

## Problemas pré-analíticos em dosagens hormonais\*

Testes laboratoriais medem as condições fisiológicas em que se encontra um determinado indivíduo, em um determinado momento. Quando os valores encontrados estão acima ou abaixo dos valores de referência, o resultado é considerado anormal, com a possível confirmação de uma condição patológica. Na prática, porém existem condições onde os resultados de testes laboratoriais não se enquadram nos limites definidos como normais, e nem por isto o paciente apresenta uma condição patológica. Os testes que medem níveis séricos, plasmáticos ou urinários de hormônios são especialmente susceptíveis a estas variáveis, e as razões para que isto ocorra podem ser didaticamente divididas em três grupos:

- Fatores pré-analíticos;
- Fatores metodológicos;
- Fatores pós-analíticos.

Neste texto vamos trabalhar os fatores pré-analíticos. Estes são os fenômenos, que ocorrem antes da análise e podem interferir significativamente no resultado final da mesma. Incluem as condições do indivíduo, o processo de coleta da amostra e sua manipulação.

Também podem ser didaticamente divididos em:

### 1. Variações Fisiológicas que podem afetar os resultados ou a interpretação dos mesmos:

#### 1.1. Diferenças baseadas em valores de referência não representativos, ou falhas na obtenção de informações sobre o paciente

Um quesito fundamental para a análise de um resultado de uma dosagem hormonal é que os valores de referência utilizados (faixa de normalidade) sejam compatíveis com o paciente em estudo. **Dependendo da dosagem, quesitos como sexo, idade, horário de coleta, jejum e outras variáveis devem, obrigatoriamente, ser levadas em consideração.** Para que isto ocorra de maneira correta, as informações pertinentes devem ser de conhecimento do laboratório. Isso é particularmente importante no caso das dosagens hormonais, onde informações com idade, sexo e até período do ciclo menstrual são essenciais para determinação de hormônios como progesterona, hormônio luteinizante (LH), hormônio folículo estimulante (FSH), dentre outros. A idade é informação preciosa, por exemplo, na dosagem do sulfato de dehidroepiandrosterona (SDHEA) e até mesmo a hora da coleta é importante pela variação circadiana de alguns hormônios, como o cortisol.

#### 1.2. Dieta

A condição de jejum antes da coleta de uma dosagem hormonal é considerada básica sem que, na maioria das vezes, existam razões técnicas para tal. Alguns hormônios apresentam variações significativas com a ingestão alimentar, sendo os mais marcantes a insulina e o hormônio do crescimento. O cortisol também apresenta elevação significativa após uma refeição, bem como o paratormônio após a ingestão de quantidades elevadas de cálcio, mas **a maioria das dosagens hormonais é pouco ou nada afetada pelo jejum. Uma refeição copiosa pode, no entanto induzir a um estado de hipertrigliceridemia que potencialmente pode interferir nas dosagens, em especial de esteroides (amostra lipêmica).** Por outro lado, um jejum muito prolongado pode alterar as condições fisiológicas, levando a uma condição de estresse que pode elevar os valores de alguns hormônios como cortisol e dehidroepiandrosterona, mas pode levar a valores discretamente mais baixos em alguns hormônios hipofisários, como TSH, LH e FSH.

### 1.3. Variações Ditadas por Ritmos Biológicos

Estas podem ser de três tipos: as induzidas por ritmos circadianos (diários), fase do ciclo menstrual e ritmos circanuais. Quanto às variações circadianas, a mais conhecida e nítida é aquela do sistema ACTH/cortisol, que exige avaliação cuidadosa do horário de coleta antes da avaliação do resultado. **A informação do horário da coleta deve ser parte integrante do resultado das dosagens de ACTH e de cortisol.** Outros hormônios adrenais como a dehidroepiandrosterona (mas não seu sulfato) também apresentam ritmo circadiano, assim como alguns hormônios hipofisários como o TSH, e gonadais como a testosterona. Estes dados reforçam a informação de que a coleta em horário pré-definido pode ser crítica para alguns hormônios. **De qualquer maneira, como regra básica para o acompanhamento de um paciente, é muito interessante que qualquer dosagem hormonal seja feita sempre aproximadamente no mesmo horário.**

Com relação às variações decorrentes da evolução do ciclo menstrual, são muito marcantes em especial nos níveis dos hormônios diretamente relacionados com o mesmo, como LH, FSH, progesterona e estradiol. Outros esteróides de produção ovariana parcial, como a testosterona e androstenediona (aumentam na fase lútea e principalmente com o pico ovulatório) e 17 alfa-hidroxiprogesterona (aumenta na fase lútea), também apresentam flutuações significativas e devem ser interpretados levando-se em conta a época do ciclo em que foram colhidas as amostras. **Uma regra útil é efetuar a coleta de qualquer hormônio esteróide, não diretamente ligado ao ciclo menstrual, no início da fase folicular.** O término das menstruações também acarreta mudanças muito significativas nos níveis dos hormônios diretamente ligados ao ciclo, mudanças estas que podem começar a ocorrer algum tempo antes do término definitivo da perda sanguínea.

