

# Effect of Ferric Sodium EDTA administration, in combination with vitamin C, folic acid, copper gluconate, zinc gluconate and selenomethionine, on cardiovascular risk evaluation: exploration of the HRV frequency domain



## Abstract

**Background:** Anaemia is a frequent co-morbidity in old patients affected by chronic heart failure and/or respiratory diseases. Using the Heart Rate Variability (HRV) analysis is possible to provide an evaluation of the safety and the effectiveness of intervention.

**Objective:** To evaluate the efficacy and safety of Ferric Sodium EDTA in combination with vitamin C, folic acid, copper gluconate, zinc gluconate and selenomethionine (Ferachel forte®) 2 tabs/day for 24 days in elderly patients with secondary anaemia, by exploring the HRV frequency domain.

**Methods:** In 45 elderly patients with secondary anaemia and/or low-moderate kidney failure, laboratory values after administration of Ferric Sodium EDTA, 2 tabs a day, in combination with vitamin C, folic acid, copper gluconate, zinc gluconate and selenomethionine (Ferachel forte®) for 24 days (N=16 patients) or ferrous gluconate 63 mg/day added to saline solution, administered using intravenous access during the hospitalization period of  $15 \pm 5$  days (N=29 patients) were evaluated. Also, ECG signals and bioelectrical impedance (BIA) were measured.

**Results:** Oral iron supplementation with Ferric Sodium EDTA, in combination with vitamin C, folic acid, copper gluconate, zinc gluconate and selenomethionine (Ferachel forte®) confirmed to be effective and safe about the cardiovascular risk in old patients. This study showed the real superiority of the oral administration about the cardiovascular risk in elderly patients in comparison with intravenous administration of ferrous gluconate.

**Conclusion:** This study confirms that Ferric Sodium EDTA combination (Ferachel forte®) can be a valid alternative to ferrous gluconate intravenous therapy (gold standard) in the treatment of secondary anaemia in elderly patients. In fact, during the treatment, efficacy results have been maintained without statistically significant variations about cardiovascular risk, evaluated by exploring the HRV frequency domain.

**Keywords:** Anaemia, cardiovascular risk, ferric sodium EDTA, spectral analysis, HRV frequency domain, elderly, kidney failure

## Introduction

All causes of anaemia give a reduction of haemoglobin level and red blood cells value and haematological problems have a high impact on the quality of life. Anaemia is defined as a condition in which the body has a decreased number of circulating erythrocytes, or Red Blood Cells (RBCs), that become insufficient to meet the body's physiologic needs.

Consequently, anaemia can also be defined as a decreased hemoglobin concentration or RBC mass compared with age-matched controls. The World Health Organization (WHO) defines anaemia as a Haemoglobin (Hb) less than 13 g/dL in adult men and less than 12 g/dL in non-pregnant adult women [1].

Iron deficiency (ID) and Iron-Deficiency Anaemia (IDA) are globally recognized, in daily

**Nicola Marchitto<sup>1\*</sup>,  
Alessia Petrucci<sup>2</sup>,  
Liuba Fusco<sup>3</sup>,  
Annalisa Curcio<sup>4</sup>,  
Adriana Romano<sup>4</sup>,  
Michele Pironti<sup>4</sup> and  
Gianfranco Raimondi<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Alfredo Fiorini Hospital, Terracina, (Latina), Italy

clinical practice, as frequent medical conditions. ID is defined as a level's reduction of total body iron, especially iron stores, with preservation of levels of erythroid iron. IDA is a more severe condition in which low levels of iron are associated with anaemia and the presence of microcytic hypochromic red cells [2].

Anaemia is a common, multi-factorial, relatively mild condition in elderly, with Hb levels near 10-11g/dL in most subjects. However, it can be associated with a variety of adverse outcomes, including longer hospitalization, disability, and increased mortality risk [3].

Regarding Hb threshold to be used to define anaemia in elderly individuals, discussions have been reported, since WHO criteria were based on statistical distributions in reference samples that did not include individuals >65 years of age. Several studies reported that a Hb value <12 g/dL is commonly considered indicative of anaemia in elderly of both sexes, since Hb values in apparently healthy elderly individuals are generally lower than those in younger adults and the differences between males and females tend to disappear with aging [3,4].

In old patients, the main causes of anaemia are Iron Deficiency Anaemia (IDA) and anaemia of chronic diseases (or functional ID), that can be affected by several factors, including malnutrition, delay gastric emptying and occult blood loss [5].

In elderly, Chronic Gastrointestinal (GI) diseases represent the most frequent causes of ID and IDA, leading to both iron loss and malabsorption. Chronic upper and lower GI blood losses can be related to a variety of pathologies like esophagitis, gastritis, peptic ulcer, Inflammatory Bowel Disease (IBD), neoplastic disease, and ano-rectal lesions, such as haemorrhoids. Furtherly, GI bleeding is increased in multimorbidity patients, taking concomitantly chronic medications, like Non-Steroidal Anti-Inflammatory Drugs (NSAIDs) and/or antithrombotic therapies [3,5].

Malnutrition can be associated with inadequate dietary iron intake and absorption and can be worsen by decline of biological and cognitive functions, i.e. a reduction of appetite and of taste sensation. Also, depressive syndromes, particularly frequent in older populations, are recognized to be associated with

a worsening of nutritional state. Furthermore, in depressive disorders occurs dysregulation of the neuroendocrine and sympathetic nervous systems, potentially affecting erythropoiesis [3,5,6].

Iron malabsorption is also relatively frequent in the elderly and can be affected by *Helicobacter pylori* (HP) infection, autoimmune atrophic gastritis, celiac disease, IBD, and long-term use of Proton Pump Inhibitors (PPI) [3,5].

Several studies evaluated anaemia frequency in older adults, showing a range from 8% to 25%, with increased percentage in subjects older than 85 years old. In this population, anaemia can influence mortality and cognitive/physical performance, increasing number of falls and hospitalizations. Therefore, the evaluation of iron blood level and the relative treatment or follow-up is crucial [3,5].

Recent studies underline that iron administration is associated with improvements of cardiovascular outcomes and quality of life [2,7,8].

Using the Heart Rate Variability (HRV) analysis of the spectral components in the frequency domain is possible to explore the neurovegetative system. Numerous physiological conditions and diseases have an impact factor on the dimension of the area of each peak of frequency range on the HRV power spectrum. Some studies have used spectral HRV and blood pressure variability analysis in a large group of patients and it has been observed that the increase in total HRV and LF power is associated with survival, while the progressive decreases of HRV have been associated with deterioration and death. Alterations of the spectral analysis are correlated with the severity of the disease, the use of this method for the assessment of the state of cardiac and non-cardiac diseases, could provide an evaluation of the prognosis and determine the effectiveness of intervention [9,10].

### ■ Aim of the study

The aim of this study is to confirm the efficacy and safety of Ferric Sodium EDTA in combination with vitamin C, folic acid, copper gluconate, zinc gluconate and selenomethionine (Ferachel forte®) 2 tabs a day for a treatment period of 24 days, in elderly patients with secondary anaemia, about cardiovascular risk and quality of life, explored by HRV frequency domain evaluation.

<sup>2</sup>Sapienza University of Rome, Italy

<sup>3</sup>Cardiology Department, Villa Laura, Bologna, Italy

<sup>4</sup>Mercurio Pharma, Naples, Italy

<sup>5</sup>Department of Medical-Surgical Sciences and Biotechnologies, Sapienza University of Rome, Italy

\*Author for correspondence:

n.marchitto@ausl.latina.it

## Methods

45 elderly patients (age  $79,4 \pm 10,1$  years old) with a recent diagnosis of secondary anaemia due to iron deficiency and/or low-moderate kidney failure were enrolled. The patients were divided into 2 groups: 16 patients were treated with oral administration of Ferric Sodium EDTA 2 tabs a day, corresponding to 60 mg of iron, in combination with vitamin C, folic acid, copper gluconate, zinc gluconate and selenomethionine (Ferachel forte<sup>®</sup>) for 24 days; 29 patients were treated with ferrous gluconate 63 mg/day added to saline solution administered using intravenous access during the hospitalization period of  $15 \pm 5$  days. The enrolled patients had low-moderate kidney failure (mean creatinine value:  $1,1 \pm 0,6$  mg/dL in the group with oral administration of Ferric Sodium EDTA combination and  $1,4 \pm 1$  mg/dL in the group with intravenous administration of ferrous gluconate). Improvement of laboratory values, such as haemoglobin and sideremia level, and electrocardiographic trace with a length of 2-5 minutes before and after the administration of Ferric Sodium EDTA combination or ferrous gluconate, were evaluated.

