

# Vitamin D

Er det en sammenheng mellom nivået av vitamin D og risiko for utvikling av kronisk sykdom?



5. årsoppgave i stadium IV ved profesjonsstudiet i medisin ved Universitetet i Tromsø  
Av Hanne Mørch kull 05 og Sara Bentzen kull 04.

Veileder prof. Rolf Jorde ved Endokrinologi. Medisinsk klinikk,  
Universitetssykehuset Nord-Norge

## **Forord**

Vi vil gjerne takke de som har hjulpet oss med oppgaven. Takk til veilederen vår, Rolf Jorde, for ideer og rettleiding underveis i arbeidet. Takk til Annika Gustafsson på Forskningsposten UNN for hjelp med vårt laboratoriearbeid. Takk til Medisinsk Biokjemi ved UNN som analyserte prøvene våre og til Medisinsk Genetikk for lån av laboratorie plass til vårt arbeid.

## **Resymé**

Vi har skrevet en oppgave hvor vi har gjort en litteraturstudie på vitamin D i forhold til enkelte kroniske tilstander, samt et eget forskningsarbeid som vi har knyttet opp mot litteraturdelen av oppgaven. Vi gikk ut fra en problemstilling hvor vi ønsket å se på om det var noen sammenheng mellom nivået av vitamin D og risiko for utvikling av utvalgte kronisk sykdommer. I litteraturstudien har vi først sett på fysiologien til vitamin D, deretter på dagens retningslinjer og på vitamin D i relasjon til overvekt og diabetes type 2. Til slutt har vi sett på nivået av vitamin D i forhold til risiko for utvikling av cancer.

Innledning .....	5
Materiale og metode .....	7
Resultater .....	8
Vitamin D fysiologi .....	8
Effekter på absorpsjon av kalsium fra tynntarm .....	10
Effekter på kalsiumreabsorpsjon i nyre .....	10
Effekter på kalsium i bein .....	10
Forholdet mellom vitamin D, PTH og kalsium .....	11
Nivå av vitamin D .....	11
Dagens retningslinjer for anbefalt nivå av vitamin D .....	11
Eventuell oppjustering av anbefalt nivå av vitamin D for ønsket helseeffekt .....	13
Vitamin D-mangel .....	13
Intoksikasjonsproblematikk .....	14
Områder hvor vitamin D er etablert behandling: Osteoporose og psoriasis .....	15
Vitamin D – overvekt og diabetes type 2.....	18
Hypertensjon/ hjerte- kar .....	21
Diabetes type 1, Crohn's sykdom, reumatoid artritt, multippel sklerose og systemisk lupus erythematosus .....	22
Vitamin D og cancer .....	26
Studier som indikerer en sammenheng mellom Vitamin D og cancer .....	27
Antiproliferative effekter ved vitamin D .....	29
Diskusjon .....	32
Nivå av vitamin D .....	32
Vitamin D og cancer .....	33
Konklusjon .....	35
Effekt av vitamin-D tilskudd på serum titer av anti- TPO hos overvektige pasienter .....	36
Introduksjon .....	36
Metode .....	38
Resultater .....	39
Diskusjon .....	41
Kilder .....	44
Vedlegg .....	48

## **Innledning**

De siste årene er det gjort en rekke studier hvor man har sett på sammenhengen mellom vitamin D og eventuelle helsefremmende effekter (1). Med oppgaven vår har vi ønsket å se nærmere på dette vitaminet i sammenheng med en rekke ulike sykdommer som blant annet diabetes, hjerte/kar lidelser og cancer. Vi har gjort en litteraturstudie der vi først har tatt for oss fysiologien til vitamin D, dagens retningslinjer for inntak, vitamin D-mangel og intoksikasjonsproblematikk. Deretter har vi gått mer spesifikt inn på tilstander hvor vitamin D-tilskudd er etablert behandling, for så å se på tilstander der man antar at vitamin D kan redusere risikoen for utvikling av sykdom.

Vitamin D dannes i huden ved eksponering for UV-stråler. I tillegg finner man vitaminet i fet fisk, som makrell og laks, og i krydder, grønnsaker og mat som har blitt bestrålt med UV-lys (2). Man har lenge visst at mangel på sollys kan gi rakitt hos barn, og at pasienter med beinskjørhet får redusert frekvens av beinbrudd ved inntak av kalsium og vitamin D.

De siste årene har man fått økt interesse for at vitamin D i større doser kan ha immunmodulerende effekter (3). Reumatoid artritt og diabetes type 1 er sykdommer der immunforsvaret går til angrep på kroppens egne celler (3). Enkelte studier indikerer at økt inntak av vitamin D kan redusere forekomsten av disse sykdommene. Man har også sett en geografisk varians av multippel sklerose, som kanskje kan tilskrives nivået av vitamin D i serum hos befolkningen. Studier har pekt på effekter av vitamin D i cancerbehandling. Det antas at vitaminet i høye doser kan redusere celleveksten, og man har sett en sesongvariasjon i mortalitet som kanskje kan tilskrives vitamin D nivået i serum hos pasientene (4,5).

Etter å ha gjort en litteraturstudie omkring vitamin D, har vi også gjort et eget forskningsarbeid hvor vi har målt anti-TPO (anti- thyreoideaperoxidase) i serum hos en gruppe overvektige pasienter inndelt i tre grupper, hvor en gruppe fikk høydose vitamin D, en gruppe fikk halvert dose vitamin D og den siste gruppen fikk placebo (6). Vi

*5.- års oppgave for Sara Bentzen og Hanne Mørch*

forventet at dersom vitamin D har en immunmodulerende effekt, ville man se en statistisk signifikant reduksjon i nivået av anti-TPO hos de personene som fikk høydose vitamin D.

## **Materiale og metode**

For å kunne skrive denne oppgaven ble det gjort et forarbeid med litteratursøk i databaser og lesing av artikler fra mange ulike kilder. Dette arbeidet ble gjennomført i høsthalvåret på fjerde studieåret. Det ble i løpet av denne tiden gjort endringer i problemstilling og omfang av oppgaven etter som den tok form. Da denne første delen var skrevet fikk vi av vår veileder tildelt et eget forskningsarbeid som var knyttet opp mot oppgavens hovedtema, vitamin D. Felles med selve litteraturdelen er at vi også i denne delen ser på egenskaper ved vitamin D.

Bakgrunnen for forskningsarbeidet vårt var at det allerede var gjennomført en studie blant overvektige over en ettårs periode. 1/3 fikk 40 000 IU vitamin D/uke, 1/3 fikk 20 000 IU vitamin D/uke og 1/3 fikk placebo. 333 personer gjennomførte. I nullprøve som er tatt av alle deltakere målte vi nivået av anti-TPO i serum. De positive prøvene, dvs. de med anti-TPO fra og med 10 kIE/L, analyserte vi videre ved å bruke deres ettårsprøve som også var tatt (6). Hypotesen vår var at dersom vitamin D har en immunmodulerende effekt, ville man se en statistisk signifikant reduksjon av nivået av anti-TPO hos de personene som fikk høydose vitamin D tilskudd. Prøvene ble analysert med hensyn på anti-TPO i en ELISA- maskin. Det var 103 som hadde anti-TPO fra og med 10 kIE/L i serum. Disse analyserte vi videre ved å bruke deres 12 mnd. serumprøve.

## Resultater

### Vitamin D fysiologi

Vitamin D finnes i kroppen som to former. Vitamin D<sub>3</sub>, cholecalciferol, dannes i hud ved solesponering, samt finnes i fet fisk, som laks, kveite og makrell. Vitamin D<sub>2</sub>, ergocalciferol, dannes ved stråling av grønnsaker, plantemateriale og matvarer, og inntaket i kroppen skjer via diett (2). Både vitamin D<sub>2</sub> og vitamin D<sub>3</sub> er fettløselige. Ved inntak av vitamin D via diett er absorpsjonen fra tarm avhengig av oppløseligheten ved hjelp av gallesalter (7).

