



MAFALDA SOFIA REBELO CORREIA MARQUES DA COSTA

Relatório de estágio

MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

2010/2012



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**ESTÁGIO REALIZADO NO INSTITUTO PORTUGUÊS DE ONCOLOGIA DE
COIMBRA FRANCISCO GENTIL, EPE**

**ORIENTADOR : DR. FREDERICO FERNANDO MARQUES VALIDO, MÉDICO
ESPECIALISTA EM PATOLOGIA CLÍNICA**

**ÁREAS DE HEMATOLOGIA
MICROBIOLOGIA
QUÍMICA CLÍNICA
HORMONOLOGIA
IMUNOLOGIA**

DECORRIDO ENTRE JANEIRO E JUNHO DE 2012

ÍNDICE

RESUMO	v
1 - INTRODUÇÃO	1
2 - CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO	1
3 - ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS	2
3.1 - SECTOR DE HEMATOLOGIA	2
3.2 - SECTOR DA MICROBIOLOGIA	3
3.3 - SECTOR DE QUÍMICA CLÍNICA	4
3.4 - SECTORES DE IMUNOLOGIA E HORMONOLOGIA	4
4 - OS SECTORES DE IMUNOLOGIA E HORMONOLOGIA	5
4.1 - QUALIDADE	6
4.2 - IMUNOENSAIOS EM IMUNOLOGIA E HORMONOLOGIA	7
4.2.1 - RADIOIMUNOENSAIOS (RIA) e ENSAIOS IMUNORRADIOMÉTRICOS (IRMA)	8
4.2.2 - IMUNOENSAIOS ENZIMÁTICOS (EIA)	8
4.2.3 - ENSAIOS IMUNOQUIMIOLUMINESCENTES (CLIA)	8
4.2.4 - ENSAIOS ELECTROQUIMIOLUMINESCENTES (ECLA)	9
4.2.5 - NEFELOMETRIA	9
4.2.6 - IMUNOTURBIDIMETRIA	9
5 - MARCADORES TUMORAIS	10
5.1 - GLICOPROTEÍNAS	11
5.1.1 - ANTIGÉNIO CARCINOEMBRIONÁRIO – CEA	11
5.1.2 - ALFAFETOPROTEÍNA – AFP	12
5.1.3 - GONADOTROFINA CORIÓNICA HUMANA - β -hCG	12
5.1.4 - ANTIGÉNIO ESPECÍFICO DA PRÓSTATA – PSA	13
5.1.5 - ANTIGÉNIO ESPECÍFICO DA PRÓSTATA LIVRE – f PSA	13
5.1.6 - ANTIGÉNIO DO CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS - SCC	13
5.2 - GLICOPROTEÍNAS DO GRUPO DAS MUCINAS	14
5.2.1 - ANTIGÉNIO CARBOHIDRATO 15.3 - CA 15.3	14
5.2.2 - ANTIGÉNIO CARBOHIDRATO 19.9 - CA19.9	14
5.2.3 - ANTIGÉNIO CARBOHIDRATO 125 - CA 125	14
5.2.4 - ANTIGÉNIO CARBOHIDRATO 72.4 – CA72.4	15
5.3 - ENZIMAS	15
5.3.1 - ENOLASE NEURO - ESPECÍFICA – NSE	15
6 - OUTROS MARCADORES TUMORAIS	15
6.1 - CITOQUERATINA - CYFRA 21.1	15
6.2 - CROMOGRANINA A – CGA	16
6.3 - CROMOGRANINA B – CGB	16
6.4 - S100	16
6.5 - PROCALCITONINA – PCT	16
7 - HORMONOLOGIA	17
7.1 - HORMONAS PRODUZIDAS PELAS GLÂNDULAS SUPRA-RENAIS	17
7.1.1 - CORTISOL SÉRICO E URINÁRIO	17
7.1.2 - DEHIDROEPIANDROSTERONA - DHEA e SULFATO DE DEHIDROEPIANDROSTERONA – DHEA-S	18
7.1.3 - Δ - 4-ANDROSTENEDIONA	18
7.1.4 - RENINA e ALDOSTERONA	19
7.2 - MEDULA SUPRA-RENAL – CATECOLAMINAS	19
7.2.1 - ÁCIDO VANILMANDÉLICO	19

7.2.2 - METANEFRIAS e NORMETANEFRIAS PLASMÁTICAS E METANEFRIAS URINÁRIAS.....	20
7.3 - TIRÓIDE.....	20
7.3.1 - TIROGLOBULINA.....	20
7.3.2 - HORMONA ESTIMULADORA DA TIRÓIDE (TSH).....	20
7.3.3 - TRIIODOTIRONINA T3.....	21
7.3.4 - TIROXINA - T4.....	21
7.3.5 - T3 e T4 livres – FT3 e FT4.....	21
7.3.6 - ANTICORPOS ANTIPEROXIDASE – ATA E ANTICORPOS ANTI-TIROGLOBULINA – ATG.....	22
7.3.7 - ANTICORPOS ANTI - RECEPTORES DA TSH - TRAB'S.....	22
7.3.8 - IODO URINÁRIO.....	22
7.3.9 - CALCITONINA – CAL.....	22
7.4 - PARATIRÓIDE.....	23
7.4.1 - HORMONA PARATIRÓIDEIA (PARATORMONA) – IPT.....	23
7.5 - HORMONA ADRENOCORTICOTRÓFICA – ACTH.....	23
7.6 - PROLACTINA – PRL.....	24
7.7 - SOMATOTROFINA – HGH.....	24
7.8 - FACTOR DE CRESCIMENTO SIMILARES À INSULINA I e II – IGF- I E IGF- II.....	25
7.9 - PROTEÍNA DE LIGAÇÃO 3 DO IGF-I (IGF-BP3).....	25
7.10 - HORMONA ESTIMULANTE DO FOLÍCULO – FSH.....	25
7.11 - HORMONA LUTEINIZANTE – LH.....	26
7.12 - GÓNADAS.....	26
7.12.1 - ESTRADIOL – E2.....	26
7.12.2 - PROGESTERONA – PRG.....	27
7.12.3 - 17 – OH –PROGESTERONA.....	27
7.12.4 - TESTOSTERONA TOTAL – TES.....	27
7.12.5 - TESTOSTERONA LIVRE – TEL.....	27
7.12.6 - GLOBULINA DE TRANSPORTE DAS HORMONAS SEXUAIS – SHBG.....	28
7.13 - PÂNCREAS ENDÓCRINO.....	28
7.13.1 - INSULINA.....	28
7.13.2 - PEPTÍDEO C.....	28
8 - OUTROS DOSEAMENTOS.....	29
8.1 - ERITROPOIETINA – EPO.....	29
8.2 - FERRITINA.....	29
9 - ELECTROFORESES E DOSEAMENTO DE PROTEÍNAS.....	29
9.1 - ELECTROFORESE DE PROTEÍNAS NO SORO (PROTEINOGRAMA).....	29
9.2 - ELECTROFORESE DE HEMOGLOBINAS.....	30
9.3 - IMUNOFIXAÇÃO.....	30
9.4 - PESQUISA DA PROTEÍNA DE BENCE JONES.....	30
10 - DOSEAMENTO DE PROTEÍNAS.....	30
10.1 - IMUNOGLOBULINAS.....	30
10.2 - CADEIAS LEVES LIVRES κ E λ	31
10.3 - PROTEÍNAS SÉRICAS DE FASE AGUDA.....	31
10.3.1 - PROTEÍNA C REACTIVA – PCR.....	31
10.3.2 - α I ANTITRIPSINA – AAT.....	31
10.3.3 - β 2 MICROGLOBULINA – BMG.....	31
10.3.4 - TRANSFERRINA - TRF.....	32
10.3.5 - PROTEÍNA DO COMPLEMENTO - C3.....	32
10.3.6 - PROTEÍNA DO COMPLEMENTO - C4.....	32
10.3.7 - HAPTOGLOBINA.....	32

11 - SEROLOGIA INFECCIOSA.....	33
11.1 - TOXOPLASMOSE.....	33
11.2 - RUBÉOLA.....	33
11.3 - VÍRUS DE EPSTEIN - BARR (EBV).....	33
12 - MARCADORES CARDÍACOS.....	34
12.1 - CREATINA- CINASE, FRACÇÃO MB (CK-MB).....	34
12.2 - MIOGLOBINA – MYO.....	34
12.3 - TROPONINA – I.....	34
13 - OUTROS DOSEAMENTOS.....	35
13.1 - TIMIDINA QUINASE – TK.....	35
13.2 - FOSFATASE ALCALINA ÓSSEA – BAP.....	35
13.3 - ÁCIDO FÓLICO.....	35
13.4 - VITAMINA B12.....	35
13.5 - VITAMINA D TOTAL (D3 + D2).....	36
13.6 - IMUNOGLOBULINA E – IGE.....	36
14 - FÁRMACOS.....	36
15 - CONCLUSÃO.....	37
16 - BIBLIOGRAFIA.....	38

ABREVIATURAS

AAT	α 1 antitripsina
ACTH	Hormona adrenocorticotrófica
AFP	Alfa fetoproteína
ALP	Fosfatase alcalina
ALT	Alanina amino-transferase
AST	Aspartato amino-transferase
ATA	Anticorpo Anti-peroxidase
ATG	Anticorpo Anti-tiroglobulina
BIL D	Bilirrubina directa
BIL T	Bilirrubina total
BMG	β 2 Microglobulina
CAL	Calcitonina
Ca 19.9	Antigénio carbohidrato 19.9
Ca 125	Antigénio carbohidrato 125
Ca 15.3	Antigénio carbohidrato 15.3
Ca 72.4	Antigénio carbohidrato 72.4
CEA	Antigénio carcinoembrionário
CGA	Cromogranina A
CGB	Cromogranina B
CK	Creatina cinase
CK-MB	Creatina cinase, fracção MB
Cl ⁻	ião cloreto
CLIA	Ensaio ImunoQuimioluminescentes
COL	Colesterol total
COR	Cortisol
CRH	Hormona libertadora da corticotrofina
C3	Factor 3 do complemento

