

# Avaliação da influência de fatores pré-analíticos nas dosagens de testosterona total em homens jovens saudáveis

## *Evaluation of the influence of pre-analytical factors on total testosterone levels in healthy young men*

Isabela L. Lima; Isabelly M. Neves; Izabela R. Costa; Matheus C. Caplum; Pedro C. B. Oliveira; Rômulo C. Vaz de Mello

Faculdade de Medicina de Barbacena Fundação José Bonifácio Lafayette de Andrada, Barbacena, Minas Gerais, Brasil.

### RESUMO

**Introdução:** A testosterona é o principal hormônio regulador das funções reprodutivas masculinas, participando diretamente da espermatogênese e do aumento da atividade sexual. A dosagem sanguínea desse hormônio é fundamental no diagnóstico de distúrbios neuroendócrinos, como o hipogonadismo. Entretanto, há pouca padronização no preparo adequado do paciente para a coleta do hormônio em laboratórios clínicos. **Objetivo:** Avaliar o efeito de variáveis pré-analíticas, incluindo realização de jejum, variação circadiana e sazonal nas dosagens de testosterona em jovens saudáveis do sexo masculino. **Material e métodos:** Foram selecionados 42 voluntários para o estudo, na cidade de Barbacena, Minas Gerais. Quatro amostras de sangue de cada um dos participantes foram coletadas, sendo três no inverno: a primeira de manhã, em jejum; a segunda à tarde, sem jejum; a terceira no dia seguinte, de manhã, sem jejum. A última foi coletada no verão, na parte da manhã, em jejum. **Resultados:** As análises demonstraram que houve diminuição significativa dos níveis de testosterona total quando não foi realizado jejum de 8 horas antes da coleta e no período da tarde em comparação ao período da manhã, ambos com valor de  $p < 0,001$ . Não houve diferença significativa nos resultados obtidos no inverno e no verão. **Conclusão:** Recomendamos que os laboratórios clínicos padronizem a coleta de testosterona total com a realização do exame no período da manhã e em jejum de 8 horas, a fim de reduzir a variabilidade e garantir a confiabilidade nos resultados.

**Unitermos:** testosterona total; fatores pré-analíticos; jejum; ritmo circadiano; variação sazonal.

### ABSTRACT

**Introduction:** Testosterone is the main hormone that regulates male reproductive functions, directly participating in spermatogenesis and increasing sexual activity. The blood measurement of this hormone is essential for the diagnosis of neuroendocrine disorders, such as hypogonadism. However, there is lack of standardization regarding patient preparation for the hormone collection in clinical laboratories. **Objective:** Evaluate the effect of pre-analytical variables, including fasting, circadian and seasonal variation on testosterone levels in healthy young males. **Material and methods:** Forty-two volunteers were selected for the study, in the city of Barbacena, Minas Gerais. Four blood samples were collected from each of the participants, three in the winter: the first one in the morning after fasting; the second in the afternoon, without fasting; the third, in the next day morning, without fasting; and the last one taken in the summer, in the morning, after fasting. **Results:** The analyses showed that there was a significant decrease in total testosterone levels when there was no fasting for eight hours prior to collection and in the afternoon compared to the morning, both with  $p < 0.001$ . There was no significant difference in the results obtained in winter and summer. **Conclusion:** It is recommended that clinical laboratories standardize the collection of total testosterone by performing the test in the morning and after an eight-hour fast, in order to reduce variability and ensure reliability in the results.