Also, the ECG signal and the Bioelectrical Impedance (BIA) were measured. For the ECG signal analysis, Cardio CE palm version 2.0 (XAI-Medica) was used to register standard ECG and beat to beat ECG for Heart Rate variability evaluation. The Bioelectrical Impedance Analysis (BIA) has been analyzed with the Bodygram PRO 3,0 (Akern).

Using a short registration of the electrocardiographic trace the T-peak to T-end index (Tp/Te) and the Qt correct interval (QTc) have been measured [11].

Using a short registration of the electrocardiograph with a length of 2-5 min, the spectral analysis reveals three main peaks, describable as the VLF (very low frequency) that includes very low frequencies with values between 0 and 0.04 Hz that are influenced by the regulation of the temperature and from the humoral systems, the LF (low frequency) that includes low frequencies between 0.04-0.15 Hz, that are associated both to the sympathetic modulation and to the sympatho-vagal modulation depending on the baroreceptive control index of activation of the sympathetic system, the HF (high frequency) which includes

the frequencies between 0.15-0.4 Hz, that are associated with parasympathetic activation index, and reflect the vagal modulation of the sinus rhythm associated with the respiratory arrhythmia and finally the Total Power which is the sum of the three peaks or the sum of the single spectral powers (VLF+LF+HF) [9,10].

Statistical analysis is performed using Paired T-test with Sigmatat v. 3.5 analysis program. Differences were considered significant when  $P < 0,05$ .

## Results

Data collected in this study confirm that oral treatment with Ferric Sodium EDTA, in combination with vitamin C, folic acid, copper gluconate, zinc gluconate and selenomethionine (Ferachel forte<sup>®</sup>) at the dosage of 60 mg (2 tabs a day) is an efficacy and safety treatment as preliminary referred. Both results in hemoglobin (Hb) and sideraemia levels showed that treatment with oral iron supplementation for 24 days is as effective as intravenous iron infusion, administered during hospitalization period ( $15 \pm 5$  days). In particular, Hb levels raised from  $9.5 \pm 1.3$  g/dL to  $11.7 \pm 1.9$  g/dL ( $p=0.001$ ) in the group treated with Ferric Sodium EDTA (TABLE 1). The corresponding increase in Hb levels in intravenous iron-treated group was from  $8.9 \pm 1.5$  g/dL to  $9.9 \pm 1.9$  g/dL ( $p=0.001$ ; TABLE 2). Similar results were obtained for sideraemia levels: from  $19.5 \pm 5.6$  mcg/dL to  $53.8 \pm 25.9$  mcg/dL ( $p=0.001$ ; TABLE 1) for oral iron administration group; and from  $19.6 \pm 12.2$  mcg/dL to  $37.1 \pm 21.9$  mcg/dL ( $p=0.001$ ; TABLE 2) for intravenous therapy group.

### ■ Safety results

Treatment with Ferric Sodium EDTA in combination with vitamin C, folic acid, copper gluconate, zinc gluconate and selenomethionine (Ferachel forte<sup>®</sup>) did not modify ECG parameters, without bringing concerns about high liquid amounts administered to such a sensitive patient population, such is the elderly patient with low-moderate kidney failure (TABLE 1).

Data showed that intravenous iron supplementation exposes patients to a greater water supply due to iron dilution into saline solution. Intravenous iron supplementation gave a statistically significant variation of the T-peak to T-end value that represents a predictive

**TABLE 1. Ferric Sodium EDTA in combination with vitamin C, folic acid, copper gluconate, zinc gluconate and selenomethionine (Ferachel forte®) (2 tabs/day, for 24 days); n.a.=not available. The data are expressed as value ± Standard Deviation (DS).**

	Control	Effect	p-Value
Hb (g/dL)	9.5 ± 1.3	11.7 ± 1.9	0.001
Fe <sup>++</sup> (mcg/dL)	19.5 ± 5.6	53.8 ± 25.9	0.001
RR (msec)	778.5 ± 179.1	814.5 ± 172.9	0.125
LF (msec)	600.5 ± 626.1	1442.4 ± 3017.3	0.625
HF (msec)	854.9 ± 909.9	2780.1 ± 6137.1	0.688
Tp-e (msec)	96.8 ± 14.9	95.8 ± 12.9	0.844
QTc (msec)	317.3 ± 28.6	318.3 ± 30.6	0.625
Tp-e/QTc	0.304 ± 0.04	0.301 ± 0.04	0.844
Resistance (Ω)	n.a.	n.a.	n.a.
Reactance (Ω)	n.a.	n.a.	n.a.

**TABLE 2. Intravenous ferrous gluconate 63 mg/day into saline solution 500 mL, administered during the hospitalisation period (15 ± 5 days).**

	Control	Effect	p-Value
Hb (g/dL)	8.9 ± 1.5	9.9 ± 1.9	0.001
Fe <sup>++</sup> (mcg/dL)	19.6 ± 12.2	37.1 ± 21.9	0.001
RR (msec)	755.0 ± 243.4	779.0 ± 234.4	1.000
LF (msec)	1684.1 ± 2622.1	2016.5 ± 3191.1	0.818
HF (msec)	4601.1 ± 6561.2	3312.0 ± 4369.3	0.378
Tp-e (msec)	91.8 ± 16.2	99.1 ± 11.6	0.048
QTc (msec)	340.0 ± 42.8	352.7 ± 62.2	0.105
Tp-e/QTc	0.271 ± 0.04	0.282 ± 0.04	0.562
Resistance (Ω)	517.6 ± 139.6	503.6 ± 172.9	0.018
Reactance (Ω)	41.5 ± 19.5	38.5 ± 18.3	0.160

parameter of arrhythmic risk (**FIGURE 1**). This trend is confirmed by the evaluation of the difference in the electrical resistance measured using a bioimpedentiometric test (**FIGURE 2**).

More interesting data are noted analyzing electrocardiographic results regarding HRV frequency domain after the treatment with Ferric Sodium EDTA combination at the dosage of 60 mg/day for 24 days (**TABLE 3** and **FIGURE 3**), because this positive trend is confirmed by the absence of statistically significant reduction ( $p=0.097$ ) of the vagal tone using the Fast Fourier Transformation analysis or FFT-HF (**TABLE 3**) and the relative statistically significant reduction ( $p=0.049$ ) of the vagal tone using the Autoregressive Analysis or AR-HF (**TABLE 3** and **FIGURE 3**). In the patients enrolled in this study, the oral administration confirms the safety of the treatment at high dosage (2 tabs a day).

