

Tiroid Fonksiyon Testlerinde Sirkadiyen Ritim Analizi

Circadian Rhythm Analysis in Thyroid Function Tests

Belkız Öngen İpek **Mustafa Erinç Sitar**

Maltepe Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya, İstanbul, Türkiye

Başvuru Tarihi: 18 Temmuz 2019

Kabul Tarihi: 26 Ağustos 2019

Kısaltmalar: Tiroid stimulan hormon (TSH); serbest T3 (fT3); serbest T4 (fT4); subklinik hipotiroidi (SH)

ÖZET

Amaç: Tiroid hormon testleri sirkadiyen ritim göstermektedir. Bu çalışmada görünürde sağlıklı ve tiroid hormon replasmanı alan hipotiroidi tanılı hastalarda aynı gün içerisinde sabah, öğle ve öğleden sonra alınan örneklerde çalışılan Tiroid Stimulan Hormon (TSH) ve serbest T4 (fT4) test sonuçlarının değişimi araştırılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya görünürde sağlıklı gönüllüler (n=10) ve hipotiroidi tanısı ile replasman tedavisi alan (n=10) hastalar dâhil edilmiş ve her kişiden aynı gün içinde üçer defa kan alınmıştır. Örnekler, flebotomi zamanı esas alınarak sabah 8.00-9.00 arasında toplananlar "Grup A", öğlen 11.00-12.00 arasında toplananlar "Grup B" ve öğleden sonra 15.00-16.00 saatleri arasında toplananlar "Grup C" olarak adlandırılmıştır. Serum TSH ve fT4 düzeyleri, Roche Hitachi e170 cihazında immunoassay yöntemi ile çalışılmıştır.

Bulgular: Görünürde sağlıklı kişilerde TSH testinin Grup A ile Grup B değişimi %29,9, Grup A ile Grup C değişimi %32,2 ve Grup B ile Grup C değişimi %10,6 bulundu. Görünürde sağlıklı kişilerde fT4 testinin değişimi tüm gruplarda %10'un altında bulundu. Replasman tedavisi alan kişilerde TSH testinin Grup A ile Grup B değişimi %27,4, Grup A ile Grup C değişimi %30,2 ve Grup B ile Grup C değişimi %10,1; replasman tedavili kişilerde fT4 testinin değişimi ise sadece Grup A ile B arasında %10'un üzerinde %13 bulundu.

Sonuç: Tiroid hastalıklarının tanı ve tedavisinde en sık kullanılan test olan TSH, gün içerisinde sirkadiyen ritim göstermekte ve hastadan örneğin alındığı saat önem arz etmektedir. TSH testinin sabah saat 8.00-9.00'da alınan örneklerin sonucunun daha yüksek olduğu ancak fT4 sonuçlarının saatler arasında klinik olarak önemli oranda değişmediği görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: fT4; preanalitik evre; sirkadiyen ritim; TSH

Belkız Öngen İpek : <https://orcid.org/0000-0002-2998-263X>
Mustafa Erinç Sitar : <https://orcid.org/0000-0001-5114-8660>

Yazışma adresi: Belkız Öngen İpek
Maltepe Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya
AD, İstanbul, Türkiye
e-mail: belkiz.ongen@maltepe.edu.tr

ABSTRACT

Aim: Thyroid hormone tests show circadian rhythm. In this study we investigated the changes of Thyroid Stimulating Hormone (TSH) and free Thyroxine (fT4) test results in apparently healthy individuals and thyroid hormone replacement patients at different times of the day.

Material and Methods: The study included apparently healthy volunteers (n=10) and patients who received replacement therapy (n=10) with the diagnosis of hypothyroidism. Blood samples were taken from each patient three times in the same day. Samples are named based on phlebotomy time, Group A samples were collected between 8.00-9.00 am, Group B samples were collected between 11.00-12.00 am and Group C samples were collected between 15.00-16.00 pm. Serum TSH and fT4 levels were measured by immunoassay method in the Roche Hitachi e170.

