Artigo original

Análise da influência dos fatores pré-analíticos nas dosagens de ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro, índice de saturação da transferrina e ferritina"

Evaluation of the influence of pre-analytical factors on serum iron levels, total iron binding capacity, transferrin saturation index and ferritin

Ana Carolina Anes Ferreira[1], Bruna Duarte Navarro Fonseca[1], Isabela Pereira Fernandes[1], Paula Sales Neves[1], Rafael Antônio Hauck Figueiredo[1], Viviane Fernandes de Borja Generoso[1], Rômulo Carvalho Vaz de Melo[2], Marcelo Dias de Castro[2]

[1] Fundação José Bonifácio Lafayette de Andrada, Barbacena, Minas Gerais - Brasil.

2 Universidade Federal de Juiz de Fora, Barbacena, Minas Gerais - Brasil.

Autor Correspondente: Marcelo Dias de Castro. E-mail: marcelohemato@yahoo.com.br

Resumo

Introdução: o ferro é um mineral extremamente importante para a fisiologia humana. Objetivos: avaliar o efeito do ciclo circadiano, jejum e exercício nas dosagens de ferro sérico, capacidade total de ligação do ferro, índice de saturação de transferrina e ferritina, em indivíduos de 18 a 60 anos de ambos os sexos. Métodos: Foram selecionados 80 voluntários na cidade de Barbacena-MG. Foram coletadas quatro amostras de sangue, sendo a primeira delas, em estado de jejum; a segunda na tarde do mesmo dia, a terceira, na manhã do dia seguinte à primeira coleta, todavia, sem a realização de jejum, e a quarta, neste mesmo dia, na parte da manhã, após a realização de 10 minutos de atividade física de moderada intensidade. Resultados: As análises demonstraram que a comparação entre as amostras coletadas no período da manhã, com a realização prévia de jejum frente às colhidas sem a realização prévia de jejum, demonstrou que os níveis de Ferro sérico e Índice de Saturação da Transferrina (IST) foram mais elevados. O ritmo circadiano demonstrou efeito significativo na dosagem do IST. A avaliação do efeito da atividade física nos níveis dos analitos não demonstrou diferenças significativas entre os níveis basais e os níveis dosados após a realização da atividade física. Conclusão: Recomenda-se a padronização da dosagem de Ferro Sérico pelos laboratórios, para que seja coletado sempre em jejum no período da manhã.

Palavras-chave: Ferro. Fatores pré-analíticos. Jejum. Atividade física. Ciclo circadiano.

Summary

Introduction: The iron is an extremely important mineral to the human physiology. Objectives: To assess the effect of circadian rhythm, fasting, and exercise on serum iron levels, total iron-binding capacity, transferrin saturation index, and ferritin in individuals aged 18 to 60 of both sexes. Methods: 80 volunteers from the city of Barbacena-MG were selected. Four blood samples were collected: the first in a fasting state, the second in the afternoon of the same day, the third the next morning without fasting, and the fourth on the same day in the morning after 10 minutes of moderate-intensity physical activity. Results: Analyses showed that comparing samples collected in the morning with prior fasting to those collected without fasting demonstrated higher levels of serum iron and Transferrin Saturation Index (TSI). Circadian rhythm showed a significant effect on TSI levels. The evaluation of the effect of physical activity on analyte levels did not show significant differences between baseline levels and levels measured after physical activity. Conclusion: It is recommended to standardize serum iron measurement by laboratories, always collecting it in a fasting state in the morning.

Keywords: Iron. Pre-analytical factors. Physical activity. Circadian rhythm.

INTRODUÇÃO

As dosagens da chamada cinética do ferro, incluindo Ferro sérico, Capacidade total de Ligação do Ferro (CTLF) e Índice de Saturação de Transferrina (IST), somada a dosagem de Ferritina Sérica, constituem-se testes amplamente solicitados na investigação de distúrbios relacionados ao metabolismo desse mineral. Particularmente, devido à elevada prevalência, a sua deficiência, que leva ao desenvolvimento da anemia ferropriva, condição que acomete 20,9% das crianças menores que 5 anos no Brasil, de acordo com a Pesquisa Nacional de Demografia e Saúde.[1]

Com o objetivo de minimizar as possíveis variações associadas, e garantir maior nível de confiabilidade dos resultados, é necessário se identificar os fatores pré-analíticos envolvidos na dosagem dessas substâncias, tais como, variação do ciclo circadiano, dieta, jejum e prática de atividade física. De uma maneira geral, esses fatores podem corresponder à maior parte dos "erros" nas dosagens laboratoriais [2], embora cada laboratório tenha sua referência, não havendo padronização entre os valores, o que, também, dificulta para o paciente.