C4	Factor 4 do complemento
DHEA	Dihidroepiandrosterona
DHEA-S	Sulfato de dihidroepiandrosterona
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ECLA	Ensaio Electroquimioluminescentes
EIA	Imunoensaio Enzimáticos
EPO	Eritropoietina
FPSA	Antigénio específico da próstata livre
FSH	Hormona estimulante do folículo
FT3	Triiodotirina 3 livre
FT4	Tiroxina livre
GH	Hormona de crescimento
GnRH	Hormona libertadora das gonodotrofinas
HbA1C	Hmoglobina glicosilada
HBP	Hiperplasia benigna da próstata
HDL	Lipoproteína de alta densidade
IgA	Imunoglobulina A
IgD	Imunoglobulina D
IgE	Imunoglobulina E
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
INSA	Instituto Nacional Dr. Ricardo Jorge
IGF-BP3	Proteína de ligação 3 do IGF
IGF-1	Factor de crescimento similar da insulina 1
IGF-2	Factor de crescimento similar da insulina 2
IRMA	Ensaio imunorradiométrico
K ⁺	ião potássio

LDH	Lactato desidrogenase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LH	Hormona luteinizante
Na ⁺	ião sódio
NSCLC	Carcinoma de não pequenas células do pulmão
NSE	Enolase neuro específica
PCR	Proteína C reactiva
PCT	Prócalcitonina
PIF	Factor de inibição da prolactina
PRF	Factor de libertação da prolactina
PRG	Progesterona
PRL	Prolactina
PSA	Antigénio específico da próstata
PT	Proteínas totais
PTH	Hormona paratiróide
PTU	Proteínas totais urinárias
RIA	Radioimunoensaio
RIQAS	Randox International Quality Assessment Service
SCC	Antigénio de células escamosas
SCLC	Carcinoma de células pequenas do pulmão
SHBG	Globulina de ligação das hormonas sexuais
SNC	Sistema nervoso central
TG	Tiroglobulina
TRIG	Triglicerídeos
TSH	Hormona estimuladora da tiróide
TRF	Transferrina
T3	Triiodotironina total
T4	Tiroxina total

β -hCG

Gonadotrofina coriónica humana

25 - DTotal

Vitamina D total

RESUMO

O presente relatório representa uma breve descrição do estágio realizado no Serviço de Patologia Clínica do Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil, EPE. Mais do que uma descrição das actividades desenvolvidas, o relatório pretende dar uma visão geral da rotina laboratorial existente neste local, dos parâmetros realizados e metodologias utilizadas, e do controlo de qualidade associado à prática laboratorial nas análises clínicas. É uma área de grande relevo nos exames complementares de diagnóstico e uma ferramenta cada vez mais valorizada no contexto clínico da doença. Deve ter-se em atenção a diversidade associada às análises clínicas, e por isso a dificuldade em descrever pormenorizadamente todas as áreas do laboratório. São destacadas as áreas da Imunologia e Hormonologia, pela sua complexidade neste serviço, sem descurar uma referência às outras áreas, que na sua especificidade também são fundamentais para uma completa avaliação do doente.

ABSTRACT

This report is a brief description of the internship conducted in the Department of Pathology of the Portuguese Institute of Oncology Francisco Gentil de Coimbra, EPE. More than a description of the activities, the report aims to give an overview of existing laboratory routine this location, parameters and methods used and performed quality control associated with laboratory practice in clinical analysis. It is an area of great importance in the diagnostic exams and an increasingly valuable tool in the clinical context of the disease. It should be taken into account the diversity associated with clinical tests, and therefore the difficulty to describe in detail all areas of the laboratory. Are highlighted areas of Immunology and hormonology, due to their complexity in this service, without disregarding a reference to other areas, which in its specificity are also needed for a complete evaluation of the patient.

I - INTRODUÇÃO

Desde há alguns anos que os aspectos clínicos, observados pelo médico no consultório, se tornaram insuficientes para o estabelecimento de um diagnóstico. O aparecimento das análises clínicas foi um passo importante na avaliação do estado patológico, a par com as outras áreas complementares de diagnóstico, como a radiologia. Apesar de ser sempre um método invasivo, a colheita de sangue periférico, tornou-se num acto necessário para a avaliação do estado geral de saúde. Ao longo do tempo têm sido desenvolvidos métodos e equipamentos cada vez mais eficazes na avaliação dos parâmetros analíticos. Métodos que não necessitam de grandes quantidades de amostra, e equipamentos que avaliam múltiplos parâmetros a partir da mesma alíquota. Isto permite diminuir a quantidade de sangue a colher ao doente, aliviando assim o acto invasivo. É hoje possível analisar quase todos os produtos, biológicos ou não. Sangue, urina, fezes, secreções, líquidos orgânicos são disso exemplos, mas também, águas, catéteres, sondas ou outros materiais, que por algum motivo, possam causar um estado patológico. Existem inúmeras áreas nas análises clínicas, desde a Hematologia, a Microbiologia, a Imunologia, a Hormonologia, a Virologia, a Imunohemoterapia, a Genética entre muitas outras. Todas elas se articulam e completam com vista a uma correcta avaliação do estado do paciente. Por tudo isto, as análises clínicas assumem especial papel no diagnóstico, acompanhamento ou prognóstico da doença. Como qualquer serviço prestado, que envolva público, directo ou não, a qualidade deve ser obrigatória. Facilmente se percebe que ela é essencial quando o produto em causa afecta a vida humana, como o caso das análises clínicas. Por este motivo têm vindo a ser estabelecidas metas cada vez mais exigentes nesta área, obrigando os prestadores deste tipo de serviços a uma elevada qualidade do produto final. Programas que assegurem a qualidade, desde a entrada do “cliente” até ao envio do resultado ao clínico, são nos dias de hoje obrigatórios e fundamentais na qualidade dos serviços prestados pelos laboratórios de análises clínicas.

2 - CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO

O estágio foi realizado no Serviço de Patologia Clínica (SPC) do Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil, EPE. Este Serviço trabalha sob a direcção do Dr.

Frederico Fernando Marques Valido, médico especialista em patologia clínica. O Serviço dispõe de diversas áreas comuns tais como o atendimento/secretariado, as salas de colheitas e de triagem, o gabinete da direcção, o gabinete médico, a zona de tratamento de material, arrumos e uma sala polivalente. Para além destas áreas o Serviço de Patologia encontra-se dividido em 5 sectores que dispõem de áreas próprias e equipamentos específicos. São eles os sectores de Química Clínica, Hematologia, Imunologia, Hormonologia e Microbiologia. Os recursos humanos do Serviço contemplam uma variedade de profissionais de saúde com especificidades próprias desde médicos patologistas clínicos, técnicos superiores de saúde (farmacêuticos, bioquímicos e biólogos), técnicos de diagnóstico e terapêutica (técnicos de análises clínicas), pessoal administrativo e auxiliares de acção médica. Os utentes deste Serviço são essencialmente doentes oncológicos em fase de rastreio, tratamento ou *follow up*, em regime de internamento ou ambulatório. As colheitas de sangue em regime de internamento são asseguradas por uma equipa de técnicos de análises clínicas que se deslocam às diferentes enfermarias todos os dias no início da manhã, e sempre que solicitados pelo médico assistente. Todos os outros produtos biológicos, devidamente identificados, provenientes dos doentes internados são transportados ao Serviço por um auxiliar de acção médica. As colheitas de sangue e outros produtos a analisar, de utentes em regime de ambulatório, são realizadas no Serviço, também por técnicos de análises clínicas, segundo um regime de prioridades estabelecido pela direcção do Serviço. Este sistema atribui prioridade aos utentes que chegam em maca ou cadeira de rodas, aos utentes diabéticos e aos utentes com requisições assinaladas pelo médico assistente como urgentes ou prioritárias, por esta ordem. Após o registo no secretariado em que é atribuído um número interno do serviço é realizada a colheita e os produtos são enviados aos diferentes sectores. O Serviço tem em média 300 utentes diários. As áreas do SPC estão fisicamente divididas e compreendem diferentes equipamentos e tecnologias.

3 - ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS

3.1 - SECTOR DE HEMATOLOGIA

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

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

3.2 - SECTOR DA MICROBIOLOGIA

Neste sector são realizados estudos microbiológicos, parasitológicos ou micológicos dos mais variados produtos biológicos (sangue total, expectorações, urina, fezes, líquidos fisiológicos, exsudados, catéteres, fâneros, entre outros). Para além disso realiza também o estudo bioquímico da urina (sumária tipo II). Dispõe dos seguintes aparelhos e sistemas:

- ✓ Variados meios de cultura (como meios de enriquecimento, selectivos ou diferenciais, líquidos ou sólidos), da *BioMérieux*;
- ✓ *Sistema API*[®], da *BioMérieux*. Para a identificação de microrganismos;
- ✓ 1 Equipamento *Vitek*[®] *2 Compact 15*, da *BioMérieux*; Para o estudo da susceptibilidade bacteriana aos diferentes antibióticos;
- ✓ 1 Equipamento *Cobas U 411*, da *Roche*. Para a análise bioquímica da urina e observação do respectivo sedimento (sumária de urina tipo II);
- ✓ 2 Estufas (uma a 37°C outra a 25°C). Para a incubação a diferentes temperaturas das várias culturas;
- ✓ 1 câmara de fluxo laminar;
- ✓ Microscópios para a observação de esfregaços corados com os diferentes tipos de coloração.

3.3 - SECTOR DE QUÍMICA CLÍNICA

Este sector executa uma grande variedade de análises tendo ao seu dispor um leque abrangente e evoluído de equipamentos. Permite, através dos parâmetros que executa, perceber a dinâmica dos sistemas mais importantes do organismo (sistema renal, hepático, digestivo, muscular entre outros). Mostra a interligação entre os sistemas, permitindo a interpretação global dos resultados obtidos. Engloba os seguintes equipamentos:

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

3.4 - SECTORES DE IMUNOLOGIA E HORMONOLOGIA

No SPC, e apesar de distintas, estas áreas encontram-se fisicamente juntas partilhando equipamentos e metodologias. É por isso um sector vasto em que se realiza o estudo e quantificação uma grande diversidade de parâmetros desde os marcadores tumorais, hormonas, proteínas de fase aguda, enzimas cardíacas, drogas terapêuticas, serologia infecciosa, entre muitos outros. Utiliza para tal um sofisticado conjunto de equipamentos que fazem deste sector o mais automatizado do Serviço. Pela sua relevância, e especial importância num instituto oncológico, vai merecer destaque neste relatório. Segue a lista de equipamentos existentes neste sector:

- ✓ I Equipamento *Immulite 2000[®] XPI*, da *Siemens*;
- ✓ I Equipamento *Immulite 2000[®]*, da *Siemens*;
- ✓ I Equipamento *Liaison[®]*, da *DiaSorin*;
- ✓ I Equipamento *Konelab 30[®]*, da *Thermo Electron Corporation*;
- ✓ I Equipamento *Cobas e411 Analyser[®]*, da *Roche[®] Diagnostics*;
- ✓ I Equipamento *Kryptor[®]*, da *Brahms*;
- ✓ I Equipamento *Viva-E*, da *Siemens*;
- ✓ I Equipamento Contador gamma;
- ✓ I Equipamento *Hydrasys[®]*, da *Sebia*;
- ✓ I Equipamento *BNProspect*, da *Siemens*;
- ✓ Vários kits para técnicas manuais como iodo urinário, ácido vanilmandélico, metanefrinas plasmáticas, testosterona livre, 17-OHP, entre outros;
- ✓ I Centrífuga refrigerada;
- ✓ I Ultracentrífuga;
- ✓ I Hotte;
- ✓ I Balança de precisão;
- ✓ I Medidor de pH;
- ✓ I Arca congeladora a – 70°C.

