

Normoglisemik Bireylerde Demir Eksikliği Anemisinin Hemoglobin A1c Düzeylerine Etkisi

Effect of Iron Deficiency Anemia on Hemoglobin A1c Levels in Normoglisemic Individuals

Esra Oğuz¹, Müjgan Ercan¹, Fatma Meriç Yılmaz^{1,2}

¹Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı

²Yıldırım Beyazıt Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya AB

Özet

Amaç Son yayınlanan ADA kriterleri, Hemoglobin A1c (HbA1c) düzeylerinin diabet hastalarının tanı ve tedavisinde kullanımını önermektedir. Demir eksikliği anemisi (DEA) en sık rastlanan anemilerdendir ve HbA1c nin tanı ve tedavide kullanımını kısıtlayabilecek potansiyel interferans nedenlerinden biridir. Bu çalışma, normoglisemik hasta grubunda DEA'nin HbA1c düzeylerine olan etkisini incelemek amacı ile planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne Eylül 2012 - Mart 2013 tarihleri arasında başvuran, diabet tanısı almamış, açlık kan şekeri, demir, doymamış demir bağlama kapasitesi, HbA1c ve hemogram istemi olan 80 hasta ve 70 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edilmiştir. HbA1c düzeyleri, Premier Hb9210 HbA1C Analyzer cihazında Boronat afinite HPLC yöntemiyle tespit edilmiştir.

Bulgular HbA1c düzeyleri hasta ve kontrol grubu için %5,61 ($\pm 0,39$) ve %5,56 ($\pm 0,36$) olarak bulundu. Hasta ve kontrol grubu için HbA1c düzeyleri açısından anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0,05$). Hemoglobin, demir, doymamış demir bağlama kapasitesi ve ferritin düzeyleri hasta ve kontrol grubu için anlamlı olarak farklı bulundu ($p < 0,001$). Hemoglobin ve HbA1c düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı. Yaş ve AKŞ düzeyleri ile HbA1c düzeyleri arasında anlamlı korelasyon bulundu (sırasıyla $p: 0,002$, $r: 0,255$; $p: < 0,001$, $r: 0,309$).

Sonuç Çalışmamızda DEA olan ve sağlıklı grup arasında HbA1c düzeyleri açısından anlamlı bir fark bulunmamıştır. Demir eksikliği anemisinde eritrosit yaşam oranının değişmediği ve bununla ilişkili olarak HbA1c düzeylerinin de etkilenmediği sonucuna ulaşılmıştır.

Anahtar kelimeler Demir eksikliği, HbA1c, anemi

Abstract

Objective Recently published ADA criteria recommends the use of hemoglobin A1c (HbA1c) levels in the diagnosis and treatment of diabetes. Iron deficiency anemia (IDA) is one of the most common anemias and restricts the use of HbA1c in diagnosis and treatment as it is known to be a cause of potential interference. This study was designed to investigate the effect of IDA on HbA1c levels in normoglisemic patients.

Methods 80 patients without diabetes and 70 healthy controls who were admitted to Ankara Numune Training and Research Hospital between September 2012 and March 2013 with fasting glucose, iron, unsaturated iron binding capacity, HbA1c levels and complete blood count were involved in the study. HbA1C levels were measured by Premier Hb9210 HbA1c Analyzer using Boronat affinity HPLC method.

Results HbA1c levels were 5,61 ($\pm 0,39$) % and 5,56 ($\pm 0,36$) % for patient and control group respectively. There was no significant difference between the patient and the control group in HbA1c levels ($p > 0,05$). Hemoglobin, iron, unsaturated iron binding capacity and ferritin levels were significantly different between the patient and the control group ($p < 0,001$). There was no significant correlation between hemoglobin and HbA1c levels. There were significant correlations between HbA1c and age, fasting blood glucose levels ($p: 0,002$, $r: 0,255$; $p: < 0,001$, $r: 0,309$ respectively).

Conclusion In our study, no significant difference was found between IDA and healthy group in HbA1c levels. In iron deficiency anemia, the HbA1c levels has not been affected according to the unchanged red blood cell survival rate.