Results: The change of TSH test results were found 29,9% between Group A-B, 32,2% between Group A-C and 10,6% between Group B-C in apparently healthy volunteers. The change of fT4 test results were found below 10% in all groups in apparently healthy volunteers. The change of TSH test results were found 27,4% between Group A-B, 30,2% between Group A-C, 10,1% between Group B-C in thyroid hormone replacement patients. The change of fT4 was %13 between Group A-B and below 10% in other groups in thyroid hormone replacement patients.

Conclusion: TSH which is the most commonly used test for the diagnosis and treatment of thyroid diseases, shows circadian rhythm during the day. Thus, the phlebotomy time of the sample is very important. In our study the results of the TSH test were higher in 8.00-9.00 am whereas fT4 results did not change clinically significant between the hours.

Keywords: circadian rhythm; fT4; preanalytical phase; TSH

GİRİŞ

Ünlü müzisyen Miles Davis, "Zaman en önemli değil, tek önemli şeydir" derken nasıl, nerede, ne, neden ve kim sorularına cevap arayan kaos toplumunun, öncelikle ne zaman sorusuna yönelmesi gerektiğini vurgulamaktaydı (1). Kültürel, sosyal ve ekonomik olarak modern toplum yaşamına yön veren zaman kavramının, kronobiyolojik çalışmalarla desteklenmiş somut bilimsel verilere dayanan sonuçlar açığa çıkardığı ve her geçen gün bilim insanlarının merakını cezbediği bilinmektedir. Rutin klinik biyokimya pratiğinde de zaman kavramının laboratuvar sonuçlarında nasıl etkiler yarattığı ve bunların hasta tanı, takip ve prognozunda ne derecede etkin olduğuna yönelik çok sayıda çalışma mevcuttur. Tıbbi laboratuvar hizmetinde karşılaşılan en ciddi sorunlar, hastaların veya sağlık profesyonellerinin flebotomi öncesi preanalitik dönemde hasta hazırlığında sergilediği ya da bizzat hasta kökenli değişkenlerden dolayı oluşmaktadır (2). Mevcut çalışmada amaç, preanalitik varyasyonlardan en önemlilerinden biri olan örnek alma "zaman"ı ve tiroid fonksiyon testleri

sonuçları arasında bir ilişki kurmak ve bu ilişki hakkında bilgi sunmaktır.

Sağlık hizmetine ulaşma süresinin giderek kısaldığı ve rutin laboratuvar hizmetlerinin giderek yaygınlaştığı günümüz modern toplumlarında, klinik veya subklinik tiroid hormon bozukluklarına oldukça sık rastlanmaktadır. Yorgunluk, üşüme, saç dökülmesi, kilo alma veya verme, kabızlık veya ishal, adet düzensizlikleri, çarpıntı gibi nonspesifik şikâyetlerle poliklinik başvurusu olduğunda, tiroid hastalıkları sıklıkla akla gelmekte ve bu yönde tiroid fonksiyonunu gösteren testler istenmektedir. Tiroid Stimulan Hormon (TSH) ve serbest T4 (fT4) tiroid fonksiyonunu gösteren, hipotiroidi ve hipertirodi tanısında ve tedavi izleminde kullanılan en sensitif testlerdir. TSH sekresyonunun sirkadiyen ritiminin olduğu ve fT4 sekresyonunu da etkilediği çok sayıda çalışmada gösterilmiştir (3). Gün içi zaman dilimlerinde TSH düzeyleri 2.00-4.00 arasında en yüksek, 16.00-20.00 arasında ise en düşük seviyelere ulaşmaktadır (4). Ancak zamanlamadan bağımsız, tiroid fonksiyon testleri klinisyenler tarafından günün her saatinde istenmekte ve gün

