



The false mirror - René Magritte

Joana Catarina De Figueiredo Nobre

RELATÓRIO DE ESTÁGIO

MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS

Faculdade Farmácia

Estágio realizado no Serviço de Patologia Clínica

Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil

Área Química Clínica e Marcadores Tumoriais

Setembro 2011 a Maio 2012

Orientador: Doutor Frederico Fernando Monteiro Marques Valido

Director de Serviço



UNIVERSIDADE DE COIMBRA

ÍNDICE GERAL	Pag.
<i>ABREVIATURAS</i>	V
<i>RESUMO</i>	IX
<i>ABSTRACT</i>	X
1.ENTRE A VIDA E O TUBO DE ENSAIO	1
2.CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO	3
2.1 SECTOR HEMATOLOGIA.....	4
2.2 SECTOR DE MICROBIOLOGIA.....	4
2.3 SECTOR DE QUÍMICA CLÍNICA.....	5
2.4 SECTOR IMUNOLOGIA / HORMONOLOGIA.....	6
2.5 CONTROLO DE QUALIDADE.....	7
3.MARCADORES TUMORAIS	9
3.1 PRINCÍPIOS DA INSTRUMENTAÇÃO.....	10
3.1.1 RIA (<i>RadioImmuno Assay</i>) e IRMA (<i>ImmunoRadioMetric Assay</i>).....	11
3.1.2 CLIA (<i>Chemiluminescent Immuno Assay</i>).....	11
3.1.3 ECLIA (<i>Electrochemiluminescent Immuno Assay</i>).....	11
3.1.4 TRACE (<i>Time Resolved Amplified Cryptate Emission</i>).....	11
3.2 MARCADORES TUMORAIS SÉRICOS	
3.2.1 α -FETOPROTEÍNA.....	12
3.2.2 ANTIGÉNIO CARCINOEMBRIÓNÁRIO.....	13
3.3.3 GONADOTROFINA CORIÓNICA HUMANA.....	13
3.3.4 ANTIGÉNIO CARBOHIDRATO 125.....	14
3.3.5ANTIGÉNIO CARBOHIDRATO 15.3.....	14
3.3.6 ANTIGÉNIO CARBOHIDRATO 19.9.....	15

3.3.7 ANTIGÉNIO CARBOHIDRATO 72.4.....	15
3.3.8 ANTIGÉNIO DO CARCINOMA DAS CÉLULAS ESCAMOSAS.....	16
3.3.9 ANTIGÉNIO ESPECÍFICO DA PRÓSTATA.....	17
3.3.10 TIROGLOBULINA.....	18
3.3.11 CYFRA 21.1.....	18
3.3.12 ANTIGÉNIO POLIPEPTIDICO TECIDULAR.....	19
3.3.13 ENOLASE NEURO ESPECÍFICA.....	19
3.3.14 FOSFATASE ÁCIDA PROSTÁTICA.....	20
3.3.15 TIMIDINA QUINASE.....	21
3.3.16 ?2 MICROGLOBULINA.....	21
3.3.17 PROTEÍNA S100.....	21
3.3.18 CROMOGRANINA A.....	22
3.3.19 OSTEOCALCINA.....	22
3.3.20 GASTRINA.....	23
3.3.21 CALCITONINA.....	23
4. QUÍMICA CLÍNICA	25
4.1 PRINCÍPIOS DA INSTRUMENTAÇÃO	
4.1.1 ESPECTOFOTOMETRIA – COLORIMETRIA.....	25
4.1.2 POTENCIOMETRIA.....	26
4.1.3 AMPEROMETRIA.....	26
4.1.4 REFRACTOMETRIA (QUÍMICA SECA).....	27
4.2.HIDRATOS DE CARBONO	
4.2.1 GLICOSE.....	27
4.2.1.1PROVA DE TOLERÂNCIA À GLICOSE ORAL.....	28
4.2.2 HEMOGLOBINA GLICADA.....	28
4.3 LIPÍDOS E LIPOPROTEÍNAS	
4.3.1 COLESTEROL TOTAL.....	29
4.3.2 TRIGLICERÍDEOS.....	29
4.3.3 COLESTEROL - HDL.....	30

4.3.4 COLESTEROL - LDL.....	30
4.4 PROTEÍNAS	
4.4.1 PROTEÍNAS TOTAIS.....	31
4.4.2 ALBUMINA.....	32
4.4.3 PROTEÍNAS NA URINA E LÍQUIDO CEFALORAQUÍDEO.....	32
4.4.4 MUCOPROTEÍNAS.....	33
4.5 COMPOSTOS AZOTADOS NÃO PROTEÍCOS	
4.5.1 ÁCIDO ÚRICO.....	33
4.5.2 CREATININA.....	33
4.5.2.1 Prova da <i>clearance</i> da creatinina.....	34
4.5.3 UREIA.....	34
4.5.3.1 Azoto ureico / BUN (<i>Blood Urea Nitrogen</i>).....	35
4.5.4 AMÓNIA.....	35
4.6 ELECTRÓLITOS E IÕES INORGÂNICOS / OLIGOELEMENTOS	
4.6.1 SÓDIO.....	35
4.6.2 POTÁSSIO.....	36
4.6.3 CLORETO.....	36
4.6.4 CÁLCIO.....	37
4.6.5 FÓSFORO.....	37
4.6.6 MAGNÉSIO.....	38
4.6.7 COBRE.....	39
4.6.8 FERRO.....	40
4.6.8.1 Capacidade total de fixação do ferro (TIBC).....	41
4.6.8.2 % Saturação da transferrina.....	41
4.7 ENZIMAS	
4.7.1 ASPARTATO AMINOTRANSFERASE.....	42
4.7.2 ALANINA AMINOTRANSFERASE.....	42
4.7.3 GAMA GLUTAMILTRANSFERASE.....	42
4.7.4 FOSFATASE ALCALINA.....	43

4.7.5 LACTATO DESIDROGENASE.....	43
4.7.6 CREATINA CINASE.....	44
4.7.7 AMILASE.....	44
4.7.8 LIPASE.....	45
4.7.9 FOSFATASES ÁCIDAS	
4.7.9.1 Fosfatase ácida total.....	45
4.7.9.2 Fracção prostática.....	46
4.7.8 ENZIMA CONVERSORA DA ANGIOTENSINA.....	46
4.8 DERIVADOS DO CATABOLISMO DA HEMOGLOBINA	
4.8.1 BILIRRUBINAS.....	46
4.9 PH E GASES DO SANGUE	47
4.9.1 OXIGÉNIO.....	48
4.9.2 DIÓXIDO DE CARBONO.....	49
4.9.3 pH.....	50
4.9.4 GASOMETRIA.....	50
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PRESPECTIVAS FUTURAS	53
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	i
7. ANEXOS.....	iii
ANEXO I - Marcadores Tumorais Séricos - Classificação e Metodologias.	
ANEXO II - Marcadores Tumorais Séricos (LPC-IPO) – Valores de Referência.	
ANEXO III - Química Clínica - Parâmetros, Perfis De Avaliação e Metodologias.	
ANEXO IV - Química Clínica (LPC-IPO) - Valores de referência e respectivas unidades.	

*“O Importante não é estar aqui ou ali, mas ser.
E ser é uma ciência delicada,
feita de pequenas grandes observações do cotidiano,
dentro e fora da gente.
Se não executamos essas observações, não chegamos a ser.
Apenas estamos e desaparecemos.”*

Carlos Drumond de Andrade

AGRADECIMENTOS

Ao Doutor Frederico Valido, Director do Serviço de Patologia Clínica do Instituto Português de Oncologia de Coimbra, meu orientador e amigo, expresso aqui o meu reconhecimento, por me ter possibilitado fazer este trabalho, pelo incentivo, por tudo o que me ensinou nestes oito anos de trabalho conjunto.

À Professora Doutora Leonor Martins de Almeida, Professora Catedrática da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, pela disponibilidade durante estes três anos.

À Dra. Angela Sofia Carreiro, Assistente Principal de Laboratório no Serviço de Patologia Clínica do Instituto Português de Oncologia, minha amiga, colega, madrinha, obrigada pela disponibilidade, pelas sugestões, pela ajuda, pela força e por acreditar em mim.

Ao meu filho João, que nasceu no meio deste mestrado, por todo o tempo que não estive presente, pelas primeiras palavras que não ouvi dizer, pelos dias de cansaço que não brinquei.

Aos meus pais por acreditarem em mim, e por terem sido muitas vezes a mãe do João.

Ao Alfredo o meu marido, companheiro nesta jornada que é a vida, por toda a paciência.

Aos meus avós Figueiredo e Maria que perdi no meio deste mestrado, mas que estão sempre presentes na minha educação.

Aos meus sogros e ao meu cunhado Gonçalo, por todo o apoio que me deram.

Aos meus Amigos, em especial à Anabela e à Heloísa, por me darem a mão quando me faltaram as forças.

Aos meus colegas do Serviço de Patologia Clínica do IPO, que de diferentes formas me ajudaram ao longo deste trabalho.

LISTA DE ABREVIATURAS

ACP - Fosfatase Ácida Total

AFP - a – Fetoproteína

ALP - Fosfatase Alcalina

ALT - Alanina Aminotransferase

AnGap - “*Anion Gap*”

AST - Aspartato Aminotransferase

Be(B) - Excesso de base no sangue

Be(ecf) - Excesso de base no fluido extracelular

BUN - *Blood Urea Nitrogen*

β- HCG - Gonadotrofina Coriônica Humana

CA 125 - Antígeno Carbohidrato 125

CA 15.3 - Antígeno Carbohidrato 15.3

CA 19.9 - Antígeno Carbohidrato 19.9

CA 72.4 - Antígeno Carbohidrato 72.4

CEA - Antígeno Carcinoembrionário

CgA - Cromogranina A

CK - Creatina Cinase

CLIA - *Chemiluminescent Immuno Assay*

COHb - Carboxihemoglobina

ctHb - Hemoglobina Total

ctO₂(Hb)] - Conteúdo de hemoglobina em O₂

ECA - Enzima Conversora da Angiotensina

ECLIA - *Electrochemiluminescent Immuno Assay*

FFUC - Faculdade de Farmácia Universidade de Coimbra

FSH - Hormona Foliculo Estimulante

γ GT - Gama Glutamiltransferase

Hct - Hematócrito

HDL - *High Density Lipoproteins*

HHb - Desoxihemoglobina

IPO - Instituto Português de Oncologia

IRMA - *ImmunoRadioMetric Assay*

LCR - Líquido Cefaloraquídeo

LDH - Lactato Desidrogenase

LDL - *Low Density Lipoproteins*

LH - Hormona Luteinizante

LPC - Laboratório de Patologia Clínica

MetHb - Metahemoglobina

NADH - Nicotinamida Adenina Dinucleótido Hidreto

NPP - Fosfatase Ácida Não Prostática

NSE - Enolase Neuro Específica

O₂CAP - Capacidade de oxigénio na hemoglobina

O₂Hb - Oxihemoglobina

O₂SAT - Saturação de O₂

PAP - Fosfatase Ácida Prostática

PSA - Antígeno Específico da Próstata

PTGO - Prova de Tolerância à Glicose Oral

RIA - *RadioImmuno Assay*

SCC - Antígeno do Carcinoma de Células Escamosas

SPC – Serviço de Patologia Clínica

TG - Tiroglobulina

TGO - Transaminase Glutâmico Oxalacética

TGP - Transaminase Glutâmico Pirúvica

TIBC - *Total Iron Binding Capacity*

TK - Timidina Quinase

TPA - Antígeno Polipeptídico Tecidual

TRACE - *Time Resolved Amplified Cryptate Emission*

TSH - Hormona Estimuladora da Tiróide

UIBC - *Unsaturated Iron Binding Capacity*

RESUMO

Encarando o organismo como uma caixa negra de um avião, onde todas as informações do que se passa se encerram, as análises clínicas vão funcionar como um decodificador dos sinais e dos sintomas que essa caixa emite, separam o ruído do sinal e dão significado ao sinal. A interpretação de processos fisiológicos *in vitro*, associados à mais alta tecnologia, ajudam a perceber os processos *in vivo*. Esta é a pedra angular das análises clínicas, entre a vida e o tubo de ensaio. O estudo de uma pequena amostra de sangue, pode inferir sobre o estado de saúde do organismo de onde provêm.

As análises clínicas, tornaram-se fundamentais na rotina hospitalar, no apoio ao diagnóstico e monitorização de doentes/utentes.

O Serviço de Patologia Clínica (SPC) do Instituto Português de Oncologia (IPO) de Coimbra, não foge a esta rotina, dando apoio às mais diversas especialidades, no que toca ao diagnóstico e acompanhamento do doente oncológico. Um laboratório equipado com a melhor tecnologia, divide-se em quatro áreas principais: Hematologia, Química Clínica, Microbiologia e Imunologia

Este trabalho, pretende dar a conhecer um pouco do que se faz em Química Clínica e em Imunologia no campo dos Marcadores Tumorais: as rotinas, a tecnologia e a qualidade com que se trabalha para chegar a um resultado no SPC do IPO Coimbra.

Palavras-Chave: Processos fisiológicos, diagnóstico, tecnologia, química clínica, marcadores tumorais.

ABSTRACT

Facing the body as a black box of an airplane, where all the informations are stored, the clinical analyses will serve as a decoder of signs and symptoms this box emits, separating the signal from noise and giving the signal meaning. The interpretation of physiological processes *in vitro*, associated with high technology will help to understand the processes *in vivo*, between life and the test tube. This is the cornerstone of clinical analyses. The study of small blood samples can infer information about states of the living organism from which it came.

The clinical analyses are fundamental in the hospital routine, supporting the diagnosis and follow up of patients.

The Clinical Pathology of the Instituto Português Oncologia of Coimbra, is no exception to this routine, giving support to medical specialties, to diagnosis and follow up of the oncological patient. A laboratory with the best technology, divided into four main areas, Hematology, Clinical Chemistry, Microbiology and Immunology.

This work intends to show a little of what is done in Clinical Chemistry and Immunology in the field of Tumor Markers. The routines, technology and the quality that works to achieve a result in the SPC of the IPO of Coimbra.

Keywords: Physiological processes, diagnostics, technology, clinical chemistry, tumor markers

1. ENTRE A VIDA E O TUBO DE ENSAIO

“Clinical chemistry is concerned with the analysis of body fluids to yield timely, relevant, accurate and precise information on the clinical status of the human body. From the viewpoint of the clinical chemist, patients are “black boxes”, complex metabolic machines that process molecules to produce energy and to oppose entropy.” [1]

In History of Clinical Chemistry Wöhler & the Birth of Clinical Chemistry

Tempo, esforço e dinheiro são gastos na tentativa de descobrir o que está a acontecer dentro desta caixa. O diagnóstico clínico é essencialmente a interpretação de dados relevantes obtidos a partir da caixa, um processo de separação entre ruído e sinal e dar significado a esse sinal.

Poético...sim, mas verdadeiro. Por todo o mundo, todos os dias, centenas de milhares de amostras de sangue e fluidos corporais são analisados e os dados obtidos são interpretados e utilizados para avaliar o estado de saúde de alguém.

Trata-se de um processo tão rotineiro que raramente paramos para o questionar...ou considerar, que o que estamos a fazer, usando a melhor tecnologia, é um processo que ocorre *in vivo* e que passa a ser entendido através da análise dos seus constituintes *in vitro*. Dados obtidos através da análise de uma amostra de sangue podem ser utilizados para inferir informações sobre o estado do organismo vivo a partir do qual essa amostra provém.

Esta é a pedra angular sobre a qual as análises clínicas assentam. A fenda conceptual, entre processos *in vivo* e *in vitro*, entre a vida e o tubo de ensaio...mas isto durante muito tempo não foi considerado uma ligação. Até 1828 quando Wöhler sintetizou a ureia, na ausência de qualquer força vital ou organismo vivo.

Mas o mundo avança e a tecnologia não pára de nos surpreender todos os dias. As análises clínicas tornaram-se fundamentais à rotina hospitalar em qualquer parte do mundo.

O mesmo se passa no Serviço de Patologia Clínica (SPC), do Instituto Português de Oncologia de Coimbra (IPO), local onde trabalho e exerço as funções de técnica de análises

clínicas, há cerca de oito anos e onde realizei o meu estágio no âmbito do mestrado de Análises Clínicas da Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra (FFUC).

O SPC está integrado num hospital especializado na doença oncológica. Área da medicina que tem tido um crescimento exponencial nos últimos anos, em grande parte devido à quantidade de casos que têm surgido por todo mundo e à taxa de mortalidade associada a esta doença, podendo em breve superar a mortalidade por doenças cardiovasculares.

Neste trabalho, não quero deixar de por breves palavras, abordar o que é trabalhar em oncologia e estar com o doente oncológico. Para além da ciência, da investigação, dos números e estatísticas, o *Cancro* é uma doença incapacitante, que condiciona física e psicologicamente, o doente oncológico e as sua famílias. A título pessoal posso também dizer que condicionou a minha forma de pensar, de agir, de ver a vida...há dias em que é impossível não nos envolver. As coisas vão muitas vezes além do ser profissional de saúde.

O SPC realiza diariamente análises clínicas em várias áreas, de forma a apoiar o clínico no diagnóstico e monitorização dos doentes e utentes do IPO nas diversas especialidades. As áreas são: Hematologia, Química Clínica, Microbiologia, Endocrinologia e Imunologia.

No âmbito deste estágio tive oportunidade de passar pelas diferentes áreas, tomando conhecimento e aprofundando metodologias com as quais não trabalho diariamente.

Quero destacar duas áreas que pretendo aprofundar neste trabalho. A Química Clínica, é a minha disciplina diária, é o sector no qual tenho trabalhado nestes oito anos. O metabolismo, manter tudo num equilíbrio perfeito, tentar também perceber porque é que esse equilíbrio, por vezes, se perde e o que pode ser feito no campo das análises para o ajudar a recuperar. A salientar que este equilíbrio é importantíssimo na monitorização do doente oncológico em tratamento.

A outra área que decidi aprofundar é a área dos Marcadores Tumorais. Os marcadores tumorais neste serviço, estão integrados no sector de Imunologia, uma vez que a sua determinação se baseia em reacções imunológicas antigénio anticorpo. Parece-me ser um assunto interessante e que faria todo o sentido, uma vez que estou no IPO, abordar e dar a conhecer um pouco do que fazemos e como fazemos, a nível de marcadores tumorais.

