



UNIVERSIDADE D
COIMBRA

Daniela Cláudia Jesus Oliveira

RELATÓRIO DE ESTÁGIO DE MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

**Relatório de estágio no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas,
orientado pelo Doutor João Fernandes e pela Professora Doutora Paula
Cristina Luxo e apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade de
Coimbra**

Julho de 2021

Daniela Cláudia de Jesus Oliveira

Relatório de Estágio do Mestrado em Análises Clínicas

Relatório de estágio no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas, orientado pelo Doutor João Fernandes e pela Professora Doutora Paula Cristina Luxo e apresentado à Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra

Estágio realizado no laboratório A.C.M Lda.

Áreas: Imunologia e Bioquímica Clínica

Fevereiro de 2021 a julho de 2021



Agradecimentos

Com a finalização de mais uma etapa, é claro que não podia deixar de agradecer a todos os que de alguma forma fizeram parte dela.

Em primeiro lugar quero agradecer a toda a equipa do laboratório A.C.M. pela disponibilidade. Ao Dr. João Fernandes e à Dra. Mariluz Teixeira por me aceitarem como estagiária, pela orientação e transmissão de conhecimentos. Dra. Marta Viegas, Moitas, Elsa, Joana, Filipa, Edna, Dra. Belinda, Marta Santos, Ivana, Vera, Ana, Pedro, Enf^a. Maria, Enf. Veiga, Sandra e Sérgio, obrigada a todos por me integrarem, por toda a partilha de conhecimento, boleias para Viseu, bolos e boa disposição ao longo destes meses.

À coordenação de curso, em especial à Professora Dra. Paula Cristina Luxo por aceitar a orientação neste relatório.

À minha família, pelo apoio e paciência, aos meus pais Paula Oliveira e José Oliveira. À minha irmã Juliana, ao meu cunhado Brian e aos meus sobrinhos Ruben e Clara que mesmo longe, conseguem sempre animar-me.

A todos os meus colegas do Mestrado em Análises Clínicas, que nesta fase difícil, mesmo a atravessar diferentes adversidades, mantiveram-se de cabeça erguida e de alguma forma me motivaram também a continuar, em especial à Mara Almeida, à Joana Lusio, à Catarina Moreira e à Diana Pereira. E claro à minha amiga de longa data Inês Ferreira que acompanhou também este processo.

Por fim, gostava de dedicar este trabalho ao meu avô que partiu recentemente. Mesmo com dificuldades, com boa disposição até ao final, foi quem me demonstrou o que é ser verdadeiramente resiliente.

Índice

Agradecimentos	iii
Índice	iv
Índice de Figuras	v
Índice de Tabelas	vi
Abreviaturas	vii
Resumo	ix
Abstract	ix
1. Introdução	1
2. Caracterização do laboratório	2
2.1. Organização do laboratório	2
2.2. Fluxo de trabalho	2
3. Bioquímica Clínica	7
3.1. Princípios de Instrumentação	8
3.2. Parâmetros Bioquímicos determinados	11
3.3. Caso Clínico I	24
4. Imunologia/Endocrinologia	26
4.1. Princípio de Instrumentação	26
4.2. Princípio das técnicas manuais	27
4.3. Parâmetros Imunológicos	29
4.4. Parâmetros Endócrinos	41
4.5 Caso Clínico 2	48
5. Hematologia	51
6. Microbiologia	53
7. Conclusão	54
8. Referências bibliográficas	55

Índice de Figuras

Figura I: Algumas das principais proteínas encontradas em cada banda eletroforética (retirada de Eletroforese de proteínas séricas: interpretação e correlação clínica)	10
Figura II: Classificação da <i>diabetes mellitus</i>	13
Figura III: Eletroquimioluminescência	26
Figura IV: Imunoensaio de aglutinação (retirada de Immunology & Serology in Laboratory Medicine)	28
Figura V: Interpretação de resultados de testes de fluxo lateral (retirada de https://diagnostics.roche.com/global/en/products/params/sars-cov-2-rapid-antigen-nasal-test.html).....	29
Figura VI: Curso da infecção aguda pelo vírus da hepatite B (retirada de Immunology & Serology in Laboratory Medicine)	32
Figura VII: Estrutura do vírus SARS-CoV-2	33
Figura VIII: Curso da infecção por SARS-CoV-2.....	35

Índice de Tabelas

Tabela 1: Tubos para colheita Vacuette®	3
Tabela 2: Controlo de qualidade no laboratório	5
Tabela 3: Parâmetros determinados no módulo c501 do Cobas® 6000	7
Tabela 4: Parâmetros detetados na análise sumária de urina e patologias associadas....	22
Tabela 5: Resultados do caso clínico 1	24
Tabela 6: Parâmetros detetados por eletroquimioluminescência	27
Tabela 7: Utilização comum dos marcadores séricos	41
Tabela 8: Resultados do caso clínico 2	48
Tabela 9: Resultado do imunoblot confirmatório para HIV	49

Abreviaturas

- A-CCP – Anti-peptídeo citrulinado
AEQ – Controlo de qualidade externo
AFP – α - fetoproteína
ALP – Fosfatase alcalina
ALT – Alanina aminotransferase
AST – Aspartato aminotransferase
A-TPO – Anti-Peroxidase específica da tiróide
CA 19.9 – Antígeno carcinogénico 19.9
CA 125 – Antígeno carcinogénico 125
CEA – Antígeno carcino-embrionário
CMV - Citomegalovírus
CQI – Controlo de qualidade interno
CK – Creatina cinase
FPSA – Antígeno específico da próstata livre
FSH – Hormona folículo-estimulante
FT3 – Triiodotironina livre
FT4 – Tiroxina livre
GNRH – Hormona libertadora da hormona de crescimento
 γ -GT – γ -glutamil transpeptidase
HbA1c – Hemoglobina glicada
HBV – Vírus da hepatite B
HCG – Hormona gonadotropina coriónica humana
HCV – Vírus da hepatite C
HDL – Lipoproteínas de alta densidade (“High density lipoproteins”)
HIV – Vírus da imunodeficiência humana
HPLC – Cromatografia líquida de alta pressão
IFCC – International federation of clinical chemistry
IgE – Imunoglobulina E
INR – Razão internacional normalizada
LDH – Lactato desidrogenase
LDL – Lipoproteínas de baixa densidade (“Low density lipoproteins”)
LH – Hormona luteinizante

PCR – Proteína C reativa
PRL - Prolactina
PTGO – Prova de tolerância à glicose oral
PTH – Hormona paratiroideia
TAEO – Título de antiestreptosolina O
T3 – Triiodotironina
T4 – Tiroxina
TPSA – Antígeno específico da próstata total
TSH – Hormona estimuladora da tiróide
RF – Fator reumatóide

Resumo

O presente relatório, realizado no âmbito do Mestrado em Análises Clínicas, tem por objetivo descrever, de forma sucinta, os conhecimentos adquiridos durante os seis meses de estágio curricular no laboratório de análises clínicas António Carvalho Mendes Lda. (A.C.M. Lda.).

No decorrer do estágio tive oportunidade de acompanhar a rotina de trabalho de um laboratório de análises clínicas, desde a fase pré-analítica até à interpretação e validação de resultados. Pude aprofundar e consolidar os conhecimentos teóricos adquiridos ao longo do mestrado, executar tarefas e ganhar competências nas diferentes áreas de diagnóstico laboratorial, bem como desenvolver o meu espírito crítico.

Neste relatório pretendo abordar, de uma forma geral, as diferentes valências que fazem parte do laboratório e como se complementam, dando destaque às áreas de Imunologia e Bioquímica Clínica.

Palavras – chave: Análises clínicas; Imunologia; Bioquímica Clínica.

Abstract

This report carried out within the scope of the Master's in Clinical Analysis, aims to describe, in a general way, the knowledge acquired during the six months of the curricular internship at the clinical analysis laboratory António Carvalho Mendes Lda. (A.C.M. Lda.)

During this internship I had the opportunity to follow the work routine of a clinical analysis laboratory, from a pre-analytical phase to the interpretation and validation of results. I was able to deepen and consolidate the theoretical knowledge acquired during the master's, carry out tasks and gain skills in different areas of laboratory diagnosis, as well as develop my critical spirit.

In this report, I intend to address, in a general way, the different areas that are part of the laboratory and how they complement each other, highlighting the areas of Immunology and Clinical Biochemistry.

Key words: Clinical Analysis; Immunology; Clinical Biochemistry.

I. Introdução

As análises clínicas são uma área laboratorial de diagnóstico complementar que desempenha um papel importante na saúde pública.

Para além disso, são uma área multidisciplinar que permite não só o diagnóstico, como também a prevenção e monitorização de doenças, pois é a partir do estudo de material biológico, a análise dos resultados e a identificação da alteração em determinados parâmetros, que se conclui que pode haver uma falha a nível dos órgãos. Por essa razão, os serviços de saúde necessitam de resultados rigorosos e confiáveis por parte dos laboratórios de forma a verificar as condições de saúde do paciente.

Durante as aulas teóricas do mestrado pude adquirir conhecimentos, que depois tive oportunidade de pôr em prática no estágio curricular, bem como acompanhar todo o processo que começa com a colheita de uma amostra de material biológico até à sua análise e interpretação.

Com este relatório pretendo mostrar as competências que fui adquirindo ao longo do estágio realizado no laboratório de análises clínicas A.C.M. Lda, em todas as valências que fazem parte de um laboratório de análises clínicas, dando ênfase às áreas de Imunologia e Bioquímica Clínica.

2. Caracterização do laboratório

O laboratório de análises clínicas A.C.M. Lda. está sediado em Tondela e é codirigido pela Dr.^a Mariluz Teixeira e pelo Dr. João Fernandes, ambos especialistas em Análises Clínicas pela Ordem dos Farmacêuticos.

Este laboratório é constituído por vários postos de colheita dispersos pela região de Viseu: Caramulo, Campo de Besteiros, Carregal do Sal, Cabanas de Viriato, Lajeosa do Dão e Oliveira de Frades. A equipa é composta por técnicos de análises clínicas, enfermeiros e pessoal responsável pela parte administrativa.

2.1. Organização do laboratório

O laboratório está dividido em dois andares, o rés do chão onde se localiza o posto de colheitas que engloba a receção com sala de espera, três salas de colheita e duas casas de banho. No primeiro andar localiza-se a administração, uma zona de armazenamento de vestuário e os quatro principais setores do laboratório: Bioquímica Clínica, Imunologia, Hematologia e Microbiologia, bem como um setor de análises bacteriológicas e químicas de água.

Devido à pandemia, foi necessário a adaptação do laboratório com a criação de uma divisão para a realização de testes pelo método Real Time- Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) para diagnóstico de infeção por SARS-CoV-2, e a preparação de uma das salas de colheita, para realizar apenas colheitas nasofaríngeas.

2.2. Fluxo de trabalho

2.2.1. Fase Pré-Analítica

A fase pré-analítica é a fase mais importante do processamento de amostras, começando na receção e identificação do utente até ao transporte da amostra. Esta é a fase em que a probabilidade de erro analítico é mais frequente.

Após verificação da requisição e avaliação dos pré-requisitos inerentes aos diferentes parâmetros, é realizada a colheita para os respetivos tubos, como representado na tabela I(1).

Tabela 1: Tubos para colheita Vacuette®

Cor do tubo	Amostra	Composição	Análise
Vermelho (halo amarelo)	Soro	Ativadores da coagulação	Bioquímica + Imunologia + Endocrinologia
Azul	Plasma	Citrato de sódio (1:9)	Coagulação
Roxo	Sangue Total	K3 EDTA	Hematologia + Parâmetros bioquímicos das hemoglobinas
Preto	Sangue Total	Citrato de sódio (1:4)	Velocidade de Sedimentação
Verde	Plasma/Sangue Total	Heparina-lítio	Bioquímica ou Genética (exterior)

Posteriormente, é realizada a triagem das amostras, passo fundamental na organização do trabalho, pois é dada a entrada no sistema interno, permitindo saber que análises estão pendentes.

Caso sejam detetadas amostras não conformes neste passo, isto é, hemolisadas (por eventual dificuldade durante a colheita), lipêmicas, ictéricas ou com volume incorreto, o técnico de análises clínicas tem que dar indicação no processo do utente ou avaliar a necessidade de uma nova colheita dependendo dos parâmetros que são solicitados e a interferência esperada no resultado.

Após ter sido dada a entrada, das amostras, estas são então divididas pelos respetivos setores.

2.2.2. Fase Analítica

A fase analítica envolve as etapas de processamento da amostra que, sendo maioritariamente automatizada, está menos associada a erros analíticos (2).

a) Controlo de qualidade interno

O controlo de qualidade interno (CQI) pode ser definido como um conjunto de procedimentos realizados num laboratório com vista a permitir um controlo de qualidade dos resultados dos exames laboratoriais ao longo de todo o processo analítico (2).

Para monitorizar o desempenho do aparelho são analisados controlos comerciais de concentração conhecida, cujos resultados são posteriormente comparados com valores conhecidos. Esses valores são representados em intervalos considerados aceitáveis e quando o resultado está dentro desse intervalo, confirma-se que o aparelho está a funcionar corretamente. Para facilitar a interpretação, os resultados são representados em cartas de controlo, calculadas pela média e desvio padrão a partir de medições repetidas de um determinado parâmetro.

Em bioquímica clínica, o controlo é realizado diariamente, sendo dividido em dois níveis, o normal e o patológico. Sempre que algum parâmetro não está dentro dos limites considerados aceitáveis, procede-se à calibração desse parâmetro, a partir de calibradores disponibilizados pela casa comercial.

b) Controlo de qualidade externo

A avaliação externa da qualidade (AEQ) consiste na comparação dos resultados, para um mesmo analito, obtidos por diferentes laboratórios utilizando diferentes ou os mesmos métodos analíticos (2). Desta forma, há uma padronização dos testes de diagnóstico, assegurando a fiabilidade dos resultados.

Este controlo permite avaliar a exatidão do laboratório através do uso de amostras padrão que mimetizam amostras biológicas, em que os resultados são depois enviados à respetiva entidade que forneceu esses padrões que, por sua vez, compara o desempenho individual com outros laboratórios participantes. No laboratório este controlo está sob a responsabilidade de três entidades, Randox International Quality Assessment Scheme (RIQAS), em que o controlo é feito todos os meses nos setores de bioquímica, imunologia, hematologia/coagulação e microbiologia, da Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQC) realizado trimestralmente e também o Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) que envia lâminas de contagem para controlo em hematologia, parasitologia e amostras de grupos sanguíneos, testes de gravidez na urina, sangue oculto nas fezes e SARS-CoV-2. Na tabela 2, está descrito de forma resumida todo o processo de controlo de qualidade quer interno, quer externo, efetuado no laboratório.

Tabela 2: Controlo de qualidade no laboratório

Área	Aparelho	CQI		AEQ
		Frequência	Controlos	Frequência
Bioquímica Clínica	Cobas®6000 Módulo c501	Diariamente	Alternados: I nível baixo I nível alto	Mensalmente
	Arkray Adams HA-8160 ®	Semanalmente	Alternados: Nível 1 Nível 2	Mensalmente
Imunologia/ Endocrinologia	Cobas®6000 módulo e601	Diariamente	Terças Nível 1	Mensalmente
	Cobas® e401		Quintas Nível 2	
	Técnicas manuais	Mensalmente ou sempre que há abertura de novo reagente		Trimestralmente
Hematologia	Sysmex XT-1800i ®	Diariamente	Alternados: Nível baixo Nível Normal Nível Alto	Mensalmente
	Ceveron® alpha	Sempre que há abertura de novo reagente		Mensalmente
Microbiologia		Mensalmente	Controlo interno de estirpes conhecidas	Mensalmente
Biologia Molecular		Em cada placa de amplificação	Controlos de extração positivo e negativo em cada amostra	Semestralmente

2.2.3. Fase Pós-Analítica

A fase pós-analítica corresponde à fase final do processo analítico, desde a introdução e validação de resultados até à entrega do boletim de análises ao prescritor.

Os resultados são transmitidos automaticamente no sistema ou então registados manualmente pelo técnico de análises clínicas. Nesta fase o técnico avalia a situação do utente, consoante os dados disponíveis como a história clínica ou análises anteriores, de forma a garantir resultados confiáveis que permitam orientar o médico assistente na tomada de decisões.

Após validação do boletim final pelos especialistas clínicos do laboratório, deve ser entregue ao médico assistente, pelo próprio utente ou pelo laboratório.