Vitamin D<sub>3</sub> syntetiseres i hud fra 7-dehydroxykolesterol ved tilstrekkelig absorpsjon av UVB-stråler. Da får man dannet cholecalciferol, som tilsvarer vitamin D<sub>3</sub> fra fet fisk. Den aktive metabolitten av vitamin D er verken vitamin D<sub>2</sub> eller D<sub>3</sub>, men en dihydroxylert metabolitt. Hydroxyleringen foregår i to trinn, første trinn i lever, deretter i nyre. I lever skjer en hydroxylering av cholecalciferol til 25-hydroxycholecalciferol. I oppgaven vår har vi valgt å kalle 25-hydroxycholecalciferol for 25-hydroxyvitamin D. Hydroxyleringen av cholecalciferol i lever skjer via cytokrom P-450 mixed- function oxidase, og danner en OH-gruppe på karbon nr. 25 (7). Denne hydroxyleringen avhenger i første rekke av tilgangen på vitamin D<sub>2</sub> og D<sub>3</sub>, samt at reaksjonen er begrensende ved negativ feedback kontroll. Dette er viktig fordi det regulerer konsentrasjonen av 25-hydroxycholecalciferol i plasma. Ved for stort inntak av vitamin D<sub>3</sub>, kontrolleres grad av virkning via denne mekanismen. Den kontrollerte omgjøringen av vitamin D<sub>3</sub> til 25-hydroxycholecalciferol gjør at vitamin D kan lagres i lever i flere måneder. Hvis den omgjøres vil den kun eksistere i kroppen i noen få uker (2).

Den andre hydroxyleringen, hvor 25-hydroxyvitamin D omdannes til den aktive metabolitten av vitamin D, 1,25-dihydroxyvitamin D, skjer hovedsakelig i nyre, i proksimale tubuli under streng kontroll av PTH, 1,25-dihydroxyvitamin D selv og fosfat. PTH stimulerer 1-hydroxyleringen, mens 1,25-dihydroxyvitamin D og fosfat inhiberer prosessen (7). Plasmakonsentrasjonen av 1,25 dihydroxycholecalciferol er inverst



påvirket av konsentrasjonen av kalsium i plasma. Det er to grunner til dette. For det første har kalsiumionene selv en liten negativ effekt på å forhindre omgjøring av 25-hydroxycholecalciferol til 1,25 dihydroxycholecalciferol. Noe som er mer viktig er at sekresjonen av PTH supprimeres når plasmakonsentrasjonen av kalsium øker over 2,5 mmol/L. Derfor, når kalsiumkonsentrasjonen er under dette nivået, promoterer PTH omgjøring av 25- hydroxycholecalciferol til 1,25 dihydroxycholecalciferol i nyrene (2).

I sirkulasjonen finner man vitamin D bundet til chylomikroner eller assosiert med globulinbindende protein, 52-kDa vitamin D-bindende protein. Vitamin D-bindende protein er særlig viktig for transporten av vitamin D2 og D3, da disse er mindre løselige enn deres hydroxylerte metabolitter (7).

Når vitamin D og dets metabolitter finner målcelle, og har vandret inn i cytosol, vil de binde til vitamin D-reseptor, VDR, på overflaten av cellekjernen. Reseptoren har høyest affinitet for 1,25-dihydroxyvitamin D, men siden 25-hydroxyvitamin D finnes i en mye større konsentrasjon, er det sannsynlig at begge har biologisk effekt (7). VDR danner deretter et heterodimert kompleks med retinoidsyre x reseptor. Man vil da få en translokasjon av spesifikke DNA sekvenser, kalt vitamin D responsive elementer, som igjen vil føre til en gentranskripsjon (3). Den biologiske oppgaven til 1,25-dihydroxyvitamin D er hovedsakelig å regulere transkripsjonen av et antall ulike proteiner som for eksempel osteocalcin, kalsiumbindende protein og 24-hydroxylase (2).

Vitamin D har i hovedsak to typer virkningsmekanismer:

- Reguleringen av beinmineralisering og skjeletthemostase
- Regulering av cellevekst

Vitamin D er med på å regulere plasmakonsentrasjonen av kalsium via funksjoner på tynntarm, bein og nyre (7).

## Effekter på absorpsjon av kalsium fra tynntarm

1,25-dihydroxyvitamin D øker produksjonen av proteiner som øker absorpsjonen av kalsium i duodenum. Dette skjer ved å indusere syntese av kalsiumstimulert ATPase i epitelcellene, pumper og en alkalisk fosfatase, samt kalsiumbindende protein (2,7). 1,25-dihydroxyvitamin D påvirker den aktive transporten av kalsium inn i tarmveggcellen og gjennom cellen. Passiv transport er i tillegg avhengig av kalsiumgradienten (2).

Parathyroideahormon, PTH, har kun en indirekte effekt på kalsiumabsorpsjonen fra tarm, mediert ved å øke den renale dannelsen av 1,25-dihydroxyvitamin D fra 25-hydroxyvitamin D, som igjen øker absorpsjonen av kalsium (7).

## Effekter på kalsiumreabsorpsjon i nyre

PTH stimulerer til økt hydroxylering av 25-hydroxyvitamin D til 1,25-hydroxyvitamin D. Økt 1,25-hydroxyvitamin D fører sammen med høye nivå av PTH til større reabsorpsjon av kalsium i distale tubuli. Det kan imidlertid se ut til at PTH er en mer potent regulator for reabsorpsjonen av kalsium enn vitamin D, det samme ser også ut til å gjelde for effekten på fosfat (7).

## Effekter på kalsium i bein

Vitamin D har både en direkte og en indirekte virkning på kalsium i bein. Den indirekte effekten er regulering av absorpsjon av kalsium fra tarm og effekten vitamin D utøver på reabsorpsjon av kalsium i nyre. Begge disse effektene øker kalsium i serum, og dermed økt kalsium til mineralisering av beinmatrix. Den direkte effekten av vitamin D er derimot mobilisering av kalsium fra bein for på den måten å øke kalsium i serum, men i motsetning til den indirekte effekten av vitamin D på bein, vil den direkte effekten gi lavere kalsiumnivå i beinmatrix. Både osteoblaster og pre-osteoklaster har VDR. Som

respons på binding av vitamin D vil osteoblastene produsere en rekke proteiner som alkalisk fosfatase, kollagenase og plasminogen aktivator. I tillegg vil vitamin D øke dannelsen av modne osteoklaster, som mobiliserer kalsium (7).

### Forholdet mellom vitamin D, PTH og kalsium

Ved et høyt inntak av kalsium via diett vil serum-kalsium stige. Dette hemmer sekresjonen av PTH fra parathyroidea. Redusert PTH vil føre til at mindre 25-hydroxyvitamin D omdannes til 1,25-hydroxyvitamin D. En lavere vitamin D vil gi redusert mobilisering av kalsium fra bein, i tillegg til at en lavere PTH og 1,25-hydroxyvitamin D vil føre til mindre reabsorpsjon av kalsium fra nyrene. Siden PTH er lav, og dette gir en redusert metabolisme av 1,25-hydroxyvitamin i nyrene, vil også absorpsjonen av kalsium fra tarm bli mindre dersom inntaket av kalsium via diett forblir høyt (7). Ut fra dette kan man trekke at vitamin D sin rolle på kalsiumhemostasen er et samspill hvor PTH stiger ved lav kalsium, og dermed øker produksjonen av aktivt vitamin D, som da kan øke serumnivået av kalsium enten ved økt opptak fra tarm, redusert utskillelse fra nyre eller ved å mobilisere kalsium fra skjelettet (2,7).

### Nivå av vitamin D

#### Dagens retningslinjer for anbefalt nivå av vitamin D

Anbefalt dose vitamin D er ifølge FNB (Food and Nutrition Board) 5 – 15 µg/dag eller 200 - 600IU/dag for voksne over 19 år (8). Eksperter innen forskning på vitamin D mener dette er en for lav dagsdose til å oppnå eventuelle helseeffekter som redusert risiko for diabetes, hypertensjon og cancer. SCF (European Commission Scientific Committee on Food), sammen med FNB er institusjonene som har satt dagens anbefalte dosering av vitamin D. Deres bekymring er toksisitet relatert til overdreven bruk av vitaminet.