Keywords Iron deficiency, HbA1c, anemia

Giriş

Diabetes mellitus insülin sekresyon ve/veya aktivitesindeki bozukluk sonucu hiperglisemi ile karakterize bir grup metabolik hastalığı temsil eder¹. Glikozile proteinler diabetik hastalarda kronik glisemik kontrolün göstergesi olarak kullanılır. Glikozile proteinler içerisinde en sık kullanılan ve kronik komplikasyonlarla ilişkili olduğu bilinen glikozile hemoglobin (HbA1c)'dir². HbA1c ölçümü uzun dönem glisemik kontrol için standart yöntemdir. Plazma glukoz düzeyi yükseldiği zaman hemoglobinin non-enzimatik glikozillenmesi artar, bu değişim de eritrositlerin ortalama 120 günlük yaşam süresinden dolayı son 2-3 aylık glisemik durumu yansıtır³. 2012 yılında yayınlanan ADA kriterleri, Hemoglobin A1c (HbA1c) düzeylerinin diabet hastalarının tanı ve tedavi takibinde kullanımını önermektedir⁴ (Tablo 1).

Tablo 1. Diyabet Tanı Kriterleri⁴

| |
|--|
| DM semptomları ile birlikte rastgele plazma glukoz düzeyinin ≥ 200 mg/dL olması |
| veya |
| Açlık plazma glukozunun ≥ 126 mg/dL olması |
| veya |
| OGTT testi esnasında 2. saat değeri ≥ 200 mg/dL olması |
| veya |
| HbA1c düzeyinin $\geq 6,5$ olması |

HbA1c düzeyleri sadece kan glukoz düzeylerinden değil eritrosit sağ kalımını etkileyen varyant hemoglobin varlığı, hemolitik anemiler, nutrisyonel anemiler, üremi, gebelik ve akut kan kaybı gibi durumlardan etkilenmektedir⁵. Demir eksikliği anemisi (DEA) en sık rastlanan anemilerdendir ve HbA1c'nin tanı ve tedavide kullanımını kısıtlayabilecek potansiyel interferans nedenlerinden biridir⁶. Bu çalışma, normoglisemik hasta grubunda DEA'nın HbA1c düzeylerine olan etkisini incelemek amacı ile planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi'ne Eylül 2012-Mart 2013 tarihleri arasında başvuran, diabet tanısı almamış, açlık kan şekeri (AKŞ) referans aralığı içerisinde olan (70-110 mg/dL), demir, doymamış demir bağlama kapasitesi, HbA1c ve

hemogram istemi olan 80 hasta ve 70 sağlıklı kontrol çalışmaya dahil edildi. Hasta grubu tayin edilirken hemoglobin (Hb) ve demir düzeyleri göz önünde bulundurularak kadınlar için Hb < 12 g/dl ve demir < 37 μ g/dl; erkekler için ise Hb < 13 g/dl ve demir < 59 μ g/dl olanlar gruba dahil edildi. Kontrol grubu için erkeklerde Hb düzeyleri 13-17 g/dl, demir düzeyleri 59-158 μ g/dl referans aralığı içerisinde olanlar ve kadınlarda Hb düzeyleri 12-15 g/dl, demir düzeyleri 37-145 μ g/dl referans aralığı içerisinde olanlar seçilerek çalışmaya dahil edildi.

HbA1C düzeyleri, Premier Hb9210 HbA1C Analyzer cihazında Boronat afinite HPLC yöntemiyle tespit edildi. Hemogram testi Sysmex XE-2100 (Roche Diagnostik, Japonya) cihazında çalışıldı. Glukoz düzeyleri glukoz oksidaz yöntemiyle, doymamış demir bağlama kapasitesi ve demir düzeyleri ise FerroZine yöntemi ile Hitachi 912 modüler cihazında (Roche Diagnostik, Almanya) analiz edildi. Ferritin düzeyleri elektrokemilüminesans yöntem kullanılarak Cobas E601 (Roche Diagnostik, Almanya) modüler cihazında çalışıldı.