## Discussion

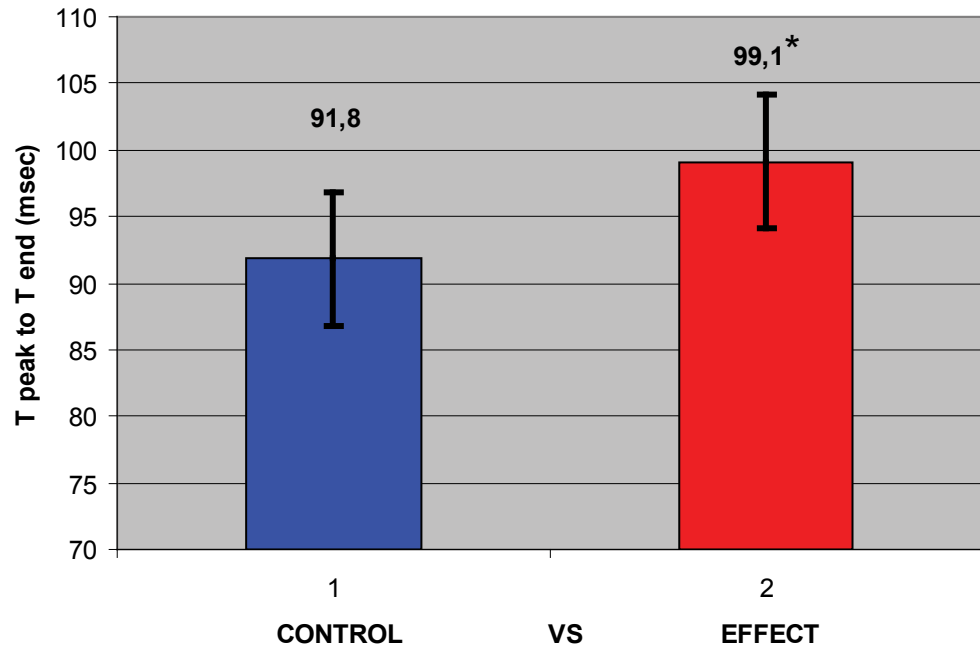
The therapy with Ferric Sodium EDTA, in combination with vitamin C, folic acid, copper gluconate, zinc gluconate and selenomethionine (Ferachel forte®) is a new iron formulation used for oral treatment of patients with secondary

anaemia. Ferric Sodium EDTA is a novel iron source that already reported large efficacy and safety data in several setting, such as anaemic pregnant women [12-14], anaemic pre-school and school-aged children and adolescents [15-19].

In addition, several meta-analyses concluded that Ferric Sodium EDTA, already as single component, is highly effective in controlling iron deficiency and reducing the prevalence of iron-deficiency anaemia in men, women, and children [20-22]. Furtherly, Ferric Sodium EDTA is recommended for the mass fortification of high-phytate cereal flours and for sauces with a high peptide content (e.g. fish sauce, soy sauce), by the WHO Guidelines on food fortification with micronutrients.

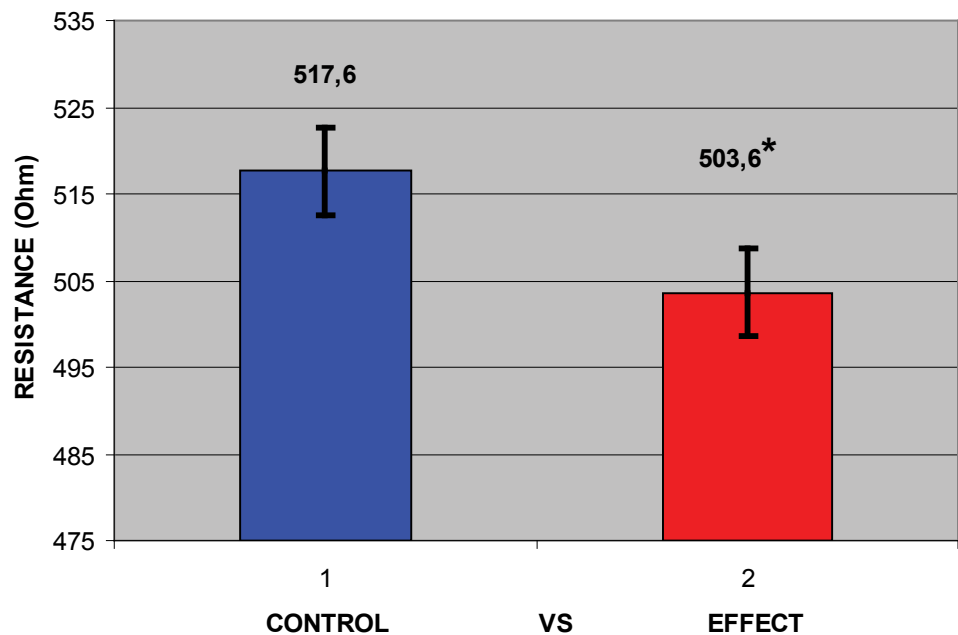
The use of Ferric Sodium EDTA in combination with vitamin C, folic acid, copper gluconate, zinc gluconate and selenomethionine (Ferachel forte®) was evaluated in elderly patients with secondary anaemia due to iron deficiency and/or low-moderate kidney failure, since this population is often exposed to adverse events related to intravenous iron therapy. These events can be related to injection site, such as phlebitis

## Tpeak to T end index



**FIGURE 1.** Descriptive Analysis of the Tpeak to Tend index in the group treated with intravenous ferrous gluconate therapy 63 mg/day (in saline solution 500 mL).

## RESISTANCE



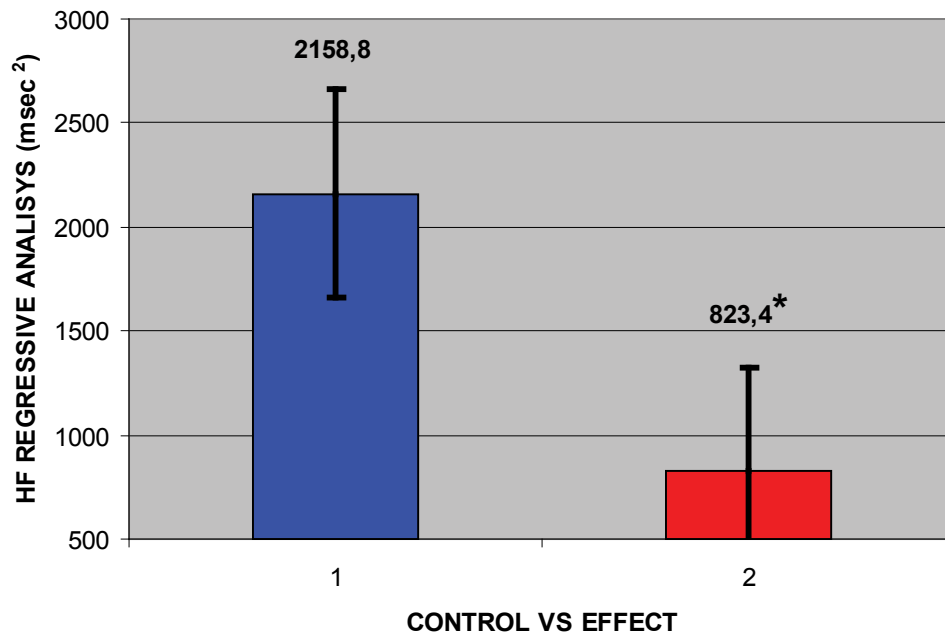
**FIGURE 2.** Descriptive Analysis of the Bioelectrical Impedance Analysis (BIA) in the group treated with intravenous ferrous gluconate therapy 63 mg/day (in saline solution 500 mL).

and thrombophlebitis, and/or can increase the risk of allergic reactions and/or aggravate pre-existing conditions such as heart failure or renal failure.

The results showed treatment efficacy (TABLE 1) and safety (TABLE 3) of the oral

iron formulation. In particular, data pointed out the real superiority of the oral administration about the cardiovascular risk analysed exploring the HRV frequency domain in old patients in comparison with the intravenous administration of ferrous gluconate (FIGURE 3).

### HRV High Frequencies (Regressive Analysis)



**FIGURE 3.** Descriptive Analysis of the HRV High Frequencies ( $p=0.049$ ) explored by Regressive Analysis in the group treated with Ferric Sodium EDTA in combination with vitamin C, folic acid, copper gluconate, zinc gluconate and selenomethionine (Ferachel forte®) 2 tabs/day for 24 days.

**TABLE 3.** Ferric Sodium EDTA in combination with vitamin C, folic acid, copper gluconate, zinc gluconate and selenomethionine (Ferachel forte®) 2 tabs/day for 24 days.

	Control	Effect	$p<0.050$
fft-LF	2254.5 ± 3471.6	858.0 ± 1140.1	0.145
fft-HF	2704.8 ± 3982.5	883.8 ± 964.9	0.097
fft-TOTAL	8447.1 ± 1746.9	2290.4 ± 2404.5	0.188
fft-LF/HF	0.813 ± 0.589	1.062 ± 0.930	0.335
AR-LF	1817.8 ± 2629.3	1024.3 ± 1419.1	0.313
AR-HF	2158.8 ± 2622.4	823.4 ± 810.6	0.049*
AR-TOTAL	6398.6 ± 1012.8	1012.8 ± 3345.5	0.193
AR-LF/HF	0.811 ± 0.659	0.858 ± 0.762	0.806

These preliminary results are comfortable but not applicable to a broad spectrum of patients with secondary anaemia.

