



Doctoral Thesis

Controlling multiple micronutrient deficiencies potential interactions and strategies for prevention

Author(s):

Biebinger, Ralf

Publication Date:

2008

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-005594577> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

DISS. ETH NO. 17619

**CONTROLLING MULTIPLE MICRONUTRIENT DEFICIENCIES:
POTENTIAL INTERACTIONS AND STRATEGIES FOR PREVENTION**

A dissertation submitted to

ETH ZURICH

for the degree of

Doctor of Sciences

presented by

RALF BIEBINGER

Dipl. oec. troph., Justus-Liebig-University Giessen, Germany

born April 10, 1979

citizen of Germany

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Richard F. Hurrell, examiner

Prof. Dr. Michael B. Zimmermann, co-examiner

Dr. Lena M. Davidsson, co-examiner

2008

SUMMARY

Background

Iron, iodine and vitamin A deficiencies are major global public health problems. WHO estimates that \approx 2 billion people are iron deficient (ID) and, despite the enormous progress of iodized salt programs, approximately 1/3 of the world's population remains iodine deficient. Although vitamin A supplementation (VAS) has been implemented in many countries, vitamin A deficiency (VAD) continues to affect \approx 250 million pre-school children worldwide. Traditionally, nutritional epidemiology has investigated individual micronutrient deficiencies and control strategies have focused on single micronutrients.

However, co-existing deficiencies are common, particularly in populations consuming monotonous, low-quality diets based on plant foods. Moreover, co-existing deficiencies often have significant physiologic interactions. For example, a recent study in African children with concurrent iodine deficiency and VAD reported that moderate VAD in iodine deficiency-affected children may increase the risk for goiter but decrease risk for hypothyroidism; an effect explained by a modulation of the pituitary thyroid stimulating hormone (TSH) β gene by vitamin A. Also, VAD and ID have important physiologic interactions: VAS may reduce anemia in VAD populations. One suggested mechanism is that vitamin A treatment may increase production of erythropoietin (EPO), a known stimulant of erythropoiesis.

Successful iron fortification of cereals remains a challenge: water-soluble iron compounds, which are the most bioavailable, often cause unacceptable color and flavor changes, whereas poorly-soluble compounds are usually stable in foods but are only poorly absorbed. Encapsulation of water-soluble compounds offers new opportunities for fortification by providing a physical barrier between iron and the food matrix to reduce unwanted sensory changes. Alternatively, if the bioavailability of poorly-soluble iron compounds like the elemental iron powders widely used in cereal fortification could be improved and their sensory advantages retained, this could also be a major advance in iron fortification.

Aim

The general aims of this PhD project were, first, to study the interactive effects of concurrent micronutrient deficiencies and then to develop and test new strategies for their control. The focus was on:

- 1) Investigation of the physiological mechanism(s) of the interaction of VAD and iodine deficiencies.
- 2) Investigation of the physiological mechanism(s) of the interaction of VAD and ID.
- 3) Evaluation of novel iron compounds for wheat flour fortification: a) newly developed microcapsules containing ferrous sulfate and potassium iodate; and b) a new untested elemental iron powder (NutraFine™ RS).

Design

- 1) A two-stage depletion-repletion animal study was conducted. In the depletion study, rats were made iodine deficient and/or VAD, and were compared to pair-fed controls. In the repletion study, the effect of VAS and/or dietary iodine repletion, alone and in combination, on the thyroid-pituitary axis in VAD and iodine-deficient rats was investigated.
- 2) In a 10-month double-blind randomized trial, ID and VAD Moroccan school children received either VAS or placebo at baseline and after 5 months; hemoglobin, iron status, vitamin A status, and EPO concentrations were measured.
- 3) Small dense microcapsules of hydrogenated palm fat were produced by spray cooling and used to co-encapsulate ferrous sulfate and potassium iodate. These were used to fortify wheat-flour based biscuits with 10 mg iron and 150 µg iodine per serving. Their efficacy was compared to biscuits fortified with 20 mg iron as NutraFine™ RS, a new hydrogen (H)-reduced iron compound, and a non-fortified control in a 22 week, randomized, double-blind trial in Kuwaiti women with poor iron status and adequate iodine status.

Results

- 1) At the end of the 30d depletion period, rats fed VAD diets had 35% lower serum retinol concentrations, compared to the vitamin A sufficient groups. Compared to the rats receiving iodine-deficient or VAD diets, serum TSH, TSHβ mRNA and thyroid weights significantly increased in the combined VAD and iodine deficient rats ($p < 0.05$). This was likely due to interactive effects at the level of the TSHβ gene.