4 - OS SECTORES DE IMUNOLOGIA E HORMONOLOGIA

Como previamente referido, na prática funcionam como um único sector abrangente onde são executados os mais diversos parâmetros analíticos. Têm uma dinâmica própria, diferente do restante laboratório, daí o interesse em destacar estas áreas do SPC. Trabalham com um sistema de registo interno ao sector onde é atribuído um número sequencial a cada requisição que chega, isto é, é feito um novo registo. Esse registo compreende dados do utente, do Serviço e clínico requisitante bem como do número interno atribuído no secretariado principal do SPC. O *software* funciona em rede LIS (bidireccional), em modo *query* com os autoanalísadores permitindo desta forma o eficaz envio dos parâmetros a efectuar para os diferentes equipamentos e no final a recepção e colocação correcta dos resultados na ficha do respectivo doente, onde ficam a aguardar validação biopatológica. Todo este circuito é processado pelo *software* *OMEGA 3000*, da *Roche[®] Diagnostics*.

4.1 - QUALIDADE

É o aspecto mais importante de qualquer serviço prestado assumindo um papel crucial na área da saúde, nomeadamente na área laboratorial. O Serviço de Patologia Clínica do IPO assegura a qualidade dos resultados enviados ao médico assistente através da participação em programas de qualidade internos e externos. Esses programas são abrangentes, exigentes e regulares. Permitem corrigir os mais variados tipos de erros, perceber o bom ou mau funcionamento dos equipamentos e são uma valiosa ajuda na escolha de reagentes, metodologias ou equipamentos, para cada um dos diferentes parâmetros. Abaixo encontram-se os controlos realizados nos sectores de Imunologia e Hormonologia, bem como a periodicidade com que se realizam.

- ✓ *Liquichek™ Specialty Immunoassay Control, da BioRad*: realizado diariamente para IPT, EPO, IGF-I, ATA, ATG, 25-DTotal e CPE;
- ✓ *Lyphocheck™ Tumor Marker Plus Control, da BioRad*: realizado diariamente para TG, CAL, BMG, ACTH, CA125, CA19.9, CYFRA21.1, CA72.4;
- ✓ *Liquichek™ Immunoassay Plus Control, da BioRad*: realizado diariamente para CEA, AF, HCG, FER, PRL, PRG, E2, FSH, LH, DHEA-S, COR, TSH, FT3, FT4, T3, T4, VIT. B12, ÁCIDO FÓLICO, GH, IGE, PSA, FPSA, TES, INS;
- ✓ *Lyphocheck™ Cardiac Marker Plus Control*: realizado semanalmente para CK-MB, MYO e TROP- I;
- ✓ *RIQAS*: realizado mensalmente para os seguintes parâmetros: AFP, BMG, CA125, CA15.3, CA19.9, CMP, CEA, COR, DHEA-S, DIG, FER, ÁCIDO FÓLICO, FSH, GH, HCG, IGE, INS, LH, E2, 17-OH-PRG, PHN, PRG, PRL, FPSA, PSA, PTH, FT3, FT4, T3, T4, TES, TG, TSH, VAL e VIT. B12;
- ✓ INSA (Instituto Nacional Saúde Dr. Ricardo Jorge) – Programa de Avaliação Externa da Qualidade): 3 amostras anuais de Endocrinologia (ALD, COR, DHEA-S, E2, 17-OH-PRG, PRG, T3, T4, TSH, FT3, FT4, TES, Ac. FÓLICO, FER, FSH, GH, IGF-I, INS, LH, PRL, VIT. B12 E REN), 3 amostras anuais de serologia infecciosa (TOXO-G, TOXO-M E AVIDEZ) e 8 amostras anuais integradas no controlo de qualidade externo da Química Clínica;
- ✓ Todos os outros parâmetros têm controlos próprios fornecidos pelas próprias casas comerciais.

4.2 - IMUNOENSAIOS EM IMUNOLOGIA E HORMONOLOGIA

Os Imunoensaios são testes baseados na interacção antigénio-anticorpo, que deve ser a mais específica e sensível possível. A especificidade é obtida pela utilização de anticorpos monoclonais que se ligam a um local específico da molécula a determinar. A sensibilidade é conseguida pela elevada afinidade do anticorpo. Os imunoensaios podem ser utilizados para o doseamento quer de anticorpos, quer de moléculas que funcionam como antigénios (ex: hormonas) ⁽⁷⁾. As técnicas mais usadas passam por técnicas com reagentes que marcam o antigénio ou o anticorpo com uma enzima (EIA), com um radioisótopo (RIA), com um fluorocromo (IF) ou marcadores quimioluminescentes (CLIA). Para além destas técnicas existem ainda as técnicas que utilizam reagentes não marcados como a seroaglutinação, nefelometria, imunoturbidimetria, imunoeletroforese e imunoprecipitação. Os imunoensaios com reagentes marcados podem ser homogéneos ou heterogéneos, sendo que os heterogéneos incluem um passo de remoção do excesso de antigénio ou anticorpo do local de ligação. Para além disso, os ensaios heterogéneos, podem ainda ser competitivos (a) ou não competitivos (b). Os ensaios homogéneos, pela inexistência do passo de lavagem, são mais rápidos e simples de executar.

- ✓ Ensaios competitivos: o antigénio a determinar na amostra compete directamente com um antigénio análogo marcado para o local de ligação aos anticorpos que estão adsorvidos à superfície de uma fase sólida. É então medida a quantidade de antigénio marcado ligado ao anticorpo sendo esta inversamente proporcional à quantidade de antigénio a determinar;
- ✓ Ensaios não competitivos: também chamados de ensaios tipo “sandwich” e utilizam um segundo anticorpo marcado que se liga ao antigénio ligado ao anticorpo da fase sólida. Nestes ensaios o segundo anticorpo só se liga ao antigénio se já estiver formado o complexo anticorpo (em fase sólida) - antigénio. Assim a quantidade de anticorpo marcado é directamente proporcional à concentração do antigénio a determinar.

Nos sectores de Imunologia e Hormonologia são usados diferentes tipos de imunoensaios. É importante perceber o fundamento de cada imunoensaio, tendo sempre em consideração as variações existentes entre as diversas casas comerciais. As variações podem ser relativas ao marcador usado, à enzima usada, às soluções de lavagem etc., mas apesar disso o fundamento é transversal a todos os equipamentos que utilizem o mesmo imunoensaio.

4.2.1- RADIOIMUNOENSAIOS (RIA) e ENSAIOS IMUNORRADIOMÉTRICOS (IRMA)

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

4.2.2 - IMUNOENSAIOS ENZIMÁTICOS (EIA)

São imunoensaios semelhantes aos imunoensaios RIA ou IRMA que apenas se distinguem destes por utilizarem uma enzima para marcar o anticorpo conjugado em vez de um radioisótopo. Esta enzima, por uma acção catalítica, permite um método de quantificação. A quantificação pode ser colorimétrica, fluorimétrica ou quimioluminescente dependendo dos substratos utilizados. São exemplos de enzimas utilizadas a β galactosidase, fosfatase alcalina, urease e catalase. Os EIA podem ser divididos em técnicas competitivas e técnicas não competitivas. As técnicas competitivas utilizam excesso de antigénio marcado com enzima enquanto as técnicas não competitivas podem utilizar métodos de “sandwich”, ou métodos indirectos para a quantificação dos anticorpos- técnicas de ELISA (“*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*”). No método de “sandwich” o anticorpo marcado com a enzima liga-se ao antigénio do complexo anticorpo - antigénio, sendo que o anticorpo deste complexo está numa fase sólida. Nos métodos de ELISA o anticorpo marcado com a enzima liga-se ao anticorpo do complexo antigénio – anticorpo, sendo que é o antigénio que está numa fase sólida.

4.2.3 - ENSAIOS IMUNOQUIMIOLUMINESCENTES (CLIA)

Este método, ocorre à temperatura ambiente e baseia-se na produção de luz como resultado de uma reacção química na ausência de um estímulo luminoso prévio. A energia resultante da reacção química é transferida para uma espécie capaz de passar a um estado electrónico excitado e que ao regressar ao estado fundamental emite luz. Esta luz varia conforme a espécie química usada na reacção. Neste tipo de imunoensaios, o anticorpo conjugado reage com o substrato luminogénico com emissão de luz que é depois detectada num luminómetro. Tal como em outros imunensaios, também aqui, é observada proporcionalidade inversa à concentração do analito nos ensaios competitivos e proporcionalidade directa em ensaios não competitivos.

4.2.4 - ENSAIOS ELECTROQUIMIOLUMINESCENTES (ECLA)

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

4.2.5 - NEFELOMETRIA

Os imunoenaios por nefelometria baseiam-se na imunoprecipitação de complexos imunológicos e na medição da quantidade de luz difractada devido à presença dos complexos formados. São para isso utilizados reagentes não marcados. A determinação nefelométrica de antigénios (proteínas séricas) é conseguida pela adição de quantidades constantes de anticorpos purificados (reagentes). Os complexos antigénio - anticorpo formados são lidos numa cuvete atravessada por um feixe de luz. Uma célula fotoeléctrica regista a medição da quantidade de luz dispersa aquando da passagem da luz pela solução ou suspensão como densidade óptica. A correcta determinação dos antigénios é feita na zona ascendente da curva das precipitinas, onde existe uma relação directa entre a concentração do antigénio e a densidade óptica.

4.2.6 - IMUNOTURBIDIMETRIA

À semelhança da nefelometria, é também uma técnica baseada na imunoprecipitação de complexos antigénio – anticorpo. Mede a luz que consegue atravessar uma solução na presença de complexos imunológicos. Difere da nefelometria porque aqui é detectada a luz não difractada.