### Conclusion

This study confirms that Ferric Sodium EDTA in combination with vitamin C, folic acid, copper gluconate, zinc gluconate and selenomethionine (Ferachel forte®) is a valid and safe alternative to ferrous gluconate intravenous therapy (gold standard) in the treatment of secondary anaemia in elderly patients, because during the treatment efficacy results has been maintained without statistically significant variations about cardiovascular risk, evaluated exploring the HRV frequency domain.

### Conflict of Interest

The authors declare that they have no conflict of interest.

### Informed consent

Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

### Acknowledgment

The Authors are particularly grateful to Petrucci Alessia for English translation and Marchitto Lino, Maisano Carla Maria and Marchitto Federica for organizational aspects.



## References

- <http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin.pdf>
- Longo DL, Camaschella C. Iron-deficiency anemia. *N. Engl. J. Med.* 372(19), 1832-1843 (2015).
- Busti F, Campostrini N, Martinelli N, et al. Iron deficiency in the elderly population, revisited in the hepcidiner. *Front. Pharmacol.* 5(1), 83 (2014).
- Goodnough LT, Schrier SL. Evaluation and management of anaemia in the elderly. *Am. J. Hematol.* 89(1), 88-96 (2014).
- De-Franceschi L, Iolascon A, Taher A, et al. Clinical management of iron deficiency anaemia in adults: Systemic review on advances in diagnosis and treatment. *Eur. J. Intern. Med.* 42, 16-23 (2017).
- Stewart R, Hirani V. Relationship between depressive symptoms, anaemia, and iron status in older residents from a national survey population. *Psychosom. Med.* 74(2), 208-213 (2012).
- Anker SD, Kirwan BA, van Veldhuisen DJ, et al. Effects of ferric carboxymaltose on hospitalisations and mortality rates in iron-deficient heart failure patients: an individual patient data meta-analysis. *Eur. J. Heart Fail.* 20(1), 125-133 (2018).
- Herter-Aeberli I, Eliancy K, Rathon Y, et al. In Haitian women and preschool children, iron absorption from wheat flour-based meals fortified with sodium iron EDTA is higher than that from meals fortified with ferrous fumarate, and is not affected by *Helicobacter pylori* infection in children. *Br. J. Nutr.* 118(4), 273-279 (2017).
- Rovere L, Teresa M, Robert A, et al. Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. *The Lancet.* 351(9101), 478-484 (1998).
- Shaffer F, Ginsberg JP. An overview of heart rate variability metrics and norms. *Front. Pub. Health.* 5, 258 (2017).
- Tse G, Gong M, Wong WT, et al. The  $T_{peak}-T_{end}$  interval as an electrocardiographic risk marker of arrhythmic and mortality outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Heart. Rhythm.* 14(8), 1131-1137 (2017).
- Han XX, Sun YY, Ma AG, et al. Moderate NaFeEDTA and ferrous sulfate supplementation can improve both hematologic status and oxidative stress in anaemic pregnant women. *Asia. Pac. J. Clin Nutr.* 20(4), 514-520 (2011).
- Van TP, Berger J, Nakanishi Y, et al. The use of NaFeEDTA-fortified fish sauce is an effective tool for controlling iron deficiency in women of childbearing age in rural Vietnam. *J. Nutr.* 135(4), 2596-601 (2005).
- Cignini P, Mangiafico L, Padula F, et al. Supplementation with a dietary multicomponent (Lafegin (®)) based on Ferric Sodium EDTA (Ferrazone (®)): Results of an observational study. *J. Prenat. Med.* 9, 1-7 (2015).
- Huo J, Sun J, Miao H, et al. Therapeutic effects of NaFeEDTA-fortified soy sauce in anaemic children in China. *Asia. Pacific. J. Clin. Nutr.* 11(2), 123-127 (2002).
- Muthayya S, Thankachan P, Hirve S, et al. Iron fortification of whole wheat flour reduces iron deficiency and iron deficiency anemia and increases body iron stores in Indian school-aged children. *J. Nutr.* 142(11), 1997-2003 (2012).
- Longfils P, Monchy D, Weinheimer H, et al. A comparative intervention trial on fish sauce fortified with NaFe-EDTA and FeSO<sub>4</sub>+citrate in iron deficiency anaemic school children in Kampot, Cambodia. *Asia. Pac. J. Clin. Nutr.* 17(2), 250-257 (2008).
- Teshome EM, Otienoc W, Terweld SR, et al. Comparison of home fortification with two iron formulations among Kenyan children: Rationale and design of a placebo-controlled non-inferiority trial. *Contemp. Clin. Trials. Comm.* 7, 1-10 (2017).
- Huo JS, Yin JY, Sun J, et al. Effect of NaFe EDTA-fortified soy sauce on anaemia prevalence in China: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Biomed. Environ. Sci.* 28(11), 788-798 (2015).
- De-Regil LM, Jefferds MED, Peña-Rosas JP. Point-of-use fortification of foods with micronutrient powders containing iron in children of preschool and school-age. *Cochrane. Database. Syst. Rev.* 23, 11 (2017).
- Wang B, Zhan S, Xia Y, et al. Effect of sodium iron ethylenediaminetetra-acetate (NaFeEDTA) on haemoglobin and serum ferritin in iron-deficient populations: a systematic review and meta-analysis of randomised and quasi-randomised controlled trials. *Br. J Nutr.* 100(6), 1169-1178 (2008).
- World Health Organization. Guidelines on food fortification with micronutrients/edited by Lindsay Allen, Bruno de Benoist, Omar Dary and Richard Hurrell.

# Effetto della somministrazione del ferro sodico EDTA, in combinazione con vitamina C, acido folico, gluconato di rame, gluconato di zinco e selenometionina, sulla valutazione del rischio cardiovascolare: esplorazione del dominio della frequenza dell'HRV



## Abstract

**Introduzione:** L'anemia è una comorbidità frequente in pazienti anziani affetti da insufficienza cardiaca cronica e/o patologie respiratorie. Utilizzando l'analisi della variabilità della frequenza cardiaca (HRV) è possibile fornire una valutazione della sicurezza e dell'efficacia del trattamento utilizzato.

**Obiettivo:** Valutare l'efficacia e la sicurezza del ferro sodico EDTA in combinazione con vitamina C, acido folico, gluconato di rame, gluconato di zinco e selenometionina (Ferachel forte®) 2 compresse/die per 24 giorni in pazienti anziani con anemia secondaria, esplorando il dominio della frequenza dell'HRV.

**Metodo:** In 45 pazienti anziani con anemia secondaria e/o insufficienza renale di grado lieve-moderato, sono stati valutati i valori di laboratorio in seguito alla somministrazione di 2 compresse al giorno di ferro sodico EDTA, associato a vitamina C, acido folico, gluconato di rame, gluconato di zinco, e selenometionina (Ferachel forte®) per 24 giorni (N= 16 pazienti) o gluconato ferrico 63 mg/die diluiti in una soluzione salina, somministrato per via endovenosa durante un periodo di ospedalizzazione di  $15 \pm 5$  giorni (N= 29 pazienti). Inoltre, sono stati misurati i segnali ECG e l'impedenza bioelettrica (BIA).

**Risultati:** L'integrazione di ferro orale con ferro sodico EDTA, in combinazione con vitamina C, acido folico, gluconato di rame, gluconato di zinco, e selenometionina (Ferachel forte®) ha confermato di essere efficace e sicura riguardo il rischio cardiovascolare in pazienti anziani. Questo studio ha dimostrato la reale superiorità della somministrazione orale rispetto alla somministrazione intravenosa di gluconato ferrico nei confronti del rischio cardiovascolare in pazienti anziani.

**Conclusione:** Questo studio conferma che la combinazione di ferro sodico EDTA (Ferachel forte®) può essere una valida alternativa alla terapia endovenosa con gluconato ferrico (gold standard) nel trattamento dell'anemia secondaria in pazienti anziani. Infatti, durante il trattamento, i risultati di efficacia sono stati mantenuti senza variazioni statisticamente rilevanti riguardo il rischio cardiovascolare, valutate esplorando il dominio della frequenza dell'HRV.