**Key words:** total testosterone; pre-analytical factors; fasting; circadian rhythm; seasonal variation.

## RESUMEN

**Introducción:** La testosterona es la principal hormona reguladora de funciones reproductoras masculinas, participando directamente en la espermatogénesis y en el aumento de la actividad sexual. La medición sanguínea de esa hormona es fundamental en el diagnóstico de trastornos neuroendocrinos, como el hipogonadismo. Sin embargo, hay poca estandarización en la preparación adecuada del paciente para la recolección de la hormona en laboratorios clínicos. **Objetivo:** Evaluar el efecto de variables preanalíticas, incluyendo ayuno, variación circadiana y estacional en las mediciones de testosterona en hombres jóvenes sanos. **Material y métodos:** Se eligieron 42 voluntarios para el estudio, en la ciudad de Barbacena, Minas Gerais. Se tomaron cuatro muestras de sangre de cada uno de los participantes, de las cuales tres en invierno: la primera, matutina, en ayunas; la segunda, vespertina, sin ayunas; la tercera, el día siguiente, matutina, sin ayunas; el última se recolectó en verano, por la mañana, en ayunas. **Resultados:** Los análisis demostraron que hubo reducción significativa en los niveles de testosterona total cuando no se realizó el ayuno de ocho horas antes de la recolección y en el período vespertino en comparación al matutino, ambos con valor de  $p < 0,001$ . No hubo diferencia significativa en los resultados obtenidos en invierno y en verano. **Conclusión:** Se recomienda que los laboratorios clínicos estandaricen la recolección de testosterona total con la realización de la prueba en el período matutino y en ayuno de ocho horas, para reducir la variación y garantizar la confiabilidad de los resultados.

**Palabras clave:** testosterona total; factores preanalíticos; ayuno; ritmo circadiano; variación estacional.

## INTRODUÇÃO

A testosterona é um hormônio esteroide formado nas células intersticiais de Leydig e secretado pelos testículos, sendo o principal regulador das funções reprodutivas masculinas<sup>(1)</sup>, como o desenvolvimento e a manutenção dos caracteres sexuais secundários no início da puberdade, a manutenção da espermatogênese e o aumento da atividade sexual<sup>(2)</sup>. Também atua como hormônio anabólico, promovendo características sexuais secundárias no homem, como crescimento dos pelos corporais, desenvolvimento muscular, libido, crescimento do pênis, diferenciação sexual e espermatogênese, além de ter efeitos sobre o comportamento. Sua liberação é dependente do hormônio liberador de gonadotrofina (GnRH) hipotalâmico, que estimula a hipófise anterior a sintetizar e liberar os hormônios luteinizantes (LH) e o folículo estimulante (FSH), responsáveis pelo estímulo da secreção pulsátil de testosterona pelo testículo<sup>(3)</sup>.

A dosagem sérica da testosterona é utilizada para detecção de níveis anormais em indivíduos do sexo masculino e do sexo feminino, auxiliando no diagnóstico de distúrbios hormonais, na monitorização do estado gonadal e na terapia de reposição hormonal<sup>(4)</sup>.

Com o intuito de minimizar as possíveis variações associadas e garantir um maior nível de confiabilidade dos resultados, é necessário identificar os fatores pré-analíticos envolvidos na dosagem da testosterona total<sup>(5)</sup>. De maneira geral, esses fatores podem corresponder à maior parte dos “erros” nas dosagens laboratoriais<sup>(6)</sup>. As influências do ritmo circadiano<sup>(1, 7, 8)</sup>,

do jejum e da sazonalidade nos níveis de testosterona<sup>(9, 10)</sup> têm sido demonstradas nos níveis de testosterona, porém, as referências que corroboram o real efeito e a magnitude desses fatores pré-analíticos nos resultados de testosterona ainda são limitadas<sup>(2)</sup>.

## OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito de variáveis pré-analíticas, como jejum ou não antes da coleta, influência do ritmo circadiano e impacto da variação sazonal nas dosagens de testosterona total em indivíduos jovens saudáveis do sexo masculino.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Desenho experimental

Esse é um estudo prospectivo experimental para avaliar os efeitos pré-analíticos nas dosagens de testosterona total. O protocolo foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Medicina de Barbacena sob o número de protocolo 3.059.834.

### Amostra

O cálculo do tamanho da amostra demonstrou que uma amostra constituída por 30 indivíduos, em cada aferição, permitiria um nível de significância de 95% e um poder amostral

de 97,2%. Cientes da possibilidade de perda de voluntários durante a pesquisa, aplicamos o fator de correção para garantir segurança ao poder amostral, justificando um número inicial maior de voluntários. Convidamos para a pesquisa 138 estudantes voluntários saudáveis do sexo masculino, com idade entre 20 e 30 anos; entre eles, 42 aceitaram participar. Portadores de doenças que afetam a produção e/ou metabolismo de testosterona, usuários de medicamentos que alteram a síntese desse hormônio e usuários de testosterona exógena e derivados ou quaisquer outros esteroides anabolizantes sintéticos no último ano foram excluídos do estudo. Dois voluntários atenderam a um ou mais critérios de exclusão, e a amostra foi composta por 40 indivíduos.