Já está descrita na literatura variação diurna nos resultados do ferro, estando documentada variação dos níveis ao longo do dia [3], todavia, sem que haja consenso sobre se os valores estão mais elevados no período da manhã ou da tarde, e a magnitude dessa possível diferença [4-9].

Também não há consenso sobre a influência do estado de jejum e da realização de atividades físicas imediatamente antes da coleta nos resultados da cinética do ferro e da ferritina sérica [3].

O presente trabalho tem como objetivo avaliar o efeito de variáveis pré-analíticas como a realização ou não de jejum previamente à coleta, a influência do ritmo circadiano e o impacto da atividade física imediatamente antes da coleta, nas dosagens de Ferro sérico, Capacidade Total de Ligação do Ferro (CTLF), Índice de saturação de Transferrina (IST) e Ferritina sérica em indivíduos jovens e saudáveis.

METODOLOGIA

Desenho experimental

Trata-se de um estudo prospectivo experimental de avaliação de efeitos pré-analíticos nas dosagens de ferro, ferritina, índice de saturação da transferrina e capacidade total de ligação do ferro.

Amostra

O cálculo do tamanho amostral foi elaborado considerando-se nível de significância de 95%, desvio padrão de 5% e diferença significativa de 20% (margem de erro). O tamanho amostral obtido foi de 24 indivíduos. Considerando a possibilidade de perda de voluntários durante a pesquisa, foram convidados inicialmente 80 voluntários saudáveis, de ambos os sexos, com idade entre 18 e 60 anos para participarem da pesquisa. Foram excluídos os portadores de doenças físicas que impossibilitariam a realização de exercício físico e usuários de fármacos que alteram a dosagem de ferro sérico.

Coleta do material

A coleta das amostras foi realizada no Laboratório da Faculdade de Medicina de Barbacena, e no Laboratório São José, ambos em Barbacena-MG. Os voluntários foram submetidos a quatro coletas de sangue, sendo a primeira delas realizada na parte da manhã, entre 08:00 e 10:00, em estado de jejum; a segunda na tarde do mesmo dia, no período entre 16:00 e 18:00; a terceira, na manhã do dia seguinte à primeira coleta, entre 08:00 e 10:00, todavia, sem a realização de jejum, e a quarta, neste mesmo dia, na parte da manhã, após a realização de 10 minutos de atividade física de moderada intensidade (saltos em cama elástica).

Após as coletas, as amostras foram mantidas sob refrigeração entre 2º e 8º C, e em seguida, transportadas até o Laboratório São José de Barbacena, responsável pela execução dos testes.

A dosagem de ferro sérico, ferritina, índice de saturação da transferrina e capacidade total de ligação do ferro foi realizada pelo método colorimétrico enzimático, e de ferritina pelo método de imunoturbidimetria, com reagentes da marca Elitech®, no equipamento ADVIA 1200®. [4,5]

Aspectos éticos

O presente trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) sob o número do parecer 5.629.540.