Thus, a combined deficiency produced greater impairments of thyroid function compared to the single deficiencies. After the 10d repletion period, vitamin A and iodine repletion normalized serum retinol levels and thyroid parameters, respectively. The main finding was that vitamin A repletion in combined VAD and iodine deficiency without iodine repletion reduced TSH and thyroid weights significantly ($p < 0.05$), likely due to suppression of the pituitary TSH β gene by vitamin A.

2) At the end of the intervention in Moroccan school children, there was no change in total body iron, but EPO and hemoglobin concentrations increased significantly in the vitamin A treated group. Both serum ferritin (SF) and serum transferrin receptor (sTfR) concentrations decreased significantly ($p < 0.01$), suggesting mobilization of hepatic iron stores leading to increased erythropoiesis.

3) In the efficacy trial, the fortified biscuits were indistinguishable in taste and color from the unfortified biscuits. Mean SF increased and mean sTfR decreased, and the prevalence of ID (SF $< 15 \mu\text{g/L}$) was reduced from 72% to 42% in the group receiving ferrous sulfate compared to control ($p < 0.001$). The median urinary iodine concentration increased from 138 to 213 $\mu\text{g/L}$ in the treatment group ($p < 0.01$, compared to control). In contrast, the NutraFineTM RS did not improve SF, sTfR or body iron status.

Conclusions

1) Depletion study: Moderate VAD alone has no measurable effect on the pituitary-thyroid axis. Concurrent iodine deficiency and VAD produce more severe primary hypothyroidism than iodine deficiency alone.

Repletion study: A single high dose of vitamin A was sufficient to return serum retinol to normal, in both iodine deficient and VAD rats. Despite continuing VAD, provision of iodine entirely reversed abnormalities of the pituitary-thyroid axis produced by vitamin A and iodine depletion. A high dose of vitamin A in iodine-sufficient rats had no discernible effects on the pituitary-thyroid axis. In contrast, a high dose of vitamin A in iodine-deficient rats reduced pituitary production of TSH and reduced TSH stimulation of the thyroid, but had no discernible effects on thyroid hormone concentrations.

The data from these animal studies demonstrate for the first time that vitamin A status modulates feedback of thyroid hormones on the pituitary TSH β gene, and this is likely to be the central mechanism of the interaction of VAD and iodine

deficiencies. The findings also suggest that vitamin A repletion is probably safe in areas of VAD and iodine deficiency and may reduce the risk for thyroid hyperstimulation and goiter. In a subsequent study in South Africa, this was confirmed in humans.

2) Vitamin A treatment increases hemoglobin concentration and reduces the prevalence of anemia without changing total body iron. This study demonstrated for the first time that these changes are at least partly due to a vitamin A-mediated increase in circulating EPO concentration. However, vitamin A treatment may have also influenced other factors involved in erythropoiesis.

3) The newly developed microcapsules containing ferrous sulfate and potassium iodate, when added to wheat flour, are efficacious. Although these microcapsules are promising, especially in terms of size (they match the mean particle size required by the milling industry), further investigations, including long-term storage and sensory studies, are needed before they can be recommended as a fortificant for wheat flour.

The dual fortification approach together with iodine, particularly in areas where salt cannot be used as fortificant, offers new opportunities to control iodine deficiency.

The new H-reduced iron (NutraFine™ RS) was not efficacious in improving body iron status. Although it was slightly more soluble in dilute acid compared to previous commercial forms of H-reduced iron, it was still less soluble than electrolytic iron. The results of this study support current WHO recommendations, which state the only elemental iron powder that should be used for cereal fortification is electrolytic iron, and H-reduced iron is not recommended.

ZUSAMMENFASSUNG

Hintergrund

Eisen-, Vitamin A- und Iodunterversorgung stellen weltweit ein schwerwiegendes Gesundheitsproblem dar. Die WHO schätzt, dass zirka 2 Milliarden Menschen an Eisenmangel leiden, und trotz der weitreichenden Massnahmen mit iodiertem Speisesalz ist weiterhin ein Drittel der Weltbevölkerung immer noch nicht ausreichend mit Iod versorgt. Obwohl Vitamin A in vielen Ländern supplementiert wird, sind über 250 Millionen Vorschulkinder von Vitamin A-Mangel betroffen. In der Vergangenheit betrachteten Ernährungsepidemiologen diese Mängel isoliert und konzentrierten sich bei Gegenmassnahmen auf einzelne Mikronährstoffe.

