, em caso de descontrolo, pode conduzir a variadas patologias. De um modo, geral o hipotálamo produz hormonas que

vão atuar na hipófise estimulando ou inibindo a produção das respetivas hormona hipofisárias, que, por sua vez, atuam ao nível das restantes glândulas endócrinas.

## 7.1. Hormonas Produzidas pelas Glândulas Suprarrenais

### 7.1.1. Cortisol

O cortisol é uma hormona glucocorticóide produzida e secretada pelo córtex da glândula supra-renal, com regulação por mecanismo de *feedback* negativo ao nível do eixo hipotálamo hipófise suprarrenal. Isto significa que baixas concentrações de cortisol sérico induzem o hipotálamo a libertar a hormona libertadora da corticotropina (CRH) que por sua vez induz a hipófise a libertar a hormona adrenocorticotrófica (ACTH). A ACTH vai estimular a síntese e secreção de cortisol pela glândula suprarrenal. É uma hormona que apresenta ritmo circadiano, com um pico matinal e que regula o metabolismo dos carboidratos, lípidos e proteínas. Participa na manutenção da pressão sanguínea e inibe reações alérgicas e inflamatórias [5]. O seu doseamento é efetuado para diagnóstico de disfunções da glândula suprarrenal, da hipófise e do hipotálamo. Existem casos de sobreprodução (Síndrome de Cushing) e casos de subprodução (Doença de Addison), sendo o cortisol um parâmetro útil na monitorização das terapêuticas aplicadas a estes casos. Na urina de 24 horas, o doseamento de cortisol livre é usado como *screening* no Síndrome de Cushing. O doseamento do cortisol é feito em amostras de soro, por método de eletroquimioluminescência no Cobas 6000, o doseamento do cortisol livre urinário é feito em amostra de urina de 24 horas, após tratamento de extração com diclorometano, pelo método de electroquimioluminescência, no Cobas 6000.

### 7.1.2. Deidroepiandrosterona e Sulfato de Deidroepiandrosterona

A DHEA e o DHEA são hormonas esteróides precursoras da testosterona e do estrogénio. São secretadas pelo córtex adrenal e em menor quantidade pelas gónadas, aparecendo na circulação quantidades maiores de DHEA-S do que de DHEA isto deve-se ao facto do DHEA-S ter um “*turnover*” mais lento. Para além disso, não circula ligado a globulinas de transporte e não sofre alterações diurnas dependentes do ACTH, o que faz dele um excelente indicador direito da produção andrógena adrenal [5]. O seu doseamento é importante no estudo de crescimento anormal de pêlos (hirsutismo), na alopecia nas mulheres, na avaliação adrenaica e puberdade precoce. O doseamento do DHEA-S é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI. O doseamento da DHEA é feito em amostras de soro, por técnica manual de RIA com I<sup>125</sup>.

### 7.1.3. $\Delta$ - 4-Androstenediona

□- 4-Androstenediona é uma hormona esteroide que funciona como o mais importante precursor da testosterona e da estrona, que podem ser depois convertidos em estradiol. É produzida tanto nas glândulas supra-renais como nas gónadas, e os seus níveis têm uma variação diurna dependente de ACTH e cíclica dependente da fase do período menstrual. Valores elevados surgem em condições de virilização associados a hiperplasia adrenal, síndrome do ovário poliquístico e outros em que também existe hirsutismo. O seu doseamento é feito em amostras de soro, por técnica manual de RIA com I<sup>125</sup>.

### 7.1.4. Renina e Aldosterona

A renina é uma enzima proteolítica produzida pelas células justaglomerulares do rim, que promove a conversão da angiotensina em angiotensina <sup>[1]</sup>. Esta, por sua vez e por ação da enzima de conversão da angiotensina (ECA), é convertida em angiotensina II que estimula diretamente a produção de aldosterona pelas glândulas adrenais. Volumes plasmáticos e concentrações de sódio baixas ativam este sistema, com estimulação da produção de renina e consequente libertação de aldosterona. A aldosterona aumenta o volume plasmático e promove a retenção renal do sódio.