Quanto às variações circanuais, estas são de menor monta e restritas a regiões onde as estações são mais marcadas, como por exemplo, as variações de vitamina D em regiões de invernos longos com menor incidência de raios solares.

### 1.4. Variações Induzidas por Estresse Físico ou Emocional

Além das conhecidas alterações provocadas por estresse nos chamados "hormônios de estresse", como o ACTH, cortisol, catecolaminas, GH e prolactina, condições extremas podem levar a alterações nos níveis séricos de outros hormônios. A postura ereta por tempo significativo (horas), embora não seja considerada uma condição de estresse, pode acarretar alterações significativas em algumas dosagens hormonais.

Outras alterações são proporcionais ao fenômeno de estase venosa induzida pela postura, ou mesmo pelo garroteamento prolongado. Uma das condições de erro mais comuns é o encontro de níveis de cálcio (total e/ou ionizado) elevado pós-garroteamento por tempo prolongado. **Exercício físico de alta intensidade sabidamente leva a uma série de alterações laboratoriais**, como aumento de enzimas de origem muscular, e pode também induzir alterações nos ritmos hormonais.

### 1.5. Variações Devidas a Doenças Não Endócrinas

Afora a liberação dos "hormônios de estresse" já referidos, uma série de condições clínicas graves, mas não endócrinas, podem levar a alterações significativas dos níveis hormonais. Uma das condições mais observada é a chamada "*euthyroid sick syndrome*" que na realidade se compõe de uma série de alterações de níveis de hormônios tiroideanos induzidas por alterações metabólicas não relacionadas diretamente à função tiroideana. **A interpretação dos níveis de T4 e T3, totais e livres, e mesmo de TSH podem ser bastante complexa em doentes graves.** Pode também ocorrer inibição da liberação de alguns hormônios hipofisários, como LH e FSH em condições como estágios avançados da infecção por HIV.

## 1.6. Efeitos Gerados por Medicacões Hormonais

O uso de medicações hormonais traz, evidentemente, profundas alteracões nas dosagens dos hormônios relacionados. **As condiçõs mais comuns se relacionam à interpretaçã de TSH e de hormônios tiroideanos na vigência de uso de medicamentos a base de tiroxina e/ou triiodotironina. É fundamental o conhecimento sobre o uso ou não dos hormônios tiroideanos, bem como o horário de tomada da última dose.** Infelizmente esta informaçaõ nem sempre é disponível, muitas vezes porque o próprio paciente não está a par de que algumas "fórmulas naturais" para emagrecimento incluem hormônios tiroideanos. **Outra condiçã potencialmente problemática se refere à dosagem de cortisol em pacientes em uso de glicocorticóide exógeno.** Neste caso podemos ter duas condiçõs distintas: se o corticóide em uso é a hidrocortisona os valores encontrados podem ser extremamente elevados, e sem valor diagnóstico. No caso do corticóide exógeno não apresentar reatividade cruzada com no ensaio de cortisol, o que ocorre com praticamente todos os medicamentos utilizados (com exceçaõ da hidrocortisona), os valores de cortisol serão suprimidos. Caso especial é o emprego de prednisona, que apresenta reatividade cruzada variável com a maioria dos anticorpos empregados nos ensaios de rotina de cortisol.

Outra condiçã encontrada com relativa frequêcia é a supressã parcial dos níveis de TSH pelo emprego de doses farmacológicas de corticóides, sendo que estudos recentes demonstraram que mesmo as flutuaçõs dos níveis de cortisol em níveis fisiológicos influenciam a secreçaõ de TSH. Outra alteraçã reportada é a queda dos níveis de T4 total, livre e de rT3, com aumento de T3, observados em pacientes com deficiêcia isolada de GH ao longo dos primeiros meses de terapia com GH. Além dos efeitos diretos e óbvios do uso de gonadotrofinas (LH, FSH, hCG) no nível sérico das mesmas (lembrar que vários ensaios de LH apresentam reatividade cruzada com hCG), os níveis de LH e FSH podem ser suprimidos com o uso de anabólicos esteróides. Tal prática é cada vez mais comum, e se acompanha de níveis suprimidos de testosterona nos homens, e de níveis suprimidos de estradiol nas mulheres, simulando uma condiçã de hipogonadismo hipogonadotrófico. Outra condiçã cada vez mais freqüente é o uso de testosterona por mulheres, que vem tendo aplicaçõs cada vez mais amplas. Nossa experiêcia prática é de que os níveis encontrados em mulheres em reposiçaõ são em geral acima da faixa de normalidade para a faixa etária, sendo nitidamente dose-dependentes.