içerisinde TSH ve ft4 değerlerinin sirkadiyen ritime bağlı olarak değişiklik gösterebildiği gerçeği görece göz ardı edilebilmektedir. Bu sorunla ilgili uluslararası çalışmalar incelendiğinde, Sviridonova ve arkadaşlarının sunduğu verilerde subklinik hipotiroidide örneklerin öğleden sonra alınması sonucunda yanlış düşük sonuç ile TSH düzeylerinin referans aralık (0,4-4,1 mU/L) içerisine girdiği gözlenmiştir (5). Bu çalışmada amacımız, görünürde sağlıklı ve tiroid hormon replasmanı alan hipotiroidi tanılı hastalarda aynı gün içerisinde sabah (saat 8.00-9.00), öğle (saat 11.00-12.00) ve öğleden sonra (saat 15.00-16.00) alınan örneklerde çalışılan TSH ve ft4 test sonuçlarının değişimini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Mevcut çalışma Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır (sayı no: 2018/900/67). Hastalardan ve hastane personeli olarak görev yapan görünürde sağlıklı gönüllülerden örnek alımı Maltepe Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Merkez Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Tüm katılımcılara flebotomi öncesi ayrıntılı açıklama yapılmıştır ve tüm katılımcılardan yazılı bilgilendirilmiş onam alınmıştır. Çalışmaya görünürde sağlıklı (n=10) ve hipotiroidi tanısı ile replasman tedavisi alan (n=10) hastalar dahil edilmiş ve her hastadan aynı gün içinde 3'er defa kan alınmıştır. Görünürde sağlıklı grup için, 18-65 yaş arasında olma, kronik bir hastalığı bulunmama ve herhangi bir ilaç tedavisi almama çalışmaya dahil olma kriterleri olarak kullanılmıştır. Tiroid hormon replasman tedavisi alan grup ise, hipotiroidi tanısı ile levotiroksin tedavisi alan, 18-65 yaş arasında başka bir kronik hastalığı ve/veya ilaç kullanım öyküsü olmayan hastalardan oluşturulmuştur.

Örnekler, flebotomi zamanı esas alınarak sabah 8.00-9.00 arasında toplananlar "Grup A", öğlen 11.00-12.00 arasında toplananlar "Grup B" ve öğleden sonra 15.00-16.00 saatleri arasında toplananlar "Grup C" olarak adlandırılmıştır. Serum TSH ve ft4 düzeyleri, flebotomi sonrası santrifüj işlemi ardından

kısa süre içinde, Roche Hitachi e170 cihazında immünassay yöntem ile çalışılmıştır. TSH testi için gün içi CV değerleri 0,58 ve 2,4 iken günler arası CV değerleri 1,3 ve 1,33; ft4 için gün içi CV değerleri 1,22 ve 0,82 iken günler arası CV değerleri 2,82 ve 2,58 olarak ölçülmüştür.

İstatistiksel Analiz

Tüm veri analizleri SPSS ver. 21.0 programı ile yapılmıştır (SPSS Inc. Chicago, IL, USA). TSH ve ft4 değerlerindeki bireysel değişimler yüzde olarak hesaplanmıştır. Yüzde değişim hesaplaması yapılırken [100-(ikinci sonuç X 100/birinci sonuç)] formülü kullanılmıştır. Grup karşılaştırmalarında ortalama yüzde değişim %10 üzerinde ise anlamlı kabul edilmiştir. Gruplar ayrıca kendi aralarında ikişerli Pearson korelasyonu ile değerlendirilmiştir. Her hastadan elde edilen bireysel tekrarlı ölçümlerin karşılaştırmaları için, ortalama değerlerine karşı farkların saçılım değerlendirmesi Bland Altman grafikleri ile yapılmıştır (6).

