



Doctoral Thesis

Interactions between iron and omega-3 fatty acids: effects of deficiency and repletion on brain monoamines and cognition

Author(s):

Baumgartner, Jeannine

Publication Date:

2012

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-7362413> →

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

**INTERACTIONS BETWEEN IRON AND OMEGA-3 FATTY ACIDS:
EFFECTS OF DEFICIENCY AND REPLETION ON
BRAIN MONOAMINES AND COGNITION**

A dissertation submitted to

ETH Zürich

for the degree of

Doctor of Sciences

presented by

Jeannine Baumgartner

Dipl. Lm.-Ing. ETH

born 18.04.1983

citizen of Hünenberg ZG, Switzerland

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. med. Michael B. Zimmermann, examiner

Prof. Dr. Richard F. Hurrell, co-examiner

Prof. Dr. Cornelius M. Smuts, co-examiner

ABSTRACT

Background

Iron deficiency (ID) is common during childhood, particularly in developing countries. Children with a low consumption of fish and high intakes of fat and oils rich in n-6 but low in n-3 fatty acids (FAs) are at risk of inadequate n-3 FA intakes. Deficiencies in iron and n-3 FAs during periods of brain development may affect brain metabolism and monoaminergic neurotransmission, associated with deficits in cognitive function. However, little is known about potential interactive effects between these two common deficiencies, and whether deficits induced by a double-deficiency can be reversed with supplementation.

Aim

The overall aim of this thesis was to apply a translational nutrition approach to identify potential interactive effects between iron and n-3 FA deficiencies and repletion on brain monoamines and cognition. More specifically we investigated the effects of ID and n-3 FA deficiency (n-3 FAD), alone and in combination, on brain monoamine concentrations and cognition in rats. In rats with concurrent ID and n-3 FAD, we examined whether repletion with iron and docosahexaenoic acid (DHA)/eicosapentaenoic acid (EPA), alone and in combination, corrects the deficits associated with deficiency.

In order to translate the findings from the depletion and repletion rat studies to the human situation, we investigated whether supplementation with iron and a mixture of DHA and EPA, alone and in combination, improves cognitive performance in children with ID and poor n-3 FA intakes.

Design

The depletion and repletion rat studies used a 2-by-2 factorial design. Rats were fed either an ID, n-3 FAD, ID+n-3 FAD or a control diet for 5 weeks post-weaning, after n-3 FAD had been induced over two generations. Following the depletion experiment, ID+n-3 FAD rats were repleted for 5 weeks with iron and DHA/EPA, alone and in combination. Spatial working and reference memory (using the Morris water maze), brain monoamine

metabolism (monoamine concentrations and gene expression), brain FA composition and iron concentrations were assessed after depletion and repletion.

In a 2-by-2 factorial, randomized, double-blind, placebo controlled trial, South African children ($n = 321$, aged 6-11 y) were randomly assigned to receive either 1) iron (50 mg as ferrous sulphate) + DHA/EPA (80/420 mg); 2) iron + placebo; 3) placebo + DHA/EPA; or 4) placebo + placebo as oral supplements (4 x per week for 8.5 months). Biochemical indicators and cognitive performance, using the Hopkins Verbal Learning Test (HVL) and subtests of the Kaufman Assessment Battery for Children, were assessed at baseline and endpoint.

Results

Dopamine (DA) and serotonin concentrations were additively increased and decreased, respectively in ID+n-3 FAD rats. n-3 FAD significantly increased norepinephrine concentrations 2-fold in the frontal cortex (FC). ID and n-3 FAD significantly impaired working memory performance and the impairment positively correlated with DA concentrations in FC. Reference memory was impaired in the ID+n-3 FAD rats compared to controls and the impairment was negatively associated with serotonin (5-HT) in FC.

Repletion of ID+n-3 FAD rats with iron and DHA/EPA in combination (Fe+DHA/EPA) significantly upregulated DA receptor D1 in the hippocampus and there were significant Fe x DHA/EPA interaction on 5-HT in the olfactory bulb (OB) and on the DA metabolite dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC) in the FC and striatum (Str). Working memory performance was impaired in rats that received DHA/EPA alone compared to controls. In the reference memory task, Fe+DHA/EPA improved learning behavior, but iron or DHA/EPA alone did not.

Iron and DHA/EPA supplementation significantly improved iron and DHA/EPA status, respectively, in children with moderate ID and poor n-3 FA status at baseline. Both iron and DHA/EPA significantly increased weight-for-age Z scores. Iron supplementation significantly increased words recalled at HVL *Recall 2* (test of verbal memory), and in anaemic children increased scores in the Atlantis Delayed test (long-term memory and retrieval) and in the HVL *Recall 2*. DHA/EPA showed no benefit on any of the cognitive tests and decreased

Atlantis test scores (working memory) in ID children who were anaemic at baseline and decreased Atlantis Delayed scores in ID girls, while ID boys tended to benefit from DHA/EPA supplementation. No effects on cognitive performance were found in the ID children who were non-anaemic at baseline.

