

## Avaliação do Efeito da Concentração da Hemoglobina e do Volume Globular Médio na Determinação da Hemoglobina A1c: Estudo Retrospectivo

### *Evaluation of the Effect of Hemoglobin Concentration and of Mean Corpuscular Volume on the Hemoglobin A1c Level: A Retrospective Study*

Anália do Carmo, Ana Carolina Queiroz, Fernanda Escada Fontes, João Mariano Pego, Rui Tomé, Fernando Rodrigues

#### Resumo

**Introdução:** A diabetes *mellitus* (DM) é uma desordem metabólica caracterizada por hiperglicemia crónica e pelo desenvolvimento de complicações graves que determinam a perda da qualidade de vida do doente. A avaliação do grau de controlo glicémico dos doentes diabéticos pode ser efetuado com base na determinação da percentagem de hemoglobina glicada A1c (HbA1c). No entanto, vários estudos referiram que a determinação da HbA1c pode ser alterada pela anemia sendo por isso importante avaliar a relação entre a determinação da HbA1c, a concentração de hemoglobina ([Hb]) e o volume globular médio (VGM).

**Material e Métodos:** Realizámos um estudo retrospectivo, num hospital central, baseado na recolha dos valores da HbA1c e de parâmetros hematológicos, nomeadamente a [Hb] e VGM em todas as análises efetuadas nos últimos 10 anos (2005-2015).

**Resultados:** A análise dos dados evidenciou que nas análises em que VGM < 80 fL e a [Hb] < 12 g/dL (mulheres) ou [Hb] < 13 g/dL (homens) o valor de HbA1c é significativamente mais elevado do que o valor determinado quando VGM > 80 fL e a [Hb] ≥ 12 g/dL (mulheres) ou [Hb] ≥ 13 g/dL (homens).

**Conclusão:** Os resultados deste estudo confirmaram que a [Hb] e o VGM podem influenciar o valor de HbA1c. Num doente diabético o aumento do valor de HbA1c pode não ser indicativo de mau controlo metabólico mas estar associado a anemia. Assim, num doente diabético é importante efetuar a determinação da HbA1c, e correlacioná-la com a [Hb], com o valor de VGM e com a glicose plasmática

**Palavras-chave:** Hemoglobina A Glicosilada; Hemoglobinas; Testes Hematológicos.

#### Abstract

**Introduction:** Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disorder characterized by chronic hyperglycemia and by the development of serious complications which determine the loss of the patient's quality of life. The evaluation of the glycemic control in diabetic patients can be made based on the glycosylated hemoglobin A1c (HbA1c) value. However, several studies reported that anemia may limit the determination of HbA1c. Therefore it is important to assess the relationship between the HbA1c value, the hemoglobin concentration ([Hb]) and the mean corpuscular volume (MCV).

**Material and Methods:** Retrospective study, performed in a central hospital, based on the collection of HbA1c values and hematological parameters, such as [Hb] and MCV in all analyses performed in the last 10 years (2005-2015).

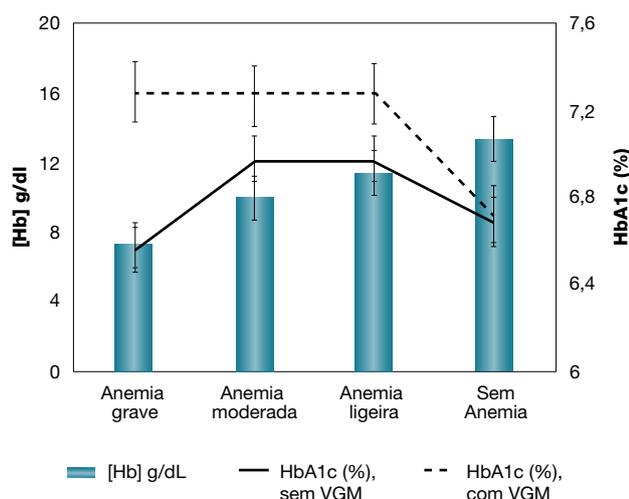
**Results:** The results showed that when MCV < 80 fL and [Hb] < 12 g/dL (women) or [Hb] < 13 g/dL (men), the HbA1c value was significantly higher than the value determined when MCV > 80 fL and [Hb] ≥ 12 g/dL (women) or [Hb] ≥ 13 g/dL (men).