São de extrema importância no diagnóstico e monitorização da hipertensão secundária a um hiperaldosteronismo primário e monitorização da função das glândulas adrenais. Os níveis destes parâmetros podem ser correlacionados com os níveis de sódio no soro <sup>[5]</sup>. São efetuados doseamentos em ortostatismo e em decúbito, de modo a perceber o comportamento do sistema renina- angiotensina-aldosterona quando se verificam variações na pressão sanguínea. O doseamento da renina é feito em amostras de plasma de EDTA, colhidas e mantidas à temperatura ambiente, pelo método de quimioluminescência com microparticulas (CMIA), no Liaison. A aldosterona é doseada no soro, por técnica manual, pelo método de RIA com I<sup>125</sup>.

## 7.2. Medula Suprarrenal - Catecolaminas

Os elementos mais importantes deste grupo são a epinefrina (adrenalina), a norepinefrina (noradrenalina) e a dopamina. Regulam a atividade fisiológica ao nível do sistema nervoso central e periférico, ocorrendo a sua produção ao nível das glândulas supra-renais e no interior dos terminais nervosos. Um aumento de adrenalina ou noradrenalina está por norma associado a situações de stress, défice hormonal ao nível da tiróide e arritmias.

### 7.2.1. Ácido Vanilmandélico

É um dos produtos do metabolismo das catecolaminas, estando a excreção urinária associada a situações como feocromocitoma, neuroblastoma e melanoblastoma. O seu doseamento efetua-se em urina de 24 horas, por técnica cromatográfica com coluna de troca iónica.

### 7.2.2. Metanefrinas e Normetanefrinas

As Metanefrinas e as Normetanefrinas São produtos do metabolismo das catecolaminas, as metanefrinas da adrenalina e as normetanefrinas da noradrenalina, sendo ambas posteriormente convertidas em ácido vanilmandélico. Um aumento da excreção destes metabolitos ocorre em caso de feocromocitomas, ganglioneuromas e outros tumores neurogénicos, de doenças metastisadas, choque hemorrágico e stress. O doseamento na urina de 24 horas permite obter uma maior representatividade. As metanefrinas e as normetanefrinas são doseadas em amostras de plasma EDTA refrigerado, por técnica manual, por método de RIA com  $I^{125}$ . As metanefrinas urinárias são doseadas em urina de 24 horas, por técnica manual, por método de RIA com  $I^{125}$ .

## 7.3. Tiróide

A Tiróide é uma glândula endócrina localizada no pescoço por baixo da cartilagem cricóide, tendo por principal função a produção de hormonas tiroideias nas células foliculares a partir de aminoácidos de tirosina. Esta síntese baseia-se na ionidação deste aminoácido da tiroperoxidase (TPO) [5].

### 7.3.1. Tiroglobulina

A Tiroglobulina é uma iodoproteína produzida nas células foliculares da tiróide a sua síntese é regulada pela hormona estimuladora da tiróide (TSH). Trata - se de um precursor da tiroxina (T<sub>4</sub>) e das restantes iodotironinas (T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub> e T<sub>3</sub>) [5]. Qualquer alteração no funcionamento deste tecido ou qualquer doença a ele associada faz aumentar os níveis de tiroglobulina, reduzindo-lhe a especificidade. A sua mais valia é na avaliação pós-cirúrgica de remoção da tiróide ou na pós-abloção por radioisótopos. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI.

### 7.3.2. Hormona Estimuladora da Tiróide

A TSH É uma hormona pituitária que exerce a sua ação sobre a glândula da tiroide sendo primordial na manutenção dos níveis séricos das hormonas tiroideias. A TSH sofre um retrocontrolo negativo por parte da  $T_3$  e da  $T_4$ , um retrocontrolo positivo por parte da TRH. Apresenta um ciclo circadiano <sup>[5]</sup>. O doseamento da TSH tem sido utilizado como um teste primário no diagnóstico do hipo e hipertiroidismos ajuda na monitorização da terapêutica de substituição. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI.