SCF har satt tolerabelt øvre nivå av vitamin D, til 50µg eller 2000 IU. Mange mener dette er et for restriktivt øvre nivå, når det blant annet i en studie ikke ble rapportert toksisitet

hos friske voksne som fikk en vitamin D dose på 250µg pr dag, tilsvarende 10 000 IU (8). Det ser ut til at et tilstrekkelig inntak av vitamin D kan gi større helseeffekter enn det man tidligere har antatt, ikke bare for bedring av bein-helsen, men at økte serumnivå av 25-hydroxyvitamin D kan beskytte mot cancer, redusere risikoen for metabolsk syndrom etc. For å oppnå disse helseeffektene må man ha et inntak på over 20µg pr dag, dette er en større dagsdose enn 5 – 15 µg/dag som til nå har vært antatt tilstrekkelig nivå (8). Det er en rekke indikasjoner for positive effekter av vitamin D, men det er få intervensjonsstudier der en har testet om det virkelig er slike gode effekter.

FNB har i likhet med SCF gjort en risikovurdering av vitamin D-inntaket basert på ulike tilgjengelige studier. I sin vurdering av vitamin D opererer de med ulike faktorer. UL = øvre tolerable nivå, NOAEL = ikke-observert-uheldig-effekt-nivå, UF = usikkerhetsfaktor, og LOAEL = laveste-observerte-uheldig-effekt-nivå.

- UL (upper level) for vitamin D er satt til 50µg eller 2000IU. (8).
- NOAEL (ikke-observert-uheldig-effekt-nivå) er satt til 60µg, eller 2400IU.
- UF (usikkerhetsfaktor) er satt til 1,2 for kalkulering av 50µg som UL.

Både FNB og SCF har gjort risikovurderingen av vitamin D ved å bruke trygge-øvre-tolerable-inntaksnivå-metode. Denne metoden involverer 3 standardiserte trinn:

- Fare identifisering (dvs. en evaluering av all pasientinformasjon relatert til substansens potensial til å gjøre skade hos menneske).
- Dose – respons evaluering (en kvantitativ evaluering av relasjonen mellom oralt inntak av stoffet og uheldige effekter).
- Derivasjon av UL (NOAEL / UF).

Ut fra denne risikovurderingen for vitamin D ved bruk av trygge-øvre-tolerable-inntaksnivå-metode har FNB og SCF kommet frem til dagens anbefalinger for dosering av vitamin D (8,9).

## Eventuell oppjustering av anbefalt nivå av vitamin D for ønsket helseeffekt

Ekspertene mener at for å komme fram til et adekvat nivå av vitamin D i serum, må man se på randomiserte studier som viser forhindring i frakturforekomst og bevaring av tettheten og bein-mineraliseringen (9). Denne typen studier er nærmere omtalt i kapittelet som omhandler osteoporose. Basert på slike studier har man kommet fram til at konsentrasjonen av 25-hydroxyvitamin D i serum ideelt bør ligge over 75nmol/l. Mange eksperter ønsker å øke inntaket av vitamin D i befolkningen for å oppnå større helseeffekter. Dette mener mange kun kan oppnås ved mer tilsetning av vitamin D i matvarer. Man mener at voksne kan spise 50µg vitamin D pr dag, dette tilsvarer 2000 IU. Den foreløpige bremsen for dette er dagens anbefalinger fra FNB og SCF, som har satt 2000 IU som øvre tolerable nivå (UL) (10).

Mange laboratorier definerer vitamin D-mangel som serumnivå av 25-hydroxyvitamin D under 25-50 nmol/L. Ekspertene på sin side mener vitamin D-mangel er serumnivå av 25-hydroxyvitamin D under 75nmol/L. De sier også at multivitamintilskudd med 400 IU er inadekvat dose vitamin D pr. dag, og at man må opp i minst 1000 IU pr dag for å oppnå ønskede helseeffekter (1).

## Vitamin D-mangel

Vitamin D-mangel defineres av de fleste eksperter som et nivå av 25-hydroxyvitamin D i serum under 50nmol/L (11). Ved ekstrem mangel på vitamin D sees rakitt, men utilstrekkelige nivå av vitamin D kan også gi veksthemming in utero og i barndommen, samt skjelettdeformasjoner og økt risiko for hoftebrudd senere i livet. Hos voksne sees mangel på vitamin D først og fremst som osteopeni og osteoporose. Ved mer uttalt mangel ser man osteomalaci og muskelsvakhet. Hvis man antar at 75 nmol/L er et tilstrekkelig nivå av 25-hydroxyvitamin D i serum, vil hele 1 milliard av verdens befolkning ha for lavt serumnivå av vitamin D eller vitamin D-mangel. Man antar at 40-100 % av eldre i USA og Europa som ikke bor på institusjon har utilstrekkelig nivå av

vitamin D. Dette fører til økt forekomst av osteoporose og muskelsvakhet, og dermed økt falltendens og frakturrisiko (11).

Ved for lav serum-vitamin D og serum-kalsium in utero og i barndommen hindres maksimal kalsiumdeponering i skjelettet (11). Man får en stigning i parathyroideahormon (PTH), som igjen gir fosfaturi. Dette fører til en dårligere mineralisering av kollagenmatrix, som er årsaken til rakittutvikling hos barn med alvorlig vitamin D-mangel, og utvikling av osteomalaci hos voksne (11). Osteomalaci er assosiert med en isolateral eller generalisert beinsmerte (11). Mangel på vitamin D gir også muskelsvakhet (11). Skjelettmuskler uttrykker vitamin D-reseptor, og muligens trenge vitamin D for å oppnå maksimal funksjon av muskulatur (11). I en studie så man at både hurtighet og styrke ble betraktelig forbedret ved å øke nivået av 25-hydroxyvitamin D i serum fra 10 til 40nmol/L. Man så en fortsatt forbedring helt til serumnivået av 25-hydroxyvitamin D oversteg 100 nmol/L (11).

### Intoksikasjonsproblematikk

I 1920 – 1930 årene oppdaget man at UVB-stråling av matvarer kunne hindre utviklingen av rakitt hos barn (4). Etter andre verdenskrig så man derimot hyperkalsemi hos en rekke nyfødte i Storbritannia forårsaket av melk tilsatt vitamin D. Dette var en intoksikasjonsreaksjon på grunn av for høye serumnivå av vitamin D hos disse barna (4). Man oppdaget også at for høye nivå av vitamin D i serum kunne gi mental retardasjon og nyresvikt (4). Dette resulterte i et forbud mot tilsetning av vitamin D i matvarer og andre produkter.

Vitamin D intoksikasjon forekommer ved inntak av svært høye doser vitamin D over lang tid. Dette er assosiert med svært høye serumnivå av 25-hydroxyvitamin D, over 370 nmol/L hos voksne, sammen med hyperkalsemi, hyperfosfatemi og hyperkalsuri. Soleksponering gir ikke vitamin D-intoksikasjon fordi UV-stråler selv ødelegger overflødig vitamin D produsert i huden (4).

Foreløpig opererer man med en trygg øvre grense for vitamin D-inntak hos barn under 1 år på 1000 IU, og 2000 IU pr dag hos voksne (4).

## Områder hvor vitamin D er etablert behandling: Osteoporose og psoriasis

Det finnes noen sykdomsgrupper hvor oralt vitamin D tilskudd eller lokalbehandling med vitamin D er dokumentert og etablert behandling, dette gjelder for osteoporose og psoriasis.

Kalsium og fosfor er viktig for beinmetabolismen. Uten vitamin D vil bare 10-15 % av kalsium og omtrent 60 % av fosfor absorberes fra tarmen (11). Interaksjonen mellom 1,25 dihydroxyvitamin D og vitamin D reseptoren i tarmen øker effektiviteten av intestinal kalsium absorpsjon til 30-40 % og fosforabsorpsjonen til 80 % (11).

Paratyroideahormon (PTH) øker tubulær reabsorpsjon av kalsium og stimulerer også nyrene til å produsere 1,25 dihydroxyvitamin D (11). PTH aktiverer også osteoblaster, som stimulerer transformasjon av preosteoclaster til modne osteoclaster (11). Osteoclaster løser opp den mineraliserte collagenmatrix i bein, dette gir osteopeni, osteoporose og økt risiko for brudd (11).

Mangel på kalsium og vitamin D in utero og i barndommen kan hindre maks avleiring av kalsium i skjelettet (11). Ettersom vitamin D mangel progredierer blir paratyroideaglandlene maksimalt stimulert, det gir sekundær hyperparatyroidisme (11). PTH øker metabolismen av 25-hydroxyvitamin D til 1,25 dihydroxyvitamin D, dette gir enda større vitamin D mangel. PTH kan også gi fosfaturi. Uten et adekvat kalsium ganger fosfat produkt er mineralisering av collagenmatrix redusert, det gir klassiske tegn på rakitt hos barn (11) og osteomalaci hos voksne (11).

