



Cristina Maria Nelas Pinto

## Relatório de Estágio Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de estágio curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas, orientado pela Dra. Cláudia Maravilha e pela Professora Doutora Gabriela Jorge da Silva, apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Cristina Maria Nelas Pinto

# Relatório de Estágio

## Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de estágio curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas, orientado pela Dra. Cláudia Maravilha e pela Professora Doutora Gabriela Jorge da Silva, apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Setembro 2016



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

## **Agradecimentos**

Agradeço à Dra. Gabriela Jorge da Silva pela sua  
disponibilidade e motivação.

Aos meus Pais e Irmã por sempre acreditarem e  
incentivarem a continuar.

Aos meus colegas de Mestrado por todo o apoio.

Ao Carlos, à Sofia e à Sara por tudo!



## **Abreviaturas**

17  $\beta$  -E – 17  $\beta$  -Estradiol

ADN – Ácido Desoxirribonucleico

ARN – Ácido Ribonucleico

AFP – Alfa-Fetoproteína

ALP – Fosfatase alcalina

ALT – Alanina aminotransferase

ALT – Alanina Aminotransferase

Apo C – Apoproteína C

Apo E – Apoproteína E

ApoB-100 – Apoproteína B-100

aPTT – Tempo de tromboplastina parcial ativada

AST – Aspartato aminotransferase

A-Tg – Anti-Tiroglobulina

A-TPO – Anti-Tiroperoxidase

BD – Bilirrubina Direta

BI – Bilirrubina Indireta

CA125 – Antígeno Carbohidrato 125, do inglês *Cancer Antigen 125*

CA19.9 – Antígeno Carbohidrato 19.9, do inglês *Cancer Antigen 19.9*

CEA – Antígeno Carcino-Embrionário, do inglês *Carcinoembryonic Antigen*

CK – Creatina cinase

CQ – Controlo de qualidade

CRP – Proteína c-reativa

DM – Diabetes *Mellitus*

DMG – Diabetes *Mellitus* gestacional

ECF – Fluido extracelular

ECLIA – Ensaio Electroquimioluminescente, do inglês *Electro-chemiluminescence immunoassay*

ELFA – Enzyme Linked Fluorescent Assay

ELISA – Ensaio de Imunoabsorção Enzimática, do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

FSH – Hormona Folículo Estimulante

FT3 – Triiodotironina livre, do inglês *Free Triiodothyronine*

FT4 – Tiroxina livre, do inglês *Free Thyroxine*

G6PD – Glucose-6-fosfato desidrogenase

Mestrado em Análises Clínicas – Relatório de Estágio

GGT – Gama glutamil transferase

Hb – Hemoglobina

Hb F – Hemoglobina Fetal

HbA1c – Hemoglobina A1c

HBV – Vírus da Hepatite B, do inglês *Hepatitis B Virus*

HCV – Vírus da Hepatite C, do inglês *Hepatitis C Virus*

HDL – *High Density Lipoprotein*

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

hsCRP – Proteína c-reativa de alta sensibilidade

ICF – Fluido intracelular

IDL – *Intermediate Density Lipoprotein*

IgG – Imunoglobulina G

IgM – Imunoglobulina M

INR – *International Normalized Ratio*

LDH – Lactato desidrogenase

LDL – *Low Density Lipoprotein*

LH – Hormona Luteinizante, do inglês *Luteinizing Hormone*

NADH – Nicotinamida adenina dinucleótido

NADPH – Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

OMS – Organização Mundial de Saúde

PRL – Prolactina

PSA – Antígeno Específico da Próstata, do inglês *Prostate-Specific Antigen*

PT – Tempo de protrombina

PTGO – Prova de tolerância à glicose oral

PTH – Hormona da Paratiroide, do inglês *Parathyroid Hormone*

RIQAS EQA – *Randox International Quality Assessment Scheme, External Quality Assessment*

T3 – Triiodotironina Total

T4 – Tiroxina Total

TF – Fator tecidual

TFG – Taxa de filtração glomerular

VLDL – *Very Low Density Lipoprotein*

$\beta$ -hCG – Gonadotrofina Coriônica humana, do inglês *Human Corionic Gonadotrofin*

VS – Velocidade de sedimentação

Índice

Abreviaturas.....	3
Resumo .....	7
Abstract .....	7
I. Introdução.....	8
II. Setor de Hematologia.....	11
1. Contagem hemograma completo .....	11
2. Tempo de protrombina (TP) (com determinação do INR e Protrombinémia) e Tempo de tromboplastina parcial ativada (aPTT).....	11
3. Velocidade de sedimentação eritrocitária (VS) (Ih).....	11
4. Técnicas manuais .....	11
III. Sector de Microbiologia.....	12
1. Exame Bacteriológico e Micológico.....	12
2. Sumária de urina .....	12
3. Análise microscópica do sedimento urinário .....	12
4. Pesquisa de sangue oculto nas fezes.....	12
IV. Sector de Bioquímica.....	13
1. Técnicas Manuais .....	13
1.1 Teste Imunológico de Gravidez .....	13
1.2 Rapid Plasma Reagin (R.P.R.).....	14
1.3 Factor Reumatóide (FR).....	14
1.4 Reacção de Waaler-Rose .....	14
1.5 Título Anti-Estreptolisina O (TASO).....	14
2. Técnicas automáticas e Semiautomáticas.....	15
2.1 Metabolismo dos hidratos de carbono.....	15
2.1.1 Glicose .....	15
2.1.2 Prova de tolerância à glicose oral (PTGO).....	16
2.1.3 Hemoglobina glicada .....	17

2.2	Metabolismo dos lípidos e lipoproteínas .....	17
2.2.1	Colesterol total .....	19
2.2.2	Colesterol ligado às HDL.....	19
2.2.3	Colesterol ligado às LDL.....	19
2.2.4	Triglicerídeos.....	20
2.3	Metabolismo das Proteínas .....	20
2.3.1	Proteínas totais .....	20
2.3.2	Albumina .....	20
2.4	Avaliação da função renal .....	21
2.4.1	Ureia.....	21
2.4.2	Creatinina.....	22
2.4.3	Depuração da creatinina.....	22
2.4.4	Eletrólitos.....	22
2.4.4.1	Sódio.....	23
2.4.4.2	Potássio.....	23
2.4.4.3	Cloro .....	24
2.4.4.4	Cálcio total.....	24
2.4.4.5	Fósforo.....	24
2.4.4.6	Magnésio.....	25
2.4.4.7	Ferro.....	25
2.4.5	Osmolaridade.....	25
2.5	Avaliação da função hepática e pancreática.....	25
2.5.1	Enzimologia hepato-biliar e pancreática.....	26
2.5.1.1	Transaminases .....	26
2.5.1.1.1	Transaminase glutâmico-oxalacética / Aspartato aminotransferase (TGO/ALT).....	27
2.5.1.1.2	Transaminase glutâmico-pirúvica / alanintransferase (TGP/ALT).....	27
2.5.1.2	$\gamma$ -glutamilttransferase ( $\gamma$ -GT).....	27

2.5.1.3	Fosfatase alcalina (ALP)	28
2.5.1.4	Lactato-desidrogenase (LDH)	28
2.5.1.5	Amílase	29
2.5.2	Bilirrubina	29
2.5.2.1	Bilirrubina Total	29
2.5.2.2	Bilirrubina direta (BD)	29
2.5.2.3	Bilirrubina Indireta	30
2.6	Compostos nitrogenados	30
2.6.1	Ureia	30
2.6.2	Ácido úrico	30
2.7	Marcadores de lesão do miocárdio	30
2.7.1	Creatina Quinase (CK)	30
2.7.2	LDH e TGO	31
2.8	Cinética do ferro	31
2.8.1	Ferro	31
2.8.2	Capacidade total de fixação do ferro (TIBC)	31
2.8.3	Saturação da transferrina	31
2.8.4	Ferritina	31
V.	Sector de Imunologia/Endocrinologia	32
1.	Imunoensaios	32
2.	Tipos de Imunoensaio	32
2.1	Ensaio competitivo	32
2.2	Ensaio não competitivo (tipo “sandwich”)	33
3.	Imunoensaios Usados	34
3.1	Eletroquimioluminescência (ECLIA)	34
3.2	Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA)	34
4.	Marcadores tumorais	34
4.1	Glicoproteínas	37

4.1.1	Antigénio Carcinoembrionário - CEA.....	37
4.1.2	Alfafetoproteína – AFP.....	37
4.1.3	Gonadotropina Corionica Humana - $\beta$ -hCG.....	38
4.1.4	Antigénio Específico da Próstata – PSA.....	38
4.1.4.1	PSA total (PSAT), PSA livre (PSAL) e Razão PSAL/PSAT.....	39
4.2	Glicoproteínas do grupo das mucinas.....	39
4.2.1	Antigénio Carbohidrato I5.3 – CA I5.3.....	39
4.2.2	Antigénio Carbohidrato I9.9 - CA I9.9.....	39
4.2.3	Antigénio Carbohidrato I25 – CA I25.....	40
5.	Estudo da Função Endócrina.....	40
5.1	Eixo Hipotálamo-Hipófise-Tiroide.....	40
5.1.1	Hormona Estimulante da Tiroide (TSH).....	41
5.1.2	Triiodotrionina – T3.....	41
5.1.3	Tiroxina - T4.....	42
5.1.4	T3 e T4 Livres – FT3 e FT4.....	42
5.1.5	Anticorpos Anti-Tiroideos.....	42
5.2	Eixo Hipotálamo-Hipófise-Gónadas.....	42
5.2.1	Função Gonadal Feminina.....	42
5.2.2	Função Gonadal Masculina.....	44
5.2.3	Principais Hormonas Gonadais.....	45
5.2.3.1	Hormona Estimulante do Folículo - FSH.....	45
5.2.3.2	Hormona Luteinizante – LH.....	45
5.2.3.3	Progesterona.....	46
5.2.3.4	Estradiol.....	46
5.2.3.5	Prolactina - PRL.....	46
5.2.3.6	Testosterona Total.....	46
5.2.4	Metabolismo do Cálcio e Patologia Óssea.....	47
5.2.4.1	Hormona Paratiroideia – PTH.....	47

5.2.4.2	25 (OH) VITAMINA D.....	47
6.	Estudo de anemias.....	47
6.1	Ferritina .....	47
6.2	Transferrina .....	48
6.3	Ácido Fólico e Vitamina B12.....	48
7.	Marcadores de Infecção/Inflamação.....	48
7.1	Proteína C Reativa – PCR .....	49
8.	Diagnóstico Serológico de Doenças Infecciosas.....	49
8.1	Toxoplasmose .....	49
8.2	Rubéola .....	50
9.	Virologia.....	50
9.1	Hepatites .....	50
9.1.1	Hepatite B .....	50
9.1.2	Hepatite C.....	52
9.1.3	Vírus da imunodeficiência Humana (VIH) .....	53
	Conclusão.....	55
	Bibliografia .....	56
	Anexo I – Imunologia - Analisadores, métodos e respectivos parâmetros doseados.....	58
	Anexo II - Fluxograma de avaliação do hipotireoidismo.....	59
	Anexo III - Fluxograma de avaliação do hipertireoidismo .....	60
	Anexo IV – Fluxograma de diagnóstico laboratorial de HCV .....	61



## **Resumo**

O presente relatório visa descrever as atividades realizadas no decorrer do estágio curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra. O estágio decorreu entre Dezembro de 2015 e Julho de 2016, no Centro de Diagnóstico Laboratorial D. Diniz, Lda. – Grupo Sanfil Medicina, Coimbra, sob orientação da Dra. Cláudia Maravilha.

Serão destacadas as áreas de Bioquímica Clínica e Imunologia, referindo os fundamentos analíticos dos parâmetros processados e o seu enquadramento teórico.

Os exames laboratoriais são imprescindíveis para complementar os dados clínicos, contribuindo para um diagnóstico correto com influência nas opções terapêuticas adotadas e sua monitorização.

## **Abstract**

The present report aims to describe the activities carried through the internship to obtain the Master degree in Clinical Analyses of the Faculty of Pharmacy of the University of Coimbra. The period of internship took place between December 2015 and July 2016, in the Centro de Diagnóstico Laboratorial D. Diniz, Lda. - Grupo Sanfil Medicina, Coimbra, under the supervision of Dra. Cláudia Maravilha.

The areas of Clinical Biochemistry and Immunology will be highlighted, relating the technical aspects of the processed parameters with its theoretical framing.

The analytical tests are essential to complement the clinical data, contributing for a correct diagnosis, which influence the therapeutic options and follow-up.

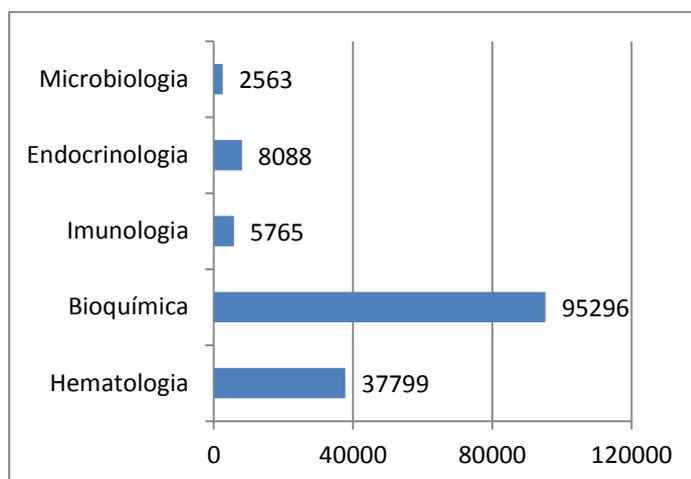
## I. Introdução

O estágio curricular no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas foi efetuado no Centro de Diagnóstico Laboratorial D. Diniz, Lda. – Grupo Sanfil Medicina, Coimbra, sob orientação da Dra. Cláudia Maravilha, no período entre dezembro de 2015 e julho de 2016.

O Laboratório é constituído pelo laboratório central e por 14 postos de colheitas.

O movimento diário médio é de 80 utentes com uma média diária de 603 análises.

No ano de 2015 efetuaram-se internamente 149511 parâmetros, sendo que a sua divisão por valência corresponde a:



O Laboratório efetua os estudos analíticos solicitados pelos próprios utentes, ou por médicos prescritores a utentes dos diferentes subsistemas de saúde e seguradoras, com os quais tem acordo, e procede também ao envio adequado para Laboratório Externo, de amostras para a execução de parâmetros não exequíveis no próprio laboratório.

O Laboratório funciona de segunda a sexta-feira entre as 8h30 e 22h00, encontrando-se aberto ao público das 8h30 às 18h. Fora deste período regular de funcionamento, a urgência é assegurada pelo Técnico de Diagnóstico e Terapêutica, que estiver escalado, em regime de chamada das 22h às 8h do dia seguinte e 24h aos sábados e domingos.

Ao sábado, a técnica que está de urgência assegura ainda o processamento das amostras do laboratório e dos postos que abrem neste dia.

Os Recursos Humanos consistem em 1 Médico Patologista, 1 Farmacêutico Especialista, 2 Técnicos Superiores, 2 Técnicos de Diagnóstico e Terapêutica, 1 Administrativos, 1 Auxiliares e 2 motoristas. Existem ainda Enfermeiros prestadores de serviços que efetuam colheitas nos postos.

O Laboratório é constituído por 4 sectores: Microbiologia, Imunologia/Endocrinologia, Bioquímica e Hematologia. Em cada um dos sectores há um técnico superior responsável e os técnicos necessários ao desempenho diário das suas atividades.

A nível de Controlo Externo da Qualidade encontra-se inserido no programa *Randox International Quality Assessment Scheme, External Quality Assessment (RIQAS EQA)*:

- Química Clínica (12 ensaios anuais);
- Hemoglobina Glicada (12 ensaios anuais);
- Imunoensaio (12 ensaios anuais);
- Hematologia (12 ensaios anuais);
- Coagulação (12 ensaios anuais);
- Urina Tipo II (6 ensaios anuais);
- Virologia (6 ensaios anuais).

Para além das atividades de rotina e de urgência, assegura também funções formativas, nomeadamente:

- Estágios de curta duração/Estágios de Verão da Universidade de Coimbra;
- Ações de formação internas dos colaboradores;
- Ações de formação externas dos colaboradores.

O primeiro contato do utente com o Laboratório dá-se no momento do registo com a recolha dos dados de identificação necessários, observação das análises pedidas de modo a saber se o utente cumpre com algum critério específico de colheita (ex.: jejum; medicação, etc.). A cada processo é atribuído uma numeração alfanumérica, que difere consoante o posto de colheita. Posteriormente à colheita, todas as amostras são devidamente acondicionadas e transportadas para o laboratório central, onde se efetua a triagem antes da sua distribuição pelas diferentes áreas.

Os exames laboratoriais são imprescindíveis para complementar os dados clínicos, contribuindo para um diagnóstico correto com influência nas opções terapêuticas adotadas e sua monitorização. Dada esta importância na decisão clínica, o Laboratório tem que garantir que os resultados obtidos correspondem a valores fidedignos que traduzam, de facto, as condições fisiopatológicas que pretendem avaliar. Assim sendo, o Laboratório, nos diferentes Sectores, efetua diariamente testes de controlo de qualidade interno, encontrando-se pré-definidos o número de controlos a aplicar por série analítica e por analito, assegurando que os procedimentos adotados correspondem a especificações pré-definidas. Os testes de controlo de qualidade interno são realizados no início do dia de trabalho, antes do processamento das amostras, permitindo, sempre que necessário, adotar

medidas corretivas atempadamente. Estes testes são repetidos periodicamente ao longo do dia de trabalho e sempre que tal se revelasse necessário (como na mudança de lote de um reagente, ou violação de CQ).

No ato da validação, assegura-se que foram cumpridos todos os processos implicados na validação: fase pré-analítica (triagem) assegura que a amostra é adequada e corresponde ao utente em estudo; na fase analítica adequa-se os métodos e meios usados de modo a que veracidade e precisão dos resultados se encontrem dentro dos níveis/requisitos exigíveis e, na fase pós-analítica, relaciona-se os resultados com os valores de referência estabelecidos, com a informação clínica (num laboratório privado é muito escassa) e com o histórico do utente, para a validação final dos resultados.

## **II. Setor de Hematologia**

### **1. Contagem hemograma completo**

Aparelho: Auto-analizador BC-5800 Mindray® (Menarini)

Métodos:

- Eritrócitos e plaquetas: Método de Impedância.
- Hemoglobina: Método colorimétrico.
- Leucócitos: Citometria de fluxo.
- Contagem diferencial de Leucócitos: Metodologia Difração de Laser combinado com Coloração Química e Avançada Citometria de Fluxo.
- A partir da informação dos histogramas: Volume globular médio, Coeficiente de variação de eritrócitos, Volume plaquetar médio.
- Parâmetros calculados: Hematócrito, Hemoglobina corpuscular média; Concentração de hemoglobina corpuscular média.