BULGULAR

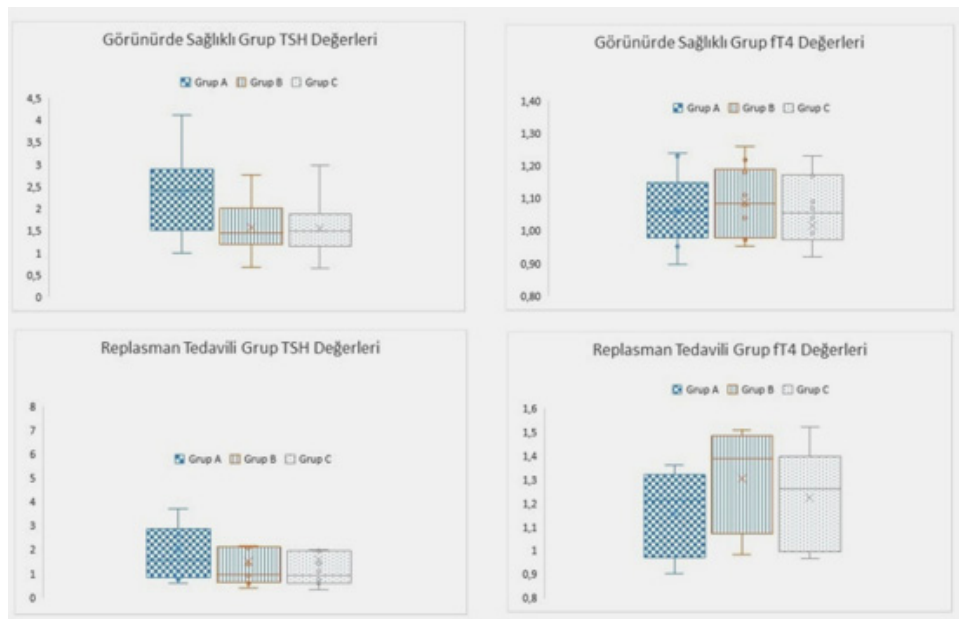
Görünürde sağlıklı kişilerin 8i kadın, 2si erkek; replasman tedavisi alan kişilerin ise 10'u kadındı. Görünürde sağlıklı bireylerde TSH testinin Grup A ile Grup B değişimi %29,9, Grup A ile Grup C değişimi %32,2 ve Grup B ile Grup C değişimi %10,6 idi (Tablo 1 ve Şekil 1). Görünürde sağlıklı kişilerde ft4 testinin değişimi tüm gruplarda %10'un altında bulundu. Replasman tedavisi alan kişilerde TSH testinin Grup A ile Grup B değişimi %27,4, Grup A ile Grup C değişimi %30,2 ve Grup B ile Grup C değişimi %10,1 idi. Replasman tedavili kişilerde ft4 testinin değişimi ise sadece Grup A ile B arasında %10'un üzerinde %13 bulundu (Tablo I ve Şekil 1). Pearson korelasyon analizinde, görünürde sağlıklı ve tiroid hormonu replasman tedavisi alan kişilerde Grup A-B, Grup A-C ve Grup B-C arasında kuvvetli ilişki (korelasyon) saptandı (tüm gruplarda $r > 0,70$) (Şekil 2). Bland Altman yöntemi ile aynı hastadan farklı zamanlarda elde edilen test sonuçlarının arasındaki farkların ortalama

malarına karşı çizilen saçılım grafikleri bir dağılım göstermekte olduğu gözlenmiştir oluşturuldu. Sonuçlarda farkların 0'ın etrafında sistematik rastgele (% 95'ten yüksek) (Şekil 3).

Tablo 1. TSH ve ft4 testlerinin, görünürde sağlıklı ve hormon replasman tedavisi altındaki kişilerde gruplar arası değişimleri