**Conclusion:** The results of this study confirmed that the [Hb] and the MCV may influence the value of HbA1c. In a diabetic patient, an increased value of HbA1c may not be indicative of poor metabolic control but it could be associated with anemia. It is therefore, important to make the determination of HbA1c and correlate the value with the [Hb], the MCV and plasma glucose.

**Keywords:** Hemoglobin A, Glycosylated; Hematologic Tests; Hemoglobins.

#### Introdução

A diabetes *mellitus* (DM) é uma desordem metabólica de etiologia múltipla caracterizada por uma hiperglicemia crónica e pelo desenvolvimento de complicações graves como a retinopatia, nefropatia e neuropatia que se traduzem na perda de qualidade de vida dos doentes. Em Portugal, a



**Figura 1:** Variação da percentagem de HbA1c com a [Hb] e com o VGM, nas análises realizadas nas mulheres. Verifica-se que nas análises que evidenciavam [Hb] compatível com anemia moderada e ligeira, o valor de HbA1c é superior ao determinado nas análises com [Hb] > 12 g/dL. Quando em paralelo com a [Hb] se considera o valor de VGM, os valores de HbA1c aumentam significativamente em comparação com os determinados considerando apenas a [Hb].

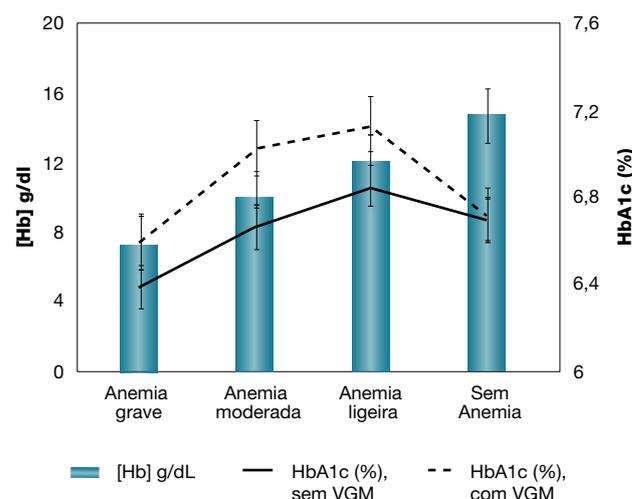
prevalência de DM era em 2014 de 13,1%.<sup>1-3</sup> De acordo com a norma 033/2011 da Direção Geral de Saúde (DGS) a avaliação do grau de controlo glicémico nos doentes diabéticos pode ser efetuado com base na determinação da percentagem de hemoglobina glicada A1c (HbA1c). De acordo com a International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC), a HbA1c define-se como a hemoglobina irreversivelmente glicada na porção N-terminal da valina, numa ou nas duas cadeias beta da hemoglobina.<sup>4,5</sup>

A DGS recomenda que no controlo metabólico de doentes diabéticos a percentagem de HbA1c seja inferior a 6,5% e que para assegurar a padronização da sua determinação se recorra apenas a métodos certificados pelo *National Glycohemoglobin Standardization Program*.<sup>4</sup>

No entanto, apesar da determinação da HbA1c ser efetuada por métodos analíticos padronizados há fatores associados aos doentes que podem interferir com a sua determinação, tais como a anemia e em particular a anemia com défice de ferro.<sup>6-11</sup>

O estudo epidemiológico, EMPIRE efetuado pelo Anemia Working Group Portugal (AWGP), encontrou uma prevalência de anemia na população portuguesa de 19,9%. O estudo evidenciou também que a prevalência da anemia era maior nas mulheres (20,8%), nos adultos jovens com idades entre os 18 e os 34 anos (22,8 - 30,5%), nos idosos (21,0%) e nas mulheres grávidas (54,2%).<sup>12</sup>

Considerando que a anemia e diabetes, apresentam uma elevada prevalência na população portuguesa, e que a anemia pode interferir com a determinação da HbA1c efetuámos



**Figura 2:** Variação da percentagem de HbA1c com a [Hb] e com o VGM, nas análises realizadas nos homens. Verifica-se que nas análises que evidenciavam [Hb] compatível com anemia ligeira, o valor de HbA1c é superior ao determinado nas análises com [Hb] > 13 g/dL. Quando em paralelo com a [Hb] se considera o valor de VGM, os valores de HbA1c aumentam significativamente em comparação com os determinados considerando apenas a [Hb].

um estudo retrospectivo com o objetivo de avaliar em que medida a concentração da hemoglobina e o VGM influenciam o valor final da HbA1c. O conhecimento da importância destas variáveis na determinação do valor da HbA1c poderá contribuir para melhorar o controlo metabólico do doente.