### **2. Tempo de protrombina (TP) (com determinação do INR e Protrombinémia) e Tempo de tromboplastina parcial ativada (aPTT)**

Aparelho: Analizador automático Ceveron Alpha® (Iberlab).

Método: Fotometria.

### **3. Velocidade de sedimentação eritrocitária (VS) (1h)**

Aparelho: VesMatic® Cube 30 (Menarini).

Método: Fotometria (Westergren modificado).

### **4. Técnicas manuais**

#### **- Esfregaço de sangue periférico**

São efetuados por distensão manual e corados manualmente pela coloração de Wright. Procede-se à avaliação das três linhas celulares (ampliação de 1000X): leucocitária, eritrocitária e plaquetar.

- **Contagem manual de reticulócitos** com coloração do novo azul-de-metileno.

### **III. Sector de Microbiologia**

#### **I. Exame Bacteriológico e Micológico**

Processamento de amostras de sangue, urina, fezes, exsudato genital (vaginal e uretral), exsudato de feridas e outros exsudatos purulentos, secreções respiratórias, líquidos orgânicos provenientes de cavidades serosas (peritoneal, pleural, pericárdico, sinovial).

Em linhas gerais, o estudo microbiológico obedece às seguintes etapas sequenciais:

- Exame Direto;
- Exame cultural;
- Identificação dos microrganismos isolados;
- Testes de susceptibilidade a antimicrobianos (Sistema Mini-API® - Biomérieux).

#### **2. Sumária de urina**

Aparelho: Aution MAX® AX-4280 (Menarini).

Método: Refractância (densidade), reflectância (parâmetros bioquímicos) e turbidimetria em células de fluxo (aspeto).

#### **3. Análise microscópica do sedimento urinário**

#### **4. Pesquisa de sangue oculto nas fezes**

## IV. Sector de Bioquímica

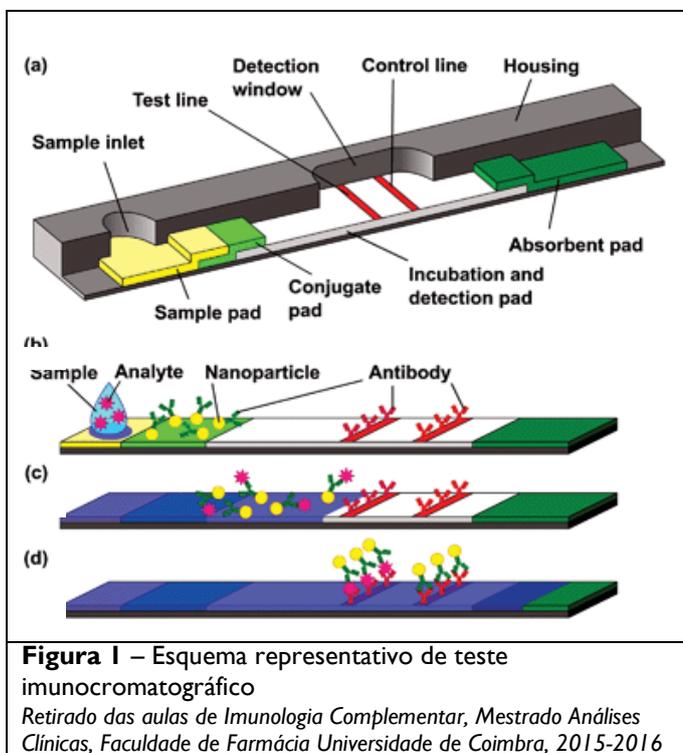
No Sector de Bioquímica o processamento das amostras é efetuado, na sua grande maioria, por técnicas automatizadas e/ou semi-automatizadas. Mantém-se, no entanto, a execução de algumas técnicas por métodos manuais. As amostras mais frequentemente doseadas são as de soro. Presta-se particular atenção à qualidade da amostra, nomeadamente à deteção visual de fibrina, hemólise, lipémia e hiperbilirrubinémia aparentes.

### I. Técnicas Manuais

As técnicas manuais usadas neste sector baseiam-se em testes rápidos de aglutinação e imunoensaios cromatográficos.

Os testes de aglutinação caracterizam-se pela formação de agregados visíveis como resultado da interação de anticorpos específicos e partículas insolúveis que contêm determinantes antigénicos na superfície.

Os testes imunocromatográficos de uma forma geral têm anticorpo ou antígeno marcado na zona de colocação da amostra. Os analito, se presentes na amostra, formam um complexo com o seu conjugado e migram para a zona de deteção onde reagem com um segundo anticorpo/antígeno formando uma banda corada (Figura 1).



### I.1 Teste Imunológico de Gravidez

A hormona gonadotropina coriónica humana (hCG) é uma glicoproteína produzida pela placenta durante a gravidez. É conhecida como a Hormona da gravidez pelo que é usada como base dos testes rápidos. A presença da fracção  $\beta$  em amostras de urina é indicativa de gravidez (Ashwood,2012).

A deteção qualitativa de  $\beta$ -hCG é efetuada por imunoensaio cromatográfico.

### **1.2 Rapid Plasma Reagin (R.P.R.)**

A Sífilis é uma doença sexualmente transmitida cujo agente etiológico é o *Treponema pallidum*. A resposta à infeção leva à produção de anticorpos antitreponema ou substâncias semelhantes (reaginas).

O R.P.R. é um teste não treponémico de aglutinação para rastreio de sífilis. Pesquisa a presença de anticorpos anti-cardiolipina (reaginas) no soro a testar, usando como antigénio uma suspensão de cardiolipina-lectina-colesterol (com semelhança antigénica com o *Treponema pallidum*) e partículas de carvão, para que a reacção seja visível macroscopicamente. (Henry,2001)

### **1.3 Factor Reumatóide (FR)**

O FR é um auto-anticorpo reactivo contra determinantes da região Fc das Imunoglobulinas IgG, presente no soro de indivíduos com doenças reumáticas. Apesar de não ser um marcador de diagnóstico é relevante para prognóstico, principalmente em casos de Artrite reumatoide. (Teixeira,2007).

A detecção é feita por aglutinação de partículas de látex para determinação qualitativa e semi-quantitativa do fator reumatoide no soro.

### **1.4 Reacção de Waaler-Rose**

A reacção de Waaler-Rose é um teste de hemaglutinação para a determinação qualitativa do FR (Teixeira,2007). O antigénio é uma suspensão de hemácias de ovelha sensibilizadas com IgG de soro de coelho anti-hemácias de ovelha, aglutinando na presença de fatores reumatoides.

### **1.5 Título Anti-Estreptolisina O (TASO)**

A estreptolisina O é uma hemolisina produzida por *Streptococcus pyogenes* (Estreptococos do grupo A) com actividade lítica para leucócitos e monócitos. A sua determinação é útil quando há suspeita de febre reumática, no diagnóstico retrospectivo de uma infeção faríngea estreptocócica, na avaliação de sequelas ósseas, cardíacas, renais (glomerulonefrite) (Henry, 2001).

A detecção é efectuada em placa por aglutinação de partículas de látex.

## **2. Técnicas automáticas e Semiautomáticas**

A maioria dos parâmetros bioquímicos doseados neste laboratório é processada no analisador Cobas® Integra 800 (Roche Diagnóstica), usando métodos de colorimetria, turbidimetria e potenciometria com eléctrodos seletivos de iões.

O método colorimétrico baseia-se na formação de compostos corados, com intensidades proporcionais ao parâmetro doseado. A leitura da absorvância é efectuada por espectrofotometria (Henry, 2001).

A turbidimetria é a medida da diminuição de intensidade de luz incidente causada pela dispersão, reflexão e absorção do feixe de luz de uma dada intensidade. A turbidimetria baseia-se no facto da quantidade de luz, que atravessa uma solução de partículas, diminuir à medida que a turvação da solução aumenta (Ashwood,2012).

### **2.1 Metabolismo dos hidratos de carbono**

Os carboidratos são os principais constituintes dos sistemas fisiológicos. Os hidratos de carbono complexos são metabolizados a açúcares simples, principalmente glucose. Desempenham múltiplas funções entre as quais o fornecimento de energia (glucose) e papel estrutural de componentes do ácido desoxirribonucleico (ADN) e ácido ribonucleico (RNA) (Henry, 2001).

#### **2.1.1 Glicose**

A glicose é um monossacarídeo e é a mais importante fonte energética do organismo. Deriva do metabolismo dos hidratos de carbono provenientes da dieta, das reservas corporais sob a forma de glicogénio, e por síntese endógena.

Quando o gasto de energia é baixo, o excesso de glucose é convertido a ácidos gordos, armazenados no tecido adiposo no fígado, ou convertido em glicogénio nos músculos.

O seu doseamento é indispensável no diagnóstico e monitorização de doenças causadas por anomalia de produção de insulina e outras hormonas essenciais ao seu metabolismo (glucagão e epinefrina). Entre essas doenças encontram-se a Diabetes Mellitus (DM), que pode ocorrer em todas as idades e no decurso da gravidez, e outros tipos de diabetes (insulinomas, tumores relacionados com os ilhéus de Langerhans, defeitos genéticos na ação da insulina, endocrinopatias, entre outros).

A hipoglicémia define-se como o valor de glicémia inferior à glucose em jejum, não sendo este valor consensual entre os diferentes autores (varia entre os 50 e 60 mg/dL). Pode

ocorrer uma baixa transitória 2 horas após uma refeição ou após uma carga de glucose (prova de tolerância à glucose oral) (Ashwood,2012).

A DM é classificada em DM tipo 1, DM tipo 2, Diabetes Gestacional e outros tipos de diabetes. A diabetes tipo 1 corresponde a 5-10% de todos os casos de diabetes e é, em regra, mais comum na infância e adolescência. A diabetes tipo 2 é a forma mais frequente de diabetes (90%), resultando da diminuição dos níveis de insulina, com maior ou menor grau de insulinoresistência. Está muitas vezes associada a obesidade, principalmente abdominal, a hipertensão arterial e a dislipidemia. (Direcção Geral de Saúde, 002/2011). O diagnóstico de diabetes mellitus numa pessoa assintomática nunca deve ser feito com base num único valor anormal de glicemia. O valor de diagnóstico da concentração plasmática da glucose em jejum é de <126 mg/dL. Para o doente assintomático é essencial pelo menos mais um teste de glucose no sangue/plasma com resultado positivo, quer em jejum, ao acaso ou numa prova de tolerância à glucose oral (PTGO) (Sociedade Portuguesa de Diabetologia, 2016).

A determinação de glucose no Líquido Cefaloraquídeo (LCR) é importante no diagnóstico de infecções cerebrais bacterianas uma vez que o cérebro não consegue armazenar nem produzir glucose. Nestes casos há um elevado consumo deste açúcar, quer por parte dos microorganismos quer dos leucócitos, o que provoca um acentuado abaixamento dos valores (Ashwood,2012).

O doseamento da glucose é efectuado segundo o método de referência da hexocinase, enzima que catalisa a fosforilação da glucose pelo ATP, dando origem à glucose-6-fosfato e ADP. Para prosseguir a reacção, uma segunda enzima, a glucose-6-fosfato desidrogenase (G6PDH) catalisa a oxidação de glucose-6-fosfato pelo NAD<sup>+</sup>, dando origem ao NADH. A quantidade de NADPH resultante da reacção é proporcional à quantidade de glucose na amostra e é medida espectrofotometricamente a 340 nm (Henry,2001).

### **2.1.2 Prova de tolerância à glucose oral (PTGO)**

A prova de tolerância à glucose oral (PTGO) é utilizada, principalmente, para quando níveis de glicemia ambíguos, durante gravidez ou em estudos epidemiológicos.

Consiste no doseamento da glicemia em jejum e 2 horas após a administração de uma sobrecarga de 75 g de glucose. No caso de diagnóstico de diabetes gestacional a PTGO inclui um doseamento extra aos 60 min (Direcção Geral de Saúde, 007/2011).

### **2.1.3 Hemoglobina glicada**

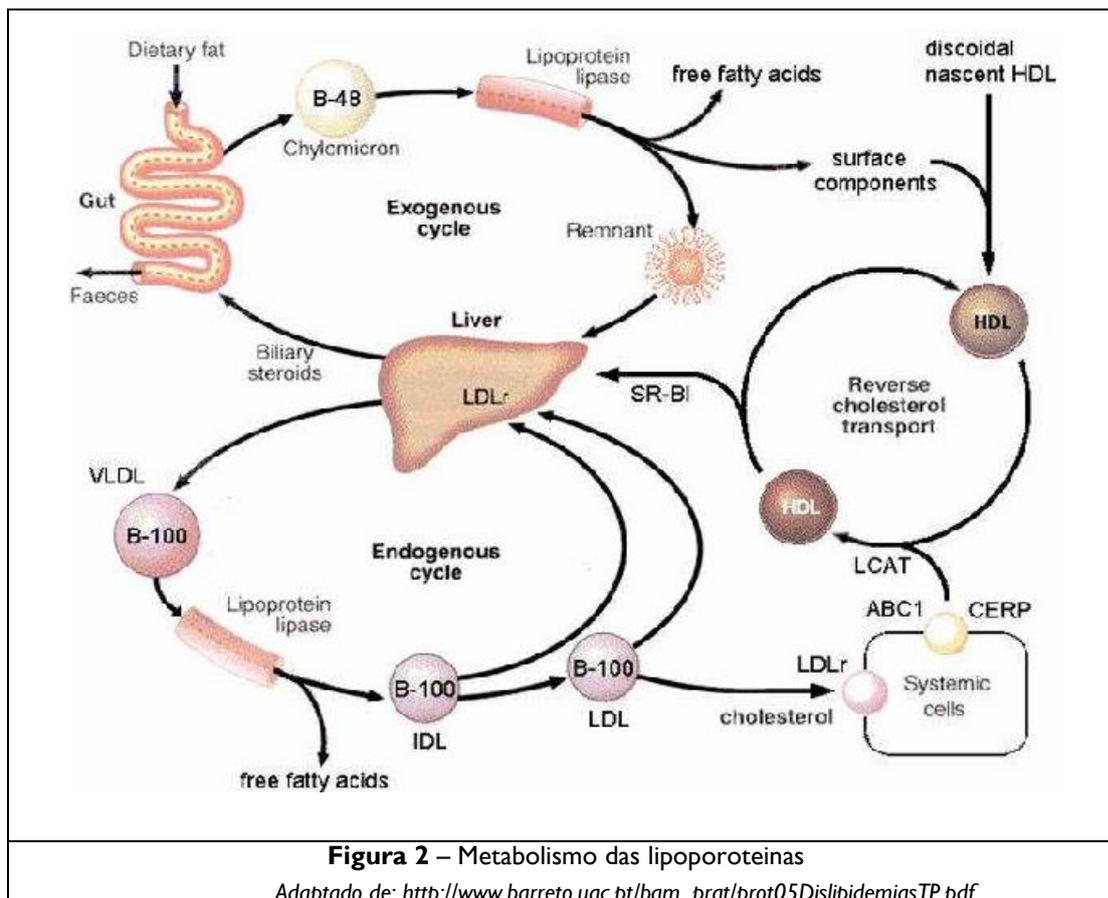
A hemoglobina normal, no adulto, divide-se em HbA (97%), HbA2 (2.5%) e HbF (0.5%). A análise cromatográfica de HbA mostra um fracionamento em HbA1a, HbA1b e HbA1c, sendo esta última a mais abundante, e às quais se deu o nome de hemoglobinas glicadas.

A glicosilação da hemoglobina é um processo irreversível e a taxa de formação de hemoglobina glicosilada é directamente proporcional à concentração sanguínea de glicose e ao tempo de vida média dos eritrócitos, cerca de 120 dias. Este doseamento reflete os valores médios da glicémia ao longo das 6 a 8 semanas anteriores, pelo que é muito utilizado na monitorização da diabetes (Ashwood,2012).

O doseamento da HbA1c é efectuado em sangue total no analisador HA 8160 ADAMS A1c® (Menarini), por Cromatografia Líquida de alta pressão (HPLC). Este método baseia-se na cromatografia de troca iónica em fase inversa, sendo a detecção efectuada por colorimetria (Bi-cromático 420/500 nm). A resolução cromatográfica permite a leitura directa da área do pico da hemoglobina glicada (Menarini, 2016).

### **2.2 Metabolismo dos lípidos e lipoproteínas**

Os lípidos apresentam uma grande variedade estrutural, mas têm em comum o facto de serem moléculas anfipáticas, solúveis em solventes orgânicos, mas pouco solúveis em água, necessitando ser transportados no soro sob uma forma complexa: as lipoproteínas. Estas são complexos de lípidos e proteínas (apoproteínas (Apo)) que transportam colesterol na corrente sanguínea. Os níveis plasmáticos de colesterol das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) estão directamente relacionados com a incidência de eventos coronários e mortalidade cardiovascular. As vias metabólicas das lipoproteínas são complexas, podendo ser divididas em quatro partes (Figura 2): as vias exógena (lípidos da dieta) e endógena (lípidos de origem hepática) da síntese lipoproteica, a via intracelular do receptor das LDL e



a via do transporte reverso de colesterol (envolvendo as lipoproteínas de alta densidade - HDL).

As alterações metabólicas dos lípidos no organismo - dislipidemias - podem ocorrer em diferentes fases do metabolismo lipídico, alterando os níveis séricos das lipoproteínas. Estas podem ser de diferentes tipos, manifestando-se quer através de um aumento dos níveis plasmáticos de TG, quer através do aumento do colesterol, ou ambos, ou por diminuição dos níveis plasmáticos de HDL (Bourbon,2006).

A sua função principal é o transporte de lípidos esterificados e colesterol. A sua classificação baseia-se na ultracentrifugação que as separa consoante a sua densidade e permite obter:

- Quilomicron;
- VLDL – “Very Low Density Lipoprotein”;
- LDL - “Low Density Lipoprotein”;
- IDL - “Intermediary Density Lipoprotein”;
- HDL - “High Density Lipoprotein”

À medida que aumenta a densidade, aumenta o conteúdo em proteína e diminui o conteúdo em lípidos.

### 2.2.1 Colesterol total

O colesterol, no nosso organismo é, na sua maior parte, sintetizado endogenamente pelo fígado e outros tecidos, sendo uma pequena parte derivado da dieta. Encontra-se presente nos tecidos e nas lipoproteínas, representando a quase totalidade dos esteróis plasmáticos. Pode existir na forma esterificada (combinado com ácidos gordos) ou livre. É o ponto de partida de muitas vias metabólicas, como a síntese de vitamina D, hormonas esteroides e metabolismo dos ácidos biliares (Henry, 2001).

O doseamento é processado em amostras de soro e líquidos orgânicos por método enzimático (colesterol esterase, colesterol oxidase e peroxidase), com produção de um corante vermelho cuja intensidade cromática é medida por espectrofotometria.