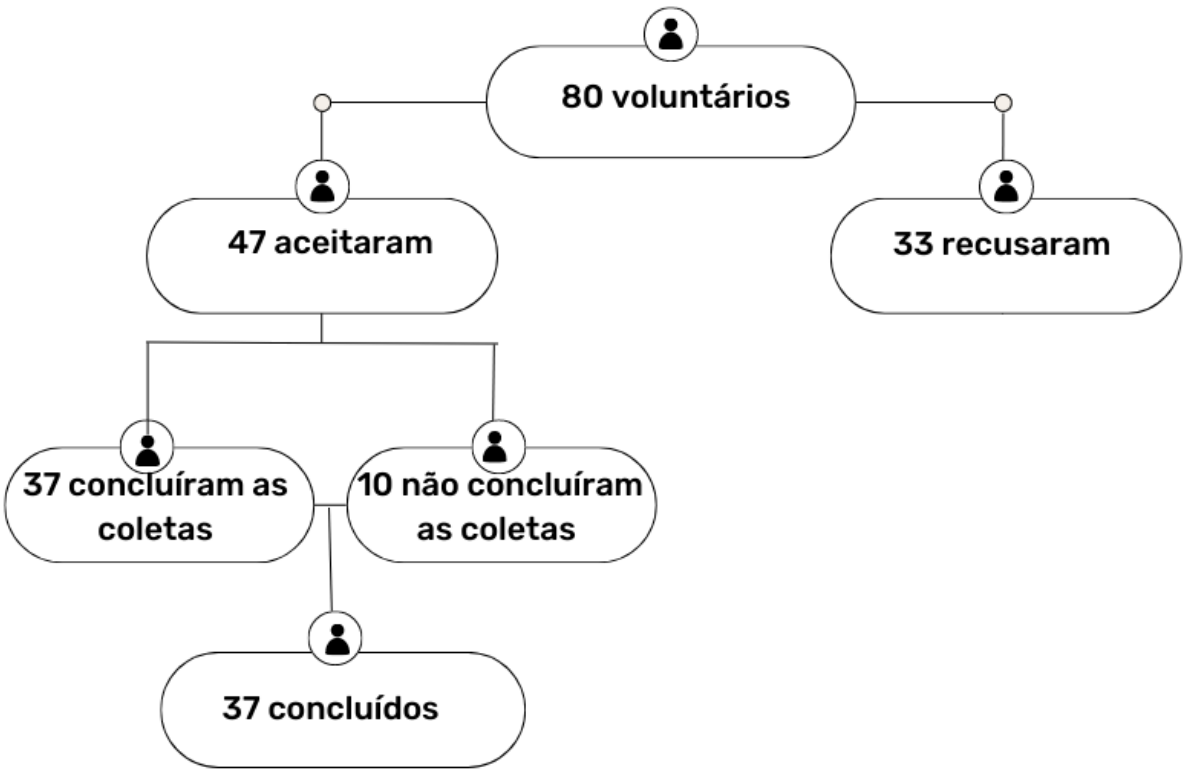
Análise estatística

Os resultados obtidos foram transcritos para uma base de dados processada em software estatístico Minitab 19® para Windows®. Foram produzidas tabelas do tipo linhas por colunas com frequências absoluta e relativa, e calculadas medidas de tendência central e de dispersão. Em virtude da distribuição não normal dos valores, foi utilizada a mediana das dosagens para cálculo das diferenças estatísticas, por meio do teste de Mann-Whitney. O nível considerado de relevância estatística foi de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Foram convidados 80 voluntários adultos, de ambos os sexos, com idade entre 18 e 60 anos para participarem da pesquisa, a fim de ser alcançada a amostra desejada, todavia, apenas 47 concordaram em participar (figura 1). Nenhum deles preencheu os critérios de exclusão. Apenas 37 indivíduos completaram todas as coletas, os outros 10 deixaram de coletar em algum momento do estudo, sendo essa a amostra final. A tabela 1 demonstra a análise descritiva dos níveis dos analitos obtidos em cada uma das coletas realizadas no estudo.

Figura 1: Fluxograma dos participantes do estudo



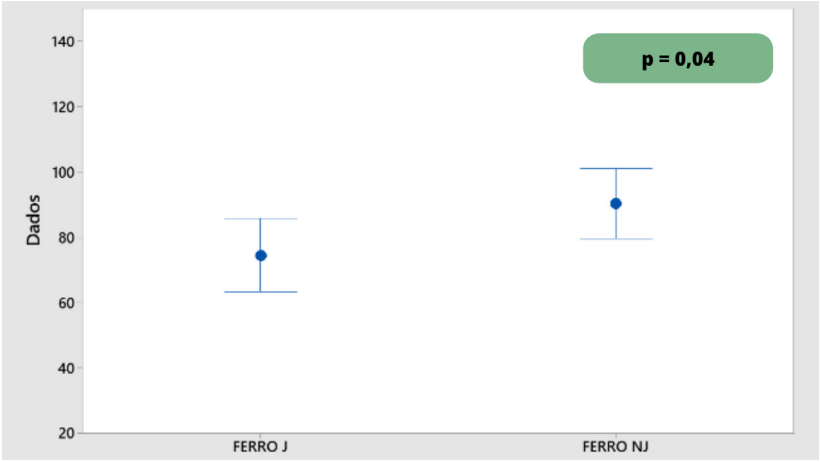
Fonte: elaborado pelo autor.