### 7.3.3. Triiodotironina

A  $T_3$  é, em parte, sintetizada e secretada pela tiróide mas, na sua maioria, é originada pela desiodinização periférica da  $T_4$ . Circula e praticamente toda ligada a proteínas de transporte (TGB, albumina e pré - albumina) e por isso inativa <sup>[7]</sup>. A fração metabolicamente ativa é a  $T_3$  livre mas concentrações elevadas de  $T_3$  ligada estão associadas a hipertiroidismo. Sem utilidade diagnóstica no estudo do doente hipotiroideo. Nas disfunções primárias da tiróide ou nas disfunções do eixo hipotálamo – hipófise os valores de  $T_3$  também podem surgir alterados. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI.

### 7.3. 4. Tiroxina

A  $T_4$  é a principal hormona sintetizada e secretada pela tiroide como resposta à TSH existindo praticamente toda na forma ligada a proteínas de transporte e por isso inativa <sup>[8]</sup>. A fração metabolicamente ativa é a  $T_4$  livre, estando concentrações elevadas de  $T_4$  associadas a hipertiroidismo. Nas disfunções primárias da tiróide ou nas disfunções do eixo hipotálamo – hipófise os valores do  $T_4$  também podem surgir alterados. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no Cobas e 6000.

### 7.3.5. $T_3$ e $T_4$ Livre

O doseamento da FT3 e FT4 está relacionado com a secreção e metabolismo do  $T_3$  e  $T_4$ , tornando-se importante quando se verificam alterações na ligação destas iodotironinas às proteínas de transporte. Gravidez e terapêutica com anticoncepcionais podem fazer aumentar a razão entre  $T_3/T_4$  total. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no Cobas 6000.

### 7.3.6. Anticorpos Antiperoxidase e Anticorpos Anti-tiroglobulina

Os ATA são autoanticorpos direcionados contra a enzima tiroperoxidase. Esta enzima cataliza a iodinação dos radicais tirosilo dos aminoácidos tirosina da tiroglobulina durante a biossíntese das iodotironinas. Os ATG são autoanticorpos direcionados contra a pró-hormona tiroglobulina que desempenha um papel importante na biossíntese das hormonas da tiróide [5]. Várias doenças autoimunes da tiróide cursam com um aumento destes anticorpos como sejam a Tiroidite de Hashimoto, a maioria dos casos de Doença de Graves Basedow, o mixedema primário e a tiroidite autoimune assintomática. O doseamento de ambos os anticorpos é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI.

### 7.3.7. Anticorpos Anti – receptores da TSH - Trab's

Os Anticorpos Anti – receptores da TSH são anticorpos dirigidos contra os recetores da hormona estimuladora da tiroide, evitando que ela se ligue e exerça a sua função. São a causa de hipertiroidismo na Doença de Graves Basedow (hipertiroidismo autoimune), sendo utilizados para estabelecer o diagnóstico nesta doença. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no Cobas e 6000.

### 7.3.8. Iodo Urinário

O Iodo é o oligoelemento essencial para o funcionamento da tiróide e para a síntese hormonal que nela ocorre. O doseamento do iodo urinário é essencial nos doentes em tratamento com radioisótopo  $I^{131}$ . O seu doseamento é feito em amostras de urina fresca (de preferência a primeira da manhã), por método quantitativo baseado na reação de Sandell-Kolthoff.

### 7.3.9. Calcitonina

A CAL é uma hormona polipeptídica produzida pelas células C ou parafoliculares da tiróide. A sua secreção é estimulada pelo aumento do cálcio e a sua função fisiológica é antagonista da ação da hormona paratiroideia. A calcitonina inibe a destruição óssea sendo uma hormona “conservadora do cálcio”. Está presente em níveis elevados em doenças não malignas do pulmão, pancreatite, hiperparatiroidismo, insuficiência renal, doença inflamatória e gravidez [5]. Como marcador tumoral surge aumentada em leucemias ou doenças mieloproliferativas mas a sua principal utilidade consiste no seguimento dos pacientes com carcinoma medular da tiróide onde os níveis de calcitonina parecem correlacionar-se com a

extensão da doença. Assume especial importância no diagnóstico precoce de carcinoma medular da tireóide familiar, funcionando como marcador de *screening* em membros assintomáticos. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI.