### 2.2.2 Colesterol ligado às HDL

O HDL é responsável pelo transporte do colesterol das células periféricas ao fígado, sendo considerado um protetor cardiovascular. Assim, dentro do intervalo de referência, valores elevados são considerados benéficos para o organismo. A fracção proteica predominante corresponde à apo A (Henry, 2001).

O processamento de amostras de soro é efectuado por método enzimático (colesterol esterase, colesterol oxidase e peroxidase) com formação de um complexo púrpura cuja intensidade cromática é medida espectrofotometricamente.

### 2.2.3 Colesterol ligado às LDL

As lipoproteínas de baixa densidade (LDL) são os principais transportadores de ésteres de colesterol do fígado aos tecidos periféricos. São constituídas maioritariamente por colesterol (50%), proteínas, principalmente apo B-100, fosfolípidos e triglicéridos em número reduzido. As LDL são aterogénicas, pois estão implicadas na formação das placas de ateroma e, conseqüentemente, estão directamente relacionados com a incidência de eventos coronários e mortalidade cardiovascular (Ashwood,2012).

Este parâmetro é calculado segundo a fórmula de Friedwald (Figura 3), sendo válida apenas para valores de triglicéridos (TG) até 400mg/dL. Valores superiores de TG terá de ser efectuado o doseamento directo das LDL.

$$\text{LDLcol} = [\text{ColTotal}] - [\text{ColHDL}] - \text{Triglicéridos}/5, \text{ em mg/dL}$$

**Figura 3** – Fórmula de Friedwald

### **2.2.4 Triglicerídeos**

Os TG são ésteres de glicerol, sendo uma parte obtida na dieta diária e outra sintetizada no fígado. A avaliação dos triglicerídeos deve ser feita em conjunto com o colesterol e as outras lipoproteínas pois, é a integração de todos estes parâmetros que se torna importante no diagnóstico tratamento e prevenção de doenças cardiovasculares. Existem ainda doenças genéticas, como a hipertrigliceridemia familiar, em que os triglicerídeos chegam a atingir cerca de 10 vezes o seu valor normal, e que, por isso, devem ser monitorizadas frequentemente.

É usado um método enzimático para dosear amostras de soro, (lipoproteína lipase e peroxidase) com formação de corante vermelho e resultante aumento da absorvância detetada por espectrofotometria.

## **2.3 Metabolismo das Proteínas**

### **2.3.1 Proteínas totais**

O termo proteínas totais designa o conjunto de proteínas, com propriedades físico-químicas semelhantes, que existe em solução coloidal no soro/plasma e que compreende a albumina, as globulinas e ainda o fibrinogénio, no caso desta última amostra. Sendo, na sua maioria, sintetizadas no fígado, gânglios linfáticos, baço e medula óssea, participam em processos de nutrição celular, de transporte de substâncias, de coagulação sanguínea, de controlo da distribuição do líquido extracelular e de tamponamento do organismo devido à sua natureza anfotérica. A sua concentração pode encontrar-se alterada em inúmeras situações clínicas, como sejam o síndrome nefrótico, hemorragias, desidratação e mieloma múltiplo (Ashwood,2012).

Doseamento em amostras de soro e outros líquidos orgânicos (excepto urina e LCR) por ensaio colorimétrico com formação de um complexo de biureto (formação de um complexo violeta na presença de sais de cobre, em meio alcalino) cuja intensidade cromática é medida espectrofotometricamente.

### **2.3.2 Albumina**

É a proteína mais importante do organismo, sendo sintetizada exclusivamente no fígado. Devido à sua elevada concentração plasmática e ao seu baixo peso molecular, a albumina é também a proteína mais abundante no fluido extracelular (60% das PT). As suas principais funções são a manutenção da pressão oncótica e o transporte de inúmeras substâncias,

entre as quais, as pouco hidrossolúveis, tais como ácidos gordos livres, bilirrubina, iões metálicos, hormonas e fármacos (Ashwood,2012).

Pode encontrar-se diminuída – hipoalbuminémia - no caso de doenças hepáticas crónicas por défice de produção, no síndrome nefrótico e em queimaduras extensas por espoliação e na ascite e edema. A hiperalbuminémia está principalmente associados a casos de desidratação (Ashwood,2012; Henry, 2001).

O doseamento é feito por ensaio colorimétrico. A intensidade do complexo formado com a albumina a dosear e o verde de bromocresol é medida espectrofotometricamente.

## 2.4 Avaliação da função renal

### 2.4.1 Ureia

A ureia é um composto sintetizado pelo fígado a partir do amoníaco, produto tóxico, e metabolito final do catabolismo proteico exógeno (dieta) e endógeno (tecdular).

A principal razão pela qual se determina a ureia é a avaliação da função renal, pois mais de 90% é excretada pela urina. Assim, nos doentes renais crónicos a ureia apresenta valores elevados sendo essa elevação proporcional ao grau de insuficiência renal. Outras situações, em que este composto pode aparecer elevado, são: dieta rica em proteínas e desgaste muscular (em desportistas ou casos de fome severa) (Henry,2001).

São usadas amostras de soro e de urina, sendo o doseamento por método enzimático (acção sequencial das enzimas urease e glutamato desidrogenase), com diminuição da concentração de NADH proporcional à concentração da ureia na amostra, e medida espectrofotometricamente (Figura 4).



**Figura 4** – Doseamento da Ureia

O valor de **azoto ureico** obtém-se a partir do de ureia. Tomando em consideração a composição molecular da ureia sabe-se que a relação entre o azoto e aquela, em cada molécula, é de 28/60:

$$\text{Ureia} = 2,14 \times \text{azoto ureico}$$

### 2.4.2 Creatinina

É sintetizada endogenamente e libertada para os fluidos corporais a uma taxa constante, sendo os seus níveis plasmáticos mantidos dentro de valores muito estreitos. Por esta razão, a depuração renal de creatinina é um bom indicador da taxa de filtração glomerular. A sua determinação é importante no diagnóstico e monitorização de doenças renais agudas e crónicas. A creatinina é, normalmente, avaliada a par com a ureia sendo, o conjunto, o melhor indicativo da função renal. A creatinina é importante no diagnóstico e monitorização de doenças renais agudas e crónicas.

O doseamento em amostras de soro, urina e outros líquidos orgânicos, é efectuado pela reacção cinética de Jaffé, com medição espectrofotométrica da intensidade cromática do composto formado.

### 2.4.3 Depuração da creatinina

Calculada a partir dos valores da creatinina do soro e da urina e do volume total de urina no intervalo de tempo considerado (idealmente urina das 24h).

A prova de depuração da creatinina é usada na avaliação da filtração glomerular em doentes com suspeita ou com insuficiência renal crónica.

Consiste na determinação da quantidade de creatinina depurada num minuto. A depuração da creatinina pode ser feita para períodos de quatro, doze ou vinte e quatro horas.

A sua determinação é feita por cálculo a partir das determinações da creatinina no sangue e na urina, usando a técnica anteriormente descrita:

$$\text{Dep. Creatinina} = \left( \frac{\text{Creatinúria}}{\text{Creatinémia}} \right) \times \text{débito urinário (mL/min)}$$

### 2.4.4 Eletrólitos

A manutenção da homeostase da água é função de quatro eletrólitos principais: sódio ( $\text{Na}^+$ ), potássio ( $\text{K}^+$ ), cloro ( $\text{Cl}^-$ ), e bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ). Estes eletrólitos têm também um papel importante no equilíbrio ácido-base e função muscular.

O doseamento do ionograma é efetuado em amostras de soro e de urina, por potenciometria com eléctrodos seletivos de iões (ISEs). Os ISEs usam membranas que seletivamente interagem com uma única espécie de iões ou catiões. O potencial criado pela interface membrana/soluto é proporcional ao logaritmo da actividade iónica ou concentração do respetivo ião (Ashwood,2012).

#### 2.4.4.1 Sódio

O sódio ( $\text{Na}^+$ ) é o principal cátion extracelular, sendo responsável por quase metade da osmolaridade do plasma, pelo que tem um papel fulcral na manutenção do volume do fluido extracelular (FE).

A hiponatremia pode ser hiposmótica, hiperosmótica, ou isosmótica:

A hiponatremia hiposmótica, ocorre quando a concentração de  $\text{Na}^+$  plasmática é baixa, e pode ocorrer devido a perda excessiva (hiponatremia deplecional), ou pelo aumento do volume do espaço extracelular (hiponatremia dilucional).

A hiponatremia hiposmótica tem como causas mais frequentes a síndrome da secreção inapropriada da hormona anti-diurética (ADH) – SIADH –, polidipsia primária, e hipotireoidismo.

A hiponatremia hiperosmótica causada pela presença de outros solutos no ECF, ocorrendo uma redistribuição da água do fluido intracelular para o extracelular, no sentido de manter o equilíbrio osmótico. Este tipo de hiponatremia é típico em diabéticos com hiperglicemia severa.

A hipernatremia ( $\text{Na}^+ > 150 \text{ mmol/L}$ ) é sempre hiperosmolar, e pode resultar de perda água ou ingestão insuficiente, ou menos comumente resultar de *Diabetes Insipidus*. A hipernatremia por ingestão excessiva de sal é muito rara. A retenção de  $\text{Na}^+$  ocorre nas síndromes de Cohn (hiperaldosteronismo primário) e Cushing (produção excessiva de cortisol).

#### 2.4.4.2 Potássio

É o mais importante cátion intracelular, intervindo na regulação da excitabilidade neuromuscular e contração cardíaca, no volume de fluido intracelular e na concentração de ião hidreto.

A hipocaliémia pode resultar de uma ingestão deficiente, como consequência de perturbações digestivas que afetam a sua absorção (vómitos, diarreia) ou do aumento da sua eliminação renal, como acontece na terapêutica antidiurética, na atividade mineralocorticóide desmesurada e na acidose tubular renal.

A hipercaliémia resulta principalmente de uma eliminação renal defeituosa, como acontece na insuficiência renal, suprarrenal e com os diuréticos que inibem a eliminação de potássio. É característica da doença de Addison e do hipoaldosteronismo seletivo.

Antes da validação de um valor elevado de potássio a amostra tem que ser cuidadosamente avaliada quanto à presença de hemólise (Ashwood,2012; Henry,2001).

### 2.4.4.3 Cloro

É o principal anião extracelular e intervém, entre outras funções, na manutenção da pressão osmótica.

As hipoclorémias devem-se a uma perda excessiva de cloro, como acontece nas perdas gastrointestinais, na cetoacidose diabética, nas doenças por excesso de mineralocorticóides e nas doenças renais que cursam com perda de sódio.

As hiperclorémias podem resultar da acidose metabólica, desidratação e falha renal aguda (Henry,2001).

### 2.4.4.4 Cálcio total

O cálcio é o catião mais prevalente do organismo, encontrando-se maioritariamente sob a forma de hidroxiapatite de cálcio nos ossos (99%) e cerca de 1% no espaço extracelular, encontrando-se em equilíbrio dinâmico. O cálcio apresenta três frações diferentes: o cálcio livre ou ionizado, o cálcio ligado a proteínas (albumina e globulinas) e o cálcio complexado.

A fracção livre é a forma biologicamente activa sendo regulado pela hormona da paratiroide (PTH) e pela 1,25-dihidroxitamina D (1,25(OH)2D) (Figura ). A diminuição do  $Ca^{2+}$  no espaço extracelular estimula um aumento na secreção de PTH, resultando no aumento da reabsorção renal e óssea de cálcio. É também estimulada a produção de 1,25(OH)2D, que vai actuar no intestino, aumentando a absorção de cálcio (Fauci, 2009).

O processamento de amostras de soro e de urina, é feito segundo o método fotométrico colorimétrico – M. Arsenazo III. Os iões cálcio ligam-se ao Arsenazo III, em meio ácido, formando um complexo de cor púrpura que depois é lido a 650nm.

A principal causa de hipocalcémia é a hipoalbuminémia, pelo que muitas vezes é solicitado o **Cálcio Corrigido para Albumina**, calculado pela seguinte fórmula:

$$Ca_{\text{corrigido}} = [Ca_{\text{doseado}} + [(4-Alb) \times 0.8]] \text{ mg/dl}$$

### 2.4.4.5 Fósforo

O fósforo está distribuído por todo o organismo nas formas de fosfato orgânico ou inorgânico. Aproximadamente 10% do fosfato, no soro, encontra-se ligado a proteínas, 35% apresenta-se complexado com o sódio, cálcio e magnésio e o restante encontra-se livre.

O fosfato inorgânico é o maior componente da hidroxiapatite no osso, tendo por isso um importante papel estrutural. Além disso, entra nos mecanismos de obtenção de energia, visto fazer parte das moléculas de ATP e NADP e é um constituinte essencial da membrana celular, pois faz parte dos fosfolípidos (Fauci, 2009).

São usadas amostras de soro e de urina, nas quais fosfato a dosear reage com o molibdato de amónio com a obtenção de um complexo de fosfomolibdato de amónio cuja concentração é medida espectrofotometricamente.

#### **2.4.4.6 Magnésio**

O magnésio tem um papel importante no metabolismo celular, participando activamente em diferentes mecanismos como: na fosforilação oxidativa, na glicólise e na replicação celular. Além disso é cofactor de muitas enzimas funcionando como substrato ativador ou desencadeador de várias reações.

O doseamento é efetuado em amostras de soro e de urina, usando método colorimétrico com clorofosfonazo III que se liga ao magnésio causando um aumento da absorvância, medida por espectrofotometria.

#### **2.4.4.7 Ferro**

O ferro tem um papel essencial participando em processos de oxidação celular até ao transporte de oxigénio aos tecidos. A sua concentração é regulada essencialmente pela sua absorção e não pela sua excreção, como acontece com a maior parte dos outros eletrólitos. A sua diminuição pode dever-se a perda por hemorragia ou nefrose, por carência dietética, infeções, tumores malignos ou artrite reumatoide. Algumas situações clínicas podem provocar aumento das concentrações de ferro, como a anemia hemolítica, a intoxicação por chumbo, a necrose aguda de células hepáticas e a hemocromatose e siderose por transfusão.

O doseamento é efetuado por ensaio colorimétrico, em amostras de soro. Os iões ferro reagem com FerroZine formando um complexo corado, cuja intensidade cromática é medida espectrofotometricamente.

#### **2.4.5 Osmolaridade**

Calculada, em amostras de soro e líquidos orgânicos, a partir dos valores de sódio, glicose e ureia ou azoto ureico.

$$\text{Osm} = [2(\text{Na}) + (\text{glicemia}/18) + (\text{ureia}/3.2)] \text{ mOsm/L}$$

#### **2.5 Avaliação da função hepática e pancreática**

As enzimas são proteínas que catalisam reações e que podem ser isoladas e obtidas em estado puro ou que podem ser avaliadas medindo a velocidade com que desdobram os substratos em que atuam – atividade enzimática.

O seu interesse clínico prende-se em alterações na atividade de enzimas predominantemente intracelulares e fisiologicamente presentes na corrente sanguínea em baixas concentrações. Alterações serológicas na atividade destas enzimas são indicativas do local e natureza de alterações patológicas. A maioria dos marcadores de lesão celular de interesse clínico são enzimas, sendo que uns são altamente específicos (ex.: Troponina I-miócitos cardíacos), outras são encontradas predominantemente em tecidos especializados (ex: lípase no pâncreas), outras, mais vastamente distribuídas, tem isoenzimas ou isoformas específicas de tecidos (ex.: isoenzima pancreática  $\alpha$  – amilase; isoforma óssea da fosfatase alcalina). (Burtis; 2012)

A tabela I resume as principais enzimas com valor clínico e as suas principais aplicações clínicas.

**Tabela I** – Principais enzimas e suas aplicações clínicas  
Retirado de *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics - 5th ed.*

Enzyme	Principal Sources of Enzyme in Blood	Principal Clinical Applications
Alanine aminotransferase	Liver	Hepatic parenchymal disease
Alkaline phosphatase	Liver, bone, intestinal mucosa, placenta	Hepatobiliary disease, bone disease
Amylase	Salivary glands, pancreas	Pancreatic disease
Aspartate aminotransferase	Heart, liver, skeletal muscle, erythrocytes	Hepatic parenchymal disease
Creatine kinase	Skeletal muscle, heart	Muscle disease, myocardial infarction
$\gamma$ -Glutamyltransferase	Liver, pancreas, kidney	Hepatobiliary disease
Lactate dehydrogenase	Heart, erythrocytes, lymph nodes, skeletal muscle, liver	Hemolytic and megaloblastic anemias, leukemia and lymphomas, oncology
Lipase	Pancreas	Pancreatic disease
5'-Nucleotidase	Liver	Hepatobiliary disease

### 2.5.1 Enzimologia hepato-biliar e pancreática

As alterações mais comuns na actividade enzimática hepática podem ser divididas em dois sub - grupos principais, dano hepatocelular e colestase, apesar de algumas patologias poderem apresentar quadros mistos) (Burtis; 2012):

- Dano hepatocelular: elevação de transaminases e glutamato desidrogenase
- Colestase: elevação da fosfatase alcalina, 5'-nucleotidase e  $\gamma$ -glutamyltransferase

#### 2.5.1.1 Transaminases

As transaminases são uma sub-classe de transferases, enzimas que catalisam a reação reversível de um grupo  $\alpha$ -amino de um aminoácido a um  $\alpha$ -cetoácido, sendo responsáveis pela interconversão dos aminoácidos em 2-oxo-ácidos. A aspartato aminotransferase ou Transaminase Oxaloacética (AST ou GOT) e a alanina aminotransferase ou Transaminase Pirúvica (ALT ou GPT), são duas transaminases de interesse clínico (Burtis; 2014).

### 2.5.1.1.1 Transaminase glutâmico-oxalacética / Aspartato aminotransferase (TGO/ALT)

Esta enzima encontra-se, principalmente, no tecido cardíaco, hepático, músculo-esquelético e renal. São, no entanto, de destacar o fígado e músculo cardíaco pois, nos casos de hepatite aguda e tóxica, necrose hepática, cirrose e enfarte do miocárdio os valores de AST aumentam muito servindo de ajuda ao diagnóstico clínico.

O doseamento é efectuado em amostras de soro, por método enzimático, pela acção sequencial de duas enzimas (AST e malato-desidrogenase (MDH)) com oxidação de NADH (Figura 4). O fosfato-5'-piridoxal (P-5-P) funciona como co-enzima nas reacções aminotransferase. A taxa de oxidação é directamente proporcional à actividade catalítica da AST e é determinada medindo a diminuição da absorvância espectrofotometricamente.