Este trabalho pretende dar a entender como é o SPC do IPO, as suas rotinas, a sua tecnologia e a qualidade com que se trabalha para chegar a um resultado.

2. CARACTERIZAÇÃO DO LABORATÓRIO

O Instituto Português de Oncologia de Coimbra Francisco Gentil (IPOFG) é uma instituição com 50 anos de história. Os seus primeiros passos foram dados, numa pequena vivenda da rua Bissaya Barreto, em 1953 pela mão do Professor Dr. Luis Raposo, que defendeu a criação de um centro anticancerígeno capaz de dar resposta à população do Centro do país. Esta pequena casa, veio a tornar-se a sede do Centro de Coimbra, que após obras de adaptação, dá início à sua actividade em 1962.

A pequena vivenda hoje já não existe, demolindo velhas estruturas e remodelando outras, modernizando equipamentos e espaços, a instituição não tem parado de crescer, mas sempre fiel ao seu lema – a excelência de cuidar o doente oncológico.

O Serviço de Patologia Clínica está incluído nesta grandiosa estrutura, e durante estes anos tem acompanhado o crescer da instituição, tanto na estrutura física como na vertente tecnológica.

Actualmente o Serviço de Patologia Clínica é dirigido pelo Dr. Frederico Fernando Monteiro Marques Valido, especialista em Patologia Clínica, apoiado por uma equipa com cerca de 33 elementos, formada por médicos, farmacêuticos, bioquímicos, biólogos, técnicos de análises, administrativos e auxiliares.

O SPC tem um fluxo médio diário de 300 utentes.

Possui uma área administrativa, onde é feito a atendimento dos doentes e são registados em sistema informático, todos os pedidos de análises. Cada doente possui na instituição um número de processo e as análises que são pedidas pelo médico, através deste registo, vão ficar associadas ao seu processo clínico. A nível organizacional o SPC possui um sistema informático que gera um número diário sequencial associado ao registo de cada utente. Tem ainda associado a esse número uma letra (A a G) que corresponde ao dia da semana. Depois em cada sector é atribuído um código de barras com este número diário, para processamento das amostras.

Uma outra área é a das colheitas e recepção de amostras. Possui duas salas, onde técnicos de análises clínicas efectuem as colheitas de sangue dos doentes em ambulatório. São também recepcionadas as amostras, provenientes do internamento. Ainda a referir que

as colheitas de sangue feitas a nível de internamento são efectuadas pelos técnicos de análises do SPC.

A área laboratorial engloba quatro sectores: Hematologia, Microbiologia, Química Clínica e Imunologia/ Hormonologia. Cada um destes sectores está equipado com as mais variada tecnologia.

2.1 SECTOR DE HEMATOLOGIA

O sector de Hematologia, está sob a coordenação da Dra. Isabel Joana Diamantino, *Assistente Hospitalar Graduada Especialista em Patologia Clínica*.

São efectuadas vários tipos de análises no campo da Hematologia recorrendo a um leque variado de tecnologias, em diferentes tipos de amostras: sangue total, plasma, aspirado de medula e líquidos orgânicos.

Possui os seguintes equipamentos:

- Hemogramas, contagem diferencial de leucócitos, contagem celular em líquidos orgânicos - *Beckman Coulter® LH750 Analyzer* (2 equipamentos).
- Estudos de hemostase - *ACL TOP^{CTS}₅₀₀ Instrumentation Laboratory*.
- Estudo de imunofenotipagem por citometria de fluxo - *Beckman Coulter® Cytomics™ FC 500; Beckman Coulter® TQ·prep™*;
- Velocidade de Sedimentação Globular [1ª hora] - *Alifax® S.P.A. TEST 1 TH_{BCL}* (2 equipamentos).
- Estudos genéticos por sistema integrado de reacção de PCR em tempo real - *GeneXpert® Instrumentation Laboratory*
- Coloração e observação de esfregaços - *WESCOR Aerospray® 7150 Hematology Slide Stainer-Cytocentrifuge* e microscópio óptico.

2.2 SECTOR DE MICROBIOLOGIA

O sector de microbiologia está sob a responsabilidade da Dr.^a Maria Elvira de Brito Poiães Malta, *Assessora de Laboratório, Especialista em Análises Clínicas*. Neste sector são efectuados estudos bacteriológicos, micológicos, parasitológicos, em diversos tipos de amostras. Pesquisa de sangue oculto nas fezes, pesquisa de bacilos ácido-álcool resistentes, estudo bioquímico da urina (sumária tipo II) com observação de sedimento.

Tipo de amostras analisadas: sangue total, urina, secreções respiratórias, fezes, líquidos orgânicos, exsudados (genitais, auriculares, feridas e outros exsudados purulentos) raspados de pele e fanêros, fragmentos de biópsia, catéteres.

A área de microbiologia é provavelmente, a que está mais dependente do trabalho manual de um técnico especializado. A realização de sementeiras dos diversos produtos, nos meios de cultura adequados é feita manualmente, assim como o isolamento de estirpes, esfregaços, e até algumas identificações e antibiogramas. Mas actualmente o sector de microbiologia já possui automatização, destacando-se os seguintes equipamentos:

- Hemoculturas e detecção de microrganismos - *BD Bactec™9050 Blood Culture System*.
- Identificação de microrganismo API® e estudo de susceptibilidade aos antimicrobianos - *bioMérieux Vitek® Systems ATB™Expression* e *bioMérieux Vitek®2 Compact 15*.
- Sumária urina tipo II com observação de sedimento - *Urisys® 1800 Roche Diagnostics* e *Miditron® St Mannheim boehringer*.
- Incubação das amostras de modo a permitir o crescimento de microrganismos - Estufas reguladas a diferentes temperaturas (25°C, 37°C e 42°C).

O sector de microbiologia está ainda equipado com microscópios, centrífugas e uma câmara de fluxo de ar laminar para manuseamento de produtos.

2.3 SECTOR DE QUÍMICA CLÍNICA

O sector de química clínica está sob a responsabilidade Dr. Luís do Espírito Santo Nina, *Assistente Hospitalar Graduado Especialista em Patologia Clínica*.

Aqui é feito o estudo bioquímico, de diversos tipo de amostras recorrendo a vários equipamentos. Sendo esta uma das áreas que vou aprofundar, faço apenas referência aos equipamentos:

- Autoanalísadores - *Cobas® 6000 Analyser Series HITACHI, Roche® Diagnostics* (2 módulos c501 em cadeia); *Cobas®c311, Roche® Diagnostics* (autoanalísador de apoio).
- Gasómetro – *Ciba Corning 850® Blood Gas Analyser, Siemens®*
- Cálçimetros - *ABL 555 Radiometer® Copenhagen* (2 equipamentos).

- Analisador de química seca por refractometria - Reflotron®Plus Roche Diagnostics (utilizado apenas para confirmação).
- Ionogramas - RapidChem™ 744 Bayer®(utilizado apenas para confirmação).
- Espectrofotómetro - Shimadzu Spectrophotometer UV-120-02 (técnicas manuais).

O sector de Bioquímica está ainda equipado com agitadores, banho de incubação e centrífugas.

2.4 SECTOR DE IMUNOLOGIA / HORMONOLOGIA

Este sector está sob a coordenação do Dr. Nuno Alexandre Ferreira da Cunha, *Assistente de Laboratório, Licenciado em Bioquímica.*

Neste sector, através de imunoensaios é feito o doseamento de marcadores tumorais, hormonas, proteínas de fase aguda, marcadores da função cardíaca, drogas terapêuticas. Está aqui inserida a auto-imunidade com pesquisa de alguns auto-anticorpos. São ainda efectuadas neste sector a electroforese das proteínas séricas e das hemoglobinas e a imunofixação das proteínas séricas e urinárias. É também realizada a electroforese das isoenzimas da Fosfatase Alcalina e da Lactato Desidrogenase.

É de todos os sectores aquele com mais meios tecnológicos e que acaba por dar apoio aos outros sectores, em especial à Química Clínica e Hematologia.

O tipo de amostras processadas: sangue total, soro, plasma e urina.

Possui os seguintes equipamentos:

- Electroforese e imunofixação – Hydrasys Sebia®
- Ensaio por técnicas de quimioluminescência - Immulite 2000® Workcell da DPC™.
- Ensaio por técnicas de imunoturbidimetria e colorimetria/espectrofotometria - Konelab30® Thermo Electron Corporation™
- Ensaio de quimioluminescência luminométrica - Liaison® da DiaSorin™
- Ensaio de electroquimioluminescência - Cobas e411 Analyser® da Roche™
- Imunoensaios de fluorescência por Time-Resolved Amplified Cryptate Emission (TRACE)- Kryptor® da Brahms™
- Imunoensaios por Enzyme-Multiplied Immunoassay Technique (EMIT) – Viva-E Syva Onboard.
- Contador gama para técnicas manuais com radioisótopos- LKB Wallac 1272 CliniGamma.

O sector de imunologia /hormonologia está ainda equipado com centrifugas e uma *hotte*.

2.5 CONTROLO DE QUALIDADE

A qualidade é uma das principais preocupações do Serviço de Patologia Clínica IPO Coimbra. O controlo de qualidade assegura a fiabilidade dos resultados analíticos.

É feito um controlo de qualidade interno e um controlo de qualidade externo.

O controlo de qualidade interno é efectuado diariamente, antes de se iniciar o processamento das amostras dos utentes. Nos sectores da Hematologia, Química Clínica e Imunologia são usados controlos de firmas comerciais que são processados como amostras, verificando se os parâmetros estão dentro dos valores de referência para cada controlo. Os controlos podem ter entre dois a três níveis. Caso haja alguma não conformidade, são aplicadas medidas correctivas, como por exemplo a calibração, até que esteja tudo dentro dos valores do controlo. Em caso de necessidade são feitos controlos dos diferentes parâmetros ao longo do dia.

No sector de Microbiologia, o controlo interno é feito com uma periodicidade mensal e consiste na inoculação de meios com estirpes comerciais conhecidas, e posteriormente é feita a avaliação dos resultados destas sementeiras.

Para além do controlo de qualidade interno o SPC participa em programas externos de controlo da qualidade. Um programa nacional, INSA, do Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge, aplicado às diferentes áreas, e um programa de controlo da qualidade internacional RIQAS da *Randox Laboratoires*, aplicado à Hematologia, Química Clínica e Imunologia. O programa de controlo de qualidade internacional aplicado à Citometria de Fluxo é o *UKNEQAS United Kingdom National External Quality Assessment Service*. A periodicidade do controlo externo varia de área para área.

O programa internacional de controlo da qualidade da Microbiologia é *External Quality Assessment Programmes, Lab Quality SFS Certified Quality System, Finland*, é um controlo qualidade em micologia, com três ensaios anuais.

Estes programas da qualidade permitem fazer comparações com o controlo interno, e receber sugestões de entidades externas e isentas. Sendo uma mais valida na identificação de erros e implementação de medidas correctivas e preventivas, capazes de melhorar o desempenho técnico, dando uma maior fiabilidade aos resultados dos utentes.

3. MARCADORES TUMORAIS

O marcador tumoral, é uma macromolécula, biologicamente estável, indicador da presença de cancro, podendo estar no tumor, no sangue ou em outros fluidos corporais. O seu aparecimento ou alteração de concentração está relacionado com a gênese e o crescimento de tumores.^[3] Pode ser uma molécula produzida pelas células do tecido normal, que num processo de malignização, passam a produzi-la em maior quantidade. Ou então, podem ser moléculas relacionadas com o ciclo tumoral, em que a sua síntese só ocorre com a existência de tumor.^[3]

Os marcadores são na sua maioria proteínas ou fragmentos de proteínas, incluindo antígenos de superfície celular, proteínas plasmáticas, enzimas ou hormonas. Estão englobados em três grandes grupos: marcadores tumorais séricos, marcadores tumorais celulares e marcadores tumorais genéticos.^[3]

Os marcadores tumorais séricos podem ser agrupados segundo diferentes critérios, quanto à sua origem, pelo modo de síntese, função fisiológica ou características físico-químicas, podendo um mesmo marcador estar classificado em mais de um grupo.^[3]

Os marcadores tumorais séricos são aqueles que são determinados no Laboratório de Patologia Clínica do IPO Coimbra, sector de Imunologia/Hormonologia, sendo sobre estes que irei focar o meu trabalho.

A determinação dos marcadores séricos tumorais é um processo pouco invasivo, requerendo apenas uma colheita de sangue por punção venosa e pouco dispendioso, quando comparado com os outros dois tipos de marcadores tumorais. Mas apresenta o inconveniente de originar, por vezes, falsos positivos ou falsos negativos, tendo uma utilidade limitada no diagnóstico.

Tornou-se uma excelente ferramenta na avaliação e progressão da doença, na avaliação da eficácia do tratamento e como indicador de prognóstico. Não posso de deixar de salientar que o marcador sérico tumoral não é indicado para o rastreio populacional devido à sua sensibilidade, especificidade, mas o *sreening* de pacientes sintomáticos ou de grupos de risco, é possível, promovendo um diagnóstico precoce.

A aplicação à prática clínica de um marcador tumoral sérico está dependente assim de dois aspectos: a sensibilidade e a especificidade. Sendo que a sensibilidade é avaliada pela

percentagem de pacientes com um determinado cancro que apresentam valores elevados desse marcador tumoral, a especificidade é definida pela percentagem de pacientes saudáveis ou com uma patologia de carácter benigno que têm o valor de marcador normal.^[3,4]

O marcador ideal deveria reunir as características de elevada especificidade, ser indetectável em doenças benignas e em indivíduos saudáveis, ter elevada sensibilidade, ser detectável num estadio precoce da doença ou recidiva, ser específico para o órgão, correlacionar-se com o estadio ou a massa tumoral, com a resposta terapêutica, e com o prognóstico da doença.^[3,4] Tudo isto por meio de uma análise de sangue ou líquido biológico, económica, rápida e fácil de fazer. Mas o marcador ideal ainda não existe...

3.1 PRINCÍPIOS DA INSTRUMENTAÇÃO

A determinação quantitativa de marcadores tumorais séricos é efectuada por métodos de imuno-doseamento, que se baseiam na utilização de anticorpos específicos dirigidos contra esses marcadores. O facto de se terem vindo a desenvolver anticorpos monoclonais contra antigénios presentes em células tumorais torna estes ensaios altamente específicos e sensíveis, tornando possível a detecção de varios antigénios ou anticorpos, pequenas moléculas ou complexos macromoleculares.

Estes imunoensaios têm três pontos muito fortes que justificam o seu uso: alta sensibilidade, elevada especificidade e simplicidade operacional. Envolvem reacções antigénio anticorpo que podem ser competitivas ou não competitivas (*sandwich*).

As reacções competitivas envolvem anticorpos adsorvidos numa superfície e antigénios, semelhantes aos antigénios que se pretendem pesquisar na amostra do paciente, marcados com um radioisótopo, fluorocromo ou outro agente de detecção. Este antigénio marcado compete com o antigénio da amostra em estudo, pela ligação a um anticorpo específico.^[2] Quanto maior a quantidade de antigénio na amostra menor o sinal obtido.

Nas reacções não competitivas, há ligação dos antigénios do paciente aos anticorpos adsorvidos numa superfície e posteriormente, dá-se a ligação de um segundo anticorpo marcado, que forma um complexo com o antigénio e anticorpo primário.^[2] A quantidade de antigénio presente na amostra do paciente é directamente proporcional ao sinal obtido.

Com base nestes princípios, têm sido criadas técnicas cada vez mais eficazes no doseamento e detecção de marcadores tumorais séricos.

3.1.1 RIA (*RadioImmuno Assay*) e IRMA (*ImmunoRadioMetric Assay*)

O método de RIA baseia-se no imunoensaio competitivo, e o método IRMA têm por princípio um imunoensaio não competitivo. Ambas utilizam, respectivamente, um antigénio ou um anticorpo marcado com um radioisótopo. O radioisótopo mais utilizado nestas determinações é o ^{125}I e a leitura da radioactividade emitida por ele é feita por um contador gama. São os métodos utilizados em técnicas manuais.

3.1.2 CLIA (*Chemiluminescent Immuno Assay*)

O método de quimioluminescência pode seguir o princípio básico do método competitivo ou do ensaio *sandwich*, depende do marcador a dosear. O antigénio ou o anticorpo são marcados com uma enzima, que na presença de um substracto luminogénico, vai promover uma reacção de quimioluminescência, com emissão de luz. A luz é detectada e medida por um fotomultiplicador. O sinal emitido pode ser inversamente ou directamente proporcional á quantidade de marcador tumoral.^[5, 6, 7]

Equipamento: *Immulite 2000*[®] *Workcell da DPC*TM e *Liaison*[®] *da DiaSorin*TM

3.1.3 ECLIA (*Electrochemiluminescent Immuno Assay*)

A electroquimioluminescencia, pode também seguir o princípio básico do ensaio competitivo ou não competitivo, mas a reacção de quimioluminescência é eléctricamente estimulada a produzir luz, pela aplicação de uma corrente eléctrica. Ocorrem reacções de oxidação e de redução, levando à emissão de fótons, que provocam uma emissão quimioluminescente e que tal como no método anterior é medida por um fotomultiplicador.^[8]

Equipamento: *Cobas e411 Analyser*[®] *da Roche*TM

3.1.4 TRACE (*Time Resolved Amplified Cryptate Emission*)

A tecnologia TRACE está presente no sistema de análise, *Kryptor*[®] *da Brahms*TM. Constitui actualmente um sistema de vanguarda automatizado para o doseamento de marcadores tumorais. Baseia-se na transferência de energia não radioactiva, que ocorre entre dois marcadores fluorescentes, um dador e um aceitador, aplicado a uma técnica de *sandwich*. O complexo imunológico formado com o antigénio que se pretende pesquisar vai

promover a aproximação entre o fluorocromo dador e o aceitador, e o aceitador é eficazmente excitado, levando à emissão de um sinal de fluorescência, cuja intensidade, é proporcional à concentração de antígeno na amostra.^[9,10]

Equipamento: *Kryptor*[®] da *Brahms*TM

3.2 MARCADORES TUMORAIS SÉRICOS

3.2.1 α -FETOPROTEÍNA (AFP)

A α -fetoproteína é uma proteína sérica fetal. Assemelha-se à albumina em muitas propriedades físico-químicas, desempenhando funções de transporte e manutenção da pressão oncótica.^[3] AFP é sintetizada pelo saco vitelino e hepatócitos fetais e em menor grau, pelos rins e trato gastrointestinal fetal.^[3,4] É a proteína mais abundante no soro do feto mas a sua concentração decresce rapidamente até perto do nascimento e permanece baixa em crianças e adultos saudáveis.^[4] Atravessa a placenta e pode ser encontrada em altas concentrações no soro das gestantes, atingindo valores 20 a 30 vezes superiores ao normal num adulto.