#### 7.4. Paratiróide

##### 7.4.1. Paratormona

A PTH É um polipeptídeo produzido em grânulos secretores da glândula paratiroideia e cuja função é manter a concentração de cálcio em níveis ótimos. A sua ação quando os níveis de cálcio se encontram baixos, é exercida diretamente ao nível do osso e dos rins: no osso mobiliza as reservas; nos rins evita a excreção do cálcio e estimula o metabolismo da vitamina D, com o aumento indireto da absorção de cálcio a nível intestinal <sup>[5]</sup>. É por tudo isto um importante parâmetro para avaliação do metabolismo do cálcio. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI e pelo método eletroquimioluminescência no Cobas 6000.

#### 7.5. Hipófise

##### 7.5. I. Hormona adrenocorticotrópica

A ACTH é uma hormona produzida pelas células corticotrópicas da região anterior da hipófise (pituitária) e que atua no córtex adrenal com vista à produção de esteróides. A sua excreção é estimulada pela hormona libertadora da corticotropina (CRH), uma hormona hipotalâmica, e por retro controlo negativo pela hidrocortisona/cortisol. É útil no diagnóstico diferencial da insuficiência adrenal e hipersecreção de hidrocortisona no Síndrome de Cushing. Na insuficiência adrenal, a ACTH está aumentada na Doença de Addison e diminuída na insuficiência adrenal secundária à deficiência da pituitária. Na hipersecreção de cortisol está aumentada em situações de produção ectópica ou excesso de produção pela pituitária e diminuídas em casos de lesão ou hiperplasia do córtex adrenal. Uma produção hipofisária aumentada origina elevados níveis séricos desta hormona. <sup>[5]</sup> Os casos de produção ectópica surgem em carcinomas do pulmão, pâncreas, mama, estômago e cólon e em condições benignas como obesidade, stress, depressão, diabetes mellitus e hipertensão. O seu doseamento é feito em amostras de plasma, colhidas a frio, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI.



### 7.5.2. Prolactina

A PRL é uma hormona polipeptídica sintetizada pela pituitária anterior. Os seus níveis são regulados pelas hormonas hipotalâmicas PRF ou PIF, que estimulam ou inibem a sua produção, respetivamente. Uma “prolactina” de alto peso molecular mas sem atividade fisiológica pode também ser sintetizada por micro ou macroadenomas. Desempenha um importante papel na produção de leite pelas glândulas mamárias e tem a capacidade de suprimir a função gonadal <sup>[5]</sup>. Varia com o ritmo circadiano e com o stress e é importante na investigação da amenorreia, galactorreia ou irregularidades menstruais nas mulheres e oligospermia, impotência, ou ambas nos homens. Pode também ser um sinal de desordens hipotalâmicas ou hipofisárias. Clinicamente a hipoprolactinémia não é relevante, pode apenas indicar uma lesão hipofisária. Deve ter-se em atenção o uso de contraceptivos orais, terapias com estrogénios ou a toma de substâncias que possam estimular a PRF ou inibir a PIF quando se interpretam os valores de prolactina. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI.

### 7.5.3. Hormona de Crescimento ou Somatotropina

A GH ou somatotropina, é um polipeptídeo sintetizado na pituitária anterior. Exerce uma ação anabólica, promovendo a conservação proteica, o transporte de glicose e o armazenamento de glicogénio. Tem um ritmo circadiano, com variações significativas após exercício, alimentação ou sono: por este motivo deve ter-se em atenção a altura da colheita. É útil no diagnóstico de várias formas de secreção inapropriada: uma secreção deficiente provoca nanismo e crescimento potencial não obtido, estando a sobreprodução relacionada com acromegália e gigantismo <sup>[5]</sup>. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI.