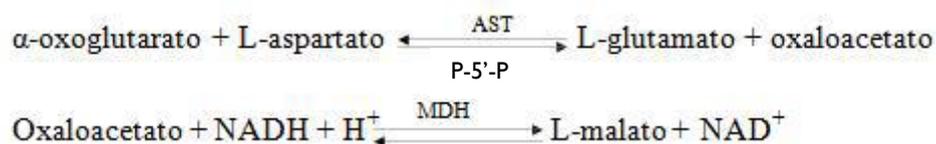


Figura 4 – Doseamento da AST

### 2.5.1.1.2 Transaminase glutâmico-pirúvica / alanintransferase (TGP/ALT)

Esta enzima encontra-se em maior quantidade no tecido hepático comparativamente com os outros tecidos o que faz dela um bom auxiliar de diagnóstico nas doenças hepáticas.

O método usado é semelhante ao anterior, diferindo apenas nas enzimas usadas nas reacções até à oxidação de NADH, neste caso ALT e lactato-desidrogenase (Figura 5).

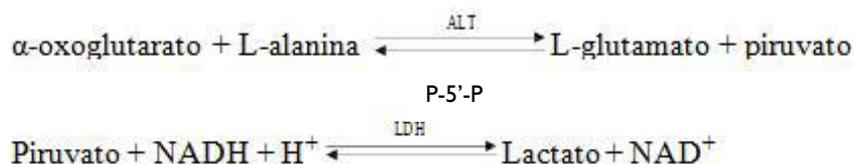


Figura 5 – Doseamento da AST

### 2.5.1.2 $\gamma$ -glutamiltransferase ( $\gamma$ -GT)

Esta enzima pertence ao grupo das peptidases e é responsável pela transferência do grupo  $\gamma$ -glutamil dos peptídeos para outros aceitadores como aminoácidos ou péptidos.

A  $\gamma$ -GT está presente no soro e em todas as células (a nível da membrana celular) excetuando as musculares. A sua presença no soro advém principalmente do sistema

hepatobiliar, apresentando-se elevada em todas as formas de doença hepática (Ashwood,2012).

O doseamento em amostras séricas é efectuado por ensaio enzimático, com libertação de 5-amino-2-nitrobenzoato cuja intensidade cromática é proporcional à quantidade de  $\gamma$ -GT presente na amostra. O resultante aumento da absorvância é determinado por espectrofotometria.

### **2.5.1.3 Fosfatase alcalina (ALP)**

A fosfatase alcalina pode encontrar-se nos osteoblastos, hepatócitos, rins, baço, placenta, leucócitos e intestino delgado. A ALP e as suas isoenzimas são determinadas no diagnóstico e controlo de patologias hepáticas, ósseas e intestinais. Apresenta-se elevada em todas as formas de colestase, doença de Paget, raquitismo, osteomalácia, fraturas e tumores malignos. No entanto, há que ter atenção, pois em crianças e adolescentes e nas mulheres pós-menopausa é normal os valores encontrarem-se acima do normal: nos primeiros devido a uma intensa atividade osteoblástica de remodelação óssea e nos segundos devido à osteoporose.

O doseamento em amostras séricas é efectuado por método enzimático. A fosfatase alcalina da amostra hidrolisa o p-nitrofenil fosfato com libertação de p-nitrofenol e aumento da absorvância que é medida espectrofotometricamente.

### **2.5.1.4 Lactato-desidrogenase (LDH)**

É uma enzima que catalisa a oxidação do L-lactato a piruvato utilizando o NAD<sup>+</sup> como aceitador de hidrogénio.

As alterações séricas da LDH podem ser observadas em hepatopatias, anemias hemolítica e megaloblástica (devido à eritropoiese ineficaz que leva a uma destruição precoce dos eritrócitos e seus percursores e faz com que sejam libertadas grandes quantidades de LDH), tumores abdominais e pulmonares, linfoma de Hodgkin e enfarte do miocárdio (Henry, 2001).

O doseamento é efetuado em amostras de soro e líquidos orgânicos, por método enzimático. A LDH catalisa a conversão de L-lactato em piruvato, com produção de NADH e aumento de absorvância medida espectrofotometricamente.

### **2.5.1.5 Amilase**

A amilase é uma enzima que degrada as moléculas dos carboidratos complexos em componentes mais pequenos. A amilase humana é uma  $\alpha$  – amilase devido à sua capacidade para romper as ligações  $\alpha$  -1,4, sem alterar as ligações  $\alpha$  -1,6 das cadeias laterais, sendo produzida pelo pâncreas exócrino e as glândulas salivares, para facilitar a digestão do amido. Devido ao seu baixo peso molecular é filtrada facilmente pelo glomérulo, pelo que se encontra aumentada na urina quando se encontra aumentada no soro. Os seus doseamentos no soro e na urina são usados para avaliar doenças pancreáticas e tumores, podendo a enzima ser também detetado nos líquidos ascítico e pleural.

O doseamento, em amostras de soro e urina, é efetuado por método enzimático com ação sequencial de 2 enzimas (amilase e alfa-glucosidase) com produção final de 5-p-nitrofenol. A intensidade da cor deste composto final, proporcional à atividade da amilase, é determinada medindo o aumento da absorvância, por espectrofotometria.

### **2.5.2 Bilirrubina**

A bilirrubina é o pigmento resultante, maioritariamente, da degradação do grupo heme da hemoglobina. A bilirrubina não conjugada (ou indireta) é transportada pela albumina até aos hepatócitos, local onde se dissociam. De seguida a bilirrubina é conjugada com o ácido glucurónico tornando-se hidrossolúvel, sendo excretada pelo fígado e acumulando-se na vesícula biliar. A descarga da biliar da vesícula para o duodeno vai ser importante na digestão das gorduras. Quando há obstrução das vias biliares, a bilirrubina conjugada volta para o sangue indo depositar-se na pele, nas membranas mucosas e na esclerótica dando origem a um sinal clínico designado por icterícia. O acréscimo da bilirrubina direta no sangue aumenta a sua excreção urinária ao mesmo tempo que as fezes se tornam acólicas (Henry, 2001).

#### **2.5.2.1 Bilirrubina Total**

O doseamento pode ser efetuado em soro, urina e outros líquidos orgânicos, por método colorimétrico. A bilirrubina liga-se ao ião diazónio com formação resultante de um composto vermelho cuja intensidade cromática é determinada por espectrofotometria.

#### **2.5.2.2 Bilirrubina direta (BD)**

A bilirrubina direta pode aparecer com valores alterados em casos de Doença de Dubin Jhonson, carcinoma do pâncreas ou da árvore biliar e hepatites.

O doseamento é efetuado pelo método Diazo, em amostras de soro. A BD (ou conjugada) reage diretamente com o ácido sulfanílico diazotizado formando a azobilirrubina, de cor vermelha, cuja intensidade cromática é determinada pelo aumento da absorvância medida por espectrofotometria.

### **2.5.2.3 Bilirrubina Indireta**

A BI é determinada pelo cálculo da diferença entre a BT e a BD (Henry, 2001).

## **2.6 Compostos nitrogenados**

### **2.6.1 Ureia**

Já referido no ponto 3.3.1..

### **2.6.2 Ácido úrico**

O ácido úrico é o produto final do metabolismo das purinas: a adenina e a guanina são convertidas em xantina que, por ação da xantina-oxidase, é oxidada a ácido úrico. A maior parte do ácido úrico forma-se no fígado, que apresenta uma grande atividade xantina-oxidase, formando-se o restante na mucosa intestinal e circula sob a forma de urato monossódico, com união mínima às proteínas plasmáticas. A sua excreção é feita através da urina, embora uma pequena quantidade seja também eliminada por via biliar, pancreática e gastrointestinal, com degradação posterior por parte da flora intestinal.

A sua determinação é muito útil no diagnóstico e monitorização de numerosas situações clínicas como insuficiência renal, gota, hipertensão, obesidade, entre outras.

O doseamento é efetuado em amostras de soro e de urina, por método enzimático (uricase e peroxidase) com formação final de um corante vermelho cuja intensidade cromática é medida espectrofotometricamente.

## **2.7 Marcadores de lesão do miocárdio**

### **2.7.1 Creatina Quinase (CK)**

É uma enzima que catalisa a fosforilação reversível da creatina com consumo de ATP. É uma enzima citoplasmática e mitocondrial que existe essencialmente no músculo estriado, miocárdio, placenta e cérebro. Esta enzima encontra-se aumentada em diversas situações clínicas tais como esforço muscular intenso, distrofia muscular progressiva e enfarte do miocárdio (é utilizado como marcador cardíaco) (Henry,2001).

Esta enzima é doseada em amostras de soro por método enzimático, que culminam na formação de NADPH, em quantidade proporcional à atividade da CK. O aumento da absorvância é medido espectrofotometricamente.

### **2.7.2 LDH e TGO**

Já referidas no ponto 2.5.1.1.5. e no ponto 2.2.5.1.1, respetivamente.

Quando o seu doseamento revela valores acima do normal podem também indicar lesão celular, uma vez que são enzimas preferencialmente intracelulares.

## **2.8 Cinética do ferro**

### **2.8.1 Ferro**

Ver ponto 3.3.4.7.

### **2.8.2 Capacidade total de fixação do ferro (TIBC)**

Valor calculado a partir dos valores de ferro sérico (Fe) e capacidade de fixação do ferro não saturado (UIBC), através da fórmula:

$$\text{TIBC} = \text{UIBC} + \text{Fe}$$

A UIBC é obtida por determinação directa com FerroZine, em amostras de soro.

### **2.8.3 Saturação da transferrina**

Obtida por cálculo a partir dos anteriores parâmetros e expressa em percentagem, segundo a fórmula:

$$\% \text{ Sat. Transf.} = \text{Fe} / \text{TIBC} \times 100$$

### **2.8.4 Ferritina**

A ferritina é um complexo proteico que tem como função a manutenção dos níveis de ferro no organismo, esta proteína encontra-se essencialmente nas células do fígado, baço e medula óssea onde é responsável pelo armazenamento do excesso de ferro do organismo. O doseamento é útil na deteção de défice ou excesso de ferro. Níveis elevados de ferritina são encontrados em situações de necrose celular, bloqueio da eritropoiese, inflamações ou por aumento da síntese por parte de algum tecido tumoral.

O seu doseamento é feito no Sector de Imunologia por electroquimioluminescência no Cobas e-411<sup>®</sup> (Roche Diagnóstica), a partir de amostras de soro.

## **V. Sector de Imunologia/Endocrinologia**

### **I. Imunoensaios**

Os imunoensaios são testes para doseamento de substâncias em fluidos biológicos baseados na interação antígeno-anticorpo. A reação tira partido da ligação específica de um anticorpo ao seu antígeno, apresentando uma elevada sensibilidade e especificidade. A utilização de anticorpos monoclonais, que se ligam a um local específico da molécula a determinar, garante uma elevada especificidade; a seleção de anticorpos de elevada afinidade garante uma elevada sensibilidade.

Estas características têm-lhe valido uma importância crescente em determinações analíticas, podendo ser utilizados para determinar antígenos ou anticorpos.

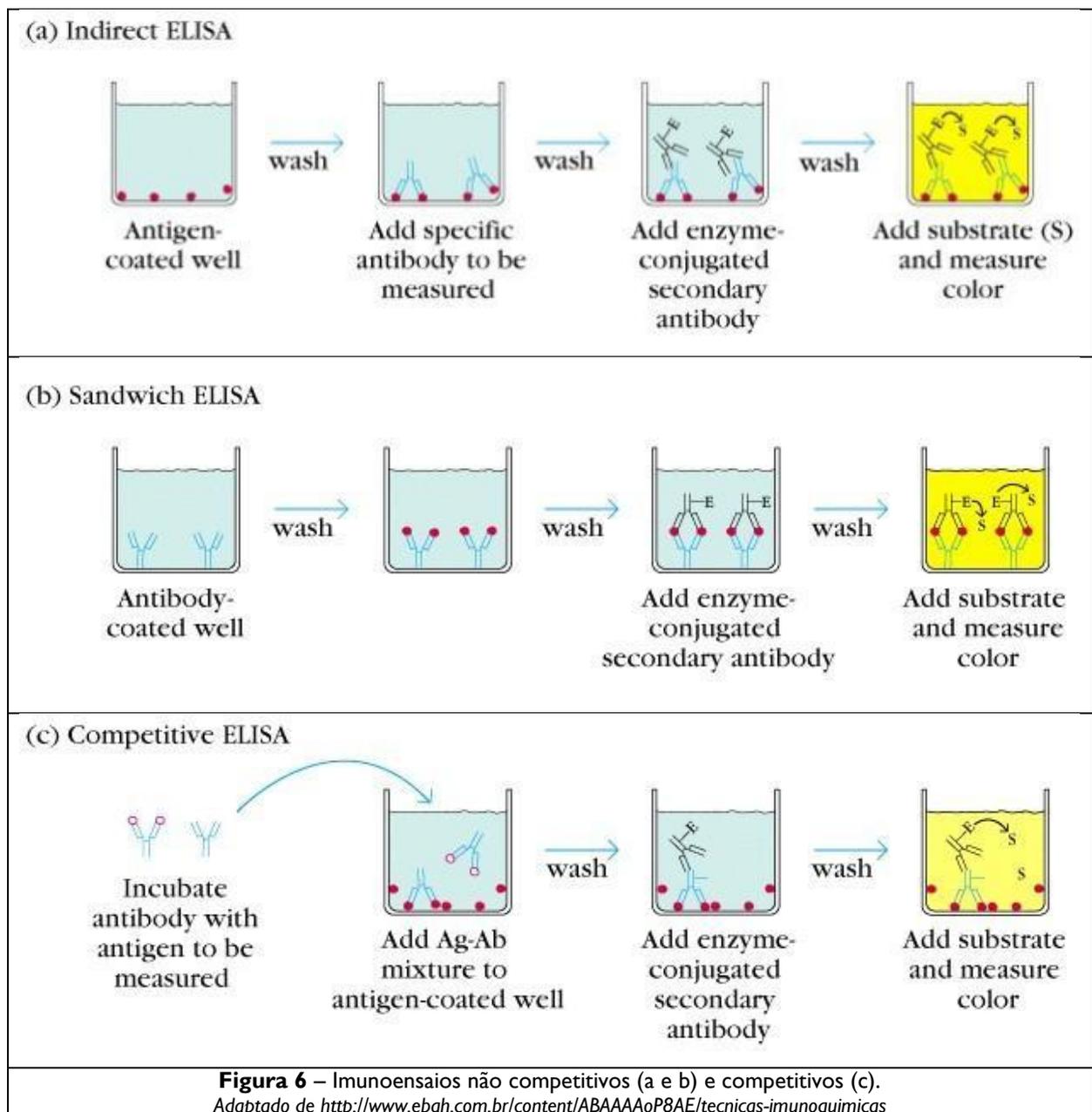
Os doseamentos implicam a utilização de padrões com concentrações conhecidas às quais se possam comparar os resultados obtidos com o analito, pela construção de curvas padrão.

### **2. Tipos de Imunoensaio**

Os imunoensaios podem dividir-se naqueles que utilizam reagentes marcados e nos que utilizam reagentes não marcados (seroaglutinação, nefelometria, turbidimetria, imunoprecipitação, imuno-electroforese, etc).

#### **2.1 Ensaios competitivos**

O antígeno a determinar na amostra compete com um antígeno marcado para o local de ligação dos anticorpos adsorvidos à superfície de uma fase sólida. Mede-se a quantidade de antígeno marcado que se ligou ao anticorpo, sendo que a resposta obtida é inversamente proporcional à quantidade de antígeno a determinar (Figura 6 c) quanto maior a resposta, menor a quantidade de antígeno a determinar que competiu com o antígeno marcado pelo local de ligação do anticorpo.



## 2.2 Ensaios não competitivos (tipo “sandwich”)

O antígeno a determinar liga-se ao anticorpo e um segundo anticorpo marcado liga-se então ao antígeno. Mede-se a quantidade de anticorpo marcado, sendo que a resposta é diretamente proporcional à concentração do antígeno a determinar. A resposta depende da quantidade de anticorpo marcado e este só se liga se o antígeno a determinar se ligar também (Figura 6 b).

### 3. Imunoensaios Usados

A tabela com os parâmetros doseados e os respectivos métodos encontra-se no Anexo I.

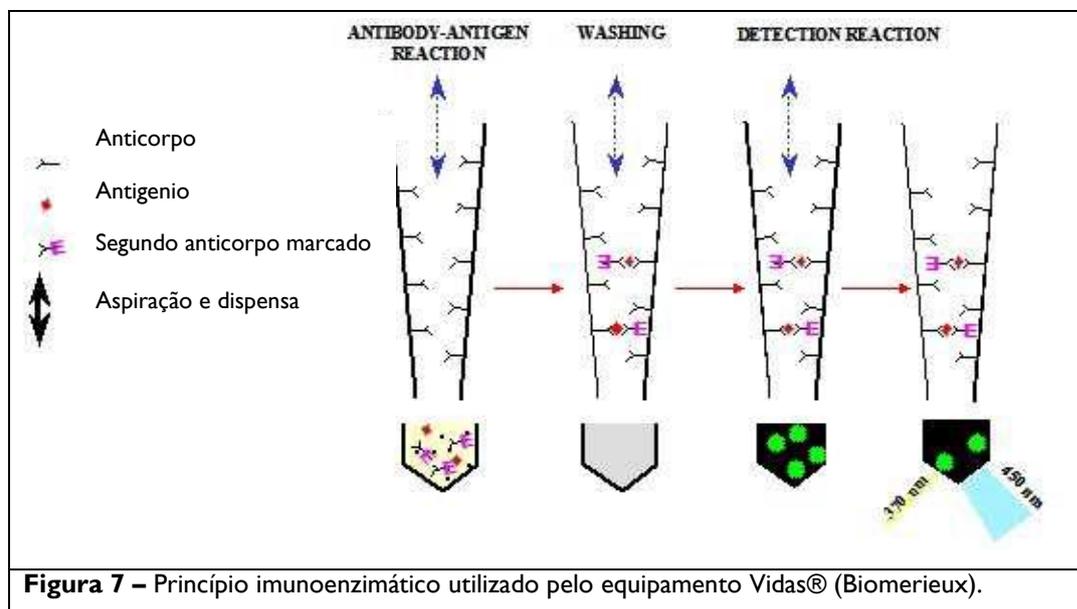
#### 3.1 Eletroquimioluminescência (ECLIA)

Nos ensaios de eletroquimioluminescência utilizam-se anticorpos marcados com complexos de rutênio para emissão de luz por alteração do potencial redox da solução em que se colocam e aplicação de corrente elétrica a um eletrodo. Este método é usado no equipamento Cobas e-411<sup>®</sup> (Roche Diagnostics).

Numa primeira fase, os analitos a determinar ligam-se a anticorpos marcados com complexos de rutênio e posteriormente a uma fase sólida que se liga ao eletrodo. São eliminados os elementos não ligados e é aplicada uma corrente no eletrodo que induz a emissão de luz pelo complexo de rutênio. A luz emitida é detetada num fotomultiplicador, sendo diretamente proporcional à concentração do analito na amostra nos ensaios não competitivos e inversamente proporcional à concentração deste nos ensaios competitivos.