5 - MARCADORES TUMORAIS

A área de Imunoquímica (que utiliza métodos imunológicos) assume um crescente relevo nas análises clínicas, sendo essa importância ainda mais perceptível num hospital oncológico. Nesta área laboratorial são doseadas inúmeras partículas com diferentes origens e composição que se designam por marcadores tumorais e que ajudam na detecção e seguimento de várias neoplasias. Uma neoplasia consiste num processo proliferativo de etiologia desconhecida que escapa ao controlo e regulação biológica. O processo é desencadeado por uma alteração no DNA celular que ocorre por diferentes motivos. Podem ser causas directas, como mutações por radiações ou agentes químicos, ou indirectas como consequência da expressão de alguns oncogenes de origem celular.⁽³⁾ O processo, independentemente da causa que o inicia, conduz ao aparecimento de células que reúnem características muito particulares: a) tornam-se “imortais”; b) adquirem a capacidade de se reproduzir de forma autónoma e independente das células vizinhas; c) sobrevivem separadas das outras células do organismo, podendo por isso dar origem a metástases à distância por disseminação linfática ou hemática; d) perdem a sua diferenciação e características originais adquirindo por vezes uma diferenciação anómala como o caso do aparecimento de antigénios novos na sua superfície celular.⁽³⁾ É nesta última característica que se tem apostado para detectar precocemente a presença destas células. Contudo, e apesar de todas as alterações funcionais da célula neoplásica, a sua estrutura mantém-se semelhante à das células normais, o que representa um obstáculo na obtenção de marcadores de especificidade elevada para os diferentes tipos de neoplasias.

De um modo geral são considerados marcadores tumorais todas as substâncias que possam ser, qualitativa e quantitativamente, detectadas e que tenham uma relação causal e de prognóstico com as neoplasias. A maioria são proteínas ou fragmentos de proteínas, incluindo antigénios de superfície celular, proteínas citoplasmáticas, enzimas e hormonas. Estes marcadores podem ser encontrados no próprio tumor (biópsia), no sangue ou em outros produtos biológicos sendo os mais doseados os que atingem a corrente sanguínea e que podem ser quantificados no soro⁽³⁾. Idealmente um marcador tumoral deve ter especificidade, sensibilidade e utilidade clínica.

- ✓ Especificidade para um determinado tipo de tumor. A produção de um marcador pela célula tumoral em causa e mais nenhuma em quantidades mensuráveis nos fluidos biológicos, torna-o altamente específico.

- ✓ Sensibilidade para detectar pequenos volumes tumorais mesmo quando as células neoplásicas se encontram em baixas concentrações. Esta característica torna-se uma mais valia em estadios precoces da doença e no controlo do aparecimento de metástases ou recidivas.
- ✓ Utilidade clínica no diagnóstico precoce da neoplasia e na sua origem, na avaliação da extensão da doença, na monitorização da terapêutica e na detecção de recidivas ou aparecimento de metástases.

Como já referido são inúmeras as moléculas ou substâncias consideradas ou utilizadas como marcadores tumorais. As enzimas e as hormonas constituem alguns dos grupos de marcadores tumorais identificados. As hormonas são um grupo importante, principalmente depois da introdução de métodos específicos de radioimunoensaio que permitiram eliminar reacções cruzadas entre hormonas semelhantes. Outro grupo é o grupo dos antigénios oncofetais, que após a sua descoberta, permitiram o desenvolvimento de técnicas que utilizam anticorpos monoclonais para a determinação de antigénios mais específicos e sensíveis. São disso exemplo antigénios como Ca125, Ca19.9, Ca15.3 sendo muitos destes marcadores de superfície celular, glicoproteínas. Por fim, os marcadores genéticos que têm um enorme potencial diagnóstico e de progressão do tumor⁽³⁾.

Os sectores de Imunologia e Hormonologia do SPC realizam uma vasta gama destes marcadores tumorais. Em parceria com o clínico, os resultados produzidos nesta área desempenham um importante papel na compreensão do comportamento tumoral em cada doente oncológico. É feita uma breve descrição dos parâmetros executados nestes sectores, bem com a sua relevância clínica.

5.1- GLICOPROTEÍNAS

Funcionam como antigénios (possuem os determinantes antigénicos na cadeia polipeptídica), não sendo contudo tumor específicos. Podem derivar de tecidos placentários (β -hCG) ou de tecidos fetais (CEA, AF), ocorrendo em pequenas quantidades nos tecidos adultos.

5.1.1 - ANTIGÉNIO CARCINOEMBRIÓNARIO – CEA

É uma glicoproteína presente na superfície do glicocálix das células que revestem o tracto gastrointestinal durante o primeiro e o segundo trimestre de vida fetal. A sua produção é interrompida antes do nascimento podendo iniciar-se mais tarde no caso de ocorrer desenvolvimento neoplásico. Inicialmente estava associado apenas ao carcinoma do cólon

mas tem vindo a ser correlacionado com inúmeros carcinomas (estômago, pâncreas, pulmão, mama, ovário e mesmo tiróide) o que lhe confere pouca especificidade. Pode também aparecer elevado em colites ulcerosas, doenças hepáticas ou outras patologias não oncológicas.⁽⁶⁾ Apesar disso, é importante quando associado a outros marcadores tumorais podendo auxiliar no diagnóstico, resposta terapêutica e prognóstico dos diferentes tumores. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*.

5.1.2 - ALFAFETOPROTEÍNA – AFP

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

5.1.3 - GONADOTROFINA CORIÓNICA HUMANA - β -hCG

A hCG é uma glicoproteína, sintetizada e libertada pelas células do trofoblasto da placenta. É uma hormona composta por duas cadeias, uma β (exclusiva) e uma α (semelhante à LH, FSH e TSH), ligadas de forma não covalente. É a cadeia β que tem actividade biológica e por isso interesse na sua determinação. Esta hormona encontra-se em quantidades elevadas em pacientes portadores de tumores trofoblásticos e das células germinativas. Ocorre ainda algum aumento em tumores da mama, pulmão, ovário e sistema gastrointestinal. Também em situações não neoplásicas como gravidez, úlceras duodenais, cirroses ou mesmo doença inflamatória do intestino podem surgir valores elevados. De salientar que o doseamento da β -hCG em tumores seminomatosos do testículo é uma ferramenta importante no seguimento e prognóstico, uma vez que nenhum outro marcador tumoral se encontra elevado nestes pacientes.⁽⁶⁾ O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*.

5.1.4 - ANTIGÉNIO ESPECÍFICO DA PRÓSTATA – PSA

É uma glicoproteína monomérica produzida pelas células prostáticas, alveolares e do epitélio ductal. Apresenta actividade proteolítica mas não actividade fosfatase, sendo por isso distinta da PAP (fosfatase ácida prostática). Está presente tanto em tecido prostático normal como anormal. Apesar disso é um marcador específico e exclusivo da próstata, pois não é produzido por mais nenhum tecido⁽⁶⁾. O PSA, em doseamento isolado e por si só, não faz diagnóstico de carcinoma da próstata mas alerta para a necessidade de serem realizados mais exames. É no *follow-up* do doente após tratamento que o PSA se torna uma valiosa ferramenta. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*. É também doseado no *Kryptor*, pelo método “*Trace Technology*”, em amostras de soro, como confirmatório.

5.1.5 - ANTIGÉNIO ESPECÍFICO DA PRÓSTATA LIVRE – f PSA

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

5.1.6 - ANTIGÉNIO DO CARCINOMA DE CÉLULAS ESCAMOSAS - SCC

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

5.2 - GLICOPROTEÍNAS DO GRUPO DAS MUCINAS

5.2.1 - ANTIGÉNIO CARBOHIDRATO 15.3 - CA 15.3

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

5.2.2 - ANTIGÉNIO CARBOHIDRATO 19.9 - CA19.9

O CA 19.9 é uma mucina e pertence ao grupo dos antigénios carbohidratos produzidos pelo tumor. É libertado em células do pâncreas, vias biliares, do epitélio gástrico, cólico, endometrial e salivar. Em pacientes normais, os seus níveis são reduzidos sendo um parâmetro importante no diagnóstico, acompanhamento e controlo terapêutico de tumores do pâncreas, fígado, estômago, cólon e tracto biliar. Com igual utilidade no seguimento de carcinomas mucinosos do ovário. Em menor frequência surge elevado em tumores da mama, pulmão, cabeça e pescoço. ⁽⁶⁾ Algumas situações não oncológicas também registam, por vezes, aumentos de CA19.9 como pancreatites e algumas patologias hepáticas. A sua presença em níveis elevados, após tratamento, pode indicar uma recidiva ou metastização do tumor. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no *Cobas e 411*.

5.2.3 - ANTIGÉNIO CARBOHIDRATO 125 - CA 125

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

eficácia do tratamento e monitorização pós tratamento de pacientes com cancro do ovário seroso e não diferenciado. ⁽⁶⁾ O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no *Cobas e 411*.

5.2.4 - ANTIGÉNIO CARBOHIDRATO 72.4 – CA72.4

É também denominado TAG 72. É um antigénio tipo mucina associado ao tumor. Surge elevado em carcinomas do cólon, estômago e tumores de células não pequenas do pulmão. Actualmente o CA72-4 é um marcador útil na monitorização da eficácia da terapêutica em pacientes com carcinoma gástrico, devido à sua especificidade para este tipo de tumor. É valioso na discriminação entre tumor maligno e doenças benignas gastro-intestinais. ⁽⁶⁾ O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no *Cobas e 411*.

5.3 - ENZIMAS

5.3.1 - ENOLASE NEURO - ESPECÍFICA – NSE

Trata-se de uma das cinco isoenzimas da enolase da via glicolítica que se encontra nas células neuroendócrinas e no tecido neuronal. É um instrumento valioso para o diagnóstico de carcinoma de pequenas células do pulmão, neuroblastomas, feocromocitoma e também em casos de melanoma, carcinoma medular da tiróide e tumores endócrinos do pâncreas. ⁽⁶⁾ Os níveis de NSE correlacionam-se com o estadió da doença, possui interesse prognóstico no carcinoma de pequenas células do pulmão (SCLC) e permite diferenciar este tipo de tumor de outros tipos histológicos de cancro do pulmão. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método “*Trace Technology*”, no *Kryptor*.

