



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Joana Mendes Cordeiro dos Santos Vicente

Relatório de Estágio Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de Estágio no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas
orientado pela Dra. Carla Almeida e pela Professora Doutora
Armanda Emanuela Castro e Santos e apresentado à Faculdade
de Farmácia da Universidade de Coimbra

Fevereiro de 2023



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Joana Mendes Cordeiro dos Santos Vicente

RELATÓRIO DE ESTÁGIO DO Mestrado em ANÁLISES CLÍNICAS

Relatório de Estágio no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas orientado pela Dra. Carla Almeida e pela Professora Doutora Armanda Emanuela Castro e Santos e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Estágio Realizado no Laboratório SYNLAB Hospital da Luz de Coimbra

Fevereiro de 2023

Agradecimentos

À Dra. Carla Almeida e a toda a equipa do laboratório SYNLAB pelo carinho com que fui recebida, assim como pela disponibilidade para me guiarem durante estes 6 meses.

Ao Pedro, à Ana, à Catarina, à Stephanie e à Elizabete pela dedicação que sempre demonstraram e pela amizade, ajudando-me a crescer profissionalmente, mas também a nível pessoal.

À Professora Doutora Armanda Santos, pela orientação deste relatório de estágio, estando sempre disponível para me auxiliar.

Às minhas amigas Inês e Maria, que me acompanharam ao longo dos últimos 6 anos, tornando Coimbra ainda mais bonita.

Ao meu namorado, por todo o amor, ajudando-me a permanecer confiante em mim e nas minhas capacidades.

À minha família, especialmente aos meus pais e à minha irmã, pelo apoio incondicional ao longo do meu percurso académico e por serem o meu porto de abrigo.

Índice	
Índice de Abreviaturas	7
Resumo	9
Abstract	9
Introdução	11
Caracterização do laboratório de estágio	13
Localização, horários, postos de colheita e equipa	13
Fluxo de Amostras	13
Fase pré-analítica	13
Fase pós-analítica	15
Controlo de Qualidade	15
Controlo de qualidade interno (CQI) e Controlo de qualidade externo (CQE)	15
Setor da Bioquímica	17
1. Parâmetros Analíticos para a Avaliação do Risco Cardiovascular	17
1.1. Marcadores lipídicos do Risco Cardiovascular	17
1.1.1. Perfil lipídico	17
1.1.2. Lipoproteína (a)	19
1.2. Marcadores não lipídicos do Risco Cardiovascular	19
1.2.1. Peptídeo natriurético	19
1.2.2. Proteína C Reativa de alta sensibilidade	19
1.2.3. Homocisteína	19
1.3. Marcadores de lesão do miocárdio	20
1.3.1. Creatina Cinase	20
1.3.2. Troponinas Cardíacas	20
2. Parâmetros Analíticos para o Diagnóstico da Diabetes	20
2.1. Prova de Tolerância Oral à Glicose	21
2.2. Hemoglobina glicada	21
3. Parâmetros Analíticos para a Avaliação do Equilíbrio Eletrolítico	21
3.1. Sódio	21
3.2. Potássio	22
3.3. Cloreto	22
4. Parâmetros Analíticos para a Avaliação da Função Hepática e Danos Hepatocelulares	22
4.1. Parâmetros Analíticos para a Avaliação da Função Hepática	23
4.1.1. Função de síntese: Albumina e Tempo de Protrombina	23
4.1.2. Função de excreção: Bilirrubina	23
4.1.3. Função de destoxificação: Amónia	24

4.2. Parâmetros Analíticos para a Avaliação do Dano hepatocelular	24
5. Parâmetros Analíticos para a Avaliação da Função Renal	25
5.1. Concentração de compostos azotados não proteicos: ureia, creatinina e ácido úrico	25
5.2. Taxa de Filtração Glomerular.....	26
5.3. Proteinúria.....	27
5.4. Análise sumária de urina ou urina tipo II	27
6. Metabolismo Mineral	27
6.1. Cálcio	27
6.2. Fosfato	28
6.3. Magnésio.....	28
7. Proteínas Plasmáticas.....	29
7.1. Albumina.....	29
7.2. Globulinas	29
7.3. Proteína C Reativa.....	31
7.4. Eletroforese de proteínas ou Proteinograma.....	31
Caso Clínico.....	32
Setor da Hematologia.....	35
Setor da Imunologia	37
Determinações Analíticas no Setor da Imunologia.....	38
1. Toxoplasmose.....	38
2. Sífilis.....	38
3. Hepatites Virais	39
3.1. Hepatite A	39
3.2. Hepatite B.....	40
3.3. Hepatite C	42
4. Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)	43
5. Parâmetros Analíticos para a Avaliação da Função da Tiróide.....	45
5.1. Hormona estimulante da Tiróide	45
5.2. Hormonas da Tiróide.....	46
6. Marcadores Tumorais.....	46
6.1. Glicoproteína – 19.9.....	46
6.2. Antígeno Carcinoembrionário.....	47
6.3. Antígeno Específico da Próstata.....	47
Caso Clínico.....	47
Setor da Microbiologia.....	51
Conclusão.....	53
Referências.....	55

Índice de Abreviaturas

ALP: Fosfatase Alcalina

ALT: Alanina Aminotransferase

AST: Aspartato Aminotransferase

BNP: Peptídeo Natriurético Cerebral

CA 19.9: Glicoproteína 19.9

CEA: Antígeno Carcinoembrionário

CK: Creatina Cinase

CQI: Controlo de Qualidade Interno

cTnI: Troponina I Cardíaca

cTnT: Troponina T Cardíaca

DGS: Direção Geral da Saúde

FT₃: T₃ Livre

FT₄: T₄ Livre

HAV: Vírus da Hepatite A

HBV: Vírus da Hepatite B

HCV: Vírus da Hepatite C

HDL: Lipoproteína de Alta Densidade

HIV: Vírus da Imunodeficiência Humana

IDL: Lipoproteína de Densidade Intermédia

Igs: Imunoglobulinas

LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade

Lp(a): Lipoproteína (a)

LPL: Lipoproteína Lipase

NEQAs: “*National External Quality Assurance Scheme*”

NT-pró-BNP: Cadeia N-terminal inativa do pró-BNP

OMS: Organização Mundial da Saúde

PNAEQ: Programa Nacional de Avaliação Externa da Qualidade Laboratorial

PSA: Antígeno Específico da Próstata

PTGO: Prova de Tolerância Oral à Glicose

PTH: Hormona Paratiróide

RIQAS: “*Randox International Quality Assessment Scheme*”

RPR: “*Rapid Plasma Reagin*”

SECQ^{ML}: Sociedade Espanhola de Medicina de Laboratório

SIDA: Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

T₃: Triiodotironina

T₄: Tetraiodotironina

TFG: Taxa de Filtração Glomerular

TG: Triglicerídeos

TPHA: “*Treponema Pallidum Hemagglutination*”

TRH: Hormona Libertadora de Tireotrofina

TSH: Hormona Estimulante da Tiróide

VLDL: Lipoproteínas de Densidade Muito Baixa

VSG: Velocidade de Sedimentação Globular

γGT: Gama-Glutamiltransferase

Resumo

O estágio no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas possibilita aos alunos o contacto com a realidade laboral na área de formação e a obtenção de conhecimentos essenciais para o dia a dia no laboratório.

Realizado no laboratório SYNLAB no Hospital da Luz Coimbra, o estágio focou-se em duas valências principais – Bioquímica e Imunologia – sendo que também as áreas da Hematologia e Microbiologia foram exploradas.

No presente relatório de estágio serão primeiramente abordados os temas relacionados com o funcionamento do laboratório, os procedimentos analíticos, as calibrações e o controlo de qualidade. Seguidamente serão abordadas as atividades desenvolvidas ao longo dos seis meses de estágio, incluindo a análise de dois casos clínicos e por fim a conclusão.

Palavras-chave: Análises clínicas, Bioquímica, Imunologia, SYNLAB

Abstract

The internship within the scope of the Master's Degree in Clinical Analyses allows students to have contact with the labor reality in their training area and to obtain essential knowledge for their day-to-day work in the laboratory.

Held in the SYNLAB laboratory at Hospital da Luz Coimbra, the internship focused on two main areas – Biochemistry and Immunology – while also exploring the areas of Hematology and Microbiology.

In this internship report, the topics related to laboratory functioning, analytical procedures, calibrations and quality control will first be addressed. Then, the activities developed during the six months of internship will be covered, including the analysis of two clinical cases and, finally, the conclusion.

Keywords: Clinical Analysis, Biochemistry, Immunology, SYNLAB

Introdução

O Mestrado em Análises Clínicas proporciona aos alunos um estágio curricular com duração de seis meses no qual são colocados em prática os conhecimentos obtidos ao longo do ciclo de estudos. São trabalhadas as diferentes áreas das análises clínicas, nomeadamente a Bioquímica, a Hematologia, a Imunologia e a Microbiologia.

É também durante este período que ocorre o primeiro encontro com a realidade laboratorial e com o mercado de trabalho, permitindo ao estudante uma perceção inicial do que será o futuro enquanto técnico superior de análises clínicas.

O local de estágio escolhido foi o laboratório SYNLAB localizado no Hospital da Luz de Coimbra onde, entre dezembro de 2021 e junho de 2022, foram adquiridas competências do foro científico e pessoal necessárias para o trabalho laboratorial.

O relatório de estágio começa com uma descrição do laboratório, o seu funcionamento e todo o processo pré- e pós-analítico e o controlo de qualidade. De seguida serão descritas as áreas trabalhadas, com especial ênfase nas áreas da Bioquímica e Imunologia, sendo analisados dois casos clínicos e por fim uma conclusão de forma a avaliar o período de estágio.

Caracterização do laboratório de estágio

Localização, horários, postos de colheita e equipa

O laboratório SYNLAB, previamente conhecido como Laboratório de São José, localiza-se no Piso 0 do Hospital da Luz de Coimbra e possibilita o atendimento e a realização de análises clínicas nos dias úteis das 07:30 às 20:30 e aos sábados das 09:00 às 12:00. Para além disso, dispõe de atendimento urgente 24h por dia todos os dias.

Além da sua localização no Hospital da Luz de Coimbra, o grupo SYNLAB apresenta vários postos de colheita na cidade de Coimbra, bem como serviços de domicílio.

A direção técnica do laboratório SYNLAB está a cargo da Dra. Carla Almeida, Farmacêutica Especialista em Análises Clínicas. No laboratório colaboram também Técnicos de Análises Clínicas, enfermeiros e funcionários administrativos.

Fluxo de Amostras

Fase pré-analítica

O utente desloca-se à receção do laboratório, onde é atendido. É feita a sua inscrição no sistema informático, que lhe atribui um número de processo e um código de barras correspondente a cada análise pretendida. A cada novo processo que é criado, são atribuídos um novo número e um novo código de barras.

O doente é encaminhado para a sala de colheita, juntamente com a folha de colheita, onde o técnico que realiza a colheita confere se estão reunidas todas as condições necessárias, assim como os dados do doente. Após a confirmação destes fatores, procede-se à identificação dos tubos e/ou frascos de colheita com as etiquetas que contêm o código de barras correspondente.

As colheitas de sangue são feitas através do sistema de vácuo, sendo o sangue colhido para os tubos correspondentes consoante as análises pedidas. Primeiramente deve ser colhido o tubo contendo citrato de sódio para as provas da coagulação, seguido do tubo com ativador de coágulo, o tubo com heparina-lítio, o tubo contendo EDTA e por fim o tubo com citrato de sódio utilizado na determinação da velocidade de sedimentação glomerular. A ordem de colheita dos tubos é importante visto que diminui o risco de contaminações cruzadas, como acontece, por exemplo, com o EDTA, que pode levar a uma hipocalcemia nas amostras devido ao seu efeito quelante de iões cálcio. Para além disso, nos tubos, o EDTA encontra-se na forma de EDTA tri-potássico, interferindo no doseamento do potássio. Na Tabela I encontram-se indicadas as cores dos tubos assim como os seus aditivos e a sua função.

Para além de sangue, chegam também ao laboratório amostras como urina (colhidas pelo utente ou colhidas na casa de banho da sala de colheitas), fezes, exsudados nasais, vaginais, uretrais, entre outras.

Tabela 1: Ordem de colheita dos diferentes tubos, assim como a cor da tampa, o seu conteúdo, o produto a obter e a aplicabilidade no laboratório de análises clínicas

Ordem de colheita	Cor da tampa	Conteúdo	Produto a obter	Aplicabilidade
1	Azul	Citrato de Sódio	Plasma	Provas da coagulação
2	Amarela/Vermelha	Gel separador Ativador de coágulo	Soro	Bioquímica Imunologia
3	Verde	Heparina-lítio	Plasma	Bioquímica
4	Roxa	EDTA	Sangue total	Hematologia Bioquímica
5	Preta	Citrato de Sódio	Sangue total	Velocidade de sedimentação globular (VSG)

As amostras chegam ao laboratório acompanhadas pela respetiva folha de colheita, onde estão descritas as análises a realizar. É feita a triagem, no sistema do laboratório, dos tubos e frascos de colheita através do código de barras neles colado, tendo como prioridade os pedidos urgentes vindos do serviço de urgência ou do serviço de internamento, que são realizados primeiro.

Após a entrada das amostras, os tubos de colheita são centrifugados o mais rapidamente possível, tendo em atenção o tempo necessário para a retração do coágulo, excetuando o tubo de EDTA (que é utilizado nos estudos hematológicos e por isso é necessário o sangue total). As urinas, fezes e exsudados são transportados para a sala da microbiologia onde podem ser processados de imediato.