#### 3.2 Enzyme Linked Fluorescent Assay (ELFA)

O sistema VIDAS<sup>®</sup> (Biomerieux) utiliza o princípio ELFA, que combina o método ELISA com uma leitura final em fluorescência (Figura 7).



### 4. Marcadores tumorais

Os marcadores tumorais são macromoléculas presentes no tumor, no sangue ou em outros líquidos biológicos, cujo aparecimento e/ou alteração na sua concentração estão relacionados com a gênese e o crescimento de células neoplásicas. Funcionam como

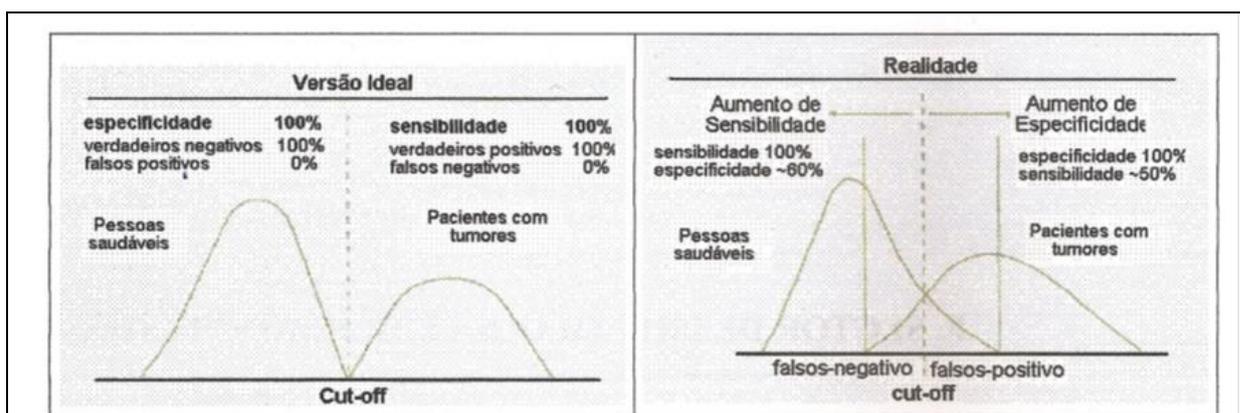
indicadores da presença de cancro e podem ser produzidas pelo próprio tumor ou pelo organismo em resposta ao tumor.

A maior parte dos marcadores tumorais são proteínas ou pedaços de proteínas, incluindo antígenos de superfície celular, proteínas citoplasmáticas, enzimas e hormonas.

A sua utilidade reside essencialmente na monitorização clínica dos pacientes com cancro, auxiliando nos processos de diagnóstico (triagem de casos específicos associado a exames complementares em grupos de alto risco e diagnóstico diferencial), estágio, avaliação de resposta terapêutica, detecção de recidivas e prognóstico, para além de auxiliar também o desenvolvimento de novas modalidades de tratamento (Bates;1991).

O valor de um marcador depende de duas características: sensibilidade e especificidade. A sensibilidade refere-se à proporção de indivíduos afetados por uma determinada patologia que foram corretamente identificados pela técnica em causa (acima do valor de *cut-off*), ou seja, a sensibilidade é a proporção de resultados positivos num grupo de indivíduos com a patologia em análise. A especificidade refere-se à proporção de indivíduos que são corretamente identificados pela técnica abaixo do valor de *cut-off*, ou seja, a especificidade corresponde à proporção de verdadeiros-negativos num grupo de pessoas saudáveis. O valor *cut-off* corresponde ao limite superior de concentração do marcador tumoral em pessoas saudáveis. (Fatteh, 1993)

Devido a fatores relacionados com a realização das técnicas e com as amostras, é raro haver uma técnica com 100% de especificidade e 100% de sensibilidade: esta situação corresponderia a um fenómeno de perfeição que ainda não foi atingido (Figura 8)



**Figura 8** – Diferenciação entre indivíduos saudáveis e indivíduos com tumores através do doseamento de marcadores tumorais ; adaptado de Fatteh-Moghadam A., et al. *Sensible use of tumour markers*; (1993); Roche *Diagnosticis*

O marcador ideal reúne as características de diagnóstico precoce de neoplasias e da sua origem, estabelecimento da extensão da doença, monitorização da resposta terapêutica e

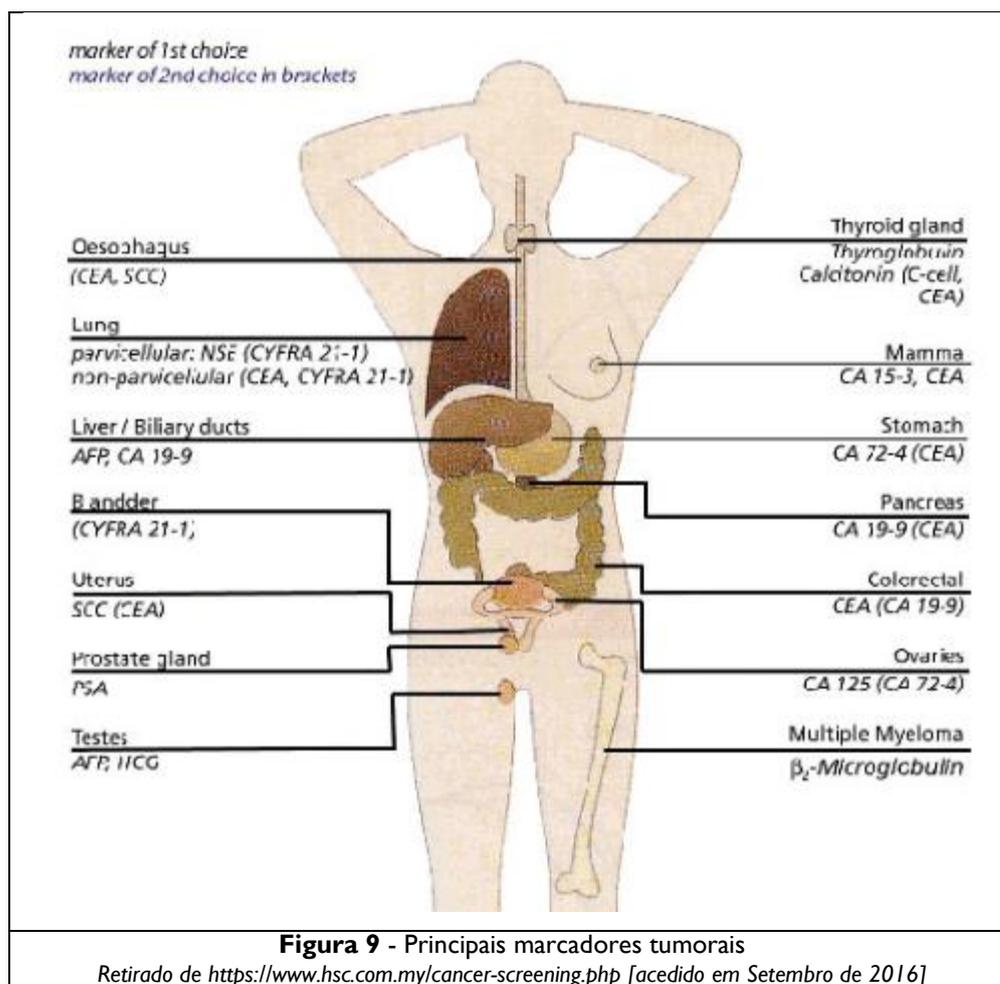
deteção precoce de recidiva, além de ser órgão-sítio específico e ter semivida curta, permitindo acompanhar temporariamente as mudanças do tumor. Em suma, deveria ser:

- Específico para um determinado tipo de tumor e sensível o bastante para detetar volumes tumorais antes da disseminação neoplásica (ou seja, de utilidade para triagem e diagnóstico precoce);
- Ser produzido apenas pelo tumor e secretado em quantidades mensuráveis nos fluidos corporais.

Como ideal que é ainda não existe, ou melhor, ainda não está disponível, sendo mesmo que a maior parte dos utilizados até ao momento peca pela falta de especificidade e sensibilidade, não podendo ser usados em triagem populacional ou no estabelecimento de diagnóstico primário do cancro.

Os marcadores produzidos pelo tumor incluem enzimas e isoenzimas, hormonas, antígenos oncofetais, glicoproteínas, moléculas do sistema imunológico, produtos de oncogenes e transformações genéticas.

A Figura 9 apresenta esquematicamente o uso dos principais marcadores tumorais.



## **4.1 Glicoproteínas**

As glicoproteínas atuam como antígenos e constituem a maioria dos marcadores tumorais. Podem derivar de tecidos placentários ( $\beta$ -hCG) ou de tecidos fetais (CEA, AFP), aparecendo em pequenas quantidades em vários tecidos normais do homem adulto. Os determinantes antigénicos encontram-se na cadeia polipeptídica.

As glicoproteínas não são tumor-específicas.

### **4.1.1 Antígeno Carcinoembrionário - CEA**

O Antígeno Carcinoembrionário (CEA) é uma glicoproteína presente na superfície da membrana celular normalmente encontrada apenas em pequenas quantidades no sangue de pessoas saudáveis, podendo sofrer um aumento em situações tumorais ou em situações não patológicas. Um nível elevado de CEA tem sido encontrado em mais de metade das pessoas que têm cancro de cólon, pâncreas, estômago, pulmão ou mama. O seu aumento pode também existir em pacientes com outros tipos de cancro, colite ulcerosa, doenças hepáticas e infeção. Os níveis séricos de CEA podem tornar-se indetectáveis após remoção completa do tumor de cólon ou pulmão num período que varia de poucos dias até 3 meses.

O aumento de CEA não varia apenas com o tipo de tumor, mas também com seu estadio de desenvolvimento, sendo geralmente mais elevado em pacientes com doenças metastáticas. Os níveis séricos de CEA têm também mostrado correlação com resposta tumoral ou progressão em pacientes que se submetem a quimioterapia ou radioterapia.

O CEA tem sido amplamente utilizado como auxiliar no diagnóstico e tratamento do cancro (Abbott,2016; Roche,2016; Ashwood,2012).

### **4.1.2 Alfafetoproteína – AFP**

AFP é uma proteína oncofetal. É a principal proteína fetal, atingindo o pico na 14ª semana de gestação e declinando à época do nascimento. Estes níveis caem rapidamente para o nível normal do adulto.

Níveis séricos elevados de AFP são observados em pacientes com doenças hepáticas, particularmente carcinoma hepatocelular, e em neoplasias malignas derivadas do saco embrionário. Elevações discretas a moderadas (< 200 microgramas/l) são vistas em 10 a 35% dos pacientes com doenças hepáticas não malignas como cirrose e hepatite. Níveis séricos superiores a 500 microgramas/l são virtualmente diagnóstico de tumor, embora algumas poucas exceções tenham sido relatadas em necrose hepática sub-aguda.

Após ressecção curativa para carcinoma hepatocelular os níveis séricos de AFP retornam ao normal; elevações persistentes geralmente representam doença residual (Abbott,2016; Roche,2016; Ashwood,2012).

#### **4.1.3 Gonadotropina Corionica Humana - $\beta$ -hCG**

A Gonadotropina Coriônica Humana (HCG) é normalmente secretada pela placenta durante a gravidez. Consiste numa hormona glicoproteica, constituída por duas subunidades: a cadeia beta exclusiva e a cadeia alfa que tem semelhança estrutural com a hormona luteinizante (LH) humana.

Todos os tumores trofoblásticos têm níveis elevados de  $\beta$ -hCG. A utilidade clínica deste marcador para estes tumores é excelente, com aproximadamente 100% de sensibilidade e especificidade para diagnóstico, correlação definida com resposta e predição de metástases ocultas e recidiva após tratamento. Um aumento de  $\beta$ -hCG pode também estar associado à presença de cancro de células germinativas. Indivíduos com doenças benignas como doença inflamatória do intestino, úlceras duodenais, cirrose ou doenças como cancro da mama, pulmão, pâncreas, ovário ou sistema gastrointestinal podem ter níveis elevados de HCG. (Abbott,2016; Roche,2016; Ashwood,2012)

#### **4.1.4 Antígeno Específico da Próstata – PSA**

O Antígeno Específico da Próstata (PSA) é uma proteína produzida tanto por tecido prostático normal como anormal ao nível das células alveolares e do epitélio ductal da próstata.

Os níveis séricos de PSA correlacionam-se com o desenvolvimento clínico e patológico do cancro da próstata. No entanto, 21 a 68% dos pacientes com doenças prostáticas não malignas, tais como hiperplasia benigna da próstata ou prostatite apresentam um aumento deste marcador. Por esta razão, o teste de PSA nem sempre permite distinguir entre condições benignas na próstata e uma situação tumoral. O teste de PSA é também útil no seguimento da eficácia do tratamento do cancro prostático com o decorrer do tempo. Quando o nível do PSA no sangue de um paciente retorna ao normal após o tratamento, normalmente significa que o tratamento conseguiu estancar o crescimento do tumor.

Frequentemente, um simples teste que mostra um nível de PSA medianamente elevado pode não ter resultados significativos. Procedimentos cirúrgicos ou manipulação da próstata durante procedimentos médicos podem elevar os níveis séricos do PSA. (Abbott,2016; Roche,2016; Ashwood,2012).

#### **4.1.4.1 PSA total (PSAT), PSA livre (PSAL) e Razão PSAL/PSAT**

O PSA circula no sangue em duas formas distintas: a forma livre e a forma complexada com inibidores da protease, em especial a  $\alpha$ 1-antiquimiotripsina (ACT) e a  $\beta$ 2-macroglobulina (AMG). Nos pacientes com carcinoma da próstata, a principal forma em circulação é a forma complexada com a ACT (PSA-ACT). A determinação de ambas as formas (livre e complexada) como ratio é útil para discriminar entre carcinoma da próstata (CP) e hiperplasia benigna da próstata (HBP). A % de PSA livre é, em média, inferior no CP do que na HBP e tem vindo a ser utilizado como auxiliar no diagnóstico de CP quando a concentração de PSA total está na zona cinzenta, isto é, entre 4 e 10 ng/mL: valores de relação PSA livre/PSA total <10% indicam probabilidade de CP, enquanto os superiores indicam probabilidade de HBP.

### **4.2 Glicoproteínas do grupo das mucinas**

São antigénios da superfície celular com alto peso molecular e conteúdo em carboidratos que varia de 60 a 80%. As células presentes na superfície epitelial expressam estas glicoproteínas.

#### **4.2.1 Antígeno Carbohidrato 15.3 – CA 15.3**

Níveis de antígeno carbohidrato 15.3 (CA 15.3) elevados podem ser encontrados em doentes com cancro da mama, outros tipos de cancro ou mesmo em doenças benignas. O CA 15.3 raramente está elevado em mulheres no início do processo tumoral da mama, tendo por isso pouca utilidade como ferramenta de diagnóstico. Este marcador pode ajudar o clínico a determinar a extensão da doença e a resposta do paciente ao tratamento.

Aumento dos níveis séricos de CA 15.3 foram observados também em situações de tumores no ovário, pulmão e fígado, bem como em casos de hepatite crónica, cirrose hepática, sarcoidose, tuberculose e lúpus eritematoso sistémico. O CA 15.3 é mais sensível do que o CEA para cancro da mama em qualquer etapa do seu desenvolvimento, embora não tenha valor diagnóstico, este marcador pode ter valor prognóstico. Tal como outros marcadores, o CA 15.3 decresce em pacientes como resposta ao tratamento para carcinoma da mama. (Abbott,2016; Roche,2016; Ashwood,2012).

#### **4.2.2 Antígeno Carbohidrato 19.9 - CA 19.9**

O antígeno carbohidrato 19.9 (CA 19.9), é indicado como marcador de situações tumorais do trato gastrointestinal, sendo de primeira escolha em tumores do pâncreas e trato biliar

e de segunda escolha para o cancro cólon-rectal. A sensibilidade deste marcador é variável com a localização do tumor.

Para além de tumores do trato gastrointestinal também ocorre em menor frequência em cancros da mama, de pulmão de cabeça e pescoço. Algumas doenças como cirrose hepática, pancreatite, doença inflamatória intestinal e doenças autoimunes podem aumentar os níveis de CA19.9. O diagnóstico diferencial com base nesta análise não pode ser estabelecido uma vez que também ocorre aumento dos valores séricos em situações de pancreatite e doenças hepáticas não tumorais. Os níveis de CA 19.9 correlacionam-se com a resposta terapêutica e progressão do tumor (Abbott,2016; Roche,2016; Ashwood,2012).

#### **4.2.3 Antígeno Carbohidrato 125 – CA 125**

A proteína CA 125 é uma glicoproteína produzida por uma variedade de células, particularmente por células tumorais do ovário. De modo menos comum, os níveis de CA 125 no sangue podem encontrar-se elevados em pacientes com cancro colo-rectal ou da mama. Na mulher os níveis de CA 125 podem encontrar-se elevados em situações de gravidez, endometriose, quistos no ovário ou em pessoas com cirrose, hepatite ou pancreatite. O CA 125 é o marcador tumoral mais utilizado para o cancro do ovário, sendo também útil para cancro do endométrio e endometriose (Abbott,2016; Roche,2016; Ashwood,2012).

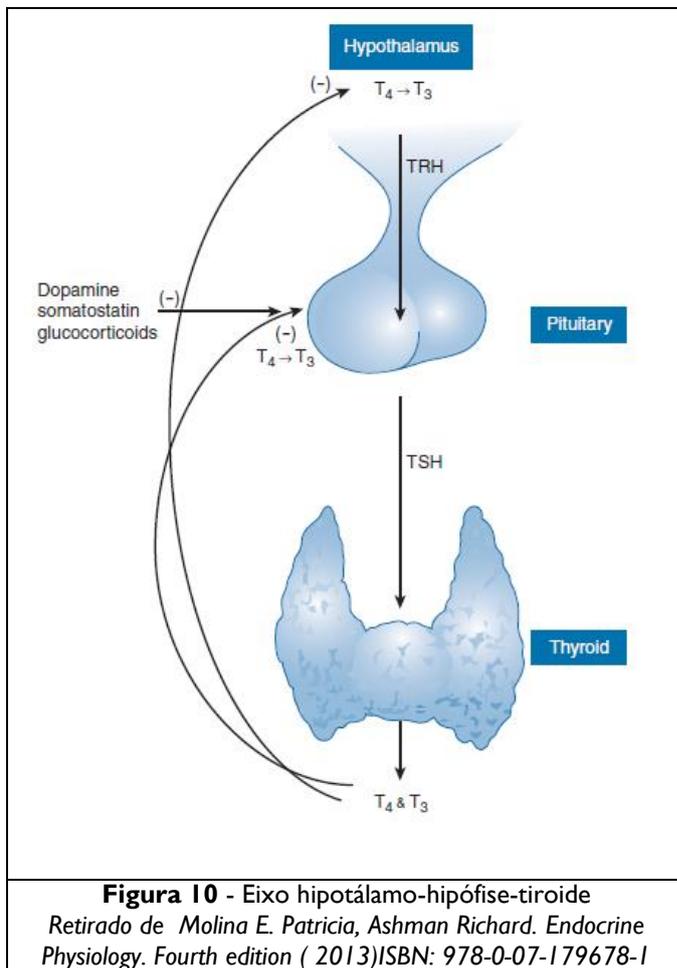
### **5. Estudo da Função Endócrina**

#### **5.1 Eixo Hipotálamo-Hipófise-Tiroide**

A tiroide é uma glândula secretora localizada na zona do pescoço. A hormona libertadora da tirotropina (TRH) é sintetizada no hipotálamo e estimula a libertação da hormona estimuladora da tiroide (TSH) pela hipófise. A TSH vai estimular a glândula da tiroide a produzir tetraiodotironina ( $T_4$ ) e triiodotironina ( $T_3$ ), a partir de uma base de iodo nas células foliculares. A  $T_3$  e  $T_4$  vão inibir a libertação de TRH directa e indirectamente (Figura 10).