Tabela 1. Níveis de CTLF, IST, Ferro e Ferritina obtidos nas coletas realizadas nos diferentes tempos nos participantes do estudo (37 indivíduos). Fonte: elaborado pelo autor.

	Manhã com jejum		Manhã sem jejum		Manhã após atividade física		Tarde	
	Mediana	DP	Mediana	DP	Mediana	DP	Mediana	DP
CTLF (mcg/dL)	360	100	355	79,6	369	63,7	381	81,8
IST (%)	20,0	10,2	25,0	9,8	24,0	9,9	16,0	4,4
Ferro (mcg/dL)	69,0	33,7	85,0	32,4	92,0	32,4	60,0	17,5
Ferritina (mcg/L)	52,0	57,5	47,0	54,8	52,0	57,1	60,0	58,0

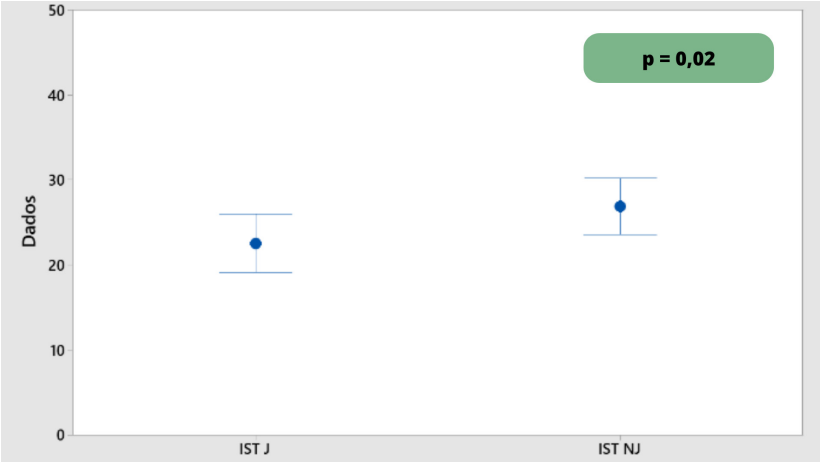
A comparação entre a mediana das amostras coletadas no período da manhã, com a realização prévia de jejum frente as colhidas sem a realização prévia de jejum, demonstrou que os tanto os níveis de Ferro Sérico quanto Índice de Saturação da Transferrina foram maiores sem a realização prévia de jejum antes das coletas, em cerca de 30%, com valores de p=0,04 e p=0,02 respectivamente (figuras 2 e 3). As demais dosagens não apresentaram alteração considerando-se a realização ou não de jejum prévio à coleta.

Figura 2: Níveis de Ferro sérico matinal com e sem a realização de jejum prévio à coleta.



Fonte: elaborado pelo autor

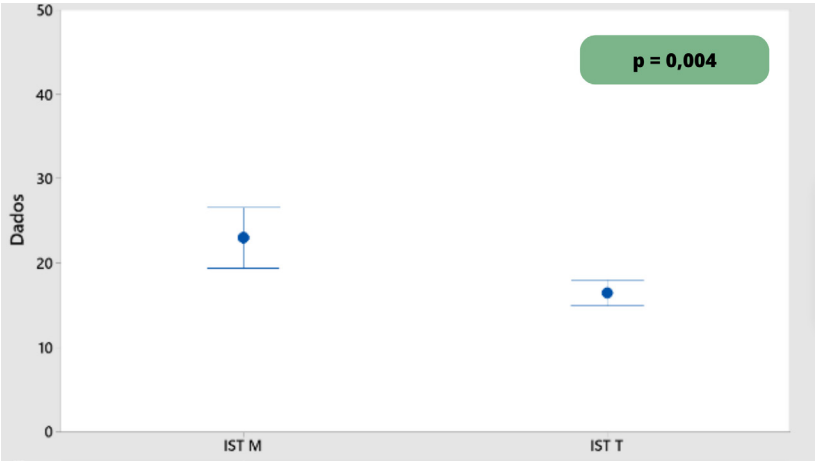
Figura 3: Níveis de Índice de Saturação da Transferrina matinal com e sem a realização de jejum prévio à coleta.