## Material e Métodos

Estudo retrospectivo, institucional, realizado num hospital central, baseado na recolha dos valores da HbA1c, da concentração de Hb ([Hb]) e do volume globular médio (VGM) em todas as análises efetuadas nos últimos 10 anos e que apresentassem determinação simultânea dos três parâmetros.

De acordo com as recomendações da OMS, os dados relativos a [Hb] (g/dL) foram organizados em três grupos: anemia ligeira (mulheres: [Hb] entre 11,0 e 11,9 g/dL; homens: [Hb] entre 11 e 12,9 g/dL), moderada (mulheres e homens [Hb] entre 8,0 e 10,9 g/dL), e grave (mulheres e homens [Hb] menor que 8,0 g/dL).

Considerando que a anemia por défice de ferro é geralmente caracterizada por microcitose com VGM <80 fl foi avaliada a relação entre o valor de VGM, a [Hb] e a percentagem de HbA1c.<sup>13</sup>

Para efetuar a análise estatística utilizou-se o teste *t-student* para avaliar as diferenças entre os diferentes grupos de estudo, determinou-se o coeficiente de correlação de Spearman através do programa informático SPSS, versão 20. Considerou-se  $p < 0,05$  como o valor a partir do qual os resultados eram considerados estatisticamente significativos.

**Tabela 1:** Caracterização da amostra de dados

	Idade (anos)	HbA1c (%) (nas análises que não apresentavam anemia)		HbA1c (%) (nas análises que apresentavam anemia)	
		Sem considerar VGM	Considerando VGM > 80 fL	Sem considerar VGM	Considerando VGM < 80 fL
Mulheres (44,3%)	66,2 ± 17,4	6,73 ± 1,78%	6,72 ± 1,77	7,02 ± 1,80*	7,30 ± 1,80**
Homens (55,7%)	61,9 ± 14,9	6,72 ± 1,63 %	6,72 ± 1,63	6,80 ± 1,60*	7,07 ± 1,70**

De acordo com as recomendações da OMS considerou-se anemia nos homens [Hb] < 13 g/dL e nas mulheres [Hb] < 12 g/dL. De acordo com a norma da DGS considerou-se microcitose quando VGM < 80 fL. Os dados encontram-se apresentados na forma de média ± desvio padrão. \*p < 0,001, valor estatisticamente significativo quando se compara valor de HbA1c nas análises com anemia versus sem anemia, \*\*p < 0,001 valor estatisticamente significativo quando se compara valor de HbA1c sem considerar valor de VGM versus considerando valor de VGM.

## Resultados

Na pesquisa efetuada verificámos que nos últimos 10 anos tinham sido realizadas 97 282 determinações de HbA1c das quais 43 136 (44,3%) foram realizadas em mulheres e 54 146 (55,7%) foram realizadas em homens, Tabela 1. A média de idade das mulheres foi de 66,2 ± 17,4 anos e dos homens foi de 61,9 ± 14,9 anos, (Tabela 1).

Nas análises realizadas nas mulheres, 72,0% apresentavam [Hb]>12 g/dL, sendo a concentração média de Hb 13,46 ± 0,93 g/dL e o valor médio de HbA1c 6,73 ± 1,78 %, (independentemente do valor de VGM), (Tabela 1 e Fig. 1). Quando se considerou em simultâneo [Hb] > 12 g/dL e VGM > 80 fL, o valor de HbA1c não apresentou diferença estatisticamente significativa, p = 0,091, (graus de liberdade: 66 060) quando comparado com o valor de HbA1c determinado nas mulheres com [Hb]>12 g/dL, (qualquer que fosse o valor de VGM), Tabela 1.