### 5.1.1 Hormona Estimulante da Tireoide (TSH)

A TSH exerce a sua ação nos recetores específicos de superfície das células da tireoide



**Figura 10** - Eixo hipotálamo-hipófise-tireoide

Retirado de Molina E. Patricia, Ashman Richard. *Endocrine Physiology. Fourth edition (2013)* ISBN: 978-0-07-179678-1

sendo o mais comum o hipotireoidismo primário.

O hipertireoidismo é caracterizado por aumento do metabolismo basal e distúrbios do sistema nervoso autónomo, sendo as causas mais comuns no adulto. Pode ser causado por doença de Graves e o bócio nodular difuso (Molina, 2013).

### 5.1.2 Triiodotironina – T3

A T<sub>3</sub> é originada maioritariamente por desiodação da T<sub>4</sub>, sendo também sintetizada, em menor quantidade, e secretada pela tireoide. É um bom marcador de hipertireoidismo.

Na circulação está praticamente toda ligada a proteínas de transporte (TBG – Globulina transportadora de tiroxina, albumina e pré-albumina transportadora de tiroxina). A T<sub>3</sub> ligada a proteínas é inativa, sendo uma reserva da fração metabolicamente ativa - T<sub>3</sub> livre (Molina, 2013).

estimulando a produção celular e a síntese e secreção de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub>. A determinação dos níveis de TSH tem especial importância no diagnóstico diferencial do hipotireoidismo/hipertireoidismo (ver fluxogramas de avaliação nos anexo II e III):

- Hipotireoidismo Primário: TSH elevada; FT<sub>4</sub> diminuída
- Hipotireoidismo secundário: diminuição da TSH, T<sub>4</sub> e T<sub>3</sub>
- Hipertireoidismo primário: TSH indetectável; T<sub>4</sub> e T<sub>3</sub> elevadas
- Hipertireoidismo secundário: TSH, T<sub>4</sub> e T<sub>3</sub> elevadas

O hipotireoidismo resulta da ação inadequada das hormonas tiroideias,

### **5.1.3 Tiroxina - T<sub>4</sub>**

A tiroxina é sintetizada e secretada pela tiroide e lançada na circulação como resposta á TSH. A sua concentração correlaciona-se melhor com os casos de hipotiroidismo. Na circulação está praticamente toda ligada a proteínas de transporte, albumina e pré-albumina transportadora de tiroxina). A T<sub>4</sub> ligada a proteínas é inativa, sendo uma reserva da fração metabolicamente ativa – T<sub>4</sub> livre , 2013).

### **5.1.4 T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> Livres – FT<sub>3</sub> e FT<sub>4</sub>**

Os níveis de T<sub>3</sub> livre e T<sub>4</sub> livre estão relacionados com a secreção e metabolismo de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> respetivamente. Os doseamentos de T<sub>3</sub> livre e T<sub>4</sub> livre são importantes quando se verificam alterações nas ligações de T<sub>3</sub> e T<sub>4</sub> à (TBG). A TBG permanece em níveis constantes em indivíduos saudáveis, no entanto, a gravidez e a terapia com corticosteróides pode alterar estes níveis. Nestes casos, a razão T<sub>3</sub> / T<sub>4</sub> livres permanece inalterada mas a razão T<sub>3</sub> / T<sub>4</sub> total acompanha as alterações da TBG (Molina, 2013).

### **5.1.5 Anticorpos Anti-Tiroideos**

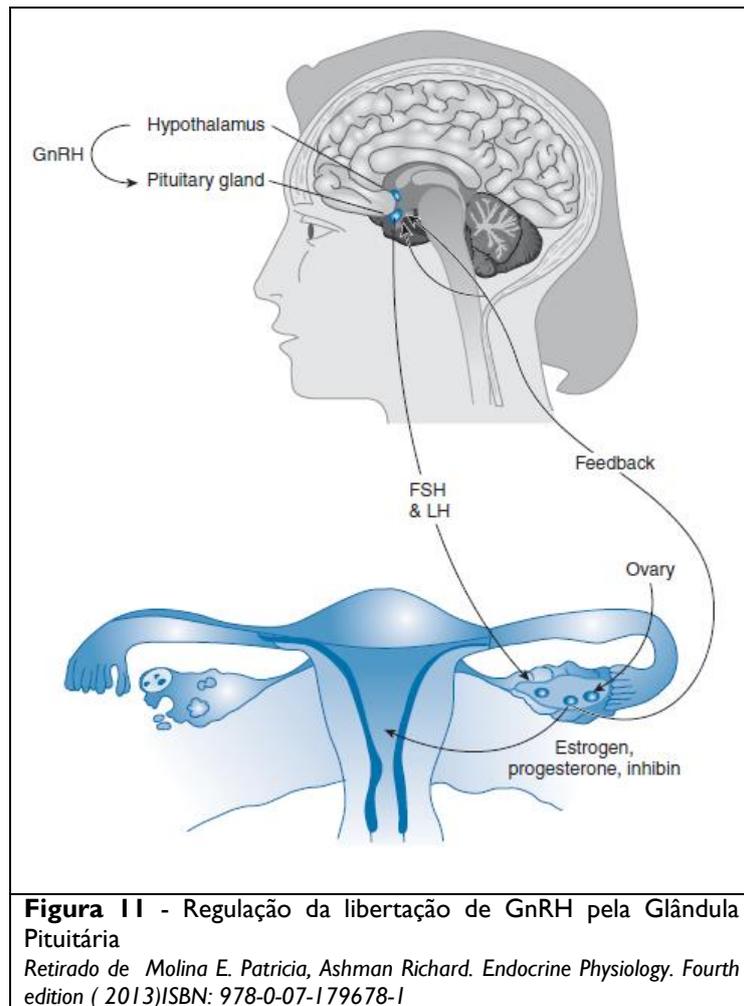
Os processos autoimunes destrutivos têm um papel importante, determinando a produção de anticorpos específicos e os processos celulares infiltrativos no próprio órgão.

A tiroidite autoimune (Tiroidite de Hashimoto) é acompanhada de aumento dos anticorpos antiroideus, maioritariamente os antimicrosossomais ou antiperoxidase (ATPO) e, menos frequentemente e em menor quantidade, os anticorpos anti-tiroglobulina (ATG) (Molina, 2013). A tiroglobulina tem um papel importante na biossíntese das hormonas da tiroide, e a peroxidase catalisa a iodação da tiroglobulina e a ligação dos dois resíduos de diiodotirosina da molécula de tiroglobulina para formar tiroxina.

## **5.2 Eixo Hipotálamo-Hipófise-Gónadas**

### **5.2.1 Função Gonadal Feminina**

A secreção de hormona libertadora da gonadotropina (GNRH) pelo hipotálamo estimula a libertação de hormona luteínica (LH) e de hormona folículo estimulante (FSH) pela glândula pituitária (Figura 11). Inicia-se uma cascata de eventos que culmina com a produção ovárica de estradiol e progesterona, as duas principais hormonas envolvidas na regulação da função ovárica e controlo do ciclo reprodutivo.

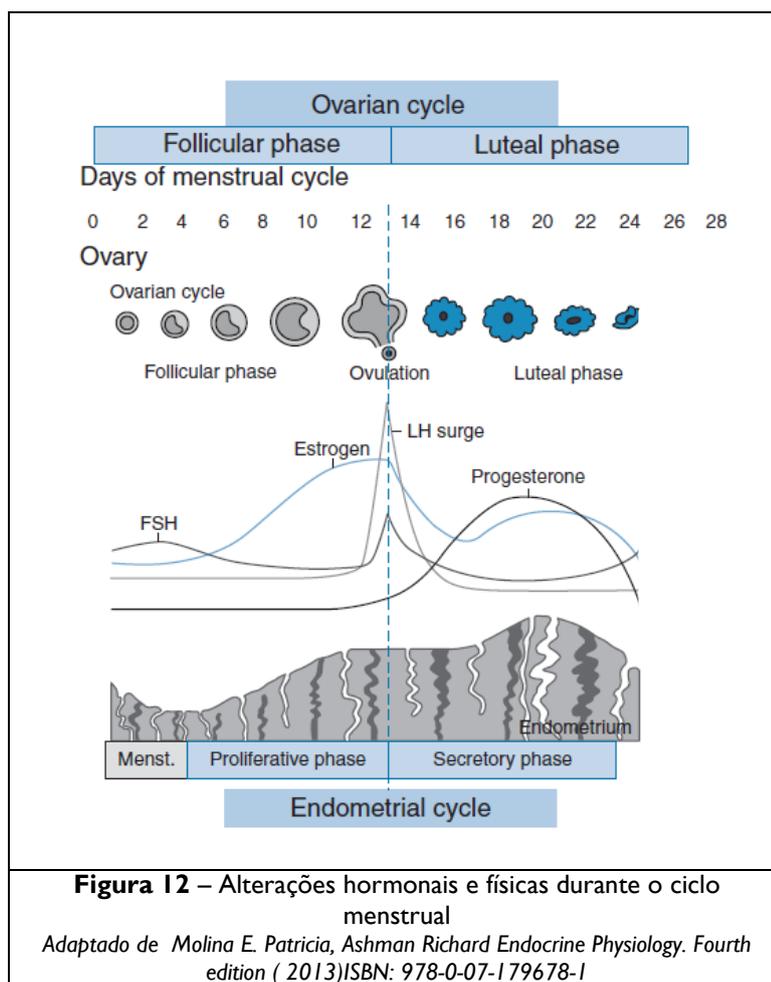


A liberação pulsátil das gonadotropinas resulta numa resposta cíclica, ciclo menstrual, com duração de 28 dias e é dividido na fase folicular e fase lútea (Figura 12).

A fase folicular corresponde à primeira fase do ciclo em que se dá o crescimento e desenvolvimento do folículo. Apenas os folículos que respondem à estimulação pela FSH entram na fase final de ovulação. A meio do ciclo (14º dia) o aumento dos níveis de estrogénio estimula a liberação de um pico de LH, responsável pela estimulação da ovulação. Segue-se a fase lútea com a formação do corpo lúteo, que produz progesterona e, em menor quantidade, estradiol e inibina A. Esta fase termina quando não há fertilização, dando-se início a um novo ciclo.

Se ocorrer fertilização o corpo lúteo, mantido pela hormona gonadotrofina coriónica Humana (hCG), garante a produção de progesterona até esta passar a ser secretada pela placenta. É detetada no soro 6 a 8 dias após a implantação, atingindo um pico aos 60-90 dias de gestação, iniciando depois a declinar. A hCG é estruturalmente e funcionalmente semelhante à LH, exercendo os seus efeitos fisiológicos através da ligação ao receptor da LH. Tem também um papel importante do desenvolvimento fetal através da regulação de testosterona pelas células de Leydig fetais (Molina,2013).

A hCG é conhecida como a hormona da gravidez sendo a hormona pesquisada nos testes de gravidez.



As alterações na função endócrina podem produzir manifestações como a puberdade precoce, amenorreia, metrorragia e infertilidade. Alterações do desenvolvimento e função ovariana são de origem gonadal e, raramente, defeitos na síntese de esteroides ováricos.

O hipergonadismo hipergonadotrófico pode ser relacionado com o aumento de liberação de hormonas gonadais relacionada com tumores e doenças inflamatórias cerebrais, ou pode resultar por excesso de produção de hormonas por tumores dos ovários.

O hipogonadismo hipergonadotrófico pode ser causado por hiperplasia adrenal congénita ou O hipogonadismo hipergonadotrófico por diminuição da produção hormonal dos ovários, apesar de haver liberação adequada de gonadotropinas, pode ser genético ou adquirido (ex: radiação) (Molina, 2013).

### 5.2.2 Função Gonadal Masculina

Os testículos têm com principais funções fisiológicas a diferenciação sexual, maturação e virilização, assim como a espermatogénese. O controlo hormonal é efetuado,

principalmente, pela FSH e LH, que se encontram sob influência da GnRH libertada pelo hipotálamo. As células de Sertoli e de Leydig são as principais células responsáveis pela função testicular. A LH estimula a produção de testosterona que, por sua vez, tem efeito inibitório na libertação de LH, maioritariamente mediado pelo  $17\beta$ -estradiol (metabolito resultante da aromatização da testosterona). O feed-back negativo da libertação de TSH a nível da pituitária é mediado pela inibina B, peptídeo produzido pelas células de Sertoli.

Hipergonadismo pode causar puberdade precoce. A virilização prematura pode dever-se a tumores do hipotálamo, mutações dos receptores de LH, hiperplasia adrenal congénita e tumores produtores de androgénios.

O hipogonadismo pode ser causado por alterações a nível do eixo hipotálamo/glândula pituitária que causam, (hipogonadismo hipogonadotrófico ou hipogonadismo secundário) ou por disfunção testicular (hipogonadismo hipergonadotrófico ou hipogonadismo primário) (Molina, 2013).

### **5.2.3 Principais Hormonas Gonadais**

#### **5.2.3.1 Hormona Estimulante do Folículo - FSH**

Na mulher, tem como alvo os folículos ováricos, estimulando o seu desenvolvimento, a produção de estradiol e outros estrogénios durante a fase folicular do ciclo menstrual. No homem, tem como alvo as células de *Sertoli*, dos túbulos seminiais dos testículos estimulando a espermatogénese (Molina, 2013). É utilizada para monitorizar tratamentos da hipófise e distúrbios das gónadas. Valores elevados de FSH encontram-se em mulheres que atingiram já a menopausa.

#### **5.2.3.2 Hormona Luteinizante – LH**

É uma glicoproteína tem como alvo, na mulher, as células teca dos folículos ováricos onde, estimula a produção de androgéneos, que a FSH converte em estradiol durante a fase folicular. Actua, também, no folículo de *graaf* onde, juntamente, com a FSH estimula a ovulação. Por último, induz a formação do corpo lúteo e a secreção de progesterona. No homem, tem como alvo as células de *Leydig*, no tecido intersticial dos testículos estimulando a secreção de testosterona.

O doseamento desta hormona em conjunto com a hormona de crescimento é útil para o diagnóstico precoce das afeções da tiroide, anomalias testiculares e infertilidade (Molina, 2013).

### **5.2.3.3 Progesterona**

A progesterona é uma hormona esteroide que, em conjunto com o estradiol, é responsável pela alteração da espessura do endométrio durante o ciclo menstrual e pela manutenção da sua espessura necessária ao alojamento do embrião durante a gestação.

A progesterona é sintetizada a partir do colesterol no ovário, placenta e córtex adrenal (pelo homem e pela mulher) e é metabolizada no fígado. O doseamento da progesterona é utilizado para a deteção da ovulação e alteração do ciclo menstrual (Molina,2013).

### **5.2.3.4 Estradiol**

O estradiol é uma hormona esteroide sintetizada a partir do colesterol, nos folículos do ovário, corpo lúteo, placenta e nos testículos, sendo regulada pelas hormonas LH e FSH.

O doseamento do estradiol é importante no estudo da função do ovário e na monitorização do desenvolvimento folicular em protocolos de fertilização. A sua principal função é estimular o crescimento dos órgãos sexuais e o desenvolvimento dos caracteres sexuais secundários femininos (Molina, 2013).

### **5.2.3.5 Prolactina - PRL**

A prolactina é uma hormona polipeptídica produzida na hipófise por regulação do hipotálamo. Desempenha um papel principal na produção de leite materno e tem a capacidade de suprimir a função gonadal. No homem, a prolactina exerce a função ao nível dos testículos. A utilidade do seu doseamento reside na investigação da amenorreia, galactorreia e desordens hipotalâmico-pituitárias. Uma diminuição do nível sérico de prolactina pode ser indicativa de lesão na hipófise (Molina, 2013).

### **5.2.3.6 Testosterona Total**

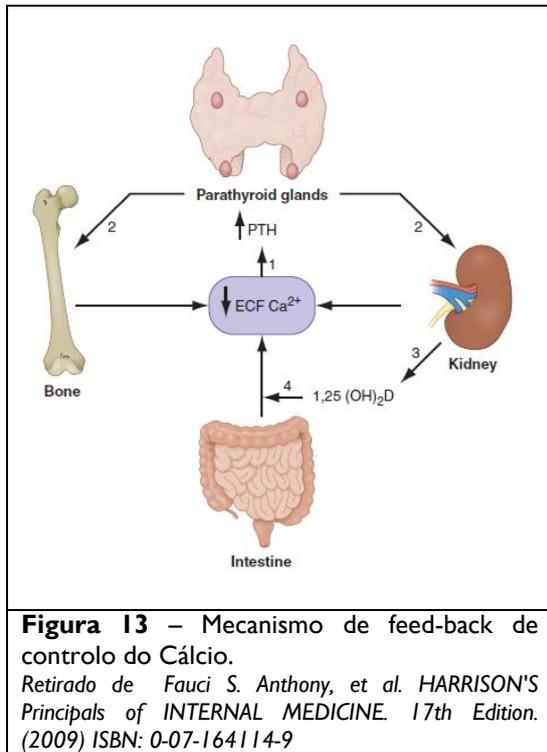
Esta hormona é responsável pelo desenvolvimento das características sexuais secundárias masculinas e circula essencialmente ligada a proteínas do plasma, havendo também uma fração que circula de modo livre.

Uma diminuição dos níveis séricos de testosterona no homem está associada a situações de hipogonadismo e cirrose hepática.

Na mulher esta hormona é sintetizada pelos ovários e glândulas adrenais, um aumento dos níveis séricos pode estar associado a tumores do ovário ou hiperplasias das glândulas adrenais (Molina, 2013).

### 5.2.4 Metabolismo do Cálcio e Patologia Óssea

A concentração de cálcio no soro é mantida em níveis normais por mecanismo de feed-back (Figura 13). A diminuição do  $\text{Ca}^{2+}$  no espaço extracelular estimula um aumento na secreção de PTH, resultando no aumento da reabsorção renal e óssea de cálcio. É também estimulada a produção de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ , que vai actuar no intestino, aumentando a absorção de cálcio (Fauci, 2009).