Conclusion

The depletion rat study is the first study to show that concurrent ID and n-3 FAD has significant interactive and additive effects on brain monoamine concentrations, and on reference memory performance. These findings might be of relevance to human populations, as many children from a low-socioeconomic background may suffer from both ID and n-3 FAD due to poor-quality diets. The results from the repletion rat study indicate that feeding iron or DHA/EPA alone to double-deficient rats may be detrimental. We were able to partially translate this finding to the human situation by showing that provision of DHA/EPA supplements impaired working memory in ID anaemic school age children and impaired reference memory in ID girls. This negative effect of DHA/EPA supplementation may have confounded previous studies done in areas with a high prevalence of ID and IDA that focused only on the effects of n-3 FA supplementation. Further research is needed to confirm these results, to examine underlying mechanisms and to investigate potential interactions with other common nutrient deficiencies that may affect cognition, such as zinc, vitamin B₁₂ or iodine deficiency.

ZUSAMMENFASSUNG

Hintergrund

Besonders in Entwicklungsländern sind Kinder häufig von einem Eisenmangel betroffen. Kinder mit einem niedrigen Fisch-Verzehr und einer hohen Aufnahme von Fetten und Ölen, reich an n-6 und niedrig in n-3 Fettsäuren, laufen Gefahr unzureichende Mengen an n-3 Fettsäuren zu sich zu nehmen. Ein Mangel an Eisen und n-3 Fettsäuren während der Gehirnentwicklung kann Störungen im Hirnstoffwechsel und in der monoaminergen Neurotransmission herbeiführen, was zu kognitiven Defiziten führen kann. Über potenzielle Wechselwirkungen dieser beiden Mängel ist jedoch nur sehr wenig bekannt. Des Weiteren ist unbekannt, ob Störungen, welche durch einen Doppel-Mangel herbeigeführt wurden, durch Supplementation rückgängig gemacht werden können.

Ziel

Das Hauptziel dieser Doktorarbeit bestand darin mittels eines translationalen Forschungsansatzes potentielle Wechselwirkungen zwischen einem Eisen- und n-3 Fettsäuremangel und deren Supplementation auf Monoamin-Systeme im Gehirn und auf die Kognition zu untersuchen. Konkret haben wir die Effekte eines Eisen- und eines n-3 Fettsäuremangels, alleine und in Kombination, auf die Monoamin-Konzentrationen im Gehirn und auf die Kognition in Ratten untersucht. Des Weiteren haben wir in Ratten, welche sowohl an einem Eisen- als auch an einem n-3 Fettsäuremangel leiden, überprüft, ob die Supplementation mit Eisen und einem Gemisch aus Docosahexaensäure (DHA) und Eicosapentaensäure (EPA), alleine und in Kombination, die von einem Doppel-Mangel herbeigeführten Defizite rückgängig machen können.

Um die Erkenntnisse der Rattenstudien auf den Menschen übertragen zu können, haben wir eine Interventionsstudie durchgeführt, die untersucht ob die Supplementierung mit Eisen und EPA/DHA, alleine und in Kombination, die kognitive Leistungsfähigkeit von Kindern mit einem Eisenmangel und suboptimalem n-3 Fettsäurekonsum verbessert kann.

Design

Für die Rattenstudien wurde ein 2x2-faktorielles Design gewählt. Für die Mangelstudie in Ratten, wurden die Tiere nach dem Abstillen für 5 Wochen mit einer Eisenmangel-, einer n-3 Fettsäuremangel-, mit einer kombinierten Eisen- und n-3 Fettsäuremangel- oder einer Kontroll-Diät gefüttert. Nach der Mangelstudie, wurden die Ratten mit einem Doppel-Mangel für 5 Wochen mit Eisen und DHA/EPA, alleine und in Kombination, supplementiert. Am Ende der Mangel- und der Supplementations-Studie wurden das räumliche Arbeits- und Langzeitgedächtnis (in der Morris water maze), Monoamin-Systeme (Monoamin-Konzentrationen und Gen-Expression) und die Fettsäuren Zusammensetzung der Hirngewebe wie auch die Eisenkonzentrationen in verschiedenen Hirnregionen gemessen.

In einer 2x2-faktoriellen, randomisierten, doppelblinden und Placebo-Kontrollierten Studie wurden südafrikanische Kinder ($n = 321$, 6-12 Jahre alt) vier Gruppen zugeordnet, die über einen Zeitraum von 8.5 Monaten entweder 1) Eisen (50 mg als Eisen(II)-sulfat) + DHA/EPA (80/420 mg); 2) Eisen + Placebo; 3) Placebo + DHA/EPA; oder 4) Placebo + Placebo erhielten (4 mal pro Woche). Vor Beginn und nach Beendigung der Studie wurden biochemische Indikatoren sowie die kognitive Leistung, mit Hilfe von Tests aus der Kaufman-Assessment-Battery für Kinder und dem Hopkins Verbal Learning Test (HVLT), untersucht.