3. Bioquímica Clínica

Na área de bioquímica clínica aplicam-se métodos químicos e bioquímicos na determinação de parâmetros, com o objetivo do estudo de uma doença. No laboratório A.C.M. Lda., estes parâmetros (apresentados na tabela 3), avaliados em amostras de soro, plasma e urina são determinados automaticamente no módulo c501 do Cobas® 6000 da Roche® Diagnostics. O aparelho é constituído por uma unidade espectrofotométrica, eléctrodos seletivos de iões sódio, potássio e cloretos e uma unidade de turbidimetria (3).

As técnicas realizadas são sensíveis, e por isso o estado da amostra pode influenciar o resultado final, é necessário durante a fase pré-analítica, verificar a presença de amostras hemolisadas, lipémicas ou ictéricas e notificar no processo do utente na hora de chegada ao laboratório.

Tabela 3: Parâmetros determinados no módulo c501 do Cobas® 6000

Ácido úrico	Bilirrubinas direta e total	Cloretos na urina
Ácido úrico na urina	Cálcio ionizado	Colesterol HDL
Alanina transaminase	Cálcio na urina	Colesterol LDL
Aspartato transaminase	Cálcio total	Colesterol total
Albumina	Creatina cinase	Magnésio
Albumina na urina	Clearance da creatinina	Creatinina
Amilase	Clearance da ureia	Creatinina na urina
Amilase na urina	Cloretos	Lactato desidrogenase
Ferro sérico	Fósforo inorgânico	γ – glutamil transpeptidase
Fosfatase alcalina	Fósforo na urina	Glicémia
Imunoglobulinas A, G e M	Ionograma sérico	Ionograma na urina
Transferrina	Proteína C reativa	Proteínas totais
Capacidade total de ligação do ferro	Prova de tolerância à glicose oral	Título de antiestreptosolina O
Proteinúria	Triglicéridos	Ureia
Osmolalidade plasmática	Lipase	Hemoglobina glicada

3.1. Princípios de Instrumentação

3.1.1. Potenciometria

As técnicas eletroanalíticas baseiam-se nas propriedades elétricas de uma determinada espécie química, isto é, baseiam-se na conversão da energia resultante da transferência de cargas entre espécies químicas, em corrente elétrica.

Um dos métodos que se baseia nesta técnica é a potenciometria. Este método permite determinar a concentração de iões numa amostra, através da diferença de potencial entre dois eletrodos, um de medição e um de referência (4).

Existem diversos tipos de eletrodos potenciométricos utilizados nos laboratórios clínicos. Para a determinação dos eletrólitos, são usados eletrodos seletivos de iões (ISEs). Os ISEs apresentam uma membrana, cuja composição química a torna permeável a determinados tipos de aniões e catiões, interagindo seletivamente com uma espécie iónica (5).

Os iões interagem com a membrana, na interface do eletrodo, onde é originada uma diferença de potencial, entre o eletrodo de medição e o de referência. Esta diferença de potencial resulta da transferência de carga entre o ião e o eletrodo de medição.

Esta técnica analítica está presente no módulo c501 do Cobas® 6000 da Roche® Diagnostics.

3.1.2. Turbidimetria

Quando a luz incide numa amostra, esta pode ser absorvida, refletida, dispersa ou transmitida. A turbidimetria baseia-se na determinação da perda de intensidade de luz transmitida, ou seja, a luz que não foi absorvida ou refletida pelas partículas em suspensão na solução (4).

Esta técnica é utilizada para quantificar moléculas de maior tamanho, que não podem ser quantificadas por espectrofotometria. Quanto maior a concentração do analito de interesse na amostra, maior é a quantidade de luz absorvida e, conseqüentemente, menor será o sinal obtido. A quantidade de luz absorvida irá depender da concentração e tamanho dessas partículas em suspensão (6).

Contudo, este método apresenta algumas desvantagens, pela sensibilidade a interferentes. Por exemplo, a presença de macromoléculas, como lipoproteínas, interferem com o aspeto turvo intrínseco da amostra. A luz é absorvida em maior quantidade e o sinal obtido será inferior ao valor real. Também uma contaminação microbiana pode levar a resultados falsos,

não só pelo tamanho, como pela possibilidade de causar desnaturação das proteínas (4). As proteínas ao desnaturar, perdem função, perdem a capacidade de absorver a luz emitida.

Esta técnica analítica está presente no módulo, módulo c501 do Cobas® 6000 da Roche® Diagnostics.

3.1.3. Espectrofotometria

A espectrofotometria de absorção é uma técnica quantitativa, que se baseia na absorção e transmissão de luz na região ultravioleta e visível do espectro (290 a 750 nm), por um determinado analito numa amostra (7). Este método é possível realizar pela presença de um espectrofotómetro, no módulo c501 do Cobas® 6000, um instrumento ótico constituído por uma fonte de luz, um monocromador e um fotodetector.

Cada composto apresenta um comprimento de onda para o qual tem absorção máxima de radiação, a restante é transmitida. Ao isolar uma determinada região do espectro, através do monocromador, a sensibilidade da técnica aumenta (4).

Um feixe de luz atravessa um monocromador, onde é isolado um determinado comprimento de onda. Este incide na amostra e é absorvido pela molécula de interesse. A restante radiação que não é absorvida, é transmitida e detetada no fotodetector. A intensidade da luz transmitida é proporcional à concentração da molécula na amostra. Esta é a base da fotometria, a lei de Beer, que afirma que a concentração da substância, em solução, é diretamente proporcional à quantidade de luz absorvida (4,7).

Uma outra técnica espectrofotométrica é a espectrofotometria de reflexão. Baseia-se numa reação colorimétrica que ocorre numa superfície plana. Esta técnica tem sido utilizada em instrumentação automatizada, como as tiras-teste de análise sumária de urina no Cobas® u601, aparelho utilizado no laboratório onde estagiei.

As tiras-teste são constituídas por blocos de reagentes, que ao entrar em contacto com a amostra, mudam de cor ao reagir com a molécula de interesse. Ao incidir um feixe de luz na superfície desse bloco, parte é refletida. A quantidade de luz refletida é detetada pelo espectrofotómetro de reflexão e é proporcional à quantidade de analito presente (4).

3.1.4. Eletroforese de proteínas séricas

A eletroforese é uma técnica eletroanalítica baseada na separação de partículas carregadas quando sujeitas a um campo elétrico. O campo elétrico é aplicado por eletrodos de cargas opostas que são colocados em solução. A velocidade de migração da partícula está dependente da estrutura molecular, quanto maior o tamanho, menor a distância percorrida. É uma técnica de separação e purificação de moléculas com interesse bioquímico, nos laboratórios e é frequentemente utilizado para a separação de proteínas séricas (4).

A eletroforese de proteínas séricas (EPS) é um método simples que permite a separação das proteínas presentes no plasma humano em frações, consoante o seu peso molecular. No laboratório onde estagiei, é utilizado o aparelho SAS-1 SAS-2 Plus®.

As proteínas são macromoléculas constituídas por cadeias de aminoácidos, cujo peso e carga elétrica depende da combinação e quantidade desses mesmos aminoácidos. Quando à amostra de soro é fornecido um potencial elétrico num meio sólido de gel de agarose, há migração das proteínas do ânodo até ao cátodo. Devido à diferença de peso e carga a distância percorrida será diferente, verificando-se um gráfico em banda, como representado na figura 1 (8).

Esta metodologia é bastante solicitada quando há, por exemplo, suspeita de mieloma múltiplo, caracterizado por um aumento acentuado do pico na região gama (fração correspondente às imunoglobulinas).

A banda eletroforética das imunoglobulinas é composta pelas diferentes classes de imunoglobulinas (IgG, IgA, IgM, IgD e IgE). O mieloma tratando-se de uma gamopatia monoclonal, caracterizado pela produção exacerbada de um único clone plasmocitário de imunoglobulina, o pico da região gama será mais estreito e acentuado (8), isto porque um aumento homogêneo e difuso dessa região pode corresponder a um processo infeccioso e não ao mieloma propriamente dito.

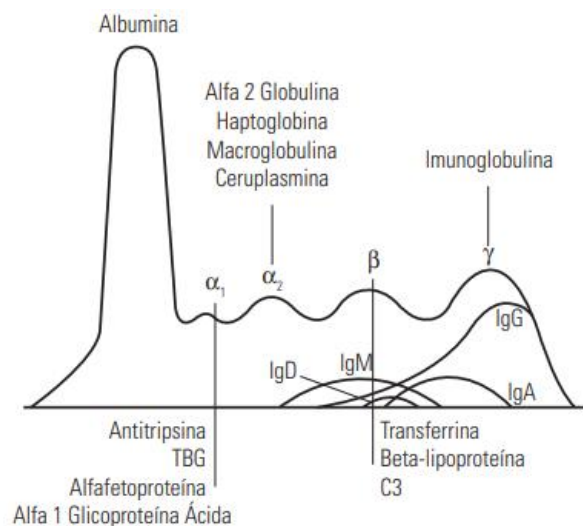


Figura 1: Algumas das principais proteínas encontradas em cada banda eletroforética

3.2. Parâmetros Bioquímicos determinados

3.2.1. Metabolismo das lipoproteínas

As lipoproteínas são macromoléculas complexas de lípidos e proteínas que permitem o transporte de lípidos hidrofóbicos na corrente sanguínea.

A importância das lipoproteínas deve-se ao risco acrescido de doença cardiovascular em indivíduos cujo perfil lipídico esteja alterado. Os lípidos são essenciais, no entanto quando há um aumento da concentração no plasma, seja por estilo de vida ou fatores hereditários (9), acumulam-se e depositam-se nas artérias devido ao seu carácter hidrofóbico, originando placas ateroscleróticas. Em certos casos, quando a placa é instável, pode romper, precipitar e formar coágulo, o que leva a obstrução da artéria. A este processo dá-se o nome de trombose.

Os problemas inerentes a este processo estão associados a dislipidémias, ou seja, ao aumento sérico de lípidos na corrente sanguínea quer por razões genéticas, quer por doenças subjacentes como síndrome nefrótica ou *diabetes mellitus* (10).

A determinação do perfil lipídico, no sangue e em jejum, é, portanto, importante na avaliação do risco cardiovascular global e no diagnóstico das dislipidémias.

No laboratório A.C.M. Lda. são determinados o colesterol total, triglicéridos, colesterol das lipoproteínas de alta densidade (HDL) e colesterol das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (calculado automaticamente pela equação de Friedewald) (11).

a) Triglicerídeos

Os triglicerídeos são uma das principais fontes de energia no organismo e são constituídos por três ácidos gordos esterificados com glicerol. Os triglicerídeos podem ter origem exógena, através da dieta ou endógena, por turnover de depósitos armazenados no fígado e tecido adiposo.

Em circunstâncias normais, os triglicéridos armazenados no fígado, são libertados em lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) e hidrolisados em ácidos gordos pela hormona lipase sensível (HSL) que, por sua vez, é ativada pela glucagina e adrenalina e inibida pela insulina.

Em estados patológicos, quando acumulado nos hepatócitos, pode levar a esteatose hepática (9).

b) Colesterol total

O colesterol é um componente essencial de todas as membranas celulares. É também um precursor de hormonas esteroides e é usado na biossíntese de ácidos biliares (10).

Encontra-se em todas as células do corpo na forma livre e não esterificada e podem ser armazenadas para uso futuro. Está presente na dieta, mas grande parte é produzida por síntese endógena (9).

c) Lipoproteínas de baixa densidade

As lipoproteínas de baixa densidade (LDL) têm origem nas lipoproteínas de densidade intermédia (IDL) e são as principais lipoproteínas portadoras de colesterol no plasma. Representam 70% ou mais do colesterol total no plasma.

As LDL expressam à superfície da membrana apo B100, apoproteínas reconhecidas pelos recetores apo B/E. Ao ligarem aos recetores, são internalizadas por endocitose e sofrem degradação lisossomal originando colesterol esterificado e aminoácidos. Assim o colesterol fica disponível para outras transformações metabólicas ou para ser reesterificado pela ação da enzima Acil-CoA colesterol aciltransferase (ACAT) (9).

O número e função dos recetores apo B/E dita o nível de LDL circulante. Quando a célula tem colesterol suficiente, o número de recetores expressos à superfície da célula é menor. Neste caso, outra enzima a lecitina colesterol acetiltransferase (LCAT) promove o armazenamento do colesterol esterificado.

Alguns problemas de hipercolesterolemia estão associados a um mau funcionamento/ausência destes recetores ou então a uma mutação específica na apo B que resulta numa ligação defeituosa da LDL ao recetor (10).

d) Lipoproteínas de alta densidade

O colesterol em excesso nas células torna-se nocivo, pelo que há necessidade do transporte reverso do mesmo. As lipoproteínas responsáveis por este transporte são as lipoproteínas de alta densidade (HDL).

As HDL são as lipoproteínas que apresentam menor tamanho, no entanto maior densidade. E apresentam na sua estrutura fosfolípidos e apo A-I, uma apoproteína que desempenha um papel predominante no transporte reverso do colesterol.

O colesterol só pode ser transportado dos tecidos periféricos até ao fígado, pelas HDL, na forma esterificada. A apo A-I funciona como cofator da enzima LCAT, responsável por induzir esta esterificação. Uma vez completa, o colesterol é incorporado nas HDL nascentes

e transportado até ao fígado. Níveis elevados de HDL conferem um risco reduzido de doença cardíaca coronária num indivíduo (10).

3.2.2. Metabolismo da glicose

A glicose é o principal hidrato de carbono do organismo e principal fonte de energia das células. A sua concentração na corrente sanguínea mantém-se num intervalo entre os 70 e os 110 mg/dL.

A regulação da concentração de glicose no sangue depende de vários processos metabólicos, nomeadamente glicólise, neoglicogénese e glicogenólise, regulados pela insulina (10).

Após uma refeição, a insulina é libertada em resposta ao aumento da glicémia. Esta hormona promove a captação da glicose, a nível celular e induz o fígado a armazenar o excesso de glicose na forma de glicogénio.

Em períodos de jejum, entre refeições, a concentração de glicose no sangue diminui e de forma a evitar uma situação de hipoglicémia, são ativadas duas vias metabólicas, a glicogenólise e a neoglicogénese. A via da glicogenólise, promove a degradação das reservas de glicogénio no fígado para obter glicose. Na via da neoglicogénese são utilizados produtos resultantes de outras vias metabólicas, como o lactato, glicerol e alanina, para produzir glicose (10).

Uma das desregulações metabólicas mais comuns na área da bioquímica clínica é a *diabetes mellitus*. A diabetes é uma alteração a nível do metabolismo dos hidratos de carbono, caracterizado por hiperglicemia associada a resistência ou falta absoluta/relativa de insulina. Geralmente é classificada em dois tipos:

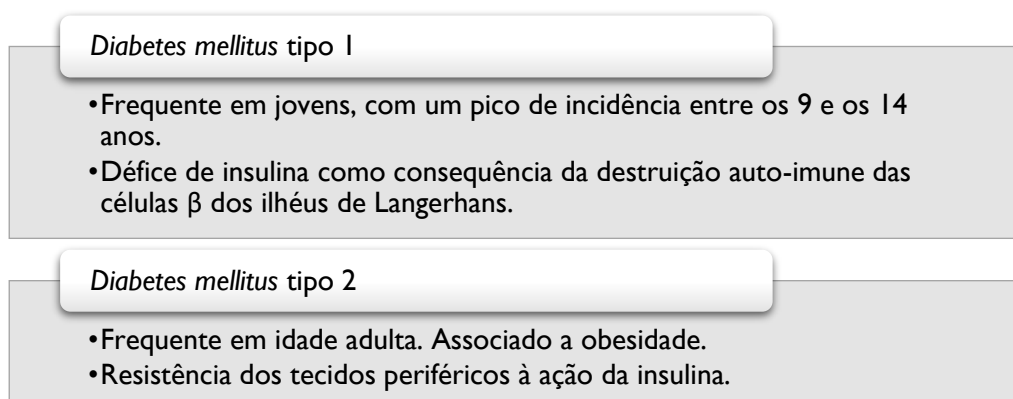


Figura II: Classificação da diabetes mellitus

À medida que progride e se não for controlada, pode ter consequências graves desde retinopatia diabética, nefropatia diabética, neuropatias, bem como risco de doenças cardíacas (7).