Aplicação clínica

Níveis elevados de AFP podem ser encontrados em pacientes com hepatocarcinoma, tornando-se o principal marcador sérico para diagnóstico e monitorização deste tipo de tumor.^[3,4]

Concentrações elevadas estão também presentes em tumores germinativos do testículo (seminomas) e ovário, tendo como principal papel a monitorização da terapêutica do carcinoma de testículo, uma vez a sua presença sugere persistência da doença e a sua concentração sérica pode interferir sobre uma estimativa do tempo de crescimento tumoral^[3,4]. Podem ainda haver um aumento moderado da AFP em neoplasias gástricas, sendo indicador de um mau prognóstico.^[3,4]

Aumento não específico

Níveis elevados podem ser encontrados em: hepatites agudas ou crónicas, cirrose, tirosinémia hereditária, gravidez, síndrome Wiscott-Aldrich.^[3,4]

3.2.2 ANTIGÉNIO CARCINOEMBRIÓNARIO(CEA)

O CEA é uma glicoproteína com peso molecular aproximadamente de 200 kDa. É o protótipo do marcador tumoral que tem sido extensivamente estudado desde a sua identificação em 1965, numa metastátese de carcinoma colo-rectal.^[4] É produzido pelas células da mucosa gastrointestinal, mas a sua função fisiológica não está bem esclarecida, podendo estar relacionado com mecanismos de reconhecimento celular ou de adesão, semelhante às imunoglobulinas.^[3]

Aplicação Clínica

A importância clínica da determinação do CEA está relacionada com o carcinoma colo-rectal, apesar de se ter revelado um marcador inespecífico. Podem encontrar-se níveis aumentados em numerosos tumores, como pulmão, mama, pâncreas, tiróide, colo do útero, trato gastrointestinal e teratomas do testículo.^[3, 4]

Os estudos com o CEA revelaram que pode ser utilizado no acompanhamento de doentes durante tratamentos de quimioterapia e na detecção de possíveis recidivas após cirurgias. O aumento dos níveis de CEA pode surgir cerca de 3 a 18 meses antes da detecção clínica. Foi também verificada uma relação entre valores elevados deste marcador tumoral e a presença de metástases. É sistematicamente usado como marcador complementar, em associação com marcadores mais específicos.^[4]

Aumentos inespecífico

Valores aumentados em outras situações: cirrose hepática, insuficiência renal, doença pulmonar obstrutiva crónica, pneumonias, tuberculose, colite ulcerosa, diverticulite, doença de Crohn, pancreatite, quistos do ovário e hipertiroidismo.^[2,3,4]

3.3.3 GONADOTROFINA CORIÓNICA HUMANA (β-HCG)

A gonadotrofina coriónica humana é uma glicoproteína composta por duas subunidades: a α- partilhada por outras hormonas da hipófise, como a hormona luteinizante, hormona folículo estimulante e a hormona estimuladora da tiróide; a subunidade- β que é específica com 24-34 Kd e uma semi-vida de 18 a 36 horas. É sintetizada pelas células trofoblásticas da placenta.^[4]

Aplicação clínica

É um marcador tumoral trofoblástico, do tecido das células germinativas, por esta razão é utilizado no diagnóstico, monitorização e prognóstico de pacientes com tumores das

células germinativas (testículo e ovário). Complementa a AFP, no diagnóstico deste tipo de tumores.^[3]

Aumentos não específicos

Sendo produzida pelas células da placenta torna-se evidente que estará elevada na gravidez, sendo também usada como teste de gravidez, uma vez que o seu valor está aumentado sete dias após a implantação. Poderá estar aumentado também na cirrose e na úlcera duodenal.

3.3.4 ANTIGÉNIO CARBOHIDRATO 125 (CA 125)

O CA125 é formado por uma glicoproteína de alto peso molecular (> 200kDa), sintetizada na membrana de vários carcinomas, principalmente por células tumorais do ovário.^[2,4]

Aplicação clínica

Actualmente a sua principal aplicação é permitir o seguimento da resposta bioquímica ao tratamento e prever uma recidiva em casos de carcinoma do ovário seroso e não diferenciado. A sensibilidade para diagnóstico de carcinoma do ovário é de 80 a 85%, variando de acordo com o estadiamento. A elevação do CA 125 pode ocorrer entre 2 a 12 meses antes da evidência clínica de recidiva. É também utilizado no seguimento clínico de tumores do útero.^[3]

Aumentos não específicos

Pode apresentar aumento em várias situações clínicas: cirrose, quisto do ovário, endometriose, hepatite e pancreatite^[3]

3.3.5 ANTIGÉNIO CARBOHIDRATO 15.3 (CA 15.3)

O CA 15.3 é uma glicoproteína de 300-400Kd produzida pelas células epiteliais glandulares. O valor de referência é de < 35.0 U/ml. E apenas 1,3% da população sábia tem CA 15.3 elevado.^[4]

Aplicações Clínicas

O CA 15.3 é o marcador tumoral, por excelência, para monitorizar pacientes com cancro de mama, sendo mais sensível e específico que o CEA. Um número significativamente maior de doentes apresenta níveis mais elevados de CA 15.3 do que de CEA (96,2% versus 69,8%).^[2] No total, CA 15.3 apresenta uma correlação com a progressão, regressão ou

estabilidade da doença em um número maior de doentes do que o CEA. Na fase inicial da doença este marcador normalmente não está aumentado, tendo por isso pouca utilidades como instrumento de diagnóstico.^[2] Mas para diagnóstico de recidivas é bastante usado, podendo preceder os sinais clínicos até 13 meses.^[4]

Os níveis de CA 15.3 foram observados também em várias neoplasias, tais como: carcinoma do ovário, pulmão, colo do útero, hepatocarcinoma e nos linfomas.

Aumentos não específicos:

Níveis levados de CA 15.3 são também observados em outras patologias: hepatite crónica, cirrose hepática, tuberculose, sarcoidose e lúpus eritematoso sistêmico.^[4]

3.3.6 ANTIGÉNIO CARBOHIDRATO 19.9 (CA19.9)

O CA 19.9 é um antígeno carbohidrato de superfície celular, com um peso molecular que poderá variar entre 200 Kd a 1000 Kd. É também conhecido como antígeno de Lewis.^[2,4]

Aplicação clínica

Este marcador tumoral está indicado no auxílio ao estadiamento e à monitorização do tratamento nos carcinomas do pâncreas e das vias biliares. Em associação com o CEA, é aplicado no carcinoma colo-retal e em tumores com metastização hepática e na vesícula biliar. Possui sensibilidade variável com a localização do tumor. Com menor frequência, poderá também sofrer elevações, no cancro da mama, do pulmão e tumores da cabeça e pescoço. Trata-se de um bom indicador de prognóstico.^[2, 3,4]

Aumentos não específicos:

Doenças como a cirrose hepática, pancreatite, doença inflamatória intestinal e doenças auto-ímmunes podem elevar o CA 19.9, sem ultrapassar 120U/mL.^[4]

3.3.7 ANTIGÉNIO CARBOHIDRATO 72.4 (CA72.4)

CA 72.4 também denominado de TAG-72, é uma glicoproteína de elevado peso molecular considerada como carcinoembrionária. Este marcador tumoral tem elevada especificidade para o cancro, mas sem sensibilidade de órgão. No momento do diagnóstico, cada órgão possui uma percentagem de sensibilidade: 55% para carcinoma do colón, 50% para carcinoma do estômago, 45% para pâncreas e trato biliar e 63% para carcinoma mucinoso do ovário.^[4]

Aplicação clínica

Este marcador é geralmente utilizado em associação com CEA, que lhe confere maior sensibilidade. É um marcador muito específico, permitindo a diferenciação entre tumor maligno e benigno, uma vez que surge em menos de 10% de doenças benignas e em menos de 30% de outras neoplasias que não digestivas ou ovarianas.^[4]

É utilizado no controlo da remissão ou recidiva de carcinomas gastro-intestinais. Cerca de metade dos pacientes com carcinoma gástrico apresentam aumento dos níveis de CA 72.4.

Em conjunto com CA 125 e um marcador complementar do carcinoma mucinoso do ovário.

Aumentos não específicos

Aumentos discretos do CA 72.4 podem ser encontrados em processos inflamatórios e doenças benignas gastro-intestinais.^[4]

3.3.8 ANTIGÉNIO DO CARCINOMA DAS CÉLULAS ESCAMOSAS (SCC)

Trata-se de uma glicoproteína de superfície celular com peso molecular 48000 daltons. É uma subfracção do antigénio tumoral TA-4 purificado a partir de tecido carcinomatoso de células escamosas do cervix uterino.^[3]

Aplicação clínica

Encontra-se fundamentalmente associado ao carcinoma das células escamosas do colo do útero, carcinoma do pulmão (carcinoma que não afecta as pequenas células do pulmão ou seja o "*Non-small cell lung carcinoma*", *NSCLC*) e cancro do esófago, faringe e laringe. Tal como outros marcadores tumorais, a sua determinação tem interesse no estudo da eficácia terapêutica e no diagnóstico precoce de recidivas ou metástases, uma vez que existe uma boa correlação entre os níveis séricos de SCC e o estadio da doença. Valores elevados de SCC antes dos tratamentos podem ser um mau prognóstico.^[3]

Aumentos não específicos

O aumento dos valores de SCC poderão estar associados a doenças ginecológicas benignas, doenças dermatológicas (eczemas, psoríase), insuficiência renal crónica, infecções pulmonares e patologias hepáticas.^[3]

3.3.9 ANTIGÉNIO ESPECÍFICO DA PRÓSTATA (PSA)

É uma glicoproteína secretada pelo lúmen dos ductos prostáticos, estando presente em grandes concentrações no líquido seminal. Aparentemente tem um papel importante na fluidificação do sémen. O PSA na circulação sanguínea está sob duas formas: livre ou ligado a uma proteína. Quando ligado forma complexos estáveis com a α_1 -antiquimotripsina e α_2 -macroglobulina. Quando é feita a determinação do PSA total é o valor das duas formas.^[2,3,4]

Aplicação Clínica

O PSA é o marcador tumoral com maior utilidade clínica, dos mais estudados e desenvolvidos. Devido à sua especificidade e sensibilidade é por excelência o marcador do carcinoma da próstata, é dos poucos com interesse no rastreio de uma população previamente definida. Para que seja feito um pedido de PSA, não é regra o paciente já ter tido carcinoma da próstata ou haver suspeita da sua existência. Actualmente, está implementado o doseamento do PSA nas análises de rotina do homem com mais de 50 anos, demonstrando assim a sua importância no diagnóstico precoce deste tipo de patologia. Os valores de PSA podem estar aumentados meses ou até anos antes da sintomatologia de carcinoma da próstata.

É também importante na monitorização do tratamento e da evolução da doença, e é um bom indicador do estadió tumoral. Após prostatectomia radical o valor de PSA estará muito próximo de zero, o seu doseamento é importante para monitorizar uma possível recidiva.

Relação PSA livre/PSA total

Quando é feito o doseamento do PSA total, são as duas formas em conjunto, mas sempre que se justifique pode ser doseado o PSA livre. A relação (PSA livre/PSA total) x 100, pode diferenciar uma situação benigna de uma situação maligna. Trata-se de uma informação adicional de larga importância para o diagnóstico, ajudando a reduzir o número de biópsias, e sendo bastante esclarecedor em valores *borderline* (intervalo cinzento).

Há algumas variações a nível do valor da relação, mas regra geral, uma relação PSA Livre/PSA Total inferior a 15% direcciona para uma situação maligna, enquanto que numa relação superior a 25%, a probabilidade de carcinoma é diminuta, uma vez que numa situação benigna há maior concentração de PSA livre.

Aumentos não específicos

Os casos de prostatites agudas ou crónicas, hiperplasia benigna da próstata, infecção urinária e o uso de sonda (algália), podem justificar a elevação do PSA.

O PSA é também influenciado pelas rotinas do paciente, isto é, a colheita de sangue para o doseamento de PSA não deve ser feito após ter tido relações sexuais ou o médico ter efectuado o toque rectal. A estimulação da próstata vai elevar o PSA.

3.3.10 TIROGLOBULINA (TG)

A tiroglobulina é uma iodoglicoproteína produzida pelas células foliculares da tiróide, sob regulação da hormona estimuladora da tiróide (TSH). A tiroglobulina é um precursor de várias iodotironinas, sendo a T4 uma delas.^[2,3]

Aplicação clínica

Qualquer doença associada com uma massa ou com o aumento da actividade do tecido tiroideu irá aumentar os níveis séricos da tiroglobulina. Devido ao seu aumento ocorrer praticamente em todas as doenças da tiróide, não tem um valor de discriminação entre doença benigna e maligna. Auxilia como marcador tumoral no carcinoma folicular ou papilar da tiróide. Monitoriza a progressão da doença depois de tiroidectomia total. Após a remoção cirúrgica e terapia com iodo, a tiroglobulina deve ser indetectável. O que significa que níveis vestigiais podem fazer suspeitar de recidiva local ou metástase. Em 10% dos tumores, formam-se auto anticorpos anti-TG que originam valores anormalmente baixos de tiroglobulina.^[3]

Aumentos não específicos

Qualquer doença da glândula da tiróide mesmo benigna vai levar ao aumento da tiroglobulina (tiroidite auto-imune, bócio, doença de Basedow-Graves, síndrome de Goitier), último trimestre de gravidez.^[2,3]

3.3.11 CYFRA 21.1

O Cyfra 21.1 é um antígeno formado por um fragmento da citoqueratina 19 encontrado no soro. Pertence ao grupo das citoqueratinas, que são filamentos utilizados na histopatologia para distinguir tecido fisiológico de tecido patológico. Só os fragmentos destas proteínas são solúveis no soro.^[2,4]

Aplicação clínica

Este marcador tem alta sensibilidade para carcinoma das células escamosas (de acordo com o estadio), é um factor de prognóstico maligno no carcinoma das células escamosas do pulmão. É útil no diagnóstico diferencial entre NSCLC (*Non-small cell lung*

carcinoma”) e SCLC (*Small cell lung carcinoma*) e na monitorização do tratamento e evolução da doença. Encontra-se também elevado no carcinoma da bexiga, colo do útero e carcinomas de cabeça e pescoço. [4]

Aumentos não específicos

Patologias benignas pulmonares, gastrointestinais, ginecológicas, urológicas, hepatopatias e insuficiência renal. [4]

3.3.12 ANTIGÉNIO POLIPEPTIDICO TECIDULAR (TPA)

O TPA é um complexo circulatório de fragmentos polipéptidos das citoqueratinas 8, 18 e 19. Estas três citoqueratinas são características do epitélio interno e estão amplamente distribuídas em tecidos normais e em tumores que deles derivem. A concentração sérica de TPA está correlacionado com a proliferação celular. [3]

Aplicação clínica

O TPA é um marcador para o carcinoma em geral que reflete o crescimento maligno em diferentes órgãos. Os níveis séricos não são apenas um reflexo da massa tumoral mas também da sua actividade, estando elevados na doença metastática disseminada. Tem sido utilizado no carcinoma da bexiga, mama, gastrointestinal, pulmão, ovário e próstata. De grande utilidade em combinação com outros marcadores tumorais. [3]

Aumento não específico

Valores elevados em doenças não malignas como hepatite, cirrose hepática, infecções das vias biliares e infecções respiratórias.

3.3.13 ENOLASE NEURO ESPECÍFICA (NSE)

A NSE foi inicialmente descrita como uma enzima da via glicolítica anaeróbica, que cataliza a transformação do 2 fosfo-D-glicerato a fosfoenolpiruvato. Encontra-se predominantemente nos neurónios e nas células neuroendócrinas. São conhecidas cinco isoenzimas formadas pela combinação de três sub-unidades, α , β e γ . A enolase neuro-específica é a forma dimérica γ - γ e é o marcador citosólico mais conhecido. A sub-unidade α é expressa na maioria dos tecidos e a sub-unidade β apenas no tecido muscular. A sub-unidade γ é expressa principalmente nos neurónios, em células neuroendócrinas normais e neoplásicas. [3,4]

Aplicação Clínica

A determinação sérica da NSE parece ser um instrumento valioso para o diagnóstico do carcinoma do pulmão de pequenas células (SCLC), fornecendo informações sobre o estadio da doença e prognóstico para a progressão. Permite realizar um diagnóstico diferencial entre SCLC e outros tipos de carcinoma do pulmão.

Um outro aspecto da NSE é a sua aplicação como forma de monitorizar os tratamentos de quimioterapia, em que os seus valores séricos tendem a subir ou a baixar de acordo com a resposta à terapia e até antever um recidiva.^[3,4]

Aumentos não específicos

O NSE poderá apresentar valores aumentados no caso de uma pneumonia, choque séptico, traumatismo craniano, insuficiência renal e hemólise.

3.3.14 FOSFATASE ÁCIDA PROSTÁTICA (PAP)

É uma lisozima das células epiteliais cuja síntese ocorre principalmente no epitélio da próstata, sendo um componente habitual da secreções prostáticas. Ela foi inicialmente descoberta na próstata mas mais tarde foi também encontrada numa variedade de outros tecidos. O PAP está presente em quantidades muito pequenas no sangue.^[4]

Aplicações clínicas

Foi o primeiro marcador tumoral a ser utilizado no carcinoma da próstata, mas possui grandes limitações, pois costuma apresentar-se elevado nos estadios mais avançados do cancro, não sendo de grande utilidade para estadios iniciais ou monitorização de tratamentos. Uma outra limitação é o aparecimento deste marcador em outras neoplasias como o mieloma múltiplo, osteossarcoma e metastização óssea.