### Coleta do material

A coleta das amostras foi realizada no Laboratório da Faculdade de Medicina de Barbacena, em Barbacena, Minas Gerais. Os voluntários realizaram quatro coletas de sangue: as três primeiras no inverno, a quarta no verão. A primeira coleta foi realizada no inverno, no período da manhã, entre 7 h e 8h30, com jejum prévio de 8 horas. Na tarde do mesmo dia, foi realizada a segunda coleta, entre 18 h e 19 h, após os voluntários terem se alimentado o dia todo. A terceira coleta foi feita no dia seguinte, pela manhã, entre 7 h e 8h30, sem jejum prévio de 8 horas. Por fim, a quarta coleta foi realizada no verão, aproximadamente seis meses após as primeiras coletas, no período da manhã, entre 7 h e 8h30, com jejum prévio de 8 horas.

Após as coletas, as amostras foram mantidas sob refrigeração entre 2°C e 8°C e, em seguida, transportadas até o Laboratório São José de Barbacena, responsável pela execução dos testes. A dosagem da testosterona total foi realizada por imunoenensaio quimioluminescente quantitativo comercial no equipamento Access II®, Beckman Coulter<sup>®(11, 12)</sup>.

### Análise estatística

Os resultados obtidos foram transcritos para uma base de dados processada em *software* estatístico Minitab 17<sup>®</sup> para Windows<sup>®</sup>. Tabelas do tipo linhas por colunas foram produzidas com frequências absoluta e relativa, e foram calculadas as medidas de tendência central e de dispersão. Devido à distribuição não normal dos valores, foi utilizada a mediana das dosagens para cálculo das diferenças estatísticas, por meio do teste não paramétrico de Mann-Whitney. Um valor de  $p < 0,01$  foi considerado estatisticamente significativo.

## RESULTADOS

A **Tabela** demonstra a distribuição dos valores obtidos de testosterona total em cada uma das coletas realizadas no estudo.

TABELA – Níveis de testosterona obtidos nas coletas realizadas

Coleta	Tipo de amostra	n	Níveis de testosterona total (ng/dl)				
			Mínimo	Q1	Mediana	Q3	Máximo
1 <sup>a</sup>	Inverno (manhã com jejum)	40	282	355	452	519	809
2 <sup>a</sup>	Inverno (tarde)	40	129	274	354	419	669
3 <sup>a</sup>	Inverno (manhã sem jejum)	40	173	264	326	394	579
4 <sup>a</sup>	Verão (manhã com jejum)	38	287	393	484	591	692

Após a coleta inicial das três primeiras amostras, dois voluntários não compareceram à última coleta; portanto, a análise dos níveis de testosterona no verão foi conduzida com 38 indivíduos.

A comparação entre as amostras coletadas no período da manhã, com ou sem jejum prévio de 8 horas, demonstrou que a ausência do jejum levou a uma diminuição de 28% nos níveis medianos de testosterona total, com valor de  $p < 0,0001$  (**Figura 1**).

O efeito do ritmo circadiano na dosagem de testosterona total foi determinado pela comparação entre os níveis medianos obtidos no período da manhã e aqueles encontrados no período da tarde. Verificou-se diminuição de 22% nos níveis da tarde em relação aos níveis da manhã, com valor de  $p = 0,0002$  (**Figura 2**).

Por fim, o efeito sazonal foi determinado pela comparação entre os níveis medianos de testosterona total das amostras obtidas no período da manhã, com jejum prévio, coletadas no inverno, e as coletadas no verão. Não houve diferença estatística entre os níveis médios dessas amostras, com valor de  $p = 0,151$  (**Figura 3**).