Nas análises realizadas em mulheres com [Hb]< 12 g/dL (28,0% das análises) a concentração média de Hb foi 10,70 ± 1,00 g/dL e o valor médio de HbA1c foi 7,02 ± 1,80 %, valor significativamente diferente do obtido nas análises com [Hb]>12 g/dL, p < 0,001, (graus de liberdade: 21 954), (Tabela 1 e Fig. 1). Quando se considerou em simultâneo as análises com [Hb]< 12 g/dL e VGM < 80 fL o valor de HbA1c foi 7,30 ± 1,80%, valor significativamente diferente do obtido quando não se considerou o valor de VGM, p < 0,001, (graus de liberdade: 1848) (Tabela 1). Observou-se também uma diferença estatisticamente significativa, entre o valor da HbA1c das análises realizadas nos doentes com [Hb]> 12 g/dL e VGM > 80 fL e as análises realizadas nos doentes com [Hb] < 12 g/dL e VGM < 80 fL, p <0,001 (graus de liberdade: 1848), Tabela 1.

Nas análises realizadas nos homens, 68,0% apresentava [Hb] ≥ 13 g/dL, a concentração média de Hb foi 14,72 ± 1,08 g/dL e o valor médio de HbA1c foi 6,72 ± 1,63% (in-

dependentemente do valor de VGM), (Tabela 1). Quando se considerou em simultâneo análises com [Hb] > 13 g/dL e VGM > 80fL, o valor de HbA1c não apresentou diferenças estatisticamente significativas quando comparado com o valor de HbA1c determinado nos homens com [Hb] >13 g/dL (independentemente o valor de VGM), p = 0,798 (graus de liberdade: 73 186) (Tabela 1).

Nas análises realizadas nos homens com [Hb] < 13 g/dL (32,0% das análises), verificou-se que a concentração média de [Hb] foi 11,40 ± 1,31 g/dL e o valor de HbA1c foi 6,80 ± 1,60 % (independentemente do valor de VGM). Nas análises realizadas nos homens com [Hb] < 13 g/dL e VGM < 80 fL o valor de HbA1c foi de 7,07 ± 1,70%. Verificou-se que havia uma diferença estatisticamente significativa, p < 0,001 (graus de liberdade: 1408) entre o valor de HbA1c nas análises que apresentavam [Hb]< 13 g/dL e as análises que apresentavam [Hb]<13 g/dL e VGM < 80 fL, (Tabela 1 e Fig. 2).

Ainda nas análises realizadas nos homens, verificou-se haver uma diferença estatisticamente significativa entre o valor de HbA1c nas análises realizadas nos doentes com [Hb] > 13 g/dL e as realizadas nos doentes com [Hb] < 13 g/dL, p < 0,001 (graus de liberdade: 33 461). Observou-se também uma diferença estatisticamente significativa, entre o valor da HbA1c, p < 0,001 (graus de liberdade: 1311) das análises realizadas nos doentes com [Hb] > 13 g/dL e VGM > 80 fL e as análises realizadas nos doentes com [Hb] < 13 g/dL e VGM < 80 fL (Tabela 1).

Os resultados anteriores demonstraram que em situações de anemia pode ocorrer uma elevação significativa do valor da HbA1c. Por essa razão avaliou-se de seguida como é que o grau de anemia interferia com o valor de HbA1c.

Nas análises realizadas nas mulheres com anemia grave ([Hb] < 8 g/dL) o valor de HbA1c foi de 6,57 ± 1,62% (não considerando o valor de VGM), e de 7,29 ± 1,63% considerando o valor de VGM, p = 0,006, (graus de liberdade:76). Para o intervalo de [Hb] correspondente a anemia moderada,