Após o surgimento do PSA como marcador para o carcinoma da próstata a utilização da PAP caiu em desuso. Quando comparado com o PSA têm baixa sensibilidade no início da doença, mas 90 % de especificidade, uma vez que a PAP raramente positiva em patologias benignas.^[4]

Aumentos não específicos

Apesar de raramente ocorrer, a PAP, poderá ficar elevada em casos de hiperparatiroidismo, doença de Paget, osteoporose e hiperplasia benigna da próstata.^[4]

3.3.15 TIMIDINA QUINASE (TK)

A timidina quinase é uma enzima celular que está envolvida na "salvage pathway" da síntese de DNA^[11]. É activado na fase G1 / S do ciclo celular, tendo vindo a ser demonstrada uma correlação com a actividade proliferativa das células tumorais. Certos vírus têm sido descritos como tendo a capacidade de induzir a produção e actividade da TK.

Aplicação Clínica

A Timidina Kinase não é um marcador tumoral de rotina, mas tem sido demonstrada uma elevação dos seus valores associada a doenças hematológicas malignas. É aplicado ao estudo do linfoma não-Hodgkin, estabelecendo uma correlação com o estadiamento e o prognóstico de sobrevivência. Poderá ainda ter algum valor clínico em tumores sólidos como o cancro da próstata, o cancro da mama, ou o cancro de pequenas células do pulmão.

3.3.16 β 2-MICROGLOBULINA

A β 2-Microglobulina é uma glicoproteína de baixo peso molecular, presente em todas as células nucleadas e em muitas linhas celulares tumorais. Tem sido identificada como a cadeia leve dos antígenos do complexo major de histocompatibilidade.

Julga-se ter um papel importante na resposta imunitária, nomeadamente no controlo da activação de linfócitos T.^[2,4]

Aplicação clínica

O seu aumento no soro tem sido associado a uma variedade de doenças malignas, incluindo o mieloma múltiplo, linfoma das células B, leucemia linfocítica crónica e tumores sólidos. A sua principal aplicação é na monitorização do tratamento e progressão da doença em pacientes com mieloma múltiplo, e é um bom indicador em pacientes com leucemia linfocítica crónica.^[2,4]

Aumentos não específicos

Apresenta um aumento na insuficiência renal e em doenças auto-imunes como o caso do Lúpus Eritomatoso Sistémico e da Artrite Reumatóide.^[2,4]

3.3.17 PROTEÍNA S100

É uma proteína presente nos melanócitos, células da glia, células de Schwann e astrócitos.

Aplicação Clínica

É importante para o diagnóstico de melanoma maligno. Valores aumentados podem indicar progressão da doença. Nestes doentes as determinações em série, podem ser úteis para o seguimento e monitorização da terapêutica. Uma elevação está também presente em carcinomas com metastização hepática.^[3]

Aumentos não específicos

Apresenta valores elevados em situações benignas como hepatopatias, lesões cerebrais (AVC ou traumatismos), patologias do sistema nervoso, gravidez e insuficiência renal.^[3,4]

3.3.18 CROMOGRANINA A (CgA)

A cromogranina A, também denominada de secretogranina I, faz parte de um grupo de proteínas presentes em vários tecidos neuroendócrinos. São exemplo de células produtoras de cromogranina, as células cromafins da medula supra-renal, as células enterocromafins-*like* e as células beta do pâncreas. É um precursor de vários peptídeos funcionais, que controlam negativamente a função neuroendócrina de libertação na própria célula ou entre células vizinhas.^[3,4]

Aplicação clínica

A CgA é o marcador de diferenciação neuroendócrina mais usado na prática clínica dos tumores neuroendócrinos. Encontram-se valores elevados nos feocromocitomas, tumores carcinóides gástricos, carcinoma medular da tiroide, carcinoma do pâncreas e carcinoma pulmonar das pequenas células.^[3,4]

3.3.19 OSTEOCALCINA

A osteocalcina é uma proteína não colagénica, e a mais importante da matriz óssea. É sintetizada pelos osteoblastos e a sua síntese é estimulada pela Vitamina D₃ e está dependente da vitamina K. É considerada um marcador de remodelação óssea.^[2,3,4]

Aplicação Clínica

Monitorização de doentes com metastização óssea.

Aumentos não específicos

Osteoporose, hiperparatiroidismo e na doença de Paget.

3.3.20 GASTRINA

A gastrina é uma das principais hormonas gastro-intestinais. Actua como estimulante da secreção de ácidos gástricos no estômago, e tem um importante papel no crescimento da mucosa gástrica e intestinal. É secretada pelas células G do estomago e no duodeno. [2]

Aplicação Clínica

O doseamento tem importância nos gastrinomas, que são tumores que produzem gastrina em excesso, levando o estômago à secreção de ácidos gástricos, promovendo o aparecimento de úlceras. [2]

Aumentos não específicos

A gastrite e a mucopolidose tipo IV, apresentam valores elevados de gastrina. [2]

3.3.21 CALCITONINA

A calcitonina é um polipéptido, sintetizado pelas células C parafoliculares da tiróide. Em conjunto com a paratormona controla o metabolismo do cálcio e do fósforo no organismo. A sua principal função é inibir a reabsorção óssea mediada pelos osteoblastos. [3,4]

Aplicação Clínica

A sua maior utilidade como marcador tumoral é para o diagnóstico e seguimento de doentes com carcinoma medular da tiróide. É utilizado no diagnóstico precoce em grupos de risco, possuindo sensibilidade de 90% para detecção deste tumor em indivíduos com história familiar de carcinoma medular da tiróide. Os níveis de calcitonina podem ter uma relação com a extensão da doença, nomeadamente volume do tumor e a presença de metástases. Aumentos de calcitonina podem ser observados em vários tumores neuroendócrinos. [3,4]

Aumentos não específicos

Outras patologias não tumorais podem gerar aumentos de calcitonina, são elas a insuficiência renal, doenças pulmonares, pancreatite, hiperparatiróidismo, anemia perniciosa, doença de Paget e gravidez. [3,4]

4. QUÍMICA CLÍNICA

A Química Clínica é uma área multidisciplinar, que têm por objectivo determinar os parâmetros bioquímicos permitindo a sua utilização no diagnóstico, tratamento, monitorização ou prevenção da doença.

O estudo bioquímico permite compreender processos metabólicos, e com as informações obtidas, inferir sobre o estado funcional dos órgãos em particular ou no envolvimento de outros órgãos ou estruturas relacionadas.

Tudo deverá funcionar num equilíbrio perfeito, em cadeia, em que o mau funcionamento de um elemento condiciona o funcionamento de todos os outros, "*efeito dominó*".

A nível de oncologia a análise bioquímica do doente é fundamental para avaliar a evolução da doença e monitorizar o tratamento. Existem determinados parâmetros que até poderão funcionar "como marcadores tumorais".

Os resultados da análise bioquímica do doente, são também determinantes para a administração dos tratamentos de quimioterapia. Antes de cada tratamento é feito um estudo bioquímica para verificar se o organismo está capaz de suportar mais uma sessão de quimioterapia. Os fármacos utilizados têm um elevado grau de toxicidade, desencadeando muitas vezes problemas renais, hepáticos e cardíacos

A química clínica é fundamental também na avaliação pré-operatória, pós-operatório e no seguimento de doentes com cirurgias e tratamentos bem sucedidos.

4.1 PRINCÍPIOS DA INSTRUMENTAÇÃO

4.1.1 ESPECTROFOTOMETRIA – COLORIMETRIA

A técnica de espectrofotometria /colorimetria baseia-se na absorção ou emissão de radiação electromagnética por diversas moléculas, quando os seus electrões se movimentam entre níveis energéticos. A espectrofotometria vai usar as radiações nos comprimentos de onda entre o ultra-violeta e o infravermelho. Através do espectrofotómetro é possível medir a absorção ou emissão e estabelecer uma relação com a concentração de uma determinada biomolécula. Esta relação é feita aplicando a lei de Beer-Lambert. Na equação que expressa esta lei, é estabelecido um quociente entre a luz incidente e a luz transmitida,

sendo que o logaritmo deste quociente traduz a absorvância. O que se verifica pela equação é que a absorvância é proporcional á concentração da substância a analisar. A absorção de luz é tanto maior quanto mais concentrada for a solução por ela atravessada e também quanto maior for a distância percorrida pelo feixe luminoso através das amostras. [2]

Para completar este processo um outro elemento importante é a solução padrão. Trata-se de um produto de natureza biológica ou sintética com uma concentração conhecida e exacta que permite o cálculo do coeficiente de extinção molar para depois ser utilizado no cálculo da concentração da biomolécula na amostra em análise.

A espectrofotometria é amplamente utilizada em química clínica, associada a reacções colorimétricas, enzimáticas e turbidimétricas. E as alterações que estas reacções provocam, vão traduzir a concentração de determinado analito.

Equipamento: *Cobas[®] 6000 Analyser Series HITACHI, Roche[®] Diagnostics(2 módulos c501 em cadeia); Cobas[®] c311, Roche[®] Diagnostics.*

4.1.2 POTENCIOMETRIA

A potenciometria está incluída no grupo das técnicas electroquímicas, que envolvem a medição de corrente ou voltagem gerada pela actividade de iões. A potenciometria é a medição do potencial entre dois eléctrodos numa célula electroquímica. Estes dois eléctrodos estão conectados por uma solução electrolítica que conduz os iões. O eléctrodo consiste num condutor metálico que está em contacto com a solução e os potenciais eléctricos são gerados pela troca de iões entre o condutor metálico e a solução. É necessário para este tipo de doseamento, um eléctrodo de referência onde o potencial gerado por determinado ião é constante e servirá de "comparação" ao potencial gerado no electrodo de trabalho ou selectivo para aquele ião. Aplicando a equação de *Nernst* é assim posteriormente determinada a concentração do ião na amostra em estudo. [2]

Equipamento: *Cobas[®] 6000 Analyser Series HITACHI, Roche[®] Diagnostics (2 módulos c501 em cadeia); Cobas[®] c311, Roche[®] Diagnostics; Ciba Corning 850[®] Blood Gas Analyser, Siemens[®]; ABL 555 Radiometer[®] Copenhagen (2 equipamentos); RapidChem[™] 744 Bayer[®].*

4.1.3 AMPEROMETRIA

É mais uma técnica electroquímica, usada para determinar a quantidade de substâncias específicas em solução, através da aplicação de um potencial fixo entre dois

eléctrodos numa célula electroquímica e em seguida medida a corrente gerada como resultado de uma reacção que produz ou consome electrões (oxidação ou redução, respectivamente).^[2]

Equipamento: Ciba Corning 850[®] Blood Gas Analyser, Siemens[®];

4.1.4 REFRACTOMETRIA (QUÍMICA SECA)

É baseada na refacção da luz. Quando a luz passa de um meio para o outro, o feixe de luz altera a sua direcção na superfície limite, se a velocidade no segundo meio, for diferente da do primeiro. A capacidade de uma substância curvar a luz é chamada refractividade. Mantendo um comprimento de onda de luz incidente constante, assim como a temperatura e a natureza do meio, a refractividade de uma solução é o doseamento indirecto da concentração do soluto. No analisador utilizado no LPC, todos os reagente estão contidos numa tira de reacção onde é colocado sangue total ou soro que vai provocar uma alteração de cor na superfície da tira, convertendo este sinal na concentração do analito. É uma metodologia usada apenas para confirmação de algum valor que suscite dúvidas ou que seja necessário rapidamente, uma vez que se obtém um resultado numa média de 150 segundos.^[2]

Equipamento: Reflotron[®] Plus Roche Diagnostics

4.2.HIDRATOS DE CARBONO

4.2.1 GLICOSE

A glicose é o principal hidrato de carbono presente no sangue periférico. A sua oxidação é a maior fonte de energia celular do organismo, de onde se destacam as células do sistema nervoso como grandes consumidoras.

Os níveis de glicose no sangue (glicémia) estão dependentes do fígado e da sua utilização por parte dos tecidos (processo mediado pela insulina pancreática). A glicose é proveniente da dieta e é convertida em glicogénio, que é posteriormente armazenado no fígado ou então em ácidos gordos, para armazenamento em tecido adiposo.

O doseamento da glicose é indispensável ao diagnóstico e monitorização de doenças causadas por produção anómala de insulina e outras hormonas essenciais ao seu metabolismo. Estes distúrbios na produção de insulina podem conduzir a estados de

hiperglicémia ou de hipoglicémia. A causa mais frequente de hiperglicémia é a Diabetes Mellitus, originada por um défice da secreção ou da acção da insulina. Outros factores secundários contribuem também para a existência de níveis altos de glicose, a pancreatite, disfunção da tiroide, a insuficiência renal e hepatopatias.^[2,17]

A hipoglicémia é observada com menos frequência, mas são várias as patologias que podem originar uma diminuição dos níveis de glicose no sangue: o insulinoma, o hipopituitarismo e a hipoglicémia induzida por insulina.

Para além do sangue periférico a glicose poderá ser determinada na urina (glicosúria), procedimento para o despiste e/ou monitorização da Diabetes Mellitus e para detectar defeitos tubulares renais, e ainda no líquido cefaloraquídeo, no diagnóstico de meningites bacterianas, visto que neste caso, há um elevado consumo destes açúcares, quer por parte dos microorganismos, quer dos leucócitos, o que provoca uma diminuição dos valores da glicose.

4.2.1.1 PROVA DE TOLERÂNCIA À GLICOSE ORAL (PTGO)

É um teste laboratorial que tem como objectivo a identificação da resistência à Insulina. O teste é realizado com várias colheitas de sangue, efectuadas em intervalos de tempo previamente determinados, após a ingestão de uma quantidade conhecida de glicose. O fundamento do teste é fazer a determinação da glicose nestes intervalos e avaliar se foi metabolizada pela insulina. Quando a insulina não age de forma correcta, diz-se que o paciente tem resistência à insulina. É uma prova fundamental para a avaliação do risco de desenvolvimento de Diabetes Mellitus tipo II.

No SPC a PTGO é feita a partir de duas colheitas de sangue. A primeira em jejum e a outra 120 minutos após a ingestão de 75g de glicose.

No caso da gravidez, para despiste da diabetes gestacional é feita uma PTGO com 75g de glicose, às 24 e 28 semanas, com colheita de sangue ao minuto 0, aos 60 minutos e aos 120.

4.2.2 HEMOGLOBINA GLICADA

A determinação da glicose no sangue e na urina, referem alterações agudas e não aspectos de controlo a longo prazo. A técnica mais útil para a avaliação do controlo da diabetes é a determinação das hemoglobinas glicadas – isto é, hemoglobinas com glicose ou porções de glicose fosfato, ligadas no terminal amino da valina de uma ou de ambas as

cadeias β . A glicose vai reagir com a hemoglobina de forma espontânea e não enzimática, formando-se assim a hemoglobina glicada. Esta reação é irreversível.

A hemoglobina normal de um adulto, divide-se em HbA (97%), HbA₂ (2,5%) e HbF (0,5%). Por cromatografia de troca iónica podemos observar um fraccionamento da HbA em HbA_{1a}, HbA_{1b} e HbA_{1c}. Representam cerca de 7% da hemoglobina A total. São produzidas a uma velocidade lenta, directamente dependente da concentração de glicose, durante os 120 dias de vida dos eritrócitos. [2, 12, 17]

A HbA_{1c} sendo a mais abundante, é a fracção doseada, e vai refletir o nível médio de glicose no sangue nos 2 a 3 meses precedentes e funciona como “*Blood Sugar Memory*” do doente, tornando-se assim um parâmetro muito importante na monitorização da eficiência e cumprimento da terapêutica anti-diabetes.

4.3 LIPÍDOS E LIPOPROTEÍNAS

4.3.1 COLESTEROL TOTAL

O colesterol é um esteróide com um grupo *hidroxil* na posição C3. O seu estudo é de interesse, não só como principal componente das membranas celulares e regulador da sua fluidez, mas também como precursor de muitas moléculas sinalizadoras, incluindo hormonas esteróides – progesterona, testosterona, estrogénios e cortisol. É sintetizado em muitos tecidos, mas sobretudo no fígado e na parede intestinal. [2] Cerca de três quartos é formado por síntese e um quarto têm a sua origem na alimentação.

A determinação do colesterol total é utilizado para o despiste do risco aterogénico e no diagnóstico e tratamento de doenças que envolvem níveis elevados de colesterol, bem como de perturbações do metabolismo lipídico e lipoproteico. A hipercolesterolemia é um factor de risco da arterosclerose, existindo uma correlação entre o valor de colesterol e a incidência de doenças cardiovasculares.

4.3.2 TRIGLICERÍDEOS

Os triglicerídeos são ésteres de glicerol tri-hidratado com 3 ácidos gordos de cadeia longa. Uma parte é obtida na dieta diária e outra parte é sintetizada no fígado. [2] Na grande maioria a gordura que é ingerida na alimentação é hidrolisada nos intestinos, absorvida e reconvertida em triglicerídeos na mucosa intestinal. Já a principal fonte dos triglicerídeos

plasmáticos é endógena, através da síntese hepática. A avaliação dos triglicerídeos é utilizada no diagnóstico e tratamento de doentes com Diabetes Mellitus, obstrução hepática, alterações do metabolismo dos lípidos e inúmeras outras doenças endócrinas. Mas no que toca o tratamento e prevenção de doenças cardiovasculares deve ser feito em conjunto com o colesterol e as lipoproteínas.

4.3.3 COLESTEROL - HDL (HIGH DENSITY LIPOPROTEINS)

As lipoproteínas de alta densidade são responsáveis pelo transporte inverso do colesterol das células periféricas para o fígado. No fígado o colesterol é transformado em ácidos biliares, que são excretados para os intestinos através das vias biliares. [2,12]

É clinicamente importante monitorizar o colesterol HDL no soro, pois existe uma correlação inversa entre as concentrações séricas de HDL e o risco de doença aterosclerótica. As concentrações elevadas de colesterol HDL protegem contra as cardiopatias coronárias, é por esta razão que é conhecido como “bom colesterol”. Concentrações reduzidas de colesterol HDL, associadas a níveis altos de triglicerídeos aumentam o risco cardiovascular. Actualmente já existem estratégias para aumentar o colesterol HDL. Torna-se assim prioritário dosear o Colesterol HDL em indivíduos nos quais são aplicadas estas estratégias, sejam elas alimentares ou medicamentosas.

4.3.4 COLESTEROL - LDL (LOW DENSITY LIPOPROTEINS)

As lipoproteínas de baixa densidade são os principais transportadores de ésteres de colesterol, do fígado para os tecidos periféricos. Têm um papel determinante na formação da aterosclerose, com especial destaque da esclerose coronária. Daí a atribuição do título de “mau colesterol”. As LDL derivam das lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), sendo sintetizadas no fígado. A eliminação do colesterol LDL do plasma ocorre através das células do parênquima hepático, por meio de receptores específicos para LDL.

