

AVALIAÇÃO DOS MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DA 25(OH)D₃

Luisa dos Reis Sambaquy^a, Guilherme Gaboardi^a, Júlia de Souza Borges^a, Mauricio Sprenger Bassuino^{a*}

a) Centro Universitário da Serra Gaúcha - FSG

*Mauricio Sprenger Bassuino

Endereço: Rua Os Dezoito do Forte, 2366 - Caxias do Sul - RS -
CEP: 95020-472

Palavras-chave:

Vitamina D. Determinação. Metabólitos.
Assay. Methods.

INTRODUÇÃO: A Vitamina D apresenta características semelhantes às demais vitaminas, contudo, exerce papel de hormônio. Sua síntese ocorre pela exposição solar e também pela dieta (MUNASINGHE *et al*, 2017). Suas formas precursoras são a Vitamina D₂ (VitD₂), Ergocalciferol, e a Vitamina D₃ (VitD₃), Colecalciferol. A VitD₂ provém apenas da dieta, enquanto a VitD₃ é sintetizada pela irradiação do 7-dihidrocolesterol ou também pelos alimentos (ALVES *et al*, 2013). As formas precursoras são inertes e necessitam de duas hidroxilações, no fígado e no rim, tornando-se 25(OH)D₃, forma parcialmente hidrossolúvel carregada ligada à proteína carreadora de vitamina D (DBP) (IQBAL *et al*, 2017), e 1,25(OH)₂D₃, forma biologicamente ativa (ALVES *et al*, 2013). Sua função principal é relacionada ao metabolismo do cálcio, promovendo sua absorção (ALVES *et al*, 2013). Receptores de Vitamina D foram encontrados em diferentes tecidos, suportando a ideia que existam efeitos extra ósseos (HOLICK *et al*, 2011; IQBAL *et al*, 2017). Segundo a Sociedade Americana de Endocrinologia, valores séricos de 25(OH)D₃ ≤ 20ng/mL são classificados como deficiência, entre 21-29ng/mL insuficiência e ≥ 30ng/mL representam suficiência (HOLLICK *et al*, 2011). Dificuldades para estabelecer diagnósticos podem ser encontradas devido a variações entre métodos utilizados para dosar a 25(OH)D₃ (ALVES, *et al*, 2013; IQBAL *et al*, 2017). O objetivo do presente estudo é verificar na literatura qual o melhor método para dosar a 25(OH)D₃. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram avaliados artigos em inglês e português, de 2008 a 2017 com os termos "Vitamina D, Determinação, Metabólitos, Assay, Clia" nas plataformas digitais, Google Acadêmico, PubMed e Scielo. **RESULTADOS E DISCUSSÕES:** Devido ao grande número de metodologias para a dosagem da 25(OH)D₃, o