Após a centrifugação dos tubos, é verificada a qualidade dos mesmos e estes são depois distribuídos pelos diferentes equipamentos de forma a serem processados. No caso de ser necessária a realização de técnicas manuais, as amostras são transportadas para a bancada e é realizada a técnica em questão. Existem ainda determinações e técnicas que não são realizadas no laboratório, sendo os pedidos de análise enviados para laboratórios externos, parceiros do SYNLAB (Lisboa, Porto e Barcelona).

Na Tabela 2 encontram-se indicados os aparelhos existentes no laboratório assim como a sua área de atuação e as determinações realizadas por cada um.

Tabela 2: Equipamento existentes no laboratório de análises clínicas e as respetivas determinações, divididos por área de atuação

	Equipamento	Determinações
Hematologia	System XN-550	Hemograma, Plaquetas, Leucograma, Reticulócitos, Estudos citológicos
	System CA-660	Provas da coagulação
	VES-MATIC 30	Velocidade de Sedimentação
Bioquímica e Imunologia	Architect ci 8200	Determinações na área da Bioquímica e Imunologia, como marcadores cardíacos, tumorais, virais, endocrinologia
	Architect ci4100	
Bioquímica	HYDRASYS SEBIA	Eletroforese em gel de agarose
Microbiologia	VITEK 2 Compact	Identificação microbiana e testes de sensibilidade a antibióticos

Fase pós-analítica

Após a obtenção dos resultados das determinações realizadas, estes são exportados diretamente para o computador da Diretora Técnica, que valida os mesmos tendo em conta critérios de aceitação e rejeição previamente estabelecidos, e o histórico do utente. No caso de serem rejeitados, as determinações são realizadas novamente de forma a corroborar o resultado obtido.

Após validação, os resultados são enviados ao utente de forma eletrónica ou ficam disponíveis para levantamento no laboratório.

Controlo de Qualidade

O Controlo de Qualidade tem como objetivo identificar falhas a nível laboratorial e verificar a exatidão e precisão das determinações realizadas, de forma a assegurar a prestação do melhor serviço possível.

Controlo de qualidade interno (CQI) e Controlo de qualidade externo (CQE)

Controlo de Qualidade Interno

O Controlo de Qualidade Interno é o primeiro procedimento a ser feito todos os dias no laboratório, com base num esquema estabelecido pela Diretora Técnica. Neste calendário

encontram-se descritos quais os controlos internos bem como os níveis (1, 2 ou 3) dos mesmos que são executados diariamente.

Utilizando os controlos fornecidos pelas casas comerciais, estes são analisados nos equipamentos e aceites ou rejeitados consoante os intervalos de referência estabelecidos pela Diretora Técnica. Estes são mais estreitos que os intervalos estabelecidos pelas casas comerciais, de forma a garantir um controlo mais apertado. O equipamento constrói ainda as cartas de Levey-Jennings, indicando se são violadas regras de Westgard.

Para além disto, começou a ser recentemente implementada a utilização de um *software* de controlo interno de qualidade, o Unity Real Time da Bio-Rad. O programa encontra-se ligado aos equipamentos do laboratório e os dados dos controlos realizados são automaticamente inseridos no software. O Unity Real Time calcula a média e o desvio padrão de cada equipamento, sendo mais fácil acompanhar os controlos realizados ao longo do tempo.

Com o CQI é possível assegurar a precisão das determinações feitas no laboratório.

Controlo de Qualidade Externo

O laboratório SYNLAB participa em programas de controlo externo de qualidade, como o RIQAS, o SECQ^{ML}, o PNAEQ e o NEQAs. Estes programas permitem ao laboratório aferir a exatidão das suas determinações.

As amostras dos programas são recebidas, analisadas e os resultados são colocados nas respetivas plataformas. Por fim, são recebidos os relatórios que avaliam o desempenho do laboratório.

Setor da Bioquímica

As determinações do setor da Bioquímica são asseguradas pelo equipamento ARCHITECT da Abbott, que funciona com base em três métodos: métodos espectrofotométricos, métodos potenciométricos e métodos turbidimétricos.

I. Parâmetros Analíticos para a Avaliação do Risco Cardiovascular

As doenças cardiovasculares são um grupo de patologias que afetam o coração e o sistema circulatório, causadas frequentemente pela aterosclerose. Esta é uma doença com origem na deposição de lipoproteínas de baixa densidade oxidadas na parede das artérias e na consequente resposta inflamatória crónica (Poznyak *et al.*, 2020).

Existem vários fatores responsáveis pelo aparecimento de doenças cardiovasculares, sendo que o estilo de vida é um fator de elevada importância. Na verdade, o sedentarismo, a obesidade e o tabagismo são alguns dos fatores que podem ajudar a desencadear patologias cardiovasculares (Francula-Zaninovic *et al.*, 2018).

Em Portugal, as doenças cardiovasculares são a primeira causa de morte e, segundo a OMS, provocaram, em 2019, a morte de 17.9 milhões de pessoas a nível mundial (Carvalho, A., 2007)

A avaliação do risco de doenças cardiovasculares pode ser feita através da análise de marcadores de risco lipídicos, marcadores de risco não lipídicos e ainda de marcadores de lesão do miocárdio.

I.1. Marcadores lipídicos do Risco Cardiovascular

I.1.1. Perfil lipídico

O perfil lipídico engloba a determinação de vários parâmetros, nomeadamente o Colesterol Total, Colesterol-HDL, Colesterol-LDL e Triglicéridos.

O colesterol é sintetizado por todas as células animais, sendo um componente essencial da membrana celular, influenciando a rigidez e a permeabilidade da bicamada lipídica. O colesterol é também usado pelo organismo na formação de ácidos biliares, hormonas esteroides e vitamina D. A maior parte do colesterol advém da sua biossíntese pelas células, sendo o restante proveniente da dieta, estando também presente na constituição dos sais biliares. Já a sua eliminação é feita através das fezes e da bÍlis. (Luo *et al.*, 2020).

O colesterol é absorvido pelo intestino incluído em micelas mistas, constituídas por colesterol, esteróis, ácidos gordos, monoacilglicerídeos, lisofosfolípidos e ácidos biliares. Na corrente sanguínea, o colesterol e os lípidos da dieta são transportados por lipoproteínas plasmáticas, sendo o colesterol transportado para as células maioritariamente através das LDL (Colesterol-LDL) e transportado para o fígado (transporte reverso do colesterol) através das HDL (Colesterol-HDL) (Remaley *et al.*, 2017).

Os triglicerídeos (TG) são utilizados pelo organismo maioritariamente como fonte de energia para diversos processos metabólicos. Os TG provenientes da dieta são absorvidos no intestino e incorporados em lipoproteínas, os quilomicrons, que expressam à sua superfície a apolipoproteína ApoB. Ao passarem pelos capilares dos vários tecidos (tecido adiposo e coração, entre outros), os quilomicrons sofrem a ação da lipoproteína lípase, LPL, que hidrolisa os triglicerídeos, dando origem aos quilomicrons residuais. Os ácidos gordos resultantes da hidrólise podem ser utilizados como fonte de energia ou na síntese de novos triglicerídeos, que são transportados principalmente para o tecido adiposo (que também sintetiza triglicerídeos) através das VLDL (Very Low Density Lipoproteins). As VLDL, por meio da LPL, podem dar origem às IDL (Intermediate-Density Lipoprotein) e depois às LDL, contribuindo para o risco cardiovascular. Os quilomicrons residuais ligam-se a recetores no fígado e são lá destruídos (Hall & Guyton, 2010).

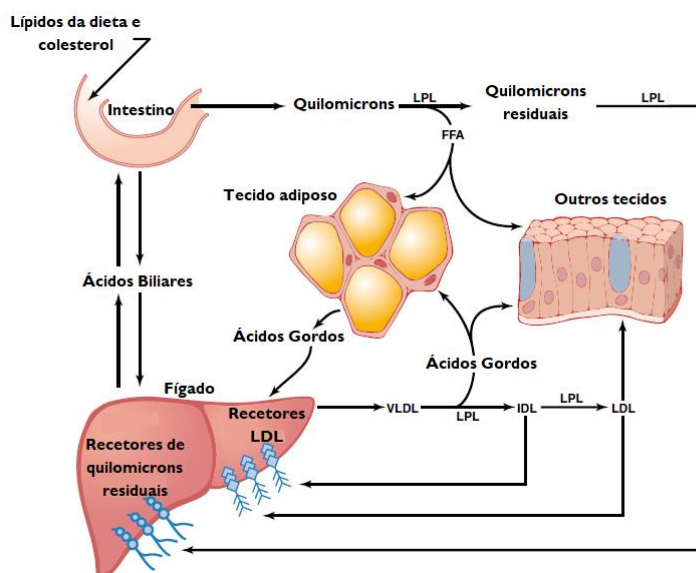


Figura I - Metabolismo dos lípidos da dieta e colesterol (Adaptado de Hall & Guyton, 2010).

1.1.2. Lipoproteína (a)

A lipoproteína (a), Lp(a), está estruturalmente relacionada com as LDL nomeadamente a nível do tamanho, composição lipídica e presença da apolipoproteína B-100. Esta lipoproteína contém também uma apolipoproteína denominada por apo(a), homóloga ao plasminogénio. Esta lipoproteína é extremamente aterogénica visto que, para além de possuir as características das LDL, pode promover trombozes através da inibição da ligação do plasminogénio aos seus recetores e consequente ativação em plasmina, impedido a dissolução de coágulos (Nordestgaard *et al.*, 2016).

1.2. Marcadores não lipídicos do Risco Cardiovascular

1.2.1. Peptídeo natriurético

Secretado maioritariamente nos cardiomiócitos, o Peptídeo Natriurético Cerebral (BNP) resulta da clivagem do seu precursor, o pró-BNP, dando origem à forma ativa (BNP) e à forma inativa, NT-próBNP. Produzido em resposta ao stress cardíaco e disfunção ventricular, o BNP tem funções como a vasodilação e a inibição do sistema renina-angiotensina-aldosterona. Estudos indicam que os valores de BNP e da sua forma inativa NT-próBNP encontram-se aumentados em situações de enfarte agudo do miocárdio e síndrome coronário agudo, e é por isso utilizado como um marcador de risco de doenças cardiovasculares (Chen *et al.*, 2019).

1.2.2. Proteína C Reativa de alta sensibilidade

A Proteína C Reativa (CRP) é uma proteína de fase aguda positiva, estando a sua concentração na corrente sanguínea aumentada em estados inflamatórios como se verifica em utentes com patologias cardiovasculares, nomeadamente o enfarte agudo do miocárdio. A Proteína C Reativa de alta sensibilidade é outro marcador utilizado para avaliar o risco cardiovascular (Chen *et al.*, 2019).

1.2.3. Homocisteína

Derivada da metionina, a homocisteína é um aminoácido que está associado a patologias cardiovasculares. O aumento da homocisteína pode ter origem genética devido a alterações nas enzimas do seu metabolismo, ou em situações como diabetes ou problemas a nível renal. A hiper-homocisteinémia pode causar danos nas células endoteliais (através de vários fatores, nomeadamente a biodisponibilidade do óxido nítrico e stress oxidativo), levar

a uma redução da flexibilidade dos vasos sanguíneos e influenciar o processo de hemostase, sendo bastante associado ao aparecimento da aterosclerose (Ganguly *et al.*, 2015).

1.3. Marcadores de lesão do miocárdio

1.3.1. Creatina Cinase

A creatina cinase (CK) é uma enzima que está presente em três isoformas: a CK-BB, presente em maior concentração no cérebro, a CK-MM, forma dominante no músculo e ainda a CK-MB que se encontra em alguns tecidos, nomeadamente no coração. O aumento sérico da CK-total e da CK-MB estão relacionados com dano muscular, nomeadamente dano no músculo cardíaco, e por isso é associado a patologias cardiovasculares, sendo a CK-MB mais específica e mais sensível (Aydin *et al.*, 2019).

1.3.2. Troponinas Cardíacas

Relacionadas com a contração muscular, as troponinas estão localizadas nos filamentos de actina. As troponinas cardíacas estão presentes especificamente nas células do músculo cardíaco em duas isoformas: cTnI e cTnT. Desta forma, o seu aumento na corrente sanguínea pode refletir danos no miocárdio, podendo ser utilizado como marcador de patologias cardiovasculares (Ganguly & Alam, 2015).

2. Parâmetros Analíticos para o Diagnóstico da Diabetes

A diabetes é uma doença metabólica crónica que se caracteriza por um aumento dos níveis de glicose na corrente sanguínea (Deshpande *et al.*, 2008).

Segundo a norma 002/2011 publicada pela Direção Geral de Saúde, a diabetes pode ser classificada como sendo do tipo I, resultante da destruição das células β dos ilhéus Langerhans do pâncreas e caracterizando-se pela insulinopenia absoluta, ou do tipo II, que está associada a insulinopenia relativa e a insulinorresistência. Pode ainda ser classificada como diabetes gestacional, quando é detetada pela primeira vez durante a gravidez, e ainda como sendo decorrente de outros fatores (DGS, Norma 002/2011).

Segundo a norma acima referida, uma glicémia de jejum superior ou igual a 126 mg/dL ou uma glicémia ocasional superior ou igual a 200 mg/dL na presença de sintomatologia, diagnosticam a diabetes. De notar que, no caso de um utente assintomático, o exame deve ser repetido na semana seguinte ou passadas duas semanas de forma a confirmar o diagnóstico (DGS, Norma 002/2011).

Existe ainda um estado de hiperglicémia intermédia chamada anomalia da glicémia em jejum, caracterizada por uma glicémia de jejum superior ou igual a 110 mg/dL e inferior a 126 mg/dL, no qual o risco para o desenvolvimento de diabetes é maior (DGS, Norma 002/2011).