As concentrações elevadas de LDL no sangue e o tempo de permanência, associada a um aumento da taxa de modificação biológica, resultam na destruição da função endotelial dos vasos sanguíneos e numa captação superior do colesterol LDL pelo sistema monócitos/macrófagos e pelas células do músculo liso nas paredes dos vasos. [2,17] Assim sendo, a maioria do colesterol armazenado nas placas ateroscleróticas deriva das LDL. Entre

todos os parâmetros isolados, o colesterol LDL tem um valor preditivo clínico muito importante em relação à aterosclerose coronária.

As estratégias terapêuticas actualmente adoptadas têm por objectivo a redução lipídica, e como principal alvo o colesterol LDL, levando a um melhoramento da função endotelial e na prevenção da aterosclerose, reduzindo a sua progressão e evitando a ruptura das placas.

4.4 PROTEÍNAS

4.4.1 PROTEÍNAS TOTAIS

As proteínas plasmáticas são a albumina e as globulinas. Na sua maioria são sintetizadas no fígado, gânglios linfáticos, baço e medula óssea.

No decorrer de uma patologia, tanto a concentração de proteínas totais, como a percentagem representada por fracções individuais, pode apresentar desvios significativos dos valores normais.

A hipoproteïnemia pode ser causada por doenças e/ou perturbações, como a perda de sangue, caquexia aftosa, síndrome nefrótica, queimaduras graves, síndrome de retenção de sal e Kwashiorkor (deficiência proteica aguda).^[2,17]

Pode observar-se hiperproteinemia em casos de desidratação grave e doenças como o mieloma múltiplo.

As alterações da percentagem relativa de proteínas plasmáticas podem ser provocadas por uma modificação da percentagem de uma fracção proteica plasmática, muitas das vezes nestes casos a quantidade de proteínas totais não sofre qualquer tipo de alteração.

O rácio A/G é utilizado como índice da distribuição das fracções de albumina e de globulina. Neste rácio podem ser observadas alterações em casos de cirrose hepática, glomerulonefrite, síndrome nefrótica, hepatite aguda, lúpus eritematoso e ainda inflamações agudas e crónicas.^[2]

As determinações das proteínas totais são utilizadas no diagnóstico e no tratamento de uma variedade de doenças que envolvem o fígado, rins ou a medula óssea, bem como doenças metabólicas e nutricionais.

4.4.2 ALBUMINA

A albumina é a proteína mais abundante no plasma, constitui 55-65% das proteínas plasmáticas totais. Devido à sua abundância tem um papel fundamental em manter a pressão oncótica do plasma, estando também implicada no transporte e armazenamento de uma grande variedade de ligandos. Liga-se por exemplo à bilirrubina, cálcio e ácidos gordos de cadeia longa, é capaz de ligar os iões tóxicos de metais pesados, bem como um grande número de fármacos, tendo uma implicação directa sobre a farmacocinética.^[2,12]

A hiperalbuminémia têm pouco significado clínico, à excepção dos casos de desidratação.

Já a hipoalbuminémia está associada a várias doenças, sendo causada por diversos factores: síntese debilitada em resultado de doença hepática, diminuição da ingestão proteica, aumento do catabolismo devido a lesão tecidual (queimaduras graves) ou inflamação, má absorção a nível intestinal (doença de Chron), proteinúria como consequência de síndrome nefrótica, em certas neoplasias perda de proteínas pelas fezes. É considerado um caso grave de hipoalbuminémia, uma concentração de máxima de albumina no plasma de 2,5g/dL. Devido à reduzida pressão osmótica do sangue, a água atravessa os capilares sanguíneos e penetra no tecido dando origem ao edema.

A determinação da albumina permite a monitorização dos suplementos dietéticos num doente controlado, funcionando também como um excelente teste da função hepática.

4.4.3 PROTEÍNAS NA URINA E LÍQUIDO CEFALORAQUÍDEO

As determinações das proteínas na urina são usadas no diagnóstico e tratamento de doenças renais ou cardíacas, perturbações da tiróide, que se caracterizam pela presença de proteinúria ou albuminúria.

No processo de formação da urina, ocorre a ultrafiltração do plasma através da parede capilar glomerular. As proteínas com uma massa molecular relativa superior a 40.000 daltons são praticamente todas retidas.

As determinações de proteínas em LCR são fundamentalmente utilizadas no diagnóstico e tratamento de doenças como a meningite, tumores cerebrais ou infecções do sistema nervoso central. A maior parte das proteínas do LCR têm origem num processo de difusão, a partir do plasma, através da barreira hematoencefálica. Observam-se níveis

elevados em resultado de uma maior permeabilidade da barreira hematoencefálica ou associados a um aumento da síntese local da imunoglobulinas.^[2,17]

4.4.4 MUCOPROTEÍNAS

As mucoproteínas são um grupo de proteínas que se expressam à superfície das células sob a forma de glicoproteínas e são responsáveis pelo carácter viscoso das secreções orgânicas de revestimento, tais como as do tubo digestivo, glândulas salivares, tracto respiratório e genital.

O nível sérico desta proteína pode estar aumentado em processos inflamatórios agudos, doenças reumáticas, neoplasias metastizadas e obstrução biliar. Já a sua diminuição sérica pode dever-se a doenças hepáticas, como hepatite aguda ou cirrose.^[17]

4.5 COMPOSTOS AZOTADOS NÃO PROTEICOS

4.5.1 ÁCIDO ÚRICO

O ácido úrico é o maior produto do catabolismo das purinas. A sua síntese ocorre no fígado e a sua excreção é feita a nível renal. A determinação do ácido úrico é usado no diagnóstico e tratamento de diversas patologias renais e metabólicas, tais como insuficiência renal, gota, leucemia, psoríase, subnutrição ou outras doenças que provocam fraqueza geral. É um parâmetro de elevado relevo na monitorização de doentes a fazerem terapêutica com citotóxicos.^[2]

4.5.2 CREATININA

A creatinina é um produto resultante da desidratação da creatina. A maior parte da creatina do organismo encontra-se no tecido muscular, onde está presente na forma de creatina-fosfato, e serve como reservatório de alta energia para conversão em adenosina-trifosfato. A taxa de formação de creatinina é relativamente constante e directamente proporcional à massa muscular, sendo 1 a 2 % da creatina do organismo, convertida em creatinina de 24 em 24 horas.

Visto ser um produto de produção endógeno, que não sofre grandes alterações devido a factores exteriores, é um bom indicador da taxa de filtração glomerular, tornando-se um parâmetro referência na avaliação da função renal, fundamental no diagnóstico da

doença renal (insuficiência renal aguda ou crónica, monitorização de doentes hemodialisados).

Os níveis séricos de creatinina e de ureia são elevados em doentes com perturbações renais, principalmente em doentes com filtração glomerular diminuída. Na fase inicial da lesão renal, o aumento dos níveis séricos de ureia precede normalmente o aumento da creatinina sérica. A vantagem é atenuada pelo facto de os níveis de ureia no soro serem afectados por factores como a dieta, o grau de hidratação e o metabolismo proteico. [2,12,17]

4.5.2.1 Prova de depuração da creatinina ou *clearance* da creatinina

A *clearance* da creatinina é uma prova de avaliação da filtração glomerular em doentes que sofrem ou em que há suspeita de insuficiência renal crónica

A depuração da creatinina poderá ser feita por períodos de quatro, doze ou vinte e quatro horas em que a urina é recolhida e posteriormente é determinada o seu teor em creatinina. É feito também um doseamento de creatinina no sangue. Os valores determinados são aplicados à equação (1).

$$\text{Clearance creatinina} = \frac{[\text{Creatinina Urina}] \times \text{Volume urina (ml)}}{[\text{Creatinina Soro}] \times \text{Tempo da colheita (minutos)}}$$

Equação (1) – Determinação da *Clearance* da Creatinina

4.5.3 UREIA

A ureia é o produto final do metabolismo do azoto proteico, sendo gerada no fígado através do ciclo da ureia, a partir da amónia. É degradada nos intestinos por acção bacteriana, e principalmente excretada pelos rins, mas também está presente no suor em quantidades mínimas.

A determinação do azoto ureico no sangue é um exame mais utilizado para testar a função renal. Em conjunto com a creatinina sérica, pode auxiliar no diagnóstico diferencial dos três tipos de uremia: pré-renal, renal e pós-renal. [2,17]

Os aumentos na concentração de azoto ureico no sangue são observados em casos de perfusão renal inadequada, choque, diminuição do volume sanguíneo (causas pré-renais), nefrite crónica, nefrosclerose, necrose tubular, glomerulonefrite (causas renais) e obstrução

do aparelho urinário (causas pós renais). Podem ainda ser observadas subidas transitórias em dietas ricas em proteínas e desgaste muscular (desportistas ou fome severa).

4.5.3.1 Azoto ureico / BUN (*Blood Urea Nitrogen*) – É determinado, pelo valor da ureia aplicado à equação (2).

$$\text{BUN} = [\text{Ureia}] / 2,14 \text{ mg/dl.}$$

Equação (2) – Determinação do azoto ureico

4.5.4 AMÓNIA

A amónia é gerada no tracto gastrointestinal, através do metabolismo dos compostos com azoto. O excesso de amónia poderá ser tóxico para o sistema nervoso central. O ciclo da ureia é uma forma de eliminar a amónia através da sua metabolização em ureia, no fígado. Os níveis elevados de amónia podem ser um auxílio no diagnóstico de insuficiência hepática ou de encefalopatia hepática com origem em doenças hepáticas avançadas, como é o caso da hepatite viral ou da cirrose.^[17]

4.6 ELECTRÓLITOS E IÕES INORGÂNICOS / OLIGOELEMENTOS

4.6.1 SÓDIO (Na⁺)

O sódio é o principal catião do líquido extracelular e tem como função manter a distribuição dos fluidos e a pressão osmótica do compartimento extracelular. A dieta diária normal de sódio é de 100 a 250 mmol de NaCl, que é absorvido a nível intestinal. O corpo humano não necessita de toda esta quantidade, o que está em excesso é eliminado por excreção renal. A perda de sódio é equilibrada pela sua ingestão. O nível de excreção usual do Na⁺ varia de 30 a 280 mmol/dia.

A hiponatrémia, diminuição do Na⁺ sérico, é um dos distúrbios electrolíticos mais comuns encontrados na clínica. Entre as causas da diminuição dos níveis de sódio encontram-se os vómitos, a diarreia prolongada, a diminuição da reabsorção renal e a excessiva retenção de líquidos.

A hipernatrémia, aumento do nível sérico do sódio poderá estar relacionado com algumas endocrinopatias, como o aldosteronismo secundário, Doença de Cushing ou então doença cardíaca congestiva, síndrome nefrótica, cirrose hepática com ascite ou estenose da arteria renal provocando retenção de sódio e o ligeiro aumento da sua concentração sérica.

A perda excessiva de líquidos, a elevada ingestão de sal e o aumento da reabsorção renal poderão também contribuir para hipernatrémia. [2,12,17]

4.6.2 POTÁSSIO (K⁺)

O potássio é o principal catião intracelular e é crucial para a actividade celular neurológica e muscular. A principal fonte de potássio é a dieta, a sua absorção é feita no intestino e a sua eliminação é feita a nível renal.

A hipocaliémia, pode ser causada por uma alimentação pobre em potássio, perda devido a diarreias, vômitos prolongados ou excreção renal aumentada, podendo provocar grande excitabilidade muscular, originando graves arritmias.

A hiperkaliémia, aumento dos níveis séricos de potássio, pode ser causada por desidratação ou choque, queimaduras graves, cetoacidose diabética e retenção de potássio a nível renal, situação frequente nos casos de insuficiência renal crónica. A hiperkaliémia provoca relaxamento muscular. [2,12,17]

4.6.3 CLORETO (Cl⁻)

O Cl⁻ é o principal anião extracelular e tem um papel fundamental na manutenção da pressão osmótica. Tem uma função importante nas acções de tampão, a quando das trocas de O₂ e de CO₂ a nível dos eritrócitos. A principal fonte de cloreto é a ingestão, que posteriormente é absorvido, e o excesso excretado na urina. [2]

A hipocloridémia, Cl⁻ sérico baixo, é observada quando ocorre perda excessiva de cloro no organismo em condições como perdas gastrointestinais, cetoacidose diabética, excesso de mineralocorticóides e nefropatias depletoras de sal. Valores séricos baixos também podem ser encontrados em patologias nas quais existe uma alta concentração sérica de HCO₃⁻ (acidose respiratória compensada, alcalose metabólica). Isso é resultante do desvio intracelular e do aumento da excreção renal nestas condições [2].

A hipercloridémia, Cl⁻ sérico alto, ocorre em casos de desidratação, insuficiência renal (acidose tubular renal), acidose metabólica como consequência da perda excessiva de HCO₃. A ingestão elevada de cloretos nos alimentos ou por via parentérica e o envenenamento por salicilato podem conduzir a um aumento do nível sérico de Cl⁻

4.6.4 CÁLCIO (Ca^{2+})

O cálcio é o elemento mineral mais abundante no organismo, 99% encontra-se nos ossos, sob a forma de hidroxiapatite. O restante cálcio, aproximadamente metade está no fluido extracelular, a outra metade nos vários tecidos, em especial músculo esquelético.

Têm um papel crucial em processos de manutenção da vida, como a coagulação sanguínea, condução neuromuscular na excitabilidade do músculo esquelético e cardíaco, síntese e regulação glandular e na conservação da integridade e permeabilidade da membrana celular, particularmente em termos de intercâmbio de sódio-potássio.

O cálcio no sangue está presente quase que exclusivamente no plasma, sendo que o gradiente de cálcio extracelular a cálcio intracelular é da ordem de $10^4:1$.^[2]

O cálcio no soro existe sob três formas diferentes: cálcio ionizado ou livre, que é a forma fisiologicamente activa, corresponde aproximadamente a 50% do cálcio total, 5% está complexado com uma variedade de aniões, particularmente fosfato e citrato, o restante cerca de 45% está ligado a proteínas, principalmente albumina e globulinas. A distribuição das três formas pode ser alterada por uma mudança de pH dos fluidos extracelulares ou da concentração da proteína. A acidose promove um aumento do cálcio ionizado, enquanto que a alcalose acusa o seu declínio. Um aumento das proteínas plasmáticas resulta num aumento do cálcio total que reflete um aumento do cálcio ligado, o inverso acontece com a diminuição das proteínas.^[2,17]

A homeostase do cálcio envolve a participação de três órgãos: intestino delgado, rins e esqueleto, e também a glândula mamária durante a amamentação. A hormona da paratiróide (PTH), a calcitonina e a vitamina D, controlam os níveis séricos do cálcio no organismo.

O aumento do nível de cálcio, hipercalecémia, poderá estar associado a um aumento da mobilização da fracção óssea como no caso da osteoporose, ou de neoplasias ósseas. O cálcio também se apresenta alto no hiperparatiroidismo, absorção intestinal aumentada, mieloma múltiplo e em outras doenças neoplásicas.

A hipocalcémia pode ser observada em casos de hipoparatiroidismo, esteatorreia, insuficiência renal, pancreatite, síntese deficiente de vitamina D.

4.6.5 FÓSFORO (P)

O fósforo é abundante no organismo sendo onipresente na sua distribuição. Aproximadamente 85% dos 500 a 600g de fósforo no adulto está presente no osso como

hidroxiapatite^[2]. A restante quantidade está envolvida no metabolismo intermediário dos hidratos de carbono e em substâncias fisiologicamente importantes, como os fosfolípidos, ácidos nucleicos e ATP. O fósforo encontrado no soro está sob a forma de fosfato inorgânico: HPO_4^{2-} , H_2PO_4^- . Quantidades ínfimas de PO_4^{3-} existem no limite do pH fisiológico.

Três órgãos principais estão envolvidos na homeostase do fósforo: intestino delgado, rins e esqueleto que têm função de reservatório e armazenamento. Dois terços de fosfato ingerido é absorvido no jejuno. A absorção é incrementada pela ação da vitamina D e da hormona do crescimento. Quanto à excreção, 60% é feita através da urina e os restantes 40% são excretados nas fezes.^[2,17]

O rácio fosfato/cálcio no sangue é de aproximadamente 6:10. Um aumento do nível de fósforo provoca uma redução do nível do cálcio. O mecanismo é influenciado por interação entre a paratormona e a vitamina D.

O hipoparatiroidismo, a intoxicação por vitamina D e a insuficiência renal associada a uma redução da taxa de filtração glomerular do fosfato provocam hiperfosfatémia.

Já a hipofosfatémia é característica no raquitismo, hiperparatiroidismo e síndrome de Fanconi.

4.6.6 MAGNÉSIO (Mg^{2+})

O magnésio é o quarto catião mais abundante no organismo, 50% está presente nos ossos associado ao cálcio e ao fosfato, o restante é intracelular. É o activador de várias enzimas, fosfatases, fosforilases, pirofosfatases carboxilases e hexoquinases.^[2] É também essencial para a preservação da estrutura macromolecular do DNA, RNA e ribossomas. Está implicado na condução neuromuscular e na excitabilidade do músculo esquelético e cardíaco.

O magnésio ingerido é absorvido no intestino, mas é o rim que tem o papel principal no controlo da homeostase, através da reabsorção tubular, que conserva o magnésio quando a ingestão é baixa e excreta quando esta é alta. Ocorrem aumentos das concentrações de magnésio sérico na insuficiência renal, na acidose diabética aguda, na desidratação ou na doença de Addison. A hipermagnesémia tem um efeito depressor a nível do sistema nervoso central, causando anestesia geral e insuficiência respiratória e altera o mecanismo de condução do coração, causando paragem cardíaca.

A hipomagnesémia pode ser observada no alcoolismo crónico, na má absorção, na diarreia grave, na pancreatite aguda, na terapêutica diurética e doenças renais como a glomerulonefrite e deficiências da reabsorção tubular. A diminuição das concentrações séricas de magnésio pode ter como resultado tetania, convulsões e arritmias cardíacas.^[2]

4.6.7 COBRE (Cu²⁺)

O cobre é um elemento constituinte das metaloenzimas e proteínas. É necessário para a síntese de hemoglobina e faz parte da citocromo oxidase, tirosinase, monoamino oxidase, ácido ascórbico oxidase, uricase e galactose oxidase. A maior porção de cobre no eritrócito ocorre como constituinte da enzima superóxido dismutase (eritrocupreína). Esta enzima também encontrada no fígado (hepatocupreína) e no cérebro (cerebrocupreína), tem um papel único de proteger as células através de uma limpeza catalítica do ião radical superóxido (O₂⁻), gerado durante o metabolismo aeróbico.