Häufig treten Mikronährstoffmängel jedoch zusammen auf, besonders in Bevölkerungen, deren tägliche Nahrung aus einseitiger Pflanzenkost besteht. Gleichzeitig auftretende Mikronährstoffmängel können sich jedoch gegenseitig beeinflussen. Zum Beispiel zeigte eine Studie in Kindern, dass schwacher Vitamin A-Mangel mit starkem Iodmangel das Risiko für Kropfbildung erhöht, aber das Risiko für Schilddrüsenunterfunktion reduziert. Es wird vermutet, dass Vitamin A einen Einfluss auf die Expression des TSH-Gens hat. Zusätzlich ist auch bekannt, dass Vitamin A- und Eisenmangel sich gegenseitig beeinflussen können. Supplementierung von Vitamin A hat gezeigt, dass dies möglicherweise die Verbreitung von Blutarmut in Bevölkerungsgruppen mit Vitamin A-Mangel reduzieren kann. Es wird vermutet, dass eine Vitamin A-Behandlung die Produktion von Erythropoietin (EPO) fördert, welches die Bildung von roten Blutkörperchen steuert.

Die wirksame Fortifizierung von Getreide bleibt weiterhin schwierig. Wasserlösliche, sehr gut bioverfügbare Eisenverbindungen verursachen oft Farb- und Geschmacksveränderungen, wohingegen die schlecht löslichen Verbindungen zwar in Lebensmitteln stabil sind, aber schlecht aufgenommen werden. Eine neue Möglichkeit wäre die Einkapsulierung von wasserlöslichen Eisenverbindungen, wodurch eine Schutzschicht zwischen Eisen und Lebensmittelmatrix eingeführt würde, die vor unerwünschten sensorischen Veränderungen schützen könnte.

Eine weitere Möglichkeit wäre die Verbesserung der Bioverfügbarkeit von schlecht löslichen Eisenverbindungen, jedoch dürften die guten sensorischen Eigenschaften dabei nicht verloren gehen.

Zielsetzung

Die vorliegende Doktorarbeit hatte folgende Zielsetzung: Die Untersuchung der Interaktionen zwischen Mikronährstoffmangelerkrankungen und die Entwicklung neuer Strategien zur deren Kontrolle. Der Fokus lag auf:

1. Untersuchung der physiologischen Wechselwirkungen zwischen Vitamin A- und Iodmangel.
2. Untersuchung der physiologischen Wechselwirkungen zwischen Vitamin A- und Eisenmangel.
3. Bewertung neuer Eisenverbindungen für die Fortifizierung von Weizenmehl mit einer neuartigen Mikrokapsel mit Eisensulfat und Kaliumiodat; und einem weiterentwickelten elementaren Eisenpulver (NutraFine™ RS).

Design

1) Eine zweiteilige Tierstudie wurde durchgeführt. Im ersten Teil der Studie wurde bei Laborratten mit Vitamin A- und/oder iodfreiem Futter ein entsprechender Mangel induziert und diese Tiere mit Kontrollgruppen verglichen, die gleiche Futtermengen, jedoch mit normalem Vitamin A- und Iodgehalt, erhielten. Der zweite Teil der Studie untersuchte den Einfluss von Vitamin A-Supplementierung und Iodgabe alleine oder in Kombination auf die Schilddrüsen-Hypophysen-Achse in Ratten mit Vitamin A- und/oder Iodmangel.

2) In einer 10-monatigen, randomisierten Doppelblindstudie erhielten marokkanische Schulkinder zu Beginn und nach 5 Monaten ein Vitamin A-Supplement oder Placebo. Hämoglobin, Eisenstatus, Vitamin A-Status und EPO-Konzentration wurden gemessen.

3) Durch Kaltsprühen wurden Mikrokapseln mit Eisensulfat und Kaliumiodat produziert und Weizenkekse in einer Konzentration von 10 mg Eisen und 150 µg Iod pro Portion zugesetzt. In einer Studie mit kuwaitischen Frauen wurde die Wirksamkeit dieser Kekse verglichen mit Keksen, welche 20 mg Eisen als NutraFine™ RS oder kein Eisen enthielten. Die ausgewählten Probandinnen hatten einen tiefen Eisenstatus und waren ausreichend mit Iod versorgt.

Ergebnisse

1) Am Ende des ersten Teils der Tierstudie hatten die Tiere mit Vitamin A-Mangel im Vergleich zu ausreichend versorgten Tieren um 35% tiefere Serumretinol-Konzentrationen. Im Vergleich zu Ratten, die entweder Vitamin A- oder iodfreie Nahrung erhalten hatten, waren TSH, TSH β mRNA und Schilddrüsengewicht bei den Tieren signifikant erhöht, die gleichzeitig Vitamin A- und iodfreie Nahrung erhielten. Dieser Effekt beruht vermutlich auf Wechselwirkungen am TSH β -Gen, die bedingen, dass ein gleichzeitig auftretender Mangel an Vitamin A und Iod grösseren negativen Einfluss auf die Schilddrüsenfunktion hat als Iodmangel allein. Am Ende des zweiten Teils hatten Vitamin A- und Iodgabe den Vitamin A-Spiegel bzw. die Schilddrüsenparameter normalisiert. Die wichtigste Erkenntnis aus der Studie ist, dass Vitamin A - Behandlung alleine bei Vitamin A- und Iodmangel einen Rückgang von TSH und Schilddrüsengewicht bewirkt, was wiederum auf Wechselwirkungen am TSH β -Gen zurückzuführen ist.