2.1. Prova de Tolerância Oral à Glicose

A prova de tolerância oral à glicose (PTGO), exame que é também utilizado no diagnóstico da diabetes, implica a colheita de amostras de sangue às 0 horas e passadas 2h da ingestão de uma solução com 75 g de glicose. Neste exame, uma glicémia superior ou igual a 200 mg/dL às 2h diagnostica a diabetes. Existe ainda uma categoria de risco para o desenvolvimento de diabetes chamada de tolerância diminuída à glicose, onde se verificam valores de glicémia entre os 140 mg/dL e os 200 mg/dL (DGS, Norma 002/2011).

No caso da diabetes gestacional, as colheitas são realizadas às 0h, 1h e 2h após a ingestão da solução de glicose. Neste caso particular, uma glicémia superior ou igual a 92 mg/dL às 0h e/ou uma glicémia superior ou igual a 180 mg/dL à 1h e/ou uma glicémia superior ou igual a 153 mg/dL às 2h fazem o diagnóstico de diabetes gestacional (DGS, Norma 002/2011).

2.2. Hemoglobina glicada

Resultante da glicosilação e glicação dos grupos amina da hemoglobina presente nos eritrócitos devido à glucose circulante na corrente sanguínea, a hemoglobina glicada é utilizada no diagnóstico da diabetes assim como na sua monitorização. Apesar dos seus valores poderem ser influenciados por fatores como o turnover eritrocitário, quando a hemoglobina glicada é superior ou igual a 6,5% estamos perante uma situação de diabetes. De salientar que no caso de um indivíduo assintomático é necessária a repetição do teste de forma confirmar o diagnóstico (DGS, Norma 033/2011).

3. Parâmetros Analíticos para a Avaliação do Equilíbrio Eletrolítico

3.1. Sódio

O sódio é o principal catião extracelular, sendo que a sua concentração plasmática é extremamente regulada de forma a manter-se no intervalo 133-146 mmol/L. A concentração deste ião regula o movimento da água através da membrana plasmática das células e por isso é bastante importante fisiologicamente (Gaw *et al.*, 2013).

A hiponatremia, diminuição da concentração plasmática de sódio abaixo dos 133 mmol/L, pode advir de um déficit de sódio devido, por exemplo, a perdas a nível gastrointestinal causadas por vômitos ou diarreia, ou pode advir da retenção da água causada, mais frequentemente, pelo Síndrome da Diurese Inadequada (Gaw *et al.*, 2013).

Pelo contrário, a hipernatremia é o aumento da concentração do sódio acima de 146 mmol/L. Este aumento pode ser devido ao aumento do catião, como acontece na Síndrome de Cushing, devido à diminuição do volume de água, como acontece em casos de vômitos excessivos, ou ainda devido à diminuição do volume de água através, por exemplo, de perdas renais (Gaw *et al.*, 2013).

3.2. Potássio

O potássio é o principal catião intracelular sendo que a sua concentração plasmática se mantém entre os 3,5 mmol/L e os 5,3 mmol/L, e está relacionado com a manutenção dos potenciais de membrana das células (Gaw *et al.*, 2013).

A hipocaliémia traduz-se numa diminuição da concentração do potássio na corrente sanguínea, podendo ser causada por vômitos, diarreia ou pela Síndrome de Conn. Já a hipercaliémia, onde se verifica um aumento da concentração plasmática deste catião, pode ser causa por situações de falência renal (Gaw *et al.*, 2013).

3.3. Cloreto

O cloreto é o principal anião no fluido extracelular, variando a sua concentração plasmática entre os 98 mmol/L e os 108 mmol/L (Gaw *et al.*, 2013).

A concentração plasmática do cloreto, assim como a do sódio, influencia o volume celular, visto que contrabalançam a concentração de solutos intracelulares através da distribuição da água a nível do fluido extracelular (Gaw *et al.*, 2013).

4. Parâmetros Analíticos para a Avaliação da Função Hepática e Danos Hepatocelulares

O fígado possui um importante papel na homeostase do organismo, nomeadamente nas funções de síntese de algumas proteínas, na excreção de compostos assim como a sua destoxificação. Desta forma, é possível avaliar a função hepática com base nestas mesmas funções e avaliar o dano hepático consoante a alteração de certos parâmetros.

4.1. Parâmetros Analíticos para a Avaliação da Função Hepática

4.1.1. Função de síntese: Albumina e Tempo de Protrombina

A função de síntese hepática pode ser avaliada através da determinação da albumina, visto que esta é sintetizada nos hepatócitos. No entanto, as alterações nos níveis de albumina nem sempre se devem a motivos hepáticos e podem ser causados por alterações a nível renal ou a patologias inflamatórias (Moman *et al.*, 2017).

Desta forma, para avaliar a função hepática de síntese deve, à determinação da albumina, conjugar-se a determinação do Tempo de Protrombina, que avalia o tempo de formação do coágulo após a exposição ao Fator Tecidual. O Tempo de Protrombina depende de vários fatores da coagulação que, tal como a albumina, são sintetizados no fígado. Para além disso, alguns destes fatores são dependentes da Vitamina K, também ela sintetizada no fígado (Rosenberg *et al.*, 2017).

4.1.2. Função de excreção: Bilirrubina

A bilirrubina advém do metabolismo do grupo heme proveniente das hemeproteínas, principalmente da hemoglobina (Chiang *et al.*, 2018).

Por ação da heme-oxidase, o grupo heme é degradado e dá origem a vários produtos, nomeadamente a biliverdina que, sob a ação da biliverdina redutase forma a bilirrubina não conjugada que é transportada na circulação, até ao fígado, ligada à albumina. Ao chegar aos hepatócitos, a bilirrubina deixa de estar ligada à albumina, passando a ligar-se a proteínas solúveis (ligandinas), e é transformada em bilirrubina conjugada após a sua conjugação com ácido glucorónico através da glucoroniltransferase. Os hepatócitos secretam, por transporte ativo, a bilirrubina conjugada nos canalículos biliares, que drena pelos ductos biliares que se unem no ducto biliar comum. A bilirrubina é depois drenada no intestino (Ruiz *et al.*, 2021).

O aumento da bilirrubina, designado por hiperbilirrubinémia, pode ser causado por diversos fatores. A hiperbilirrubinémia hepática, onde se verifica o aumento da bilirrubina conjugada, está associada a fatores hepáticos e pode ser causada por hepatites virais ou alcoólicas, doenças genéticas, obstruções biliares entre outros fatores. No entanto, nem sempre a hiperbilirrubinémia é de causa hepática, como é o caso da hiperbilirrubinémia pré-hepática. Caracterizada por um aumento da bilirrubina não conjugada, esta patologia é frequentemente causada pelo aumento da hemólise das hemeproteínas que ultrapassa a capacidade de conjugação do fígado (Ruiz *et al.*, 2021).

4.1.3. Função de destoxificação: Amónia

O ião amónia advém da biotransformação das proteínas da dieta (exógenas) e de proteínas endógenas, sendo altamente tóxico, podendo até atravessar a barreira hematoencefálica. Assim, é de extrema importância a sua eliminação através do ciclo da ureia (Keshet *et al.*, 2018).

O ciclo da ureia, que ocorre no fígado, promove a destoxificação do ião amónia através de uma série de reações enzimáticas levadas a cabo por enzimas mitocondriais e enzimas citosólicas, culminando na formação da ureia que é depois eliminada pela urina (Keshet *et al.*, 2018).

O aumento do ião amónia no plasma, chamado de hiperamonémia, é uma condição ameaçadora de vida e pode ser causada por alterações nas enzimas do ciclo da ureia, levando a uma diminuição da destoxificação do ião. No entanto, existem outros fatores que podem levar à acumulação do ião amónia, como a depleção de substratos do ciclo (Häberle, 2011).

4.2. Parâmetros Analíticos para a Avaliação do Dano hepatocelular

O dano hepatocelular pode ser avaliado através de enzimas, denominadas hepáticas, como as aminotransferases, a fosfatase alcalina e a γ GT, que são libertadas para a corrente sanguínea aquando de destruição celular.

4.2.1. Aminotransferases

As aminotransferases são enzimas responsáveis pela transferência de grupos amina de um aminoácido para um cetoácido. A nível hepático, a Alanina Aminotransferase (ALT) e a Aspartato Aminotransferase (AST) são as aminotransferases com maior relevância clínica (Panteghini & Bais, 2017).

A AST e a ALT são enzimas citosólicas que apresentam distribuições diferentes nos vários tecidos. Enquanto a ALT se encontra maioritariamente no rim e no fígado, a AST encontra-se em tecidos como o coração, o músculo esquelético, o rim e o fígado e por isso tem uma menor especificidade a nível hepático. Desta forma, ainda que as aminotransferases sejam enzimas utilizadas na avaliação do dano hepatocelular, não são específicas para este tecido e por isso devem ser avaliadas em conjunto com outras enzimas (Panteghini & Bais, 2017).

4.2.2. Fosfatase Alcalina e γ GT

A fosfatase alcalina (ALP) é uma hidrolase citosólica responsável pela remoção de grupos fosfato de vários compostos a nível biológico, estando presente em alguns tecidos, nomeadamente na mucosa intestinal, nos osteoblastos e no fígado. Tendo em consideração que o seu aumento na corrente sanguínea pode ser associado a problemas a nível hepático ou ósseo, esta enzima não é específica do tecido hepático (Panteghini & Bais, 2017).

A γ GT é uma enzima que se encontra no citosol de vários tecidos, nomeadamente dos túbulos renais e do fígado (principalmente nos ductos biliares). A alteração dos valores da γ GT está normalmente relacionada com alterações hepáticas, especialmente patologias hepatobiliares. Assim, esta enzima tem uma elevada importância na compreensão de alterações da ALP, ajudando a descartar problemas ósseos (Panteghini & Bais, 2017).

5. Parâmetros Analíticos para a Avaliação da Função Renal

O rim, cuja unidade funcional é o nefrónio, é o órgão responsável por manter a homeostase dos fluídos e eletrólitos do organismo, pela manutenção do equilíbrio ácido base, a formação da urina, a excreção de produtos do metabolismo das proteínas e a síntese de hormonas (Kaplan & Pesce, 2009).

A função renal pode ser avaliada através de diferentes determinações.

5.1. Concentração de compostos azotados não proteicos: ureia, creatinina e ácido úrico

Partindo da destoxificação do ião amónia, através do ciclo da ureia, obtém-se a ureia, que corresponde a mais de 75% dos compostos não azotados que são excretados. Cerca de 90% deste composto é excretado a nível renal, sendo o restante eliminado através da pele e do trato gastrointestinal. As variações dos níveis de ureia no sangue relacionam-se com alterações na sua produção ou na sua excreção, sendo influenciados pela dieta, pelo aumento do catabolismo de proteínas endógenas, entre outros fatores (Lamb & Jones, 2017).

Formada no músculo a partir da creatina ou da fosfocreatina, a creatinina é um composto cuja concentração na corrente sanguínea está relacionada com a massa muscular, mas também com o ritmo da sua eliminação, que é feita por filtração glomerular e secreção tubular (Lamb & Jones, 2017).

O ácido úrico tem origem no metabolismo das bases azotadas, as purinas, presentes nas diferentes células, ou numa fonte endógena das mesmas, nomeadamente as proteínas de

origem animal. Os rins são responsáveis pela eliminação de cerca de 70% do ácido úrico, através de filtração glomerular, seguida de reabsorção na primeira porção do túbulo proximal, secreção na porção distal do túbulo proximal e uma última reabsorção na última porção do túbulo distal. Os valores de ácido úrico na corrente sanguínea dependem da sua produção metabólica e da sua eliminação, podendo levar a casos de hiperuricemia ou hipouricemia (Ragab & Elshahaly, 2017) (El Ridi & Tallima, 2017).

5.2. Taxa de Filtração Glomerular

A determinação da Taxa de Filtração Glomerular é considerada a melhor metodologia para avaliar a função glomerular, nomeadamente a função de filtração do glomérulo (Lamb & Jones, 2017).

A clearance renal de uma substância é tida como o volume de plasma depurado dessa mesma substância, por unidade de tempo. Posto isto, no caso de uma substância que seja filtrada pelo glomérulo e que não sofra secreção nem reabsorção nos túbulos renais, a sua clearance será igual à sua TFG. Além disto, também a quantidade dessa substância filtrada pelo glomérulo será igual à quantidade excretada na urina (Lamb & Jones, 2017).

Ainda que o gold standard da determinação da TFG seja através da clearance da inulina, um polímero da frutose, os métodos de análise existentes são complexos e, por isso, utiliza-se a clearance da creatinina urinária (Lamb & Jones, 2017).

Posto isto, a TFG pode ser calculada através da seguinte equação:

$$TFG = \frac{(concentração\ urinária\ da\ creatinina\ (\mu mol/min)) \times (volume\ urina\ eliminado\ por\ minuto\ (ml/min))}{(concentração\ plasmática\ de\ creatinina\ (\mu mol/min))}$$

A clearance da creatinina depende de fatores como a idade, o sexo, o peso e, para além disso é normalmente necessária a colheita da urina durante 24h, o que nem sempre é possível. Desta forma, para minimizar os erros associados à equação anterior e ultrapassar possíveis problemas na colheita de urina, existem duas equações que podem ser utilizadas para determinar a clearance da creatinina: a equação de Cockcroft and Gault e a equação criada pelo estudo da Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) (Kaplan & Pesce, 2009).