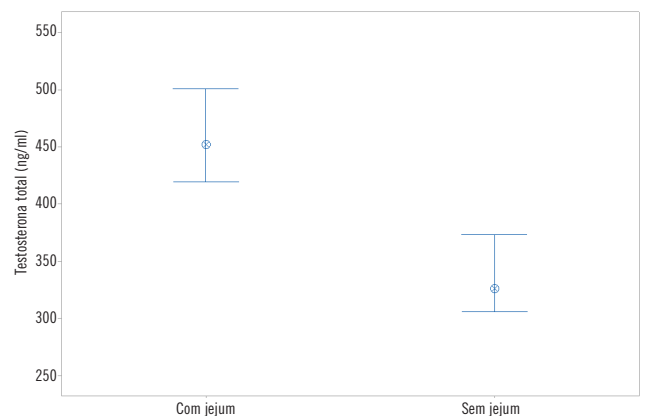


FIGURA 1 – Distribuição dos valores medianos de testosterona total com os participantes da coleta realizando ou não jejum de 8 horas

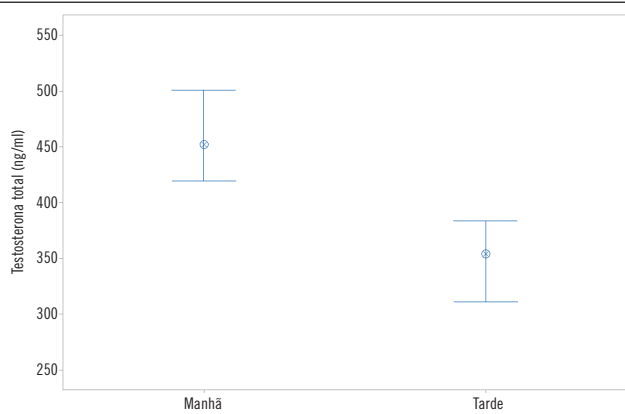


FIGURA 2 – Distribuição dos valores médios de testosterona total no período da manhã e da tarde

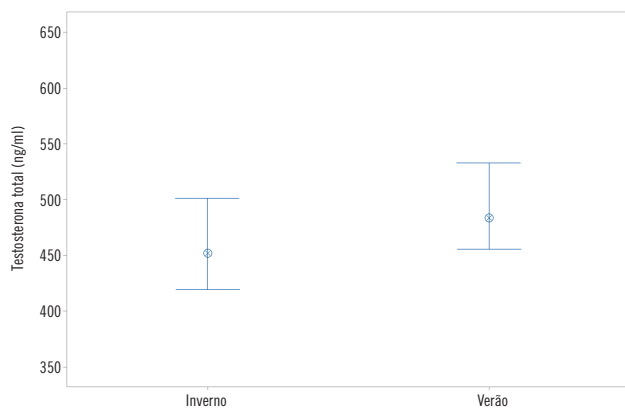


FIGURA 3 – Distribuição dos valores médios de testosterona total no período da manhã no inverno e no verão

## DISCUSSÃO

A literatura médico-laboratorial apresenta inúmeros exemplos de alterações significativas nas dosagens laboratoriais devido a fatores pré-analíticos, sendo estes os principais fatores responsáveis por inadequações nos resultados laboratoriais<sup>(6)</sup>. No presente estudo, demonstramos a influência significativa do jejum, antes da coleta, e do ritmo circadiano, na concentração sérica de testosterona total.

A determinação dos níveis séricos desse hormônio é fundamental para o diagnóstico do hipogonadismo em homens, e de acordo com a Sociedade Brasileira de Endocrinologia (SBEM) e a Sociedade Americana de Urologia (AUA) (Diretrizes da AUA – Avaliação e Gerenciamento da Deficiência de Testosterona) a testosterona total abaixo de 300 ng/dl é considerada um valor de corte razoável no diagnóstico desta condição. Para tanto, são recomendados dois valores abaixo

desse ponto de corte, em duas medidas realizadas em ocasiões diferentes, ambas no início da manhã. Tal recomendação é corroborada pela Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML)<sup>(13)</sup>.

Nosso estudo confirmou a necessidade absoluta de jejum de pelo menos 8 horas, antes da coleta, para padronizar a interpretação dos resultados, pois a sua não realização provocou uma queda de 28% nos níveis, em torno de 126 ng/dl em números absolutos, o suficiente para classificar erroneamente um indivíduo saudável como portador de hipogonadismo. Não foram encontrados materiais científicos que demonstrassem a influência do jejum em um curto período de tempo, como as 8 horas propostas pelo presente no estudo, como variável sobre os níveis de testosterona.