Os testes laboratoriais realizados para o diagnóstico de diabetes incluem a determinação dos níveis de glicemia em jejum (≤ 126 mg/dL), a prova de tolerância à glicose oral e a determinação da hemoglobina glicada (12).

a) Hemoglobina glicada

Um indivíduo adulto contém três frações diferentes de hemoglobina, sendo a maioritária a hemoglobina A (cuja estrutura é constituída por duas cadeias α e duas cadeias β), seguida da hemoglobina A2 e da hemoglobina fetal (13). A hemoglobina glicada (HbA1c) é uma fração da hemoglobina A que resulta da condensação da glucose com a valina n-terminal presente na cadeia β que leva à formação de uma base Schiff instável. Esta, pela sua instabilidade, pode sofrer rearranjo de amadori para formar uma cetoamina estável, a HbA1c.

A formação da hemoglobina glicada envolve uma reação irreversível que está relacionada com a presença de elevadas concentrações de glucose na corrente sanguínea e que se vai manter durante o resto do tempo de vida do eritrócito (aproximadamente 3 meses) (7), daí permitir uma monitorização da concentração estimada de glucose na corrente sanguínea, a longo prazo.

Existem vários métodos para a determinação da HbA1c, o método de referência é a cromatografia líquida de alta pressão (HPLC), definido pela American Diabetes Association, como forma de padronização de resultados. No laboratório onde estagiei a determinação é realizada por HPLC no aparelho Arkray Adams HA-8160 ®, ou por turbidimetria pelo aparelho módulo c501 do Cobas 6000 ®.

b) Prova de tolerância à glucose oral

A prova de tolerância à glucose oral (PTGO) tem como principal objetivo determinar a hiperglicemia intermédia e a diabetes gestacional.

O método utilizado baseia-se na quantificação sérica da glucose em jejum e duas horas após a ingestão oral de 75g de glucose diluídos em 300 mL de água (7).

Em caso de diagnóstico de diabetes gestacional, também é feita PTGO entre as 24 e 28 semanas de gravidez, a não ser que já se tenha conhecimento de que a mãe sofre de diabetes. O método é o mesmo, da ingestão de 75g de glucose diluídos em 300mL de água, no entanto a colheita é feita em três momentos, em jejum, e após uma e duas horas de ingestão (14).

3.2.3. Metabolismo mineral

O metabolismo mineral corresponde ao controlo dos níveis de cálcio, fosfato e magnésio, pela ação da hormona da paratiroide (PTH), vitamina D e calcitonina (15).

Em contexto clínico, como estão envolvidas as glândulas da tiroide e suprarrenais, o principal objetivo é detetar qualquer alteração a nível renal ou da tiroide.

O rim é o órgão que desempenha um papel fundamental na regulação do metabolismo mineral, porque a reabsorção renal de cálcio, fósforo e magnésio ocorre em várias partes diferentes do nefrónio. Esta importância observa-se na alteração da concentração destes iões, em casos de insuficiência renal (10).

a) Cálcio

O cálcio é o catião mais abundante no organismo, cerca de 99% é encontrado armazenado nos ossos, na forma de cristais extracelulares (6,7).

A regulação plasmática dos níveis de cálcio é fundamental pelas várias funções fisiológicas que este ião desempenha. Está envolvido na transmissão de estímulos nervosos, contração muscular, estabilidade de membranas, estrutura óssea, coagulação sanguínea e sinalização intracelular (16).

Esta regulação é possível pela ação de duas hormonas, a PTH e a vitamina D. Em circunstâncias normais, a produção de PTH é induzida em resposta a uma diminuição na concentração de cálcio. Esta hormona estimula a reabsorção de cálcio e excreção de fosfato a nível ósseo e renal. Para além disso, induz a síntese da vitamina D, que atua no intestino e induz a absorção do cálcio.

Quando existe uma desregulação na concentração plasmática deste catião, verifica-se ou uma situação de hipocalcemia ou hipercalcemia.

A causa mais comum de hipocalcemia é a insuficiência renal. A perda de função dos túbulos renais, inibe a ação da PTH e conseqüentemente a excreção de fosfato e a absorção de cálcio são inibidas. Por sua vez, a síntese de vitamina D não é estimulada e, conseqüentemente, não ocorre a absorção de cálcio a nível intestinal.

As causas de hipercalcemia incluem hipertiroidismo, hiperparatiroidismo e mieloma múltiplo (6).

b) Fosfato

O fosfato é o anião mais abundante nos ossos. Este ião atua como tampão na corrente sanguínea e está amplamente distribuído no corpo humano.

Na corrente sanguínea, o fosfato e o cálcio tem uma relação recíproca, quando o nível de fosfato aumenta, o nível de cálcio diminui. No organismo o fósforo é apresentado na forma de fosfato orgânico e inorgânico, sendo o fosfato inorgânico determinado a nível clínico (7,10).

O fósforo é um componente essencial da estrutura óssea, membranas e ácidos nucleicos, e atua como cofator enzimático, fornecedor de energia e na formação de bicarbonato nos túbulos renais (16).

Um desequilíbrio no metabolismo mineral pode induzir hiperfosfatemia ou hipofosfatemia.

A causa mais comum de hiperfosfatemia é a insuficiência renal, resultante da perda de capacidade de excreção nos túbulos. No entanto, também se verifica em situações como, hipoparatiroidismo, pseudohipoparatiroidismo, hipocalcemia. Já a hipofosfatemia verifica-se quando existe hiperparatiroidismo, alcalose e insuficiência renal (7,10).

c) Magnésio

O magnésio é o segundo catião intracelular mais abundante no organismo. Está predominantemente armazenado nos ossos, músculos e tecidos moles (16). Este catião provém da dieta, principalmente vegetais, cereais e carne.

O magnésio existe em três formas diferentes, na forma ionizada, livre e biologicamente ativa e em condições normais a sua concentração é cerca de 1,4-2,2 mEq/L (10).

Está envolvido no metabolismo oxidativo, na glicólise e contribui para a excitabilidade neuromuscular porque o magnésio inibe competitivamente a entrada de cálcio nos neurónios (7,10).

A hipermagnesemia é pouco comum, contudo, ocasionalmente é observada na insuficiência renal ou por ingestão excessiva de fármacos, por exemplo. Verifica-se hipomagnesemia, geralmente por má absorção intestinal, uso prolongado de diuréticos e alcoolismo (7, 10).

3.2.4. Função Pancreática

As principais doenças que afetam o pâncreas nos adultos são a pancreatite aguda (inflamação do pâncreas), que pode evoluir para pancreatite crónica ou carcinoma. Os testes para avaliar a função pancreática dividem-se geralmente em testes diretos e indiretos. Os indiretos abrangem a determinação de enzimas séricas, principalmente para no estudo de pancreatite aguda (8), das quais se destacam a lipase e a amilase. Estas enzimas são utilizadas

como marcadores de pancreatite, contudo, podem estar elevadas noutras patologias como, doenças do trato biliar, processos de obstrução e apendicite (17).

a) Lipase

A lipase é uma enzima, sintetizada pelo pâncreas, com capacidade de hidrolisar, preferencialmente esteres de glicerol dos ácidos gordos. É uma enzima que apresenta como cofator enzimático o cálcio.

A lipase sérica é, em comparação com a amilase, mais específica para o prognóstico de pancreatite aguda.

A concentração sérica aumenta quatro a oito horas após inflamação e permanece elevada no máximo até catorze dias. Se esta concentração permanecer elevada após os catorze dias, é sugestivo da presença de um quisto no pâncreas (6).

b) Amilase

A amilase é uma enzima produzida no pâncreas e pelas glândulas salivares. Como a sua síntese não é específica do pâncreas, a sua determinação é realizada em simultâneo com a lipase, quando existe suspeita de pancreatite, pois verifica-se um aumento concomitante quando há patologia pancreática.

A concentração de amilase aumenta doze horas após o aparecimento de sintomas e permanece elevada cerca de três a cinco dias. Como a concentração da enzima permanece estável na corrente sanguínea, a sua determinação é vantajosa. A concentração demora a retomar ao valor considerado normal (9).

3.2.5 Avaliação da função hepática

O fígado é um órgão que executa uma diversidade de funções, desde função de excreção, a síntese e metabólica (7).

Os testes laboratoriais de avaliação da função hepática englobam, geralmente, a determinação sérica de bilirrubina, fosfatase alcalina (ALP), γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT), alanina transaminase (ALT), aspartato transaminase (AST). Todos estes parâmetros dão uma pista de existência, extensão e tipo de lesão hepática (10).

a) Bilirrubina

A bilirrubina deriva da degradação do grupo heme presente maioritariamente nos glóbulos vermelhos, também uma pequena porção na mioglobina e citocromo. Inicialmente o grupo

heme é oxidado em biliverdina por ação da enzima heme oxigenase e de seguida a biliverdina em bilirrubina pela enzima biliverdina redutase.

A bilirrubina resultante é insolúvel em água, logo é transportada no plasma pela albumina até ao fígado onde é captada. Já no hepatócito a enzima glucoronil transferase induz a conjugação da bilirrubina com o ácido glucorónico tornando-a solúvel (bilirrubina conjugada), que é depois excretada na bÍlis através dos canalículos biliares.

No intestino, grande parte da bilirrubina conjugada é reduzida pela flora intestinal em estercobilinogénio que é excretado nas fezes (responsável por conferir pigmentação) ou então uma porção é reentra em circulação e é oxidada a urobilinogénio que será eliminado na urina (9). Um aumento acentuado da bilirrubina na corrente sanguínea, numa concentração superior a 2,5 mg/dL é perceptível no utente pelo aspeto ictérico que corresponde a uma coloração amarela da pele e esclera do olho. Existem três causas principais que justificam a hiperbilirrubinemia, hemólise, falha no mecanismo de conjugação do hepatócito e obstrução biliar (10).

b) Enzimas citoplasmáticas

No citoplasma do hepatócito estão presentes diferentes enzimas. No caso de lesão do hepatócito, verifica-se o aumento da concentração destas enzimas na corrente sanguínea.

As enzimas citoplasmáticas incluem a alanina transaminase (ALT), a aspartato transaminase (AST) e a lactato desidrogenase (LDH).

A ALT e a AST são enzimas responsáveis pela transferência de um grupo amina para o α -cetogluturato para formar glutamato. Ambas as enzimas apresentam como cofator a vitamina B6 e estão presentes na corrente sanguínea, numa concentração inferior a 40 UI/L. As transaminases não são específicas do fígado. A AST está presente no tecido hepático, muscular e cardíaco e a ALT no tecido hepático e renal, contudo, observa-se uma maior atividade destas enzimas a nível hepático.

A LDH é responsável pela conversão do lactato em piruvato. Esta enzima apresenta diferentes isoenzimas, logo não apresenta especificidade para apenas um órgão, então, um aumento na corrente sanguínea é interpretado como lesão tecidular (6).

c) Fosfatase alcalina e gama-glutamiltransferase

A fosfatase alcalina (ALP) e a gama-glutamiltransferase (γ -GT) são consideradas enzimas colestáticas, porque ambas estão localizadas na membrana dos canalículos biliares, logo verifica-se um aumento das mesmas em processos obstrutivos (6).

A ALP é uma enzima presente em vários tecidos, principalmente hepático e ósseo. O aumento na corrente sanguínea é, geralmente, associado a colestase. No entanto, como a enzima não apresenta especificidade para o hepatócito, é realizada a determinação simultânea da γ -GT (7).

A γ -GT catalisa a transferência de um grupo glutamyl da glutatona para um aminoácido livre. Tal como a ALP, verifica-se um aumento da concentração sérica em indivíduos com obstrução biliar (6).

d) Proteínas Plasmáticas

Outro parâmetro de interesse clínico é a determinação das proteínas plasmáticas. O fígado é responsável pela síntese de todas as proteínas plasmáticas, exceto imunoglobulinas que são produzidas pelos linfócitos B.

A albumina é a proteína maioritária no plasma. Uma diminuição da sua concentração no plasma é sugestiva de uma função de síntese hepática comprometida, no entanto esta não é a única causa de hipoalbuminémia. Por esta razão, como o fígado é responsável pela síntese dos fatores de coagulação, é solicitada a determinação do tempo de protrombina. Caso haja comprometimento do órgão, verifica-se então uma alteração em ambos os parâmetros, o aumento do tempo de protrombina e a diminuição da concentração de albumina no plasma, respetivamente (10).

3.2.6. Avaliação da função renal

Os testes de avaliação da função renal são dos mais solicitados no laboratório clínico.

O rim tem como funções o controlo do volume corporal, da osmolaridade, do equilíbrio hidro-eletrolítico e do equilíbrio ácido-base, e também a nível endócrino, pela síntese de renina e da forma ativa de vitamina D nas glândulas das suprarrenais (10).

A doença renal advém de doenças comuns como a diabetes ou hipertensão, pelo que é necessária uma interpretação adequada dos exames laboratoriais de distúrbios renais, eletrolíticos e ácidos-base (6).

a) Creatinina

Uma das características no processo metabólico na contração muscular é a conversão da fosfocreatina em creatina. Uma porção desta creatina consegue converter-se irreversivelmente em creatinina, composto não proteico eliminado através do rim, quando o plasma é filtrado a nível do glomérulo (7).

Pelo facto de a creatinina ser excretada pelo rim, esta é utilizada como marcador de função renal, através do cálculo da clearance da creatinina sérica ou na urina das 24 horas. Um aumento da concentração plasmática é indicativo de défice na filtração glomerular.

No entanto, a quantidade sérica de creatinina depende do consumo de carne na dieta e da massa muscular do indivíduo. Por estas razões, a quantidade de creatinina excretada não é constante, o que dificulta a associação aumento da concentração a uma patologia a nível renal (18).

b) Ureia

A ureia é um composto nitrogenado que resulta do catabolismo proteico. Tal como a creatinina, é eliminada quando filtrada no glomérulo. Pode, no entanto, ser reabsorvida a nível do túbulo proximal, quando ocorre diminuição do volume extracelular (6,7).

A degradação das proteínas resulta na libertação do ião amónia, que numa concentração elevada na corrente sanguínea, é neurotóxico. Desta forma, sofre biotransformação a nível hepático, com a formação final de ureia. Este entra em circulação e é excretado na urina (7).

Normalmente, a ureia sérica é utilizada, como parâmetro de avaliação renal, contudo, a acumulação de ureia pode apresentar outras causas como, uma dieta rica em proteínas, terapêutica com corticoides e desidratação. Deste modo, não é considerado um bom marcador para a taxa de filtração glomerular.

A ureia é determinada em simultâneo com a creatinina. A razão ureia sérica/ creatinina sérica pode indicar diferentes estados patológicos. Um valor abaixo do esperado pode estar associado a necrose tubular aguda, pouca ingestão de proteínas ou insuficiência hepática. Um valor elevado pode ser associado a diminuição do fluxo sanguíneo, dieta rica em proteínas ou obstrução pós-renal por tumor ou estenose (18).

c) Ácido Úrico

O ácido úrico é um ácido fraco, produto do catabolismo de ácidos nucleicos, quer endógenos, quer exógenos (7, 19).

No organismo, o ácido úrico existe na forma ionizada, o urato, cuja quantidade sérica depende da quantidade excretada através do rim (19).

O aumento sérico do ácido úrico (hiperuricemia) verifica-se na gota, uma doença inflamatória caracterizada pela deposição de cristais de ácido úrico nas articulações, tecidos subcutâneos e rim.

A hiperuricemia apresenta múltiplas causas, como por exemplo, um aumento de ingestão de uma dieta rica em purinas, tratamento por quimioterapia ou insuficiência renal.

d) Microalbuminúria

O termo microalbuminúria refere-se à excreção anormal de albumina na urina, em níveis não detetáveis (30 a 300mg/dL) na análise sumária de urina (20).

A análise sumária de urina (urina do tipo II) consiste na determinação de vários parâmetros bioquímicos na urina (apresentados na tabela 4). No laboratório A.C.M. Lda. é realizado automaticamente no Cobas u601 ®, um sistema analítico que permite, através do uso de tiras teste, determinar a glicose, bilirrubina, urobilinogénio, cetonas, pH, proteínas, nitritos, densidade, e presença de eritrócitos e leucócitos em urina não centrifugada (10).

A microalbuminúria é considerada um marcador precoce de comprometimento da função renal.

A albumina é a proteína de maior concentração na corrente sanguínea e graças à carga negativa à sua superfície, as células endoteliais da parede do glomérulo repelem-na não permitindo a passagem através da membrana basal.