Equação de Cockcroft and Gault:

$$TFG = \frac{(140 - idade\ (anos)) \times peso\ (kg)}{(72 \times concentração\ plasmática\ de\ creatinina\ (mg/dl))} \times (0.85\ se\ sexo\ feminino)$$

Equação MDRD:

$$TFG = 186 \times \text{concentração plasmática de creatinina (mg/dl)} \\ - 1.154 \times (\text{idade (anos)})0.203 \times (0.742 \text{ se sexo feminino}) \\ \times (1.210 \text{ se africo - americano})$$

5.3. Proteinúria

Um indivíduo saudável excreta menos de 150 a 200 mg/dia de proteína na urina sendo que apenas 10 a 20 mg/dia corresponde à albumina. Tal ocorre visto que apenas uma pequena quantidade de albumina passa para o filtrado glomerular, sendo depois reabsorvida nos túbulos proximais (Venkat, 2004).

A microalbuminúria, um marcador de nefropatia precoce, corresponde à eliminação na urina de valores entre 30-300 mg/dia de albumina, sendo apenas detetáveis por métodos altamente sensíveis como os métodos imunológicos. Quando os valores de albumina eliminada na urina são acima do limiar de 300 mg/dia, estamos perante situações de albuminúria, que já conseguem ser detetados num exame de urina tipo II por meio das tiras reagentes de urina (Venkat, 2004).

O aparecimento de proteína na urina a níveis superiores aos de referência pode ser devido a uma alteração na permeabilidade glomerular, ou a uma alteração da reabsorção tubular. Existe ainda outro tipo de proteinúria, a proteinúria de excesso, onde um excesso de proteínas de baixa massa molecular é filtrado, ultrapassando o ritmo de reabsorção tubular, levando ao seu aparecimento na urina. Nesta última categoria está incluída, por exemplo, a proteinúria de Bence-Jones (Fathallah-Shaykh, 2017).

5.4. Análise sumária de urina ou urina tipo II

A análise sumária de urina consiste na análise de vários parâmetros de uma amostra urinária, normalmente a primeira da manhã. Numa primeira fase, são analisadas as componentes visuais como a cor e o aspeto e seguidamente são analisadas as componentes bioquímicas, como o pH, a densidade, a presença de leucócitos, nitritos, glucose e proteína, por meio de tiras reagentes de urina. Por fim, após centrifugação de uma alíquota da amostra, é analisado o sedimento urinário, tendo especial atenção à presença de leucócitos, eritrócitos, células epiteliais, cristais e bactérias.

6. Metabolismo Mineral

6.1. Cálcio

O cálcio é um dos elementos mais abundantes no organismo, estando presente maioritariamente no osso (99%). Encontrando-se na corrente sanguínea sob três formas

distintas - cálcio livre/ionizado (forma biologicamente ativa), cálcio ligado a proteínas plasmáticas e cálcio complexado (com moléculas como lactato, fosfato, entre outras) - a sua concentração é regulada através da paratohormona (PTH) e do calcitriol (1,25-dihidroxitamina D₃ ou 1,25(OH)₂D₃) (Fraser, 2017).

Quando as concentrações de cálcio na corrente sanguínea diminuem abaixo do intervalo de referência (situações de hipocalcémia), dá-se a produção e libertação na corrente sanguínea da PTH que vai atuar em vários locais, nomeadamente a nível renal (reabsorção de cálcio), intestinal (através do calcitriol promovendo a absorção do cálcio) e ósseo (aumento da reabsorção óssea), de forma a normalizar as concentrações do ião. Estas situações podem acontecer, por exemplo, devido a hipoalbuminémia (diminuição do cálcio ligado à albumina, sendo a origem mais comum), a falência renal ou a hipoparatiroidismo (Fraser, 2017).

Pelo contrário, quando as concentrações de cálcio aumentam acima do intervalo de referência (hipercalcémia) a PTH deixa de ser produzida e libertada na corrente sanguínea. A hipercalcémia pode ser causada por hiperparatiroidismo primário ou por situações malignas como erosão óssea devido a tumores (Fraser, 2017).

6.2. Fosfato

O fosfato está presente no plasma na sua forma orgânica, presente nas células e incorporado nos ácidos nucleicos, e na forma inorgânica, sendo esta uma grande componente da hidroxiapatite no osso. Tal como o cálcio, também a concentração do fosfato é controlada pela PTH e pelo calcitriol, dependendo das necessidades do organismo (Fraser, 2017).

Situações onde se verificam níveis inferiores ao intervalo de referência da concentração plasmática de fosfato (hipofosfatémia) podem ser causadas, por exemplo, por perdas a nível renal como acontece na síndrome de Fanconi ou pela diminuição de absorção intestinal de fosfato causada por vômitos e diarreia. Já o aumento da concentração de fosfato (hiperfosfatémia) pode ser devido a hipoparatiroidismo ou a situações de lise celular como rabdomiólise, por exemplo (Fraser, 2017).

6.3. Magnésio

O magnésio é o quarto catião mais abundante no organismo, sendo que cerca de 55% deste ião se localiza no osso. Além disto, o magnésio é cofator de mais de 300 enzimas, entre as quais a adenilato-ciclase e a creatina-cinase (Fraser, 2017).

Uma diminuição da concentração plasmática de magnésio (hipomagnesiémia), cujo intervalo de referência é 1,6-2,6 mg/dL, é normalmente devida a perdas renais ou problemas

intestinais. Já as situações de hipermagnesiemia (aumento da concentração plasmática de magnésio) estão normalmente associadas a uma ingestão excessiva deste íon associada a uma falência renal que impede a sua excreção (Fraser, 2017).

7. Proteínas Plasmáticas

O plasma é a fração líquida do sangue obtida na presença de anticoagulante e após centrifugação. Apesar de ser maioritariamente constituído por água, o plasma tem também na sua constituição proteínas, sendo as principais a albumina e as globulinas. A sua separação pode ser realizada através de uma eletroforese de proteínas plasmáticas (proteinograma) (O'Connell *et al.*, 2005).

As proteínas plasmáticas podem, também, ser consideradas proteínas de fase aguda positivas ou negativas, consoante a sua concentração aumente ou diminua, respetivamente, na corrente sanguínea em situações de inflamação (O'Connell *et al.*, 2005).

7.1. Albumina

Sintetizada no fígado, a albumina é a principal proteína plasmática, correspondendo a mais de 50% das proteínas presentes no plasma. Além disso, esta proteína é também uma proteína de fase aguda negativa, estando as suas concentrações diminuídas em situações como inflamação ou processos malignos (Dietzen, 2017).

A albumina apresenta duas funções principais: a manutenção da pressão osmótica e o transporte de moléculas que se ligam à albumina, como por exemplo a bilirrubina e alguns fármacos (Dietzen, 2017).

A hipoalbuminemia, situação em que a concentração de albumina na corrente sanguínea está diminuída, pode ocorrer, por exemplo, devido a perdas renais ou até mesmo devido a um défice na sua síntese a nível hepático (Dietzen, 2017).

As situações opostas, onde se verifica um aumento da concentração plasmática de albumina (hiperalbuminemia), são normalmente devido a uma diminuição da hidratação e consequente diminuição da quantidade de água no organismo (O'Connell *et al.*, 2005).

7.2. Globulinas

As globulinas compreendem uma fração menor das proteínas plasmáticas e englobam as α -globulinas (α_1 e α_2), as β -globulinas (β_1 e β_2) e as γ -globulinas (O'Connell *et al.*, 2005).

7.2.1. Fração α

A fração α_1 das globulinas é constituída, maioritariamente pela α_1 -antitripsina, uma enzima inibidora de proteases, sintetizada nos hepatócitos. Esta enzima, contrariamente à albumina, é uma proteína de fase aguda positiva, e por isso, as suas concentrações plasmáticas aumentam em resposta a situações de inflamação. Pelo contrário, a sua diminuição na corrente sanguínea pode estar associada a patologias hepáticas que levam à diminuição da sua produção (O'Connell *et al.*, 2005).

A fração α_2 das globulinas é constituída principalmente por três proteínas: a ceruloplasmina, que transporta o cobre plasmático, a α_2 -macroglobulina, inibidora das proteases e a haptoglobina, uma glicoproteína transportadora da hemoglobina. Esta fração também compreende proteínas de fase aguda positivas (O'Connell *et al.*, 2005).

7.2.2. Fração β

A fração β das globulinas inclui diversas proteínas, maioritariamente a transferrina na fração β_1 . A transferrina é a principal proteína transportadora de ferro no organismo, permitindo que este seja transportado até às células, de forma a ser utilizado para vários fins, nomeadamente a síntese de DNA, ou que seja armazenado. Adicionalmente, a transferrina é uma proteína de fase aguda negativa, e por isso a sua concentração encontra-se diminuída em circunstâncias inflamatórias (Gruys *et al.*, 2005).

7.2.3. Fração γ

A fração γ das globulinas é de elevada relevância clínica visto que é nela que se encontram as imunoglobulinas (Igs), nomeadamente as IgG, IgM, IgA, IgD e IgE. Formadas por plasmócitos, as imunoglobulinas apresentam uma mesma estrutura básica: duas cadeias leves kappa e lambda, e duas cadeias pesadas que podem ser alfa, gama, delta, épsilon e mu. As Igs possuem dois domínios funcionais, um responsável pelo reconhecimento e ligação ao antigénio (domínio Fab, variável), e um segundo responsável pela ligação a outros componentes do sistema imunológico (domínio Fc) (Gaw *et al.*, 2013).

Várias patologias resultam num aumento das imunoglobulinas, como por exemplo o mieloma múltiplo, onde há proliferação excessiva de um grupo de plasmócitos (clone) e consequente produção exagerada de um tipo de imunoglobulina. Por outro lado, existem patologias que causam a diminuição das imunoglobulinas, nomeadamente imunodeficiências ou outras doenças genéticas (Gaw *et al.*, 2013).

7.3. Proteína C Reativa

A proteína C Reativa é uma proteína de grande interesse clínico, produzida pelo fígado, podendo a sua concentração aumentar até 1000 vezes em situações de inflamação. Além disto, a sua renovação diária é de aproximadamente 92% e por isso permite acompanhar a evolução destas mesmas situações (Dietzen, 2017).

7.4. Eletroforese de proteínas ou Proteinograma

A separação e identificação das proteínas plasmáticas é feita através do proteinograma. Esta técnica consiste na migração das proteínas, sujeitas a corrente elétrica, num gel (normalmente de agarose) consoante a sua carga elétrica e massa molecular (O'Connell *et al.*, 2005).

Realizado pelo aparelho HYDRASYS SEBIA, o resultado do proteinograma consiste no aparecimento de 5 bandas no gel, correspondentes às proteínas plasmáticas albumina e frações α , β e γ das globulinas.

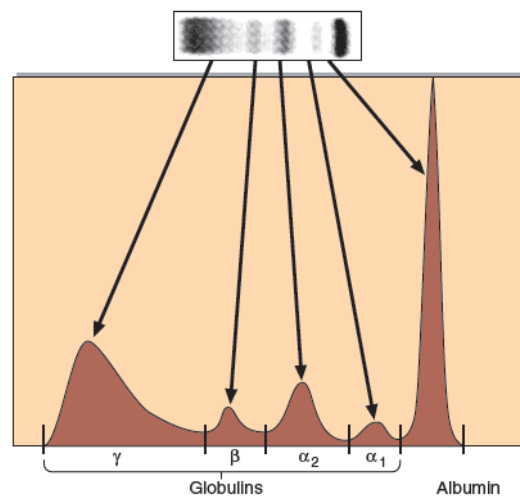


Figura 2 - Eletroforese de proteínas plasmáticas de um indivíduo saudável (Adaptado de Gaw *et al.*, 2013).

Caso Clínico

Um utente de 70 anos, acompanhado no Hospital da Luz de Coimbra devido a um problema oncológico, desloca-se ao laboratório para realizar análises queixando-se de cansaço e náuseas. Anteriormente tinha-lhe sido receitado um anti-inflamatório esteróide (corticóide) para aliviar dores nas costas na sequência de uma queda em casa. Os resultados obtidos encontram-se descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Valores obtidos nas determinações bioquímicas realizadas no laboratório SYNLAB

Parâmetro Bioquímico	Valor	Valor de Referência	Histórico (12-05-2021)
Glucose	121 mg/dL	83 - 110	118
Ureia	74 mg/dL	15 - 43	67
Creatinina	1,67 mg/dL	0.60 - 1.20	1.22
TFG estimada (TFGe)	40 mL/min/1.73m²		58
Bilirrubina total	0,73 mg/dL	0.30 - 1.30	0.70
Bilirrubina conjugada	0,19 mg/dL	0.10 - 0.40	0.20
Aspartato-aminotransferase (AST)	115 UI/L	12 - 38	23
Alanina-aminotransferase (ALT)	143 UI/L	7 - 41	21
Fosfatase Alcalina (ALP)	266 UI/L	40 - 150	75
Gamaglutamil transferase (GGT)	477 UI/L	9 - 58	33
Desidrogenase láctica (LDH)	263 UI/L	115 - 221	216
Proteínas totais	7,4 g/dL	6.3 - 7.9	7.0
Albumina	3,7 g/dL	3.2 - 4.6	3.7
PSA, Antígeno Específico da Próstata	0,03 ng/mL	<= 6.50	0.03
Antígeno Carcinoembrionário (CEA)	1,9 ng/mL	Não fumadores: < 3.0 Fumadores: < 5.0	2.0

Através dos resultados descritos na Tabela 4 é possível observar que o utente apresenta valores de ureia e creatinina aumentados e uma diminuição da TFG. Além disto, constata-se também o aumento das enzimas AST, ALT, ALP, GGT e LDH.

