

Tiroid Fonksiyon Testlerinde Diüurnal Ritm ve Postprandial Değişim

Diurnal Rhythm and Postprandial Change in Thyroid Function Tests

Alperen Halil İhtiyar*

Fatma Demet Arslan**

Mehmet Hicri Köseoğlu***

* Samsun Bafra Devlet Hastanesi, Tıbbi Biyokimya, Samsun, Türkiye

** Bakırçay Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya, İzmir, Türkiye

*** Tınaztepe Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya, İzmir, Türkiye

Başvuru Tarihi: 26 Mayıs 2022

Kabul Tarihi: 26 Temmuz 2022

ÖZET

Amaç: Tiroid fonksiyon testleri (TFT) klinisyenler tarafından en sık istenen biyokimyasal parametrelerinden biridir ve günün herhangi bir saatinde analiz edilebilmektedir. Bu nedenle hastaların tanı ve takibinde doğru ve güvenilir bir karar vermek için diüurnal varyasyon ve açlık-tokluk durumunun TFT üzerine etkisini değerlendirdik.

Gereç ve Yöntem: 16 sağlıklı erişkin gönüllüden (11 erkek, 5 kadın), 9.00, 10.00, 11.00, 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00 saatlerinde kan alındı. Saat 09.00'da alınan örnekler bazal düzey olarak kabul edildi. Diğer saatlerdeki tiroid uyarıcı hormon (TSH), serbest triyodotironin (ft3) ve serbest tiroksin (ft4) düzeyler, bazal düzeyler ile istatistiksel ve klinik olarak karşılaştırıldı.

Bulgular: Gün boyunca ft4 düzeylerinde istatistiksel ve klinik olarak anlamlı bir varyasyon bulunmazken, TSH düzeyleri bazale göre (-%27.37)-(%48.95) arasında klinik olarak anlamlı değişim gösterdi. ft3 düzeylerinin ise sadece saat 15.00 ve 18.00'deki değişimi (-%5.59) klinik olarak anlamlı bulundu.

Sonuç: TSH ve ft3 test sonuçları değerlendirilirken diüurnal varyasyonunun da göz önüne bulundurulması ve değilse sabah aynı saatlerde kan örnekleme yapılması gerektiği düşünöldü.

Anahtar kelimeler: Diüurnal ritim, TSH, tiroid hormonları

Alperen H. İhtiyar : https://orcid.org/0000-0002-8461-4813
Fatma D. Arslan : https://orcid.org/0000-0003-0766-0303
M. Hicri Köseoğlu : https://orcid.org/0000-0003-1308-6969
Etik onay : İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 19 Ocak
2017 tarihi ve 2017-7 sayılı kurul kararı

Yazışma adresi: Alperen Halil İhtiyar
Samsun Bafra Devlet Hastanesi, Tıbbi
Biyokimya, Samsun, Türkiye
E-mail: alperenihtiyar@gmail.com

ABSTRACT

Objective: Thyroid function tests (TFT) are one of the most frequently requested biochemical parameters by clinicians and can be requested at any time of the day. For this reason, we evaluated the effects of diurnal variation and fasting-satiety status on TFT in order to make an accurate and reliable decision in the diagnosis and follow-up of patients.

Material and Methods: Blood samples were taken from 16 healthy adult volunteers (11 males, 5 females) at 09.00, 10.00, 11.00, 12.00, 15.00, 18.00 and 24.00 hours. The samples taken at 09.00 were accepted as basal. Thyroid stimulating hormone (TSH), free triiodothyronine (fT3) and free thyroxine (fT4) levels at other hours were compared with basal levels statistically and clinically.

Results: There was no clinically significant difference in fT4 concentrations during the day. TSH had a variation up to (-27.37%)-(48.95%) within the day. The variations in fT3 (-5.59%) only at 15.00 and 18.00 were found clinically significant.

Conclusion: When evaluating TSH and fT3 test results, it was thought that diurnal variation should be taken into account, and if not, blood sampling should be done at the same time in the morning.