Na presença de patologia a nível do glomérulo, a albumina é excretada, numa concentração que não é detetável através das tiras teste, no entanto, ao longo de 24 horas é uma perda significativa de albumina, pelo que a análise é realizada na urina das 24 horas.

Diabéticos tem alto risco de desenvolver nefropatia diabética, que ao longo do tempo tem tendência a evoluir para insuficiência renal. É recomendado a determinação de albuminúria anualmente em utentes com diabetes tipo I diagnosticada há mais de 5 anos (20).

Tabela 4: Parâmetros determinados na análise sumária de urina e patologias associadas

Banda da tira-teste	Associado a
Glicose	Glicosúria (concentração sanguínea ultrapassou capacidade de absorção do rim)
Bilirrubina	Colestase (bilirrubina conjugada excretada na urina)
Urobilinogénio	Hemólise
Cetonas	Metabolismo lipídico usado para obtenção de energia
Densidade	Infeção renal crónica (perda de capacidade do rim em concentrar a urina)
pH	Acidose tubular, pedras nos rins
Proteínas	Função glomerular anormal
Eritrócitos	Hematúria
Nitritos	Infeção do trato urinário
Leucócitos	Infeção do trato urinário

3.2.7. Equilíbrio hidro-eletrolítico

a) Sódio

O sódio (Na^+) é o catião maioritário no espaço extracelular. Este ião desempenha um papel fundamental na regulação osmótica extracelular, na regulação do volume do organismo e em processos de excitação muscular (21).

Em circunstâncias normais, a homeostase do sódio é regulada, no rim, pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona e pela hormona anti-diurética (ADH). Quando há diminuição do volume intravascular, há libertação de renina e ativação do sistema renina-

angiotensina-aldosterona. A renina induz a conversão do angiotensinogénio em angiotensina I, que por sua vez, é convertida em angiotensina II. A angiotensina II estimula a síntese de aldosterona e ADH. A aldosterona estimula a reabsorção de sódio e excreção de potássio a nível distal, a ADH a reabsorção de água a nível do tubo coletor (16).

Existem várias patologias que provocam uma alteração na homeostase do sódio, nomeadamente patologia a nível renal. As causas mais comuns de hiponatremia incluem desidratação, insuficiência cardíaca, insuficiência renal aguda ou crónica, ingestão de água em excesso (hiponatremia dilucional), hipoalbuminemia, ingestão de diuréticos ou perda gastrointestinal.

A hipernatremia corresponde ao excesso de sódio no organismo, as causas incluem desidratação e hiperaldosteronismo (21).

b) Potássio

O potássio é o catião intracelular maioritário e desempenha funções fisiológicas na atividade neuromuscular e como cofator enzimático em processos metabólicos.

A concentração de potássio é maior a nível intracelular, havendo uma regulação da concentração por troca iónica com o ião hidrogénio. Um aumento da concentração sérica do potássio é sugestivo de patologia. As causas de hipercalemia incluem lesão celular, insuficiência renal, aumento de ingestão, acidose e doença de Addison.

As causas de hipocalcemia incluem perda gastrointestinal, ingestão de diuréticos, insuficiência renal, cirrose e desequilíbrio ácido-base (21).

c) Cloretos

Os cloretos são os aniões maioritários a nível extracelular. A principal função é manter a eletroneutralidade e o equilíbrio ácido-base, em conjunto com o bicarbonato. Assim, a concentração de cloretos está associada à concentração de sódio, potássio e do bicarbonato.

As causas de excesso e diminuição de concentração de cloretos no plasma, são as mesmas que são responsáveis pelo aumento e diminuição de sódio na corrente sanguínea, respetivamente. Contudo, nas situações de acidose e alcalose metabólica, verifica-se um aumento e diminuição da concentração do ião cloreto, respetivamente, sem se verificar alteração na concentração do sódio (21).

3.3. Caso Clínico I

Utente do sexo masculino, 68 anos, com carcinoma pulmonar metastizado (grau 4). A realizar quimioterapia.

Tabela 5: Resultados do caso clínico I

Hemograma	Resultado/Unidades	Valores de referência
Hemoglobina	8,4 g/dL	13,6 – 18,0
Hematócrito	24%	39,8 – 52,0
Volume Globular Médio	98 fL	80,0 – 97,0
Hemoglobina Globular Média	34,3 pg	26,0 – 34,0
Concentração Hemoglobina Globular Média	35 g/dL	32,0 – 36,0
RDW- Ampl. Distribuição	17,9 %	11,5 – 15,0
Leucograma		
Leucócitos	6030 mm ³	4000-10000
Neutrófilos	5350 mm ³	1500-8000
Eosinófilos	10 mm ³	0-300
Basófilos	10 mm ³	0-300
Linfócitos	160 mm ³	800-4000
Monócitos	500 mm ³	0-1200
Observações	Obs. raros esquizócitos e raros equinócitos. Com anisopoiquilocitose ligeira	
Plaquetas	136 x 10 ⁹ /L	140 - 440
Bioquímica		
Gama Glutamiltranspeptidase	436 U/L	< 60
ASAT (GOT)	58 U/L	< 40
ALAT (GPT)	88 U/L	< 41
Bilirrubina Total	1,12 mg/dL	≤1,20
Bilirrubina Direta	0,58 mg/dL	≤0,30
Bilirrubina Indireta	0,54 mg/dL	
Endocrinologia		
T3 (Triiodotironina Total)	0,33 nmol/L	1,30-3,10
FT4 (Tiroxina Livre)	19,0 nmol/L	12,0-22,0
TSH (H. Hipofis. Tireoestimulante)	13,40 uUI/mL	0,27-4,20

Discussão:

O cancro do pulmão caracteriza-se por neoplasias malignas com origem nas vias respiratórias ou no parênquima pulmonar. É o segundo tipo de cancro mais diagnosticado tanto em mulheres como homens (22). Após diagnóstico é definido um tratamento com quimioterapia, radioterapia ou imunoterapia, que exerce efeitos colaterais no organismo, pois não há a possibilidade de diferenciação entre células malignas e células normais.

Neste caso clínico verificam-se alterações sugestivas desses efeitos secundários, resultantes do tratamento administrado.

A quimioterapia apresenta toxicidade para a medula óssea, o que afeta o desenvolvimento normal das células da linhagem quer mieloide, quer linfoide. Isso é possível constatar pelo decréscimo nos valores dos eritrócitos, linfócitos e plaquetas no hemograma do utente. Este apresenta anemia normocítica, uma vez que o valor de hemoglobina é de 8,4 g/dL e o volume globular médio é de 98 fL. Também apresenta linfopenia (160 mm^3) e trombocitopenia ($136 \times 10^9 /\text{L}$).

Verifica-se também, um comprometimento a nível hepático, com um aumento das enzimas γ -GT (436 U/L), AST (58 U/L) e ALT (88 U/L) conjugado com um aumento ligeiro da bilirrubina quer direta (0,58 mg/dL), quer indireta (0,54 mg/dL). A presença das enzimas indica lesão no hepatócito que culminou com a libertação das mesmas na corrente sanguínea. A lesão induz uma perda progressiva de função por parte do hepatócito.

Para além disso, verifica-se alteração na glândula da tiroide. O valor de triiodotironina total (T3) sofreu uma diminuição acentuada (0,3 nmol/L) e a hormona estimuladora da tiroide (TSH) aumentou. A síntese das hormonas tiroideias é estimulada pela TSH produzida a nível da hipófise e a regulação destas hormonas é efetuada por um mecanismo de retroação negativo. A diminuição da T3 indica um comprometimento da função de síntese da glândula da tiroide. Esta diminuição resultou na estimulação da hipófise que produziu a TSH, como forma de compensação, daí verificar-se um aumento na concentração da hormona.

4. Imunologia/Endocrinologia

A secção de imunologia/endocrinologia é uma área de laboratório abrangente onde são determinados e analisados vários parâmetros (tabela 7). A técnica utilizada para a deteção destes parâmetros é, maioritariamente, automatizada, contudo, em determinadas circunstâncias, algumas das técnicas aplicadas são manuais.

4.1. Princípio de Instrumentação

4.1.1. Eletroquimioluminescência

A eletroquimioluminescência é um imunoensaio sensível e específico que utiliza moléculas quimioluminescentes, que emitem luz após uma reação química.

A molécula de interesse presente na amostra, forma um imunocomplexo com um anticorpo primário biotilado, que, por sua vez, liga à estreptavidina, presente em micropartículas. Estas micropartículas fixam-se à superfície de um eléctrodo quando sujeitas a um campo eletromagnético. Para proceder à deteção do imunocomplexo formado, é adicionado um anticorpo secundário acoplado a uma molécula eletroquimioluminescente, neste caso o ruténio, que emite luz quando sujeito a um potencial elétrico. Posteriormente, a emissão é detetada através de um fotomultiplicador (7), como esquematizado na figura III. A concentração da molécula é diretamente proporcional ao sinal emitido. Desta forma, é possível obter resultados qualitativos e quantitativos (16).

Na secção de imunologia/endocrinologia, os aparelhos utilizados são o Cobas® e411 e o módulo e601 do Cobas® 6000 (3, 23).

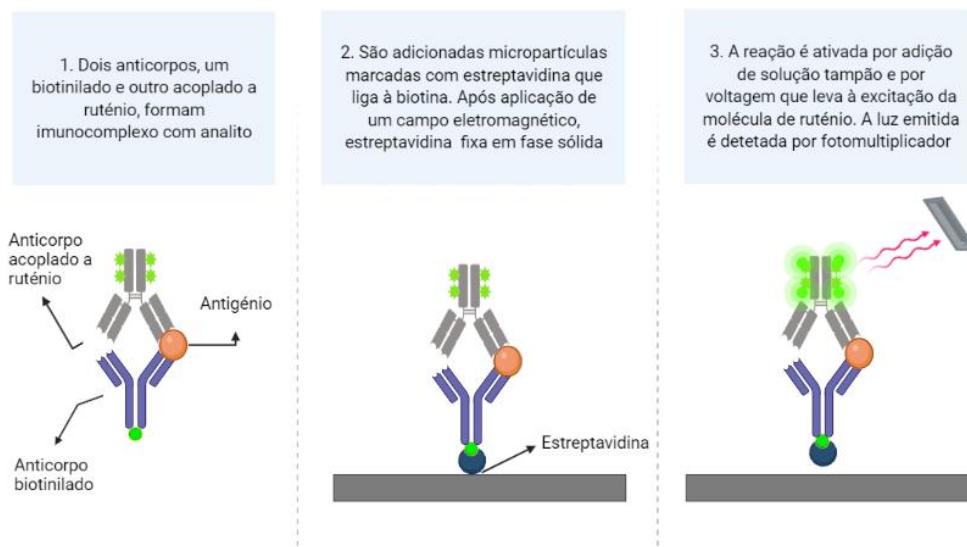


Figura III: Eletroquimioluminescência

Tabela 6: Parâmetros detetados por eletroquimioluminescência

Aparelho	Parâmetros
Cobas® e411	Vitamina B12; Ferritina; Ácido fólico; Cortisol, PTH, A-CCP, Peptídeo C; <i>Toxoplasma gondii</i> (IgG e IgM); CMV (IgG e IgM); Rubéola (IgG e IgM); anti-HIV; anti-HCV; Anti-HBc; Anti-HBs; Antígeno HBs; Anticorpos spike e nucleocápside de SARS-CoV-2
Cobas® 6000 módulo e601	TSH; FT4; FT3; T4 Total; T3 Total; TG; PSA total; PSA livre; Testosterona; Estradiol; Progesterona, Prolactina; LH; FSH; β -HCG; IgE; Vitamina D; CA 19.9; CA 125; AFP; CEA; A-TPO; A-TG; Antígeno SARS-CoV-2

4.2. Princípio das técnicas manuais

4.2.1. Imunoensaio de aglutinação

O imunoensaio de aglutinação é um método qualitativo que resulta na aglutinação de um antígeno específico com um anticorpo para o qual apresenta afinidade, para formar um aglomerado visível a olho nu. A maior parte das vezes, para que estes aglomerados sejam visíveis, é necessário o uso de partículas artificiais de látex ou carvão, que conferem cor (representado na imagem IV). A quantidade de antígeno ou anticorpo presente é diretamente proporcional à quantidade de aglomerados que se formam (24).

As reações de widal e wright são dois exemplos de imunoensaios de aglutinação realizados no laboratório onde estagiei, para pesquisa de anticorpos contra *Salmonella sp.* e *Brucella spp.*, respectivamente.

A *Brucella spp* é o agente etiológico da brucelose humana. Os reservatórios desta bactéria são geralmente animais do género caprino, ovino, suíno e bovino, logo indivíduos que estejam em contacto com estes animais são considerados de risco, havendo necessidade de serem testados (25).

O teste serológico de Widal auxilia no diagnóstico da febre tifóide, cujo agente etiológico é *Salmonella typhi*. O teste avalia a presença de anticorpos no soro de um indivíduo infetado, contra os antígenos H (flagelar) e O (somático), num período agudo da doença (26).

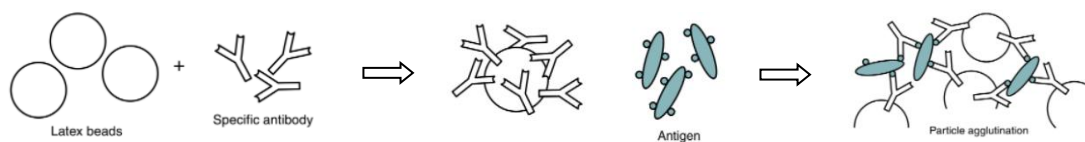


Figura IV: Imunoensaio de aglutinação

4.2.2. Testes de fluxo lateral

Os testes de fluxo lateral combinam os princípios da cromatografia em camada fina com o imunoensaio de sandwich.

Na cromatografia existem duas fases, a estacionária que corresponde a uma membrana cromatográfica absorvente, localizada numa superfície plana e uma móvel, que corresponde a uma solução tampão.

A membrana cromatográfica apresenta duas regiões diferentes, a linha teste (T), com anticorpos de ligação fixos, específicos para o analito de interesse e uma linha controlo (C) com anti-imunoglobulinas, com afinidade para anticorpos monoclonais marcados com partículas de cor. Estes anticorpos monoclonais conjugados a partículas de cor estão localizados na almofada onde será colocada a amostra.

Inicialmente, aplica-se a amostra em conjunto com uma solução tampão, na membrana. Ao ser adicionada a amostra, o antígeno liga-se ao anticorpo conjugado com a partícula corada, formando um imunocomplexo, que percorre a membrana por capilaridade até atingir a linha T. Na linha T forma-se um imunocomplexo de sandwich com os anticorpos aí fixos. A linha C permite concluir se a análise foi realizada corretamente, significa que a solução percorreu a membrana e os anticorpos marcados com as partículas de cor, ligaram-se às anti-imunoglobulinas fixas na região.

Se após um período de tempo, estipulado pelo fabricante, ambas as linhas T e C aparecem marcadas, o resultado é considerado positivo. Quando aparece apenas a linha C marcada, o teste é considerado negativo, como representado na figura V.

É necessário seguir as instruções da bula fornecida pelos fabricantes, porque os testes apresentam desempenhos diferentes, consoante o fabricante. Portanto, os tempos de leitura e interpretação são diferentes. A leitura deve ser realizada no intervalo de tempo estipulado e não após o horário descrito na bula (27).

Os testes de fluxo lateral são considerados testes point-of-care (POCT), ou seja, testes fáceis e que permitem uma obtenção rápida de resultados de qualidade (24). Desta forma, existem vários parâmetros que, no laboratório A.C.M. Lda., são determinados por esta técnica como, pesquisa de antígeno e anticorpos para SARS-CoV-2, sangue oculto nas fezes, testes

de gravidez, pesquisa de drogas de abuso ou teste treponémico TPHA para confirmação de infecção por *Treponema pallidum*.