**Keywords:** Anaemia, cardiovascular risk, ferric sodium EDTA, spectral analysis, HRV frequency domain, elderly, kidney failure

## Introduzione

Tutte le cause di anemia portano ad una riduzione dei livelli di emoglobina, dei valori di globuli rossi e problemi ematologici che hanno un elevato impatto sulla qualità di vita. L'anemia viene definita come una condizione in cui nell'organismo è presente un numero ridotto di eritrociti circolanti, o Globuli Rossi (RBCs), che diventano insufficienti per soddisfare i bisogni fisiologici.

Di conseguenza, l'anemia può anche essere definita come una diminuzione della concentrazione di emoglobina o della massa di globuli rossi rispetto ai gruppi di controllo di pari età. L'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) definisce l'anemia come emoglobina (Hb) inferiore a 13 g/dL negli uomini adulti e inferiore a 12 g/dL nelle donne adulte non gravide [1].

La carenza di ferro (ID) e l'Anemia da Carenza di Ferro (IDA) sono riconosciute a livello globale, nella pratica clinica quotidiana,

**Nicola Marchitto<sup>1\*</sup>,  
Alessia Petrucci<sup>2</sup>,  
Liuba Fusco<sup>3</sup>,  
Annalisa Curcio<sup>4</sup>,  
Adriana Romano<sup>4</sup>,  
Michele Pironti<sup>4</sup> and  
Gianfranco Raimondi<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Alfredo Fiorini Hospital, Terracina, (Latina), Italy



come condizioni mediche frequenti. L'ID è definita come la riduzione dei livelli del ferro corporeo totale, specialmente dei depositi di ferro, con la conservazione dei livelli di ferro eritroide. L'IDA è una condizione più grave in cui i bassi livelli di ferro sono associati all'anemia e alla presenza di globuli rossi ipocromici microcitici [2].

L'anemia è una condizione comune, multifattoriale, relativamente lieve negli anziani, con livelli di Hb vicini a 10-11 g/dL nella maggior parte dei soggetti. Comunque, può essere associata ad una varietà di esiti avversi, tra cui un'ospedalizzazione prolungata, disabilità e aumento del rischio di mortalità [3].

Per quanto riguarda la soglia di Hb da utilizzare per definire l'anemia negli individui anziani, sono state riportate numerose discussioni, poiché i criteri della OMS si basavano su distribuzioni statistiche in campioni di riferimento che non includevano individui di età >65 anni. Diversi studi hanno riportato che un valore di Hb <12 g/dL è comunemente considerato indice di anemia negli anziani di entrambi i sessi, poiché i valori di Hb nei soggetti anziani apparentemente sani sono generalmente più bassi rispetto a quelli di adulti più giovani e le differenze tra uomini e donne tendono a scomparire con l'invecchiamento [3,4].

Nei pazienti anziani, le principali cause di anemia sono l'Anemia da Carezza di Ferro (IDA) e l'anemia da patologie croniche (o ID funzionale), che possono essere influenzate da diversi fattori, inclusi malnutrizione, ritardo dello svuotamento gastrico e perdita di sangue occulto [5].

Negli anziani, le malattie croniche gastrointestinali (GI) rappresentano le cause più frequenti di ID e IDA, inducendo a perdita di ferro e malassorbimento. Le perdite croniche di sangue a livello del tratto gastrointestinale superiore e inferiore possono essere correlate ad una varietà di patologie quali esofagite, gastrite, ulcera peptica, Malattia Infiammatoria Intestinale (IBD), malattia neoplastica e lesioni ano-rettali, come le emorroidi. Inoltre, emorragie gastrointestinali sono più frequenti in pazienti con multimorbidità, che assumono farmaci concomitanti cronicamente, come i Farmaci Antinfiammatori Non Steroidei (FANS) e/o antitrombotici [3,5].

La malnutrizione può essere associata ad assunzione e assorbimento di ferro dalla dieta inadeguati e può essere peggiorata dal declino delle funzioni biologiche e cognitive, come ad esempio una riduzione dell'appetito e del senso del gusto. Anche le sindromi depressive, particolarmente frequenti negli anziani, sono riconosciute come associate

ad un peggioramento dello stato nutrizionale. Inoltre, nei disturbi depressivi si verifica la disregolazione dei sistemi nervoso neuroendocrino e simpatico, che possono potenzialmente interessare l'eritropoiesi [3,5,6].

Anche il malassorbimento di ferro è relativamente frequente negli anziani e può essere causato da infezione da *Helicobacter pylori* (HP), gastrite atrofica autoimmune, malattia celiaca, IBD e dall'utilizzo prolungato di Inibitori della Pompa Protonica (PPI) [3,5].

Diversi studi hanno valutato la frequenza dell'anemia in pazienti anziani, mostrando un range che varia dall'8% al 25%, con una percentuale aumentata in soggetti di età superiore a 85 anni. In questa popolazione, l'anemia può influenzare la mortalità e la performance cognitiva/fisica, aumentando il numero di ricoveri. Pertanto, la valutazione del livello ematico di ferro e il relativo trattamento o follow up sono cruciali [3,5].

Studi recenti sottolineano che la somministrazione di ferro è associata a miglioramenti degli esiti cardiovascolari e della qualità di vita [2,7,8].

Usando l'analisi della Variabilità della Frequenza Cardiaca (HRV) dei componenti spettrali nel dominio della frequenza è possibile esplorare il sistema neurovegetativo. Numerose condizioni fisiologiche e malattie hanno un fattore di impatto sulla dimensione dell'area di ogni picco del range di frequenze sullo spettro di potenza HRV. Alcuni studi hanno usato l'analisi spettrale HRV e la variabilità della pressione sanguigna in un ampio gruppo di pazienti ed è stato osservato che l'aumento della potenza totale di HRV e LF è associato alla sopravvivenza, mentre la progressiva diminuzione di HRV è stata associata a deterioramento e morte. Alterazioni dell'analisi spettrale sono correlate alla gravità della malattia, pertanto l'uso di questo metodo per la valutazione dello stato delle malattie cardiache e non cardiache, potrebbe fornire una valutazione della prognosi e determinare l'efficacia del trattamento [9,10].

## ■ Scopo dello studio

Lo scopo di questo studio è confermare l'efficacia e la sicurezza di ferro sodico EDTA in combinazione con vitamina C, acido folico, gluconato di rame, gluconato di zinco e selenometionina (Ferachel forte®), 2 compresse al giorno per un periodo di trattamento di 24 giorni, in pazienti anziani con anemia secondaria sul rischio cardiovascolare e la qualità di vita, esplorata attraverso la valutazione del dominio della frequenza dell'HRV.

<sup>2</sup>Sapienza University of Rome, Italy

<sup>3</sup>Cardiology Department, Villa Laura, Bologna, Italy

<sup>4</sup>Mercurio Pharma, Naples, Italy

<sup>5</sup>Department of Medical-Surgical Sciences and Biotechnologies, Sapienza University of Rome, Italy

\*Author for correspondence:

n.marchitto@ausl.latina.it

## Metodi

Sono stati arruolati 45 pazienti anziani (età  $79,4 \pm 10,1$  anni) con una recente diagnosi di anemia secondaria dovuta a carenza di ferro e/o insufficienza renale di grado lieve-moderato. I pazienti sono stati divisi in 2 gruppi: 16 pazienti sono stati trattati con somministrazione orale di ferro sodico EDTA 2 compresse al giorno, corrispondenti a 60 mg di ferro, in combinazione con vitamina C, acido folico, gluconato di rame, gluconato di zinco e selenometionina (Ferachel forte®) per 24 giorni; 29 pazienti sono stati trattati con gluconato ferrico 63 mg/die aggiunti alla soluzione salina somministrata per via endovenosa durante un periodo di ospedalizzazione di  $15 \pm 5$  giorni. I pazienti arruolati avevano insufficienza renale di grado lieve-moderato (valore medio della creatinina:  $1,1 \pm 0,6$  mg/dL nel gruppo con somministrazione orale della combinazione di ferro sodico EDTA e  $1,4 \pm 1$  mg/dL nel gruppo con somministrazione endovenosa di gluconato ferrico). Sono stati valutati il miglioramento dei valori di laboratorio, come il livello di emoglobina e la sideremia e la traccia elettrocardiografica misurata 2-5 minuti prima e dopo la somministrazione della combinazione ferro sodico EDTA o gluconato ferrico.