O cobre no plasma existe sob duas formas principais: uma pouco ligada e outra bem ligada às proteínas plasmáticas. O cobre pouco ligado inclui uma fracção mínima predominantemente ligada à albumina sérica, provavelmente representa o cobre em trânsito e aumenta prontamente após a ingestão para depois diminuir exponencialmente após a captação hepática. O cobre firmemente ligado compondo 80 a 95% do cobre plasmático total, está incorporado na α₂-globulina, chamada ceruloplasmina. A concentração de ceruloplasmina sérica aumenta enquanto que o cobre ligado à albumina diminui. Cerca de 0.5 a 2.0 mg de cobre são excretados nas fezes diariamente^[2,12]

A anomalia mais importante no metabolismo do cobre é a doença de Wilson ou degeneração hepatolenticular autossómica recessiva. Caracteriza-se por ser uma doença degenerativa, a nível hepático e no gânglio basal do cérebro, e pela deposição excessiva de cobre à volta da córnea (anéis de Kayser-Fleischer). Nesta patologia não existe a enzima que a nível hepático que permita a ligação do cobre à ceruloplasmina.

Portanto o doseamento do cobre é de especial importância no diagnóstico e acompanhamento da Doença de Wilson. Apesar da hipercupremia ser observada durante a gravidez, havendo também registo em vários linfomas, particularmente na doença de Hodgkin.^[2]

4.6.8 FERRO

O ferro é essencial para a maioria dos organismos vivos e participa numa variedade de processos vitais variando desde os mecanismos oxidativos celulares até ao transporte de oxigénio. É um constituinte das cromoproteínas transportadoras de oxigénio, hemoglobina e mioglobina, assim como várias enzimas (citocromo oxidase, xantina oxidase, peroxidase e catalase). O restante ferro do corpo está presente nas flavoproteínas (NADH desidrogenase e a succinato desidrogenase), no ferro das proteínas com enxofre, na forma de armazenamento (ferritina) e de transporte (transferrina).^[2,12,17]

O ferro ingerido é essencialmente absorvido sob a forma de Fe^{2+} no duodeno e no jejuno superior. Para ser absorvido tem que estar numa forma reduzida ou ferrosa. O pH ácido do estomago juntamente com substâncias redutoras e com ácido ascórbico, aumentam a absorção de ferro por o manter na forma reduzida, que é a forma mais solúvel.^[1] É assimilado diariamente cerca de 1mg de ferro. Depois de alcançarem as células das mucosas, os iões de Fe^{2+} ligam-se às substâncias de transporte, e antes de passarem para o plasma, os iões são oxidados para Fe^{3+} e ligados à transferrina. O transporte dos iões de ferro no plasma sanguíneo ocorre através dos complexos transferrina-ferro. São transportados no máximo 2 iões de Fe^{3+} por cada molécula de proteína. O ferro sérico reflete principalmente a quantidade de ferro ligado à transferrina. A transferrina leva o ferro aos locais de armazenamento e à medula óssea.

As determinações de ferro são levadas a cabo para o diagnóstico e monitorização de anemias (microcíticas, macrocíticas, normocíticas, hemolíticas), hemoglobinopatias, doenças da medula óssea, lesão tóxica da medula óssea, doenças crónicas renais, hemocromatose. A diminuição de ferro ocorre em associação com deficiência generalizada de ferro, consequente de uma dieta pobre em ferro, absorção inadequada ou perda crónica como resultado de hemorragia, perturbação na libertação do ferro pelo sistema reticuloendotelial associado a um processo infeccioso.^[2,17]

As elevações de ferro sérico podem estar associadas à destruição aumentada de eritrócitos (anemia hemolítica), formação sanguínea diminuída (envenenamento por chumbo, deficiência de piridoxina), libertação aumentada de ferro do armazenamento (necrose celular hepática aguda), armazenamento defeituoso de ferro (anemia perniciosa), velocidade aumentada de absorção (hemocromatose e siderose transfusional).^[17]

A determinação do ferro sérico sozinho é de limitado valor, já que os níveis diminuídos do ferro sérico estão usualmente associados a anemias por deficiências de ferro e a anemias por infecções crónicas. Desta forma são de todo o interesse as determinações que se seguem para o diagnóstico e monitorização destas patologias.

4.6.8.1 Capacidade total de fixação do ferro (TIBC)

O teor de ferro total do organismo é de cerca de 3g a 3,5g. Desta quantidade cerca de 2,5g está nos eritrócitos ou nos respectivos precursores da medula óssea. O plasma contém apenas 2,5mg de ferro. Como já foi referido o ferro é transportado sob a forma Fe^{3+} ligado à transferrina e apenas um terço dos locais da transferrina estão ocupados com Fe^{3+} .

A quantidade adicional de ferro que pode ser ligada é a capacidade de ligação do ferro insaturada (UIBC- *Unsaturated Iron Binding Capacity*). A soma do ferro sérico e da UIBC representa a capacidade total de ligação do ferro (TIBC), é o valor da concentração máxima de ferro que pode ser ligada pela transferrina (Equação (3)).^[17]

A TIBC sérica varia nas perturbações do metabolismo do ferro. Na anemia com deficiência de ferro, a TIBC encontra-se elevada e a saturação de transferrina baixa para 15% ou menos. Valores baixos de ferro sérico associados a TIBC baixa são característicos da anemia associada a doenças crónicas, tumores malignos e infecções.^[17]

$$\text{TIBC} = [\text{Ferro sérico}] + \text{UIBC}$$

Equação (3) – Determinação da capacidade total de fixação do ferro

4.6.8.2 % Saturação da transferrina

Através da obtenção do valor da capacidade total de ligação do ferro podemos ainda determinar a percentagem de saturação das transferrina.

$$\% \text{ Saturação da transferrina} = [\text{Ferro sérico}] / \text{TIBC} \times 100$$

Equação (4) – Determinação da percentagem saturação transferrina

Este coeficiente é o melhor índice de armazenamento de ferro, do que apenas o ferro sérico, e é útil na diferenciação das causas comuns de anemia.^[17]

4.7 ENZIMAS

4.7.1 ASPARTATO AMINOTRANFERASE (AST)

A enzima aspartato aminotransferase também conhecida como transaminase oxalacética (GOT), encontra-se amplamente distribuída pelos tecidos, principalmente o hepático, cardíaco, muscular esquelético e renal. Nas patologias em que estejam envolvidos estes tecidos os seus níveis séricos poderão estar elevados. De destacar o tecido hepático, que em casos de doença hepatobiliar, como cirrose, carcinoma metastático e hepatite viral, provocam um aumento dos níveis séricos de AST, e o tecido muscular cardíaco, em que a seguir a um enfarte do miocárdio, a AST sérica aumenta, atingindo o seu pico máximo dois dias após a ocorrência.

Foram destacadas duas isoenzimas da AST, a citoplasmática e a mitocondrial, apenas a citoplasmática está presente no soro normal, enquanto que em pacientes com doença coronária e hepatobiliar está presente em conjunto com a citoplasmática a mitocondrial.^[2,12,17]

4.7.2 ALANINA AMINOTRANFERASE (ALT)

A alanina aminotransferase ou transaminase glutâmico pirúvica (GPT), está presente em vários tecidos, mas a sua principal fonte é o fígado, tornando-se um parâmetro referência para o diagnóstico de doenças hepáticas.

Os aumentos séricos da ALT verificam-se nas hepatites, cirrose, icterícia obstrutiva, carcinoma hepático e no abuso crónico de álcool. Apresenta apenas um ligeiro aumento em doentes com enfarte agudo do miocárdio sem complicações. Quando há um comprometimento hepático, tanto a ALT como a AST séricas, ficam elevadas, mas a ALT é uma enzima mais específica do fígado, para além de que o seu aumento persiste durante mais tempo.^[2,12,17]

4.7.3 GAMA GLUTAMILTRANSFERASE (?-GT)

A γ -GT é uma peptidase, é responsável pela transferência do grupo γ -glutamil de um peptídeo para outro. Está presente no soro e a nível da membrana celular de todas as células, com excepção das musculares. A sua presença no soro advém do sistema hepatobiliar.

A γ -GT, é muitas vezes o único parâmetro onde se observa um aumento dos valores em doenças hepatobiliares. Trata-se de uma enzima que é mais sensível que a fosfatase alcalina na detecção de icterícia obstrutiva, colangite e colestite, e o seu aumento ocorre mais cedo e mantém-se durante mais tempo. É o principal parâmetro no teste de despiste ao alcoolismo oculto e monitorização da abstinência alcoólica.

Em doentes medicados a longo prazo com fenobarbital e fenitoína é observado também um aumento da actividade desta enzima. [2,12,17]

4.7.4 FOSFATASE ALCALINA (ALP)

A fosfatase alcalina no soro é a contribuição de quatro isoenzimas: fracção hepática, fracção óssea, fracção placentar e fracção intestinal. Está presente nos hepatócitos, osteoblastos, leucócitos, rins, baço, placenta, próstata e intestino delgado.

A sua presença nos osteoblastos motivou a sua utilização no diagnóstico e monitorização de patologias ósseas, justificando que nas crianças a sua actividade no soro seja superior à dos adultos, uma vez que estas se encontram em período de crescimento, assim como em mulheres pós menopausicas devido á osteoporose.

Ocorre um aumento da fosfatase alcalina em todas as forma de colestase, em particular na icterícia obstrutiva e doenças que se caracterizem pela formação aumentada de tecido ósseo ou alteração óssea (doença de Paget, hiperparatiroidismo, raquitismo, osteomalacia, fracturas e tumores malignos). [2,12,17]

4.7.5 LACTATO DESIDROGENASE (LDH)

A lactato desidrogenase catalisa a oxidação reversível do lactato em piruvato e encontra-se amplamente distribuída a nível dos tecidos, sendo mais abundante no miocárdio, rins, fígado e músculos.

Por electroforese podem ser separadas 5 isoenzimas com base na respectiva mobilidade electroforética. A LDH-1 e a LDH-2 que predominam no músculo cardíaco, rins e nos eritrócitos. A LDH-3 existe no tecido pulmonar, pancreático, na glandula da tiroide, nas glândulas adrenais e linfonodos. No músculo esquelético e no fígado as principais isoenzimas são LDH-4 e LDH-5.

Geralmente os valores mais elevados (duas a quarenta vezes) são observados em pacientes com anemias megaloblásticas, carcinoma metastizado e choque. Elevações

moderadas (duas a quatro vezes) ocorrem em pacientes com enfarte do miocárdio ou pulmonar, leucemia, anemia hemolítica, doença de Hodgkin, mononucleose infecciosa e distrofia muscular progressiva. É bastante característico o aumento dos níveis séricos de LDH nas 24 horas que se seguem ao começo aparente do enfarte do miocárdio.

As elevações relativamente discretas ocorrem em pacientes com hepatite, icterícia obstrutiva, cirrose ou síndrome nefrótica.^[2,12,17]

4.7.6 CREATINA CINASE (CK)

A creatina cinase também denominada como ATP-creatina-N-Fosfotransferase, catalisa a fosforilação reversível da creatina com o consumo de ATP.

A sua concentração no músculo esquelético e no miocárdio é muito alta, estando também em quantidades apreciáveis no cérebro, pulmões e no intestino.

A CK existe como um dímero, isto é, a CK possui três combinações (três isoenzimas) de duas cadeias, denominadas M (originalmente para o músculo) e B (originalmente para o cérebro [*brain*]), da seguinte maneira: MM, BB, MB.^[2] Estas três formas podem ser separadas por electroforese.^[2,12,17]

Os valores da CK encontram-se elevados em pacientes com enfarte do miocárdio, atingindo o seu pico 24 horas após. A utilização da CK total conjuntamente com a CK-MB no diagnóstico de enfarte do miocárdio é a aplicação mais importante da determinação da CK em química clínica. A elevação da CK também pode ser vista em casos de distrofia muscular progressiva, miopatia alcoólica, rabdomiólise, em alguns pacientes com hipotireoidismo. Outras causas da elevação da CK são o exercício físico, injeção intramuscular e reacções psicóticas agudas^[2].

4.7.7 AMILASE

A amilase, predominantemente de origem pancreática (forma P) e das glândulas salivares (forma S), hidrolisa as unidades de glicose α -1,4 no glicogénio, na amilopectina e na amilose. Nos polissacáridos e nos oligossacáridos, diversas ligações glicosídicas são hidrolisadas simultaneamente.

A amilase na forma P torna-se específica do pâncreas enquanto que a S têm origem em diversos locais, lágrimas, suor, leite materno, no líquido amniótico, nos pulmões, nos testículos e no epitélio das trompas de falópio.^[2,12,17]

Devido à raridade de sintomas clínicos específicos das doenças pancreáticas, as determinações da α -amilase têm uma importância considerável nos diagnósticos. Estas determinações são utilizadas sobretudo no diagnóstico e monitorização terapêutica da pancreatite aguda.

Além de ocorrer na pancreatite aguda e na fase inflamatória da pancreatite crónica, a hiperamilasémia, também se pode observar em casos de insuficiência renal (como resultado da filtração glomerular reduzida), bem como nos tumores do pulmão ou dos ovários, inflamação pulmonar, doenças das glândulas salivares, cetoacidose diabética, traumatismo craniano e intervenções cirúrgicas.

4.7.8 LIPASE

Esta glicoproteína produzida no pâncreas, está definida como uma hidrolase de triglicéridos que catalisa a clivagem dos triglicéridos para diglicéridos, com a formação subsequente de monoglicéridos e ácidos gordos. Para além da amilase, já de alguns anos para cá que a lipase pancreática constitui, indiscutivelmente um parâmetro importante para o diagnóstico diferencial das doenças pancreáticas. A determinação da actividade da lipase tem vindo a conquistar adeptos devido à sua especificidade e resposta rápida.

Após uma pancreatite aguda, a actividade da lipase aumenta no espaço de 4-8 horas, atingindo um pico às 24 horas, e diminuindo entre 8 a 14 dias. A elevação dos níveis séricos da lipase nem sempre coincide com o aumento da amilase pancreática na pancreatopatia. Por isso é recomendado que os níveis séricos de ambas, lipase e amilase, sejam determinados no diagnóstico de distúrbios pancreáticos. A lipase é também uma enzima pancreática mais estável que a amilase, por não ser eliminada por via renal, mantém-se mais tempo em circulação.^[2,17]

4.7.9 FOSFATASES ÁCIDAS

4.7.9.1 FOSFATASE ÁCIDA TOTAL (ACP)

A fosfatase ácida sérica é constituída por 5 isoenzimas produzidas, sobretudo, pelos eritrócitos, plaquetas, células reticuloendoteliais do baço e fígado e células epiteliais dos rins, ossos e próstata. Num indivíduo do sexo masculino, cerca de metade da fosfatase ácida total é fosfatase ácida prostática, que é produzida maioritariamente mas não exclusivamente pela próstata. Geralmente, os níveis de fosfatase ácida total e da fosfatase ácida prostática

aumentam na presença de carcinoma da próstata progressivo e metastático. Em 80% dos doentes com cancro da próstata metastática, este aumento depende da fase da doença.

Verifica-se um aumento dos níveis de fosfatase ácida na doença de Gaucher (doença esplénica com destruição dos lisossomas), doença de Niemann-Pick, 1 a 2 dias após a cirurgia da próstata, biopsia, manipulações ou cateterização, na presença de hipertrofia benigna da próstata, prostatite e enfarte prostático. Foi muito utilizada no diagnóstico e monitorização do carcinoma da próstata mas, neste momento o doseamento do PSA (Prostate-Specific Antigen) veio substituí-la.^[17]

4.7.9.2. FRACÇÃO PROSTÁTICA (FNP)

É possível determinar directamente a fosfatase ácida prostática durante a medição da fosfatase ácida total num canal e da fosfatase não prostática (NPP) noutra canal. O programa específico do equipamento (*Cobas 6000*) imprime a diferença entre as duas determinações como fosfatase ácida prostática (Equação(5)).^[17]

$$\text{Actividade FNP} = \text{Actividade ACP} - \text{Actividade NPP}$$

Equação(5)- Determinação da fracção prostática da fosfatase ácida total

4.7.8 ENZIMA CONVERSORA DA ANGIOTENSINA (ECA)

A ECA, também chamada de peptidildipeptídeo hidrolase, converte a angiotensina I em angiotensina II. Faz parte do sistema renina-angiotensina-aldosterona. A medida da actividade da enzima conversora da angiotensina é maioritariamente utilizada no diagnóstico da hipertensão arterial, mas também é considerada uma mais valia em outras circunstâncias. Valores elevados foram observados em casos de sarcoidose, cirrose alcoólica, histoplasmose, hipertiroidismo e fibrose pulmonar idiopática.^[2,17,18]

4.8 DERIVADOS DO CATABOLISMO DA HEMOGLOBINA

4.8.1 BILIRRUBINAS

O doseamento da bilirrubina é um parâmetro fundamental para o estudo da função hepática. Trata-se de um pigmento resultante, maioritariamente, da degradação do grupo heme da hemoglobina.

A degradação ocorre nas células do sistema retículo-endotelial. As pontes a-metilénicas do grupo heme são clivadas e dão origem a um tetrapirrol linear: a biliverdina, que por ação da bilirrubina redutase é reduzida a bilirrubina. A bilirrubina recém formada circula no sangue, ligada à albumina sérica (forma não conjugada ou bilirrubina indirecta), é transportada pelo sistema porta até ao fígado, onde penetra no hepatócito. No retículo endoplasmático liso, por acção da glicorunil transferase, é transformada numa forma mais solúvel, pela ligação de glucoronatos às suas cadeias laterais de propionatos, passando assim a designar-se por bilirrubina conjugada ou diglucoronada (bilirrubina directa). A bilirrubina conjugada é excretada pelo fígado e acumulada na vesícula biliar. Com as descargas da vesícula biliar, esta vai alcançar o trato intestinal (duodeno), onde é metabolizada pelas bactérias da flora intestinal, é convertida em urobilinogénio. Deste urobilinogénio, a maior parte é oxidado no intestino formando a urobilina, que é excretada nas fezes. Cerca de 10%, é reabsorvida para o sangue e é "re-excretada" na bÍlis (circulação entero-hepática). Uma pequena quantidade é excretada pelos rins. [2,12,13,17]

As doenças ou condições que alteram estes processos de conjugação e excreção da bilirrubina, promovendo a sua acumulação, vão conduzir a um sinal clínico designado por icterícia, caracterizado pela coloração amarela da pele, membranas mucosas e esclerótida.