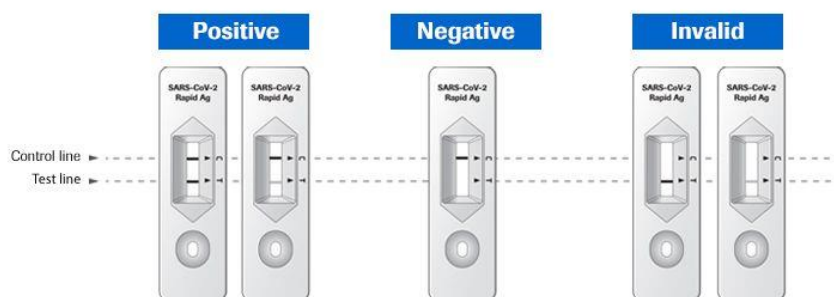


Figura V: Interpretação de resultados dos testes de fluxo lateral

4.3. Parâmetros Imunológicos

4.3.1. *Toxoplasma gondii*

Toxoplasma gondii é o agente etiológico da toxoplasmose, uma infecção geralmente assintomática no adulto, mas quando ocorre antes ou durante a gravidez, pode ser transmitida ao feto (28). O feto, ao adquirir infecção, pode desenvolver sintomas severos como cegueira e malformação do sistema nervoso central (24). Estas complicações no recém-nascido podem ser prevenidas através da realização de testes serológicos às grávidas. Estes testes envolvem a análise simultânea de anticorpos IgG e IgM específicos de antígenos de *Toxoplasma gondii*. A determinação deve ser realizada o mais precocemente possível, porque apesar da probabilidade de transmissão ser menor no primeiro trimestre de gestação, a gravidade das complicações para o feto é maior (25).

As grávidas que apresentem IgG positiva e IgM negativa são consideradas imunes e estão protegidas contra uma futura infecção (25). Os seus anticorpos são transmitidos ao feto durante a gestação (28), garantindo a imunidade deste até ao nascimento. Em contrapartida, se o resultado for negativo para ambos IgM e IgG, então a grávida é considerada não imune e deve ser testada em cada trimestre de gestação.

Numa situação em que tanto a IgG como a IgM sejam positivas, a gestante tem uma infecção aguda ou ativa. Neste caso, se for detetado no primeiro trimestre de gestação, é realizado um teste de avididade para IgG (28). Este teste permite avaliar a afinidade da ligação entre o antígeno e o anticorpo IgG específico. Quanto maior a afinidade, mais forte é a ligação entre o imunocomplexo, logo a infecção foi adquirida há mais de 12/16 semanas. Esta determinação é útil durante o primeiro trimestre porque se for identificada uma avididade para IgG elevada então

a infecção foi adquirida há mais de quatro meses, ou seja, antes da concepção. O risco de transmissão ao feto é menor. Contudo se for verificada uma avidéz baixa, com uma quantidade de IgM elevada, conclui-se que se trata de uma infecção aguda (24).

4.3.2. Rubéola

A pesquisa de anticorpos para o vírus da rubéola é um teste serológico realizado em mulheres grávidas ou que pretendam engravidar, para avaliar a suscetibilidade das mesmas ao vírus, visto que a transmissão ao feto está inerente (29).

O vírus da rubéola é responsável pela síndrome da rubéola congénita, uma doença de declaração obrigatória (18). Esta síndrome caracteriza-se por encefalite, hepatomegalia, esplenomegalia, defeitos ósseos, problemas cognitivos e defeitos cardiovasculares. A gravidade das consequências varia dependendo do trimestre em que ocorreu a infecção intrauterina (24)

A vacina contra a rubéola consta no Plano Nacional de Vacinação, mas como esta infecção ocorre com maior frequência no 1º trimestre de gravidez, é sugerido à grávida realizar os testes serológicos o mais precocemente possível, quer a mulher esteja vacinada ou não.

A interpretação destes testes serológicos é semelhante à infecção por toxoplasmose (25):

- Se a grávida apresentar resultado negativo tanto para IgG como IgM, não há imunidade;
- Se o resultado for positivo apenas para IgG, confirma imunidade;
- Para IgG e IgM positivo, e se a quantidade de IgG for considerada elevada, a grávida é considerada imune, se for baixa, há necessidade de teste de avidéz confirmatório para uma dedução da altura em que foi adquirida a infecção;
- IgG negativa e IgM positiva, confirma infecção recente. (29)

4.3.3. Citomegalovírus

O objetivo do diagnóstico serológico da infecção por citomegalovírus (CMV) é, também, para avaliar a suscetibilidade das grávidas a infecção por este vírus (29).

O CMV pode ser transmitido por diferentes vias, nomeadamente, via sexual e transmissão vertical. Este após infecção primária permanece latente no organismo do hospedeiro. Portanto, quando ocorre infecção há possibilidade de uma futura reativação (30).

A grávida pode transmitir o CMV ao feto por infecção primária ou reativação, observando-se uma maior probabilidade de transmissão na infecção primária. Quando o feto adquire infecção congénita, o bebé nasce assintomático, e desenvolve manifestações clínicas tardias, como alterações a nível psicomotor, auditivas e oculares. No entanto, alguns bebés nascem com a

doença das inclusões citomegálicas, que apresenta um conjunto de malformações, como por exemplo, petéquias, icterícia, h pato-esplenomegalia e microcefalia.

Para avaliar o aparecimento de CMV   realizado teste serológico com pesquisa de anticorpos anti-CMV IgM específicos. A interpreta o dos resultados   a seguinte (25):

- IgG e IgM negativas – sem imunidade, indivíduo não esteve exposto ao vírus. Grávidas devem ser aconselhadas sobre medidas profiláticas a realizar.
- IgG e IgM positivas – infe o aguda. No caso de suspeita clínica de infe o aguda,   realizado um teste de avides para IgG, de modo a verificar em que momento ocorreu infe o. No teste de avides, se a avides for baixa indica início da infe o, uma avides alta, indica uma infe o antiga.
- IgG negativa e IgM positiva – infe o aguda. O aparecimento de IgM positiva não confirma uma infe o primária, porque a IgM pode permanecer detetável por vários meses até anos após infe o ou estar presente por reativa o. Neste caso,   repetida a análise na amostra e   solicitada uma segunda colheita, de forma a realizar repeti o da análise em duas amostras diferentes.
- IgG positiva e IgM negativa – infe o latente.

4.3.4. Vírus da Hepatite B

Existem várias classes de vírus que causam hepatite, que diferem nas vias de transmissão, estrutura e perfis epidemiológicos.

O vírus da hepatite B (VHB)   transmitido predominante por via percutânea, via sexual e por transmissão vertical.

O curso da infe o do VHB pode assumir diferentes manifesta es clínicas, que inicia com um quadro de hepatite aguda que, por sua vez, pode evoluir no sentido da resolu o, ou evoluir para hepatite crónica ou hepatite fulminante. A progressão da doença hepática   promovida pela replica o ativa do vírus.

Essencialmente, o diagnóstico serológico envolve a pesquisa de anticorpos e antigénios específicos, dos quais se destacam três marcadores serológicos (24):

- Antigénio de superfície (AgHBs) – marcador de infe o;
- Anticorpo de superfície (Anti-HBs) – anticorpo que confere imunidade;
- Anticorpos totais do core da hepatite B (Anti-HBc).

Durante o curso da infe o aguda (representado na figura VI), o primeiro antigénio a ser detetado   o AgHBs, marcador de infe o. A presença deste marcador na corrente sanguínea indica que o indivíduo está infetado pelo VHB. Ao longo do tempo, em caso de resolu o de

infecção, o AgHBs desaparece e é substituído pelo anticorpo Anti-HBs, que confere imunidade. No entanto, se a infecção aguda evoluir para infecção crónica, o AgHBs permanece detetável na corrente sanguínea.

Em simultâneo, é realizada a determinação dos anticorpos anti-HBc total que engloba anti-HBc IgM e anti-HBc IgG. Os anticorpos anti-HBc total são detetáveis na infecção aguda, em caso de resolução de infecção e na infecção crónica.

A distinção entre a infecção aguda e a infecção crónica por VHB, através dos marcadores serológicos é difícil. Possivelmente, a pesquisa de Anti-HBc IgM isolada pode esclarecer essa distinção.

Existem outros dois marcadores, o antígeno da nucleocápside do VHB (AgHBe) e o anticorpo contra o antígeno da nucleocápside (Anti-HBe), cuja determinação só é útil em indivíduos infetados, para perceber se o vírus está em replicação ativa. O AgHBe e o Anti-HBe tem um tempo de duração curto, podendo não ser detetáveis em indivíduos, com infecção crónica, por exemplo, logo não tem utilidade como marcadores de infecção.

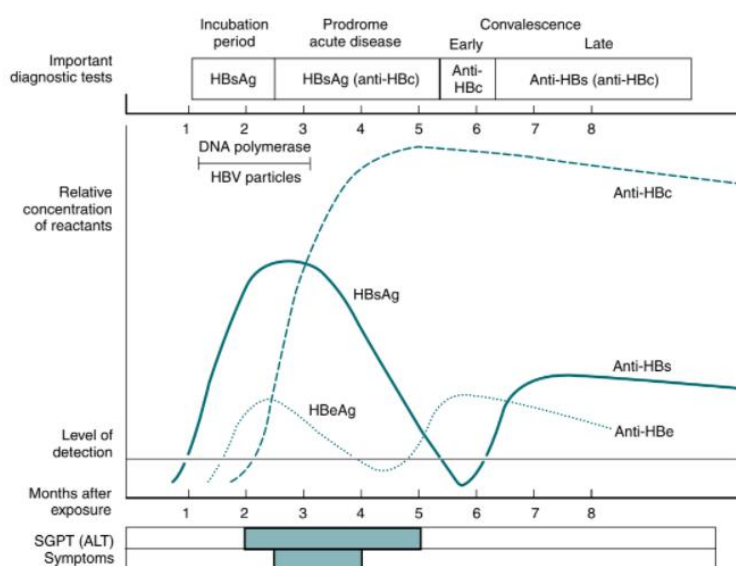


Figura VI: Curso da infecção aguda pelo vírus da hepatite B

4.3.5. Vírus da Hepatite C

O vírus da hepatite C (HCV) é um dos principais vírus em que a infecção evolui para hepatite crónica, cirrose e cancro no fígado (24).

A principal via de transmissão do HCV é a via parenteral, contudo também se verifica transmissão por via sexual e por transmissão vertical, pelo que os principais grupos de risco incluem toxicodependentes, indivíduos que tenham recebido transfusão sanguínea ou que tiveram contacto sexual com um infetado e recém-nascidos de mães contaminadas (31). No

laboratório onde estagiei, o grupo de risco predominante, para qual era solicitada a análise, eram as grávidas.

Para o estudo laboratorial é realizada a pesquisa de anticorpos anti-HCV. Se resultado for positivo, procede-se a um teste molecular confirmatório para pesquisa de ácido nucleico.

4.3.6. Vírus da Imunodeficiência humana

O vírus da imunodeficiência humana (HIV) é o vírus responsável pela síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), doença crónica caracterizada pela deficiência do sistema imunitário nos indivíduos infetados. Estes indivíduos apresentam menor capacidade de resposta a infeções oportunistas.

Inicialmente, a infeção aguda pode ser confundida com uma gripe normal. O HIV após infeção primária permanece latente no organismo do hospedeiro. Quando a infeção é detetada numa fase precoce e é iniciada uma terapêutica anti-retroviral, as consequências da infeção podem ser minimizadas (24).

O VIH pode ser transmitido por:

- Transmissão por via sexual;
- Transmissão vertical: pode ocorrer de três formas diferentes, via transplacentária, parto ou através do leite materno;
- Transmissão parenteral

Para a deteção, é frequente solicitar a pesquisa de anticorpos anti-VIH. Quando o indivíduo é considerado seropositivo, então deve proceder-se à confirmação através de técnicas de imunoblot (25).

4.3.7. SARS-CoV-2

Desde o início da pandemia da Covid-19, decretada em março de 2020 pela Organização Mundial da Saúde (OMS), que a propagação da doença se tornou uma preocupação entre a população.

Em janeiro de 2020, com a sequenciação do genoma (32) foi possível descobrir o agente etiológico responsável pela infeção, o coronavírus da síndrome respiratória severa aguda (SARS-CoV-2), vírus envelopado de RNA, constituído por 4 proteínas estruturais (figura VII): spike (S), envelope (E), membrana (M) e nucleocápside (N).

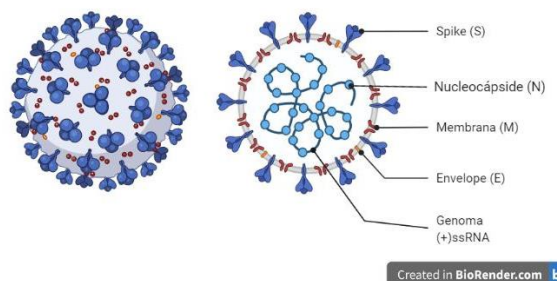


Figura VII: Estrutura do SARS-CoV-2

A transmissão ocorre de pessoa para pessoa, por inalação de partículas provenientes do espirro ou tosse de um indivíduo infectado. O período de incubação do vírus varia entre 2 e os 14 dias após exposição ao vírus, com aparecimento de sintomas após 4 a 5 dias. Como a transmissibilidade do vírus é elevada, têm sido desenvolvidos métodos para o diagnóstico da doença (33).

O método padrão é transcrição reversa seguida de reação em cadeia de polimerase em tempo real (RT-PCR), um teste molecular sensível para a pesquisa direta do genoma viral. Esta técnica requer pelo menos quatro horas de operação e deve ser realizada por técnicos experientes (20). Um indivíduo é considerado positivo quando são detetados, pelo menos, dois genes que codificam as proteínas estruturais (gene S, N, E ou orf1) e um C(t) inferior a 35. (34)

Como referido anteriormente, a execução da técnica e obtenção de um resultado demora pelo menos quatro horas. Com o aumento do número de casos e a urgência do diagnóstico, foram elaborados testes serológicos (27), nomeadamente para pesquisa de anticorpos anti-SARS-CoV-2, e pesquisa de antígenos spike e nucleocápside.

Após exposição ao vírus, o sistema imunitário inicia uma resposta imune que inclui a produção de anticorpos anti-SARS-CoV-2 IgM e IgG, detetados 5 dias após início dos sintomas. A classe IgM é detetada na fase primária da resposta imune, observando-se um pico de concentração duas a três semanas após o início dos sintomas. Ao fim de cerca de seis semanas, a concentração diminui. A classe IgG atinge o pico de concentração entre a 3^a e 6^a semanas, após aparecimento dos sintomas. A concentração mantém-se estável ao longo do tempo (33). Na figura VIII, está esquematizado o curso da infeção por SARS-CoV-2.

Como os anticorpos só são detetados após o aparecimento dos sintomas, isto é, numa fase avançada da infeção, o teste não é utilizado para diagnóstico. Tornou-se útil para confirmação de imunidade (27). Há duas possibilidades para a presença de anticorpos contra SARS-CoV-2, imunidade adquirida por vacinação (anti-spike positivo) ou por infeção (anti-spike e anti-nucleocápside positivos).

Por esta razão e pela necessidade de resultados rápidos, foi desenvolvido o teste rápido para pesquisa de antígeno da nucleocápside (N) de SARS-CoV-2 (20). No laboratório A.C.M. Lda. existem duas formas de deteção tanto de anticorpos como antígeno, por eletroquimioluminescência e por imunoensaio de fluxo lateral.