### 7.5.4. Fatores de Crescimento semelhantes à Insulina I e II

O IGF-I é uma cadeia polipeptídica similar ao IGF-II e à insulina. A sua síntese é estimulada pela hormona de crescimento e pela nutrição e o seu doseamento é útil para o diagnóstico das anomalias do crescimento, pois são um bom indicador da secreção de GH. Estados de nutrição alterados também revelam valores alterados de IGF-I. Apenas de referir que circulam ligadas à proteína 3 de ligação do IGF (IGF-BP3) <sup>[5]</sup>. O doseamento da IGF-I é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000. O doseamento de IGF-II é feito em amostras de soro, por técnica manual, pelo método de RIA com I<sup>125</sup>.

#### 7.5.5. Proteína de Ligação 3 IGF-I - IGF-BP3

A Proteína de Ligação 3 IGF-I - IGF-BP3 pertence a uma vasta família de proteínas de transporte que se ligam quer ao IGF-I quer ao IGF-II. A sua função é aumentar a semi-vida daqueles compostos e a sua existência depende da GH, sendo importante na avaliação de alterações do crescimento [6]. O doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000.

#### 7.5.6. Hormona Estimulante do Folículo

A FSH é uma glicoproteína sintetizada pelas células da pituitária anterior sob o controlo da hormona libertadora das gonadotropinas (GnRH), produzida no hipotálamo [2]. Uma vez libertada a FSH vai atuar nas gónadas, que sintetizam estrogénios. Na mulher, estimula o crescimento e amadurecimento do folículo no ovário e a síntese de progesterona e estradiol que controlam a FSH por “*feedback*” negativo no hipotálamo. Assim se justificam os elevados níveis de FSH na menopausa. No homem é responsável pela estimulação e manutenção da espermatogénese e consequentemente pelos níveis de testosterona e estradiol circulantes, que também exercem um “*feedback*” negativo no hipotálamo. Nos homens elevados valores de FSH estão associados ao hipogonadismo que pode ser devido a uma deficiência testicular primária, por disfunção na maturação ou danos das células germinativas. É a ausência de “*feedback*” negativo que provoca elevadas concentrações de FSH. É, por isso útil na monitorização de tratamentos da hipófise e distúrbios das gónadas. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI.

#### 7.5.7. Hormona Luteinizante

A LH é uma glicoproteína sintetizada pelas células da pituitária anterior sob o controlo da hormona estimuladora das gonadotropinas (GnRH), produzida pelo hipotálamo. Trata-se de uma hormona de ritmo circadiano que na mulher induz a ovulação e a produção de androgénios e progesterona e nos homens estimula as células de Leydig a produzir androgénios. Os esteroides controlam os níveis de LH por um “*feedback*” negativo ao nível do hipotálamo. Por este motivo o doseamento da LH é uma peça importante para avaliar o sistema hipotálamo-hipófise-gónadas [2]. Permite, por exemplo, distinguir uma deficiência gonadal primária de uma deficiência na estimulação gonadal (níveis □ de FSH e LH - deficiência gonadal primária; níveis □ de FSH e LH - hipogonadismo por estimulação gonadal deficiente). É também usada para controlo de terapêuticas em caso de infertilidade ou em disfunções da pituitária, uma vez que é uma das primeiras hormonas a ser afetada em

caso de disfunção. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite IMM 2000.

## 7.6. Gónadas

### 7.6.1. Estradiol

O E2 é uma hormona esteróide, incluída no grupo dos estrogénios, que circula no sangue ligada a proteínas séricas. É sintetizado, a partir do colesterol e controlada por estimulação da FSH e LH nos testículos, folículo do ovário, glândulas supra-renais e placenta, varia durante o ciclo menstrual <sup>[2]</sup>. O seu doseamento é importante em casos de amenorreia nas mulheres e ginecomastia nos homens. Permite a monitorização do desenvolvimento folicular em protocolos de fertilização. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000.

### 7.6.2. Progesterona

A PRG é uma hormona esteróide muito importante na preparação e manutenção da gravidez. É sintetizada a partir do colesterol principalmente no ovário e na placenta, mas também no córtex adrenal <sup>[2]</sup>. O seu doseamento é útil para verificar a eficiência da indução da ovulação, monitorização da terapêutica de reposição da PRG, detetar risco precoce de aborto e para vigiar alterações do ciclo menstrual. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000.