Çalışma sonuçları istatistiksel olarak "The Statistical Package for Social Science for Windows (SPSS v18)" programı ile değerlendirildi. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uyup uymadığı Kolmogorov-smirnov testi ile incelendi. Sürekli değişkenlerden normal dağılıma uyanların tanımlayıcı istatistikleri ortalama \pm standart sapma; normal dağılıma uymayanların ise median (minimum-maximum) şeklinde gösterildi. Normal dağılım gösteren sürekli değişkenler yönünden gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farkın olup olmadığı Student's t testi ile normal dağılmayan sürekli değişkenler yönünden farkın önemliliği ise Mann Whitney U testi ile incelendi. Normal dağılan sürekli değişkenler için gruplar arasında korelasyon bulunup bulunmadığı Pearson korelasyon testi ile araştırıldı. $p < 0.05$ tüm testler için istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmaya dahil edilen hastaların 58'i kadın, 22'si erkekti. Kontrol grubunun ise 41'i kadın, 31'i erkekti. Hasta grubunun yaş ortalaması 50,32, kontrol grubunun ise 48,38'di. HbA1c düzeyleri hasta ve kontrol grubu için %5,61 ($\pm 0,39$) ve %5,56 ($\pm 0,36$) olarak bulundu. Hasta ve kontrol grubu için HbA1c düzeyleri açısından anlamlı farklılık bulunmadı ($p = 0,185$). AKŞ düzeyleri ise hasta ve kontrol grubu için sırasıyla 90,11 ($\pm 10,46$) mg/dl ve 92,13 ($\pm 8,49$) mg/dl olarak bulundu. Hasta ve kontrol grubu için AKŞ düzeyleri anlamlı olarak farklı bulunmadı ($p = 0,849$). Hemoglobin düzeyleri hasta grubu için 11,4 (6,9-13) g/dl, kontrol grubu için ise 13,75

(8,8-17,2) g/dl olarak tespit edildi. Demir düzeyleri ise hasta grubu için 41,49 ($\pm 28,38$) $\mu\text{g/dl}$ ve kontrol grubu için 82,07 ($\pm 30,28$) $\mu\text{g/dl}$ 'di. Doymamış demir bağlama kapasitesi (UIBC) hasta grubu için 360,24 ($\pm 75,14$) $\mu\text{g/dl}$ ve kontrol grubu için ise 247,67 ($\pm 65,38$) $\mu\text{g/dl}$ 'di. Ferritin düzeyleri hasta ve kontrol grubu için sırasıyla 11 (2-233) ng/mL ve 50,66 (9-1237) ng/mL olarak bulundu (Tablo 2).

Tablo 2. Hasta ve Kontrol Gruplarının Demografik Verileri ve Biyokimyasal Parametreleri

| Değişkenler | Hasta Grubu (n=80) | Kontrol Grubu (n=70) | p |
|----------------------------|--------------------|----------------------|-------|
| Yaş (yıl) | 50,32 \pm 17,50 | 48,38 \pm 13,21 | 0,377 |
| Cinsiyet (E/K) | 22/58 | 31/41 | |
| AKŞ (mg/dL) | 90,11 \pm 10,46 | 92,13 \pm 8,49 | 0,849 |
| HbA1c (%) | 5,61 \pm 0,39 | 5,56 \pm 0,36 | 0,185 |
| Hb (g/dL) | 11,40(6,90-13,00) | 13,75(8,80-17,20) | 0,000 |
| Demir ($\mu\text{g/dL}$) | 41,49 \pm 28,38 | 82,07 \pm 30,28 | 0,000 |
| UIBC ($\mu\text{g/dL}$) | 360,24 \pm 75,14 | 247,67 \pm 65,38 | 0,000 |
| Ferritin (ng/mL) | 11(2-233) | 50,66(9-1237) | 0,001 |

Hemoglobin, demir, doymamış demir bağlama kapasitesi ve ferritin düzeyleri hasta ve kontrol grubu için anlamlı olarak farklı bulundu ($p < 0,001$). Hemoglobin ve HbA1c düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı. Yaş ve AKŞ düzeyleri ile HbA1c düzeyleri arasında anlamlı korelasyon bulundu (sırasıyla $p: 0,002$, $r: 0,255$; $p: < 0,001$, $r: 0,309$). HbA1c ile demir ve doymamış demir bağlama kapasitesi arasında ise korelasyona rastlanmadı (Tablo 3).

Tablo 3. HbA1c ile Biyokimyasal Parametreler Arasındaki Korelasyon Katsayıları ve Önemlilik Düzeyleri

| HbA1c | r | p |
|-------|--------|-------|
| Yaş | 0,255 | 0,002 |
| AKŞ | 0,309 | 0,000 |
| Hb | 0,027 | 0,741 |
| Fe | -0,069 | 0,397 |
| UIBC | -0,049 | 0,563 |

Ferritin ve Hb değerleri median (min-max); diğer parametreler ise ortalama \pm SD olarak ifade edilmiştir.

Tartışma

Diabet hastalarının tanı ve tedavi takibinde kullanılan HbA1c sadece glukoz düzeylerinden değil, varyant hemoglobin varlığı, hemolitik anemiler, nutrisyonel anemiler, üremi, gebelik ve akut kan kaybı gibi durumlardan etkilenmektedir(s).Demir eksikliği anemisi en sık rastlanan nutrisyonel anemilerdendir ve HbA1c düzeylerine etkisi olduğu düşünülmektedir.