En studie viste at 93 % av pasienter mellom 10-65 år som ble innlagt med muskel og beinsmerte og som hadde flere diagnoser, som fibromyalgi, kronisk tretthetssyndrom og depresjon, hadde vitamin D mangel (11). Dette kan være viktig å tenke på i behandlingen av disse pasientgruppene.

Chapuy og medarbeidere (11) rapporterte at blant 3270 eldre franske kvinner som ble gitt 1200 mg kalsium og 800 IU vitamin D<sub>3</sub> daglig i 3 år, var risikoen for hoftefraktur redusert med 43 % og risikoen for nonvertebral fraktur var redusert med 32 %. En 58 % reduksjon i nonvertebral fraktur var observert hos 389 menn og kvinner over 65 år som fikk 700 IU vitamin D<sub>3</sub> og 500 mg kalsium pr dag (11).

I studier som brukte 700-800 IU av vitamin D<sub>3</sub> per dag var relativ risiko for hoftefraktur redusert med 26 % og relativ risiko for nonvertebral fraktur redusert med 23 % med vitamin D<sub>3</sub> tilskudd sammenlignet med kalsium eller placebo (11). Evaluering av eksklusiv bruk av kalsium eller vitamin D<sub>3</sub> (RECORD trial) viste ingen antifraktur effekt for pasienter som fikk 800 IU av vitamin D<sub>3</sub> per dag (11).

Vitamin D mangel gir også muskelsvakheter (11). Skjelettmuskel har vitamin D reseptor og kan trenge vitamin D for maksimal effekt (11). I en randomisert kontrollert studie over en 5 måneders periode fikk beboere på et sykehjem 800 IU vitamin D<sub>2</sub> per dag ,pluss kalsium. De hadde en 72 % reduksjon i risikoen for fall sammenlignet med en placebogruppe (11).

Vitamin D mangel gjennom de første to år i livet gir rakitt. Hos voksne kan vitamin D mangel gi eller videreutvikle osteoporose og indusere osteomalaci. Vitamin D mangel resulterer i en nedgang i effektiviteten av intestinal kalsium absorpsjon, som resulterer i nedgang i ionisert kalsium i blodet. Kalsiumsensor i paratyroideaglandlene responderer ved å øke produksjonen av PTH (1). PTH interagerer med sin reseptor på osteoblastene og øker da RANKL (reseptor aktivator og NF kappa β ligand). Dette signalet induserer preosteoclaster til å bli modne osteoclaster. Osteoclaster løser opp beinmatrix og slipper kalsium inn i ekstracellulærrommet, det øker porøsiteten i skjelettet. PTH stimulerer



tubulær reabsorpsjon av kalsium i nyre, men gir også tap av fosfor i urinen. Effekten på serum- fosfor nivå har alvorlige konsekvenser for skjelettet på grunn av inadekvat kalsium ganger fosfat produkt for å opprettholde normal beinmineralisering. Selv om osteoblaster fungerer normalt og legger ned kollagen matrix, så er kalsium ganger fosfat produktet inadekvat for å kunne mineralisere matrix ordentlig. Dette gir osteomalaci (1).

Osteoporose gir ikke beinsmerte. Dårlig mineraliserte bein, osteomalaci, kan gi isolert eller generalisert beinsmerte, muskelsmerte og muskelsvakhet (1). Vitamin D mangel gir også muskelsvakhet og øker risikoen for fall hos eldre, og dermed også fraktur (1).

Pasienter med non- spesifikke muskelsmerter og beinubehag gis diagnosen fibromyalgi, myositt eller kronisk tretthetssyndrom (1).

Kombinert kalsium og vitamin D supplement er en essensiell komponent i behandling av osteoporose. De individer som burde få kalsium og vitamin D supplement er pasienter med dokumentert osteoporose som får anti-resorptiv eller anabol behandling, pasienter som får glukokortikoider og individer med høy risiko for kalsium og/eller vitamin D insuffisiens, spesielt eldre. Fordelene er klare når 800 IU dag<sup>-1</sup> vitamin D er komplimentert med en dose på 1000-1200 mg<sup>-1</sup> dag kalsium (12).

Osteoporose er en systemisk sykdom forårsaket av ulike patologiske mekanismer som lager en situasjon hvor beinmasse er tapt og skjelettets mikroarkitektur er svakere. Det gir økt risiko for brudd. De ulike variantene av sykdommen er primær osteoporose som inkluderer postmenopausal, aldersrelatert og idiopatisk, eller sekundær osteoporose som kommer på grunn av den underliggende sykdom eller medisinsk behandling (12).

Effektiv farmakologisk terapi for å forhindre og for å behandle osteoporose har blitt utviklet, det inkluderer bisfosfonat, raloxifen, teriparatide, PTH, kalsium og vitamin D. Av disse er kalsium og vitamin D ofte sett på som førstelinjebehandling, enten alene eller i kombinasjon med andre medikamenter (12).

## Vitamin D – overvekt og diabetes type 2

Man har lenge vært klar over at overvekt er en disponerende faktor for diabetes type 2 (13). De siste årene har også vitamin D og kalsium fått større oppmerksomhet, og man antar at høyere serumnivå av 25-hydroxyvitamin D og kalsium kan redusere risikoen for diabetes. Enkelte studier har vist at overvektige personer har et lavere nivå av 25-hydroxyvitamin D i kroppen. Dette kan skyldes økt distribusjonsvolum eller at overvektige personer er mindre ute i solen, samt spiser mindre matvarer som inneholder vitamin D. Mange hypoteser går ut på at det er en sammenheng mellom serumnivå av 25-hydroxyvitamin D og overvekt. Man kan tenke seg en link her hvor serum 25-hydroxyvitamin D spiller en rolle både for reduksjon av overvekt og for redusert risiko for utvikling av diabetes type 2 hos allerede overvektige personer med begynnende insulinresistens og høy HbA1c (14).

Flere publikasjoner har linket vitamin D-mangel sammen med en økt risiko for utvikling av diabetes, både type 1 og 2. I en studie hvor deltakerne fikk 800 IU vitamin D og 1200 mg kalsium pr dag så man en reduksjon i utvikling av diabetes type 2 med 33 % sammenliknet med kontrollgruppen (15). Nyere publikasjoner viser dessuten at diabeteskomplikasjoner forverres ved lav serum 25-hydroxyvitamin D. I en studie av Cigolini så man at pasienter med vitamin D-nivå under 50 nmol/L hadde signifikant høyere HbA1c, triglycerider, CRP, økt insulinbehov, samt økt prevals av kardiovaskulær sykdom på tross av justering for alder, BMI og varighet av deltakernes diabetes (15). Det har lenge vært kjent at normal sekresjon av insulin fra  $\beta$ -celler i pancreas er avhengig av vitamin D. Eksperimentelle studier har vist at en reduksjon i serumnivå av 25-hydroxyvitamin D kan gi både insulinresistens og redusert insulinsekresjon (14). Mye tyder på at hemostasen for vitamin D og kalsium kan spille en rolle i utviklingen av diabetes type 2. Det kan se ut til at vitamin D virker inn på insulinresponsen ved glukosestimulering (13). Dette kan være mediert ved at 1,25-hydroxyvitamin D binder til vitamin D-reseptor på  $\beta$ -celle.

Insulinsekresjon er en kalsiumavhengig prosess (13). Man ser for seg at inadekvat inntak av kalsium eller mangel på vitamin D kan påvirke balansen mellom ekstracellulær og intracellulær kalsium i  $\beta$ -celle. Dette kan påvirke den normale insulinfrigjøringen. Det ser ut til at vitamin D har en nødvendig effekt på insulinsekresjonen enten direkte ved å stimulere ekspresjon av insulinreseptor (13), eller indirekte via sin rolle i regulering av ekstracellulær kalsium (13).