Relativamente à função renal, uma diminuição da TFG implica que o volume de sangue que entra no rim para ser depurado das substâncias é menor, levando à sua acumulação. Desta forma, o ligeiro aumento de ureia e creatinina está relacionado com a ligeira diminuição da TFG.

Ainda que enzimas AST e ALT não sejam altamente específicas do tecido hepático, tendo a ALT uma maior especificidade para este tecido, o seu aumento juntamente com o

aumento da ALP (associada problemas hepáticos ou ósseos), da GGT (associado a problemas renais e hepáticos) e da LDH (presente no citoplasma de vários tecidos nomeadamente do fígado) estará relacionado com dano hepático e destruição celular. No entanto, a função de síntese hepática ainda não está afetada, visto que os valores de proteínas totais e a albumina se encontram dentro dos valores de referência. Além da função de síntese, a função de excreção hepática também não sofreu alterações visto que os valores de bilirrubina se encontram dentro do intervalo de referência.

Tendo em conta os resultados das análises do paciente e a sua história clínica, a suspeita recai sobre uma hepatite tóxica medicamentosa consequente da toma do anti-inflamatório.

Os anti-inflamatórios esteróides atuam a vários níveis para promover uma resposta anti-inflamatória, nomeadamente a nível dos vasos sanguíneos, promovendo a vasoconstrição. A nível renal, esta vasoconstrição leva a que o fluxo de sangue que entra no rim seja menor, alterando por isso a TFG e levando à acumulação de compostos como a ureia e a creatinina (Greaves, 1976).

Além do seu efeito anti-inflamatório, os corticóides estão associados a hepatotoxicidade, podendo causar esteatose hepática ou hepatites agudas. O efeito deste fármaco explica o aumento das enzimas hepáticas (AST, ALT, ALP, GGT) e da LDH.

Com os resultados obtidos, o clínico indicou a paragem da toma dos anti-inflamatórios esteróides, tendo o utente recuperado.

Setor da Hematologia

O setor da hematologia encontra-se maioritariamente automatizado, sendo as análises realizadas por 3 equipamentos: Sysmex XN-550 para hemogramas, leucogramas, contagem de plaquetas e reticulócitos, Sysmex CA-660 para as provas da coagulação e VES-MATIC 30 para a determinação da velocidade de sedimentação glomerular.

Fazendo parte do diagnóstico de anemias, patologias malignas hematológicas ou até mesmo infeções, o hemograma consiste na determinação de parâmetros sanguíneos relativamente às células vermelhas (eritrograma), às células brancas (leucograma) e ainda relativamente às plaquetas e reticulócitos (Celkan, T. T., 2020). As amostras (sangue total) são previamente homogeneizadas e são depois colocadas no equipamento para serem realizadas as determinações especificadas. Na Figura 3 está ilustrado o exemplo de um hemograma realizado pelo laboratório SYNLAB.

HEMATOLOGIA		
Hemograma Amostra: Sangue Total		
Eritrograma		
Eritrócitos	$\times 10^{12}/L$	4.50 - 5.90
Hemoglobina	g/dL	13.5 - 17.5
Hematócrito	%	41.0 - 53.0
Vol. Glob. Médio (VGM)	fL	80 - 100
Hgb. Glob. Média (HGM)	pg	26 - 34
Conc. Hgb. Glob. Média (CHGM)	g/dL	32 - 36
RDW (Índice distrib. eritrocit.)	%	11.6 - 14.0
Leucograma		
Leucócitos	$\times 10^9 / L$	4.00 - 10.00
-Neutrófilos	$\times 10^9 / L$	1.80 - 7.00
-Eosinófilos	$\times 10^9 / L$	< 0.50
-Basófilos	$\times 10^9 / L$	< 0.10
-Linfócitos	$\times 10^9 / L$	1.00 - 4.00
-Monócitos	$\times 10^9 / L$	0.20 - 1.00
Plaquetas	$\times 10^9 / L$	150 - 400
VPM (vol. plaq. médio)	fL	8.8 - 12.4

Figura 3- Hemograma realizado pelo laboratório SYNLAB.

Para além do hemograma, também no setor da hematologia é avaliada a hemostase. Este é um mecanismo que permite parar uma hemorragia e nele estão envolvidos os fatores de coagulação, o parâmetro estudado para a avaliação deste mecanismo (Hoffbrand & Moss, 2013) As amostras (plasma citratado) são previamente centrifugadas e depois colocadas no equipamento.

Por último, é ainda possível o estudo da velocidade de sedimentação globular. Esta prova avalia a velocidade da deposição (sedimentação) dos eritrócitos numa dada amostra, em mm/h. A VSG é um parâmetro pouco específico, dependendo de fatores como a presença de

proteínas de grande dimensão no plasma, e estando aumentada em doenças com um componente inflamatório (Hoffbrand & Moss, 2013).

Setor da Imunologia

A grande parte das determinações do setor da imunologia é realizada pelo equipamento ARCHITECT, utilizando o método de quimiluminescência. A quimiluminescência consiste na emissão de luz associada a uma reação química, normalmente uma oxidação, catalisada por uma enzima. A detecção de complexos antígeno – anticorpo é possível devido à presença de um anticorpo ligado a uma enzima que catalisa uma reação onde há emissão de luz (Cinquanta & Bizzaro, 2017).

Além do ARCHITECT, existe outro equipamento utilizado no setor da imunologia, o HYDRASYS SEBIA onde são realizadas imunofixações. Nestes ensaios, é efetuada a separação eletroforética de proteínas plasmáticas presentes numa amostra de soro. Seguidamente, a amostra é colocada de forma repetida nos poços do gel, sendo depois incubada com o respetivo anti-soro (contra IgA, IgG, IgM, cadeias leves kappa e lambda), sendo que as proteínas não precipitadas são lavadas e as precipitadas são coradas. Desta forma, é possível identificar o tipo de proteína anormal na amostra por comparação com um padrão de soro de um indivíduo saudável (Bottini, 2007).

No setor da imunologia, além das técnicas instrumentais referidas acima são ainda realizadas técnicas manuais. Dentro destas técnicas, uma das principais consiste na execução de testes rápidos baseados na técnica de imunocromatografia. Estes testes, realizados em cassetes, permitem a detecção de anticorpos ou antígenos através da formação de imunocomplexos, gerando uma linha colorida (linha de teste). Existe ainda uma linha de controlo para que seja garantida a qualidade do teste (Bahadır & Sezgintürk, 2016). Os testes rápidos são utilizados, por exemplo, no diagnóstico da COVID-19 e sangue oculto nas fezes e ainda para o diagnóstico imunológico de gravidez.

Por último, são ainda realizados testes de aglutinação. Baseados na reação de aglutinação entre os antígenos presentes à superfície das células ou partículas de látex, e os anticorpos presentes na amostra, estes testes são utilizados por exemplo no ensaio Rapid Plasma Reagin (RPR) e na tipagem sanguínea (Kricka & Park, 2017).

Determinações Analíticas no Setor da Imunologia

I. Toxoplasmose

Causada pelo *Toxoplasma gondii*, um parasita intracelular obrigatório, a toxoplasmose é uma zoonose que infeta diversos animais, como o gato, e humanos. Ocorrendo a fase sexuada do seu ciclo no hospedeiro definitivo (gato) e a fase assexuada no hospedeiro intermediário, o *Toxoplasma gondii* apresenta três estádios principais durante o seu ciclo evolutivo: o taquizoíto, resultante da reprodução assexuada e presente na fase aguda da infecção, o quisto, contendo bradizoítos no seu interior, e o ooquisto (maturo e imaturo), que resulta da reprodução sexuada do parasita (Rey, 2010).

O ser humano pode contrair esta infecção por diversas formas, nomeadamente pela ingestão de quistos em carne contaminada mal cozinhada ou ingestão de ooquistos esporulados presentes, por exemplo, em alimentos (Rey, 2010).

Ainda que a infecção por *Toxoplasma gondii* não seja preocupante em indivíduos imunocompetentes visto que o curso clínico é normalmente benigno e auto-limitado, nos imunodeprimidos esta parasitose pode ser grave e inclusivamente causar a morte. Também as grávidas são um grupo de risco, especialmente nos primeiros seis meses de gestação. Quando adquirida nos dois primeiros trimestres da gravidez, a infecção apresenta um grande risco para o feto. Num quadro agudo, o parasita infeta principalmente o sistema nervoso e a retina do feto, podendo causar morte fetal (Rey, 2010).

No laboratório SYNLAB, é feita a pesquisa de anticorpos específicos IgG e IgM (de forma a distinguir infecções passadas de infecções recentes e potencialmente perigosas) no equipamento ARCHITECT para o diagnóstico da toxoplasmose.

2. Sífilis

Causada pela bactéria *Treponema pallidum* subespécie *pallidum*, a sífilis é uma doença transmitida maioritariamente através da via sexual, podendo também ser adquirida por via congénita ou por transfusão sanguínea. O risco de contágio está relacionado com a fase da doença, sendo que este é maior nos estádios iniciais da mesma, onde se verifica um maior número de bactérias presente nas lesões (Murray *et al*, 2015).

A fase inicial da sífilis, ou fase primária, caracteriza-se pelo aparecimento de lesões na pele no local de penetração da bactéria. Estas lesões evoluem para úlceras que desaparecem espontaneamente até dois meses após o seu aparecimento. A fase seguinte, fase secundária, caracteriza-se pelo aparecimento de sintomas causados pela disseminação da infecção, como

lesões na pele dispersas pelo corpo, febre, mialgias entre outros. Por último, existe ainda uma fase de latência da doença, que pode causar danos em qualquer órgão e tecido, podendo causar demência ou cegueira (Murray *et al*, 2015).

O diagnóstico da sífilis pode ser feito de diversas formas, nomeadamente através de microscopia de fundo escuro (pesquisa de bactérias em exsudados de lesões), testes não treponémicos (avaliam os anticorpos produzidos como resposta à libertação de cardiolipina devido à destruição celular) como o Rapid Plasma Reagin (RPR) e testes treponémicos (pesquisam anticorpos específicos contra o *T.pallidum*) como o Treponema Pallidum Hemagglutination (TPHA) (Murray *et al*, 2015).

No laboratório, o diagnóstico da sífilis pode ser feito através do RPR, sendo necessário realizar várias diluições para determinar o título em caso de resultado positivo, do TPHA ou ainda através da pesquisa de anticorpos específicos IgG e IgM no ARCHITECT. No equipamento é possível a deteção de valores mais baixos de anticorpos específicos não detetados pelo ensaio TPHA.

3. Hepatites Virais

3.1. Hepatite A

A hepatite A é causada pelo Vírus da Hepatite A, um vírus da família Picornaviridae, que apresenta um genoma de RNA de cadeia simples com polaridade positiva, rodeado por uma cápside icosaédrica, sem envelope (Murray *et al*, 2015).

O vírus da Hepatite A (HAV) é resistente a detergentes, pH ácido e temperaturas elevadas, permitindo a sua sobrevivência no ambiente e a sua transmissão através da via fecal-oral. Após a ingestão, a replicação do vírus dá-se nos hepatócitos e nas células de Kupffer, sendo depois secretado para os canalículos biliares, passando para o ducto biliar e depois para o intestino. Daqui, pode ser excretado nas fezes, ou ser absorvido e transportado novamente para o fígado através da circulação entero-hepática (Jeong *et al.*, 2010).

O HAV apresenta um período de incubação de aproximadamente um mês, surgindo os sintomas de forma abrupta. Numa primeira fase, a doença caracteriza-se pela perda de apetite, febre e náuseas, surgindo, numa fase mais tardia, o aparecimento de icterícia e escurecimento da urina. O curso da doença é limitado, sendo que este vírus não provoca doença crónica (Murray *et al*, 2015). Na Figura 3 está ilustrada a evolução da doença assim como a sua serologia e aspetos bioquímicos.

Apesar de serem encontrados valores elevados de bilirrubina, fosfatase alcalina e ALT na corrente sanguínea em situações de Hepatite A, estes achados não são específicos da

doença e por isso a avaliação da presença de Hepatite A deve ser feita com base na presença de anticorpos específicos anti-VHA (Shin & Jeong, 2018).

No laboratório, a avaliação da Hepatite A é feita no equipamento ARCHITECT, através da pesquisa de anticorpos anti-HAV.

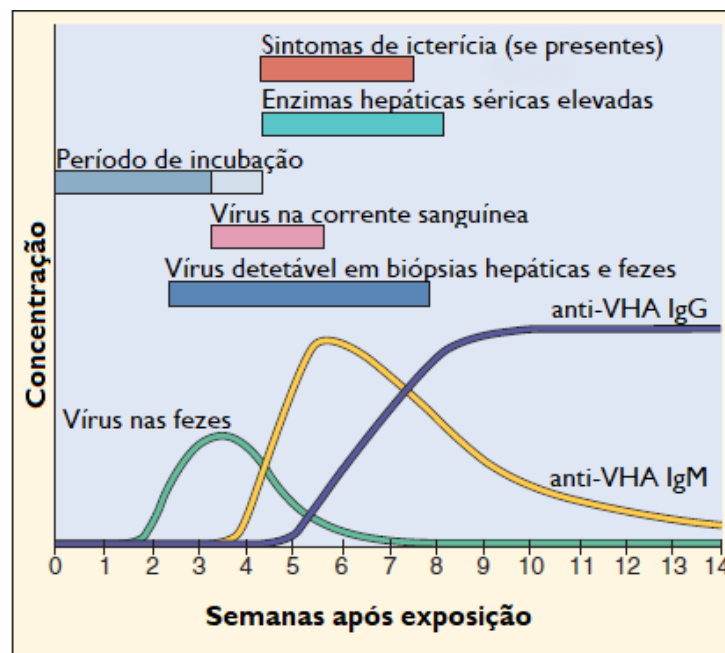


Figura 4 - Curso serológico e bioquímico da infecção causada pelo Vírus da Hepatite A (Adaptado de Murray et al. 2015).