DEA ve HbA1c ilişkisini inceleyen ilk çalışmalardan birinde nondiyabetik ve DEA olan hastalarda HbA1c düzeyleri yüksek olarak bulunmuş ve demir tedavisi sonrası HbA1c düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir⁷. Bunun sebebinin demir eksikliğinin hemoglobinin kuvarterner yapısını değiştirmesi ve globin zincirinin glikozilasyonunu kolaylaştırması, ayrıca hemoglobin glikozilasyonunun geri dönüşümsüz bir süreç olması ve hücre yaşı arttıkça eritrositteki HbA1c konsantrasyonunun doğrusal olarak artması ile ilgili olabileceği öne sürülmüştür^{7,8}. Later van Heyningen ve ark ile Hansen ve ark. nın çalışmalarına göre ise demir eksikliği anemisi ve HbA1c düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Bu durum ise demir eksikliği anemisinde hemolitik komponentin etkisinin minimal düzeyde olup hem matür hem immatür eritrositleri etkilemesine ve bu nedenle de eritrosit yaşam süresi oranının normal olmasına bağlanmıştır^{9,10}. Çoban ve ark.nın yapmış olduğu çalışmada demir eksikliği anemisi olan hastalara verilen demir tedavisini takiben başlangıçta yüksek olan HbA1c düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir ve DEA'deki HbA1c düzeylerinin yüksekliğinin serum glukozunun sabit olduğu durumda hemoglobin konsantrasyonundaki azalmaya bağlı olarak glikolize fraksiyonda artışla açıklanabileceği belirtilmiştir¹¹. Kim ve ark.nın 330 hastanın dahil olduğu çalışmada ise HbA1c'nin %5,5-6,5 değerleri arasında demir eksikliği anemisi ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir¹². Bizim çalışmamızda da hasta ve kontrol grupları için ortalama HbA1c değerleri %5,61 ve %5,56 olarak bulunmuştur ve HbA1c ile hemoglobin, demir ve doymamış demir bağlama kapasitesi düzeyleri arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Ford ve ark.nın 8296 hastanın verilerinin değerlendirildiği çalışmada düşük veya yüksek Hb düzeyleri ve HbA1c'nin %5,7-6,5 arasında olduğu hastalarda prediabet tanısı konulmadan önce eritrosit döngüsünde meydana gelebilecek değişikliklerin göz önünde bulundurulması gerektiği, ancak bu durumun prediabet veya diabet tanısında

HbA1c'nin güvenilirliğini saptamak için demir eksikliğini taramayı gerektirmediği sonucuna varılmıştır¹³. Glikohemoglobin ölçümü için farklı test prensipleri kullanılmaktadır. Bunlardan en çok tercih edilenleri iyon değişim kromatografisi, elektroforez, afinite kromatografisi ve immunoassay teknikleridir. Demir eksikliğinin HbA1c düzeyleri üzerine etkisini inceleyen araştırmalardaki farklı sonuçlar, kullanılan yöntemden kaynaklanabilir. Çoban ve ark. nın çalışmasında HbA1c ölçümü türbidimetrik immunoassay yöntemi ile yapılmış, demir eksikliği olan hastaların demir tedavisi öncesi HbA1c düzeyleri daha yüksek olarak bulunmuştur¹¹. Hansen ve ark çalışmasında HbA1c düzeyleri iyon değişim kromatografisi ile değerlendirilmiş, demir ve vitamin B12 eksikliği olan hastaların demir ve vitamin B12 tedavisi öncesi ve sonrası HbA1c düzeyleri arasında fark bulunmamıştır¹⁰. Sinha ve ark çalışmasında HbA1c düzeyleri ölçümü için katyon değişim kolon kromatografisi yöntemi kullanılmış, demir eksikliği anemisi olan hastaların demir tedavisi sonrası HbA1c düzeylerinde artış görülmüştür⁵. Rafat ve ark.nın demir eksikliği olan ve olmayan gebelerde HbA1c düzeylerini iyon değişim kromatografisi yöntemi ile çalışarak karşılaştırdığı çalışmasında grupların HbA1c düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır⁶. Shanthi ve ark.nın diabetik olmayan demir eksikliği olan ve olmayan grupları karşılaştırdığı çalışmasında HbA1c düzeyleri türbidimetrik immunoinhibisyon tekniği ile ölçülmüş, demir eksikliği olan grupta HbA1c düzeyleri yüksek olarak bulunmuştur¹⁴. Bizim çalışmamızda HbA1c düzeyleri boranat afinite HPLC tekniği ile ölçülmüştür ve demir eksikliği olan ve olmayan grup arasında HbA1c düzeyleri açısından fark bulunmamıştır. Yapılan çalışmalarda HPLC yöntemlerinin türbidimetrik yöntemlere göre demir eksikliğinden daha az etkilendiği gözlenmektedir. Çalışmamızda kullandığımız boronat afinite kromatografisi de bir HPLC yöntemidir. Boronat Afinite yönteminin demir eksikliğinden etkilenip etkilenmediğine dair literatürde yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışma sonuçlarının farklı olması değerlendirmenin yapıldığı hasta grubunun özelliklerinin ve sayısının farklılığından kaynaklanabileceği gibi HbA1c ölçüm yöntemindeki farklılıktan da kaynaklanabilir. Klinisyenlerin HbA1c testi için kullanılan test tekniğinin, referans aralıklarının ve potansiyel interferansların (demir eksikliği anemisi, hemoglobinopatiler, hemolitik anemiler, üremi, kronik böbrek yetmezliği gibi) farkında olması sonuçların değerlendirilmesi aşamasında faydalı olacaktır. Demir eksikliği anemisi ve HbA1c düzeylerinin ilişkisinin mekanizmasını tam olarak açıklanamamıştır. DEA ve