A icterícia pode ser classificada como: icterícia hemolítica ou pré-hepática, onde se verifica um aumento da bilirrubina não conjugada, como consequência de processos hemolíticos, que produzem bilirrubina mais rapidamente que o fígado consegue metabolizar ou então devido a imaturidade hepática, ou doenças em que o mecanismo de conjugação está comprometido. A outra classificação é a icterícia intrahepática, onde há um aumento da bilirrubina directa e da indirecta, devido a uma conjugação e eliminação deficiente da bilirrubina, causada por defeitos genéticos ou adquiridos no fígado. A icterícia obstrutiva ou pós-hepática, caracterizada por um aumento da bilirrubina conjugada como consequência de uma obstrução a nível do sistema biliar. [2,12,17]

4.9 PH E GASES DO SANGUE

Os acontecimentos metabólicos são afectados pelas concentrações relativas e absolutas dos electrólitos, os quais são determinantes para a osmolalidade, estado de hidratação e pH, tanto do líquido intracelular como extracelular. Além do mais, os potenciais de membrana e o funcionamento normal do tecido nervoso e muscular são

regulados pelas diferenças de concentrações entre os electrólitos do líquido extracelular e intracelular.

Diariamente, uma grande quantidade de ácidos é ingerida na dieta, são produzidos endogenamente a partir da oxidação dos hidratos de carbono, proteínas e lípidos, 13 mil a 20 mil mmol de CO_2 , maioritariamente convertido em ácido carbónico (H_2CO_3).^[2,12,19]

O H_2CO_3 é chamado de ácido volátil porque ele pode ser convertido em CO_2 , permitindo uma excreção pulmonar. Outros ácidos são produzidos e não podem ser convertidos ao estado gasoso, denominados ácidos não voláteis, são excretados na urina.

Muitas reacções metabólicas são catalisadas por enzimas que funcionam a um pH óptimo. Consequentemente é necessário que o organismo possua mecanismos eficientes para a manutenção do pH, seja do líquido extra como intracelular. Esses mecanismos incluem o tamponamento sanguíneo, respiração e mecanismos renais^[2].

A determinação clínica de irregularidades respiratórias e metabólicas pode depender de uma quantificação das pressões parciais de oxigénio (pO_2) e dióxido de carbono (pCO_2) no sangue assim como do pH. A determinação de gases no sangue desempenha ainda um importante papel na detecção de desequilíbrios ácido-base e na monitorização da terapêutica.^[2,12]

4.9.1 OXIGÉNIO (O_2)

O oxigénio é essencial para a célula e para o metabolismo orgânico. O sistema cardiopulmonar é o responsável pelo transporte de oxigénio até às células. Este transporte envolve quatro passos principais: a difusão do ar até à circulação pulmonar, a combinação do oxigénio dos pulmões com a hemoglobina nos eritrócitos, o transporte de O_2 através das artérias até à célula e a libertação nos tecidos e utilização do O_2 a nível celular.

O pO_2 refere-se apenas à concentração de O_2 dissolvido no sangue. A concentração total corresponde à soma das concentrações de O_2 dissolvido e do O_2 ligado à hemoglobina. Cada molécula de hemoglobina pode ligar quatro moléculas de O_2 , sendo que a ligação de uma favorece a ligação das outras três (ligação cooperativa).

No pulmão, a quantidade de oxigénio no sangue depende parcialmente da pO_2 nos alveolos pulmonares e da capacidade de difusão do O_2 através da membrana alveolar para o sangue. Quando a hemoglobina já não é capaz de ligar O_2 diz-se que está saturada, e

portanto um aumento na pO_2 nos alvéolos leva a um aumento da concentração de O_2 dissolvido no sangue arterial, já que a hemoglobina não é capaz de ligar mais moléculas de oxigénio. Nos tecidos, a entrega de oxigénio pelo sangue é determinada pelo gradiente de difusão entre o O_2 do sangue e o das células dos tecidos, e pela dissociação do O_2Hb nos eritrócitos. O nível de saturação da hemoglobina por O_2 corresponde à fracção, ou percentagem de hemoglobina funcional, saturada por O_2 , e é essencialmente um indicador da estimativa de pO_2 no sangue. A determinação da pressão parcial de O_2 (pO_2) é importante na avaliação do grau de hipóxia. A pO_2 arterial deve ser suficientemente alta para criar um gradiente de difusão desde o sangue arterial até às células dos tecidos. Baixas pO_2 arteriais resultam em hipoxia para os tecidos. [2,12,19]

4.9.2 DIÓXIDO DE CARBONO(CO_2)

O dióxido de carbono como já foi referido, é produzido durante o metabolismo normal da célula e é libertado na corrente sanguínea, onde é transportado para os rins e pulmões, para ser excretado.

O CO_2 é transportado através do sangue como ião bicarbonato (HCO_3^-), CO_2 dissolvido e ácido carbónico (H_2CO_3), existindo no sangue num estado dinâmico e de equilíbrio entre estas três formas.

Quando dissolvido em água, o CO_2 reage formando ácido carbónico (H_2CO_3), que conseqüentemente, se dissocia em iões hidrogénio (H^+) e bicarbonato (HCO_3^-). A relação entre estes elementos está muito bem descrita na equação de Henderson-Hasselbalch (Equação 6): [2,19]

$$pH = pK + \log (\text{Base} / \text{Ácido})$$

Equação (6) – Henderson-Hasselbalch

Substituindo a base por HCO_3^- e o CO_2 dissolvido e H_2CO_3 o ácido, o pK é o logaritmo negativo da constante de dissociação do H_2CO_3 , o pH fica proporcional à relação acido-base.

O pH e a pressão parcial de CO_2 (pCO_2) funcionam como uma importante ferramenta de diagnóstico da avaliação da função respiratória. Alterações nas concentrações de CO_2 , pH e de HCO_3^- são característicos de distúrbios do equilíbrio ácido base.

4.9.3 pH

A notação pH refere-se à actividade do ião hidrogénio numa solução, sendo expressa como logaritmo negativo da concentração do ião hidrogénio.

A acidose é descrita como uma diminuição do pH do sangue para valores inferiores a 7,35 enquanto que a alcalose indica valores superiores a 7,45, considerando que os valores normais de pH sanguíneo situam-se entre 7,35 e 7,45.

O valor de pH é clinicamente significativo como meio de determinar desequilíbrios ácido-base, que podem resultar em estados patológicos muito graves. Um distúrbio ácido-base, que resulta inicialmente de uma disfunção ventilatória é chamado acidose ou alcalose respiratória primária, enquanto que desordens devido a problemas renais ou gastrointestinais são referidos como acidose ou alcalose metabólica. [2,19]

4.9.4 GASOMETRIA

A gasometria consiste na análise de uma amostra de sangue arterial, e de onde se pode determinar o nível de pH, a concentração de bicarbonato (HCO_3^-), as pressões parciais de oxigénio e de dióxido de carbono (gases sanguíneos), concentração de hemoglobina, saturação de oxigénio e electrólitos. [19]

Os parâmetros doseados na gasometria são:

- pH
- Pressão Parcial de CO_2 (pCO_2)
- Pressão Parcial de O_2 (pO_2)
- Concentração de Sódio (Na^+)
- Concentração de Potássio (K^+)
- Concentração de Cloro (Cl^-)
- Concentração de Cálcio Ionizado (Ca^{2+})
- Concentração de Hemoglobina Total (ctHb)
- Concentração da Oxihemoglobina (O_2Hb) – Percentagem fracção (FO_2Hb)
- Concentração da Desoxihemoglobina (HHb) – Percentagem fracção (FHHb)
- Concentração da Carboxihemoglobina (COHb) - Percentagem fracção (FHHb)
- Concentração da Metahemoglobina (MetHb) – Percentagem fracção (FMetHb)

Tabela 1 - Parametros calculados na gasometria e respectivas fórmulas^[19]

lão Bicarbonato (HCO_3^-)	$\log c\text{HCO}_3^- = \text{pH} + \log(\text{pCO}_2 \times 0.0307) - 6.105$
Excesso de base no fluido extracelular [Be(ecf)]	$\text{Be}(\text{ecf}) = c\text{HCO}_3^- - 24.8 + 16.2 (\text{pH} - 7.40)$
Excesso de base no sangue [Be(B)]	$[\text{Be}(\text{B})] = (1 - 0.014 \times ct\text{Hb}) [(c\text{HCO}_3^- - 24.8 + (1.43 \times ct\text{Hb} + 7.7)(\text{pH} - 7.40)]$
Saturação de O_2 (O_2SAT)	$\text{O}_2\text{SAT} = [N^4 - 15N^3 + 2045N^2 + 2000N / N^4 - 15N^3 + 2400N^2 - 31.100N + (2.4 \times 10^6)] \times 100^{*(1)}$
Conteúdo de hemoglobina em O_2 [ct O_2 (Hb)]	$ct\text{O}_2(\text{Hb}) = 1.xx \times FO_2\text{Hb} \times ct\text{Hb}^{*(2)}$
Capacidade de oxigénio na hemoglobina (O_2CAP)	$\text{O}_2\text{CAP} = 1.xx [(FO_2\text{Hb} + \text{FHHb}) / 100] \times ct\text{Hb}$
Hematócrito (Hct)	$\text{Hct} = ct\text{Hb} \times 2.941$
“Anion Gap” (AnGap)	$\text{AnGap} = (\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-)$

*(1) O valor de $N = \text{pO}_2 \times 10^{[0.48(\text{pH} - 7.4) - 0.0013\text{BE}(\text{B})]}$

*(2) 1.xx representa o factor de ligação da hemoglobina e é um valor entre 1.30 e 1.40.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

A frequência neste mestrado foi uma mais valia para a minha carreira profissional. O plano curricular foi o complemento perfeito para as funções que desempenho como técnica de análises clínicas no Serviço de Patologia Clínica do IPO de Coimbra. Na grande maioria das vezes tornamo-nos escravos de uma rotina, que devido à massa de trabalho e à quantidade de horas, não nos deixa margem para aprofundar os nossos conhecimentos. Nessa altura é preciso um motivo, algo que nos obrigue a sair desta rotina, e a aprender mais.

No Serviço de Patologia Clínica felizmente tenho tido a possibilidade de aprender, é aqui que tenho construído o profissional que sou e também é aqui que me tenho realizado, afinal faço aquilo que gosto.

O mestrado de análises clínicas é mais uma ferramenta, para a longa jornada que está à minha frente, o caminho começa agora. Ao entrar neste projecto de formação, aumenta a minha curiosidade, a vontade de saber mais e fazer melhor.

A minha formação base em análises clínicas possuía algumas falhas teóricas que o mestrado em análises clínicas veio colmatar, estimulando o meu espírito crítico.

Como perspectivas futuras, petendo aprofundar mais as áreas de endocrinologia e controlo de qualidade, já que as bases adquiridas no mestrado foram muito motivadoras.

Quanto ao local de estágio, trata-se de um excelente laboratório de formação, não só pela qualidade dos colaboradores, como pela sua estrutura, pois reúne num mesmo espaço as quatro grandes áreas das análises clínicas e também pela característica de ser direccionado para a oncologia, área da medicina que está em constante descoberta e evolução. Num mesmo local temos o geral e o específico. Permite ainda ter contacto com o cerne de todo este processo “o doente”. É algo de muito importante, penso que é fundamental saber que cada número tem um rosto e que o que fazemos, é para o bem de alguém. Humanizar a formação dos profissionais de saúde deve ser uma prioridade.

As análises clínicas são fundamentais para uma boa prestação de cuidados de saúde tornando-se muitas vezes a peça que falta no puzzle do diagnóstico. É o conjunto que faz o todo. E a qualidade com que se executam análises e interpretam resultados está no saber, no conhecimento. A qualidade de um resultado depende única e exclusivamente de nós.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **WILKINSON I**; History of Clinical Chemistry Wöhler & the Birth of Clinical Chemistry, *eJFCC vol 13 no 4*.
2. **HENRY, JOHN BERNARD**; Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais, 19ª Edição, Editora Manole LTDA.
3. **MOLINA, RAFAEL; FELLELLA, XAVIER; AUGÉ, JM; ESCUDERO, JM**; Utilidade Clínica de los Marcadores Tumoraes – Estado Actual y Perspectiva de Futuro III; *Roche Diagnostics S.L 2011*
4. **ALMEIDA, JOSÉ RICARDO CHAMHUM DE; PEDROSA, NÚBIA DE LIMA; LEITE, JULIANA BROVINI; FLEMING, TÂNIA RIBEIRO DO PRADO; CARVALHO, VANESSA HENRIQUES DE; CARDOSO, ANTÔNIO DE ASSIS ALEXANDRE**; Marcadores Tumoraes: Revisão de Literatura; *Revista Brasileira de Cancerologia 2007; 53(3): 305-316*.
5. Immulite 2000®; Manual do Operador; DPCTM.
6. Liaison®; Manual do Operador; DiaSorinTM.
7. <http://www.diasorin.com/us/prodotti-strumenti/strumenti/liaison/index>
8. Analizador Cobas c411 – Manual do Operador; Roche Diagnostics
9. Kryptor®; Operation Manual; BrahmsTM
10. <http://www.kryptor.net>
11. **HALLEK M, L WANDERS, STROHMEYER S, B EMMERICH**; Timidina quinase: um marcador tumoral, com valor prognóstico para o linfoma não-Hodgkin e uma ampla gama de potenciais aplicações clínicas. *Ann Hematol 1992 Jul; 65 (1) :1-5*.
12. **BURTIS, C.A., ASHWOOD, E. R. AND D. E. BRUNS**; Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry 6th edition, W. B. Saunders Company

13. **NELSON, DAVID L; COX, M MICHAEL;** Lehninger, Principles of Biochemistry, 5th Edition; W.H. Freeman and Company, New York.
14. **RENÉ CAQUET;** Guia Prático Climepsi da Análises Clínicas; 1ª Edição Climepsi Editores
15. Analyzer Cobas 6000 analyser series; Operation Manual; *Roche Diagnostics*.
16. Analyzer Cobas c311; Operation Manual; *Roche Diagnostics*.
17. Bulas parametros Cobas c501e c311; *Roche Diagnostics*.
18. **GREENSPAN, FRANCIS S.; GARDNER, DAVID G.;** Endocrinologia Básica e Clínica, 7ª Edição, MacGrawHill.
19. *Ciba Corning 850[®] Blood Gas Analyser;* Operation Manual; *Siemens[®]*

7. ANEXOS

ANEXO I - Marcadores Tumorais Séricos - Classificação e Metodologias^[3]

PARAMETRO	EQUIPAMENTO	TÉCNICA
1. ANTIGÉNIOS ONCOFETAIS		
α -Fetoproteína	<i>Immulite 2000</i> [®]	CLIA
Antígeno Carcinoembrionário	<i>Immulite 2000</i> [®]	CLIA
2. ANTIGÉNIOS ONCOPLACENTARES		
Gonadotrofina Coriônica Humana	<i>Immulite 2000</i> [®]	CLIA
3. ANTIGÉNIOS MUCÍNICOS		
Antígeno carboidrato 125	<i>Cobas e411</i>	ECLIA
Antígeno carboidrato 15.3	<i>Kryptor</i> [®]	TRACE
Antígeno Carboidrato 19.9	<i>Cobas e411</i>	ECLIA
Antígeno Carboidrato 72.4	<i>Cobas e411</i>	ECLIA
4. ANTIGÉNIOS TECIDULARES		
Antígeno do carcinoma das células escamosas	<i>Kryptor</i> [®]	TRACE
Antígeno Específico da Próstata (Total)	<i>Immulite 2000</i> [®] <i>Kryptor</i> [®]	CLIA ou TRACE

ANEXO I(cont.) - Marcadores Tumorais Séricos - Classificação e Metodologias^[3]

PARAMETRO	EQUIPAMENTO	TÉCNICA
4. ANTIGÉNIOS TECIDULARES		
Antigénio Específico da Próstata (Fracção Livre)	<i>Immulite 2000</i> [®]	CLIA
Tiroglobulina	<i>Immulite 2000</i> [®]	CLIA
5. CITOQUERATINAS		
Cyfra 21.1	<i>Cobas e411</i>	ECLIA
Antigénio Polipeptídico Tecidular	<i>Liaison</i> [®]	CLIA
6. ENZIMAS		
Enolase Neuro Específica	<i>Kryptor</i> [®]	TRACE
Fosfatase Ácida Prostática	<i>Immulite 2000</i> [®]	CLIA
Timidina Quinase	<i>Liaison</i> [®]	CLIA
7. PROTEÍNAS ESPECÍFICAS		
β 2 Microglobulina	<i>Immulite 2000</i> [®]	CLIA
Proteína S100	<i>Liaison</i> [®]	CLIA
Cromogranina A	<i>Kryptor</i> [®]	TRACE

ANEXO I (cont.) - Marcadores Tumorais Séricos - Classificação e Metodologias^[3]

PARAMETRO	EQUIPAMENTO	TÉCNICA
7. PROTEÍNAS ESPECÍFICAS		
Osteocalcina	<i>Cobas e411</i>	ECLIA
8. HORMONAS		
Gastrina	<i>Immulite 2000</i> [®]	CLIA
Calcitonina	<i>Immulite 2000</i> [®]	CLIA

ANEXO II - Marcadores Tumorais Séricos – Valores de referência (LPC-IPO)

PARAMETRO	VALOR	UNIDADE
AFP	< 5.50	U/mL
β2 Microglobulina	< 2.50	ng/dL
β- HCG	< 5.0	mUI/mL
CA 125	< 35.0	U/mL
CA 15.3	< 35.0	U/mL
CA 19.9	< 37.0	U/mL
CA 72.4	< 6.90	U/mL
Calcitonina	Homem : < 18.2 Mulher: < 11.5	pg/mL
CEA	Não fumadores < 3.4 Fumadores ≤ 5.2	ng/mL
Cromogranina A	19.4 – 98.1	mg/mL
Cyfra 21.1	< 3.30	ng/mL
Fosfatase Ácida Prostática	< 3.50	ng/mL
Gastrina	13 - 115	pg/mL
Neuroenolase específica	< 12.5	μg/L
Osteocalcina	Mulheres < 48 Homens < 46	ng /mL
Proteína S100	< 0.15	mg/mL
PSA Total	< 4.0	ng/mL
PSALivre/PSA Total	-	%
SCC	< 1.5	ng/mL
Timidina Quinase	< 7.5	U/L
Tiroglobulina	< 55	ngmL
TPA	< 75	U/L