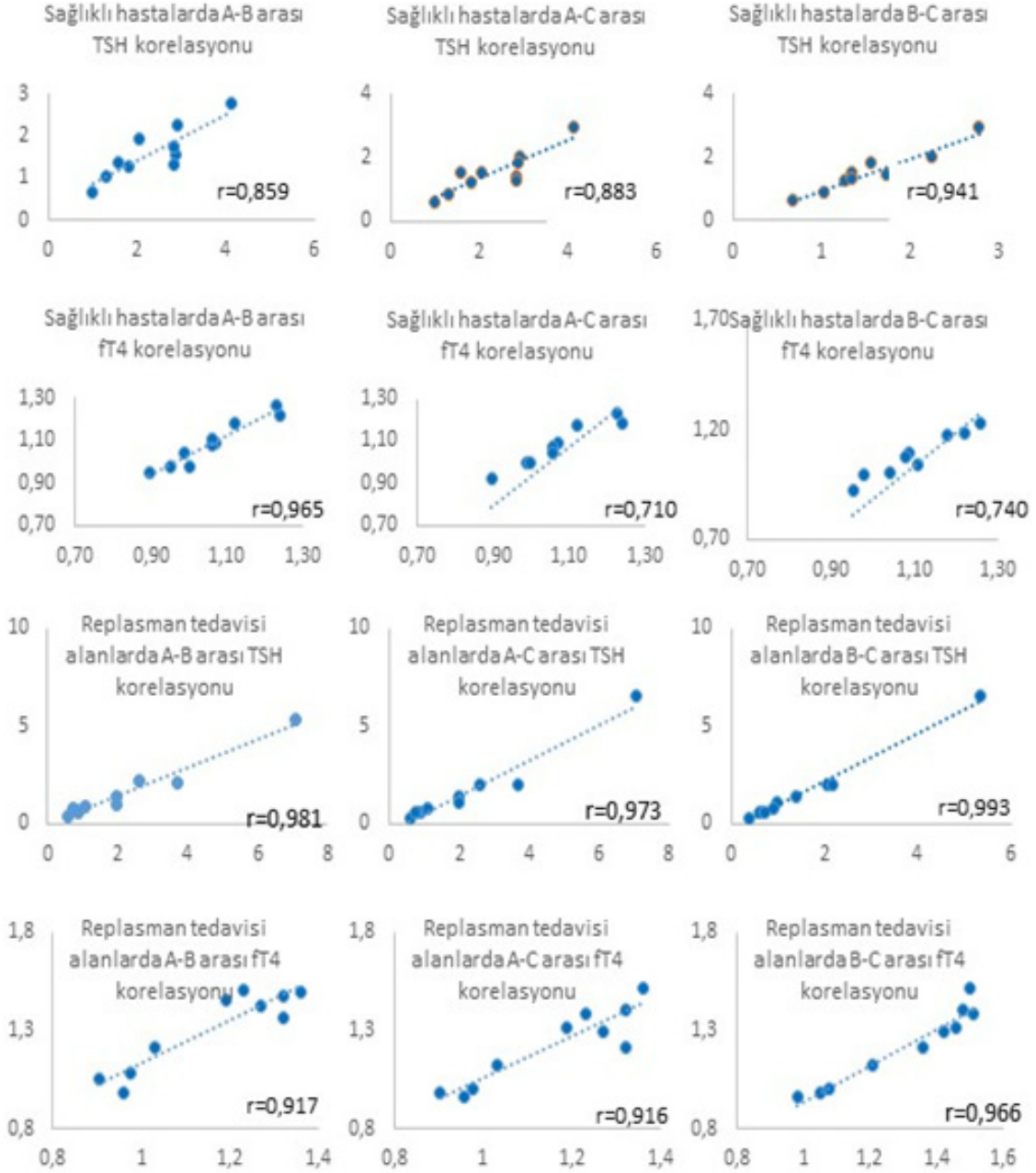
Table 1. Changes in TSH and ft4 tests between groups in apparently healthy individuals under hormone replacement therapy

	Test	Grup A ve B % Değişim	Grup A ve C % Değişim	Grup B ve C % Değişim
Görünürde sağlıklı gönüllüler	TSH	29,9	32,2	10,6
	ft4	3,4	1,6	3,0
Replasman tedavili kişiler	TSH	27,4	30,2	10,1
	ft4	13	7,3	6,5