### 7.6.3. 17-OH – Progesterona

A 17-OH – Progesterona é uma hormona esteróide, precursora do cortisol produzida pelas glândulas adrenais, ovários, testículos e placenta. Tem um ritmo circadiano e está aumentada na fase lútea na mulher <sup>[2]</sup>. É uma ferramenta importante em casos de infertilidade e hiperplasia adrenal congénita. O seu doseamento é feito em amostras de soro, por técnica manual, pelo método de RIA com I<sup>125</sup>.

### 7.6.4. Testosterona total

A TES é uma hormona esteroide sintetizada pelas células intersticiais de Leydig nos homens e pelos ovários e glândulas adrenais nas mulheres. A sua síntese é controlada pela LH e pela hormona estimuladora das células intersticiais (ICSH) e pode circular na forma livre ou ligada a proteínas (globulina de transporte das hormonas sexuais - SHBG). É responsável pelo desenvolvimento das características sexuais secundárias masculinas <sup>[2]</sup>. Níveis elevados na

mulher podem significar tumores do ovário ou hiperplasias das glândulas adrenais. Níveis baixos nos homens estão associados a situações de hipogonadismo ou cirrose hepática. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI.

#### 7.6.5. Testosterona Livre

A Testosterona é a forma livre da hormona esteroide estosterona sintetizada pelas células intersticiais de Leydig nos homens e pelos ovários e glândulas adrenais nas mulheres. Os seus níveis séricos estão intimamente ligados aos níveis séricos da proteína de transporte SHBG e aos níveis de estrogénios e androgénios circulantes. Um aumento de SHBG leva a uma diminuição dos níveis de Testosterona, como ocorre na gravidez. O seu doseamento é feito em amostras de soro, por técnica manual, pelo método de RIA com I<sup>125</sup>.

#### 7.6.6. Globulina de Transporte das Hormonas Sexuais

A SHBG é uma glicoproteína sintetizada no fígado com elevada afinidade para a testosterona e relativa afinidade para o estradiol. Por norma circula em maiores concentrações na mulher devido à maior proporção de estrogénio em reações aos androgénios na mulher [2]. O seu doseamento é útil em situações androgénicas anormais como o hirsutismo. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI.

### 7.7. Pâncreas Endócrino

#### 7.7.1. Insulina

A Insulina é uma hormona produzida pelas células endócrinas do pâncreas nos ilhéus de Langerhans. A sua função é baixar a glicemia promovendo a entrada de glicose para as células. Para além disso é essencial no consumo de carboidratos, na síntese proteica e no armazenamento de lípidos. A sua atividade está sujeita a um controlo de *feedback* negativo [5,10]. A produção deficiente e/ou resistência à insulina traduzem-se em diabetes mellitus, com acumulação de glicose no sangue e urina. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no Cobas 6000.

#### 7.7.2. Peptídeo C

O Peptídeo C é o fragmento libertado quando da clivagem do pró-insulina em insulina. Como é libertado em concentrações iguais às da insulina, é útil na determinação das reservas

de insulina endógena. Em casos de insulinoma os níveis de peptídeo C estão elevados e a glicémia baixa <sup>[5]</sup>. Para além destes casos, o seu doseamento também é útil na distinção laboratorial de diabetes mellitus tipo I e tipo II. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no Cobas e 6000.

## **8. OUTROS DOSEAMENTOS**

### **8.1. Eritropoietina**

A EPO é uma hormona glicoproteica cuja função é regular a eritropoiese, estimulando a proliferação e diferenciação das células precursoras eritróides da medula óssea. É utilizada para o diagnóstico diferencial de policitémias. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000 XPI.

### **8.2. $\beta$ 2 Microglobulina**

A BMG é um polipéptido de baixo peso molecular que faz parte dos antigénios leucocitários humanos e está presente em todas as células nucleadas. É indicado o uso deste marcador tumoral no seguimento de doentes com linfomas de células B, leucemias linfocíticas e mieloma múltiplo <sup>[4]</sup>. No mieloma múltiplo relaciona-se diretamente com a massa tumoral total e, isoladamente, é o mais importante fator na monitorização do tratamento e progressão da doença. Os seus níveis séricos são utilizados para verificar a eficácia dos tratamentos. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no Immulite 2000.