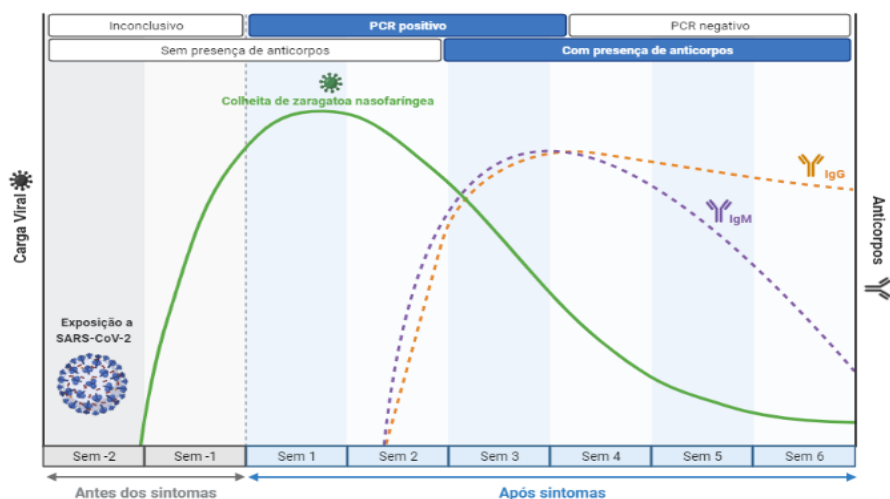


Figura VIII: Curso da infecção por SARS-CoV-2

4.3.8 Vitamina B12

Existem duas vitaminas essenciais no despiste de anemia megaloblástica, a vitamina B12 e o ácido fólico. A vitamina B12 provém da dieta e é encontrada em alimentos de origem animal como carne, nomeadamente fígado, peixe e laticínios. Esta é absorvida a nível intestinal associada ao fator intrínseco (IF), uma glicoproteína produzida pelas células parietais gástricas. O IF liga ao recetor cubilina, expresso nas células do íleo, e o complexo é absorvido. Em circulação, a vitamina B12 é transportada pela transcobalamina II, até à medula óssea, onde desempenha um papel fundamental na síntese de DNA, pois atua como cofator enzimático em duas reações:

- Funciona como cofator da metionina sintetase, enzima responsável pela metilação da homocisteína em metionina (neurotransmissor);
- Funciona como cofator da enzima metilmalonil coenzima A (CoA) mutase que converte metilmalonil-CoA a succinil-CoA (precursor na síntese do heme e intermediário do ciclo de krebs). (13)

Portanto, o seu défice afeta o ciclo celular normal das células, refletindo-se numa eritropoiese ineficaz e conseqüentemente em anemia megaloblástica. (21) A anemia megaloblástica caracteriza-se por um atraso na maturação do núcleo em relação ao citoplasma nos eritroblastos, pela síntese defeituosa de DNA, o que lhes confere um tamanho superior ao normal.

As causas de défice de vitamina B12 podem estar relacionadas com uma dieta deficiente em vitaminas, um défice de IF (também denominado anemia pernicioso, doença auto-imune caracterizada pela destruição das células gástricas) ou deficiência de transcobalamina II.

A vitamina B12 pode também ser transportada pela haptocorrina, uma proteína sintetizada por granulócitos e macrófagos, no entanto, esta proteína não tem a mesma função que a transcobalamina II, e é aparentemente não funcional. Em determinadas patologias mieloproliferativas, existe um aumento no número de granulócitos e, conseqüentemente, verifica-se um aumento dos níveis séricos de haptocorrina e vitamina B12. (13)

4.3.8 Ácido Fólico

Os folatos são um grupo de compostos que derivam do ácido fólico e são necessários numa série de reações bioquímicas, como por exemplo a síntese de precursores de DNA.

O déficit de folato causa anemia megaloblástica, por inibir a síntese de timidato, uma etapa na síntese de DNA, no qual o monofosfato de timidina (dTMP) é sintetizado. Para esta reação ocorrer, os folatos em circulação são convertidos em metil-tetrahidrofolato (metilTHF), uma forma reduzida do monoglutamato. Posteriormente, o metilTHF entra na célula e é degradado a THF, que funciona como substrato da coenzima 5,10 – metileno THF poliglutamato. Esta será a coenzima envolvida na síntese de dTMP. Para além do déficit de ácido fólico, o déficit de vitamina B12 afeta indiretamente esta reação porque funciona como cofator da enzima que degrada metilTHF em THF. A diminuição da quantidade de ácido fólico resulta de déficit na dieta ou por má absorção. (13)

4.3.9 Ferritina

A deficiência de ferro é a causa mais comum de anemia microcítica e hipocrômica, uma anemia caracterizada pela diminuição do número de eritrócitos e hemoglobina na corrente sanguínea, resultante de um defeito na síntese da hemoglobina. Este déficit pode ocorrer por falta de ingestão ou perda hemorrágica. (13,16)

O ferro está incorporado na hemoglobina. O transporte é mediado por três proteínas, a transferrina, o recetor de transferrina I (TfRI) e a ferritina.

A transferrina transporta o ferro até aos tecidos que expressem o recetor TfRI, especialmente eritroblastos presentes na medula óssea. Os eritroblastos incorporam o ferro na hemoglobina e formam os eritrócitos maduros. Estes entram em circulação, e ao fim de cerca de 120 dias, terminado o tempo de meia-vida, começam a ser degradados pelos macrófagos. Durante este processo o ferro é libertado na forma férrica (Fe^{3+}) e forma um complexo proteína-ferro, solúvel em água, denominado ferritina. Uma pequena fração de ferritina circula no sangue, e é esta fração que representa os depósitos de ferro no organismo. (13)

Perante uma anemia por deficiência de ferro, a ferritina sérica é baixa. Existem grupos que são propensos a desenvolver anemia por deficiência de ferro, nomeadamente grávidas, adolescentes e mulheres menstruadas. Portanto, nestes casos, a necessidade de ingestão de ferro, para compensar a perda é maior. (13,16)

4.3.10. Vitamina D

Uma das principais hormonas reguladoras do metabolismo mineral é a vitamina D. Trata-se de uma vitamina lipossolúvel obtida através da dieta ou na pele por exposição solar.

O metabolismo da vitamina D envolve duas etapas, uma no fígado e outra no rim, com o objetivo de sintetizar o calcitriol, uma forma biologicamente ativa da vitamina D que induz os diferentes processos fisiológicos.

Portanto, a vitamina proveniente da dieta liga-se à proteína de ligação em circulação e é transportada até ao fígado. A nível hepático, a vitamina D é metabolizada pela enzima 25-hidroxilase a 25(OH)D, forma predominante na circulação. Posteriormente, no rim, é metabolizada pela enzima 25(OH)D 1 α -hidroxilase em 1 α ,25-dihidroxitamina (1 α ,25(OH)2D), também conhecida como calcitriol, a forma biologicamente ativa da vitamina D. Por sua vez, o calcitriol, atua a nível intestinal de forma a promover a absorção de cálcio e fósforo, e assim estabilizar a concentração sérica destes iões (35).

O défice de vitamina D vai afetar a regulação do metabolismo mineral e, conseqüentemente, os níveis de cálcio, fósforo e magnésio. Segundo a norma 004/2019 da direção geral da saúde, são considerados grupos de risco pessoas com exposição solar limitada, má absorção intestinal e insuficiência renal crónica (36).

4.3.11. Anti-peptídeo cíclico citrulinado

O anticorpo anti-peptídeo cíclico citrulinado (A-CCP) é utilizado como marcador de prognóstico de artrite reumatoide, em simultâneo com o fator reumatoide.

A artrite reumatoide (AR) é uma doença autoimune inflamatória, caracterizada pela inflamação do tecido sinovial das articulações e conseqüente degeneração articular. O processo inflamatório induz a destruição do tecido sinovial o que resulta em dor. Verifica-se uma maior prevalência da doença em mulheres do que em homens, e esta aumenta com a idade (24).

O diagnóstico de AR é realizado pela associação de dados clínicos, laboratoriais e imagiológicos. Relativamente aos dados laboratoriais, são determinados o fator reumatoide e anticorpos anti-CCP.

Os anti-CCP tem demonstrado valor clínico ao longo dos anos. São produzidos localmente, na membrana sinovial e no líquido sinovial, pelo que tem uma alta especificidade e sensibilidade para a AR. Para além disso, podem estar presentes numa fase precoce da doença, catorze anos antes do aparecimento dos primeiros sintomas. Assim, pode concluir-se que a sua presença na corrente sanguínea é indicativa da possibilidade de desenvolvimento da doença no futuro (24, 37).

4.3.12. Peptídeo C

O peptídeo C resulta da clivagem proteolítica do precursor pró-insulina, sintetizado nas células β dos ilhéus de Langerhans no pâncreas. A pró-insulina corresponde à ligação de duas moléculas, a insulina e o peptídeo C, logo as duas são sintetizadas em simultâneo, numa concentração proporcional. No entanto, a insulina apresenta um tempo de semi-vida curto (quatro minutos) em relação ao peptídeo C (cerca de trinta minutos).

A determinação deste peptídeo tem sido solicitada para avaliar a capacidade de secreção das células β dos ilhéus de Langerhans em diabéticos. Como a insulina apresenta um tempo de semi-vida curto, a insulinemia plasmática não reflete de forma fidedigna a capacidade de secreção dos ilhéus.

Em alguns casos, é difícil fazer uma classificação correta do tipo de *diabetes mellitus* que o indivíduo apresenta, principalmente em adultos. Esta determinação, tem como finalidade, fazer essa distinção.

Indivíduos com *diabetes mellitus* do tipo 1 apresentam insulinopenia por perda da função de secreção. Indivíduos com *diabetes mellitus* tipo 2 apresentam secreção normal a elevada de insulina, contudo, numa quantidade insuficiente para compensar a resistência à insulina desenvolvida pelas células (38).

4.3.13. Marcadores tumorais séricos

Consideram-se marcadores tumorais substâncias cuja presença no organismo pode ser indicativo de presença, progressão ou remissão de tumores (9).

Existem dois tipos de marcadores tumorais, os circulantes e os tecidulares. Os marcadores circulantes têm desempenhado um papel importante na deteção e tratamento de cancro. A falta de especificidade impede o uso para eventual diagnóstico, contudo auxilia no prognóstico e monitorização de terapêutica para tratamento. Deste modo, o diagnóstico não se restringe apenas à deteção de marcadores séricos, é realizada uma avaliação, em simultâneo, com meios complementares de diagnóstico, como por exemplo, biópsia celular e métodos de imagiologia.

Alguns dos marcadores determinados no laboratório onde estagiei incluem o antígeno específico da próstata total e livre (PSA), o antígeno carcinogénico 19.9 (CA 19.9), o antígeno carcinogénico 125 (CA 125), o antígeno carcino-embriónico (CEA) e a α -fetoproteína (AFP).

a) Antígeno específico da próstata total e livre

O antígeno específico da próstata (PSA) é uma glicoproteína produzida quase exclusivamente no lúmen dos ductos prostáticos. Este antígeno tem sido utilizado como marcador para o rastreio de cancro da próstata, em combinação com a palpação rectal. O rastreio é realizado em homens com mais de 50 anos de idade.

Níveis elevados deste marcador na corrente sanguínea indicam uma inflamação glandular, pelo que, a partir de um aumento da concentração sérica de PSA não confirma a presença de tumor. Este aumento pode verificar-se também em hiperplasia benigna da próstata (39) .

De modo a identificar a origem do aumento sérico de PSA é utilizado a razão entre PSA livre e PSA total. Nos doentes com cancro da próstata verifica-se uma razão menor em comparação com indivíduos com hiperplasia benigna da próstata

b) Antígeno carcinogénico 19.9

O antígeno carcinoembriónico 19.9 (CA 19.9) é produzido pelas células epiteliais dos ductos biliares e pancreáticos, gástricas e do cólon, (7) no entanto, a sensibilidade é maior para o carcinoma no pâncreas, apresentando utilidade para diferenciar cancro no pâncreas de pancreatite. De momento, a deteção de CA 19.9 é útil na monitorização da resposta ao tratamento em indivíduos diagnosticados com cancro no pâncreas (39).

c) Antígeno carcinogénico 125

O antígeno carcinogénico 125 (CA 125) é uma glicoproteína de elevado peso molecular expressa à superfície das células dos ovários. (7) Este marcador tumoral é utilizado como forma de rastreio de cancro nos ovários (39). Não é vantajoso para rastreio em população assintomática, mas recomendado em mulheres consideradas de risco. (7)

É detetável em concentração elevada em situações de tumor no ovário e também doenças benignas, como endometriose ou doença inflamatória pélvica. Deste modo, não só é útil como rastreio, também é utilizado para monitorização da eficácia da terapêutica para mulheres que tenham sido diagnosticadas com doença maligna (24).

d) α – fetoproteína

A α – fetoproteína (AFP) é uma glicoproteína produzida, em concentrações elevadas, durante o desenvolvimento fetal, pelo fígado e pelo saco vitelino. Atinge um pico de concentração no terceiro trimestre de gravidez e desaparece, rapidamente, cerca de seis meses após o parto. No adulto, em condições normais, a AFP é praticamente indetetável (15).

O aumento do nível sérico da AFP é sugestivo de malignidade, contudo não é um marcador específico. É comum verificar aumento em tumor hepatocelular, contudo, também se verifica em hepatite viral, cirrose e em gestantes. Níveis séricos acima dos 500 ng/mL são sugestivos de malignidade, valores acima de 1000 ng/mL de neoplasia (39).

A AFP é utilizada como um marcador para monitorização de tratamento, por quimioterapia ou radioterapia, para o carcinoma de testículo e carcinoma hepatocelular. Também é aconselhada a detecção, em indivíduos diagnosticados com infecção pelos vírus da hepatite B e C, associado ao risco acrescido em desenvolver cancro hepatocelular (40).

e) Antigénio carcino-embrionário

O antigénio carcino-embrionário (CEA) é uma glicoproteína presente na mucosa gastrointestinal. O CEA é utilizado como marcador de cancro colorretal, contudo não é específico para este tipo de tumor, pois foi verificado aumento de concentração noutras doenças malignas. Algumas dessas doenças incluem cancro do pulmão, cancro no pâncreas, trato biliar, tireoide e cancro da mama.

Este marcador tumoral não apresenta especificidade para um tipo de cancro, então, possui valor clínico para a monitorização da doença maligna. Uma elevação persistente de CEA pode ser indicativa de existência de doença residual. Um aumento súbito após tratamento é sugestivo de recorrência do tumor (39).

a) Gonadotrofina coriónica humana (β HCG)

A determinação da gonadotrofina coriónica humana (β HCG) é utilizada, geralmente, para confirmação de gravidez. A β HCG é uma glicoproteína sintetizada pelas células do trofoblasto do embrião, logo verifica-se um aumento da concentração durante a fase inicial da gravidez.

No entanto, a β HCG também pode ser sintetizada por determinados tumores, nomeadamente nas células germinativas testiculares e coriocarcinoma, pelo que é utilizado para o diagnóstico, monitorização e prognóstico de doença (41).

Tabela 7: Utilização comum dos marcadores séricos

PSA	<ul style="list-style-type: none">•Tipo de cancro: Cancro da próstata•Uso comum: Detecção e monitorização da eficácia do tratamento
CA 19.9	<ul style="list-style-type: none">•Tipo de cancro: Cancro no pâncreas, ductos biliares, gástrico e colorretal•Uso comum: monitorização da eficácia do tratamento
CA 125	<ul style="list-style-type: none">•Tipo de cancro: Cancro no ovário•Uso comum: Detecção e monitorização da eficácia do tratamento
AFP	<ul style="list-style-type: none">•Tipo de cancro: Cancro hepatocelular, testicular•Uso comum: Detecção e monitorização da eficácia do tratamento
CEA	<ul style="list-style-type: none">•Tipo de cancro: Cancro colorretal•Uso comum: Monitorização da eficácia do tratamento
β HCG	<ul style="list-style-type: none">•Tipo de cancro: Cancro nas células germinativas testiculares, coriocarcinoma•Uso comum: Detecção, monitorização e prognóstico

4.4. Parâmetros Endócrinos

O sistema endócrino é uma rede de comunicação que inclui vários órgãos com a capacidade de produzir e libertar mediadores moleculares que exercem efeito em células alvo. O eixo hipotálamo-hipófise é o grande responsável por esta coordenação. De um modo geral, o hipotálamo integra os estímulos captados e induz a libertação de substâncias neuroendócrinas, que atuam na hipófise, graças à sua estreita ligação anatómica. A hipófise por sua vez, sintetiza hormonas estimuladoras que entram em circulação e são transportadas até ao respetivo órgão alvo, traduzindo-se numa resposta fisiológica (16).

4.4.1. Hormona estimuladora da tiroide

A hormona estimuladora da tiroide (TSH), é uma hormona libertada pela hipófise, que atua na tiroide de forma a estimular a produção de tiroxina livre (T4) e triiodotironina livre (T3). Quando a concentração das hormonas tiroideias aumenta, inibem a síntese de TSH, por um mecanismo de retroação negativo (16).

A determinação da TSH permite estabelecer a presença de hipotireoidismo (défice de hormonas tiroideias), na qual se destaca a tireoidite de Hashimoto ou hipertireoidismo (excesso

de hormonas tiroideias), como por exemplo a doença de Graves. Ambas estas desregulações são doenças autoimunes.

A tiroidite de Hashimoto caracteriza-se pela produção de anticorpos pelo organismo, que eventualmente destroem a glândula da tiroide. Consequentemente, a glândula perde capacidade de exercer função. É uma doença com maior prevalência em mulheres entre os 30 e 50 anos de idade (24).