Key words: Diurnal rhythm, TSH, thyroid hormones

GİRİŞ

Klinisyenler hastalıkların tanı ve tedavisinde, yaklaşık %70 oranında laboratuvar testlerine göre karar vermektedir (1). Bu sebeple laboratuvar testlerinin doğruluğu ve güvenilirliği önemlidir. Klinik laboratuvarlarda hasta örneklerinin çalışılması oldukça kompleks bir süreç olup, hataların %46.0-68.2'si preanalitik süreçte gerçekleşmektedir (2,3). Preanalitik süreçte yer alan faktörlerden biri diüurnal varyasyondur. Organizmanın davranışı ve fizyolojisi, 24 saatlik aydınlık ve karanlık döngüsü boyunca ritmik olarak değişir. Buna bağlı olarak bazı analitlerin salınımı, metabolizması ya da dolaşıma çıkmasında değişiklikler görülebilir. Ancak 24 saatlik diüurnal varyasyonun muhtemel etkisi, klinik uygulamada nadiren dikkate alınmaktadır.

Genellikle klinisyenler laboratuvar testleri yapılması için hastalardan daha çok sabah saatlerinde ve açlık durumunda kan alınmasını tercih etmektedir. Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) H3-A6 belgesi, hastanın açlık durumunun doğrulanmasını önermektedir (4). Ayrıca zaman ve diyet kısıtlamalarının teste göre değiştiğini; doğru test sonuçlarını sağlamak için bu kısıtlamaların yapılması gerektiğini bildirmiştir. Bununla birlikte CLSI H3-A6 belgesi, açlık süresi ve kan alınma zamanını belirtmek yerine her laboratuvarın kendi kararına bırakmıştır. The

Working Group on Preanalytical Phase from European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (WG-PA EFLM), rutin laboratuvar testlerinde açlık süresi ve kan alınma zamanını için farklı uygulamaların harmonizasyonunu sağlamıştır. Buna göre tüm kan testleri için kan 07.00 ile 09.00 arasında alınmalı ve aç kalma süresi 12 saat olmalıdır (5). Ancak başta yataklı ve acil servislerde olmak üzere hastalardan günün çeşitli saatlerinde kan örneği alınabilmektedir. Günün herhangi bir saatinde alınan kandaki test sonucu değerlendirilirken diüurnal varyasyonun etkisi göz ardı edilmekte ve laboratuvar testleri için gün boyunca aynı referans aralığı kullanılmaktadır. Bu durum hastalıkların tanı ve tedavisinde klinisyenleri yanıltabilmektedir.

Tiroid fonksiyon testleri olarak tiroid uyarıcı hormon (TSH), tiroksin (T4) ve triyodotironin (T3) klinisyenler tarafından en sık istenen testlerdendir ve günün herhangi bir saatinde istemi yapılabilir. Bu testlerin diüurnal varyasyon gösterip göstermediği konusunda yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Ayrıca açlık-tokluk durumunun bu varyasyon üzerindeki etkisi ile ilgili sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Çalışmamızın amacı, diüurnal varyasyonun ve açlık-tokluk durumunun TFT düzeyleri üzerine etkisi olup olmadığını araştırmaktır.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

Çalışmaya erişkin 16 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Akut enfeksiyonu, kronik hastalığı, ilaç veya takviye madde kullanımı olanlar, daha önceden tanı konulmuş malignitesi, vücut kütle indeksi 30'dan büyük olanlar ve gebe olan ya da emziren kadınlar çalışmaya dahil edilmedi. Gönüllülere araştırma ile ilgili detaylı bilgi verilerek imzalı onamları alındı. Araştırmanın gerçekleştirilebilmesi için İzmir Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'dan onay alındı (No: 2017-7) ve Helsinki bildirgesine uygun bir şekilde gerçekleştirildi.