Fonte: elaborado pelo autor

Em relação a comparação entre a mediana dos valores das amostras colhidas na parte da manhã frente a das amostras colhidas na parte da tarde, demonstrou níveis mais baixos do Índice de Saturação de Transferrina, em cerca de 20% na parte da tarde, com valor de p=0,004 (figura 4). Não foi observada diferença, com significância estatística, em relação aos demais analitos.

Figura 4: Níveis de Índice de Saturação da Transferrina durante a manhã e à tarde.



Fonte: elaborado pelo autor

A comparação entre a mediana dos valores dos analitos das amostras colhidas em estado basal e após a realização de atividade física não demonstrou a ocorrência de diferenças com nível de significância estatístico. -

DISCUSSÃO

A maior parte dos erros envolvidos na realização de exames laboratoriais ocorrem na fase pré-analítica, constituindo-se de fatores que podem alterar os resultados das dosagens antes da análise das amostras. Esses erros são amplamente subestimados e merecem maior atenção por parte da comunidade científica, com o objetivo de identificá-los, e minimizá-los, proporcionando segurança nas decisões médicas, bem como um atendimento adequado ao paciente [9]. Nesse contexto, o presente estudo buscou avaliar a influência do jejum, da realização de atividades físicas antes da coleta e do ritmo circadiano nas dosagens da chamada cinética do ferro.

É sabido que a ingestão de refeições, sólidas e líquidas, promove flutuações de conteúdos no sangue [10], alterações hormonais reativas, ativação do sistema imune, estresse oxidativo e hemodiluição [11]. Sendo assim, a realização de jejum previamente à coleta de sangue é uma recomendação comum.

As dosagens de ferro sérico e IST sofreram alterações de acordo com a realização de jejum ou não em nosso estudo, apresentando valores maiores no último caso. Os dados coletados estão em concordância com uma coorte baseada em resultados laboratoriais obtidos em 276.307 indivíduos feito por Nguyen *et al.*, em 2017 [12].

No entanto, jejuns muito prolongados (12 horas em média) aumentam a taxa de ferro sérico, o que pode vir a ocorrer por hemoconcentração. Isso porque, apesar dos pacientes ingerirem água de forma livre durante esse período, é provável que, diante dessas horas, a desidratação ocorra em comunhão ao sono, fazendo com que alguns constituintes do sangue aumentem em concentração[13,14].

O estudo demonstrou ainda que os níveis de Índice de Saturação da Transferrina sofreram alteração com o ritmo circadiano, apresentando valores menores à tarde, quando comparados com os valores obtidos pela manhã, com valor de $p = 0,004$. A queda do IST foi próxima a 20%, sem mudanças significativas em outros analitos. Apesar de não termos avaliado a concentração noturna do Ferro Sérico, nossos dados vão de encontro com os obtidos por um estudo de Sinniah *et al.*, em 1968, que observou elevação dos níveis frente aos obtidos pela manhã.

É importante destacarmos que o mecanismo circadiano é comandado pelos núcleos hipotalâmicos e o mesmo pode ser interrompido por mudanças no horário de sono ou por privação deste [15]. Sendo assim, indivíduos podem apresentar diferentes fases circadianas, como aqueles que trabalham em turnos noturnos, representando 20% da população no mundo desenvolvido [16]. Isso faz com que os padrões se alterem, modificando, assim, os resultados finais do exame.

A ausência de influência da atividade física nos resultados dos testes demonstra que essa variável pré-analítica provavelmente apresenta pouca importância nas análises da cinética do ferro, não precisando ser levado em consideração nas orientações de preparo antes da coleta.

É indispensável assinalar que houveram limitações durante o processo do estudo, visto que o tema possui poucas referências e abordagens práticas para embasamento de pesquisa, além de baixa adesão da população em participar como objeto de análise. No entanto, há pontos significativos, como o auxílio na padronização de abordagem das amostras sanguíneas.