## 2. Variaçõs devidas ao método empregado na coleta da amostra

### 2.1. Origem da Amostra

No caso das dosagens hormonais sanguíneas, não existem razõs para a amostra não ser de origem venosa, daí ser desnecessária a discussã sobre as possíveis diferenças entre amostras capilares, arteriais e venosas.

### 2.2. Contaminaçõs por fluidos endovenosos

Em pacientes internados é comum a instalaçã de linhas endovenosas para infusã de fluidos e aplicaçã de medicaçõs endovenosas. Um cuidado óbvio, mas algumas vezes negligenciado, é que a retirada de amostras sanguíneas para a execuçaõ de análises laboratoriais deve ser feita em veia afastada do local da infusã, por exemplo, no braço contralateral. As dosagens mais frequentemente alteradas por erros de local de coleta são a glicemia, calcemia e cortisol, além de resultados falsamente baixos em funçaõ de diluiçaõ com soluçaõ salina.

### 2.3. Hemólise

A hemólise é fenômeno comum e que pode acarretar em problemas técnicos. A razã para a ocorrêcia de hemólise *in vitro*, após a coleta da amostra, pode ter várias origens. As mais comuns são físicas, como a aplicaçã de vácuo excessivo, quer na retirada, quer na transferêcia da amostra. Outra razã pode ser a existêcia de pequena quantidade de água no tubo, o que também ocasiona graus variáveis de hemólise.

Como regra geral, a hemólise libera o conteúdo eritrocitário transferindo para o soro uma quantidade significativa de enzimas proteolíticas. Dessa maneira, **as determinações potencialmente mais susceptíveis são as dos hormônios peptídicos. Dentre estes se destacam a insulina, o glucagon, o PTH, o ACTH e a calcitonina, dentre os mais sensíveis. No caso da insulina a presença de hemólise invalida a dosagem, levando a resultados falsamente baixos.** Nunca esquecer que a hemólise leva a um aumento dos níveis de potássio sérico, fato que pode ter importância numa avaliação de função adrenal.

#### 2.4. Tipo de tubo empregado na coleta e tipo de amostra

O tipo de tubo empregado na coleta da amostra deve estar em conformidade com a metodologia empregada na determinação, e com as características do analito. Assim, a título de exemplo, a dosagem de ACTH implica numa série de cuidados no sentido de evitar a degradação enzimática do hormônio e geralmente inicia-se com a coleta em tubos contendo EDTA, que atua como anticoagulante, possibilitando a centrifugação rápida, e também como inibidor enzimático. No entanto alguns anticoagulantes são incompatíveis com algumas metodologias, como por exemplo, o mesmo EDTA é incompatível com ensaios por metodologia imunofluorométrica, isto porque o traçador desses ensaios, o európio, é quelado pelo EDTA presente na amostra, invalidando o método.

A preparação de tubos com soluções anticoagulantes no próprio laboratório pode causar diferentes graus de interferência. Inúmeros relatos de variações na dosagem de cálcio causados por diferentes preparações de heparina tem sido descritas. **Uma padronização cuidadosa no uso de anticoagulantes deve existir para permitir a obtenção de valores confiáveis.**

### 3. Variações devidas a problemas pós-coleta

Esse grupo de interferências está relacionado a problemas de acondicionamento das amostras. Em ambiente hospitalar é comum a "Síndrome do Bolso do Avental", caracterizada pelo esquecimento de amostras no bolso do avental em condições nada ideais para a preservação de analitos raros (temperatura ambiente, não separação de soro/plasma, agitação). Em ambiente laboratorial o problema basicamente se prende ao envio de amostras para laboratórios de referência em outras cidades e até mesmo em outros estados. Mesmo com a embalagem correta, muitas vezes as amostras são submetidas a condições não usuais durante o transporte (atraso de vôos, manipulação não cuidadosa das embalagens, exposição ao sol, etc.). Do ponto de vista prático uma atitude rígida quanto às condições de recebimento das amostras é a única maneira de se evitar gastos desnecessários e, mais importante, diagnósticos errôneos.

\*Adaptado do texto de autoria do Dr. José Gilberto Henriques Vieira.