6 - OUTROS MARCADORES TUMORAIS

6.1 - CITOQUERATINA - CYFRA 21.1

É um antigénio formado por um fragmento de citoqueratina 19 que pode ser encontrado no soro. As citoqueratinas são elementos antigénicos que permitem distinguir tecidos patológicos. O CYFRA 21.1 tem alta sensibilidade para carcinomas de células escamosas. É expresso nos carcinomas de células não pequenas do pulmão (NSCLC) e em tumores da bexiga⁽⁶⁾. É um factor de prognóstico e evolução da doença em ambos os tipos de tumor

para além de poder fazer diagnóstico diferencial entre NSCLC e carcinoma de células pequenas do pulmão (SCLC). O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no *Cobas e 411*.

6.2 - CROMOGRANINA A – CGA

É uma proteína (gramina) presente nos grânulos cromafins das células neuroendócrinas. Está aumentada em tumores neuroendócrinos como os feocromocitomas, em carcinomas medulares da tiróide, no carcinoma de pequenas células do pulmão, no adenoma hipofisário e carcinoma dos ilhéus pancreáticos⁽⁶⁾. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método “*Trace Technology*”, no *Kryptor*.

6.3 - CROMOGRANINA B – CGB

À semelhança da CGA, é uma proteína (gramina) presente nos grânulos cromafins das células neuroendócrinas. O seu doseamento vem colmatar as limitações da CGA em que células neuroendócrinas não produtoras de cromogranina A eram consideradas negativas. As células negativas para CGA podem ser positivas para CGB e estarem presentes em tumores neuroendócrinos, como feocromocitomas. O seu doseamento é feito em amostras de soro, por técnica manual pelo método *RIA* com *Iodo*¹²⁵.

6.4 - S100

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

6.5 - PROCALCITONINA – PCT

A procalcitonina é uma proteína produzida pelas células C da tiróide. Em condições normais está presente em concentrações muito baixas na circulação, permanecendo no interior das

células como principal precursor da calcitonina. Nas infecções bacterianas limitadas a um órgão, em geral não se observa elevação significativa na concentração de PCT. Nos processos bacterianos graves, com sépsis e infecções bacteriológicas graves, os seus níveis podem estar significativamente aumentados. É por isso um marcador importante na monitorização da evolução e prognóstico da infecção bacteriológica. Apesar da sua importância deve ser sempre interpretado no contexto de todas as determinações laboratoriais e estado clínico do doente. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método “Trace Technology”, no *Kryptor*.

7 - HORMONOLOGIA

O hipotálamo e a hipófise formam uma unidade que controla a função de várias glândulas endócrinas (tiróide, as glândulas supra-renais e as gónodas), bem como uma ampla variedade de actividades fisiológicas. As acções e interacções dos sistemas endócrino e nervoso, pelas quais o sistema nervoso regula o sistema endócrino e a actividade endócrina modela a acção do sistema nervoso central, constituem os principais mecanismos reguladores em praticamente todas as actividades fisiológicas⁽⁵⁾. Existe todo um sistema de retrocontrolo, positivo e negativo, que permite manter uma “harmonia” fisiológica no organismo e que em caso de descontrolo pode conduzir a variadas patologias. De um modo geral o hipotálamo produz uma hormona que vai actuar na hipófise estimulando ou inibindo a produção da respectiva hormona hipofisária. Esta por sua vez actua ao nível das respectivas glândulas endócrinas.

7.1 - HORMONAS PRODUZIDAS PELAS GLÂNDULAS SUPRA-RENAIS

7.1.1 - CORTISOL SÉRICO E URINÁRIO

O cortisol é uma hormona glucocorticóide produzida e secretada pelo córtex da glândula supra-renal e regulado por um mecanismo de *feedback* negativo ao nível do eixo hipotálamo-hipófise-supra-renal. Isto significa que baixas concentrações de cortisol sérico induzem o hipotálamo a libertar a hormona libertadora da corticotrofina (CRH) que por sua vez induz a hipófise a libertar a hormona adrenocorticotrófica (ACTH). A ACTH vai estimular a síntese e secreção de cortisol pela glândula supra-renal. É uma hormona de ritmo circadiano, com um pico matinal, que regula o metabolismo dos carboidratos, lípidos e proteínas. Ajuda na manutenção da pressão sanguínea e inibe reacções alérgicas e inflamatórias.⁽⁵⁾ O doseamento

é usado como diagnóstico em disfunções da glândula supra-renal, da hipófise e do hipotálamo. Existem casos de sobreprodução (Síndrome de Cushing) e casos de subprodução (Doença de Addison) sendo o cortisol um parâmetro útil na monitorização das terapêuticas aplicadas a estes casos. Na urina de 24horas o doseamento de cortisol é usado como screening no Síndrome de Cushing. O doseamento do cortisol sérico é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*. O doseamento do cortisol urinário é feito em amostras de urina de 24horas, após tratamento de extracção com diclorometano, pelo método de electroquimioluminescência, no *Cobas e 411*.

7.1.2 - DEHIDROEPIANDROSTERONA - DHEA e SULFATO DE DEHIDROEPIANDROSTERONA – DHEA-S

A DHEA e o DHEA-SO₄ são hormonas esteróides precursoras da testosterona e do estrogénio. São secretadas pelo córtex renal e em menor quantidade pelas gónodas aparecendo na circulação quantidades maiores de DHEA-S do que DHEA. Isto deve-se ao facto do DHEA-S ter um *turnover* mais lento. Para além disso não circula ligado a globulinas de transporte e não sofre alterações diárias dependentes do ACTH o que faz dele um excelente indicador directo da produção andrógena adrenal⁽⁵⁾. O seu doseamento é importante no estudo de anomalias no crescimento dos pêlos (hirsutismo), na alopecia nas mulheres, na avaliação adrenaica e puberdade precoce. O doseamento do DHEA-S é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*. O doseamento da DHEA é feito em amostras de soro, por técnica manual de RIA com *Iodo*¹²⁵.

7.1.3 - Δ- 4-ANDROSTENEDIONA

É uma hormona esteróide que funciona como o mais importante precursor da testosterona e da estrona, que podem ser depois convertidos em estradiol. É produzida tanto nas glândulas supra-renais como nos ovários, e os seus níveis têm uma variação diurna dependente de ACTH, e cíclica dependente da fase do período menstrual⁽⁵⁾. Valores elevados surgem em condições de virilização associados a hiperplasia adrenal, síndrome do ovário poliquístico e outros em que também existe hirsutismo. O seu doseamento é feito em amostras de soro, por técnica manual de RIA com *Iodo*¹²⁵.

7.1.4 - RENINA e ALDOSTERONA

A renina é uma enzima proteolítica produzida pelas células justa-glomerulares do rim que promove a conversão da angiotensina em angiotensina I. Esta por sua vez, e por acção da enzima de conversão da angiotensina (ECA), é convertida em angiotensina II que estimula directamente a produção de aldosterona pelas glândulas adrenais. Volumes plasmáticos e concentrações de sódio baixas activam este sistema, com respectiva produção de renina e consequentemente libertação de aldosterona. A aldosterona aumenta o volume plasmático e promove a retenção renal do sódio. São de extrema importância no diagnóstico e monitorização da hipertensão secundária a um hiperaldosteronismo primário e monitorização da função das glândulas adrenais. Os níveis destes parâmetros podem ser correlacionados com os níveis de sódio no soro⁽⁵⁾. São efectuados doseamentos em ortostatismo e em decúbito de modo a perceber o comportamento do sistema renina-angiotensina-aldosterona quando se verificam variações na pressão sanguínea. O doseamento da renina é feito em amostras de plasma EDTA, colhidas e mantidas à temperatura ambiente, pelo método de quimioluminescência (CLIA), no *Liaison*. A aldosterona é doseada no soro, por técnica manual, pelo método de IRMA com *Iodo*¹²⁵.

7.2 - MEDULA SUPRA-RENAL – CATECOLAMINAS

Os elementos mais importantes deste grupo são a epinefrina (adrenalina), noraepinefrina (noradrenalina) e a dopamina. Regulam a actividade fisiológica ao nível do sistema nervoso central e periférico ocorrendo a sua produção ao nível das glândulas supra-renais e no interior dos terminais nervosos. Um aumento de adrenalina ou noradrenalina está por norma associado a situações de stress, défice hormonal ao nível da tiróide e arritmias.⁽⁵⁾

7.2.1 - ÁCIDO VANILMANDÉLICO

É um dos produtos do metabolismo das catecolaminas estando a excreção urinária associada a situações como: feocromocitoma, neuroblastoma ou melanoblastoma. O doseamento é feito em urina de 24 horas, por técnica cromatográfica em coluna de troca iónica.

7.2.2 - METANEFRINAS e NORMETANEFRINAS PLASMÁTICAS E METANEFRINAS URINÁRIAS

São produtos do metabolismo das catecolaminas. As metanefrinas da adrenalina e as normetanefrinas da noradrenalina, sendo ambas posteriormente convertidas em ácido vanilmandélico. Um aumento da excreção destes produtos ocorre casos de feocromocitomas, ganglioneuromas e outros tumores neurogênicos, para além de casos de doenças metastizadas, choque hemorrágico e *stress*. O doseamento na urina de 24 horas permite obter uma maior representatividade. As metanefrinas e as normetanefrinas são doseadas em amostras de plasma EDTA refrigerado, por técnica manual, pelo método de *RIA* com *Iodo*¹²⁵. As metanefrinas urinárias são doseadas em urina de 24 horas, por técnica manual, pelo método de *RIA* com *Iodo*¹²⁵.

7.3 - TIRÓIDE

É uma glândula endócrina localizada no pescoço por baixo da cartilagem cricóide, tendo por principal função a produção de hormonas tiroideias nas células foliculares a partir de aminoácidos de tirosina e tendo como base a sua iodinação numa reacção dependente da tiroperoxidase (TPO).⁽⁵⁾

7.3.1 - TIROGLOBULINA

É uma iodoproteína produzida nas células foliculares da tiróide e regulada pela hormona estimuladora da tiróide (TSH). É precursora da tiroxina (T4) e das restantes iodotironinas (T2 e T3)⁽⁵⁾. Qualquer alteração no funcionamento deste tecido ou qualquer doença a ele associada faz aumentar os níveis de tiroglobulina, reduzindo-lhe a especificidade. A sua maior valia é na avaliação pós-cirúrgica de remoção da tiróide ou na pós-ablação por radioisótopos. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulate 2000 XPI* e no *Immulate 2000*.