**Tabela 2:** Variação da [Hb], HbA1c e VGM nas análises realizadas em mulheres

Mulheres (Nº total 43 136)	[Hb] (g/dL)	HbA1c (%)	VGM (fL)
[Hb] >12 g/dL	13,46 ± 0,93	6,73 ± 1,78	89,93 ± 4,96
[Hb] >12 g/dl e VGM>80fL	13,47 ± 0,93	6,72 ± 1,77	90,24 ± 4,51
11,9 < [Hb] g/dL >11	11,50 ± 0,28	7,03 ± 1,82*	88,89 ± 6,87
11,9 < [Hb] g/dL >11 e VGM <80 fL	11,45 ± 0,29	7,28 ± 1,82 <sup>††</sup>	74,31 ± 5,13
10,9 < [Hb] g/dL >8	10,00 ± 0,74	6,98 ± 1,75*	87,89 ± 8,56
10,9 < [Hb] g/dL >8 e VGM<80 fL	9,81 ± 0,81	7,27 ± 1,86 <sup>††</sup>	73,71 ± 5,06
[Hb] < 8 g/dL	7,32 ± 0,60	6,57 ± 1,62	85,89 ± 10,55
[Hb] < 8 g/dL e VGM<80 fL	7,30 ± 0,52	7,29 ± 1,63 <sup>††</sup>	71,05 ± 5,76

Os valores encontram-se apresentados na forma de média ± desvio padrão. \* $p < 0,05$ , valor estatisticamente significativo quando se compara valor de HbA1c nas análises com anemia *versus* sem anemia, <sup>††</sup> $p < 0,05$  valor estatisticamente significativo quando se compara valor de HbA1c nas análises sem considerar valor de VGM *versus* considerando valor de VGM.

o valor de HbA1c foi  $6,98 \pm 1,75\%$  (não considerando o valor de VGM) e de  $7,27 \pm 1,86\%$  quando se considerou o valor de VGM,  $p < 0,001$ , (graus de liberdade: 1171). Nas análises com [Hb] correspondente a anemia ligeira, o valor de HbA1c foi  $7,03 \pm 1,82\%$ , e de  $7,28 \pm 1,82\%$  quando se considerou o valor de VGM,  $p = 0,03$ , (graus de liberdade: 627), (Tabela 2 e Fig.1).

Nas análises realizadas nos homens, com anemia grave ([Hb] < 8 g/dL) o valor de HbA1c foi de  $6,39 \pm 1,38\%$ , não se alterando significativamente quando se considerava em simultâneo o valor de VGM,  $p = 0,279$ , (graus de liberdade: 88). Para o intervalo de [Hb] correspondente a anemia moderada o valor de HbA1c foi  $6,66 \pm 1,6\%$  (não considerando o valor de VGM) e de  $7,03 \pm 1,64\%$  quando se considerou o valor de VGM,  $p < 0,001$ , (graus de liberdade: 644). Nas análises com [Hb] correspondente a anemia ligeira, a percentagem de HbA1c foi  $6,86 \pm 1,66\%$ , (não considerando o valor de VGM) e de  $7,14 \pm 1,68\%$  quando se considerou o valor de VGM,  $p < 0,001$ , (graus de liberdade: 704), (Tabela 3 e Fig. 2).

O estudo de correlação entre o valor da HbA1c e a [Hb], através do coeficiente de Spearman revelou que nas análises realizadas nas mulheres e nos homens o coeficiente de correlação é negativo, evidenciando que a redução da [Hb] pode estar associada a um aumento do valor da HbA1c. Nas mulheres, o coeficiente de Spearman foi de  $-0,095$  ( $n = 43\ 136$ ;  $p < 0,001$ ) e nos homens o coeficiente de Spearman foi de  $-0,054$  ( $n = 54\ 146$ ,  $p < 0,001$ ).

No conjunto, estes resultados demonstram que quando a [Hb] é inferior a 12 g/dL nas mulheres e a 13 g/dL nos ho-

mens e o valor de VGM é inferior a 80 fL se observa uma elevação do valor da HbA1c. Esta elevação é mais significativa nas mulheres, especialmente em mulheres com anemia grave e moderada. Nos homens observa-se também uma elevação do valor da HbA1c com anemia, no entanto essa elevação é mais acentuada em homens com anemia ligeira.

## Discussão

Os resultados do nosso estudo evidenciaram que nas análises com uma concentração de Hb inferior a 12 g/dL nas mulheres e a 13 g/dL nos homens, o valor de HbA1c se encontra estatisticamente mais elevado do que o calculado nas análises com uma concentração de Hb superior a 12g/dL nas mulheres e a 13 g/dL nos homens. O aumento da percentagem da HbA1c em situações de anemia foi mais evidente quando se considerou simultaneamente a concentração de Hb e o valor de VGM. Em conjunto, os nossos resultados indicam que a anemia e em particular a anemia microcítica determinam um aumento estatisticamente significativo, da percentagem da HbA1c.