3.2. Hepatite B

Segundo a Organização Mundial de Saúde, estima-se que, em 2019, o vírus da Hepatite B (HBV) tenha causado a morte de 820 000 pessoas, sendo que 296 milhões de pessoas eram portadoras da doença

O vírus da Hepatite B pertence à família Hepadnaviridae, sendo o seu genoma de DNA de cadeia dupla, parcialmente incompleto. O genoma viral permite a síntese de várias proteínas com relevância clínica, nomeadamente o antígeno da superfície viral AgHBs, o antígeno do core AgHBc e uma proteína solúvel do core AgHBe (Murray et al, 2015).

Este vírus pode ser transmitido através do contacto sexual, via vertical ou contacto com sangue ou fluídos contaminados. O vírus da Hepatite B (VHB) possui um período de incubação entre 50 e 180 dias sendo que a extensão e gravidade da doença depende da idade do hospedeiro. Os sintomas incluem febre, mal-estar, náuseas e mais tarde o aparecimento de icterícia. A maior parte dos casos de Hepatite B evolui de forma positiva passados seis meses, desenvolvendo-se imunidade contra o vírus. A Hepatite B crónica caracteriza-se pela presença do vírus no organismo por mais de seis meses, causando inflamação e danos

hepatocelulares que podem levar ao desenvolvimento de cirrose ou carcinoma hepatocelular (Murray *et al.*, 2015).

Os anticorpos e os antígenos referidos são utilizados como marcadores serológicos da Hepatite B e a sua conjugação permite o diagnóstico diferencial da doença, o seu acompanhamento e a avaliação do desenvolvimento de imunidade (Miller, 2017).

Após o contacto com o vírus e a sua replicação, o primeiro marcador antigénico a ser detetado é o AgHBs, sendo que os seus níveis no plasma atingem o pico durante a fase aguda, diminuindo gradualmente devido ao desenvolvimento de anticorpos e consequente recuperação. Este marcador é detetável entre as 2 e as 10 semanas após a exposição ao vírus sendo que no caso da Hepatite B crónica, permanece elevado durante 6 meses ou mais. Assim, o AgHBs é um indicador de infeção ativa, sendo importante na monitorização da doença e na avaliação do desenvolvimento da doença crónica. O AgHBe surge de seguida ao AgHBs e desaparece antes do desaparecimento do AgHBs, sendo um marcador de replicação viral ativa, indicando elevada infetividade. No entanto, em infeções crónicas, o AgHBe permanece elevado na corrente sanguínea (Miller, 2017).

A resposta imune do paciente à doença leva à produção de anticorpos que são detetados na corrente sanguínea. O primeiro anticorpo a ser detetado é a IgM anti-HBc, indicativo de infeção aguda atual ou recente. Este anticorpo é detetado uma a duas semanas após o aparecimento do AgHBs, mantém-se elevado durante quatro a seis meses diminuindo de forma gradual durante este período. Os anticorpos anti – AgHBe do tipo IgG, são detetados antes do desaparecimento do anti-HBc IgM, mantendo-se elevados durante anos, sendo marcadores de infeção passada. Por último, os anticorpos do AgHBs, anti-HBs, surgem durante o período de recuperação da doença, mantendo-se elevados durante anos e conferindo imunidade contra a doença. Estes anticorpos são também produzidos na sequência da vacinação (Miller, 2017).

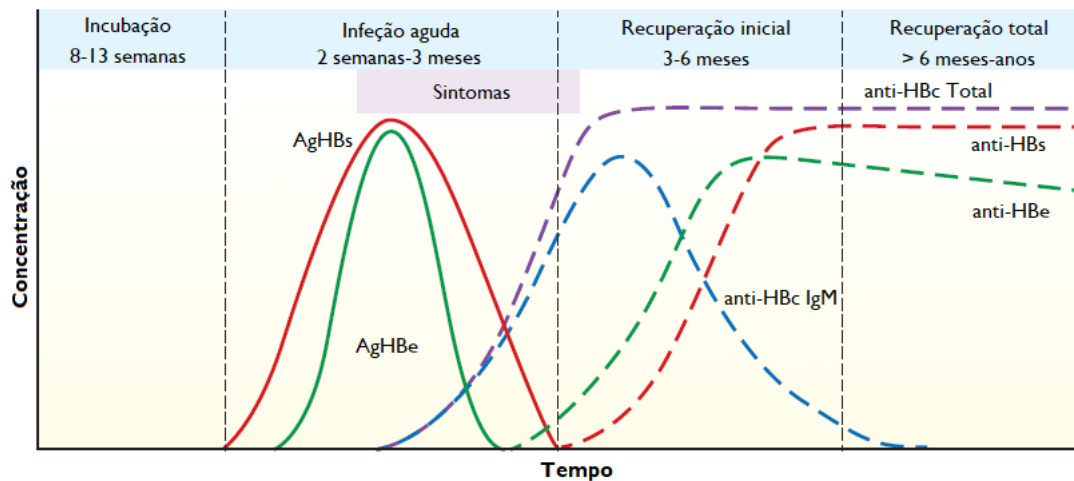


Figura 5 - Curso serológico da infecção aguda causada pelo Vírus da Hepatite B (Adaptado de Stevens & Miller, 2017).

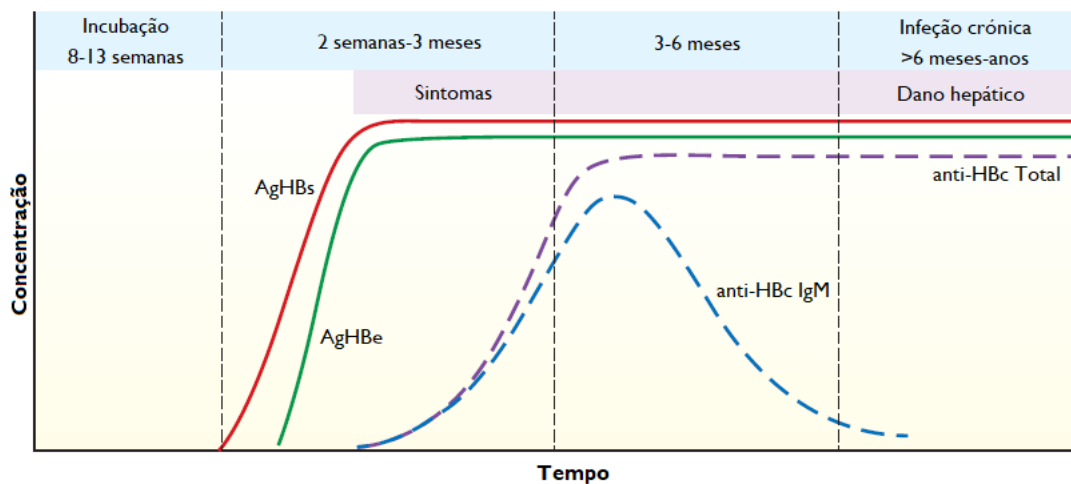


Figura 6 - Curso serológico da infecção crônica causada pelo Vírus da Hepatite B (Adaptado de Stevens & Miller, 2017).

No laboratório SYNLAB, a deteção do Vírus da Hepatite B é feita através da pesquisa dos marcadores referidos, nomeadamente AgHBs, AgHBe, anti-HBs, anti-HBe e anti-HBc, no equipamento ARCHITECT.

3.3. Hepatite C

O Vírus da Hepatite C (HCV) é o agente etiológico da Hepatite C. Este vírus pertencente à família Flaviviridae, é envelopado e apresenta um genoma de cadeia simples de RNA de polaridade positiva (Miller, 2017).

Transmitido principalmente através do contacto com sangue infetado e por via sexual, o HCV possui um período de incubação de aproximadamente 7 semanas. Sendo a maior parte das infeções agudas assintomáticas, o risco para o desenvolvimento da doença crónica

encontra-se aumentando, podendo levar ao aparecimento de cirrose e consequente dano hepático, colocando o utente em risco de desenvolvimento de carcinoma hepatocelular. A infeção aguda pode ser auto-limitada, ou progredir para a infeção crónica (Miller, 2017).

Na infeção aguda (Figura 7 a), o RNA viral surge na corrente sanguínea entre 7 e 21 dias após o contacto com o vírus, verificando-se também um aumento da enzima alanina aminotransferase (ALT) indicando dano hepático. Os anticorpos anti-HCV surgem na corrente sanguínea 2 a 8 semanas após a fase aguda da doença, persistindo durante anos e em indivíduos com doença crónica (Figura 7 b). A presença de genoma viral na corrente sanguínea por mais de 6 meses é indicativa da evolução para a fase crónica, onde também se verificam flutuações nos níveis da ALT (Chevaliez, 2011).

No laboratório SYNLAB, é feita a determinação dos anticorpos anti-HCV no equipamento ARCHITECT para a avaliação clínica da Hepatite C.

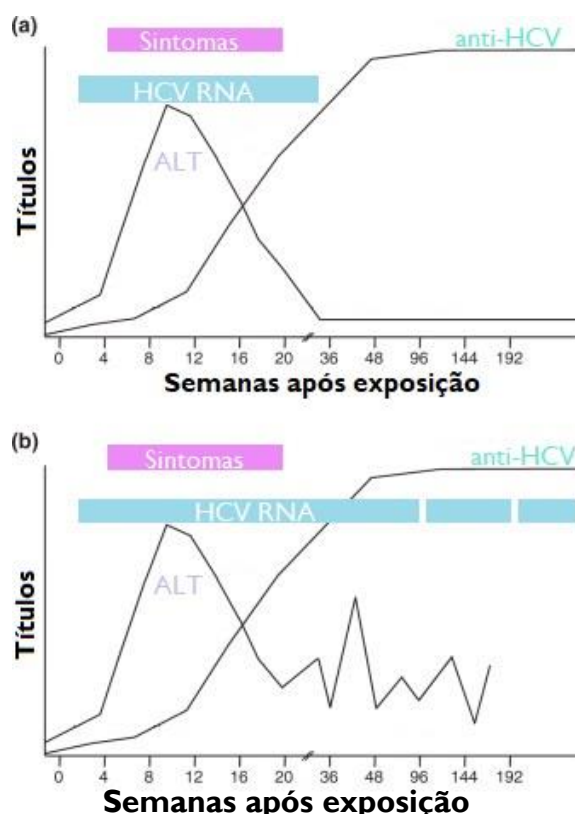


Figura 7 - Curso serológico e bioquímico da doença aguda (a) e crónica (b) causada pelo Vírus da Hepatite C. (Adaptado de Chevaliez, 2011).

4. Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV)

O Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é o agente etiológico responsável pelo Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA). Existem 2 tipos de HIV, o HIV-1 responsável

pela pandemia mundial, e o HIV-2, presente principalmente na África Ocidental e com menor patogenicidade. Entre si, os vírus apresentam uma homologia de 50% do genoma (Miller, 2017).

Segundo a OMS, em 2021, este vírus causou a morte de aproximadamente 650 mil pessoas devido a patologias a ele associadas e infetou 1.5 milhões de pessoas.

O HIV-1 pertence à família *Retroviridae*, sendo um retrovírus envelopado, esférico, com um genoma duas moléculas de RNA de cadeia simples idênticas entre si e de polaridade positiva. O vírus apresenta proteínas estruturais envolvidas na replicação viral e com relevância clínica. Entre estas encontram-se, por exemplo, a proteína p24 localizada na nucleocápside e as glicoproteínas gp120 e gp41, localizadas no envelope (Miller, 2017).

No hospedeiro, as células alvo do vírus são as T helper porque têm números elevados de CD4, assim como os macrófagos (Miller, 2017).

A replicação viral inicia-se com a adsorção da partícula viral à superfície da célula, através da interação entre a glicoproteína viral gp120 e a proteína CD4 da célula hospedeira, que funciona como um recetor para a glicoproteína gp120. A fusão do envelope viral com a membrana da célula hospedeira é feita através da co-recetores, que levam a uma alteração conformacional na proteína viral p24 que medeia então a fusão. Dá-se a penetração do vírus na célula seguida de descapsidação, expondo o genoma viral. A transcriptase reversa do vírus produz DNA de cadeia dupla a partir do RNA. O DNA de cadeia dupla é sintetizado e integrado no genoma da célula hospedeira como um provírus através da integrase viral. Quando as células T helper são ativadas por ligação a um antígeno ou por citocinas, o DNA viral é transcrito em RNA viral e RNAm, sendo transportado para o citoplasma, onde ocorre a tradução do RNAm e consequente produção de proteínas precursoras e montagem das partículas virais. Os viriões são libertados da célula por exocitose, adquirindo o envelope viral que é formado por membrana celular da célula hospedeira. As proteínas precursoras são clivadas nos viriões maduros, que podem infetar novas células (Miller, 2017).

O HIV-1 é transmitido por via sexual, por contacto com sangue ou outros fluidos corporais infetados ou por via vertical e caracteriza-se pelo declínio progressivo do sistema imunitário. Iniciando-se por uma fase aguda, esta caracteriza-se por uma elevada replicação viral e elevada virémia que causa a disseminação para os órgãos linfóides além de uma diminuição dos linfócitos T CD4. É ainda possível a manifestação de sintomas semelhantes a uma gripe, recuperando em poucas semanas. Com as respostas imunes, o paciente entra numa fase de latência, assintomática, onde se verifica uma diminuição da virémia, a presença de anticorpos específicos contra o vírus e uma normalização da contagem de linfócitos T CD4 seguido do seu declínio. Sem tratamento, o paciente progride para a SIDA, sendo este o último estadió da doença, caracterizado por níveis perigosamente baixos de linfócitos TCD4 e níveis

elevados de carga viral, com risco elevado de infeções ou neoplasias. Esta progressão leva aproximadamente 10 anos após a infeção inicial (Miller, 2017).