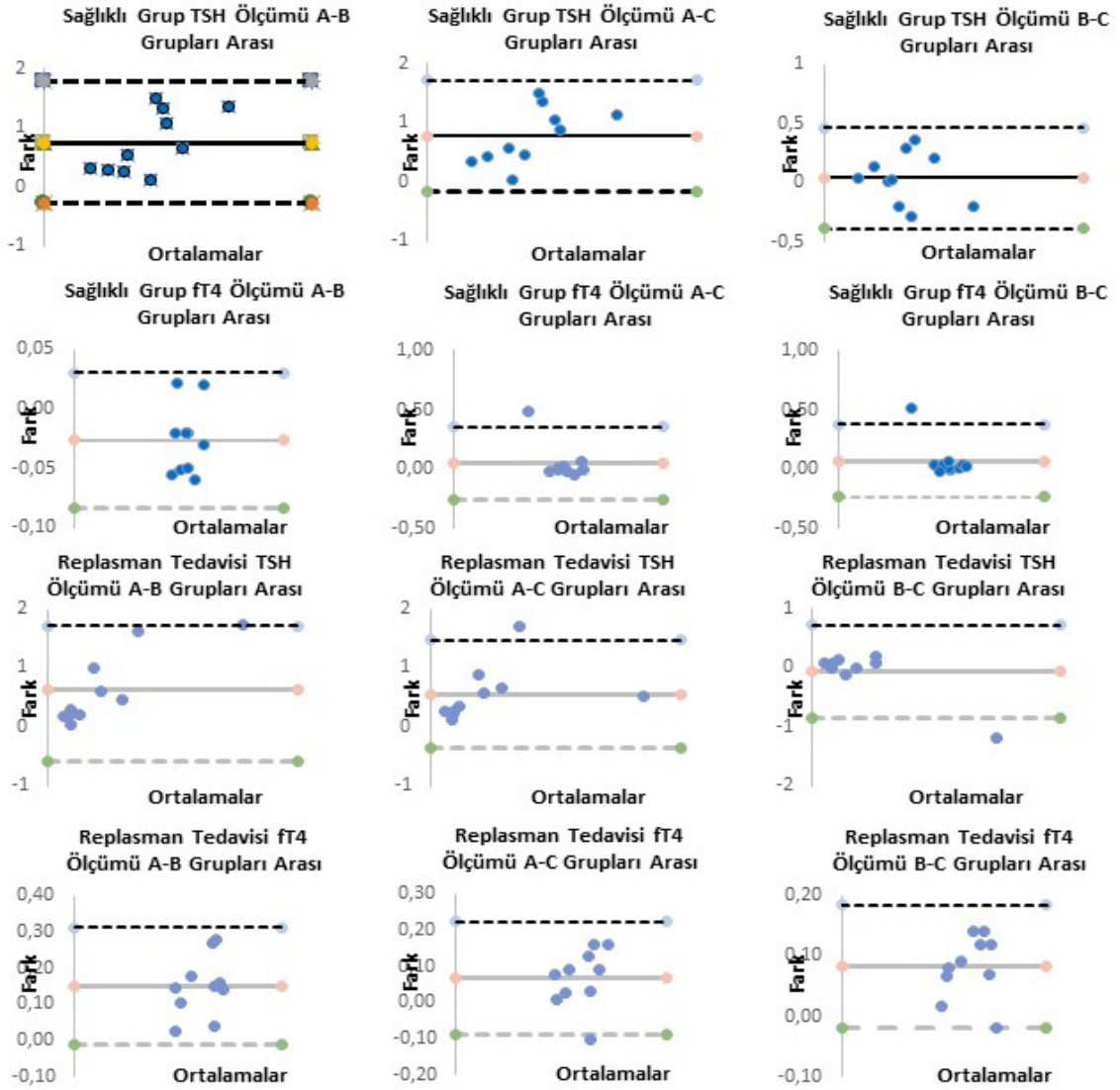
Şekil 1. TSH ve ft4 testlerinin, görünürde sağlıklı ve hormon replasman tedavisi altındaki kişilerde gruplar arası değişimleri

Figure 1. Changes in TSH and ft4 tests between groups in apparently healthy individuals under hormone replacement therapy



Şekil 2. Görünürde sağlıklı ve replasman tedavisi alanlarda TSH ve fT4 düzeylerinin gruplar arasındaki korelasyonları ve r değerleri

Figure 2. Correlations and r values of TSH and fT4 levels between groups in apparently healthy and replacement therapies



Şekil 3. Görünürde Sağlıklılarda ve tiroid hormon replasman tedavisi alanlarda TSH ve ft4 sonuçlarının Bland Altman grafikleri ile değerlendirilmesi