## **9. CONTROLO DE QUALIDADE**

Alcançar qualidade em laboratórios clínicos requer a utilização de várias ferramentas. Estas incluem, manuais de procedimentos, programas de manutenção e calibrações de equipamentos, participação em programas de avaliação da qualidade interno e externo e formação. O Serviço de Patologia Clínica do IPO procura um elevado grau de qualidade, sempre com a preocupação de uma melhoria contínua na sua área de atuação, garantindo um elevado grau de confiança e fiabilidade nos resultados reportados. Assegura a qualidade dos resultados enviados ao médico assistente através da participação em programas de avaliação da qualidade internos e externos, são abrangentes, exigentes e regulares. Estes programas permitem corrigir os mais variados tipos de erros, perceber o bom ou mau funcionamento dos equipamentos e consistem numa valiosa ajuda na escolha de reagentes, metodologias e equipamentos, para cada um dos diferentes parâmetros. Segue - se a

descrição dos programas de avaliação da qualidade em que o setor de imunologia e hormonologia participa bem como a periodicidade com que se realizam:

- Liquichek™ Specialty Immunoassay Controlo, da BioRad: realizado diariamente para ATA, ATG, IPT, EPO, IGF-I;
- Lyphocheck™ Tumor Marker Plus Controlo, da BioRad: realizado diariamente para ACTH, BMG, CAL, CA125, CA19.9, CYFRA21.1, CA72.4, TG;
- Liquichek™ Immunoassay Plus Controlo, da BioRad: realizado diariamente para AF, CEA, ÁCIDO FÓLICO, HCG, FER, PRL, PRG, E2, FSH, LH, DHEA-S, COR, TSH, FT3, FT4, T3, T4, VIT. B12, GH, IGE, PSA, FPSA, TES, INS E CPE;
- Lyphocheck™ Cardiac Marker Plus Controlo: realizado semanalmente para CK-MB, MYO e TROP- I;
- RIQAS: realizado mensalmente para os seguintes parâmetros: AFP, BMG, CA125, CA15.3, CA19.9, CMP, CEA, COR, DHEA-S, DIG, FER, ÁCIDO FÓLICO, FSH, GH, HCG, IGE, INS, LH, E2, 17-OH-PRG, PHN, PRG, PRL, FPSA, PSA, PTH, FT3, FT4, T3, T4, TES, TG, TSH, VAL;
- INSA (Instituto Nacional Saúde Dr. Ricardo Jorge) – Programa de Avaliação Externa da Qualidade (PNAEQ): 3 amostras anuais de Endocrinologia (ALD, COR, DHEA-S, E2, 17-OH-PRG, PRG, T3, T4, TSH, FT3, FT4, TES, FER, FSH, GH, IGF-I, INS, LH, PRL, VIT. B12 E REN).

## **10. CONCLUSÃO**

O estágio curricular no Mestrado em Análises Clínicas é apreendido de maneira diferente por quem já trabalha na área e por quem nunca teve contacto com a rotina laboratorial. No meu caso, a frequência deste mestrado foi uma mais-valia para a minha carreira profissional, porque venho duma realidade completamente diferente da que encontrei. Foi extraordinário acompanhar toda uma rotina laboratorial e aprendi muitas coisas que acredito serão de grande utilidade para a minha vida profissional tanto pela componente prática, como, fundamentalmente, pela componente teórica a que a frequência de um estágio e a elaboração de um relatório obrigam.

No estágio, efetuado neste serviço, o contacto com as diferentes áreas foi muito abrangente. O estágio no Serviço de Patologia Clínica, do Instituto Português de Oncologia de Coimbra, é uma mais-valia, em particular nas duas áreas desenvolvidas, pois são áreas muito pouco exploradas no meu país, por falta de pessoal qualificado e, porque também ainda são pouco acessíveis devido ao investimento financeiro a que obrigam.