#### 5.2.4.1 Hormona Paratiroideia – PTH

A PTH é um polipeptídeo que se encontra armazenado em grânulos secretores da glândula paratiroideia e tem como função a manutenção dos níveis de cálcio no organismo. A PTH aumenta os níveis de cálcio no organismo por acção directa sobre os ossos (mobilização de reservas) e rim (regulação da excreção). Pode também actuar ao nível da absorção intestinal. Assim, o doseamento da PTH é utilizado para detectar e monitorizar disfunções no metabolismo do cálcio.

#### 5.2.4.2 25 (OH) VITAMINA D

Para que a Vitamina D apresente atividade biológica, é necessário que sofra hidroxilações enzimáticas. A primeira hidroxilação ocorre no fígado, de onde se obtém a 25 (OH) Vitamina D. A Vitamina D tem elevada influência no metabolismo do fósforo e cálcio através da estimulação da absorção intestinal de cálcio e fósforo e da reabsorção de cálcio dos ossos, assim como estimula a reabsorção tubular do cálcio.

## 6. Estudo de anemias

### 7.

#### 7.1 Ferritina

A ferritina é um complexo proteico que tem como função a manutenção dos níveis de ferro no organismo, esta proteína encontra-se essencialmente nas células do fígado, baço e medula óssea onde é responsável pelo armazenamento do excesso de ferro do organismo. O doseamento é útil na deteção de défice ou excesso de ferro. Níveis elevados de ferritina são

encontrados em situações de necrose celular, bloqueio da eritropoiese, inflamações ou por aumento da síntese por parte de algum tecido tumoral.

## **7.2 Transferrina**

A transferrina é a principal proteína plasmática de transporte do ferro. A sua concentração correlaciona-se com a capacidade total de fixação do ferro no soro.

Os seus níveis plasmáticos são aparentemente regulados pela disponibilidade de ferro: em estados de anemia com ferro diminuído os seus níveis aumentam com a terapêutica. A determinação dos níveis plasmáticos de transferrina é útil no diagnóstico diferencial e monitorização terapêutica de anemia.

## **7.3 Ácido Fólico e Vitamina B12**

Estes elementos são doseados essencialmente na investigação da causa de anemias. As suas carências são geralmente de origem alimentar e podem gerar situações de anemia de extensão variável.

## **8. Marcadores de Infecção/Inflamação**

As alterações mais comuns, da concentração das proteínas na doença, resultam da chamada reação de fase aguda, que é originada por uma resposta inflamatória inespecífica ou por dano tecidual. Assim, temos:

- Proteínas de fase aguda positiva, quando aumenta a sua concentração plasmática:
  - Proteína C Reactiva (PCR)
  - $\alpha$  1-Antitripsina
  - $\beta$  2-Microglobulina
  - Haptoglobulina (proteína de fase aguda de resposta tardia)
  - Ceruloplasmina (proteína de fase aguda de resposta tardia)
  - Procalcitonina
  
- Proteínas de fase aguda negativa, quando a sua concentração plasmática diminui:
  - Albumina
  - Transferrina

### 8.1 Proteína C Reativa – PCR

A PCR é uma proteína de fase aguda, encontrando-se aumentada em processos inflamatórios, enfarte do miocárdio, stress, trauma e proliferação neoplásica. Vários estudos epidemiológicos demonstraram que concentrações séricas aumentadas de PCR estão associadas a um maior risco de eventos cardiovasculares. O uso da CRP para este propósito requer um método mais sensível, com um limite de deteção inferior a 0,3 mg/L, designado de proteína C-reativa de alta sensibilidade (hsPCR) (Ashwood,2012).

## 9. Diagnóstico Serológico de Doenças Infecciosas

### 9.1 Toxoplasmose

A toxoplasmose é uma zoonose causada pelo *Toxoplasma gondii*. É um parasita de vida intracelular obrigatória. A transmissão aos humanos normalmente ocorre por ingestão de alimentos crus ou mal cozidos, água não-potável, contacto com animais infetados e por via transplacentária.

A infeção é, geralmente, assintomática ou subclínica, com raros casos graves, que se manifestam especialmente em indivíduos imunocomprometidos e na gravidez, levando a riscos abortivos e teratogénicos.

Os anticorpos IgM anti-*Toxoplasma* (Anti-TXM) aparecem em circulação de 2 a 4 semanas após o aparecimento da sintomatologia clínica desaparecendo após três a nove meses. Os níveis de anticorpos IgG (Anti-TXG) aumentam gradualmente e atingem um máximo de dois a cinco meses após o aparecimento da sintomatologia clínica. Os anticorpos de classe IgM indicam infeção recente, enquanto os de classe IgG, mais tardios indicam infeção já resolvida ou vacinação (Ver tabela 2).

**Tabela 2** – Interpretação de resultados no diagnóstico da infeção por *Toxoplasma gondii*.

Anti -TXM	Anti - TXG	Interpretação
Negativo	Negativo	Ausência de Infeção ou Ausência de Imunidade
Positivo	Negativo	Início da infeção ou Presença de IgM não específica
Negativo	Positivo	Imunidade ou Primoinfeção sem IgM
Positivo	Positivo	Presença de Infeção

O diagnóstico diferencial da toxoplasmose aguda obtido através do ensaio sérico da IgM específica permite o tratamento adequado, o qual reduz o risco de doença nos doentes imunocomprometidos e nas mulheres grávidas. O ensaio sérico da IgG é útil para distinguir a

população que já contraiu a doença da não imune. Isto é particularmente importante para a adoção de medidas profiláticas nas mulheres suscetíveis em idade fértil (Tille,2014).

## **9.2 Rubéola**

A rubéola é uma doença infecciosa provocada por um vírus de ARN da família *Togavirus*. A transmissão é por contacto direto, secreções ou pelo ar.

A infeção, geralmente, tem evolução benigna e em metade dos casos não produz qualquer manifestação clínica. O vírus da rubéola só é realmente perigoso quando a infeção ocorre durante a gravidez, com invasão da placenta e infeção do embrião, especialmente durante os primeiros três meses de gestação. Nessas circunstâncias, a rubéola pode causar aborto, morte fetal, parto prematuro e malformações congénitas. Uma infeção nos primeiros três meses da gravidez pelo vírus da rubéola é suficiente para a indicação de aborto voluntário da gravidez (Tille,2014).

## **10. Virologia**

### **10.1 Hepatites**

As hepatites virais são patologias que afectam as células do fígado, um órgão envolvido em muitas funções metabólicas. Os indivíduos infectados apresentam sintomas genéricos, inicialmente similares à gripe: fadiga, mialgia, perda de apetite, náuseas, diarreia, febre, prisão de ventre e icterícia.

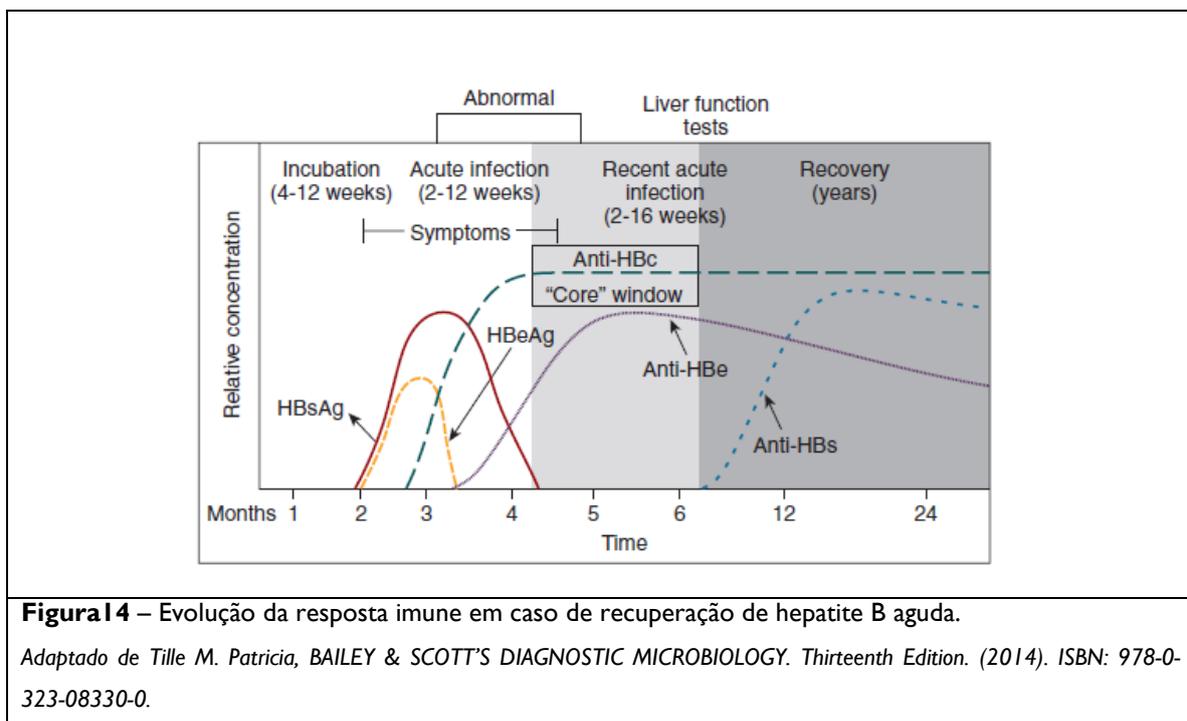
#### **10.1.1 Hepatite B**

O vírus da hepatite B (HBV), é um vírus com envelope e de genoma ADN, que infecta o fígado e causa infamação e necrose hepatocelular. A infecção pode ser aguda ou crónica e pode variar desde uma infeção assintomática a hepatite severa ou, raramente, fulminante. Na maioria das vezes trata-se de uma doença autolimitada, com infecção aguda e necrose hepatocelular com uma taxa de mortalidade de 0.5 – 1%. A infecção crónica é definida pela presença de antigénio de superfície da hepatic B (AgHBs) por mais de seis meses, com ou sem associação de replicação viral activa e evidência de dano hepatocelular ou inflamação. A cronicidade é comum em neonatos e crianças com menos de 5 anos (20-60%), mas ocorre raramente em infecções adquiridas na idade adulta (< 5 %) (World Health Organization, 2015).

A principal proteína da nucleocápside é o antígeno do core (**HBcAg**). O gene que codifica a síntese do HBcAg é também responsável pela síntese de outro peptídeo, que durante a fase de replicação vírica vai ser modificado pelo hepatócito e é conhecido no sangue circulante como antígeno e (**HBeAg**). O core está envolvido por uma camada bioquimicamente heterogénea, cujo constituinte mais abundante é a proteína s ou antígeno de superfície do HBV (**HBsAg**) do qual se conhecem variados subtipos (Tille, 2014).

De uma forma geral, a infeção pelo HBV inicia-se no adulto saudável com um período de incubação de poucas semanas, caracterizado por replicação ativa do vírus, aparecendo no sangue periférico primeiro o AgHBs e depois o AgHBe. A fase aguda, há necrose celular por acção dos linfócitos citotóxicos e aparecimento de anticorpos contra todos os antígenos. Se não houver evolução para a cronicidade, a replicação viral diminui, assim como os níveis de AgHBs e AgHBe até remissão total no fim do período agudo (Figura 14).

Na resposta imune serológica, o anticorpo que aparece mais precocemente é dirigido contra o antígeno do core (anti-HBc) e não confere imunidade natural contra a hepatite B. A sua fração IgM (anti-HBc IgM) está elevada na fase aguda e desaparece ao fim de alguns meses. A fração IgG, pode persistir no sangue periférico indefinidamente e constituir mais tarde o único marcador duma hepatite B antiga. O anticorpo contra o antígeno HBs (anti-HBs) aparece em circulação só alguns meses após o contágio. A presença tardia do anticorpo anti-HBs traduz normalmente erradicação da infeção e imunidade duradoura contra a reinfeção pelo HBV (Tille,2014).



A infeção pode evoluir para a cronicidade e manter-se em alguns casos durante toda a vida. Neste caso verifica-se a persistência da replicação do vírus e no sangue periférico deteta-se a presença de HBV e proteínas víricas antigénicas, como o HBsAg e o HBeAg. O melhor indicador de replicação viral ativa é a deteção de ADN HBV no soro. A sua deteção é também usada em caso de resultados duvidosos e a sua quantificação é útil na previsão da resposta á terapêutica (Tille, 2014).

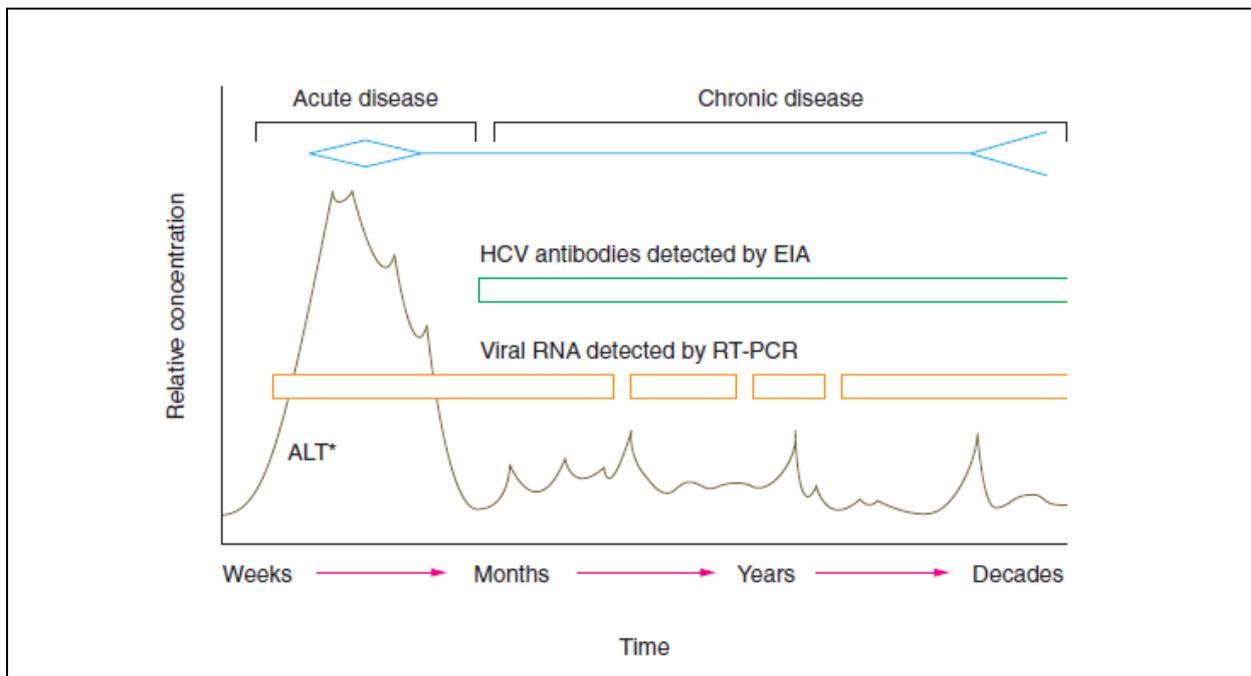
Os diferentes perfis serológicos e sua interpretação mais provável encontram-se resumidos na tabela 3.

**Tabela 3** – Interpretação de resultados dos diferentes perfis serológicos possíveis após infeção por HBV.  
Retirado de [http://www.roche.pt/hepatites/tabela\\_hepatite\\_b.pdf](http://www.roche.pt/hepatites/tabela_hepatite_b.pdf) [acedido a 12.09.2016]

AgHBs	Ac Anti-HBc total	Ac Anti-HBc IgM	ADN do VHB	AgHBe	Ac Anti-HBe	Ac Anti-HBs	
+	-	-	+	-	-	-	Fase pré sintomática
+	+	+	+	+	-	-	Fase aguda ou exacerbação da doença, com replicação activa
+	+	+/-	+	+	-	-	Hepatite crónica B - Ag HBe positiva
+	+	-	+	-	+	-	Hepatite crónica B - Ag HBe negativa
+	+	-	-	-	+	-	Portador Inactivo do Ag HBs
-	+	+	-	-	+/-	-	Infeção aguda em período de janela
-	-	-	-	-	-	+	Imunidade para Hepatite B após vacinação
-	+	-	-	-	+/-	+	Imunidade para Hepatite B após infeção
-	-	-	-	-	-	-	Ausência de contacto prévio com o VHB

### 10.1.2 Hepatite C

O vírus da Hepatite C é um membro da família *Flaviviridae*, com genoma de cadeia simples de ácidos nucleicos do ribonucleótido (ARN) de polaridade positiva e possui envelope. A infeção por este vírus pode manifestar-se de forma crónica ou aguda. A hepatite aguda é habitualmente assintomática, havendo remissão espontânea em 15-45% dos indivíduos infetados. Todavia cerca de 55-85% dos doentes desenvolvem hepatite crónica. Uma vez que os anticorpos anti-HCV se desenvolvem durante a fase aguda e persistem no caso de cronicidade (Figura 15), é necessário efetuar um teste de deteção ARN HCV (ver fluxograma de diagnóstico laboratorial no anexo IV). Se não for tratada, a infeção crónica por HCV pode causar cirrose hepática (15-30% em 20 anos), falha hepática e carcinoma hepatocelular (World Health Organization, 2014).



**Figura 15-** Evolução da resposta imune e doença causada pelo HCV .

Adaptado de Tille M. Patricia, BAILEY & SCOTT'S DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY. Thirteenth Edition. (2014). ISBN: 978-0-323-08330-0.