No caso da doença de Graves, verifica-se um aumento das hormonas tiroideias, resultante da ligação de anticorpos aos recetores da TSH na tiroide, o que provoca um aumento na concentração das hormonas (10).

A determinação da TSH é efetuada com o objetivo de avaliar a função tiroideia, assim como monitorizar indivíduos em que já tenha sido diagnosticado hipotiroidismo ou hipertiroidismo.

4.4.2. Tiroxina livre e Triiodotironina livre

A tiroxina (FT4) e triiodotironina (FT3) são hormonas produzidas na tiroide, que resultam da iodação de moléculas de tirosina acopladas à tiroglobulina (TG).

Os iões iodeto provém da dieta e entram nas células foliculares da tiroide. Quando há a ligação da TSH aos respetivos recetores, as moléculas de TG, armazenadas nas células foliculares, são recrutadas e ligam ao iodo que entrou na célula folicular. Esta ligação resulta nas hormonas tiroideias (9).

A FT3 e FT4 são essenciais na manutenção da homeostasia energética, ao estimularem o metabolismo e atividade celular, contribuindo para aumentar a taxa de crescimento, atividade neurológica, cardiovascular e gastrointestinal. Por esta razão, há necessidade de controlar a atividade da glândula tiroideia.

A principal causa de hipotiroidismo é por doença autoimune, contudo também pode ter causas como défice crónico de iodo ou remoção cirúrgica da tiroide. O hipertiroidismo também pode ter causa autoimune (doença de Graves) ou bócio nodular tóxico ou adenoma (16).

4.4.3. Tiroglobulina

As células foliculares da tiroide são responsáveis por sintetizar a tiroglobulina (TG), uma glicoproteína constituída por aminoácidos de tirosina e principal constituinte das hormonas FT3 e FT4 (16).

A TG é sintetizada exclusivamente pela glândula da tiroide, pelo que a sua determinação é, frequentemente, solicitada para o seguimento de pós-tiroidectomia em doentes com carcinoma da tiroide, como forma de monitorização (42).

No entanto, não é a única razão para a sua concentração estar aumentada na corrente sanguínea. Também é verificado tanto na doença de Graves como na tiroidite de Hashimoto (17). Quando existe a suspeita de hipotiroidismo primário, de causa autoimune é determinado, em simultâneo com os anticorpos antiperoxidase (A-TPO), os anticorpos antitiroglobulina (A-TG) circulantes (42).

4.4.5. Anti-peroxidase específica da tiroide

Na membrana das células foliculares está expressa a enzima peroxidase da tiroide (TPO) que permite a entrada do iodeto por conversão em iodo, nas células foliculares, este por sua vez é incorporado nos resíduos de tirosina que estão acoplados à tiroglobulina (9).

Nos casos de hipotiroidismo primário resultantes de doença autoimune, os anticorpos contra esta enzima estão presentes na corrente sanguínea, os anticorpos antiperoxidase (A-TPO) (24). Esta patologia caracteriza-se pela produção de anticorpos, pelo organismo, contra a própria glândula da tiroide, o que provoca a destruição gradual das células (10) Assim, em caso de suspeita desta patologia, é solicitada a determinação de A-TPO, em simultâneo com A-TG (42).

4.4.6. Hormona Luteinizante

A hormona luteinizante (LH) é uma hormona gonadotrofina, sintetizada pela hipófise de forma pulsátil, quando estimulada pela hormona libertadora de gonadotrofinas (GNRH). A sua síntese é regulada por um mecanismo de feedback negativo.

A LH é crucial na regulação da síntese de hormonas sexuais, tanto no homem (induz síntese de testosterona), como na mulher (induz síntese de estradiol e progesterona).

Esta hormona está diretamente relacionada com o ciclo menstrual da mulher. Este divide-se em três fases, a fase folicular, a ovulação e a fase luteínica. Na primeira fase, a folicular, a LH em conjunto com a hormona folículo-estimulante (FSH), provocam o crescimento folicular. A LH regula a internalização do colesterol LDL que será utilizado para a formação das hormonas esteroides, como o estradiol e a progesterona. À medida que o folículo vai amadurecendo, sintetiza estrogénios, nomeadamente o estradiol. Esta hormona atinge o pico de concentração durante a ovulação (16).

A determinação é realizada em mulheres que pretendam engravidar ou para estimular a função gonadal em técnicas de concepção assistida, como fertilização in vitro (FIV). Aumento pode ser indicativo de infertilidade, síndrome policístico, síndrome de Turner nas mulheres e síndrome de Klinefelter nos homens.

A sua síntese é controlada por um mecanismo de feedback negativo, quando existe uma diminuição na concentração da hormona LH, a hormona libertadora de gonadotrofinas (GNRH) hipotalâmica é sintetizada e induz a hipófise a produzir LH (43).

4.4.7. Hormona folículo-estimulante

Para além da LH, a GNRH hipotalâmica induz a síntese da hormona folículo-estimulante (FSH), que tanto atua nos homens como nas mulheres.

Na mulher, a FSH estimula o crescimento dos folículos no ovário. Com o aumento do tamanho do folículo, a quantidade de estradiol que é sintetizada aumenta. O estradiol por sua vez induz a ovulação. Após a ovulação, o folículo rompe e forma o corpo lúteo.

No homem induz a espermatogénese ao atuar nas células de sertolli. Os níveis circulantes de FSH estão dependentes da quantidade de testosterona, através do mecanismo de retroação negativo.

É observado um aumento da concentração de FSH, por exemplo na síndrome de Klinefelter em homens e síndrome de Turner nas mulheres. Uma concentração baixa de FSH está associada a infertilidade quer no homem, quer na mulher, por alterar o ciclo da espermatogénese e da ovulação (43).

4.4.8. Testosterona

A testosterona atua localmente na espermatogénese e exerce efeitos em todo o corpo para gerar características como o aumento da massa muscular, aumento da laringe e crescimento de pêlos faciais e corporais.

A testosterona é sintetizada pelas células de Leydig nos testículos, por estímulo da LH. A concentração é maior nos homens do que nas mulheres. Esta hormona está associada às alterações observadas nos rapazes durante a puberdade, então o efeito do excesso de testosterona irá depender da idade. Num homem adulto é improvável desenvolver alguma patologia, já em crianças pode levar a puberdade precoce ou resultar em infertilidade.

Nas mulheres, existe uma pequena quantidade de testosterona que é sintetizada, mas é convertida a estradiol. Níveis elevados de testosterona podem ser indicativos de síndrome de ovários policísticos, aumento do volume muscular e voz mais profunda.

Os níveis de testosterona diminuem naturalmente com o avançar da idade, verificando-se nos adultos uma redução do volume muscular, alterações de humor, aumento do peso, osteoporose, dificuldade de concentração e perda de memória (43).

4.4.9. Estradiol

O estradiol é uma hormona esteroide, encontrada nas mulheres, que tem como precursor o colesterol. É sintetizada nos ovários, no entanto, durante a gravidez pode ser produzida pela placenta, especialmente no fim da gravidez.

Apresenta diversas funções, como estimular o desenvolvimento do sistema reprodutor feminino, estimular a ovulação e induzir o desenvolvimento do endométrio durante o ciclo menstrual.

A concentração de estradiol varia ao longo do ciclo menstrual, atingindo um pico de concentração durante a ovulação e um decréscimo durante a menstruação. Com a idade, os níveis diminuem lentamente.

Os homens também produzem estradiol, contudo, numa quantidade inferior à das mulheres e, este, é convertido em testosterona.

O excesso de estradiol, nas mulheres, causa acne, aumento de peso e infertilidade. Nos homens causa disfunção sexual, perda de músculo, aumento de gordura corporal e desenvolvimento de características femininas como tecido mamário.

Uma concentração baixa de estradiol pode estar associada a osteoporose e atraso no desenvolvimento da puberdade e menopausa. Os sintomas observados durante a menopausa, resultam da diminuição da concentração do estradiol. Esta hormona é utilizada como terapia de reposição hormonal (43).

4.4.10. Progesterona

A progesterona é sintetizada pelo corpo lúteo, na segunda metade do ciclo menstrual. A formação do corpo lúteo é desencadeada por um aumento na produção de LH, isto ocorre aproximadamente no 14º dia do ciclo menstrual. Ocorre a ovulação e a formação do corpo lúteo a partir do folículo remanescente.

O corpo lúteo sintetiza progesterona, que prepara o corpo para a gravidez. Se o óvulo não for fertilizado e nenhum embrião for concebido, o corpo lúteo rompe-se, ocorre menstruação e dá-se início a um novo ciclo menstrual. Caso o óvulo seja fertilizado, a progesterona estimula o crescimento dos vasos sanguíneos no útero. Durante a gravidez, desempenha papel importante no desenvolvimento do feto (43).

4.4.11. Prolactina

A prolactina é a hormona responsável pelo desenvolvimento da glândula mamária e lactação. A sua síntese é induzida por estímulos sensoriais como o choro do bebé, que estimula a produção da hormona libertadora de prolactina que, por sua vez, estimula a síntese de prolactina. A dopamina exerce o efeito contrário, inibe a síntese de prolactina.

A concentração desta hormona aumenta de forma gradual e de um modo fisiológico durante a gravidez, a partir da 5ª semana de gestação até ao parto. No entanto, pode ocorrer um aumento excessivo, fora do contexto fisiológico da gravidez, denominada hiperprolactinemia.

A hiperprolactinemia tem como causas o uso de fármacos agonistas de dopamina, como os antipsicóticos ou tumores na hipófise (prolactinomas). Este aumento excessivo, tem como sintomas galactorreia (lactação fora do contexto de gravidez), amenorreia (ausência de ciclos menstruais) anovulação e infertilidade (43).

Portanto, a determinação da prolactina é realizada quando há suspeita de prolactinomas ou na prescrição de antipsicóticos (44).

4.4.12. Cortisol

Considerada a hormona do stress. O cortisol é um glucocorticoide potente produzido na zona fasciculada do córtex das glândulas das suprarrenais.

Esta hormona é secretada por estímulo da hormona adrenocorticotrófica (ACTH). É libertada de forma pulsátil ao longo do dia, sendo observado um pico de concentração sérico de manhã.

Este glucocorticoide está envolvido no metabolismo da glucose, por aumento da transcrição de genes que codificam enzimas necessárias na biossíntese de glucose e glicogénio e mobiliza aminoácidos de tecidos extra-hepáticos para o fígado, para assim estarem disponíveis para a gliconeogénese. A alteração dos hábitos de sono e stress podem induzir uma alteração nos níveis de cortisol.

A patologia mais comum no córtex adrenal resulta de hipercortisolismo que é denominada de síndrome de Cushing. Esta alteração hormonal resulta de ingestão, em excesso, de corticosteroides ou então por adenoma na glândula pituitária e consequente produção excessiva de ACTH, com aumento da síntese de cortisol (9,16)

4.4.13. Hormona paratiroide

Na face posterior da tireoide estão localizadas as glândulas paratiroides. São quatro e constituídas por células foliculares produtoras da hormona paratiroideia (PTH).

Esta hormona é fulcral na regulação da homeostasia do cálcio, em simultâneo com a vitamina D e calcitonina. A PTH vai atuar a nível ósseo promovendo a reabsorção de cálcio e a nível renal, promovendo a reabsorção de cálcio, excreção de fosfato inorgânico e hidroxilação da 25-hidroxivitamina D a 1,25-di-idroxivitamina D ativa (calcitriol).

A síntese da PTH é desencadeada pela diminuição da concentração de cálcio e aumento de fosfato.

A importância da PTH está associada à regulação da concentração dos níveis de cálcio e assim evitar alterações a nível do potencial de membrana, contração muscular e permeabilidade de membrana.

O hipoparatiroidismo tem como causa a remoção cirúrgica da tireoide. O hiperparatiroidismo está associado a desenvolvimento de tumores benignos ou em defeitos no metabolismo mineral (16).

4.5 Caso Clínico 2

Uma utente do sexo feminino, grávida, de 21 anos, dirigiu-se ao laboratório para realizar análises de rotina.

Tabela 8: Resultados do caso clínico 2

Análises	Resultado/Unidades	Valores de referência
AgHBs – Hepatite B	0,35 (Não reativo)	Não reativo: < 1,00 Reativo: ≥ 1,00
Ac. Anti-Toxoplasma (IgG)	0,2 UI/mL (Não imune)	Não Reativo: < 1 Indeterminado: ≥ 1 a <30 Reativo: ≥ 30
Ac. Anti-Toxoplasma (IgM)	0,23 UI/mL	Não Reativo: < 0,80 Indeterminado: ≥ 0,80 a < 1,00 Reativo: ≥ 1,00
Ac. Anti-Rubeola (IgG)	74 UI/mL (Imune)	Não Reativo: < 10 Reativo: ≥ 10
Ac. Anti-Rubeola (IgM)	0,49 UI/mL	Não Reativo: < 0,80 Indeterminado: ≥ 0,80 a < 1,00 Reativo: ≥ 1,00
Vírus da Imunodeficiência Humana	71,51 (Reativo)	Não reativo: < 0,90
VDRL	Não reativo	Não reativo

Tabela 9: Resultado do imunoblot confirmatório para HIV

ENV (Ag envelope)		Interpretação
-gp41	+	Positivo: HIV 1 - Obs. como mínimo 2 bandas de intensidade reativa:
-gp110/120	+	
POL (Ag polimerase endonuclease)		- 2 bandas ENV (gp120+gp41) ou - 1 banda ENV (gp41) e no mínimo, 1 banda GAG ou 1 banda POL
-p68	+	
GAG (Ag core)		HIV 2 – Obs. como mínimo 2 bandas de intensidade reativa: - 2 bandas ENV (gp105+gp36) ou - 1 banda ENV (gp36) e no mínimo, 1 banda GAG ou 1 banda POL
-p24/25	+	
-p40	+	
-p55	+	
Observações:	Positivo para HIV 1	

Discussão:

Como pode ser observado nas análises, a utente está seropositiva para o vírus da imunodeficiência humana, do tipo 1.

Durante a gestação, a mulher está exposta a diferentes agentes infecciosos, cuja transmissão ao feto está inerente. A transmissão vertical é causa de preocupação, pelas consequências graves que pode trazer ao feto. Pelo que, um diagnóstico precoce reduz este risco de transmissão, contribuindo para a redução da mortalidade infantil (25).

Deste modo, a direção geral da saúde, emitiu uma norma para a vigilância da grávida de baixo risco. No enquadramento das doenças infecciosas, é aconselhado o rastreio da sífilis, toxoplasmose, rubéola, vírus da imunodeficiência humana, vírus da hepatite B, vírus da hepatite C e por vezes citomegalovírus (14).

Para a deteção do vírus da imunodeficiência humana (VIH), habitualmente, é solicitada a determinação de anticorpos anti-VIH. Caso o resultado seja positivo, então é necessário proceder a confirmação, com urgência, pela técnica de Western Blot (perceber devido a interferência de outros anticorpos maternos que possam estar presentes).

No caso desta utente, após a deteção de anticorpos anti-VIH no soro, o resultado foi confirmado pela técnica de imunoblot (25).

O vírus da imunodeficiência humana pode ser transmitido ao feto durante a gravidez, durante o parto ou durante o aleitamento. A pesquisa permite o diagnóstico de infecção na grávida, o que permite ao médico tomar medidas para prevenir a transmissão da infecção ao feto. Para além disso, permite que a mãe tenha acesso precoce a cuidados apropriados de saúde e assim melhorar o prognóstico da doença.

A utente foi imediatamente referenciada e deve ser estimulada a participação do futuro pai no aconselhamento e realização do teste (45).

5. Hematologia

No setor da hematologia, tal como na secção da imunologia/endocrinologia, os parâmetros podem ser avaliados automaticamente ou por técnicas manuais.

Os hemogramas por exemplo, que incluem a contagem de eritrócitos, plaquetas e leucócitos, são obtidos automaticamente com a ajuda do aparelho Sysmex XT-1800i ®. Este usa uma tecnologia baseada no princípio de Coulter, ou seja, na contagem de pulsos de condutividade causada pela passagem de células através de um orifício por onde flui corrente elétrica. Para além disso, apresenta a técnica de citometria de fluxo, que permite uma contagem diferencial de células (46). Quando há uma alteração num determinado parâmetro, o próprio aparelho alerta para a necessidade de observação do esfregaço sanguíneo. Contudo, o analista deve ter espírito crítico para tomar essa decisão.