I flere studier er det vist en link mellom lavt vitamin D-nivå i serum og en redusert insulinsensitivitet (13). Noen av disse studiene har vist en invers relasjon mellom vitamin D og kalsiumstatus på den ene siden og insulinresistens på den andre siden. Randomiserte studier har kommet med ulike konklusjoner med tanke på effekten av vitamin D og kalsium på insulinresistens. Noen av studiene har vist ingen effekt (13), mens andre studier har vist en bedring i insulinsensitivitet (13).

Diabetes type 2 er assosiert med systemisk inflammasjon (13). Dette er primært linket til insulinresistens, men forhøyet cytokin-aktivitet kan også tenkes å spille en rolle i ved å gi redusert funksjon hos  $\beta$ -cellene ved å trigge apoptose av disse cellene. Noen forskere mener at vitamin D muligens kan øke insulinsensitiviteten og gi bedre overlevelse av  $\beta$ -cellene direkte ved modulering av cytokinenes effekt (13).

Man har sett en sesongvariasjon i glykemisk kontroll ved diabetes type 2, med en høyere HbA1c i vinterhalvåret. Noen mener at dette kan skyldes at det i denne årstiden er et lavere nivå av vitamin D (13). Det er godt mulig at den høye HbA1c skyldes lavere nivå av vitamin D, men det er kanskje mer nærliggende å tenke at den reduserte glykemiske kontrollen i hovedsak skyldes redusert aktivitet spesielt hos eldre i vinterhalvåret. Noen studier har vist en invers assosiasjon mellom serumnivå av 25-hydroxyvitamin D og målinger av glykemi eller tilstedeværelse av diabetes type 2, men disse studiene er ikke entydige (13).

Det er også gjort studier hvor inntaket av vitamin D og serumnivået av 25-hydroxyvitamin D har blitt inverst knyttet opp til prevalensen av metabolsk syndrom

(13). De komponentene av metabolsk syndrom som alene har blitt assosiert med lavt serumnivå av 25-hydroxyvitamin D var abdominal fedme og hyperglykemi (13). Analyser av postmenopausale kvinner har vist at glukosenivået var svært signifikant relatert til BMI og serumnivå av 25-hydroxyvitamin D, men mindre signifikant relatert til alder. Man så et høyere fastende glukosenivå hos de kvinnene med serumnivå av 25-hydroxyvitamin D opp til 40nmol/l enn hos dem med serumnivå av 25-hydroxyvitamin D over 40 nmol/l (14).

I de fleste case-kontroll-studier har man sett at pasienter med diabetes type 2 eller glukoseintoleranse har lavere nivå av 25-hydroxyvitamin D i serum sammenliknet med kontroller uten diabetes. I en studie med 221 voksne over 65 år med normal glukosetoleranse så man ingen effekt på glykemi eller insulinresistens ved å gi 700 IU vitamin D og 500 mg kalsium pr dag. Derimot så man hos pasienter med økt fastende glukose ga kombinasjonsbehandling med vitamin D og kalsium en signifikant reduksjon i fastende glukose og insulinresistens sammenliknet med de som fikk placebo (13). Man har sett at kombinasjonen av vitamin D og kalsiumtilskudd hos høyrisikogrupper gav lik progresjon med hensyn på fastende glukose i Diabetes Prevention Program, som intensiv endring av livsstil eller behandling med Metformin, 0,2 mg/dl (13).

Det ser ut til at vitamin D alene ikke har noen effekt på diabetesutvikling og risiko for metabolsk syndrom hos friske individer, men at kombinasjonsbehandling med vitamin D og kalsium kan spille en rolle i å forhindre utvikling av diabetes type 2, særlig hos risikogrupper (13).

## Hypertensjon/ hjerte- kar

Flere studier har vist at blodtrykket synker ved å øke nivået av vitamin D i blodet. Lavt vitamin D nivå er assosiert med økt nivå at PTH. Mye PTH fører til kardiovaskulær sykdom. I en studie av pasienter med hypertensjon som ble eksponert for UVB stråler tre ganger i uka i 3 måneder, økte 25 hydroxyvitamin D med 180 %, og blodtrykket ble normalt (både systolisk og diastolisk blodtrykk redusert med 6 mmhg) (11).

Vitamin D mangel er assosiert med kongestiv hjertesvikt (11) og spesifikke nivå av inflammatoriske faktorer, inklusiv C- reaktivt protein og interleukin-10 i blodet. (11).

Man finner sterke bevis på rollen til vitamin D i forhold til kardiovaskulær sykdom hvis man ser på patogenesen for dette hos pasienter med end- stage renal disease (ESRD) (14). Alvorlig sekundær hyperparatyroidisme kommer i tidlig stadium av ESRD, på grunn av redusert renal syntese av calcitriol (14). Hos ESRD-pasienter er alvorlig sekundær hyperparatyroidisme regnet som en viktig risikofaktor i patogenesen av kardiovaskulær sykdom (14). Hos pasienter som gjennomgår hemodialyse er 1  $\alpha$  vitamin D og vitamin D analogen paricalcitol effektive medikamenter for å redusere risikoen for død av kardiovaskulær sykdom (14).

I to populasjoner med høy og moderat risiko for iskemisk hjertesykdom, var serumnivåer av calcitriol inverst korrelert med utbredelsen av vaskulær kalsifisering (14). Det er også velkjent at for mye PTH øker blodtrykket og kardial kontraktilitet og fører til hypertrofi av kardiomyocytten og intestinal fibrose av hjertet (14). Altså, for mye PTH fører til kardiovaskulær sykdom (14). Hvis hypotesen om at vitamin D insuffisiens bidrar til kardiovaskulær sykdom stemmer, så burde kardiovaskulær mortalitet være høyere i land på høye breddegrader. En slik sammenheng ser man i Europa (14).

Essensiell hypertensjon er assosiert med lave nivåer av ionisert og ultrafiltrabel kalsium i blod (14) og elevert PTH nivå (14). En plausibel mekanisme for assosiasjonen mellom vitamin D mangel og hypertensjon er en aktivering av RAS. Clacitriol er kjent for å være

en negativ endokrin regulator av RAS. (14). Upassende stimulering av RAS har vært assosiert med hypertensjon. I flere tilfeller har calcitriolbehandling vist å kunne redusere plasma renin aktiviteten, angiotensin II nivå, blodtrykk og myokardial hypertrofi (14).

I en annen studie (14), var eldre kvinner gitt kalsium og 20µg vitamin D daglig eller kalsium alene. Sammenlignet med kalsiumtilskudd alene, ga tilskudd med vitamin D og kalsium en økning i serum 25-hydroxyvitamin D på 20 nmol/l, nedgang i serum PTH på 17 %, nedgang i systolisk blodtrykk og 9,3 % og nedgang i puls på 5,4 % (14).

## Diabetes type 1, Crohn's sykdom, reumatoid artritt, multippel sklerose og systemisk lupus erythematosus

Oppdagelsen av at de fleste vev og celler i kroppen har en vitamin D reseptor, og at flere av disse har det enzymatiske maskineriet som skal til for å gjøre om den primære sirkulerende formen av vitamin D; 25-hydroxyvitamin D, til den aktive formen; 1,25-dihydroxyvitamin D, har gitt ny innsikt i funksjonen til dette vitaminet (11). Hjerne, prostata, bryst, kolon og immunceller er blant de vev som har vitamin D-reseptor og som responderer på 1,25-dihydroxyvitamin D (11). Direkte eller indirekte kontrollerer 1,25-dihydroxyvitamin D over 200 gener, inkludert gener som er ansvarlig for regulering av cellulær proliferasjon, differensiering, apoptose og angiogenese (11). 1,25-dihydroxyvitamin D er også en potent immunomodulator (11). 1,25- dihydroxyvitamin D hemmer reninsyntesen,(11) øker insulinproduksjonen,(11) og øker myokardial kontraktilitet (11).

Å bo på høye breddegrader øker risikoen for type 1 diabetes, MS og Chrons sykdom (11). Studier viser at blant hvite menn og kvinner gikk risikoen for MS ned med 41 % for hver økning av 50 nmol/L av 25- hydroxyvitamin D over 60 nmol/L (11). Kvinner som inntok mer enn 400 IU av vitamin D pr dag hadde 42 % redusert risiko for å utvikle MS (11), slike observasjoner har også blitt gjort for reumatoid artritt (11) og osteoartritt (11).