Figure 3. Evaluation of TSH and ft4 results in apparently healthy subjects and thyroid hormone replacement therapy by Bland Altman graphs

TARTIŞMA

Hipotiroidi ve hipertiroidi toplumda sık görülen hormonal bozukluklardır. NHANES III çalışmasında Amerikan toplumunda hipotiroidi sıklığı %4.6 (klinik hipotiroidi %0.3, subklinik hipotiroidi %4.3), hipertiroidi sıklığı ise %1.3 (klinik hipertiroidi %0.5, subklinik hipertiroidi %0.7) olarak bulunmuştur (7).

TSH ve ft4 testinin, yaş, cinsiyet, ırk, hormonal durum, hamilelik gibi değişen fizyolojik

durumlara göre referans aralıklarının belirlenmesi klinik olarak tanı koyma ve tedavi izleminde çok büyük bir önem taşır. Ehrenkranz ve ark. TSH ve ft4 için referans aralık çalışması yapmışlar ve yaş, cinsiyet, örneğin alındığı zaman, etnik köken farklılıklarına bağlı değişikliğe uğradığını bulmuşlardır (8).

Yaptığımız çalışmada görünürde sağlıklı erişkin ve tiroid hormon replasman tedavisi alan hipotiroidi tanılı kişilerde TSH testinin

sabah saat 8.00-9.00 sonuçlarının saat 11.00-12.00 ve 15.00-16.00 sonuçlarına göre anlamlı yüksek olduğu bulunmuştur. Sviridonova ve ark. primer hipotiroidi tanısı olup L-tiroksin tedavisi alan ve otoimmün tiroidit nedenli subklinik hipotiroidi (SH) tanılı hastalarda serum TSH ve subklinik hipotiroidili hastalarda ayrıca fT4 ve serbest T3 (fT3) düzeylerine saat 8.00-9.00 ve 14.00-16.00 arasında ölçmüşlerdir. SH grubunda TSH düzeylerini sabah ve öğlen alınan grupta istatistiksel olarak anlamlı farklı bulmuşlar, fT4 sonuçlarında ise anlamlı farklılık bulamamışlardır. L-tiroksin tedavisi alan grupta ise TSH düzeyleri sabah ve öğlen alınan grupta istatistiksel olarak anlamlı farklı bulunmuştur (5).

Liyanage ve ark. 20-50 yaş arasındaki 36 sağlıklı hastada saat 8.00-9.00 ile 15.00-16.00 arasında TSH ve fT4 düzeylerine bakmışlar her iki testte de diüurnal varyasyon bulmuşlardır (3). Lucke ve ark. sirkadiyen varyasyonların TSH ve tiroid hormonları üzerine etkisini araştırmak için 5 sağlıklı erkekten örnek almışlar ve hormon seviyelerindeki günlük değişimlerin küçük olduğunu, normal aralığı geçmediğini ve bu değişikliklerin hormonların rutin testlerinde önemli olmadığını belirtmişlerdir (9).

Russell ve ark. ise 33 görünürde sağlıklı erişkinde TSH, fT3 ve fT4 testlerini 24 saat boyunca her 20 dakikada bir ölçmüşlerdir. TSH değerlerinin sirkadiyen ritiminin bulunduğunu ve saat 02.00 ile 04.00 arasında en yüksek değerlere ulaştığını, fT3'ün ise değerlerinin TSH ile korele olduğunu ancak zirve değerinin TSH artışından 90 dakika sonra görüldüğünü bulmuşlardır. fT4 değerlerinin ise TSH ile korele olmadığını ve zayıf bir

sirkadiyen ritminin olduğunu göstermişlerdir (10). Weeke ve ark. 5 sağlıklı genç erkekte her 30 dakikada bir TSH, fT3 ve fT4 düzeylerini ölçmüşler; fT3 ve TSH için senkronize diüurnal ritim bulmuşlar ancak aynı senkronizasyonu fT4 için elde edememişlerdir (11).