7.3.2 - HORMONA ESTIMULADORA DA TIRÓIDE (TSH)

É uma hormona pituitária que exerce a sua acção sobre a glândula da tiróide sendo primordial na manutenção dos níveis séricos das hormonas tiroideias. A TSH sofre um

retrocontrolo negativo por parte da T3 e do T4, e pela concentração da hormona hipotalâmica estimuladora da secreção do TSH. Esta hormona apresenta um ciclo circadiano⁽⁵⁾. O doseamento da TSH tem sido utilizado como um teste primário no diagnóstico diferencial do hipotiroidismo e como ajuda na monitorização da terapêutica de substituição. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*.

7.3.3 - TRIIODOTIRONINA T3

É, em parte, sintetizada e secretada pela tiróide mas, na sua maioria, é originada pela deiodinação periférica da T4. Existe praticamente toda ligada a proteínas de transporte (TGB) e por isso inactiva⁽⁵⁾. A fracção metabolicamente activa é o T3 livre mas concentrações elevadas de T3 ligada estão associadas a hipertiroidismo. Sem utilidade diagnóstica no estudo do doente hipotiroideu. Nas disfunções primárias da tiróide ou nas disfunções do eixo hipotálamo - hipófise os valores do T3 também podem surgir alterados. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*.

7.3.4 - TIROXINA - T4

É a principal hormona sintetizada e secretada pela tiróide como resposta à TSH existindo praticamente toda na forma ligada a proteínas de transporte e por isso inactiva⁽⁵⁾. A fracção metabolicamente activa é o T4 livre, estando concentrações elevadas de T4 associadas a hipertiroidismo. Nas disfunções primárias da tiróide ou nas disfunções do eixo hipotálamo - hipófise os valores do T4 também podem surgir alterados. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no *Cobas e 411*.

7.3.5 - T3 e T4 livres – FT3 e FT4

O seu doseamento está relacionado com a secreção e metabolismo do T3 e T4, respectivamente, tornando-se importante quando se verificam alterações na ligação destas iodotironinas às proteínas de transporte. Gravidez e tratamentos com corticoesteróides podem fazer aumentar a razão entre T3/T4 total. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no *Cobas e 411*.

7.3.6 - ANTICORPOS ANTIPEROXIDASE – ATA E ANTICORPOS ANTI-TIROGLOBULINA – ATG

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

7.3.7 - ANTICORPOS ANTI - RECEPTORES DA TSH - TRAB'S

São anticorpos dirigidos contra os receptores da hormona estimuladora da tiróide, evitando que ela se ligue e exerça a sua função. São a causa de hipertiroidismo na Doença de *Graves* (hipertiroidismo autoimune) e por isso estabelecem diagnóstico para a doença. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no *Cobas e 411*.

7.3.8 - IODO URINÁRIO

É o oligoelemento essencial para o funcionamento da tiróide e para a síntese hormonal que nela ocorre. O doseamento do iodo urinário é essencial nos doentes em tratamento com radioisótopo (Iodo¹³¹). O seu doseamento é feito em amostras de urina fresca (de preferência a primeira da manhã), por método quantitativo baseado na reacção de *Sandell-Kolthoff*.

7.3.9 - CALCITONINA – CAL

É uma hormona polipeptídica produzida pelas células C parafoliculares da tiróide. A sua secreção é estimulada pelo aumento do cálcio e a sua função fisiológica é antagonista da acção da hormona paratiróideia. A calcitonina inibe a destruição óssea sendo uma hormona “conservadora do cálcio”. Está presente em níveis elevados em doenças não malignas do pulmão, pancreatite, hiperparatiroidismo, insuficiência renal, doença inflamatória e gravidez⁽⁵⁾.

Como marcador tumoral surge aumentada em leucemias ou doenças mieloproliferativas mas a sua maior utilidade é no seguimento dos pacientes com carcinoma medular da tiróide onde os níveis de calcitonina parecem correlacionar-se com a extensão da doença. Assume especial importância no diagnóstico precoce de carcinoma medular da tiróide familiar funcionando como marcador de *screening* em membros assintomáticos. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*.

7.4 - PARATIRÓIDE

7.4.1 - HORMONA PARATIRÓIDEIA (PARATORMONA) – IPT

É um polipeptídeo produzido em grânulos secretores da glândula paratiroideia cuja função é manter a concentração de cálcio em níveis óptimos. A sua acção quando os níveis de cálcio se encontram baixos, é exercida directamente ao nível do osso e dos rins. No osso mobiliza as reservas, nos rins evita a excreção do cálcio e estimula o metabolismo da vitamina D levando ao aumento indirecto da absorção de cálcio ao nível intestinal⁽⁵⁾. É por tudo isto um importante parâmetro para avaliação do metabolismo do cálcio. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*.

7.5 - HORMONA ADRENOCORTICOTRÓFICA – ACTH

É uma hormona produzida pelas células corticotróficas da região anterior da hipófise (pituitária) que actua no córtex adrenal com vista à produção de esteróides. É controlada pela hormona libertadora da corticotrofina (CRH), uma hormona hipotalâmica, e por retrocontrolo negativo pela hidrocortisona. É útil no diagnóstico diferencial da insuficiência adrenal e hipersecreção de hidrocortisona no Síndrome de *Cushing*. Na insuficiência adrenal, a ACTH está aumentada na Doença de *Addison* e diminuída na insuficiência adrenal secundária à deficiência da pituitária. Na hipersecreção de cortisol está aumentada em situações de produção ectópica ou excesso de produção pela pituitária⁽⁵⁾. Níveis diminuídos de ACTH ocorrem em casos de lesão ou hiperplasia do córtex adrenal. Uma produção hipofisária aumentada origina elevados níveis séricos desta hormona. Os casos de produção ectópica surgem em carcinomas do pulmão, pâncreas, mama, estômago e cólon e em condições benignas como obesidade, stress, depressão, diabetes mellitus e hipertensão. O

seu doseamento é feito em amostras de plasma, colhidas a frio, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*.

7.6 - PROLACTINA – PRL

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

7.7 - SOMATOTROFINA – HGH

A hormona de crescimento humano ou somatotrofina, é um polipeptídeo de origem na pituitária anterior. Exerce uma acção anabólica promovendo a conservação proteica e o transporte de glicose e o armazenamento de glicogénio. Tem um ritmo circadiano com variações significativas após exercício, alimentação ou sono⁽⁵⁾. Por este motivo deve ter-se em atenção a altura da colheita. É uma ferramenta útil no diagnóstico de várias formas de secreção inapropriada. Uma secreção deficiente inclui nanismo e crescimento potencial não obtido, estando a sobreprodução relacionada com acromegália e gigantismo. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*.

7.8 - FACTOR DE CRESCIMENTO SIMILARES À INSULINA I e II – IGF- I E IGF- II

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

7.9 - PROTEÍNA DE LIGAÇÃO 3 DO IGF-I (IGF-BP3)

Pertence a uma vasta família de proteínas de transporte que se ligam quer ao IGF-I quer ao IGF-II. A sua função é aumentar a semi-vida daqueles compostos e a sua existência depende da GH⁽⁵⁾. Por isto o seu doseamento é importante na avaliação de alterações do crescimento. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*.

7.10 - HORMONA ESTIMULANTE DO FOLÍCULO – FSH

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

doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*.

7.11 - HORMONA LUTEINIZANTE – LH

A hormona luteinizante (LH), é uma glicoproteína sintetizada pelas células da pituitária anterior sob o controlo da hormona estimuladora das gonadotropinas (GnRH), produzida pelo hipotálamo. Trata-se de uma hormona de ritmo circadiano que na mulher induz a ovulação e a libertação de hormonas esteróides (progesterona e estrogénios) e nos homens estimula as células de Leydig a produzir androgénios e estrogénios, também hormonas esteróides. Os esteróides controlam os níveis de LH por um “*feedback*” negativo ao nível do hipotálamo. Por este motivo o doseamento da LH é uma peça importante para avaliar o sistema hipotálamo-hipófise-gónadas.⁽²⁾ Permite, por exemplo, distinguir uma deficiência gonadal primária de uma deficiência na estimulação gonadal (níveis ↑ de FSH e LH - deficiência gonadal primária; níveis ↓ de FSH e LH - hipogonadismo por estimulação gonadal deficiente). Em conjunto com a hormona de crescimento pode ajudar a diagnosticar patologias da tiróide. É também usada para controlo de terapêuticas em caso de infertilidade ou em disfunções da pituitária, uma vez que é uma das primeiras hormonas a ser afectada em caso de disfunção. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*.

7.12 - GÓNADAS

7.12.1 - ESTRADIOL – E2

O estradiol (E2, estradiol 17β- estradiol) é uma hormona esteróide, incluída no grupo dos estrogénios, que circula no sangue ligada a proteínas séricas. É sintetizada, a partir do colesterol e controlada pela FSH e LH nos testículos, foliculo do ovário, glândulas supra-renais e placenta. Varia durante o ciclo menstrual e é controlado por um feedback ao nível do hipotálamo que por sua vez regula a libertação de GnRH.⁽²⁾ O seu doseamento é importante em casos de amenorreia nas mulheres e ginecomastia nos homens. Permite a monitorização do desenvolvimento folicular em protocolos de fertilização. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*.

7.12.2 - PROGESTERONA – PRG

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

7.12.3 - 17 – OH – PROGESTERONA

É uma hormona esteróide, precursora do cortisol produzida pelas glândulas adrenais, ovários, testículos e placenta. Tem um ritmo circadiano e está aumentada na fase lútea da mulher⁽²⁾. É uma ferramenta importante em casos de infertilidade e hiperplasia adrenal congénita. O seu doseamento é feito em amostras de soro, por técnica manual, pelo método de RIA com *Iodo*¹²⁵.

7.12.4 - TESTOSTERONA TOTAL – TES

É uma hormona esteróide sintetizada pelas células intersticiais de *Leydig* nos homens e pelos ovários e glândulas adrenais nas mulheres. A sua síntese é controlada pela LH e pela hormona estimuladora das células intersticiais (ICSH) e pode circular na forma livre ou ligada a proteínas (globulina de transporte das hormonas sexuais - SHBG). É responsável pelo desenvolvimento das características sexuais secundárias masculinas⁽²⁾. Níveis elevados na mulher podem significar tumores do ovário ou hiperplasias das glândulas adrenais. Níveis baixos nos homens podem significar situações de hipogonadismo. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*.

7.12.5 - TESTOSTERONA LIVRE – TEL

É a forma livre da hormona esteróide sintetizada pelas células intersticiais de *Leydig* nos homens e pelos ovários e glândulas adrenais nas mulheres. Os seus níveis séricos estão intimamente ligados aos níveis séricos da proteína de transporte SHBG e aos níveis de estrogénios e androgénios circulantes. Um aumento de SHBG leva a uma diminuição dos

níveis de TEL, como ocorre na gravidez. O seu doseamento é feito em amostras de soro, por técnica manual, pelo método de RIA com *Iodo*¹²⁵.