2) Am Ende der Humanstudie in Marokko zeigte sich bei den Schulkindern keine Veränderung des Eisenspeichers, jedoch eine erhöhte EPO- und Hämoglobinkonzentration. Die erniedrigten Spiegel an Serumferritin (SF) und Serumtransferrinrezeptoren (sTfR) lassen auf eine erhöhte Bildung von roten Blutkörperchen schliessen, die mit Hilfe von Eisen aus Leberspeichern hergestellt werden.

3) In der Studie in Kuwait waren die Kekse in Geschmack und Farbe nicht voneinander unterscheidbar. Nur die Kekse, die Eisensulfat enthielten, konnten SF signifikant erhöhen und sTfR senken. Die Eisenmangelprävalenz sank von 72% auf 42%, und die Iodkonzentrationen im Urin erhöhten sich von 138 auf 213 $\mu\text{g/L}$ (Medianwerte). Im Gegensatz dazu veränderten sich SF, sTfR und Eisenstatus in der Gruppe, welche NutraFine™ RS erhielt, nicht signifikant.

Schlussfolgerungen

1) Die Ergebnisse des ersten Teils der Tierstudie lassen darauf schliessen, dass moderater Vitamin A-Mangel allein keine negativen Effekte auf die Schilddrüse hat. Die Kombination aus Vitamin A- und Iodmangel jedoch die Hypophysen-Schilddrüse-Achse mehr beeinträchtigt als alleiniger Iodmangel. Der Vitamin A-Status konnte im zweiten Teil der Studie durch die Gabe von Vitamin A normalisiert werden.

Die Versorgung mit Iod konnte die negativen Effekte aus dem ersten Teil der Studie vollkommen aufheben. Im Gegensatz dazu führte der Zusatz von Vitamin A bei Iodmangel-Ratten zu einer Senkung der Schilddrüsenstimulierung *via* TSH, jedoch ohne Einfluss auf die Schilddrüsenhormone im Blut. Die Resultate der Tierstudie zeigen zum ersten Mal, dass auch Vitamin A die Steuerung der Schilddrüsenfunktion über das TSH β -Gen beeinflusst. Weiterhin lassen die Daten vermuten, dass Vitamin A-Supplementierung in Personen mit Vitamin A- und Iodmangel sicher ist. In einer Studie in Südafrika konnten die Studienergebnisse bestätigt werden.

2) Die Behandlung mit Vitamin A erhöhte die Hämoglobinkonzentration und senkte die Prävalenz von Blutarmut in marokkanischen Schulkindern, jedoch ohne das Gesamtkörpereisen zu verändern. Die Studie zeigte erstmalig, dass die Veränderungen auf einer Vitamin A-abhängigen Erhöhung der EPO-Produktion beruhen. Allerdings kann Vitamin A auch andere Faktoren der Bildung von roten Blutkörperchen beeinflussen.

3) Die neuartige Mikrokapsel, welche den Anforderungen der Müllerei-Industrie entspricht (insbesondere hinsichtlich Partikelgrösse), kann den menschlichen Eisen- und Iodstatus signifikant erhöhen. Obwohl diese Ergebnisse vielversprechend sind, müssen weitere Untersuchungen zur Langzeitlagerung und möglichen sensorischen Veränderungen folgen – erst dann kann die Mikrokapsel zur Anreicherung von Weizenmehl empfohlen werden.

Die zweifache Anreicherung von Mehl mit Eisen und Iod kann insbesondere in Gebieten, wo Salz nicht als Vehikel geeignet ist, neue Möglichkeiten zur Bekämpfung von Iodmangel eröffnen. Die Versuche mit NutraFine™ RS erzielten keine Verbesserung des Eisenstatus. Die Ergebnisse der Löslichkeitsversuch in verdünnter Säure war zwar besser als beim Vorgängerprodukt, aber immer noch deutlich niedriger im Vergleich zu elektrolytischem Eisenpulver. Die Ergebnisse stützen die derzeitigen Empfehlungen der WHO, bei der Anreicherung von Mehl mit elementarem Eisen ausschliesslich elektrolytisches Eisenpulver zu verwenden.