Para além dos hemogramas, também o tempo de protrombina (PT) e tempo de tromboplastina parcial ativada (PTTa) são obtidos automaticamente. São parâmetros solicitados para o controlo em pacientes que tomam anticoagulantes, como é o caso da varfarina. Enquanto, o PT avalia a via extrínseca e via comum da cascata da coagulação, isto é, os fatores VII, X, V, protrombina e fibrinogénio, o PTTa mede a via intrínseca e via comum, ou seja, os fatores X, V, protrombina e fibrinogénio (13). Na coagulação recorre-se ao uso do aparelho Ceveron® alfa que se baseia no método óptico, ou seja, a luz incide sob a amostra de plasma ao ser adicionado o fator tecidual. Após formação do coágulo, a luz incide sobre o mesmo e difunde noutra direção onde está outro detetor, diferente do que recebeu a luz emitida inicialmente. O tempo que demorou a formação do coágulo corresponde à diferença de tempo da luz recebida entre os dois detetores.

Manualmente são feitos os esfregaços sanguíneos, com coloração de wright, contagem de reticulócitos, testes serológicos e as velocidades de sedimentação (VS).

Os reticulócitos são células precursoras eritroides sem núcleo que apresentam RNA, e podem estar presentes em pequenas quantidades em circulação. A sua contagem pode ser uma forma de perceber a eficácia de produção das células eritroides na medula (47). Para tal, ao esfregaço sanguíneo é adicionado corante supravital numa proporção de 1:1. A contagem é feita em lâmina, sendo contado o número de reticulócitos por cada 1000 eritrócitos maduros (46).

Os eritrócitos têm na sua membrana proteínas integrais e glicoesfingolípídeos superficiais responsáveis pela estrutura antigénica, que permitem, por exemplo, a serotipagem sanguínea em ABO e Rh (47). Para determinar os grupos sanguíneos é realizado um imunoensaio de

aglutinação, por adição de anti-imunoglobulinas A, B e D. Nos casos em que o indivíduo é considerado Rh negativo é realizada confirmação por teste de coombs indireto.

O teste de coombs indireto é um método realizado para a confirmação da presença de anticorpos anti-D na corrente sanguínea. Este método tem importância clínica em grávidas, para prevenir a reação dos anticorpos da mãe contra as células do feto, caso esta seja Rh negativo. À amostra de soro do utente são adicionados eritrócitos de antigenicidade conhecida, seguida de anti-imunoglobulinas, caso haja aglutinação então o teste é positivo. (48).

As velocidades de sedimentação são obtidas pelo método tradicional de Westergreen que consiste em preencher tubos de vidro graduados ou de vácuo, até à marca 0, com sangue venoso anticoagulado e verificar a sedimentação ocorrida ao fim de uma hora. O método reflete processos inflamatórios no organismo e baseia-se na agregação eritrocitária. Isto ocorre pela presença das proteínas inflamatórias que têm carga positiva e neutralizam as cargas negativas dos eritrócitos que são responsáveis pela repulsão entre eles, fazendo com que sedimentem mais rapidamente (49).

6. Microbiologia

O ramo da microbiologia engloba tudo o que seja análises bacteriológicas, micológicas e parasitológicas, como tal existe uma variedade de amostras observadas no setor, desde zaragatoas nasofaríngeas, exsudados vaginais, expectoração e as mais frequentes fezes e urina.

Uma das requisições mais comuns no laboratório é a urocultura para despiste de infeções do trato urinário (ITU). Existem particularmente quatro agentes etiológicos que mais frequentemente provocam as ITU, *Escherichia coli*, *Enterococcus spp.*, *Proteus mirabilis* e *Klebsiella spp.*, ou então, mas menos frequente, *Pseudomonas aeruginosa*. A urina é inoculada em meio CPS, um meio com substratos cromogénicos que permitem a diferenciação dos agentes patogénicos consoante a coloração da colónia obtida. Após 24h a 37°C é feita a contagem de colónias e identificação do microrganismo pela cor da colónia. Caso não seja perceptível pela cor, então procede-se à identificação através do sistema Vitek® 2 Compact. O sedimento urinário é sempre observado ao microscópio em simultâneo, de forma a confirmar presença ou ausência de leucócitos que podem ser indicativos de bacteriúria.

É também solicitado antibiograma, isto para, face ao microrganismo isolado, haver uma noção do perfil de suscetibilidade do mesmo a antibióticos e para o clínico perceber qual a abordagem terapêutica mais correta (50). A prova de susceptibilidade pode ser realizada manualmente pelo método de difusão em disco, por inoculação em meio de Mueller Hinton ou também, tal como na identificação, pelo sistema Vitek® 2 Compact.

No que respeita às amostras fecais, são realizadas coproculturas e exame parasitológico. A coprocultura é um exame microbiológico solicitado quando há suspeita de algum distúrbio intestinal que tenha como causa *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Shigella spp.* ou *Campylobacter spp.* (50). Já o exame parasitológico permite a pesquisa de parasitas intestinais, como é o exemplo de *Cryptosporidium parvum*. Antes de observação microscópica entre lâmina e lamela, é feita a preparação a fresco ou concentrado da amostra, a partir de três amostras diferentes, colhidas preferencialmente em dias diferentes.

7. Conclusão

Desde o início do meu percurso acadêmico que senti admiração pela área das análises clínicas, de como a análise de uma amostra biológica contribui para o diagnóstico de uma patologia.

No estágio tive oportunidade de acompanhar a realidade de um laboratório de análises, entrar na rotina de trabalho e entender como tudo se processa, o que me ajudou a melhorar não só a nível profissional como a nível pessoal.

Pude consolidar os conhecimentos adquiridos ao longo das aulas teóricas, adquirir competências na realização de tarefas e melhorar em termos de relação interpessoal e de trabalho em equipa. Evidenciei a importância de garantir o rigor dos resultados e o papel que o analista tem nesse sentido, da importância do espírito crítico na interpretação de resultados e na toma de decisões quando algo não corre como o previsto.

Penso que o estágio é uma mais-valia para a conclusão do mestrado em análises clínicas, cujos conhecimentos me ajudarão na integração no mercado de trabalho.

8. Referências bibliográficas

1. GREINER BIO-ONE – Tubos para colheita de sangue Vacuette® [Acedido a 9 de abril de 2021]. Disponível na Internet: <https://shop.gbo.com/pt/brazil/products/preanalitica/coleta-de-sangue-venoso/tubos-para-coleta-de-sangue-vacuette/>
2. Despacho nº 10009/2019 de 5 de novembro – Manual de Boas Práticas Laboratoriais de Patologia Clínica ou Análises Clínicas [Acedido a 9 de abril de 2021]. Disponível na Internet: <https://dre.pt/web/guest/pesquisa/-/search/125879568/details/normal?!=1>
3. Roche Diagnostics – cobas® 6000 analyzer series [Acedido a 14 de abril de 2021]. Disponível na Internet: https://diagnostics.roche.com/global/en/products/systems/cobas_-6000-analyzer-series.html#productSpecs
4. TURGEON, Mary Louise – Linne & Ringsrud's Clinical Laboratory Science: Concepts, Procedures, and Clinical Applications. 7ª Ed. Missouri: Elsevier Inc., 2016. ISBN 978-0-323-22545-8
5. HARRIS, Daniel – Quantitative Chemical Analysis. 8ª Ed. New York: W.H. Freeman and Company, 2010. ISBN 1-4292-1815-0
6. MCPHERSON, Richard; PINCUS, Matthew – Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods, 22ª Ed. Philadelphia: Elsevier Inc., 2011. ISBN 978-1-4377-0974-2
7. BURTIS, Carl A.; BRUNS, David E. – Tietz Fundamentals of clinical chemistry and molecular diagnostics, 7ª Ed. Missouri: Elsevier Inc., 2015. ISBN 978-1-4557-4165-6
8. SILVA, Roberta Oliveira; LOPES, Aline F.; FARIA, Rosa M. D. – Eletroforese de proteínas séricas: interpretação e correlação clínica. Revista Médica de Minas Gerais 2008; 18(2): 116-122.
9. MARSHALL, William J. et al. – Clinical Biochemistry, Metabolic and Clinical Aspects. 3rd Ed. Elsevier Inc., 2014. ISBN 978-0-7020-5478-5
10. GAW, Allan et al. – Clinical Biochemistry, an illustrated colour text, 5th Ed. Elsevier Inc., 2013. ISBN 978-0-7020-5179-1
11. Norma 066/2011 – Prescrição de exames laboratoriais para avaliação de dislipidemias no adulto. [Acedido a 28 de dezembro de 2021]. Disponível na internet: <http://nocs.pt/wp-content/uploads/2015/11/Exames-Laboratoriais-para-Avalia%C3%A7%C3%A3o-de-Dislipidemias1.pdf>
12. Norma 002/2011 – Diagnóstico e classificação de diabetes mellitus. [Acedido a 28 de dezembro de 2021]. Disponível na internet: <https://www.dgs.pt/programa-nacional-para-a-diabetes/circulares-normas-e-orientacoes/norma-da-direccao-geral-da-saude-n-0022011-de-14012011-pdf.aspx>

13. HOFFBRAND, A. Victor; MOSS, Paul A.H. – Hoffbrand's Essential Haematology, Seventh Edition. John Wiley & Sons Ltd, 2016. ISBN: 978-1-118-40867-4
14. Norma 37/2011 - Exames laboratoriais na gravidez de baixo risco [Acedido a 25 de janeiro de 2022]. Disponível na internet: <https://nocs.pt/analises-gravidez-baixo-risco/#:~:text=A%20norma%20DGS%20037%2F2011,baixo%20risco%20nos%20tr%C3%AAs%20trimestres.>
15. SASTRE, F. González – Semiología y diagnóstico: interpretación de los datos de laboratorio, 1ª Ed. Barcelona: Barcanova, 1994. ISBN: 84-7533-947-3
16. MACHADO, Humberto – Fisiologia Clínica, 1st Ed. Lisboa: Lidel-Edições Técnicas, Lda., 2018. ISBN: 978-989-752-343-4
17. FERREIRA, Margarida et al. – Elevação da lipase e amilase no doente crítico. Estudo retrospectivo. Rev Bras Ter Intensiva, 2008; 20(4): 362-369
18. SODRÉ, Fábio L. et al. – Avaliação da função e da lesão renal: um desafio laboratorial. J Bras Patol Med Lab, 2007; v. 43, n.5, p. 329-337
19. PINHEIRO, Geraldo da Rocha Castelar – Revendo a orientação dietética na gota. Revista Brasileira Reumatologia, 2008; v.48, n.3, p. 157-161
20. PRASAD, Rohan M.; TIKARIA, Richa – Microalbumiuria [Acedido a 21 de maio de 2021]. Disponível na Internet: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563255/>
21. LORENZ, John M. – Physiology and Pathophysiology of Body Water and Electrolytes. In: KAPLAN, Lawrence A. Clinical chemistry; Missouri: Elsevier inc., 2010, ISBN: 9780323074780, p. 528-549
22. WILLIAMSON, Mary A., SNYDER, L. Michael – Wallach's interpretation of diagnostic tests, 10ª Ed, Philadelphia, 2015, Lippincott william's & wilkins. ISBN: 978-1-4511-9176-9
23. Roche Diagnostics – cobas ® e411 analyzer [Acedido a 14 de abril de 2021]. Disponível na Internet: <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/instruments/cobas-e-411.html>
24. TURGEON, Mary Louise – Immunology and Serology in laboratory medicine, 5th Ed. Missouri: Elsevier Inc., 2014. ISBN: 978-0-323-08518-2
25. PORTUGAL. Direção Geral da Saúde – Saúde Reprodutiva, Doenças Infecciosas e Gravidez, Lisboa: DGS, 2000. ISBN: 972-9425-84-1
26. OLOPOENIA, Lateef A.; KING, Aprileona L. – Widal agglutination test- 100 years later: still plagued by controversy. The fellowship of Postgraduate Medicine, 2000; 76:80-84.
27. BACURA, Anita et al. – Current status of the lateral flow immunoassay for the detection of SARS-CoV-2 in nasopharyngeal swabs. Biochem Med (Zabreg), 2021; 31(2):020601

28. BRASIL. Ministério da Saúde – Protocolo de notificação e investigação: Toxoplasma gestacional e congênita, 1ª Ed, Brasil, 2018. ISBN: 978-85-334-2655-9
29. Sociedade Portuguesa de Virologia - Recomendações para o diagnóstico prénatal virológico [Acedido a 27 dezembro de 2021]. Disponível na internet: <https://www.spv.pt/recomendacoes.php>
30. NADDEO, Flávia et al. – Cytomegalovirus infection in pregnancy. J Bras Patol Med Lab, 2015; v. 51, n. 5, p. 310-314
31. FIGUEIREDO, Anabela S.; CRUZ, Artur S. – Hepatite vírica e gravidez. Acta Médica Portuguesa 2002; 15: 203-209
32. WANG, Chen et al. – A novel coronavirus outbreak of global health concern. www.thelancet.com, 2020; vol. 395
33. SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test Nasal [Acedido a 10 de janeiro de 2022]. Disponível na internet: <https://diagnostics.roche.com/global/en/products/params/sars-cov-2-rapid-antigen-nasal-test.html>
34. Norma 015/2020 – COVID-19: Diagnóstico Laboratorial [Acedido a 21 de dezembro de 2021]. Disponível na internet: https://www.sip-spp.pt/media/trsjxdxv/covid-19-diagno-stico-laboratorial-04_2020-dgs.pdf
35. JEON, Sang-Min; SHIN, Eun-Ae – Exploring vitamin D metabolism and function in cancer. Experimental & Molecular Medicine, 2018; 50:20
36. Norma 004/2019 – Prevenção e Tratamento da Deficiência de Vitamina D [Acedido a 21 de janeiro de 2022]. Disponível na internet: <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0042019-de-14082019-pdf.aspx>
37. GOELDNER, Isabela et al. – Artrite reumatoide: uma visão atual. J Bras Patol Med Lab, 2011; v. 47, n.5, p. 495-503
38. RODACKI, Melanie et al. – Dosagem do peptídeo C sérico ao acaso em adultos com diagnóstico clínico de *diabetes mellitus* tipo I. Rev Assoc Med Bras 2008; 54(3):238-41
39. ALMEIDA, José R. et al. – Marcadores Tumorais: Revisão de Literatura. Revista Brasileira de Cancerologia, 2007; 53(3): 305-316
40. DUFFY, Michael J. – Tumor markers in clinical practice: a review focusing on common solid cancers. Med Princ Pract., 2012; 22(1): 4-11
41. SZCZERBA, Anna – hCG – related molecules and their measurement. Ginekol Pol, 2016, 87, 65-70.

42. Norma 039/2011 – Prescrição de Exames Laboratoriais para Avaliação e Monitorização da Função Tiroideia [Acedido a 20 de janeiro de 2022]. Disponível na internet: <https://nocs.pt/funcao-tiroideia/>
43. Society for endocrinology – you and your hormones [Acedido a 24 de janeiro de 2022]. Disponível na internet: <https://www.yourhormones.info/hormones/>
44. Norma 024/2011 – Utilização Clínica de antipsicóticos [Acedido a 20 de janeiro de 2022]. Disponível na internet: <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0242011-de-29092011-jpg.aspx>
45. Circular Normativa N°:01/DSMIA – Gravidez e vírus da imunodeficiência humana [Acedido a 25 de janeiro de 2022] Disponível na internet: <https://www.pnvihsida.dgs.pt/informacao-tecnica-e-cientifica/111/normas-de-orientacao-clinica/circular-normativa-01-dsmia-de-04-de-fevereiro-de-2004-pdf.aspx>
46. OLIVEIRA, Raimundo Antônio Gomes – Hemograma – Como fazer e interpretar. LMP Editora, 2007. ISBN: 616.07561
47. HILLMAN, Robert S.; AULT, Kenneth A. – Hematology in Clinical Practice – a guide to diagnosis and management. International Edition: 1995. ISBN 0-07-028953-0
48. Coombs Test [Acedido a 11 de junho de 2021] Disponível na internet: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK547707/>
49. COLLARES, Guilherme B.; VIDIGAL, Pedro G. – Recomendações para o uso da velocidade de hemossedimentação. Rev Med Minas Gerais 2004; 14(1): 46-52
50. STRUTHERS, J. Keith; WESTRAN, Roger P. – Bacteriología clínica. 1ª Ed, Espanha: Elsevier, 2005. ISBN: 978-8445814499