Bizim çalışmamızda ise fT4 düzeyi sağlıklı grupta değişiklik göstermezken, replasman tedavisi alan grupta muhtemel sabahki flebotomi sonrası hastalar levotiron tedavisi aldığı için sadece A ile B örnekleri arasında %13'lük bir artış gözlenmiştir.

Mevcut çalışmamızdaki kısıtlayıcı yönler, hasta sayısının görece az olması, kan alma zamanının gün içinde 3 defa yapılabilmesi, farklı marka cihaz veya kitlelerle korelasyonun değerlendirilememesi, hamileler, çocuklar ve 65 yaş üstü geriatric popülasyon gibi özellikli grupların dahil edilememesi olarak sıralanabilir. Ancak sonuçlar preanalitik flebotomi zamanlamasının önemini objektif olarak göstermesi ve daha geniş çaplı çalışmalara kılavuzluk etmesi açısından büyük önem taşımaktadır.

SONUÇ

Tiroid hastalıklarının tanı ve tedavisinde en sık kullanılan test olan TSH, gün içerisinde sirkadiyen ritim göstermekte ve hastadan örneğin alındığı saat önem arz etmektedir. Bu çalışmada TSH sonuncunun sabah saat 8.00-9.00'da alınan örneklerin sonucunun daha yüksek olduğu ancak fT4 sonuçlarının saatler arasında klinik olarak önemli oranda değişmediği görülmüştür. Tiroid hormonlarının sirkadiyen ritiminin olduğu her hastaya açıklanmalı ve tiroid fonksiyon testleri için flebotomi zamanının önemi tüm sağlık profesyonellerine vurgulanmalıdır.

KAYNAKLAR

1. Pink DH. When: The scientific secrets of perfect timing; Penguin Press; 2019.
2. Bir A, Ghosh A, Sinha S, Banerjee A. Keywords Preanalytical Errors, Quality Indicators, Sigma Metrics, Clinical Biochemistry, Laboratory. Quality indicators are effective to monitor the performance level of preanalytical phase-a study in a clinical laboratory of Eastern India. 2018(97414).
3. Liyanage Y, Siriwardhana I, Dissanayake M, Dayanath B. Study on diurnal variation in TSH and freeT4 levels of healthy adults. Sri Lanka Journal of Diabetes Endocrinology and Metabolism. 2018;8(1).
4. Persani L, Terzolo M, Asteria C, Orlandi F, Angeli A, Beck-Peccoz P. Circadian variations of thyrotropin bioactivity in normal subjects and patients with primary hypothyroidism. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 1995;80(9):2722-8.

5. Sviridonova MA, Fadeyev VV, Sych YP, Melnichenko GA. Clinical significance of TSH circadian variability in patients with hypothyroidism. *Endocrine research*. 2013;38(1):24-31.
6. Bland JM, Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet (London, England)*. 1986;1(8476):307-10.
7. Hollowell JG, Staehling NW, Gunter EW, Hannon WH, Flanders WD, Spencer CA, et al. Serum TSH, T4, and Thyroid Antibodies in the United States Population (1988 to 1994): National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2002;87(2): 489-99.
8. Ehrenkranz J, Bach PR, Snow GL, Schneider A, Lee JL, Ilstrup S, et al. Circadian and circannual rhythms in thyroid hormones: determining the TSH and free T4 reference intervals based upon time of day, age, and sex. *Thyroid*. 2015;25(8):954-61.
9. Lucke C, Hehrmann R, Von Mayersbach K, von Zur Mühlen A. Studies on circadian variations of plasma TSH, thyroxine and triiodothyronine in man. *European Journal of Endocrinology*. 1977;86(1):81-8.
10. Russell W, Harrison R, Smith N, Darzy K, Shalet S, Weetman A, et al. Free triiodothyronine has a distinct circadian rhythm that is delayed but parallels thyrotropin levels. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2008;93(6):2300-6.
11. Weeke J, Gundersen HJG. Circadian and 30 minutes variations in serum TSH and thyroid hormones in normal subjects. *European Journal of Endocrinology*. 1978;89(3):659-72.