Resultate

Dopamin- (DA) und Serotonin-Konzentrationen waren in den Ratten mit kombiniertem Eisen- und n-3 Fettsäuremangel additiv erhöht, respektive erniedrigt. Der n-3 Fettsäuremangel hat die Norepinephrin-Konzentration im frontalen Cortex signifikant um 2-fache erhöht. Des Weiteren führte sowohl ein Eisen- als auch ein n-3 Fettsäuremangel zu einer signifikanten Verschlechterung des Arbeitsgedächtnisses, wessen Leistung positiv mit der DA-Konzentration im frontalen Cortex (FC) korrelierte. Das Langzeitgedächtnis war signifikant schlechter in den Ratten mit einem kombinierten Eisen-und n-3 Fettsäuremangel im Vergleich zu den Kontrollratten, und die Leistung des Langzeitgedächtnisses korrelierte negativ mit der Serotonin-Konzentration im FC.

Die Supplementation von doppel-defizitären Ratten mit Eisen und DHA/EPA in Kombination (Fe+DHA/EPA) hochregulierte den DA Rezeptor D1 im Hippocampus. Des weiteren

resultieren signifikante Fe x DHA/EPA Interaktionen auf die Serotonin (5-HT) Konzentration im Riechkolben (Bulbus olfactorius) und auf die DA-Metabolit Dihydroxyphenylacetic Säure Konzentration im FC und im Striatum. In Ratten, welche DHA/EPA alleine erhalten hatten, war das Arbeitsgedächtnis im Vergleich zu den Kontroll-Ratten signifikant verschlechtert. Im Langzeit-Gedächtnis-Test hat die Supplementation mit Eisen und DHA/EPA in Kombination zu einer Verbesserung geführt, die Supplementierung mit Eisen und DHA/EPA alleine jedoch nicht.

Die Supplementierung von Kindern, mit einem moderaten Eisenmangel und suboptimalem n-3 Fettsäurestatus vor Beginn der Studie, mit Eisen und DHA/EPA hat zu einer signifikanten Verbesserung des Eisens-, respektive des DHA/EPA-Status geführt. Sowohl Eisen als auch DHA/EPA führten zu einer signifikanten Erhöhung des weight-for-age Z scores. Die Eisensupplementation führte zu einer signifikanten Erhöhung der Anzahl abgerufener Wörter im *Recall 2* des HVLТ (Test des verbalen Gedächtnisses) und führte in den anämischen Kindern zu erhöhten Testwerten im Atlantis Delayed Test und im HVLТ *Recall 2*. DHA/EPA Supplementation vermochte die kognitive Leistungsfähigkeit nicht zu verbessern, führte jedoch zu einer Verschlechterung der Atlantis (Arbeitsgedächtnis) Testresultate in Kindern, welche vor Beginn der Studie anämisch waren, und zu einer Verschlechterung der Atlantis Delayed Testresultate (Langzeitgedächtnis) in Mädchen. In den Jungen hingegen tendierte die DHA/EPA Supplementation einen förderlichen Effekt zu haben. Keine signifikanten Effekte wurden in den Kindern beobachtet, welche zu Beginn der Studie nicht anämisch waren.

Schlussfolgerungen

Die Mangelstudie in Ratten ist die erste Studie, welche gezeigt hat, dass ein kombinierter Eisen- und n-3 Fettsäuremangel interaktive oder additive Effekte auf Monoamin-Konzentrationen im Gehirn, wie auch auf das Langzeitgedächtnis haben kann. Diese Erkenntnisse können für die Bevölkerung von Bedeutung sein, da viele Kinder mit niedrigerem sozioökonomischem Hintergrund aufgrund schlechter Ernährung sowohl von einem Eisenmangel als auch von einem n-3 Fettsäuremangel betroffen sein können. Die Resultate der Supplementations-Studie in Ratten deuten darauf hin, dass die Fütterung von doppeldefizitären Ratten mit Eisen oder DHA/EPA alleine schädlich sein könnte. Wir waren

imstande diese Erkenntnisse zumindest teilweise auf den Menschen zu übertragen, indem wir zeigen konnten, dass die Verabreichung von DHA/EPA Supplementen in anämischen Kindern und in Mädchen negative Auswirkungen auf das Arbeitsgedächtnis, respektive auf das Langzeitgedächtnis, haben kann. Dieser negative Effekt von DHA/EPA Supplementen könnte die Resultate von früheren Studien beeinflusst haben, welche in Regionen mit einer hohen Prävalenz an Eisenmangel und Eisenmangelanämie durchgeführt wurden, und welche ausschliesslich die Effekte einer n-3 Fettsäuren Supplementation untersuchten. Weitere Studien sind nötig um diese Resultate zu bestätigen und zu Grunde liegende Mechanismen und mögliche Wechselwirkungen mit weiteren häufig vorkommenden Nährstoffmängeln, welche die kognitiven Fähigkeiten beeinflussen können (zum Beispiel Zink-, Vitamin B₁₂- oder Jod-Mangel), zu untersuchen.