Flere studier antyder at vitamin D supplement til barn reduserer risikoen for utvikling av type 1 diabetes. Det er også foreslått at vitamin D inntak under graviditet reduserer utvikling av autoantistoff mot pankreasøyer hos barnet (11). Dermed gir det redusert risiko for utvikling av type 1 diabetes etter fødsel.

Vitamin D mangel har blitt assosiert med økt risiko for dødelig cancer, kardiovaskulær sykdom, multippel sklerose, reumatoid artritt og type 1 diabetes mellitus (3). Mangel på vitamin D forårsaker altså ikke bare metabolsk beinsykdom blant barn og voksne, men det kan også øke risikoen for mange vanlige kroniske sykdommer (3).

Vitamin D reseptor fins blant annet i tynntarm, colon, osteoblaster, aktiverte T- og B-lymfocytter, beta celler i pankreas og i de fleste organer i kroppen, inkludert hjernen, hjerte, hud, gonader, prostata, bryst og mononukleære celler (3). 1,25 dihydroxyvitamin D har mange fysiologiske funksjoner (3), inkludert stimulering av insulinproduksjon (3), modulering av aktiverte T og B-celle lymfocytt funksjon (3), effekt på myokardial kontraktilitet (3), forebygging av inflammatorisk tarmsykdom (3) og promotering av tyroid- stimulerende hormon sekresjon (3). Det er for eksempel vist at behandling av barn med 200 IU/d vitamin D fra 1 års alder reduserte deres risiko for å utvikle diabetes type 1 med 80 % gjennom de neste 20 år (3).

En økning i vitamin D inntak har vært assosiert med redusert risiko for å utvikle reumatoid artritt (3). En annen observasjon som er gjort er at eksponering i solseng med UVB stråling, som resulterte i over 100 % økning i blodkonsentrasjon av 25-hydroxyvitamin D, var effektivt i behandling av hypertensjon hos voksne (3).

Svaret på hvorfor vitamin D kan ha så vidt terapeutisk og helsebringende spekter ligger i det faktum at vitamin D reseptor fins i de fleste celler og vev i kroppen. 1,25 dihydroxyvitamin D er en av de mest potente regulatorer av cellulær vekst i både normale celler og cancerceller (3).

Aktiverte T - og B-lymfocytter har vitamin D reseptor. 1,25 dihydroxyvitamin D er en meget effektiv modulator av immunsystemet. I flere dyremodeller er det vist at forbehandling med 1,25 dihydroxyvitamin D er effektiv i forebygging av diabetes type 1, multippel sklerose, reumatoid artritt og Crohn's sykdom (3). Flere observasjoner har vist at vitamin D hemmer proinflammatoriske prosesser ved å supprimere den forsterkede aktiviteten til immunceller som tar del i den autoimmune reaksjonen. Nye bevis antyder at vitamin D supplement kan være terapeutisk viktig, særlig for Th1 medierte autoimmune sykdommer. Noen rapporter antyder at vitamin D kan være preventiv ved sykdommer som MS og diabetes type 1 (16).

Vitamin D har multiple immunsupprimerende egenskaper. Supplement med vitamin D var vist å være terapeutisk effektiv i ulike dyremodeller som autoimmun encefalomyelitt, (16) kollagen- induisert artritt, (16) type 1 diabetes mellitus, (16) inflammatorisk tarmsykdom, (16) autoimmun tyreoiditt (16) og SLE, (16). En ny studie viste at høye sirkulerende nivå av vitamin D var assosiert med lavere risiko for MS (16).

Vitamin D har direkte effekt på T - og B -celler og former deres respons på aktivering. Hvilede CD4 T- celler uttrykker vitamin D reseptor, men kun i lave konsentrasjoner, den konsentrasjonen øker fem ganger etter aktivering (16). Effekten av 1,25 dihydroxyvitamin D på den adapterte antigen-spesifikke immunresponsen er hemming av CD 4 T- lymfocytt proliferasjon, (16) spesielt på Th1 armen (16). Cytokinproduksjon hemmes også (16).

Tilsetter man 1,25 dihydroxyvitamin D til CD4 T-celler hemmes Th1-celle proliferasjon og cytokin produksjon (16). Tilsettelse av 1,25 dihydroxyvitamin D fører til nedsatt sekresjon av interleukin 2 og IFN gamma fra CD4 T- celler og promoterer IL-5 og IL-10 produksjon, som fører T-celle responsen til Th 2 dominans (16). I B-celler har vitamin D vist å hemme antistoff sekresjon og autoantistoff produksjon (16).

I kontrast til de antiproliferative effekter av 1,25 dihydroxyvitamin D på noen celletyper, (16) så er ikke generering av dendritiske celler fra beinmargen hemmet av 1,25



dihydroxyvitamin D men det er en svekket progresjon av modningen (16). In vitro, hemmer 1,25 dihydroxyvitamin differensieringen av monocytter til dendrittiske celler og hemmer den stimulerende aktiviteten som T-celler utøver på dem (16). Det er også vist at 1,25 dihydroxyvitamin D er en av de mest kraftige hemmere av dendrittisk celledifferensiering og av IL-12 sekresjon. In vitro, stimulerer 1,25 dihydroxyvitamin D fagocytose og drap av bakterier ved hjelp av makrofager, men supprimerer den antigen-presenterende kapasiteten til disse cellene og til dendrittiske celler (16).

Vitamin D fremmer induksjon av monocytters differensiering til makrofager og modulerer makrofagresponser. Vitamin D forhindrer dem i å slippe ut inflammatoriske cytokiner og chemokiner (16). Vitamin D mangel hemmer makrofagers mulighet til å modne, til å produsere makrofag spesifikk overflate antigener, til å produsere det lysosomale enzymet acid phosphatase og til å sekretere hydrogenperoxid som er essensiell for deres antimikrobielle funksjon (16).

Serumnivå av 25 (OH) D har vært målt lave i pasienter med IBD (16). Det er uklart hvorfor vitamin D mangel er hyppigere forekommende hos personer med IBD. Nylig diagnostiserte pasienter har lavere 25-hydroxyvitamin D nivåer enn kontroller (16). Eksperimentell IBD har vist seg å akselerere ved vitamin D mangel og supprimeres ved 1,25 dihydroxyvitamin D behandling (16).

Prevalensen av multippel sklerose viser stor geografisk varians. Prevalensen stiger ved stigende breddegrader i begge hemisfærene (16). Flere nye studier har understreket den viktige rollen til vitamin D, både med tanke på mindre forekomst av tilbakefall hos pasienter med multippel sklerose og for å forebygge nye tilfeller av sykdommen (16).

Flere epidemiologiske studier har rapportert at vitamin D supplement via maten gjennom spedbarns- og barneårene kan redusere risikoen for å utvikle type 1 diabetes. En artikkel om dette ser på risikoen for å utvikle type 1 diabetes mellitus med tanke på vitamin D supplement hos spedbarn i Finland. De ble fulgt de 30 første leveår og det ble funnet en markert reduksjon i prevalensen av type 1 diabetes hos spedbarn som daglig fikk 50 mg

vitamin D supplement (16). Fronczak og medarbeidere (16) rapporterte at tilstedeværelse av øy - autoantistoff i avkom var inverst korrelert til maternalt vitamin D inntak via kosten under svangerskapet.

Lave 1,25 dihydroxyvitamin D nivå har vist seg å være assosiert med høyere reumatoid artritt sykdomsaktivitet i tverrsnittstudier (16). Siden det fins en positiv korrelasjon mellom 1,25 dihydroxyvitamin D og alkalisk fosfatase reflekterer dette det faktum at folk med høy sykdomsaktivitet har økt beinresorpsjon (16).

## Vitamin D og cancer

Som nevnt tidligere dannes vitamin D i huden ved eksponering for UVB-stråler. Det transporteres til lever hvor det omdannes til previtamin D, 25-hydroxyvitamin D, og videre til nyre, hvor den aktive metabolitten 1,25-hydroxyvitamin D dannes. 1,25-hydroxyvitamin D er kjent for å øke opptaket av kalsium fra tarm, redusere utskillelsen av kalsium fra nyre, samt økt reabsorpsjon av kalsium fra bein (2,7). Forskere har funnet beviser for at den aktive metabolitten av vitamin D også har andre cellulære effekter, blant annet en antiproliferativ effekt. Studier indikerer at høye nivå av vitamin D beskytter mot en rekke cancerformer som for eksempel koloncancer, brystkreft og prostatacancer (4). Forskere mener dessuten å se en sammenheng mellom breddegrad og risiko for kreft. Det vil si at mennesker som bor på høyere breddegrader, og dermed får en lavere soleksponeering og da ofte lavere serum-nivå av vitamin D, har en økt risiko for utvikling av en rekke cancertyper (5).