Gönüllülerden jelli vakumlu tüpe (BD Vacutainer® SST II Advance tube, 5 mL, 13x100mm, NJ, USA) saat 09.00, 10.00, 11.00, 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00 olmak üzere 7 kez kan alındı. Kan aldıktan sonra 30 dakika bekletildikten sonra 1500 g'de 10 dk santrifüj edildi ve ayrılan serum örnekleri analize edilene kadar -20°C'de saklandı.

Klinik değerlendirmenin birçok test için sabah ve açlık durumunda verilen kan örneğine göre yapılması önerildiği için saat 09.00'da alınan başlangıç kan örneklerindeki "bazal açlık değeri" olarak kabul edildi. Saat 12.00, 15.00, 18.00, 24.00'deki sonuçlar, "bazal açlık değeri" ile karşılaştırılarak diüurnal varyasyon; saat 10.00 ve 11.00'deki sonuçlar ise "açlık-tokluk durumu" açısından değerlendirildi.

Gönüllüler saat 09.00, 12.00 ve 18.00'da kan alımından sonra yemek yediler. Kahvaltı yaklaşık 750 kcal olup, yiyeceklerin enerji dağılımı yaklaşık % 53.0'ü karbonhidratlardan, %37.0'si yağlardan ve % 10.0'u proteinlerden oluşmaktaydı. Öğle ve akşam yemekleri ortalama 826 kcal idi ve enerjinin yaklaşık % 44.0'ü karbonhidratlardan, % 39.0'u yağlardan % 17.0'si proteinlerden elde edildi.

Serum TSH, ft3 ve ft4 düzeyleri, kemilüminesans yöntem ile ADVIA Centaur CP (Siemens Healthcare Diagnostics Inc., Tarrytown, NY, USA) cihazında ölçüldü.

İstatistiksel değerlendirmeler, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) version 15 (SPSS Inc. Chicago, IL) kullanılarak yapıldı. Her bir gruptaki verilerin normal

dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile analiz edildi. Saat 09.00'daki TFT düzeyleri bazal olarak kabul edilip, diğer 6 farklı zamandaki düzeyler ile karşılaştırıldı. Gruplar arası verilerin karşılaştırmasında, normal dağılım gösteren testler için paired T testi, normal dağılım göstermeyen testler için Wilcoxon testi kullanıldı. Normal dağılım gösteren testler ortalama±standart sapma olarak, normal dağılım göstermeyen testler ortanca ve 25-75 yüzdeler olarak gösterildi. Altı farklı zamanda alınan numuneler bazal düzeyle karşılaştırıldığı için Bonferroni düzeltilmesi yapılarak $p < 0.0083$ değeri ($0.05/6 = 0.0083$) istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi (6).

Ayrıca saat 10.00, 11.00, 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00'de alınan kan örnekleri bazal açlık değeri ile karşılaştırılarak $[100 * (\text{karşılaştırılan saatteki değer} - \text{bazal açlık değeri}) / \text{bazal açlık değeri}]$ formülü ile bias (%) değerleri hesaplandı. Hesaplanan % bias, "izin verilebilir bias-bias_d" ile karşılaştırılarak klinik anlamlılık değerlendirildi (7, 8).

SONUÇLAR

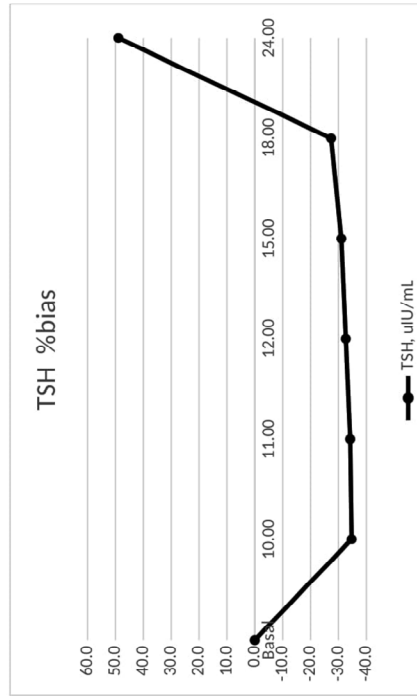
Çalışmaya dahil edilen 16 gönüllünün 11'i (68.7%) erkek ve 5'i (31.3%) kadındı. Gönüllülerin yaş ortalaması 34.2 ± 6.6 ve beden-kütle indeksi ortalaması 25.0 ± 3.0 idi.