O diagnóstico do HIV é realizado com base nas indicações da DGS (Norma nº 058/2011 atualizada em 2014), sendo indicados os testes serológicos de 4ª geração, onde se pesquisam os anticorpos específicos anti-HIV-1 e anti-HIV-2. No caso de um resultado positivo o teste deve ser repetido em duplicado e no caso de um destes ser reativo, deve ser efetuado um teste de discriminação HIV-1/HIV-2.

No laboratório SYNLAB realiza-se, no equipamento ARCHITECT a pesquisa da proteína p24 e dos anticorpos específicos anti-VH1-1 e anti-VH-2.

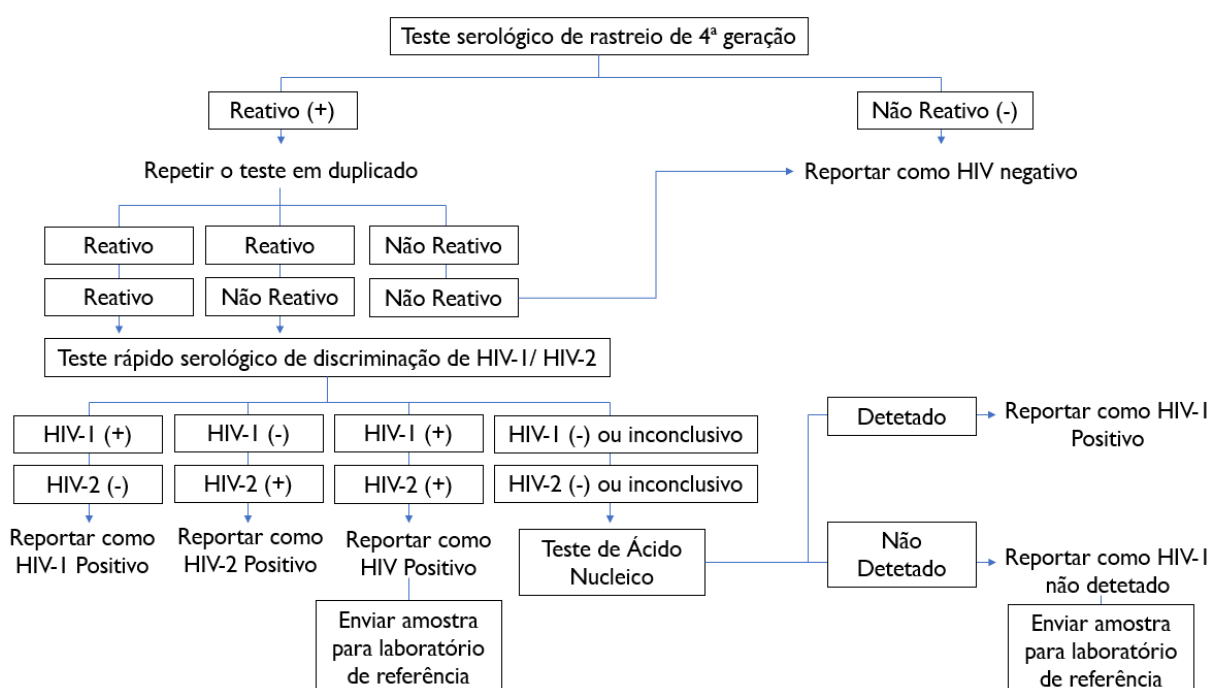


Figura 8- Instruções para o diagnóstico do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) estabelecidas pela Direção Geral da Saúde (Adaptado de DGS, Norma n.º 058/2011 atualizada a 10/12/2014).

5. Parâmetros Analíticos para a Avaliação da Função da Tiróide

5.1. Hormona estimulante da Tiróide

A Hormona estimulante da Tiróide (TSH), ou tireotrofina, é produzida na glândula pituitária (hipófise), sendo libertada em resposta à hormona libertadora de tireotrofina (TRH) proveniente do hipotálamo. Ligando-se aos seus recetores, a TSH leva ao aumento da síntese e secreção das hormonas da tiróide T₃ (triiodotironina) e T₄ (tetraiodotironina ou tiroxina).

Estas hormonas têm um efeito de feedback negativo na hipófise e no hipotálamo, regulando assim os níveis de TSH e TRH, respetivamente, na corrente sanguínea (Vanputte *et al.*, 2016).

5.2. Hormonas da Tiróide

A tiróide produz maioritariamente a hormona T_4 , composta por 2 moléculas de diiodotirosina. A hormona T_3 é obtida principalmente a partir da T_4 sendo apenas uma pequena percentagem (20%) produzida pela tiróide. Esta é composta por 1 molécula de monoiodotirosina e 1 molécula de diiodotirosina (Vanputte *et al.*, 2016).

As hormonas da tiróide circulam na corrente sanguínea maioritariamente ligadas a proteínas, principalmente a globulina transportadora de tiroxina (TBG) e albumina. No entanto, atuam nas células alvo na sua forma não ligada (livre), e por isso as hormonas T_3 e T_4 livres (FT_3 e FT_4 respetivamente) representam de uma melhor forma a atividade biológica destes compostos (Freedman *et al.*, 2017) (Vanputte *et al.*, 2016).

Após a ligação aos seus recetores nas células alvo, as hormonas da tiróide são responsáveis por vários efeitos, principalmente a nível do metabolismo, aumentando o metabolismo de glicose, lípidos e proteínas (Vanputte *et al.*, 2016).

Clinicamente, a avaliação da TSH e das hormonas da tiróide T_3 e T_4 tem bastante relevância, ajudando no diagnóstico de certas patologias, como por exemplo o hipotireoidismo primário (caracteriza-se por níveis elevados de TSH e diminuídos de T_4) e hipertireoidismo (caracteriza-se por baixas concentrações de TSH e níveis de T_4 aumentados) (Vanputte *et al.*, 2016).

6. Marcadores Tumorais

6.1. Glicoproteína – 19.9

Sintetizado em vários locais ao longo do trato gastrointestinal, nomeadamente nas células do pâncreas e do ducto biliar e no epitélio do cólon, a glicoproteína – 19.9 (CA 19.9) é o marcador tumoral mais utilizado na avaliação do cancro pancreático e monitorização da sua terapêutica (Tsen *et al.*, 2018).

Estando presente em concentrações baixas na corrente sanguínea, os níveis desta glicoproteína aumentam em situações neoplásicas, sendo maioritariamente associada ao carcinoma do pâncreas. No entanto, a sua concentração aumenta também em situações benignas como a colestase (Tsen *et al.*, 2018).

6.2. Antígeno Carcinoembrionário

O antígeno carcinoembrionário (CEA) é uma glicoproteína fetal produzida em pequenas quantidades após o nascimento, sendo utilizado como um marcador tumoral (Miller, 2017).

O aumento dos níveis de CEA na corrente sanguínea observa-se em diferentes neoplasias, nomeadamente no cancro do pulmão, do ovário ou no colorretal. Pode ainda ter origem em situações benignas como a colite ou doença hepática (Miller, 2017).

Este biomarcador é utilizado maioritariamente na avaliação do cancro colorretal, nomeadamente na monitorização da sua terapêutica (Miller, 2017).

6.3. Antígeno Específico da Próstata

O antígeno específico da próstata (PSA) é uma glicoproteína produzida nas células epiteliais da próstata, sendo utilizada no rastreio, diagnóstico e monitorização do carcinoma da próstata (Ayyıldız & Ayyıldız, 2014).

No organismo, o PSA encontra-se na forma livre, não conjugada (PSA livre) e na forma conjugada (maior parte do PSA na corrente sanguínea). Este último encontra-se ligado à antitripsina (60%-90%), α -2 macroglobulina (10%-20%) e ao inibidor de proteases α -1 (1%-5%). O PSA total consiste na soma do PSA livre e do PSA complexado (Ayyıldız & Ayyıldız, 2014).

Ainda que seja associado ao carcinoma da próstata, o aumento dos níveis de PSA pode estar relacionado com outros fatores, nomeadamente prostatites ou hiperplasia prostática benigna, diminuindo a sua especificidade como marcador tumoral (Ayyıldız & Ayyıldız, 2014). Para aumentar a especificidade, em conjunto com a determinação do PSA total pode avaliar-se o PSA conjugado e o PSA livre, visto que a proporção de PSA livre é maior em situações benignas, enquanto a proporção de PSA conjugado é maior no carcinoma da próstata (Ayyıldız & Ayyıldız, 2014) (Miller, 2017).

Caso Clínico

Uma utente de 30 anos desloca-se ao laboratório a fim de realizar análises. Os resultados obtidos encontram-se descritos na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores obtidos nas determinações imunoserológicas no laboratório SYNLAB

Parâmetro Imunoserológico	Resultado/Valor	Valor de Referência
HIV (Ag p24 + Ac HIV1/2)	Negativo	
Hepatite B, Ag HBs	Negativo (índice 0.20)	Negativo < 1.00 Positivo >= 1.00
Hepatite B, Ac HBs	Positivo (>1000 UI/L)	
Hepatite C, Ac Anti-VHC	Negativo	
Ac Anti- <i>Toxoplasma gondii</i> IgG	Positivo (550.4 UI/mL)	Negativo < 1.6 Título baixo 1.6 - 10.0 Positivo >= 10.0
Ac Anti- <i>Toxoplasma gondii</i> IgM	Positivo (índice 3.44)	Negativo < 0.50 Duvidoso 0.50 – 0.59 Positivo >= 0.60
Ac Anti-vírus da Rubéola IgG	Positivo (31.2 UI/mL)	Negativo < 5 Título baixo 5-15 Positivo >= 15
Ac Anti-vírus da Rubéola IgM	Negativo (índice 0.18)	Negativo < 1.20 Duvidoso 1.20 - 1.59 Positivo >= 1.60
Ac Anti-Citomegalovírus (CMV) IgG	Negativo (0.70 UA/mL)	Negativo < 10 Título baixo 10-15 Positivo >= 15
Ac Anti-Citomegalovírus (CMV) IgM	Negativo (índice 0.48)	Negativo < 0.85 Duvidoso 0.85 - 1.00 Positivo >= 1.00
VDRL	Negativo	

Analisando a Tabela 4, é possível observar que a utente apresenta anticorpos HBs, indicativos de uma infecção passada ou vacinação, sendo por isso imune contra a Hepatite B.

Adicionalmente, a utente apresenta anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*. Os primeiros anticorpos a surgir nesta infecção são do tipo IgM, mantendo-se detetáveis no soro entre 8 meses e 2 anos. Seguidamente, surgem os anticorpos do tipo IgG, mantendo-se elevados durante anos e conferindo imunidade.

A utente apresenta também imunidade contra o vírus da rubéola (anticorpos do tipo IgG) mas não contra o citomegalovírus visto que não apresenta anticorpos contra o vírus.

Foi ainda realizada uma VDRL como diagnóstico da sífilis, que se verificou estar negativa.

Tendo em conta que a utente pensava engravidar, regressou ao laboratório para avaliar os anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* e realizar um teste de avidéz.

Tabela 5 - Resultados obtidos nas determinações imunoserológicas realizadas no laboratório SYNLAB

Parâmetro Imunoserológico	Resultado/Valor	Valor de Referência
Ac Anti- <i>Toxoplasma gondii</i> IgG	Positivo (474.2 UI/mL)	Negativo < 1.6 Título baixo 1.6 - 10.0 Positivo >= 10.0
Ac Anti- <i>Toxoplasma gondii</i> IgM	Positivo (índice 3.13)	Negativo < 0.50 Duvidoso 0.50 – 0.59 Positivo >= 0.60
Avidez do Ac Anti- <i>Toxoplasma gondii</i> IgG	49.4%	Avidez fraca < 50.0 Avidez intermédia 50.0-59.9 Avidez forte >= 60.0

Através da análise da Tabela 5, e comparando com os resultados obtidos anteriormente, é possível concluir que houve uma ligeira diminuição dos anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* IgG e IgM.

O teste da avidéz avalia a força de ligação entre anticorpos do tipo IgG específicos e os antígenos do *Toxoplasma gondii*. Uma avidéz forte indica primo-infeção há mais de 4 meses, sendo que uma avidéz intermédia ou fraca não permite distinguir uma infeção recente de uma mais antiga com mais de 4 meses. Ainda que a avidéz fraca seja detetada principalmente em utentes com infeção recente, esta pode persistir durante vários meses, sendo menos útil no diagnóstico clínico.

Apresentando a utente uma avidéz fraca das IgG, tratar-se-á de uma infeção recente, não sendo recomendável engravidar.

Setor da Microbiologia

As atividades desenvolvidas no setor da microbiologia têm como objetivo a pesquisa de microorganismos como bactérias, fungos e parasitas, em amostras variadas, como urina, fezes, exsudado nasofaríngeo ou vaginal. As amostras são semeadas nos meios de cultura adequados de forma que seja possível recuperar e isolar os microorganismos, procedendo-se à sua identificação após o período de incubação. Por último, quando adequado, é realizado um teste de sensibilidade a antibióticos de forma a guiar o clínico no tratamento da infecção.

Neste setor, encontra-se o equipamento Vitek 2 Compact, que permite a identificação de bactérias e leveduras através da utilização de cartas específicas para os mesmos, compostas por poços que contêm testes bioquímicos para a identificação dos microorganismos. Este equipamento realiza também testes de suscetibilidade a antibióticos, através de cartas de antibiograma, que contêm poços com concentrações conhecidas de antibióticos.