### 10.1.3 Vírus da imunodeficiência Humana (VIH)

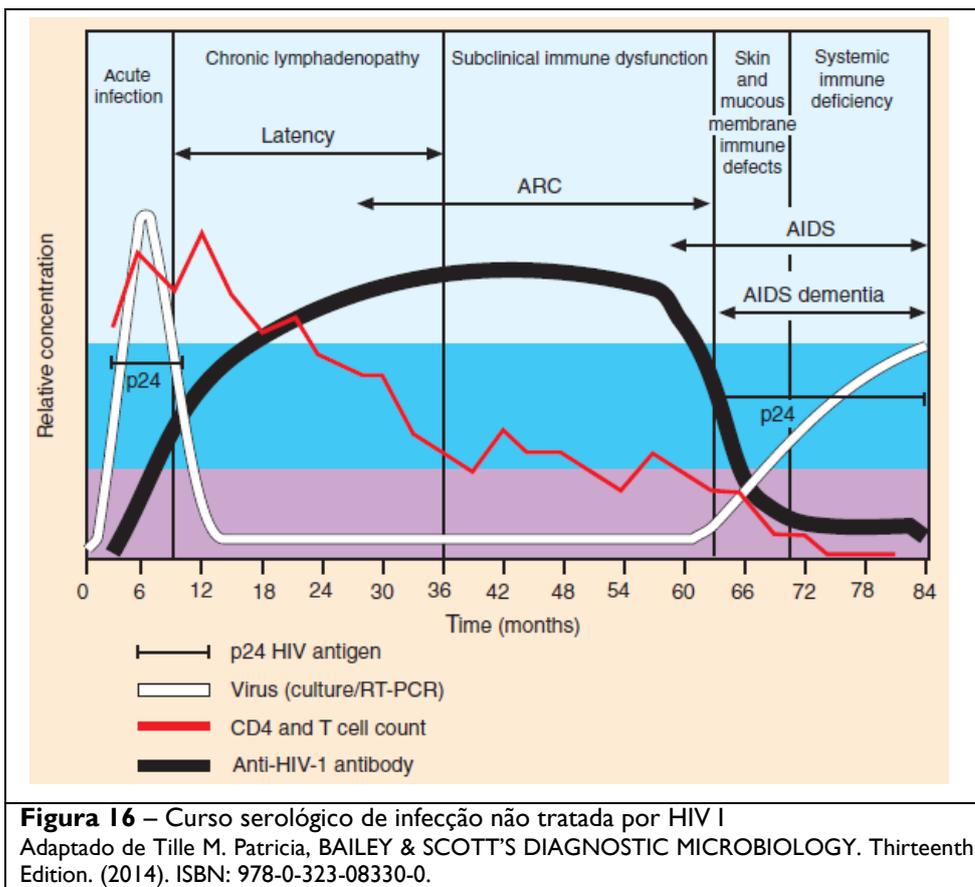
O VIH é um retrovírus com envelope e cadeia simples de ARN, sendo que cada virião possui duas cópias idênticas rodeadas pela nucleocapside. Caracteriza-se pela existência da enzima transcriptase reversa, que permite que o genoma ARN viral seja transcrito em ADN (Fauci, 2009).

A família *Retroviridae* à qual pertence pode dividir-se em grupos, dela fazendo parte o VIH I e o VIH II. (Tille, 2014), sendo o primeiro mais agressivo e responsável pela pandemia da síndrome da imunodeficiência humana adquirida (SIDA). Esta síndrome é o culminar de um processo em que o sistema imunitário e a sua capacidade de controlar infeções e proliferação de tumores são destruídos.

O vírus tem tropismo para os marcadores de superfície dos linfócitos T – cluster de diferenciação 4 (CD4). Há medida que o número de CD4 diminui, aumenta o risco e severidade de infeções oportunistas. Estas infeções incluem indivíduos com resultado positivo para o VIH e contagem de células T CD4 <200mm<sup>3</sup> ou % CD4/ linfócitos <14%, ou CD4 > 200 e infeção oportunista.

A existência de uma seroconversão é indicativa de uma infeção e os indivíduos devem ser considerados portadores de vírus. Até ao 12º dia após o contágio existe um período janela, durante o qual o vírus não é detetado. Pelo 12º dia aparece o RNA-HIV e pelo 15º dia a

proteína p24. Entre o 22º e o 26º dia os anticorpos são detetáveis; o seu aparecimento marca o fim do período pré-serológico (Figura 16).



A carga viral deve (quantidade de RNA presente no soro) é um parâmetro essencial para decisão de início da terapêutica ou a sua alteração. Podem surgir falsos positivos pelo que deve ser feito um teste confirmatório. O teste Western-blot é a técnica mais utilizada para esta confirmação.

## **Conclusão**

Este estágio foi o culminar de dois anos de formação que se revelaram de extrema importância para a atualização e consolidação dos meus conhecimentos teóricos.

Na realidade da rotina laboratorial, um técnico superior é levado a tornar-se eficiente e eficaz no processamento de amostras e manutenção dos equipamentos, sendo levado a deixar para trás a validação de resultados. Encontrando-me em contexto profissional, em laboratório privado, desde 2004 como técnica superior, tornou-se visível a perda de certas noções teóricas nas áreas menos trabalhadas. A integração na gestão operacional do laboratório levou a um afastamento da área técnica, o que veio aprofundar ainda mais a perda de espírito crítico aquando da interpretação de dados laboratoriais

Sendo as análises clínicas uma área multidisciplinar, torna-se fulcral a integração dos conceitos adquiridos nas diferentes valências e a interpretações dos resultados obtidos, pelo que a prática desenvolvida com situações reais do dia-a-dia se torna de extrema importância. Este mestrado veio assim renovar o meu interesse e motivação pela área das análises clínicas.

## **Bibliografia**

Ashwood R. Edward, Burtis A. Carl, Bruns E. David. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. Fifth Edition (2012). ISBN 9781416061649

Bates SE. Clinical applications of serum tumor markers. Ann Intern Med 1991;115:623-38.

Bourbon M. e Rato Q. Lipoproteínas, Genética e Aterosclerose, RFML 2006; Série III; 11(2):67-73. Disponível em <http://www.insa.pt/sites/INSA/Portugues/Publicacoes/Outros/Paginas/LipoproteinasGeneticaeAterosclerose.aspx> [Acedido em Setembro 2016]

Burtis A. Carl, Bruns E. David - Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 7th Edition (2014). ISBN 9780323292061

Direcção Geral de Saúde, Norma Diagnóstico e conduta na Diabetes Gestacional, N° 007/2011 (31/01/2011)

Direcção-Geral da Saúde, Norma Diagnóstico e Classificação da Diabetes Mellitus, N° 002/2011 (14/01/2011)

Fatfeh-Moghadam A., et al. Sensible use of tumour markers; (1993); Roche Diagnosticis

Fauci S. Anthony, et al. HARRISON'S Principals of INTERNAL MEDICINE. 17<sup>th</sup> Edition. (2009) ISBN: 0-07-164114-9

Henry J. B., Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, 20<sup>a</sup> Edição, 2001. ISBN 0721688640

[http://www.barreto.uac.pt/bqm\\_prat/prot05DislipidemiasTP.pdf](http://www.barreto.uac.pt/bqm_prat/prot05DislipidemiasTP.pdf) [Acedido em Setembro2016]

[http://www.roche.pt/hepatites/tabela\\_hepatite\\_b.pdf](http://www.roche.pt/hepatites/tabela_hepatite_b.pdf) [Acedido em Setembro2016]

[http://www.roche.pt/hepatites/tabela\\_hepatite\\_c.pdf](http://www.roche.pt/hepatites/tabela_hepatite_c.pdf) [Acedido em Setembro2016]

Menarini, <http://www.menarinidiag.pt/Produtos/Hemoglobina-Glicada> [Acedido em Setembro2016]

Molina E. Patricia, Ashman Richard., Endocrine Physiology. Fourth edition (2013)ISBN: 978-0-07-179678-1

Sociedade Portuguesa de Diabetologia (SPD), Definição, Diagnóstico e Classificação da Diabetes Mellitus, disponível em <http://www.spd.pt/index.php/grupos-de-estudo-mainmenu-30/classificacao-da-diabetes-mellitus-mainmenu-175> [Acedido em Setembro 2016]

Teixeira R.C.A., Júnior A.G., Martino M.C., Marcadores de Ativação Endotelial e Auto-Anticorpos na Artrite ReumatóideMarkers. Rev Bras Reumatol. nov/dez, 2007, v. 47, n.6, p. 411-417.

Tille M. Patricia, BAILEY & SCOTT'S DIAGNOSTIC MICROBIOLOGY. Thirteenth Edition. (2014). ISBN: 978-0-323-08330-0.

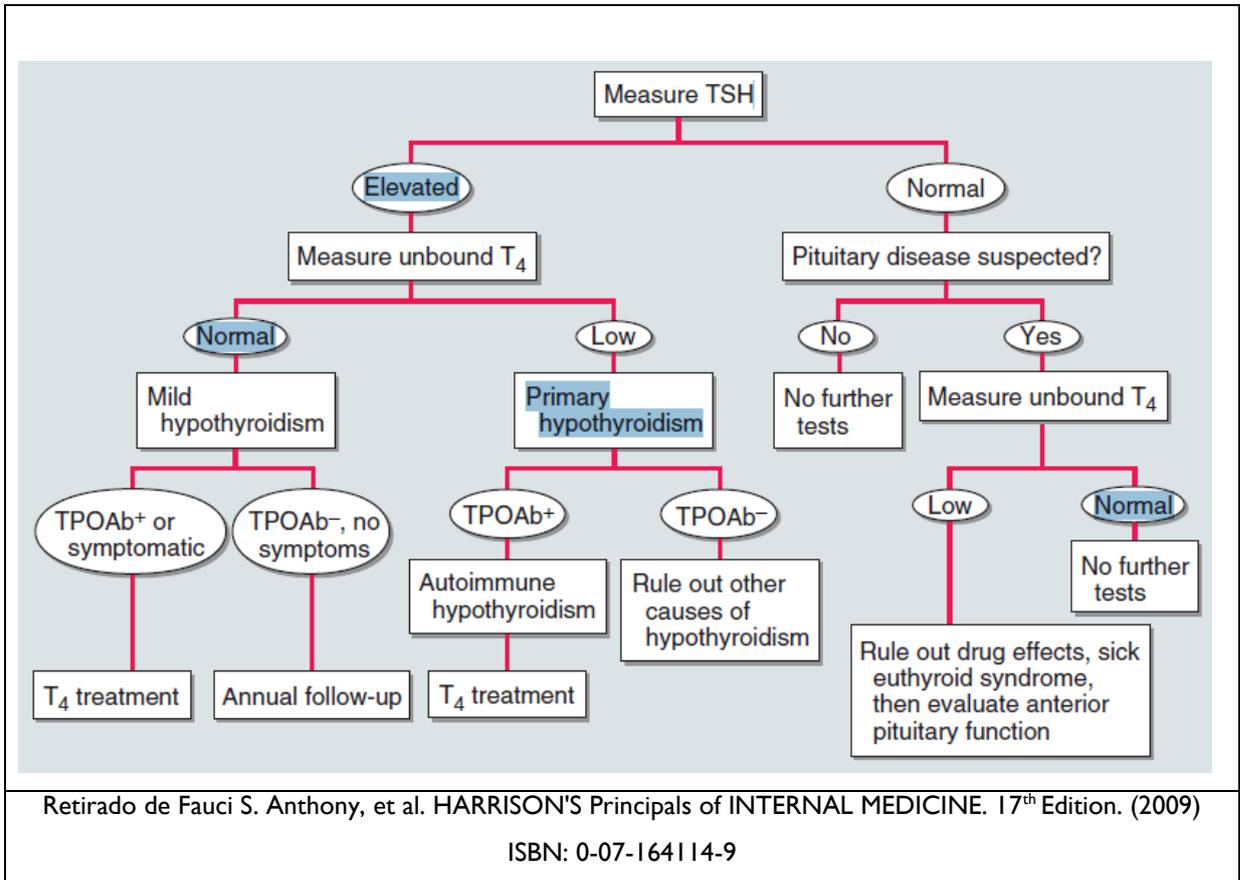
World Health Organization (WHO). Guidelines for the prevention, care and treatment of persons with chronic hepatitis B infection. (2015). ISBN 9789241549059. Disponível em [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/154590/1/9789241549059\\_eng.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/154590/1/9789241549059_eng.pdf)

World Health Organization (WHO). Guidelines for the screening, care and treatment of persons with hepatitis C infection. (2014). ISBN 9789241548755. Disponível em <http://www.worldhepatitisalliance.org/sites/default/files/resources/documents/Hep%20C%20Guidelines.pdf> [Acedido em Setembro 2016]

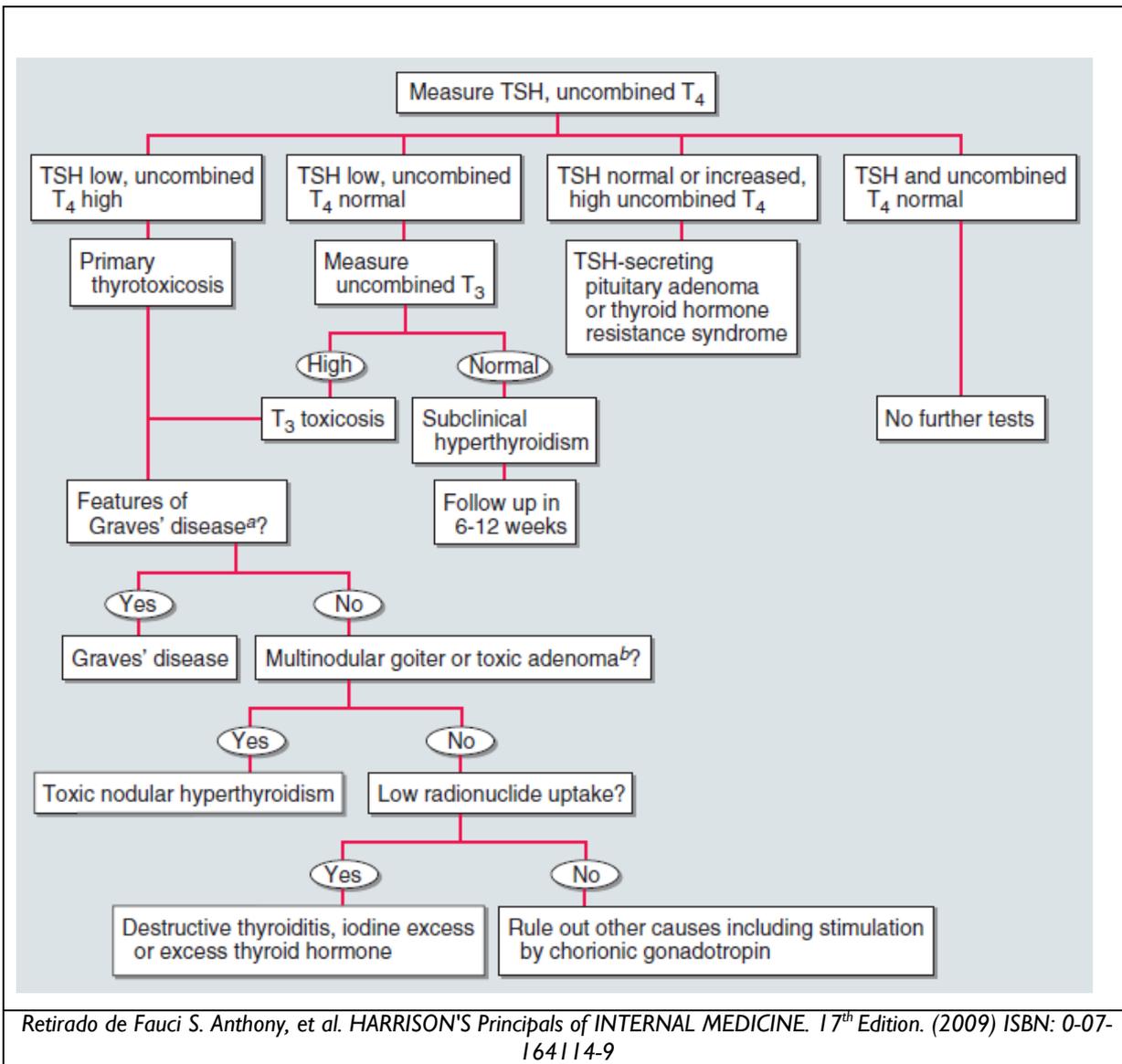
## Anexo I – Imunologia - Analisadores, métodos e respectivos parâmetros doseados

<b>Analisador</b>	<b>Cobas® e-411 (Roche)</b>	<b>Vidas® (Biomerieux)</b>
Método	Electroquimioluminescência (ECLIA)	Enzimoimunoensaio de fluorescência (ELFA)
Parâmetro	AFP: $\alpha$ -fetoproteína	CEA: Antígeno Carcinoembrionário
	$\beta$ -hCG: Fração beta da hormona gonadotrópica coriônica	CA 15.3
	PSAT: Antígeno Específico da Próstata (Total)	CA 19.9
	FPSA: Antígeno Específico da Próstata (Fração Livre)	FSH: Hormona Foliculo-estimulante
	$\beta$ 2 -microglobulina	LH: Hormona Luteinizante
	FSH: Hormona Foliculo-estimulante	Estradiol
	LH: Hormona Luteinizante	Progesterona
	Prolactina	Testosterona Total
	TSH: Hormona Estimuladora da Tiróide	T3 Total
	T3 (L): Triiodotironina Livre	T4 Total
	T4 (L): Tiroxina Livre	Anticorpos anti-Citomegalovírus (IgG e IgM)
	Anticorpos anti-peroxidase (Anti-TPO); doseamento (soro); ECLIA	Anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> (IgG e IgM)
	Anticorpos anti-tireoglobulina (Anti-TG) ; doseamento (soro); ECLIA	Anticorpos anti- <i>Rubella virus</i> (IgG e IgM)
	PTH: Paratormona	IgE – Imunoglobulina E
	Ferritina	
	Ácido Fólico	
	Vitamina B12	
	HIV combi	
	Ac HBs	
	Ag HBs	
	Ac HBc	
	Ac HBc IgM	
	Anti-HCV	

Anexo II - Fluxograma de avaliação do hipotireoidismo



### Anexo III - Fluxograma de avaliação do hipertiroidismo



## Anexo IV – Fluxograma de diagnóstico laboratorial de HCV

	<i>Designação</i>	<i>Interpretação clínica</i>
Anti-VHC	Anticorpo para o Vírus da Hepatite C (total)	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Surge entre 15 dias e 6 meses após a infecção</li> <li>- Quando é positivo pode corresponder a infecção no presente ou no passado</li> <li>- Persiste positivo "por tempo indeterminado" após um tratamento bem sucedido</li> <li>- Se o teste for positivo deve fazer-se a pesquisa do ARN viral</li> </ul>
ARN do VHC	Genoma viral - ácido ribonucleico do Vírus da Hepatite C	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Permite detectar e quantificar o ARN do VHC no soro através da técnica de PCR - "Polimerase Chain Reaction"</li> <li>- É o método mais sensível e específico para a detecção do VHC</li> <li>- É o marcador usado na monitorização do tratamento antiviral</li> <li>- O seu desaparecimento persistente do sangue significa cura da infecção</li> </ul>
Genótipo do VHC	Grupo de vírus que apresentam menos de 70% de homologia na sequência do seu genoma. Num indivíduo, habitualmente identifica-se um só genótipo; por vezes coexistem mais do que um subtipo de VHC	<ul style="list-style-type: none"> <li>- O conhecimento do genótipo viral permite avaliar as probabilidades de resposta a um tratamento antiviral e avaliar a melhor estratégia para o doente em questão</li> <li>- A genotipagem faz-se por métodos de hibridação reversa após amplificação por RT - PCR da região 5' UTR do genoma viral</li> </ul>

Retirado de [http://www.roche.pt/hepatites/tabela\\_hepatite\\_c.pdf](http://www.roche.pt/hepatites/tabela_hepatite_c.pdf)