Inoltre, sono stati misurati il segnale ECG e l'impedenza bioelettrica (BIA). Per l'analisi del segnale ECG, è stato utilizzato Cardio CE versione 2.0 (XAI-Medica) per registrare l'ECG standard e l'ECG battito per battito per la valutazione della variabilità della frequenza cardiaca. L'analisi dell'impedenza bioelettrica (BIA) è stata effettuata con il Bodygram PRO 3,0 (Akern).

Utilizzando una breve registrazione della traccia elettrocardiografica sono stati misurati l'indice T-peak to T-end (Tp/Te) e l'intervallo QT corretto (QTc) [11].

Utilizzando una breve registrazione dell'elettrocardiografo con una lunghezza di 2-5 minuti, l'analisi spettrale rivela tre picchi principali, descrivibili come il VLF (frequenza molto bassa) che include frequenze molto basse con valori tra 0 e 0,04 Hz influenzati dalla regolazione della temperatura e dai sistemi umorali, la LF (bassa frequenza) che include le basse frequenze tra 0,04 e 0,15 Hz, che sono associate sia alla modulazione simpatica che alla modulazione simpato-vagale a seconda dell'indice di controllo barocettivo dell'attivazione del sistema simpatico, l'HF (alta frequenza) che include le frequenze tra 0,15-0,4 Hz, che sono associate all'indice di attivazione parasimpatico, e riflettono la modulazione vagale del ritmo sinusale associato all'aritmia respiratoria e infine

la Potenza Totale che è la somma dei tre picchi o la somma delle singole potenze spettrali (VLF + LF + HF) [9,10].

L'analisi statistica è stata eseguita utilizzando il T-test appaiato con il programma di analisi Sigmasat v. 3.5. Le differenze sono state considerate significative quando  $P < 0,05$ .

## Risultati

I dati raccolti in questo studio confermano che il trattamento orale con ferro sodico EDTA, in combinazione con vitamina C, acido folico, gluconato di rame, gluconato di zinco e selenometionina (Ferachel forte®) alla dose di 60 mg (2 compresse al giorno) è un trattamento efficace e sicuro, come riportato in precedenza. Entrambi i risultati dei livelli di emoglobina (Hb) e sideremia hanno dimostrato che il trattamento con supplementazione di ferro orale per 24 giorni è efficace quanto l'infusione di ferro per via endovenosa, somministrata durante il periodo di ospedalizzazione ( $15 \pm 5$  giorni). In particolare, i livelli di emoglobina sono passati da  $9,5 \pm 1,3$  g/dL a  $11,7 \pm 1,9$  g/dL ( $p = 0,001$ ) nel gruppo trattato con ferro sodico EDTA (TABELLA 1). Il corrispondente aumento dei livelli di Hb nel gruppo trattato con ferro per via endovenosa era compreso tra  $8,9 \pm 1,5$  g/dL e  $9,9 \pm 1,9$  g/dL ( $p = 0,001$ ; TABELLA 2). Risultati simili sono stati ottenuti per i livelli di sideremia: da  $19,5 \pm 5,6$  mcg/dL a  $53,8 \pm 25,9$  mcg/dL ( $p = 0,001$ ; TABELLA 1) per il gruppo di somministrazione di ferro per via orale; e da  $19,6 \pm 12,2$  mcg/dL a  $37,1 \pm 21,9$  mcg/dL ( $p = 0,001$ ; TABELLA 2) per il gruppo in terapia endovenosa.

### ■ Risultati di safety

Il trattamento con ferro sodico EDTA in combinazione con vitamina C, acido folico, gluconato di rame, gluconato di zinco e selenometionina (Ferachel forte®) non modificava i parametri dell'ECG, data l'assenza di quantità elevate di liquidi somministrate a una popolazione di pazienti così sensibile, quale è il paziente anziano con insufficienza renale di grado lieve-moderato (TABELLA 1).

I dati hanno mostrato che la somministrazione di ferro per via endovenosa espone i pazienti ad un maggiore apporto idrico a causa della diluizione del ferro in soluzione salina. La supplementazione di ferro per via endovenosa ha dato una variazione statisticamente significativa del valore T-peak to T-end che rappresenta un parametro

**TABELLA 1. Ferro sodico EDTA in combinazione con vitamina C, acido folico, gluconato di rame, gluconato di zinco e selenometionina (Ferachel forte®) (2 compresse/giorno, per 24 giorni); n.a.= non disponibile. I dati sono espressi come valore medio  $\pm$  Deviazione standard (DS).**

	Controllo	Effetto	Valore-p
Hb (g/dL)	9.5 $\pm$ 1.3	11.7 $\pm$ 1.9	0.001
Fe <sup>++</sup> (mcg/dL)	19.5 $\pm$ 5.6	53.8 $\pm$ 25.9	0.001
RR (msec)	778.5 $\pm$ 179.1	814.5 $\pm$ 172.9	0.125
LF (msec)	600.5 $\pm$ 626.1	1442.4 $\pm$ 3017.3	0.625
HF (msec)	854.9 $\pm$ 909.9	2780.1 $\pm$ 6137.1	0.688
Tp-e (msec)	96.8 $\pm$ 14.9	95.8 $\pm$ 12.9	0.844
QTc (msec)	317.3 $\pm$ 28.6	318.3 $\pm$ 30.6	0.625
Tp-e/QTc	0.304 $\pm$ 0.04	0.301 $\pm$ 0.04	0.844
Resistenza ( $\Omega$ )	n.a.	n.a.	n.a.
Reattanza ( $\Omega$ )	n.a.	n.a.	n.a.

**TABELLA 2. Gluconato di ferro per via endovenosa 63 mg/die in soluzione salina 500 mL, somministrato durante il periodo di ospedalizzazione (15  $\pm$  5 giorni).**

	Controllo	Effetto	Valore-p
Hb (g/dL)	8.9 $\pm$ 1.5	9.9 $\pm$ 1.9	0.001
Fe <sup>++</sup> (mcg/dL)	19.6 $\pm$ 12.2	37.1 $\pm$ 21.9	0.001
RR (msec)	755.0 $\pm$ 243.4	779.0 $\pm$ 234.4	1.000
LF (msec)	1684.1 $\pm$ 2622.1	2016.5 $\pm$ 3191.1	0.818
HF (msec)	4601.1 $\pm$ 6561.2	3312.0 $\pm$ 4369.3	0.378
Tp-e (msec)	91.8 $\pm$ 16.2	99.1 $\pm$ 11.6	0.048
QTc (msec)	340.0 $\pm$ 42.8	352.7 $\pm$ 62.2	0.105
Tp-e/QTc	0.271 $\pm$ 0.04	0.282 $\pm$ 0.04	0.562
Resistenza ( $\Omega$ )	517.6 $\pm$ 139.6	503.6 $\pm$ 172.9	0.018
Resistenza ( $\Omega$ )	41.5 $\pm$ 19.5	38.5 $\pm$ 18.3	0.160

del rischio aritmico (**FIGURA 1**). Questa tendenza è confermata dalla valutazione della differenza nella resistenza elettrica misurata mediante un test bioimpedenziometrico (**FIGURA 2**).

Dati più interessanti emergono dall'analisi dei risultati elettrocardiografici relativi al dominio della frequenza dell'HRV dopo il trattamento con la combinazione ferro sodico EDTA alla dose di 60 mg/giorno per 24 giorni (**TABELLA 3 e FIGURA 3**), perché questa tendenza positiva è confermata dall'assenza di riduzione statisticamente significativa ( $p=0,097$ ) del tono vagale utilizzando l'analisi di trasformazione rapida di Fourier o FFT-HF (**TABELLA 3**) e la relativa riduzione statisticamente significativa ( $p=0,049$ ) del tono vagale utilizzando l'analisi autoregressiva o AR-HF (**TABELLA 3 e FIGURA 3**). Nei pazienti arruolati in questo studio, la somministrazione orale conferma la sicurezza del trattamento ad alto dosaggio (2 compresse al giorno).