Um estudo elaborado por Rojdmarm (1987)<sup>(14)</sup> relaciona a realização de jejum intermitente, de 48 horas, com a diminuição dos valores basais do hormônio. O autor sugere que essa alteração poderia decorrer da redução do hormônio GnRh e, conseqüentemente, da diminuição do LH, resultando em menor ativação das células de Leyding e menor produção de testosterona. A diferença fica evidente entre a avaliação proposta pelo referido autor e a proposta desse estudo. Todavia, entendemos que mais estudos são necessários para avaliar melhor os impactos do jejum sobre os níveis de testosterona.

Em relação ao período da manhã, os níveis de testosterona total foram confirmados como inferiores em cerca de 22%. Em números absolutos, a diferença de 98 ng/dl nas medianas obtidas também foi suficiente para classificar um indivíduo saudável com hipogonadismo. Essa variação circadiana havia sido descrita anteriormente<sup>(3, 8)</sup>, sobretudo em homens jovens saudáveis<sup>(7, 10)</sup>. Lac e Chamoux (2006)<sup>(15)</sup> demonstraram redução na concentração hormonal em 30%-40% no período da tarde em relação à manhã. Um único estudo, de Kirschner *et al.* (1965), não evidenciou variação circadiana nos níveis de testosterona, porém, possivelmente devido à pequena amostragem total ( $n = 8$ ).

A influência da estação do ano nos níveis de testosterona total não foi encontrada neste estudo, não concordando com o que foi observado em outros estudos publicados anteriormente<sup>(16-20)</sup>. Um estudo realizado em Topson, na Noruega, demonstrou uma relação inversa entre horas de luz solar e temperatura média mensal com o nível total de testosterona. Assim, níveis mais baixos são observados em meses de maiores temperaturas e maior exposição solar<sup>(21)</sup>. Acreditamos que o principal fator que pode ter ocasionado essa discrepância de resultados reside no fato de

a Noruega ser um país localizado no extremo norte do planeta, com possíveis variações de temperatura e exposição solar nas estações do ano. Em nossa região, foi observada uma pequena variação nas temperaturas médias mensais nos meses das coletas, sendo, em ambos os períodos, próxima a 20°C<sup>(22)</sup>. Além disso, estamos sujeitos a uma variação menor na incidência solar, em comparação com a Noruega. Assim, acreditamos que a variação sazonal não é realmente um fator pré-analítico relevante em nossa região.

## CONCLUSÃO

---

O presente estudo possibilitou concluir sobre a importância dos laboratórios clínicos padronizarem a realização da coleta da testosterona, com jejum de pelo menos 8 horas antes do exame, e no início da manhã, a fim de minimizar o impacto dessas variáveis pré-analíticas na interpretação dos resultados do hormônio. A importante redução observada pode resultar em diagnóstico incorreto de distúrbio gonadal em um indivíduo saudável.