ANEXO III - Química Clínica - Parâmetros, Perfis De Avaliação e Metodologias^[17]

PARAMETRO	EQUIPAMENTO	AMOSTRA	TECNICA	INTERFERÊNCIA
I. METABOLISMO DOS HIDRATOS DE CARBONO				
Glicose	<i>Cobas[®] c501</i> <i>Cobas[®] c311</i>	Soro, Urina e Líquidos biológicos	Enzimática UV (Hexoquinase)	Hemólise Icterícia, lipémia
	<i>Reflotron[®]</i> <i>Plus</i>	Soro, Plasma e Sangue total	Refractometria	
HbA _{1c}	<i>Cobas[®] c501</i> <i>Cobas[®] c311</i>	Sangue total	Imunoturbidimetria	Hemoglobinas anormais (HbC e HbS) e valores elevados de HbF
<i>1.1 Provas dinâmicas de estimulação hormonal</i>				
PTGO	<i>Cobas[®] c501</i> <i>Cobas[®] c311</i>	Soro	Enzimática UV (Hexoquinase)	Hemólise Icterícia, lipémia
2. METABOLISMO DOS LIPIDOS E LIPOPROTEÍNAS				
Colesterol Total	<i>Cobas[®] c501</i> <i>Cobas[®] c311</i>	Soro	Colorimétrica enzimática (CE [<i>esterase de colesterol</i>] - CHOD [<i>oxidase de colesterol</i>] - POD [<i>peroxidase</i>])	
	<i>Reflotron[®]</i> <i>Plus</i>	Soro, Plasma e Sangue total	Refractometria	

ANEXO III (cont.) - Química Clínica - Parâmetros, Perfis De Avaliação e Metodologias.^[17]

PARAMETRO	EQUIPAMENTO	AMOSTRA	TECNICA	INTERFERÊNCIA
2. METABOLISMO DOS LIPIDOS E LIPOPROTEÍNAS				
Triglicerídeos	<i>Cobas[®] c501</i> <i>Cobas[®] c311</i>	Soro	Colorimétrica enzimática CE [<i>esterase de colesterol</i>] - CHOD [<i>oxidase de colesterol</i>] - POD [<i>peroxidase</i>]	
	<i>Reflotron[®] Plus</i>	Soro, Plasma e Sangue total	Refractometria	
Colesterol HDL	<i>Cobas[®] c501</i> <i>Cobas[®] c311</i>	Soro	Colorimétrica enzimática (PEG-CE [<i>esterase de colesterol</i>] - PEG-CHOD [<i>oxidase de colesterol</i>] - POD [<i>peroxidase</i>])	
Colesterol LDL	<i>Cobas[®] c501</i> <i>Cobas[®] c311</i>	Soro	Colorimétrica enzimática (CE [<i>esterase de colesterol</i>] - CHOD [<i>oxidase de colesterol</i>] - POD [<i>peroxidase</i>])	

ANEXO III (cont.) - Química Clínica - Parâmetros, Perfis De Avaliação e Metodologias.^[17]

PARAMETRO	EQUIPAMENTO	AMOSTRA	TECNICA	INTERFERÊNCIA
3. AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO RENAL				
Creatinina	<i>Cobas® c501</i> <i>Cobas® c311</i>	Soro e Urina	Colorimétrica Cinética (Jaffé compensado)	
	<i>Reflotron® Plus</i>	Soro, Plasma e Sangue total	Refractometria	
<i>Clearence Creatinina</i>	<i>Cobas® c501</i> <i>Cobas® c311</i>	Soro e Urina	<i>Cálculo a partir do valor de creatinina no soro e na urina.</i>	
Ácido Úrico	<i>Cobas® c501</i> <i>Cobas® c311</i>	Soro, Urina e Líquidos Orgânicos	Colorimétrica enzimática ([uricase] – POD [peroxoxidase])	Derivados das purinas
	<i>Reflotron® Plus</i>	Soro, Plasma e Sangue total	Refractometria	
Ureia	<i>Cobas® c501</i> <i>Cobas® c311</i>	Soro, Urina e Líquidos Orgânicos	Enzimática UV (Urease – GLDH [glutamato desidrogenase])	Icterícia, hemólise e lipémia
	<i>Reflotron® Plus</i>	Soro, Plasma e Sangue total	Refractometria	
Azoto Ureico	<i>Cobas® c501</i> <i>Cobas® c311</i>	Soro	<i>Cálculo a partir do valor da ureia no soro</i>	

ANEXO III (cont.) - Química Clínica - Parâmetros, Perfis De Avaliação e Metodologias.^[17]

PARAMETRO	EQUIPAMENTO	AMOSTRA	TECNICA	INTERFERÊNCIA
4. AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO HEPÁTICA				
Fosfatase Alcalina	<i>Cobas® c501</i> <i>Cobas® c311</i>	Soro	Enzimática Colorimétrica (Substrato: p-nitrofenil fosfato)	Hemólise
	<i>Reflotron® Plus</i>	Soro, Plasma e Sangue total	Refractometria	
γ - Glutamiltranferase	<i>Cobas® c501</i> <i>Cobas® c311</i>	Soro	Colorimétrica Enzimática (Substrato: 5-amino-2-nitrobenzoato)	Hemólise
	<i>Reflotron® Plus</i>	Soro, Plasma e Sangue total	Refractometria	
Aspartato Aminotranferase	<i>Cobas® c501</i> <i>Cobas® c311</i>	Soro	Enzimática UV (Taxa de oxidação NADH)	Hemólise
	<i>Reflotron® Plus</i>	Soro, Plasma e Sangue total	Refractometria	
Alanina Aminotransferase	<i>Cobas® c501</i> <i>Cobas® c311</i>	Soro, Urina e Líquidos Orgânicos	Enzimática UV (Taxa de oxidação NADH)	Hemólise
	<i>Reflotron® Plus</i>	Soro, Plasma, Sangue T.	Refractometria	

ANEXO III (cont.) - Química Clínica - Parâmetros, Perfis De Avaliação e Metodologias.^[17]

PARAMETRO	EQUIPAMENTO	AMOSTRA	TECNICA	INTERFERÊNCIA
4. AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO HEPÁTICA				
Bilirrubina Total	<i>Cobas[®] c501</i> <i>Cobas[®] c311</i>	Soro	Enzimática Colorimétrica (3,5-diclorofenil diazônio)	Hemólise
	<i>Reflotron[®]</i> <i>Plus</i>	Soro, Plasma e Sangue total	Refractometria	
Bilirrubina Directa	<i>Cobas[®] c501</i> <i>Cobas[®] c311</i>	Soro	Enzimática Colorimétrica (ácido sulfanílico diazotizado)	Hemólise
Amónia	<i>Cobas[®] c501</i>	Plasma	Enzimática Colorimétrica (GLDH [glutamato desidrogenase])	Hemólise. Fumo do tabaco contém amónia (não fumar antes da colheita).
5. ELECTRÓLITOS E IÕES INORGÂNICOS / OLIGOELEMENTOS				
Sódio	<i>Cobas[®] c501</i> <i>Cobas[®] c311</i>	Soro, Urina e Líquidos orgânicos	Potenciometria (ISE- Ion Selective Electrode).	
	<i>RapidChem[™]</i> <i>744</i>	Soro e Urina		
	<i>Ciba Corning</i> <i>850[®]</i>	Sangue Total		

ANEXO III (cont.) - Química Clínica - Parâmetros, Perfis De Avaliação e Metodologias.^[17]

PARAMETRO	EQUIPAMENTO	AMOSTRA	TECNICA	INTERFERÊNCIA
5. ELECTRÓLITOS E IÕES INORGÂNICOS / OLIGOELEMENTOS				
Potássio	<i>Cobas[®] c501</i> <i>Cobas[®] c311</i>	Soro, urina e Líquidos orgânicos	Potenciometria (ISE- Ion Selective Electrodeo).	Hemólise
	<i>RapidChem[™] 744</i>	Soro e urina		
	<i>Ciba Corning 850[®]</i>	Sangue Total		
Cloro	<i>Cobas[®] c501</i> <i>Cobas[®] c311</i>	Soro, urina e Líquidos orgânicos	Potenciometria (ISE- Ion Selective Electrodeo).	
	<i>RapidChem[™] 744</i>	Soro e urina		
	<i>Ciba Corning 850[®]</i>	Sangue Total		
Cobre	Kit Manual <i>RANDOX Laboratoires Ltd</i>	Soro	Colorimétrica (3.5-Di-Br- PAESA)	Lipémia
Cálcio Total	<i>Cobas[®] c501</i> <i>Cobas[®] c311</i>	Soro e Urina	Enzimática e Colorimétrica (susstracto: complexona de o-cresoltaleína)	Contraste ressonância magnética contém quelantes de cálcio. Fármacos: sais de estrôncio (aumenta)

ANEXO III (cont.) - Química Clínica - Parâmetros, Perfis De Avaliação e Metodologias^[17].

PARAMETRO	EQUIPAMENTO	AMOSTRA	TECNICA	INTERFERÊNCIA
5. ELECTRÓLITOS E IÕES INORGÂNICOS / OLIGOELEMENTOS				
Cálcio ionizado	<i>ABL 555 Radiometer®</i>	Sangue Total	Potenciometria (ISE- Ion Selective Electrode), com correcção do valor de pH 7.4	O manusear a amostra anaerobicamente. Constrate para ressonância magnética.
	<i>Ciba Corning 850®</i>			
Magnésio	<i>Cobas® c501 Cobas® c311</i>	Soro	Enzimática Colorimétrica (Clorofosfonazo III).	Hemólise
Fósforo	<i>Cobas® c501 Cobas® c311</i>	Soro	Enzimática UV (Substracto: fosfomolibdato de amónio)	Hemólise
<i>5.1 Cinética de Ferro</i>				
Ferro	<i>Cobas® c501 Cobas® c311</i>	Soro	Colorimétrica (FerroZine)	Hemólise
<i>UIBC- Unsaturated Iron Binding Capacity</i>	<i>Cobas® c501 Cobas® c311</i>	Soro	Colorimétrica (FerroZine)	Hemólise
<i>TIBC- Unsaturated Iron Binding Capacity</i>	<i>Cobas® c501 Cobas® c311</i>	Soro	<i>Cálculo a partir do valor de UIBC e Ferro</i>	Hemólise

ANEXO III (cont.) - Química Clínica - Parâmetros, Perfis De Avaliação e Metodologias. ^[17]

PARAMETRO	EQUIPAMENTO	AMOSTRA	TECNICA	INTERFERÊNCIA
<i>5.1 Cinética de Ferro</i>				
% Saturação da transferrina	<i>Cobas® c501 Cobas® c311</i>	Soro	<i>Cálculo a partir do valor de TIBC e Ferro</i>	Hemólise
6. PROTEÍNAS				
Proteínas Totais	<i>Cobas® c501 Cobas® c311</i>	Soro	Colorimétrica (Complexo de Biureto)	
Proteínas	<i>Cobas® c501 Cobas® c311</i>	Urina e líquidos orgânicos	Turbidimetria (Cloreto de Benzetónio).	Na urina presença sangue (hemoglobina). Presença de sangue no LCR.
Albumina	<i>Cobas® c501 Cobas® c311</i>	Soro e Urina	Enzimática Colorimétrica (Verde de Bromocresol)	
Mucoproteínas	Manual Kit <i>Mucoprotein Fast</i> da <i>Biochemical Enterprise</i>	Soro	Colorimétrica (Ácido perclórico)	

ANEXO III (cont.) - Química Clínica - Parâmetros, Perfis De Avaliação e Metodologias.^[17]

PARAMETRO	EQUIPAMENTO	AMOSTRA	TECNICA	INTERFERÊNCIA
7. AVALIAÇÃO DA FUNÇÃO PANCREÁTICA EXÓCRINA				
Amilase	<i>Cobas[®] c501</i> <i>Cobas[®] c311</i>	Soro, urina e líquidos orgânicos	Enzimática UV (Substrato: Oligossacarídeos)	Lipémia
Lipase	<i>Cobas[®] c501</i> <i>Cobas[®] c311</i>	Soro	Colorimétrica Enzimática (Éster do ácido 1,2-O-dilauryl- rac-glicero-3 glutárico 6-metilresorufina)	Lipémia
8. INDICADORES DE LESÃO CELULAR				
Lactato desidrogenase	<i>Cobas[®] c501</i> <i>Cobas[®] c311</i>	Soro	Enzimática UV (Conversão do Lactato em Piruvato)	Hemólise
	<i>Reflotron[®] Plus</i>	Soro, Plasma e Sangue total	Refractometria	
Creatina Cinase	<i>Cobas[®] c501</i> <i>Cobas[®] c311</i>	Soro	Enzimática UV (Taxa de oxidação NADH)	Lipémia, hemólise e icterícia
	<i>Reflotron[®] Plus</i>	Soro, Plasma e Sangue total	Refractometria	

ANEXO III (cont.) - Química Clínica - Parâmetros, Perfis De Avaliação e Metodologias. ^[17]

PARAMETRO	EQUIPAMENTO	AMOSTRA	TECNICA	INTERFERÊNCIA
9. OUTRAS ENZIMAS				
Enzima Conversora da Angiotensina	<i>Cobas® c501 C</i>	Soro	Enzimática UV (Substrato: [fluoilacril-fenil-glicil-glicina-FAPGG])	Hemólise, lipémia e icterícia.
Fosfatase Ácida Total	<i>Cobas® c501 C</i>	Soro	Enzimática Colorimétrica (substrato: I-naftilfosfato)	
Fosfatase ácida não prostática	<i>Cobas® c501 C</i>	Soro	Enzimática Colorimétrica (substrato: I-naftilfosfato, é utilizado tártaro como inibidor ACP)	
Fosfatase prostática	<i>Cobas® c501 C</i>	Soro	<i>Calculada a partir dos valores da fosfatase ácida total e da não prostática</i>	

ANEXO III (cont.) - Química Clínica - Parâmetros, Perfis De Avaliação e Metodologias.

PARAMETRO	EQUIPAMENTO	AMOSTRA	TECNICA	INTERFERÊNCIA
10. PH E GASES NO SANGUE (GASOMETRIA ARTERIAL) ^[19]				
pH, pCO ₂ , Sódio, Cloro, Potássio, Cálcio ionizado	<i>Ciba Corning 850[®]</i>	Sangue total arterial	Potenciometria (ISE- Ion Selective Electrode)	Sangue arterial deverá ser heparinizado Bolhas de ar na amostra (influenciam o equilíbrio gasoso, aumentando pO ₂ e diminuindo pCO ₂)
pO ₂			Amperometria (electrodo de Clark)	
Hemoglobina e fracções(oxi, desoxi, carboxi, meta)			Espectrofotometr ia (Resultado é dado em percentagem através Fracção Hb/HbTotal x100)	
- Saturação de O ₂ -Bicarbonato -Excesso de bases - Conteúdo e capacidade da Hemoglobina em O ₂ -“Anion Gap” - Hematócrito			<i>Cálculo</i>	

ANEXO IV - Química Clínica - Valores de referência (LPC-IPO)

PARAMETRO	VALOR	UNIDADE
Ácido Úrico	Soro: 2.5 - 7.0	mg/dL
	Urina: 0.2 - 0.80	g/24H
Albumina	3.5 - 5.0	g/dL
Amilase	Soro: 28 - 100	U/L
	Urina: < 46	
Amónia	11 - 35	U/L
Bilirrubina Directa	0 - 0,25	mg/dL
Bilirrubina Total	0 - 1.0	mg/dL
Calcio Ionizado	1.14 - 1.29	mmol/L
Calcio Total	Soro: 8.6 - 10.5	mg/dL
	Urina: 80-300	mg/24H
Cretina Cinase	< 190	U/L
<i>Clearence Creatinina</i>	85 - 150	ml/minuto
Cloro	Soro: 95 - 110	mmol/L
	Urina: 110 - 250	mEq/24H
Cobre	Homem: 70-150	µg/dL
	Mulher: 80-155	
Colesterol Total	50 - 200	mg/dL
Colesterol-HDL	45 - 75	mg/dL
Colesterol-LDL	0 - 110	mg/dL
Creatinina	Soro: 0.5 - 1.2	mg/dL
	Urina: 0.6 - 2.0	g/24H
ECA	20 - 70	U/L
Ferro Sérico	60 - 190	µg/dL
Fosfatase Ácida Prostática	< 3.5	U/L
Fosfatase Ácida Total	< 6.5	U/L
Fosfatase Alcalina	<117	U/L

ANEXO IV (cont.) - Química Clínica - Valores de referência (LPC-IPO)

PARAMETRO	VALOR	UNIDADE
Fósforo	2.5 – 5.0	mg/dL
Gama Glutamiltransferase	11 – 49	U/L
Glicose	Soro: 70 – 115	mg/dl
	Urina: 1 -15	mg/24H
Hemoglobina glicada	4.0 – 6.0	%
Lactato desidrogenase	240 - 480	U/L
Lipase	<60	U/L
Magnésio	15.8 – 25.5	mg/L
Mucoproteínas	< 125	mg/dL
Potássio	3.5 – 5.3	mmol/L
Proteínas	Urina: <150	mg/24H
	LCR:15 – 45	mg/dL
Proteínas Totais	6.0 – 8.0	g/dL
PTGO	Gávida: Jejum < 92	
	1H <180	
	2H < 153	mg/dL
	Pré-Diabético: Jejum < 110	
	2H < 200	
Saturação Transferrina	15 - 45	%
Sódio	Soro: 135 – 150	mmol/L
	Urina: 40 – 300	mEq/24H
Aspartato Aminotransferase	< 38	U/L
Alanina Aminotransferase	< 41	U/L
TIBC	250 – 410	µg/dL
Triglicérides	70 - 200	mg/dL
Ureia	Soro: 10 – 50	mg/dL
	Urina: 10 - 35	g/24H