## Discussione

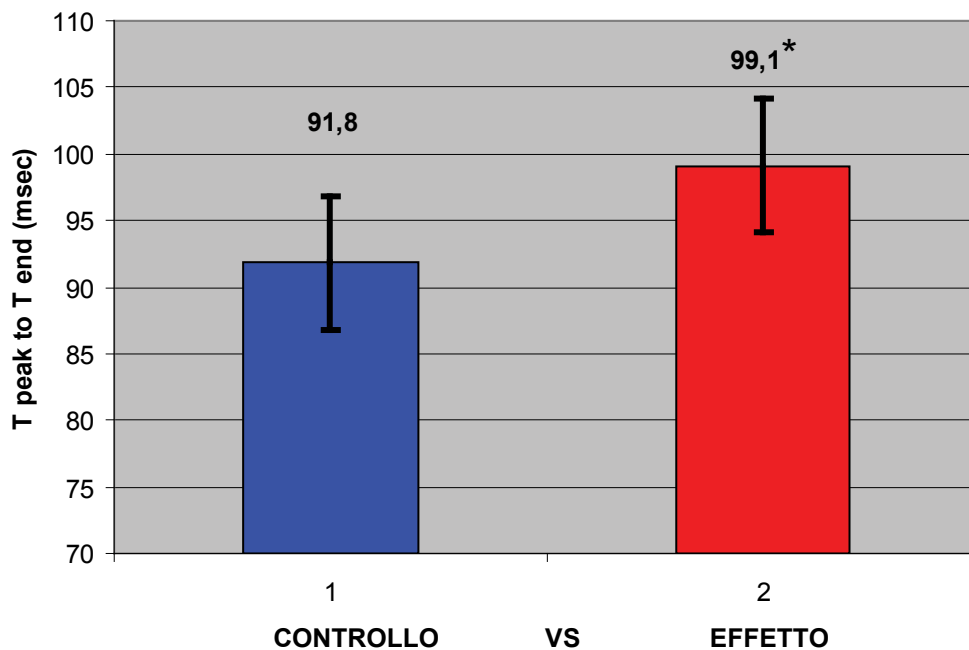
La terapia con ferro sodico EDTA, in combinazione con vitamina C, acido folico, gluconato di rame, gluconato di zinco e selenometionina (Ferachel forte®) è una nuova formulazione di ferro utilizzata per il trattamento orale di pazienti con anemia

secondaria. Il ferro sodico EDTA è una nuova fonte di ferro che ha già riportato ampi dati sull'efficacia e sulla sicurezza in diversi ambienti, come le donne anemiche in gravidanza [12-14], i bambini anemici in età pre-scolastica, in età scolastica e adolescenti [15-19].

Inoltre, diverse meta-analisi hanno concluso che il ferro sodico EDTA, già come singolo componente, è altamente efficace nel controllare la carenza di ferro e ridurre la prevalenza di anemia da carenza di ferro in uomini, donne e bambini [20-22]. Inoltre, il ferro sodico EDTA è raccomandato per la fortificazione di massa di farine di cereali ad alto contenuto di fitati e per salse ad alto contenuto di peptidi (ad esempio salsa di pesce, salsa di soia), dalle linee guida dell'OMS sulla fortificazione degli alimenti con micronutrienti.

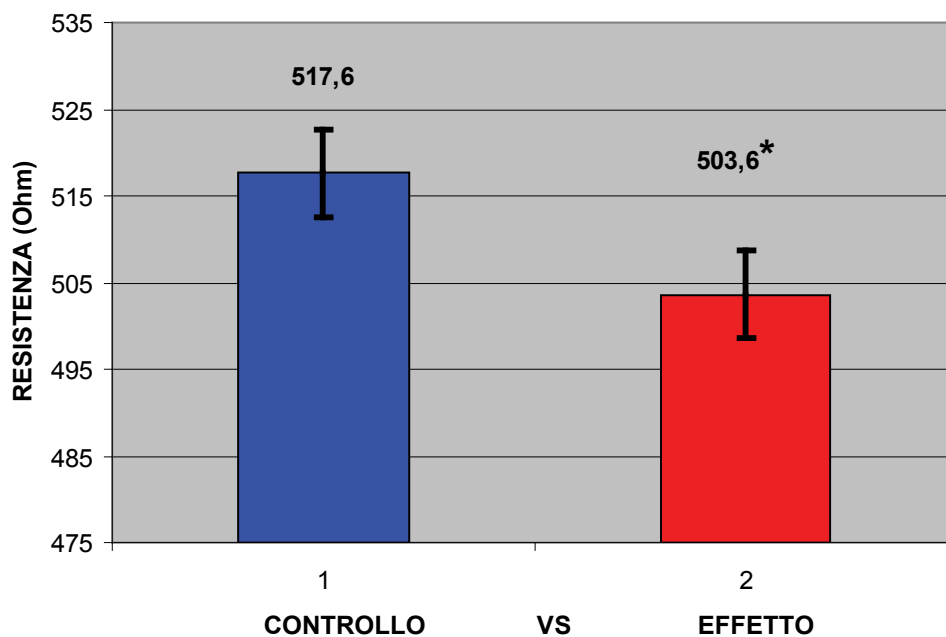
L'uso di ferro sodico EDTA in combinazione con vitamina C, acido folico, gluconato di rame, gluconato di zinco e selenometionina (Ferachel forte®) è stato valutato in pazienti anziani con anemia secondaria dovuta a carenza di ferro e/o insufficienza renale di grado lieve-moderato, poiché la popolazione è spesso esposta a eventi avversi correlati alla terapia con ferro per via endovenosa.

## Indice T Peak to Tend



**FIGURA 1.** Analisi descrittiva dell'indice T Peak to T end nel gruppo trattato con terapia per via endovenosa di gluconato ferrico 63 mg/die (in soluzione salina 500 mL).

## RESISTENZA



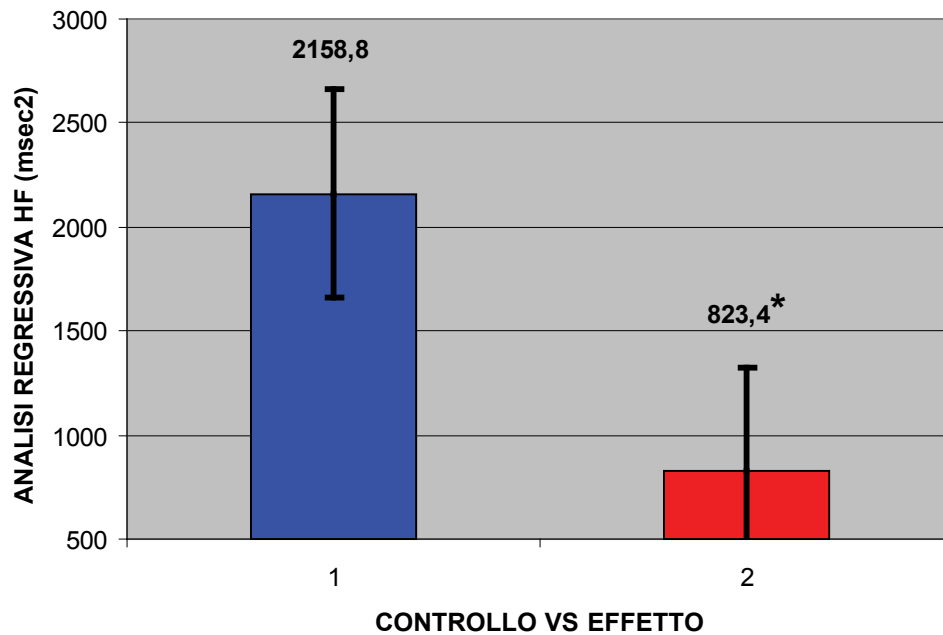
**FIGURA 2.** Analisi descrittiva dell'analisi dell'impedenza bioelettrica (BIA) nel gruppo trattato con terapia per via endovenosa di gluconato ferrico 63 mg/die (in soluzione salina 500 mL).