Saat 10.00, 11.00, 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00'de çalışılan TSH, ft3 ve ft4, sonuçlarının 09.00'deki sonuçlar ile karşılaştırması Tablo 1'de gösterildi. Saat 18.00'deki TSH düzeyindeki değişim hariç diğer saatlerdeki değişimler istatistiksel olarak anlamlıydı. Saat 10.00, 11.00, 12.00, 15.00 ve 18.00'deki TSH düzeyleri, saat 09.00'dakinden klinik olarak anlamlı düşükken, saat 24.00'de anlamlı yüksek bulundu. Saat 11.00, 12.00, 15.00 ve 18.00'deki ft3 düzeyleri, saat 09.00'dakinden istatistiksel olarak anlamlı düşük bulunmakla birlikte sadece saat 15.00 ve 18.00'deki değişim klinik olarak anlamlıydı. ft4 düzeylerinde istatistiksel ve klinik açıdan anlamlı bir değişim saptanmadı. Saat 10.00, 11.00, 12.00, 15.00, 18.00 ve 24.00'de çalışılan TSH, ft3 ve ft4 düzeylerinin, saat 09.00'daki sonuçlara göre % değişimi şekil 1 ve şekil 2'de yer almaktadır.

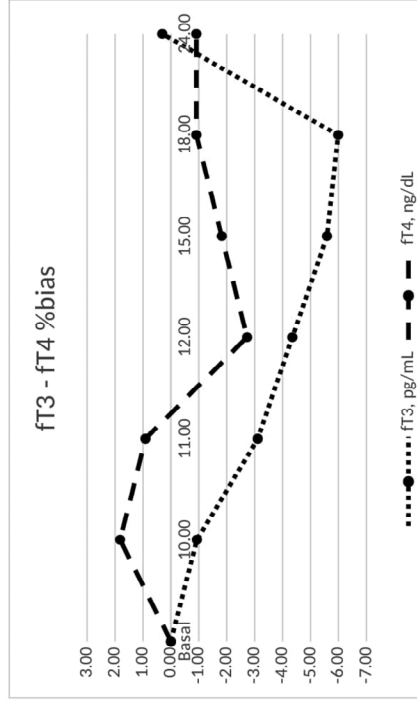
Tablo 1. Saatlere göre TSH, ft_3 ve ft_4 ortalama \pm standart sapma, ortanca (25.-75. yüzdelik), %bias, p değerleri ve bias.
Table 1. TSH, ft_3 and ft_4 mean \pm standard deviation, median (25th-75th percentile), bias%, p values and bias_d by hours.

Testler	Basal	10.00	11.00	12.00	15.00	18.00	24.00	Bias _d
TSH, uIU/mL	1.90 (1.33-2.81)	1.24 (1.33-2.81)	1.25 (0.92-1.83)	1.28 (0.97-2.33)	1.31 (0.91-1.99)	1.38 (0.89-2.20)	2.83 (1.87-4.27)	
%		-34.74	-34.21	-32.63	-31.05	-27.37	48.95	7.80
p		0.002	0.001	0.002	0.001	0.121	0.001	
ft_3, pg/mL	3.22 (2.97-3.42)	3.19 (2.96-3.26)	3.12 (2.88-3.26)	3.08 (2.89-3.20)	3.04 (2.86-3.26)	3.04 (2.93-3.17)	3.23 (3.12-3.33)	
%		-0.93	-3.11	-4.35	-5.59	-5.59	0.31	4.80
p		0.534	0.008	0.003	0.002	0.002	0.877	
ft_4, ng/dL	1.10 \pm 0.12	1.12 \pm 0.10	1.09 \pm 1.10	1.07 \pm 0.09	1.08 \pm 0.11	1.09 \pm 0.11	1.09 \pm 0.10	
%		1.82	0.91	-2.73	-1.82	-0.91	-0.91	
p		0.241	0.521	0.111	0.181	0.413	0.577	3.30