O SPC é um laboratório com um fluxo de amostras não muito elevado mas que presta um serviço rápido e eficaz ao clínico e utente. Existe uma importante colaboração entre o laboratório e o clínico e os resultados são enviados atempadamente para que possam ser tomadas as decisões clínicas que deles dependem. É disso exemplo a comunicação imediata de resultados com alterações importantes e a discussão de novas abordagens laboratoriais no diagnóstico e seguimento dos diferentes tipos de carcinomas.

O SPC é um exemplo de boas práticas laboratoriais desde o atendimento do doente, processamento das amostras e ao relatório dos resultados obtidos. O estágio neste serviço, permite o contacto com diversos profissionais de saúde que se articulam num esforço diário para atingir a qualidade do serviço prestado. Uma vez que a qualidade não se prende apenas com os resultados obtidos, é importante este empenho de todos. Por fim, mas não menos importante, resta salientar a “qualidade humana” existente no serviço. Não tenho dúvidas que o entendimento e colaboração dos profissionais neste serviço é um fator essencial para que o trabalho flua com normalidade, responsabilidade e qualidade.



## II. BIBLIOGRAFIA

- 1 - Rosa, Fernando; Cardoso, Elsa M: Fundamentos da Imunologia LIDEL Fevereiro 2007.
- 2 - Duffy M. J., Role of tumor markers in patients with solid cancers: A critical review. *European Journal of Internal Medicine* 2007; 18: 175–184.
- 3 - Almeida, J. R. C; Pedrosa, N. L.; Leite, J. B; Fleming, T. R. P.; Carvalho, V. H.; Cardoso, A.A.A. Tumores: Revisão de Literatura; *Revista Brasileira de Cancerologia* 2007; 53(3): 305-316.
- 4 - Burtis, C. A.; Ashwood, E. R. and D. E. Bruns. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*, 6th edition. W. B. Saunders Company 2004.
- 5 - Molina R., Filella X., Marcadores tumorales. Estado actual y perspectivas de futuro II. Hospital Clinico de Barcelona. Roche Diagnostics S.I.2011.
- 6 - Greenspan, Francis; S; Gardner, David G.; *Endocrinologia Básica e Clínica*, 7ª Edição, MacGrawHill 2004.
- 7 - Fateh-Moghadam, A.; Stieber, P.; *Sensible use of tumour markers*. Editiones Roche, Basel 2003.
- 8 - Afton R. A. Goldsby, T. J. Kindt, B. A. Osborne, Kuby *Immunology*, 4th ed. (W. H. Freeman and Company, 2000), p. 162.
- 9 - Korse C., Taal B., et al., Choice of tumour markers in patients with neuroendocrine tumours is dependent on the histological grade. A marker study of Chromogranin A, Neuron specific enolase, Progastrin-releasing peptide and cytokeratin fragments, *European Journal of Cancer*, 2012; 48: 662 – 671.
- 10 - *Journal of Cancer*, 2012; 48: 662 – 671 Caquet, R., *Guia Prático das Análises Clínicas*, 2ª Edição, Lisboa, Climepsi Editores, 2004.
- 11 - Daniel L., Clarke-Pearson, M.D., Screening for Ovarian Cancer. *The new england journal of medicine*. 2009; 361:170-7.
- 12 - Wei H., Wang E., Electrochemiluminescence of tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium and its applications in bioanalysis: a review; *The Journal of Biological and Chemical Luminescence*; 2011; 26: 77–85.

13 - Patel J.L., Erickson J.A., Performance characteristics of an automated assay for the quantitation of CYFRA 21-I in human sérum. *Clinical Biochemistry*. 2010; 43: 1449–1452.

14 - Holdenrieder S., Pawel J., Nucleosomes, ProGPR, NSE, CYFRA 21-I, and CEA in Monitoring First-Line Chemotherapy of Small Cell Lung Cancer. *Clinical Cancer Research*. 2008; 14:7813-7821.

15 - Kindt T., Osborne B., Goldsby R., Kuby Immunology, 6th edition, W.H. Freeman & Company, 2006; 147, 148.

16 - Grilo M., Oliveira M., Papel do antígeno específico da próstata no rastreio do carcinoma da próstata, *Acta Urológica* 2004; 21; 2: 27-33.