A análise mais solicitada neste setor é a urocultura, que consiste na identificação e quantificação de microorganismos numa amostra de urina, complementada com o exame de sumária de urina.

Conclusão

O estágio realizado no laboratório SYNLAB permitiu o contacto com a realidade laboratorial de um técnico de análises clínicas sendo a componente teórica do Mestrado em Análises Clínicas bastante importante, ajudando o estudante na componente prática que é desenvolvida durante o estágio.

Durante o meu percurso contactei com a rotina laboratorial e todos os passos nela envolvidos, desde a fase pré-analítica até à fase pós-analítica. Ainda que o fluxo de trabalho fosse bastante elevado, os colegas do laboratório sempre se disponibilizaram para me ensinar e ajudar a realizar as tarefas, dando-me bastante liberdade. O facto de ter tido alguma autonomia no laboratório permitiu que trabalhasse bastante a prática laboratorial, adquirindo ferramentas profissionais para a vida futura.

Esta experiência permitiu também o meu desenvolvimento a nível pessoal, nomeadamente ao nível do sentido de responsabilidade. Trabalhar na área da saúde implica um rigor maior no trabalho visto que as consequências de erros cometidos podem ter repercussões de grande dimensão. Aprendi também a importância da entajuda, do trabalho em equipa e do sentido crítico, ferramentas que me serão úteis no mundo do trabalho.

Por fim, esta experiência foi bastante enriquecedora, permitindo o meu desenvolvimento enquanto pessoa e enquanto futura técnica de análises clínicas, ajudando na minha preparação para a entrada no mercado de trabalho.

Referências

- Aydin, S., Ugur, K., Aydin, S., Sahin, İ., & Yardim, M. (2019). Biomarkers in acute myocardial infarction: current perspectives. *Vascular health and risk management*, 15, 1.
- Ayyıldız, S. N., & Ayyıldız, A. (2014). PSA, PSA derivatives, proPSA and prostate health index in the diagnosis of prostate cancer. *Turkish journal of urology*, 40(2), 82.
- Bahadır, E. B., & Sezgintürk, M. K. (2016). Lateral flow assays: Principles, designs and labels. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 82, 286-306.
- Bottini, P. V. (2007). Testes laboratoriais para avaliação do componente monoclonal. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 29, 23-26.
- Carvalho, A. D. C. Anuário Estatístico de Portugal. Instituto Nacional de Estatística (2007).
- Chevaliez, S. (2011). Virological tools to diagnose and monitor hepatitis C virus infection. *Clinical microbiology and infection*, 17(2), 116-121.
- Celkan, T. T. (2020). What does a hemogram say to us?. *Turkish Archives of Pediatrics/Türk Pediatri Arşivi*, 55(2), 103.
- Chen, Y., Tao, Y., Zhang, L., Xu, W., & Zhou, X. (2019). Diagnostic and prognostic value of biomarkers in acute myocardial infarction. *Postgraduate medical journal*, 95(1122), 210-216.
- Chiang, S. K., Chen, S. E., & Chang, L. C. (2018). A Dual Role of Heme Oxygenase-I in Cancer Cells. *International journal of molecular sciences*, 20(1), 39.
- Cinquanta, L., Fontana, D. E., & Bizzaro, N. (2017). Chemiluminescent immunoassay technology: what does it change in autoantibody detection? *Autoimmunity highlights*, 8(1), 1-8.
- Deshpande, A. D., Harris-Hayes, M., & Schootman, M. (2008). Epidemiology of diabetes and diabetes-related complications. *Physical therapy*, 88(11), 1254-1264.
- Dietzen, D. J. **Amino Acids, Peptides and Proteins**. In: Rifai, N., Horvath, A. R. & Wittwer C. Tietz Textbook Of Clinical Chemistry And Molecular Diagnostics (6th Ed) Elsevier Health Sciences, 2017. ISBN: 978-0-323-35921-4, 373-403.

El Ridi, R., & Tallima, H. (2017). Physiological functions and pathogenic potential of uric acid: A review. *Journal of advanced research*, 8(5), 487-493.

Fathallah-Shaykh, S. A. (2017). Proteinuria and progression of pediatric chronic kidney disease: lessons from recent clinical studies. *Pediatric Nephrology*, 32(5), 743-751.

Francula-Zaninovic, S., & Nola, I. A. (2018). Management of Measurable Variable Cardiovascular Disease' Risk Factors. *Current cardiology reviews*, 14(3), 153-163.

Fraser, W.D. **Bone and Mineral Metabolism**. In: Rifai, N., Horvath, A. R. & Wittwer C. T. *Tietz Textbook Of Clinical Chemistry And Molecular Diagnostics (6th Ed)* Elsevier Health Sciences, 2017. ISBN: 978-0-323-35921-4, 1422-1491.

Freedman, D. B., Halsall, D., Marshall, W. J & Ellervik, C. **Thyroid Disorders**. In: Rifai, N., Horvath, A. R. & Wittwer C. T. *Tietz Textbook Of Clinical Chemistry And Molecular Diagnostics (6th Ed)* Elsevier Health Sciences, 2017. ISBN: 978-0-323-35921-4, 1572-1616.

Ganguly, P., & Alam, S. F. (2015). Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. *Nutrition journal*, 14(1), 1-10.

Gaw A., Murphy M., Srivastava R., Cowan R., O'Reilly D. **Clinical Biochemistry An Illustrated Colour Text (5th Ed)**. Elsevier Ltd., 2013. ISBN: 978-0-7020-5179-1, p 14-59.

Greaves, M. W. (1976). Anti-inflammatory action of corticosteroids. *Postgraduate Medical Journal*, 52(612), 631.

Gruys, E., Toussaint, M. J. M., Niewold, T. A., & Koopmans, S. J. (2005). Acute phase reaction and acute phase proteins. *Journal of Zhejiang University. Science. B*, 6(11), 1045.

Hall, J. E. & Guyton, A. Lipid Metabolism. In Hall, J. E. & Guyton, A. C. **Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology (12th Ed)**. Elsevier Health Sciences, 2010. ISBN: 978-1-4160-4574-8, p 819-830.

Häberle J. (2011). Clinical practice: the management of hyperammonemia. *European journal of pediatrics*, 170(1), 21-34.

Hoffbrand A.V., Moss P.A.H. **Alterações hematológicas em doenças sistémicas**. In: Hoffbrand A.V., Moss P.A.H. *Fundamentos em Hematologia (6th Ed)*. Artmed, 2013. ISBN: 978-85-65852-30-2, 381-396.

Hoffbrand A.V., Moss P.A.H. **Plaquetas, coagulação do sangue e hemostasia**. In: Hoffbrand A.V., Moss P.A.H. *Fundamentos em Hematologia* (6th Ed). Artmed, 2013. ISBN: 978-85-65852-30-2, 314-329.

Jeong, S. H., & Lee, H. S. (2010). Hepatitis A: clinical manifestations and management. *Intervirolgy*, 53(1), 15-19.

Kaplan, J. M. & Pesce, A. J. **Renal Function**. In: Kaplan, L. A. & Pesce, A. J. *Clinical Chemistry* (5th Ed). Elsevier, Health Sciences, 2009. ISBN: 209780323063920, 568-583.

Keshet, R., Szlosarek, P., Carracedo, A., & Erez, A. (2018). Rewiring urea cycle metabolism in cancer to support anabolism. *Nature reviews. Cancer*, 18(10), 634-645.

Kricka, L. J. & Park, J. Y. **Immunochemical Techniques**. In: Rifai, N., Horvath, A. R. & Wittwer C. *Tietz Textbook Of Clinical Chemistry And Molecular Diagnostics* (6th Ed) Elsevier Health Sciences, 2017. ISBN: 978-0-323-35921-4, 348-367.

Lamb, E. J. & Jones, G. R. D. **Kidney Function Tests**. In: Rifai, N., Horvath, A. R. & Wittwer C. *Tietz Textbook Of Clinical Chemistry And Molecular Diagnostics* (6th Ed) Elsevier Health Sciences, 2017. ISBN: 978-0-323-35921-4, 479-517.

Luo, J., Yang, H., & Song, B. L. (2020). Mechanisms and regulation of cholesterol homeostasis. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 21(4), 225-245

Miller, L. E. **Serology and Molecular Detection of Viral Infections**. In: Stevens, C., & Miller, L. *Clinical Immunology and Serology: A Laboratory Perspective* (4th Ed). Philadelphia: F.A. Davis Company, 2017. ISBN: 9780803644663, 408-432.

Miller, L. E. **Tumor Immunology**. In: Stevens, C., & Miller, L. *Clinical Immunology and Serology: A Laboratory Perspective* (4th Ed). Philadelphia: F.A. Davis Company, 2017. ISBN: 9780803644663, 278-297.

Miller, L. E. **Laboratory Diagnosis of HIV Infection**. In: Stevens, C., & Miller, L. *Clinical Immunology and Serology: A Laboratory Perspective* (4th Ed). Philadelphia: F.A. Davis Company, 2017. ISBN: 9780803644663, 433-453.

Moman, R. N., Gupta, N., & Varacallo, M. (2017). *Physiology*, albumin.

Murray, P. R., Rosenthal, K. S. & Pfaller M. A. **Hepatitis Viruses**. In: Murray, P. R., Rosenthal, K. S. & Pfaller M. A. *Medical Microbiology* (8th Ed). Elsevier, 2015. ISBN: 978-0-323-29956-5 p 546-560.

Murray, P. R., Rosenthal, K. S. & Pfaller M. A. **Retroviruses**. In: Murray, P. R., Rosenthal, K. S. & Pfaller M. A. *Medical Microbiology* (8th Ed). Elsevier, 2015. ISBN: 978-0-323-29956-5 p 529-545.

Nordestgaard, B. G., & Langsted, A. (2016). Lipoprotein (a) as a cause of cardiovascular disease: insights from epidemiology, genetics, and biology. *Journal of lipid research*, 57(11), 1953-1975.

Organização Mundial da Saúde (2021). Cardiovascular Diseases (CVDs). [Acedido a 15 de setembro de 2022]. Disponível em [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))

O'Connell, T., Horita, T. J., & Kasravi, B. (2005). Understanding and interpreting the serum protein electrophoresis. *American family physician*, 71(1), 105-112.

Panteghini, M. & Bais, R. **Serum Enzymes**. In: Rifai, N., Horvath, A. R. & Wittwer C. *Tietz Textbook Of Clinical Chemistry And Molecular Diagnostics* (6th Ed) Elsevier Health Sciences, 2017. ISBN: 978-0-323-35921-4, 404-434.

Portugal. Direção-Geral da Saúde (2011). **Diagnóstico e Classificação da Diabetes Mellitus**. Lisboa: DGS. 002/2011, 1-13.

Portugal. Direção-Geral da Saúde (2011). **Diagnóstico Rastreio Laboratorial da Infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH)**. Lisboa: DGS. 058/2011, 1-16.

Portugal. Direção-Geral da Saúde (2011). **Prescrição e Determinação da Hemoglobina Glicada A1c**. Lisboa: DGS. 033/2011, 1-10.

Poznyak, A. V., Grechko, A. V., Orekhova, V. A., Chegodaev, Y. S., Wu, W. K., & Orekhov, A. N. (2020). Oxidative Stress and Antioxidants in Atherosclerosis Development and Treatment. *Biology*, 9(3), 60.

Ruiz, A. R. G., Crespo, J., Martínez, R. M. L., Iruzubieta, P., Mercadal, G. C., Garcés, M. L., ... & Ruiz, M. M. (2021). Measurement and clinical usefulness of bilirubin in liver disease. *Advances in Laboratory Medicine/Avances en Medicina de Laboratorio*, 2(3), 352-361

Ragab, G., Elshahaly, M., & Bardin, T. (2017). Gout: An old disease in new perspective - A review. *Journal of advanced research*, 8(5), 495-511.

Remaley, A. T., Dayspring, T. D. & Warnick, G. Russel. **Lipids, Lipoproteins, Apolipoproteins, and Other Cardiovascular Risk Factors**. In: Rifai, N., Horvath, A. R. & Wittwer C. Tietz Textbook Of Clinical Chemistry And Molecular Diagnostics (6th Ed) Elsevier Health Sciences, 2017. ISBN: 978-0-323-35921-4, 539-603.

Rey, L. **Toxoplasmose**. In: Rey, L. Bases da Parasitologia Médica (3ª Ed). GUANABARA KOOGAN S.A., 2013. ISBN: 978-85-277-1580-5, 115-124.

Rosenberg, W., Badrick, T. & Tanwar, S. **Liver Diease**. In: Rifai, N., Horvath, A. R. & Wittwer C. Tietz Textbook Of Clinical Chemistry And Molecular Diagnostics (6th Ed) Elsevier Health Sciences, 2017. ISBN: 978-0-323-35921-4, 1348-1397.

Shin, E. C., & Jeong, S. H. (2018). Natural history, clinical manifestations, and pathogenesis of hepatitis A. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 8(9), a031708.

Tsen, A., Barbara, M., & Rosenkranz, L. (2018). Dilemma of elevated CA 19-9 in biliary pathology. *Pancreatology*, 18(8), 862-867.

Vanputte C., Russo A. & Regan J. **Endocrine Glands**. In: Vanputte C., Russo A. & Regan J. Seeley's Anatomy & Physiology (10th Ed.) Mcgraw-Hill, 2016. ISBN: 9788580555882, 594-636.

Venkat K. K. (2004). Proteinuria and microalbuminuria in adults: significance, evaluation, and treatment. *Southern medical journal*, 97(10), 969-979.