7.12.6 - GLOBULINA DE TRANSPORTE DAS HORMONAS SEXUAIS – SHBG

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

7.13 - PÂNCREAS ENDÓCRINO

7.13.1 - INSULINA

É uma hormona produzida pelas células endócrinas do pâncreas nos ilhéus de *Langerhans*. A sua função é baixar a glicemia provocando a entrada de glicose para as células. Para além disso provoca o consumo de carboidratos, a síntese proteica e o armazenamento de lípidos. A sua actividade está sujeita a um controlo de feedback negativo⁽⁵⁾. A produção deficiente de insulina traduz-se em *Diabetes Mellitus* onde ocorre acumulação de glicose no sangue e urina. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no *Cobas e 411*.

7.13.2 - PEPTÍDEO C

É o fragmento libertado aquando da clivagem da pró- insulina em insulina. Como é libertado em concentrações iguais à insulina é útil na determinação das reservas de insulina endógena. Em casos de insulinoma os níveis de peptídeo C estão elevados e a glicémia baixa⁽⁵⁾. Para além destes casos o seu doseamento também é útil na distinção laboratorial de diabetes tipo I e tipo II. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no *Cobas e 411*.

8 - OUTROS DOSEAMENTOS

8.1 - ERITROPOIETINA – EPO

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

8.2 - FERRITINA

É uma molécula com um núcleo de ferro e um invólucro proteico que serve de reserva para o ferro. Evita o excesso de ferro em circulação e fornece o necessário para a eritropoiese. Encontra-se nas células hepáticas, nas células do retículo endoplasmático, na bÍlis e medula óssea. É útil fundamentalmente no diagnóstico clínico da deficiência ou excesso de ferro mas níveis elevados tem também vindo a ser correlacionados com desordens hepáticas, condições inflamatórias, leucemias, doença de Hodgkin's e outras malignidades. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*.

9 - ELECTROFORESES E DOSEAMENTO DE PROTEÍNAS

A electroforese é uma técnica que separa as partículas coloidais existentes nos fluidos biológicos por acção de um campo eléctrico, que provoca a migração consoante a carga eléctrica e peso molecular das partículas. As diferentes partículas obtidas são distinguidas por diferentes corantes e a sua quantidade é proporcional à área ocupada na tira de suporte. Todas as electroforeses executadas no sector são realizadas no equipamento *Hydrasys* e lidas num sistema integrado de *scanner* e software próprio "*Phoresis Imaging Sistem*".

9.1 - ELECTROFORESE DE PROTEÍNAS NO SORO (PROTEINOGRAMA)

Procedimento utilizado para o diagnóstico de anomalias proteicas. Em condições normais resultam 5 fracções bem individualizadas: albumina, α 1 globulinas (α 1 antitripsina, α 1 glicoproteína, α 1 fetoproteína), α 2 globulinas (haptoglobina, ceruloplasmina, α 2 macroglobulina), β globulinas (transferrina, C3, C4, β 2 microglobulina, hemopexina) e γ globulinas (IgA, IgG, IgM, IgE e IgD). ⁽¹⁾ É útil no despiste e acompanhamento de algumas

doenças hepáticas (cirrose), renais (insuficiência renal crónica ou síndrome nefrótica) e doenças linfoproliferativas (mieloma múltiplo, gamopatias monoclonais de significado indeterminado entre outras).

9.2 - ELECTROFORESE DE HEMOGLOBINAS

Permite determinar anomalias quantitativas e qualitativas da hemoglobina. Separa as hemoglobinas normais (HbA e HbA2) e detecta as principais variantes da hemoglobina como a HbS, HbD ou HbE.

9.3 - IMUNOFIXAÇÃO

Esta técnica é realizada, em soro ou urina, com vista a identificar a imunoglobulina responsável pelo pico monoclonal observado no proteinograma.

9.4 - PESQUISA DA PROTEÍNA DE BENGE JONES

É uma imunoglobulina de cadeia leve que é produzida essencialmente em pacientes com plasmocitomas. Pode também ser usada para seguimento da terapia em casos de mielomas⁽¹⁾. Para o seu doseamento é usada uma técnica de imunofixação em que são aplicados anti-soros anti cadeias leves λ e κ .

10 - DOSEAMENTO DE PROTEÍNAS

10.1 - IMUNOGLOBULINAS

- ✓ IgA: encontra-se em maior quantidade e caracteriza a resposta imunitária secundária. Útil no diagnóstico de doenças autoimunes sarcoidais, doença hepática crónica, doença linfóide, imunodeficiências e mieloma múltiplo.⁽¹⁾
- ✓ IgM: envolvida na resposta imunitária secundária auxilia o diagnóstico de metabolismo proteico anormal e susceptibilidade a processos infecciosos.⁽¹⁾
- ✓ IgA: exerce acção sobre as superfícies mucosas e secreções e é útil no diagnóstico de distúrbio do metabolismo proteico e falta de resistência do organismo a processos infecciosos.⁽¹⁾

O seu doseamento é feito pelo método de imunoturbidimetria no *Konelab 30i*, da *Thermo Scientific*.

10.2 - CADEIAS LEVES LIVRES κ E λ

São parte estrutural das imunoglobulinas e por norma estão ligadas às cadeias pesadas das imunoglobulinas. Contudo podem surgir livres e por vezes em valores elevados devido a uma sobreprodução e secreção pelos plasmócitos. A concentração das cadeias leves livres na urina é baixa uma vez que ocorre reabsorção nos túbulos proximais. Níveis séricos aumentados de cadeias leves livres monoclonais podem indicar proliferação clonal de plasmócitos, amiloidose primária ou doença da deposição de cadeias leves. Um aumento das cadeias leves livres policlonais pode indicar a existência de doenças autoimunes como lúpus eritematoso sistémico. Na urina podem indicar doença renal ou doença linfoproliferativa maligna como mieloma múltiplo⁽¹⁾. O seu doseamento é feito pelo método de nefelometria no *BNProspect, da Siemens*.

10.3 - PROTEÍNAS SÉRICAS DE FASE AGUDA

10.3.1 - PROTEÍNA C REACTIVA – PCR

A sua quantificação é útil na avaliação de processos inflamatórios, enfarte do miocárdio, stress e em casos de proliferação neoplásica⁽²⁾. O seu doseamento é feito em soro, pelo método de imunoturbidimetria no *Konelab 30i, da Thermo Scientific*.

10.3.2 - α I ANTITRIPSINA – AAT

É uma proteína que apresenta actividade anti-protease e cuja função é neutralizar a elastase lisossomal na fagocitose de partículas pelas células polimorfonucleares⁽²⁾. A sua deficiência pode ser devida a deficiência genética ou a situações que cursem com perda proteica severa mas também a doença hepática ou pulmonar.

O seu doseamento é feito em soro, pelo método de imunoturbidimetria no *Konelab 30i, da Thermo Scientific*;

10.3.3 - β 2 MICROGLOBULINA – BMG

É um polipeptido de baixo peso molecular que faz parte dos antígenos leucocitários humanos e presente em todas as células nucleadas. É indicado o uso deste marcador tumoral em linfomas de células B, leucemias linfocíticas e mieloma múltiplo⁽⁴⁾. No mieloma múltiplo relaciona-se directamente com a massa tumoral total e, isoladamente, é o mais importante

factor na monitorização do tratamento e progressão da doença. Os seus níveis séricos são utilizados para verificar a eficácia dos tratamentos. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulite 2000 XPI* e no *Immulite 2000*.

10.3.4 - TRANSFERRINA - TRF

É a principal proteína de transporte do ferro sendo os seus níveis, aparentemente, regulados pela disponibilidade de ferro. A sua concentração correlaciona-se com a capacidade total de fixação do ferro no soro⁽²⁾. É útil no diagnóstico diferencial e monitorização terapêutica da anemia. O seu doseamento é feito em soro, pelo método de imunoturbidimetria no *Konelab 30i*, da *Thermo Scientific*;

10.3.5 - PROTEÍNA DO COMPLEMENTO - C3

Constitui uma das proteínas envolvidas na cascata do complemento. Está aumentado após resposta inflamatória, em reacções de fase aguda e em casos de grave obstrução biliar. Deficiências de C3 estão associadas à predisposição para infecções graves e de repetição por bactérias capsuladas. ⁽¹⁾ O seu doseamento é feito em soro, pelo método de imunoturbidimetria no *Konelab 30i*, da *Thermo Scientific*;

10.3.6 - PROTEÍNA DO COMPLEMENTO - C4

Constitui uma das proteínas envolvidas na cascata do complemento. Está aumentado em casos de obstrução biliar, como o C3. A sua deficiência parece estar associada a doenças autoimunes como o Lúpus Eritematoso Sistémico, polimiosite e glomerulonefrite⁽¹⁾. O seu doseamento é feito em soro, pelo método de imunoturbidimetria no *Konelab 30i*, da *Thermo Scientific*;

10.3.7 - HAPTOGLOBINA

É uma proteína de fase aguda que se liga irreversivelmente à hemoglobina de modo a transportar a hemoglobina livre intravascular para o seu local de degradação, o sistema retículo-endotelial. ⁽²⁾ O seu doseamento é útil no diagnóstico de doenças hemolíticas, associadas à formação de complexos hemoglobina-haptoglobina, e doenças renais. Contudo não indica a causa da hemólise. O seu doseamento é feito em soro, pelo método de imunoturbidimetria no *Konelab 30i*, da *Thermo Scientific*;

II - SEROLOGIA INFECCIOSA

II.1 - TOXOPLASMOSE

É uma zoonose causada pelo *Toxoplasma gondii*, um parasita de vida intracelular obrigatória. É geralmente assintomática ou subclínica, sendo apenas preocupante em grávidas, principalmente no primeiro trimestre, onde pode provocar aborto espontâneo, prematuridade ou morti-neonatal. A infecção origina diferentes níveis de anticorpos IgG e IgM, consoante a data de infecção e a data do doseamento. Para além destes anticorpos é também feito um doseamento da avidéz da ligação dos anticorpos específicos de classe IgG contra o *Toxoplasma gondii*. Este doseamento permite ter uma noção da duração da infecção uma vez que a avidéz aumenta com infecções mais antigas. Uma avidéz elevada em amostras IgM positivas exclui uma infecção recente (com menos de 4 meses). O doseamento dos anticorpos anti-toxoplasmose classe IgG e IgM e da avidéz dos anticorpos de classe IgG é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência (CLIA), no *Liaison*.