Questi eventi possono essere correlati al sito di iniezione, come flebiti e tromboflebiti, e/o possono aumentare il rischio di reazioni allergiche e/o aggravare condizioni preesistenti come insufficienza cardiaca o insufficienza renale.

I risultati hanno mostrato l'efficacia del trattamento (TABELLA 1) e la sicurezza

(TABELLA 3) della formulazione del ferro per via orale. In particolare, i dati hanno evidenziato la reale superiorità della somministrazione orale sul rischio cardiovascolare analizzato esplorando il dominio della frequenza dell'HRV nei pazienti anziani rispetto alla somministrazione endovenosa di gluconato ferrico (FIGURA 3).

## ALTA FREQUENZA HRV (ANALISI REGRESSIVA)



**FIGURA 3.** Analisi descrittiva delle alte frequenze dell'HRV ( $p=0,049$ ) esplorato mediante analisi regressiva nel gruppo trattato con ferro sodico EDTA in combinazione con vitamina C, acido folico, gluconato di rame, gluconato di zinco e selenometionina (Ferachel forte®) 2 compresse/giorno per 24 giorni.

**TABELLA 3.** Ferro sodico EDTA in combinazione con vitamina C, acido folico, gluconato di rame, gluconato di zinco e selenometionina (Ferachel forte®) 2 compresse/giorno per 24 giorni.

	Controllo	Effetto	$p < 0.050$
fft-LF	2254.5 ± 3471.6	858.0 ± 1140.1	0.145
fft-HF	2704.8 ± 3982.5	883.8 ± 964.9	0.097
fft-TOTAL	8447.1 ± 1746.9	2290.4 ± 2404.5	0.188
fft-LF/HF	0.813 ± 0.589	1.062 ± 0.930	0.335
AR-LF	1817.8 ± 2629.3	1024.3 ± 1419.1	0.313
AR-HF	2158.8 ± 2622.4	823.4 ± 810.6	0.049*
AR-TOTAL	6398.6 ± 1012.8	1012.8 ± 3345.5	0.193
AR-LF/HF	0.811 ± 0.659	0.858 ± 0.762	0.806

Questi risultati preliminari sono rilevanti, ma non applicabili a un ampio spettro di pazienti con anemia secondaria.

### Conclusione

Questo studio conferma che ferro sodico EDTA in combinazione con vitamina C, acido folico, gluconato di rame, gluconato di zinco e selenometionina (Ferachel forte®) è un'alternativa valida e sicura alla terapia endovenosa di gluconato ferrico (gold standard) nel trattamento dell'anemia secondaria in pazienti anziani, perché durante il trattamento i risultati di efficacia sono stati mantenuti senza variazioni statisticamente significative sul rischio cardiovascolare, valutate esplorando il dominio della frequenza dell'HRV.

### Conflitto d'interesse

Gli autori dichiarano di non avere conflitti di interesse.

### Consenso informato

Il consenso informato è stato ottenuto da tutti i singoli partecipanti inclusi nello studio.

### Riconoscimento

Gli autori sono particolarmente grati a Alessia Petrucci per la traduzione inglese e Marchitto Lino, Maisano Carla Maria e Marchitto Federica per gli aspetti organizzativi.



## Riferimenti

<http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin.pdf>

Longo DL, Camaschella C. Iron-deficiency anemia. *N. Engl. J. Med.* 372(19), 1832-1843 (2015).

Busti F, Campostrini N, Martinelli N, et al. Iron deficiency in the elderly population, revisited in the hepcidiner. *Front. Pharmacol.* 5(1), 83 (2014).

Goodnough LT, Schrier SL. Evaluation and management of anaemia in the elderly. *Am. J. Hematol.* 89(1), 88-96 (2014).

De-Franceschi L, Iolascon A, Taher A, et al. Clinical management of iron deficiency anaemia in adults: Systemic review on advances in diagnosis and treatment. *Eur. J. Intern. Med.* 42, 16-23 (2017).

Stewart R, Hirani V. Relationship between depressive symptoms, anaemia, and iron status in older residents from a national survey population. *Psychosom. Med.* 74(2), 208-213 (2012).

Anker SD, Kirwan BA, van Veldhuisen DJ, et al. Effects of ferric carboxymaltose on hospitalisations and mortality rates in iron-deficient heart failure patients: an individual patient data meta-analysis. *Eur. J. Heart Fail.* 20(1), 125-133 (2018).

Herter-Aeberli I, Eliancy K, Rathon Y, et al. In Haitian women and preschool children, iron absorption from wheat flour-based meals fortified with sodium iron EDTA is higher than that from meals fortified with ferrous fumarate, and is not affected by *Helicobacter pylori* infection in children. *Br. J. Nutr.* 118(4), 273-279 (2017).

Rovere L, Teresa M, Robert A, et al. Baroreflex sensitivity and heart-rate variability in prediction of total cardiac mortality after myocardial infarction. *The Lancet.* 351(9101), 478-484 (1998).

Shaffer F, Ginsberg JP. An overview of heart rate variability metrics and norms. *Front. Pub. Health.* 5, 258 (2017).

Tse G, Gong M, Wong WT, et al. The  $T_{peak}-T_{end}$  interval as an electrocardiographic risk marker of arrhythmic and mortality outcomes: A systematic review and meta-analysis. *Heart. Rhythm.* 14(8), 1131-1137 (2017).

Han XX, Sun YY, Ma AG, et al. Moderate NaFeEDTA and ferrous sulfate supplementation can improve both hematologic status and oxidative stress in anaemic pregnant women. *Asia. Pac. J. Clin Nutr.* 20(4), 514-520 (2011).

Van TP, Berger J, Nakanishi Y, et al. The use of NaFeEDTA-fortified fish sauce is an effective tool for controlling iron deficiency in women of childbearing age in rural Vietnam. *J. Nutr.* 135(4), 2596-601 (2005).

Cignini P, Mangiafico L, Padula F, et al. Supplementation with a dietary multicomponent (Lafegin (®)) based on Ferric Sodium EDTA (Ferrazone (®)): Results of an observational study. *J. Prenat. Med.* 9, 1-7 (2015).

Huo J, Sun J, Miao H, et al. Therapeutic effects of NaFeEDTA-fortified soy sauce in anaemic children in China. *Asia. Pacific. J. Clin. Nutr.* 11(2), 123-127 (2002).

Muthayya S, Thankachan P, Hirve S, et al. Iron fortification of whole wheat flour reduces iron deficiency and iron deficiency anemia and increases body iron

stores in Indian school-aged children. *J. Nutr.* 142(11), 1997-2003 (2012).

Longfils P, Monchy D, Weinheimer H, et al. A comparative intervention trial on fish sauce fortified with NaFe-EDTA and FeSO<sub>4</sub>+citrate in iron deficiency anaemic school children in Kampot, Cambodia. *Asia. Pac. J. Clin. Nutr.* 17(2), 250-257 (2008).

Teshome EM, Otienoc W, Terweld SR, et al. Comparison of home fortification with two iron formulations among Kenyan children: Rationale and design of a placebo-controlled non-inferiority trial. *Contemp. Clin. Trials. Comm.* 7, 1-10 (2017).

Huo JS, Yin JY, Sun J, et al. Effect of NaFe EDTA-fortified soy sauce on anaemia prevalence in China: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Biomed. Environ. Sci.* 28(11), 788-798 (2015).

De-Regil LM, Jefferds MED, Peña-Rosas JP. Point-of-use fortification of foods with micronutrient powders containing iron in children of preschool and school-age. *Cochrane. Database. Syst. Rev.* 23, 11 (2017).

Wang B, Zhan S, Xia Y, et al. Effect of sodium iron ethylenediaminetetra-acetate (NaFeEDTA) on haemoglobin and serum ferritin in iron-deficient populations: a systematic review and meta-analysis of randomised and quasi-randomised controlled trials. *Br. J. Nutr.* 100(6), 1169-1178 (2008).

World Health Organization. Guidelines on food fortification with micronutrients/edited by Lindsay Allen, Bruno de Benoist, Omar Dary and Richard Hurrell.