CONCLUSÃO

É possível concluirmos que a padronização da dosagem de Ferro Sérico e do Índice de saturação da transferrina pelos laboratórios deve ser considerada, sendo aconselhável a coleta no período da manhã, com o paciente em jejum, a fim de uma análise mais fidedigna dos índices e variantes do ferro. Diante disso, pode ser dito que os diagnósticos patológicos oriundos de alterações férricas serão mais precisos e fiéis à realidade, produzindo um tratamento adequado à condição orgânica do indivíduo analisado.

REFERÊNCIAS

1. Guyatt GH, Oxman AD, Ali M, Willan A, McIlroy W, Patterson C. Laboratory diagnosis of iron-deficiency anemia: an overview. J Gen Intern Med. 1992 Mar;7(2):145–53.

2. Lippi G, Becan-McBride K, Behúlová D, Bowen RA, Church S, Delanghe J, *et al.* Preanalytical quality improvement: in quality we trust. Clin Chem Lab Med. 2013 Jan;51(1):229–41.

3. Dale JC, Burritt MF, Zinsmeister AR. Diurnal Variation of Serum Iron, Iron-Binding Capacity. Transferrin Saturation, and Ferritin Levels. Am J Clin Pathol. 2002 May 1;117(5):802–8.

4. HØYER K. Physiologic Variations in the Iron Content of human Blood Serum. Acta Medica Scandinavica. 2009 Apr 24;119(6):562–76.

5. Hamilton LD, Gubler CJ, Cartwright GE, Wintrobe MM. Diurnal variation in the plasma iron level of man. Proc Soc Exp Biol Med. 1950 Oct 1;75(1):65–8.

6. Statland BE, Winkel P, Bokelund H. Variation of serum iron concentration in young healthy men: within-day and day-to-day changes. Clin Biochem. 1976 Jan;9(1):26–9.

7. Wiltink WF, Kruithof J, Mol C, GréBos M, Van Eijk HG. Diurnal and nocturnal variations of the serum iron in normal subjects. Clin Chim Acta. 1973 Nov;49(1):99–104.

8. Bowie EJ, Tauxe WN, Sjoberg Jr WE, Yamaguchi MY. DAILY VARIATION IN THE CONCENTRATION OF IRON IN SERUM. Am J Clin Pathol. 1963 Nov 1;40:491–4.

9. Costongs GM, Janson PC, Bas BM, Hermans J, van Wersch JW, Brombacher PJ. Short-term and long-term intra-individual variations and critical differences of clinical chemical laboratory parameters. J Clin Chem Clin Biochem. 1985 Jan 1;23(1):7–16.

10. Lima-Oliveira G, Salvagno GL, Lippi G, Gelati M, Montagnana M, Danese E, *et al.* Influence of a Regular, Standardized Meal on Clinical Chemistry Analytes. Ann Lab Med. 2012;32(4):250.

11. Bailey D, Bevilacqua V, Colantonio D, Pasic MD, Perumal N, Chan M, *et al.* Pediatric Within-Day Biological Variation and Quality Specifications for 38 Biochemical Markers in the CALIPER Cohort. Clin Chem. 2014 Mar 1;60(3):518–29.

12. Nguyen LT, Buse JD, Baskin L, Sadrzadeh SMH, Naugler C. Influence of diurnal variation and fasting on serum iron concentrations in a community-based population. Clinical Biochemistry. 2017 Dec 1;50(18):1237–42.

13. Sinniah R, Doggart JR, Neill DW. Diurnal Variations of the Serum Iron in Normal Subjects and in Patients with Haemochromatosis. British Journal of Haematology. 1969 Oct;17(4):351–8.

14. Sidhu D, Naugler C. Fasting Time and Lipid Levels in a Community-Based Population. Archives of Internal Medicine. 2012 Dec 10;172(22):1707.

15. Hastings MH, Reddy AB, Maywood ES. A clockwork web: circadian timing in brain and periphery, in health and disease. Nature Reviews Neuroscience. 2003 Aug;4(8):649–61.

16. Puttonen S, Kivimäki M, Elovainio M, Pulkki-Råback L, Hintsanen M, Vahtera J, *et al.* Shift work in young adults and carotid artery intima–media thickness: The Cardiovascular Risk in Young Finns study. Atherosclerosis. 2009 Aug;205(2):608–13.