Aktivt vitamin D binder til en intracellulær reseptor i cellen, vitamin D-reseptor (VDR). Denne reseptoren finnes i de fleste celler, og ved å binde til VDR i kompleks med retinoidsyre x reseptor, dannes et heterodimerisk kompleks som gjør at man får en translokasjon av spesifikke DNA sekvenser, kalt vitamin D responsive elementer. Deretter vil man få en gentranskripsjon (3). Slik kan man indusere ønskede effekter på cellen som stopp i cellevekst eller indusering av apoptose. Den konsentrasjonen av 1, 25-hydroxyvitamin D som er nødvendig for en 50 % inhibisjon av celleveksten er større enn

det som er normal plasmakonsentrasjon av 1,25-hydroxyvitamin D (17). Vitamin 1,25-hydroxyvitamin D er bundet til vitamin-D-bindene protein, og kun en liten del finnes som fri fraksjon. Det ser imidlertid ut til at enkelte vev, blant annet mammae, har tilgang på den totale mengden 1,25-dihydroxyvitamin D. Det vil si at cellen kan binde både fritt og bundet vitamin 1,25-dihydroxyvitamin D. I tillegg har mange celler mulighet til selv å danne den aktive metabolitten, 1,25-hydroxyvitamin D, fra 25-hydroxyvitamin D, ved hjelp av enzymet  $1\alpha$ -hydroxylase, slik at man får en høyere intracellulær konsentrasjon av aktivt vitamin D i enkelte celler enn man finner ekstracellulært. Det er tenkt at lokal produksjon av vitamin 1,25-hydroxyvitamin D dermed må være viktig for å holde celleveksten i sjakk, og muligens også for å forhindre at cellen utvikler et malignt potensial (4).

### Studier som indikerer en sammenheng mellom Vitamin D og cancer

Flere studier indikerer at det er en sammenheng mellom vitamin D og antiproliferative effekter. De fleste av studiene er gjort på isolerte cellekulturer, men også epidemiologiske studier indikerer at det er en sammenheng mellom nivået av vitamin D i serum og risiko for utvikling av en rekke cancere. På begynnelsen av 1980-tallet så forskere at M1 leukemiceller som uttrykte vitamin D reseptor tydelig ble inhibert av 1,25-dihydroxyvitamin D. I tillegg oppdaget de at 1,25-hydroxyvitamin D induserte differensiering av leukemicellen (4). Det ble også gjort en tilsvarende studie av humane HL-60 leukemiceller som også uttrykte vitamin D reseptor, og man så en liknende respons med celleinhibisjon og differensiering (4). Tilsvarende studier ble også gjort med cellekulturer fra bryst, colon, prostata, hud og lunge. Ved å utsette cellekulturene for aktivt vitamin 1,25-hydroxyvitamin D registrerte man en merkbar hemming av celleveksten, samt indusering av celledifferensiering (4).

Forskningsresultatene nevnt ovenfor var utgangspunkt for en stor entusiasme i bruken av vitamin 1,25-hydroxyvitamin D og dets analoger til cancerbehandling. I 1985 ble det gjort en studie på pasienter med preleukemi behandlet med 1,25-dihydroxyvitamin D.

Man så initialt en signifikant remisjon, men i løpet av kort tid utviklet alle pasientene hyperkalsemi, og mistet den antiproliferative effekten av vitamin 1,25-hydroxyvitamin D, slik at de fikk recidiv av sin sykdom (4).

Som nevnt tidligere har en rekke epidemiologiske studier vist en invers sammenheng mellom eksponering for sollys og risiko for utvikling av cancer. Man er usikker på om dette skyldes økte nivå av vitamin D eller andre årsaker. Det vil derfor være mer presist å ta utgangspunkt i pasientens nivå av vitamin 25-hydroxyvitamin D i serum for å undersøke cancerrisiko (5).

Det er gjort en rekke studier hvor man har målt nivået av 25-hydroxyvitamin D opp mot tilfeller av cancer. Enkelte av disse studiene har vist et inverst forhold mellom 25-hydroxyvitamin D og distal colon- og rectumcancer (17). En meta-analyse der man tok for seg 24 case-control- og kohortstudier viste at kalsiumbehandling ved koloncancer ikke ga noen reduksjon av tumorvekst (17). En annen studie indikerte derimot at inntak av kalsium og vitamin D i kombinasjonstilskudd reduserte utviklingen av koloncancer (3). Ut fra dette kan man tenke seg at vitamin D er det aktive substratet for reduksjon i utvikling av koloncancer.

Kombinasjonsterapi ved koloncancer med vitamin D analog sammen med andre klassiske cytostatika har vist en positiv effekt på reduksjon av tumorstørrelse (17). Det er også gjort studier av pasienter med langtkommen androgenuavhengig prostatacancer, hvor man har gitt store pulsdoser av vitamin 1,25-hydroxyvitamin D i kombinasjonsterapi med cytostatikaet Docetaxel. Disse studiene har vist en bedret overlevelse, men ingen reduksjon i tumorstørrelse eller PSA(prostata spesifikt antigen)-verdier (17).

I studier har man sett at risikoen for utvikling av prostatacancer reduseres med 50 % hvis pasienten har serumnivåer av 25-hydroxyvitamin D over 50nmol/l (3). En prospektiv studie har vist det samme for koloncancer, hvor nivåer av 25-hydroxyvitamin D under 50nmol/l gir en fordoblet risikoen for utvikling av cancer (3). Det samme indikerer en

tredje studie, hvor det indikeres at 25 % av brystkreftmortaliteten i Nord-Europa skyldes manglende soleksponering (3).

Studier viser av forbedring av kalsium og vitamin D inntak reduserer risikoen for alle typer cancer hos postmenopausale kvinner (18).

I Norge ble det i 2004 gjort en studie hvor man tok utgangspunkt i kreftregisterets tall for insidens og mortalitet av koloncancer i perioden 1900 til 1966. I studien var 12 823 menn og 14 922 kvinner, alle med koloncancer. Det man ønsket å finne ut, var om det var en nord-sør gradient, og om insidens og mortalitet varierte med årstid. I Norge er soleksponeringen 50 % høyere i sør enn i nord, til gjengjeld er vitamin D inntaket gjennom kosten 13 % høyere i Nord-Norge sammenliknet med Midt- og Sør-Norge. Studien viste ingen nord-sør gradient, heller ingen sesongvariasjon i insidens. Imidlertid viste den en klar sesongvariasjon i mortalitet, hvor dødstallene var 50 % lavere fra juli til september, sammenliknet med desember til februar. Dette korresponderer bra med årstiden man forventer høyeste nivåer av vitamin 25-hydroxyvitamin D i serum. Ut fra dette kan man tenke at høye nivå av vitamin D beskytter mot videre cancerutvikling, og at dette er årsaken til en lavere mortalitet i perioden med høyest serumnivå av 25-hydroxyvitamin D (5).

### Antiproliferative effekter ved vitamin D

Cellesyklus inndeles i G<sub>0</sub> (hvilefase), G<sub>1</sub>, S-fase (duplikering av DNA), G<sub>2</sub>-fase og M (delingsfasen). Når en celle går over i de ulike stadiene av cellyklus skjer dette ved påvirkning av cykliner og cyklin-avhengige kinaser (CdK). Disse er igjen regulert av tumor supressor gener, som for eksempel pRb (retinoblastom). pRb er viktig i kontrollen av cellyklus i slutten av G<sub>1</sub>-fase, før cellen eventuelt går over i S-fase. I G<sub>1</sub>-fase er pRb bundet til E2F, en gruppe gener som koder for transkripsjonsfaktorer. Dette hindrer aktivering av en rekke gener som er nødvendig for at cellen skal kunne gå inn i S-fase. pRb-E2F blir dermed som en brems i cellyklus. I en frisk celle vil pRb fosforyleres av

CdK, slik at E2F ikke leger er bundet til pRb, og dermed kan gener for start av S-fase aktiveres, og cellens DNA duplikeres (17).