presente trabalho abordará características dos métodos ELISA e Quimioluminescência (CLIA), tais como gama de detecção, coeficiente de variação intra-ensaios e tempo mínimo de análise com o padrão ouro, a cromatografia líquida de alto desempenho acoplada à espectrometria de massa (HPLC-MS/MS) (MAEDA, *et al*, 2014). ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay): Este teste utiliza soro ou plasma (VAZ, *et al*, 2010), e baseia-se na ligação de um antígeno com um anticorpo ligado a uma enzima, sendo que um destes é imobilizado em fase sólida. A reação produz um substrato cromógeno, que é analisado por um espectrofotômetro. Quando utilizado para a dosagem de 25(OH)D₃ observa-se uma gama de detecção de 6-360nmol/L, coeficiente de variação intra-ensaios de 6-10% e intervalo mínimo de três horas para a realização (ZERWEKH, 2008). Quimioluminescência (CLIA): É o método mais utilizado para a análise de 25(OH)D₃ (HOLLIS, 2011). Consiste na emissão de luz por moléculas que passam do estado de excitação para seu estado eletrônico basal em determinadas reações químicas, geralmente envolvendo oxidação (VAZ *et al*, 2010). Esta emissão de luz pode variar de segundos a minutos, de acordo com o metabólito analisado. Ao dosar-se 25(OH)D₃, observa-se gama de detecção de 7,5 – 375 nmol/L, coeficiente de variação intra-ensaios de 4% e intervalo médio de 40 minutos para a realização (ZERWEKH, 2008). Cromatografia Líquida de Alto Desempenho Acoplada à Espectrometria de Massa (HPLC-MS/MS): Considerado o padrão ouro para a dosagem da 25(OH)D (MAEDA *et al*, 2014; HOLLIS, 2011), contando com a vantagem única de dosar-se a 25(OH)D₂ e 25(OH)D₃ separadamente, sendo útil para a avaliação da suplementação de 25(OH)D₂, visto que a 25(OH)D₃ é endógena. É considerado um método trabalhoso, que necessita de forte padronização do laboratório e de um volume relativamente grande de amostra (em torno de 500uL). Por ser considerada uma metodologia trabalhosa, necessitando de extração e purificação da amostra antes de sua análise, e levando em consideração seu alto custo de aquisição, este método não é usualmente empregado na rotina de laboratórios de análises clínicas, sendo mais utilizado para fins de pesquisa e de validação para outras técnicas de dosagem (HOLLIS, 2011). Quando utilizado para a aferição da 25(OH)D₃, observa-se uma gama de detecção de até 1250nmol/L; coeficiente de variação intra-ensaios de 5,2% e um intervalo de cerca de 20 minutos para a leitura da amostra (ZERWEKH, 2008). **CONCLUSÃO:** É possível concluir que todos os métodos revisados para dosagem de 25(OH)D₃ são eficazes. Entretanto, é necessário ao laboratório escolher qual metodologia enquadra-se melhor em sua rotina, levando em conta seu número de análises diárias e

disponibilidade de recursos para a aquisição de determinado equipamento e seus respectivos testes.

REFERÊNCIAS

ALVES, M.; BASTOS M.; LEITÃO F.; MARQUES G.; RIBEIRO G.; CARRILHO F. Vitamina D – Importância da Avaliação Laboratorial. **Revista Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo**. p. 32-39, 2013.

HOLICK M.F.; BINKLEY N.C.; BISCHOFF-FERRARI H.A.; GORDON C.M.; HANLEY D.A.; HEANEY R.P.; MURAD M. H.; WEAVER C.M. Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**. p. 1911–1930, 2011.

HOLLIS, B.W. Assessment and Interpretation of Circulating 25-Hydroxyvitamin D and 1,25-Dihydroxyvitamin D in the Clinical Environment. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**. 2011.

IQBAL, A.M.; DAHL, A.R.; LTEIF A.; KUMAR S. Vitamin D Deficiency: A Potential Modifiable Risk Factor for Cardiovascular Disease in Children with Severe Obesity. **Children**. 2017.

MAEDA S.S.; BORBA V.Z.C.; CAMARGO M.B.R.; SILVA D.M.W.; BORGES, J.L.C; BANDEIRA, F.; LAZARETTI-CASTRO, M. Recomendações da Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia (SBEM) para o diagnóstico e tratamento da hipovitaminose D. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**. p. 411 – 433, 2014.

MUNASINGHE L.L.; WILLOWS, N.D.; YUAN, Y.; EKWARU, J.P.; VEUGELERS, P.J. Vitamin D Sufficiency of Canadian Children Did Not Improve Following the 2010 Revision of the Dietary Guidelines That Recommend Higher Intake of Vitamin D: An Analysis of the Canadian Health Measures Survey. **Nutrients**. 2017.

VAZ, A.J.; TAKEI, K.; BUENO, E. C. **Imunoensaios: fundamentos e aplicações**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

ZERWEKH J. E. Blood biomarkers of vitamin D status. **The American Journal of Clinical Nutrition.** p. 1087 – 1091, 2008.