Os resultados do nosso estudo retrospectivo estão de acordo com os divulgados na revisão sistemática realizada por English *et al.*<sup>6</sup> Da análise de 12 estudos de *cohort* publicados entre 1990 e 2014, em que foi determinada a HbA1c e a concentração plasmática de glicose em doente não diabéticos e mulheres não grávidas, English *et al* verificaram que na maioria dos estudos a percentagem de HbA1c se encontrava elevada na anemia e em particular na anemia por défice de ferro.<sup>6,7,10,11,14,15</sup>

No entanto, apesar de a maioria dos estudos referir que a

**Tabela 3:** Variação da [Hb], HbA1c e VGM nas análises realizadas em homens

Homens (Nº Total 54 146)	[Hb] (g/dL)	HbA1c (%)	VGM (fL)
[Hb] >13 g/dL	14,72 ± 1,08	6,72 ± 1,63	91,73 ± 5,37
[Hb] >13 g/dL e VGM>80 fL	14,73 ± 1,08	6,72 ± 1,63	91,96 ± 5,01
12,9 < Hb g/dL >11 e VGM <80 fL	11,97 ± 0,57	7,14 ± 1,68*†	73,63 ± 5,44
10,9 < Hb g/dL >8	9,93 ± 0,76	6,66 ± 1,60	90,21 ± 8,64
10,9 < Hb g/dL >8 e VGM<80 fL	9,80 ± 0,83	7,03 ± 1,64*†	73,50 ± 5,40
Hb < 8 g/dL	7,39 ± 0,53	6,39 ± 1,38	88,47 ± 11,91
Hb < 8 g/d e VGM<80 fL	7,30 ± 0,58	6,60 ± 1,30	72,16 ± 6,32

Os valores encontram-se apresentados na forma de média ± desvio padrão. \**p* < 0,05, valor estatisticamente significativo quando se compara valor de HbA1c nas análises com anemia versus sem anemia, †*p* < 0,05 valor estatisticamente significativo quando se compara valor de HbA1c nas análises sem considerar valor de VGM versus considerando valor de VGM.

anemia interfere com a glicação da HbA, não se conhece o mecanismo molecular pelo qual a glicação ocorre. Alguns autores referem que como a HbA1c é determinada como uma percentagem da HbA total, se a concentração de HbA diminuir, então para uma certa concentração de glicose a percentagem de HbA glicada aumentará. Outros autores referem que quando há défice de ferro a estrutura quaternária da Hb sofre uma alteração estrutural sendo mais fácil a sua glicação.<sup>8,16</sup> O nosso estudo demonstra que não há uma variação linear entre a diminuição da concentração de Hb e o valor de HbA1c nem entre o valor de VGM e o valor da HbA1c o que poderá sugerir que a glicação não é apenas dependente da concentração de HbA.

Neste estudo foram analisadas os resultados das determinações do valor da HbA1c obtidos ao longo de 10 anos, pelo mesmo método (HPLC), numa população aleatória e de características heterogéneas. No entanto, esta análise apresenta algumas limitações relacionadas com a determinação da glicose plasmática e com a identificação de doentes diabéticos. Por falta de informação clínica dos doentes não foi possível saber a percentagem de doentes diabéticos e por não existir informação relativa ao estado de jejum não foi possível considerar os valores da glicose plasmática.

Apesar das limitações do estudo, os nossos resultados realçam que em situações de anemia, em particular de anemia microcítica, o valor de HbA1c pode encontrar-se elevado comparativamente ao valor de HbA1c obtido na ausência de anemia, não traduzindo por isso o estado metabólico do doente. Nestes doentes, o controlo metabólico deverá ser efetuado por recurso a outro parâmetro que não a HbA1c. Considerando a elevada percentagem de doentes

diabéticos e de doentes com anemia no nosso País, os resultados deste estudo realçam a importância de nos doentes diabéticos com HbA1c elevada se avaliarem parâmetros hematológicos antes de se efetuarem alterações na terapêutica anti-diabética.