TSH: Tiroid uyarıcı hormon, ft_3 : serbest triyodotironin, ft_4 : serbest tiroksin



Şekil 1. Saatlere göre TSH % biasları / **Figure 1.** TSH % biases by time
TSH: Tiroid uyarıcı hormon



Şekil 2. Saatlere göre ft_3 - ft_4 % biasları / **Figure 2.** ft_3 - ft_4 % biases by time
 ft_3 : serbest triyodotironin, ft_4 : serbest tiroksin

TARTIŞMA

Diurnal varyasyon (sirkadiyan ritim), sadece gece-gündüz döngüsünden değil; aynı zamanda gel-git olayları, jeomanyetik etkiler, besin durumu, sosyal etkileşimler tarafından da etkilenmektedir. İnsanlarda bu sirkadiyen ritimlerin düzenlenmesinde ana zamanlayıcı merkez suprakiazmatik çekirdektir (suprakiazmatik nükleus=SCN) (9). İnsanlarda SCN'a ek olarak, periferel dokular içerisinde (karaciğer, pankreas, iskelet kası, barsak ve adipoz doku gibi) yer alan periferel zamanlayıcıların da var olduğu belirtilmiştir (10). Periferel saatlerden bazıları kendi periyotlarını kendileri belirleyebilseler de genelde SCN'den gelen sinyale göre çalışırlar. SCN, uyku-uyanıklık döngüsü, kalp hızı çalışma performansı, vücut ısısı, kan basıncı düzenlenmesi, beslenme, glukoz, lipid, protein ve mineral metabolizması gibi birçok önemli metabolik süreçleri düzenler (11).

Vücudumuzda bulunan merkezi ve periferik zamanlayıcıların, hipotalamus-hipofiz-tiroid aksını etkilediği ve tiroid hormonunun salgılanmasını da kısmen kontrol ettiği daha önce yapılan bazı çalışmalarda belirtilmiştir (12,13). Yapılan çalışmaların çoğunda TSH'nin diurnal varyasyon gösterdiği, sabah saatlerine göre saat 20.00-08.00 arasında bir yükseklik, saat 08.00-20.00 arasında bir düşüş olduğu bildirilirken, pik yaptığı veya en düşük seviyeye ulaştığı saatler arasında bazı farklılıklar vardı (14-17). Lucke ve ark. yaptığı çalışmada TSH düzeylerinin çalışmamıza benzer şekilde saat 11.00-14.00 de en düşük ve saat 20.00-24.00' de en yüksek seviyede olduğu saptanmıştır (15). ft3 ve ft4 ile ilgili yapılan çalışmalarda ise TSH'a kıyasla daha farklı sonuçlar elde edilmiştir. Weeke ve ark. yaptığı çalışmada ft3 ve TSH düzeylerinde gece saatlerinde, gündüze göre anlamlı bir artış rapor edilmişken (sırasıyla %15.0 ve %140.0), ft4 düzeylerindeki farklılığın (%7.0) anlamlı olmadığı bulunmuştur (12). Russell ve ark. TSH, ft3 ve ft4'ün diurnal varyasyon gösterdiğini saptarken gün içinde TSH'nin %72, ft4'ün %9 ve ft3'ün %11.2 değişebileceğini ve TSH'nin saat 02.40'da, ft3'ün ise 04.04'de pik yaptığını bulmuştur. ft3 pikinin TSH pikinden yaklaşık 90 dakika sonra olduğu bildirilmiştir (18). Bu durumun nedeni ile ilgili iki farklı görüş vardır. Birincisi

TSH pikinin, prohormon T4'ün biyoaktif T3 ürününe enzimatik olarak dönüştüren, tip 2 iyodotironin deiyodinaz ekspresyonunun indüklemesine (19) ve bu enzim sentezinin T3 pikine yol açmasına bağlı olduğu düşünülmektedir. Diğer bir görüş de FT3'teki gece artışının nedeninin, periferik deiyodinasyona değil, tiroidden salgılanmaya bağlı olduğudur (20). TSH'a göre daha düşük orandaki ft3 değişimi, ft3'ün sadece %20'sinin tiroid bezinden üretilmesi ile, %99.7'sinin proteinlere bağlı olması ile ve yarı ömrünün TSH'dan uzun olması ile açıklanabileceği düşünülmüştür.