HbA1c düzeyi ilişkisi için daha büyük hasta gruplarında ve farklı HbA1c sistemlerini değerlendiren çalışmaların yapılması gerektiği sonucuna varılmıştır.

Kaynaklar

1. Jandric Balen M, Lukenda V, Jandric I, Raguz A, Zukanovic S, Miskic B. HbA1C - overall glycemia marker and hemolytic anemia indicator. *Med Glas (Zenica)* 2012;9(2):406-8.
2. Koga M, Saito H, Mukai M, Matsumoto S, Kasayama S. Influence of iron metabolism indices on glycated haemoglobin but not glycated albumin levels in premenopausal women. *Acta Diabetol* 2010;47:65-9.
3. Braunwald E, F.A., Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, ed. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 15th ed. Diabetes mellitus. Vol. 22. New York: McGraw Hill; 2001:2105-09.
4. Standards of medical care in diabetes--2012. *Diabetes Care* 2012;35:11-63.
5. Sinha N, Mishra TK, Singh T, Gupta N. Effect of iron deficiency anemia on hemoglobin A1c levels. *Ann Lab Med* 2012;32(1):17-22.
6. Rafat D, Rabbani TK, Ahmad J, Ansari MA. Influence of iron metabolism indices on HbA1c in non-diabetic pregnant women with and without iron-deficiency anemia: effect of iron supplementation. *Diabetes Metab Syndr* 2012;6(2): 102-5.
7. Brooks AP, Metcalfe J, Day JL, Edwards MS. Iron deficiency and glycosylated haemoglobin A. *Lancet* 1980;2(8186): 141.
8. Sluiter WJ, van Essen LH, Reitsma WD, Doorenbos H. Glycosylated haemoglobin and iron deficiency. *Lancet* 1980;2(8193): 531-2.
9. van Heyningen C, Dalton RG. Glycosylated haemoglobin in iron-deficiency anaemia. *Lancet* 1985;1(8433):874.
10. Gram-Hansen P, Eriksen J, Mourits-Andersen T, Olesen L. Glycosylated haemoglobin (HbA1c) in iron- and vitamin B12 deficiency. *J Intern Med* 1990;227(2):133-6.
11. Coban E, Ozdogan M and Timuragaoglu A. Effect of iron deficiency anemia on the levels of hemoglobin A1c in nondiabetic patients. *Acta Haematol* 2004;112(3):126-8.
12. Kim C, Bullard KM, Herman WH, Beckles GL. Association between iron deficiency and A1C Levels among adults without diabetes in the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2006. *Diabetes Care* 2010;33(4):780-5.
13. 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(1):67-73.
14. Shanthi B, Revathy C, Manjula Devi AJ, Subhashree. Effect of iron deficiency on glycation of haemoglobin in nondiabetics. *J Clin Diagn Res* 2013;7(1):15-7.

Yazışma Adresi/Correspondence

Dr. Esra FIRAT OĞUZ

Ankara Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi

Biyokimya Kliniği

e-posta: dr_esrafirat@hotmail.com

Geliş Tarihi: 10.01.2013 Kabul Tarihi: 13.04.2013