II.2 - RUBÉOLA

É uma doença infecciosa provocada por um vírus RNA da família Togavirus. Por norma tem uma evolução benigna sem manifestações clínicas. Pode contudo provocar febres ligeiras, aumento dos gânglios linfáticos do pescoço, vermelhidão dos olhos, dores articulares e musculares e espirros e congestão nasal. É na gravidez que a infecção pode ser perigosa e causar aborto, mal formação congénita ou parto prematuro sendo motivo para interrupção da gravidez. O doseamento dos anticorpos anti-rubéola classe IgG e IgM é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência (CLIA), no *Liaison*.

II.3 - VÍRUS DE EPSTEIN - BARR (EBV)

Este vírus é responsável pela mononucleose infecciosa e pode estar envolvido na génese do *Linfoma de Burkitt*, no carcinoma nasofaríngeo e no síndrome linfoproliferativo ligado ao cromossoma X. Durante a infância, a infecção primária por EBV é em geral assintomática. Na idade adulta, contrai-se por norma, uma mononucleose sintomática. O vírus depois de contraído permanece latente no organismo para toda a vida. Para o diagnóstico serológico são doseados diversos anticorpos contra as diferentes proteínas específicas do vírus. Anticorpos contra: o antígeno do capsídeo do vírus (viral capsid antigen, VCA), o antígeno

precoce (early antigen – EA), o antígeno nuclear do vírus (Epstein Barr nuclear antigen – EBNA). No caso do antígeno da cápsula são doseados os anticorpos da classe IgG e IgM, VCA-IgG e VCA-IgM respectivamente. O doseamento destes anticorpos é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência (CLIA), no *Liaison*.

12 - MARCADORES CARDÍACOS

Existem dois tipos de marcadores cardíacos. Os enzimáticos englobam a creatina-cinase (CK), a lactato desidrogenase (LDH) e a aspartato aminotransferase (ALT). Os não enzimáticos incluem as troponinas, a mioglobina e o BNP. Neste sector são doseados a Creatina-cinase fracção MB (CK-MB), a Mioglobina e a Troponina I. O doseamento destes marcadores é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência (CLIA), no *Liaison*.

12.1 - CREATINA- CINASE, FRACÇÃO MB (CK-MB)

É uma enzima citoplasmática encontrada em tecidos com elevado consumo de energia, como fibras musculares. Esta enzima possui 3 isoenzimas com localizações predominantes diferentes. São elas CK-MM (localizada na sua maioria no músculo estriado), a CK-BB (localizada na sua maioria no cérebro) e a CK-MB (localizada na sua maioria no músculo cardíaco). A especificidade da CK-MB está comprometida uma vez que também está presente na musculatura esquelética. A actividade da CK total e da CK-MB começa a aumentar 4 a 6 horas após a lesão miocárdica, atingindo o pico entre as 12 e as 24 horas após lesão. Os seus valores normalizam após 48 horas.

12.2 - MIOGLOBINA – MYO

É uma proteína localizada no citoplasma das células do miocárdio e da musculatura esquelética o que a torna pouco específica. Aumenta nas 2 a 3 horas a seguir ao enfarte agudo do miocárdio, atinge o pico entre as 6 e as 12 horas e normaliza no fim de 24 a 36 horas.

12.3 - TROPONINA – I

A troponina é o complexo da proteína reguladora contráctil do músculo estriado. É constituído por 3 polipeptídeos distintos: troponina-C, troponina-T e troponina-I. Neste

sector é feito o doseamento da troponina-I que se eleva 4 a 6 horas após a interrupção do fluxo sanguíneo no miocárdio com destruição das fibras musculares. Atinge o pico entre as 12 e as 16 horas e normaliza após \pm 9 dias.

13 - OUTROS DOSEAMENTOS

13.1 - TIMIDINA QUINASE – TK

Está envolvida na síntese da DNA e catalisa a fosforilação da timidina em timidina monofosfato e a sua actividade aumenta muito durante a fase S do ciclo celular. Constitui um marcador fiável da actividade proliferativa das células tumorais em doenças malignas hematológicas e faz diagnóstico diferencial entre mieloma múltiplo e gamopatias monoclonais de significado indeterminado. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência (CLIA), no *Liaison*.

13.2 - FOSFATASE ALCALINA ÓSSEA – BAP

Consiste num marcador sérico para a formação de osso osteoclástico estando os seus valores correlacionados com a taxa de formação de osso osteoclástico no esqueleto. O seu doseamento é útil no diagnóstico e seguimento da terapêutica na doença de Paget e na osteoporose. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência (CLIA), no *Liaison*.

13.3 - ÁCIDO FÓLICO

É uma vitamina hidrossolúvel que actua em conjunto com a vitamina B12 e tem um papel importante na eritropoiese e na produção de timidina. Tem de ser ingerida, mas não diariamente, uma vez que é armazenada no fígado. Os seus níveis são importantes durante a gravidez por serem essenciais à formação do tubo neural. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no *Cobas e 411*.

13.4 - VITAMINA B12

É uma vitamina hidrossolúvel da família das cobalaminas. Não é produzida pelo organismo sendo por isso necessária a sua ingestão e consequente absorção no organismo. A absorção está dependente da existência do factor intrínseco no intestino. A sua deficiência surge

associada a danos hematológicos, neurológicos e por vezes cardiovasculares. Nas grávidas pode provocar mal formação do tubo neural. Está associada a anemias megaloblásticas e a casos de hiperhomocistinémia. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no *Cobas e 411*.

13.5 - VITAMINA D TOTAL (D3 + D2)

A vitamina D é um precursor da hormona esteróide lipossolúvel que é produzida principalmente na pele, por exposição solar. Pode também ser conseguida pela ingestão de alguns alimentos. É biologicamente inerte tendo de passar por duas hidroxilações sucessivas no fígado e nos rins para se transformar na 1,25 dihidroxivitamina D, biologicamente activa. As duas formas mais importantes de vitamina D são a D3 (colecálciterol) e a D2 (ergocalciterol) sendo a D2 resultante da alimentação. É útil no diagnóstico do hiperparatiroidismo e avaliação do metabolismo ósseo. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de electroquimioluminescência, no *Cobas e 411*.

13.6 - IMUNOGLOBULINA E – IGE

É um anticorpo presente em baixas concentrações no soro, sendo encontrado na membrana de superfície dos basófilos e mastócitos de todos os indivíduos. Tem um papel importante na imunidade activa estando muito aumentada nas reacções alérgicas. O seu doseamento é feito em amostras de soro, pelo método de quimioluminescência no *Immulate 2000 XPI* e no *Immulate 2000*

14 - FÁRMACOS

É feito o doseamento de diversos fármacos com vista a monitorizar a terapêutica administrada. São doseados a Vancomicina, a Hidantina, o Ácido Valpróico, a Carbamazepina, o Fenobarbital e a Digoxina. O doseamento é efectuado por um ensaio imunoenzimático homogéneo, no equipamento *Viva-E, da Siemens*;

15 - CONCLUSÃO

O estágio integrado no Mestrado de Análises Clínicas é apreendido de maneira diferente por quem já trabalha na área e por quem nunca teve contacto com a rotina laboratorial. No meu caso, que exerço actividade laboratorial há 8 anos, foi uma mais valia na minha formação profissional. Não tanto pela componente prática mas fundamentalmente pela componente teórica a que a frequência de um estágio e a elaboração de um relatório obrigam. Mesmo trabalhando em análises clínicas diariamente, é normal que o contacto com as diferentes áreas não seja tão abrangente como num estágio. Por norma somos direccionados para uma área em específico, desenvolvendo nela a maioria das nossas actividades. O estágio no Serviço de Patologia Clínica, do Instituto Português de Oncologia de Coimbra, é uma mais valia essencialmente nas duas áreas que desenvolvi pois são áreas que noutros laboratórios, principalmente privados, ainda são pouco acessíveis devido ao investimento financeiro a que obrigam. O SPC é um laboratório com um fluxo de amostras não muito elevado mas que presta um serviço rápido e eficaz aos diferentes clínicos. Os resultados são enviados atempadamente para que possam ser tomadas decisões clínicas com base neles. Para além disso existe uma elevada e importante cooperação entre o laboratório e o clínico. É disso exemplo a comunicação imediata de resultados com alterações importantes e a discussão de novas abordagens laboratoriais no diagnóstico e seguimento terapêutico dos diferentes tipos de carcinomas. O SPC é um exemplo de boas práticas laboratoriais desde o atendimento ao processamento das amostras. O estágio neste serviço, permite o contacto com diversos profissionais de saúde que se articulam num esforço diário para atingir a qualidade do serviço prestado. Uma vez que a qualidade não se prende apenas com os resultados obtidos, é importante este empenho de todos para garantir um serviço de qualidade. Por fim, mas não menos importante, resta salientar a “qualidade humana” existente no serviço. Não tenho dúvidas que o entendimento e colaboração dos profissionais neste serviço é um factor essencial para que o trabalho flua com normalidade, responsabilidade e qualidade. De apontar ainda o facto de o estágio ser um pouco órfão de vigilância e interesse por parte dos responsáveis pelo Mestrado. Contudo, tenho a certeza que com uma revisão do plano de estágio as coisas podem melhorar nesta área.

16 - BIBLIOGRAFIA

- 1) BRADWELL, A. R. (2010). *Serum Free Light Chain Analysis*, 6ª edição: Karra.
- 2) BURTIS, C. A.; ASHWOOD, E. R. and D. E. Bruns. *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry*, 6ª edição. W. B. Saunders Company.
- 3) DEVITA, Vicent T.; HELLMAN, Samuel; ROSENBERG, Steven A.. *Cancer Principles and Practice Oncology*, 7ª edição: Lippincott Williams and Wilkins.
- 4) FATEH-MOGHADAM, A.; STIEBER, P.; *Sensible use of tumour markers*. Ediciones Roche, Basel.
- 5) GREENSPAN S., Francis; GARDNER G., David (2006). *Endocrinologia Básica e Clínica*, 7ª edição: McGrawHill.
- 6) MOLINA, Rafael; FILELLA, Xavier; *Marcadores tumorales, Estado actual y perspectivas de futuro*. Roche Diagnostics.
- 7) ROSA, Fernando; CARDOSO, Elsa M. (Fevereiro 2007). *Fundamentos da Imunologia*: LIDEL