Bazı çalışmalarda TSH'nin diurnal varyasyon gösterdiği saptanırken, ft3 ve ft4'de anlamlı değişiklik saptanmamıştır (16, 21). Persani ve ark. yaptığı çalışmada gün içinde TSH %44.0, ft3'ün %16.0, ft4'ün ise %4.0 değiştiği bulunmuş, TSH'nin değişimi istatistiksel olarak anlamlı iken ft3 ve ft4'ün değişimi anlamlı olmadığı saptanmıştır (22). Balsam ve ark. ft3'ün saat 09.00 da en yüksek, saat 15.00-17.00 de en düşük seviyede olduğu ve gün içinde %13.2 değiştiği; ft4'ün ise saat 09.00 da en yüksek, saat 17.00-19.00 de en düşük seviyede olduğu ve gün içinde %16.7 değiştiği saptanmış, ama bu fark istatistiksel olarak anlamlı olmadığı için ft3 ve ft4'ün diurnal varyasyon göstermediği bildirilmiştir (23). TSH'deki gece artışına yanıt olarak serbest tiroid hormonlarındaki değişikliğin başarısızlığının, gece biyoaktivitesi düşük olan diferansiyel glikosile edilmiş TSH'nin salgılanmasıyla ilgili olduğu belirtilmiştir. Önceki çalışmalara benzer şekilde çalışmamızda, saat 12.00-18.00 arasında TSH düzeyi 27.37%-34.74% düşüş gösterirken, saat 24.00'de ise pik (48.95%) düzeydeydi. ft3 düzeyleri ise saat 15.00 ve 18.00' de düşük (5.59%) bulundu.

Çalışmamızda ayrıca tiroid fonksiyon test sonuçlarının açlık-tokluk durumu değerlendirildi. Nair ve ark. yaptığı çalışmada postprandial 2. saatte (saat 10.00), açlık durumuna göre (sabah 8.00) TSH düzeyleri anlamlı düşük bulunurken, T4 düzeylerinde ise anlamlı bir farklılık görülmemiştir (24). Gülsün ve ark. yaptığı çalışmada açlık durumuna göre ft3 ve ft4'de anlamlı değişiklik görülmemişken, TSH düzeylerinde postpran-

dial 2. saatte istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür (25). Çalışmamızda da postprandial ft4 ve ft3 düzeylerinde klinik olarak anlamlı bir fark görülmezken, TSH düzeylerinde bazale göre anlamlı düşüş görüldü.