### Conclusão

Os resultados do nosso estudo indicam que os doentes diabéticos e anémicos podem apresentar uma elevação da percentagem da HbA1c sem que isso esteja associado a um incumprimento do plano terapêutico. Considerando a elevada prevalência de anemia no nosso País, é importante num doente diabético que apresente elevação da HbA1c, ter em consideração não só o valor da HbA1c como a concentração de Hb e o valor de VGM antes de se efetuarem alterações terapêuticas. ■

Proteção de Seres Humanos e Animais: Os autores declaram que não foram realizadas experiências em seres humanos ou animais.

Direito à Privacidade e Consentimento Informado: Os autores declaram que nenhum dado que permita a identificação do doente aparece neste artigo.

Conflitos de Interesse: Os autores declaram a inexistência de conflitos de interesse na realização do presente trabalho.

Fontes de Financiamento: Não existiram fontes externas de financiamento para a realização deste artigo.

Correspondência: Anália do Carmo - [analiacarmo@gmail.com](mailto:analiacarmo@gmail.com)  
 Serviço de Patologia Clínica, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal  
 Praceta Prof. Mota Pinto, 3000-075 Coimbra

Recebido: 31/10/2016

Aceite: 23/01/2017

## REFERÊNCIAS

1. Kahn SE, Cooper ME, Prato S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes : perspectives on the past, present, and future. *Lancet*. 2014;383:1068–83.
2. Siddiqui AA, Siddiqui SA, Ahmad S, Siddiqui S, Ahsan I, Sahu K. Diabetes : mechanism , pathophysiology and management-a review. *Int J Drug Dev Res*. 2013;5:1–23.
3. Observatório Nacional da Diabetes. Factos e Numeros. 2014.
4. Direção Geral da Saúde. Diagnóstico e Classificação da Diabetes Mellitus. Lisboa: DGS;2011.
5. Braga F, Panteghini M. Standardization and analytical goals for glycated hemoglobin measurement. *Clin Chem Lab Med*. 2013;51:1719–26.
6. English E, Idris I, Smith G, Dhataria K, Kilpatrick ES, John WG. The effect of anaemia and abnormalities of erythrocyte indices on HbA1c analysis: a systematic review. *Diabetologia*. 2015;58:1409–21.
7. Attard SM, Herring AH, Wang H, Howard AG, Thompson AL, Adair LS, et al. Implications of iron deficiency/anemia on the classification of diabetes using HbA1c. *Nutr Diabetes* 2015;5:e166.
8. Shanthi B, Revathy C, Devi AJM, Subhashree V. Effect of iron deficiency on glycation of haemoglobin in nondiabetics. *J Clin Diagnostic Res*. 2013;7:15–7.
9. Adeoye S, Abraham S, Erlikh I, Sarfraz S, Borda T, Yeung L. Anaemia and haemoglobin A1c level: Is there a case for redefining reference ranges and therapeutic goals? *Br J Med Pract*. 2014;7:6–10.
10. Hong JW, Ku CR, Noh JH, Ko KS, Rhee BD, Kim D. Association between the presence of iron deficiency anemia and hemoglobin A1c in Korean adults: the 2011-2012 Korea National Health and Nutrition Examination Survey. *Medicine*. 2015;94:e825.
11. Ford ES, Cowie CC, Li C, Handelsman Y, Bloomgarden ZT. Iron-deficiency anemia, non-iron-deficiency anemia and HbA1c among adults in the US. *J Diabetes*. 2011;3:67-73.
12. Fonseca, C., Marques, F., Robalo Nunes, A., Belo, A., Brilhante, D. and Cortez J. Prevalence of anaemia and iron deficiency in Portugal: the EMPIRE study. *Intern Med J* 2016. 46470-8.
13. Direção Geral da Saúde. Abordagem, diagnóstico e tratamento da ferro-pénia no adulto.Lisboa: DGS;2015.
14. Sinha N, Mishra TK, Singh T, Gupta N. Effect of iron deficiency anemia on hemoglobin A1c levels. *Ann Lab Med*. 2012;32:17–22.
15. Tarim O, Kücükerdoğan A, Günay U, Eralp O, Ercan I. Effects of iron deficiency anemia on hemoglobin A1c in type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Int*. 1999;41:357–62.
16. Christy AL, Manjrekar PA, Babu RP, Hegde A, Rukmini MS. Influence of iron deficiency anemia on hemoglobin A1C levels in diabetic individuals with controlled plasma glucose levels. *Iran Biomed J*. 2014;18:88–92.