## REFERÊNCIAS

---

1. Reinberg A, Lagoguey M. Circadian and circannual rhythms in sexual activity and plasma hormones (FSH, LH, Testosterone) of five human males. *Arch Sex Behav*. 1978; 7(1): 13-30. PubMed PMID: 637684.
2. Smals AG, Kloppenborg PW, Benraad TJ. Circannual cycle in plasma testosterone levels in man. *J Clin Endocrinol Metab*. 1976; 42(5): 979-82. PubMed PMID: 1270587.
3. Sharpe RM. Testosterone and spermatogenesis. *J Endocrinol*. 1987; 113(1): 1-2. PubMed PMID: 3585219.
4. Diver, MJ. Analytical and physiological factors affecting the interpretation of serum testosterone concentration in men. *Ann Clin Biochem*. 2006; 43(1): 3-12. PubMed PMID: 16390603.
5. Raff H, Sluss PM. Pre-analytical issues for testosterone and estradiol assays. *Steroids*. 2008; 73(13): 1297-1304. PubMed PMID: 18589466.
6. Lippi G, Becan-McBride K, Behúlová D, et al. Preanalytical quality improvement: in quality we trust. *Clin Chem Lab Med*. 2013; 51(1): 229-41. PubMed PMID: 23072858.
7. Reinberg A, Lagoguey M, Chauffournier JM, Cesselin F. Circannual and circadian rhythms in plasma testosterone in five healthy young Parisian males. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1975; 80(4): 732-34. PubMed PMID: 1242580.
8. Dabbs JM Jr. Salivary testosterone measurements: reliability across hours, days, and weeks. *Physiol Behav*. 1990; 48(1): 83-86. PubMed PMID: 2236282.
9. Nicolau GY, Lakatu D, Sackett-Lundeen L, Haus E. Circadian and circannual rhythms of hormonal variables in elderly men and women. *Chronobiol Inter*. 1984; 1(4): 301-19. PubMed PMID: 6600031.
10. Abbaticchio G, de Fini M, Giagulli VA, Santoro G, Vendola G, Giorgino R. Circannual rhythms in reproductive functions of human males, correlations among hormones and hormone-dependent parameters. *Andrologia*. 1987; 19(3): 353-61. PubMed PMID: 3115144.
11. Köninger A, Schmidt B, Mach P, et al. Anti-Müllerian-Hormone during pregnancy and peripartum using the new Beckman Coulter AMH Gen II Assay. *Reprod Biol Endocrinol*. 2015; 13(1): 1-7. PubMed PMID: 26250904.
12. Stefanello FL, de Peder LD, da Silva CM. Avaliação do Nível Sérico do Antígeno Prostático Específico em Homens da Cidade de Corbélia-PR. *Revista Saúde e Pesquisa [Internet]*. 2014; 7(1): 65-71. Disponível em: <https://periodicos.unicesumar.edu.br/index.php/saudpesq/article/view/3334/2210>.
13. Sociedade Brasileira de Patologia Clínica/Medicina Laboratorial (SBPC/ML). Coleta e Preparo da Amostra Biológica. Barueri (SP); 2014. Disponível em: [http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/livro\\_coleta\\_biologica2013.pdf](http://www.sbpc.org.br/upload/conteudo/livro_coleta_biologica2013.pdf).
14. Röjdmarm S. Influence of short-term fasting on the pituitary-testicular axis in normal men. *Horm Res*. 1987; 25(3): 140-6. PubMed PMID: 3106181.
15. Lac G, Chamoux A. Les rythmes circannuels du cortisol et de la testostérone interfèrent-ils avec les variations de ces hormones liées à d'autres événements? *Ann Endocrinol*. 2006; 67(1): 60-63. PubMed PMID: 16596060.
16. Bellastella A, Esposito V, Mango A, D'Alessandro B. Temporal relationship between circannual levels of luteinizing hormone and testosterone in prepubertal boys with constitutional short stature. *Chronobiologia*. 1982; 9(2): 123-25. PubMed PMID: 7117036.
17. Nicolau GY, Haus E, Lakatua DJ, et al. Circadian and circannual variations of FSH, LH, testosterone, dehydroepiandrosterone-sulfate (DHEA-S) and 17-hydroxy progesterone (17 OH-Prog) in elderly men and women. *Endocrinologie*. 1985; 23(4): 223-46. PubMed PMID: 2935925.
18. Reinberg A, Smolensky MH, Hallek M, Smith KD, Steinberger E. Annual variation in semen characteristics and plasma hormone levels in men undergoing vasectomy. *Fertility and Sterility*. 1988; 49(2): 309-15. PubMed PMID: 3123279.
19. Dabbs JM Jr. Age and seasonal variation in serum testosterone concentration among men. *Chronobiol Int*. 1990; 7(3): 245-49. PubMed PMID: 2268886.

20. Perry HM, Miller DK, Morley JE. Testosterone and leptin in older African-American men: relationship to age, strength, function, and season. *Metabolism*. 2000; 49(8): 1085-91. PubMed PMID: 10954031.
21. Svartberg J, Jorde R, Sundsfjord J, Børnaa KH, Barrett-Connor E. Seasonal variation of testosterone and waist to hip ratio in men: the Tromsø study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88(7): 3099-3104. PubMed PMID: 12843149.
22. AccuWeather [homepage na Internet]. Análise das condições meteorológicas mensais em Barbacena, Minas Gerais, Brasil [acessado em: 28 fev 2020]. Disponível em: <https://www.accuweather.com/pt/br/barbacena/33802/august-weather/33802?year=2019&view=list>.

---

**AUTOR CORRESPONDENTE**

Rômulo Carvalho Vaz de Mello  000-0003-2179-3743  
e-mail: romulovm@gmail.com



This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License.