KAYNAKLAR

1. Forsman, R.W. Why is the laboratory an after thought for managed care organizations? *Clinical Chemistry*. 1996;4: 813-816.
2. Romero A, Cobos A, López-León A, Ortega G, Munoz M. Preanalytical mistakes in samples from primary care patients. *Clin Chem Lab Med* 2009; 47(12):1549-1552.
3. Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Preanalytical variability: the darkside of themo on in laboratory testing. *Clin Chem Lab Med* 2006; 44(4):358-365.
4. Clinical Laboratory Standards Institute. Procedures for the collection of diagnostic blood specimens by venipuncture. CLSI H3-A6 document. 6th ed. Wayne, PA: Clinical Laboratory Standards Institute; 2007.
5. Simundic AM, Cornes MP, Grankvist K, Lippi G, Nybo M. Standardization of collection requirements for fasting samples: For the Working Group on Preanalytical Phase (WGPA) of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM). *Clin Chim Acta* 2014;432:33-37.
6. Miller R. Simultaneous Statistical Inference, 2d Ed. New York: Springer-Verlag. 1981.
7. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV, Minchinela J, Perich C, Simon M. Current databases on biologic variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest* 1999;59:491-500.
8. College of American Pathologists (CAP). Available at: <https://datainnovations.com/allowable-total-error-table>.
9. Eckel-Mahan K, Sassone- Corsi P. Metabolism and circadian clock converge. *Physiol Rev*. 2013; 93(1):107-35.
10. Bass J, Takahashi JS. Circadian integration of metabolism and energetics. *Science*. 2010; 330(6009): 1349-54.
11. Hastings MH, Maywood ES, Reddy AB. Two decades of circadian time. *J Neuroendocrinol*. 2008; 20(6):812-9.
12. Weeke J, Gundersen HJ. Circadian and 30 minutes variations in serum TSH and thyroid hormones in normal subjects. *Acta Endocrinol (Copenh)*. 1978;89(4):659-72.
13. Copinschi G, Challet E. Endocrine rhythms, the sleep- wake cycle, and biological clocks. In: Jameson JL, Groot LD, editors. *Endocrinology: Adult and Pediatric*: Elsevier; 2016. p. 147-73.e9.

Sonuç olarak; TSH'da daha derin ve gün boyunca süren değişimlere ek olarak ft3'de diüurnal varyasyon görülmesi nedeniyle, diüurnal ritmin etkisinin ekarte edilmesi gereken durumlarda sabah saatlerinde kan alınması önerilmektedir.

14. Patel YC, Alford FP, Burger HG. The 24-hour plasma thyrotrophin profile. *Clin Sci* 1972;43:71-77.
15. Lucke C, Hehrmann R, von Mayersbach K, von zur Mühlen A. Studies on circadian variations of plasma TSH, thyroxine and triiodothyronine in man. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1977;86:81- 88.
16. Azukizawa M, Pekary AE, Hershman JM, Parker DC. Plasma thyrotropin, thyroxine, and triiodothyronine relationships in man. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1976;43(3):533-542.
17. Roelfsema F, Pereira AM, Veldhuis JD, Adriaanse R, Endert E, Fliers E, Romijn JA. Thyrotropin secretion profiles are not different in men and women. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 2009;94(10):3964-3967.
18. Russell W, Harrison RF, Smith N, Darzy K, Shalet S, Weetman AP, and Ross RJ. Free triiodothyronine has a distinct circadian rhythm that is delayed but parallels thyrotropin levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 2008;93(6):2300-2306.
19. Arrojo E, Drigo R, Fonseca TL, Werneck-de-Castro JP, Bianco AC. Role of the type 2 iodothyronine deiodinase (D2) in the control of thyroid hormone signaling. *Biochim. Biophys. Acta*. 2013; 1830: 3956-3964.
20. Weeke J, Laurberg P 24-h profile of serum rT3 and serum 3,3'-T2 in normal man. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1980; 94:503-506.
21. Azukizawa M, Mori S, Ohta H, Matsumura S, Yoshimoto H, Uozumi T, Miyai K, Kumahara Y Effect of a single dose of glucocorticoid on the diurnal variations of TSH, thyroxine, 3,5,3-triiodothyronine, 3,35-triiodothyronine and cortisol in normal men. *Endocrinol Jpn* 1979;26:719 -723
22. 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. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:2722-2728.
23. Balsam A, Dobbs CR, Leppo LE. Circadian variations in concentrations of plasma thyroxine and triiodothyronine in man. *J Appl Physiol* 1975;39:297-299.
24. Nair R, Mahadevan S, Muralidharan RS, Madhavan S. Does fasting or postprandial state affect thyroid function testing? *Indian J Endocrinol Metab*. 2014;18(5):705-707.
25. Gülsün K, Taneli F, Yas FE. Serum tiroid hormonları, lipid parametreleri ve dehidroepiandrosteron sülfat düzeylerinin açlık ve toklukla ilişkisi. *Ege Tıp Dergisi*. 2004; 43(1): 15-18.