Ved en rekke typer cancer er pRb mutert, slik at den ikke danner kompleks med E2F. Studier har vist at nivået av 1,25-hydroxyvitamin D direkte eller indirekte kan påvirke uttrykket av cykliner, slik at pRb defosforyleres (17). Slik hindrer man at en mutert celle går over i S-fase. Dette er en mulig anticarsinogen effekt, hvor 1,25-hydroxyvitamin D inhiberer celleproliferasjonen ved å stoppe cellesyklus i G0/G1 fase. Andre effekter av 1,25-hydroxyvitamin D på cellesyklus er oppregulering av TGF $\beta$  og IGF-BP3, samt nedregulering av EGF-R reaksjonsvei (17).

Prostaglandiner er kjent som stimuli til økt cellevekst i en del vev, blant annet i prostata. 1,25-hydroxyvitamin D reduserer aktiviteten av prostaglandiner ved å hemme syntesen. Dette skjer ved nedregulering av COX-2 (17). Man kan her se for seg en hypotese hvor 1,25-hydroxyvitamin D også kan tenkes å ha en anticarsinogen effekt ved kolorectalcancer, med samme mekanisme som vist for NSAIDs (19). Forskning har vist at NSAIDs fungerer profylaktisk ved kolorectalcancer. Bakgrunnen for dette er at APC-genet ofte mutert ved denne typen cancer. APC styrer normalt uttrykket av WNP via Hedgehog pathway. Ved mutasjon av APC skjer en økt aktivitet av  $\beta$ -katenin, som igjen stimulerer WNP til økt celleproliferasjon. NSAIDs har vist å nedregulere nivået av WNP, og dermed blokkere for denne økningen i proliferasjon av cancercellen. NSAIDs kompenserer dermed for mutasjonen av APC. Det er mulig å tenke seg at 1,25-hydroxyvitamin D og NSAIDs kan ha samme effekt på nedregulering av WNP, siden begge hemmer COX-2 og reduserer syntesen av prostaglandiner. Hvis dette er tilfelle, vil det kunne vise en anticarsinogen effekt av 1,25-hydroxyvitamin D ved kolorectalcancer (19).

I tillegg til direkte og indirekte virkninger på cellesyklus, mener man at 1,25-hydroxyvitamin D kan undertrykke cancervekst ved å indusere apoptose av cancercellen, samt hemme angiogenesisen. Slik kan graden av invasiv vekst reduseres (17).

De fleste vev uttrykker, som tidligere nevnt, vitamin D reseptor (VDR). Graden av sensitivitet og veksthemming vil kunne være spesifikt for ulike typer celler (17). I tillegg vil enkelte maligne celler utvikle resistens mot 1,25-dihydroxyvitamin D, slik at den antiproliferative effekten på cellen unngås. Man tenker seg at den maligne cellen kan gjøre dette ved nedregulering av vitamin D reseptor eller ved nedregulering av intracellulært 1,25-dihydroxyvitamin D. Redusert intracellulært 1,25-hydroxyvitamin D kan skje ved nedregulering av enzymet  $1\alpha$ -hydroxylase som normalt omdanner 25-hydroxyvitamin D til den aktive 1,25-dihydroxyvitamin D, eller ved oppregulering av enzymet CYP24, som degenerer aktivt 1,25-dihydroxyvitamin D (17).

## Diskusjon

### Nivå av vitamin D

Anbefalt daglig inntak av vit D er 5-15 µg/dag, dvs. 200-600 IU/dag for voksne over 19 år. FNB (Food and Nutrition Board) og SCF (European Commission Scientific Committee on Food) har utarbeidet disse anbefalingene ut fra en risikovurdering av vitamin D-inntaket basert på ulike tilgjengelige studier. De har kommet fram til et øvre trygt tolerabelt inntaksnivå, som deretter har gitt utgangspunktet for de retningslinjene man har for inntak av vitamin D i dag (8).

Blant eksperter på vitamin D mener man at anbefalingene for inntak er satt for lavt. Man må se på randomiserte studier som viser forhindring i frakturforekomst og bevaring av tettheten i bein-mineraliseringen for å komme fram til adekvat nivå av vitamin D i serum. På denne måten har man kommet fram til at konsentrasjonen av 25-hydroxyvitamin D i serum bør ligge over 75 nmol/l, mot dagens anbefalinger på 25 nmol/l. Eksperter mener at inntaket av vitamin D må økes til minst 1000 IU per dag for å se større helseeffekter (1).

Ved ekstrem mangel på vitamin D sees rakitt hos barn og osteomalaci hos voksne. De fleste laboratorier definerer vitamin D mangel som nivå under 25-50 nmol/L, mens eksperter på vitamin D mener at nivåer av 25-hydroxyvitamin D under 75 nmol/L er vitamin D-mangel (1).

Intoksikasjon oppstår ved svært høye doser av vitamin D over lang tid. Da sees svært høye serumnivå av vitamin D, over 375 nmol/L hos voksne, samt hyperkalsemi, hyperfosfatemi og hyperkalsuri (4). Man kan stille spørsmål om dagens anbefalte doser for vitamin D er for restriktive, likevel er det viktig at man opererer med trygge dose-nivå for å unngå intoksikasjonsproblematikk. I dag har man satt øvre grense for inntak av vitamin D til 1000 IE pr dag for barn under 1 år, og 2000 IU pr dag for voksne (4).



## Vitamin D og cancer

Forskere mener at vitamin D har antiproliferative effekter blant annet ved å virke direkte inn på cellyklus. Leukemiceller som har uttrykt vitamin D-bindende reseptor (VDR) har blitt inhibert av 25-hydroxyvitamin D (4). Det samme har man også sett i cancervev fra mammae og prostata som har uttrykt VDR. I en periode var det stor entusiasme knyttet til disse observasjonene, men man har imidlertid sett at vitamin D en etter viss tid mistet sin antiproliferative effekt på cancercellen, sannsynligvis fordi cancercellen utviklet resistens (4).

Man har teorier om at høye nivå av vitamin D i serum beskytter mot ukontrollert cellevekst. Disse går ut på at det sees en nord- sør gradient der eksponering for sollys reduserer risiko for en rekke cancere. Man vet imidlertid ikke om dette skyldes økt produksjon av vitamin D eller andre faktorer (17). Det er lite materiale som tar utgangspunkt i pasientens nivå av vitamin D i serum for å undersøke risiko for cancer, noe som er en svakhet ved hypotesen om at vitamin D kan beskytte mot cancer.

Vitamin D hemmer syntesen av prostaglandiner ved nedregulering av COX-2. Prostaglandiner er kjent for å øke celleveksten i en rekke vev, eksempelvis prostata og colon (17). Ved coloncancer har man sett at APC-genet ofte er mutert. NSAIDs hemmer også COX-2, og forskning har vist at NSAIDs har en profylaktisk effekt på coloncancer (19). Dersom vitamin D fungerer på samme måte med nedregulering av prostaglandinsyntesen er det mulig å tenke seg at NSAIDs og vitamin D kan virke beskyttende for utvikling av coloncancer via de samme mekanismene.

Kombinasjonsterapi ved coloncancer der man har gitt en vitamin D analog sammen med cytostatika har vist en positiv effekt i reduksjon av tumorstørrelse (17).

Mye tyder på at vitamin D kan ha en antiproliferativ effekt, og at det kan ha en beskyttende effekt på utvikling av en rekke cancere, og til og med muligens redusere tumorvekst ved langtkommet cancer. Man må få klarhet i hvorvidt det er sollys eller

*5.- års oppgave for Sara Bentzen og Hanne Mørch*

andre faktorer som virker beskyttende i den nord-sør gradienten man ser for utvikling av en rekke cancere, samt øke forskningen på hvilke spesifikke aniproliferative effekter vitamin D kan tenkes å ha på cancercellen (3,4,5).

## **Konklusjon**

Ut fra litteraturodelen kan det se ut som om at høyere daglig inntak av vitamin D enn dagens anbefalinger kan ha helsefremmende effekter på en rekke tilstander. Enkelte av disse tilstandene har stadig økende prevalens. En rekke studier indikerer at vitamin D kan ha immunmodulerende effekter. Vårt forskningsarbeid viste imidlertid ikke dette, da med hensyn på anti – TPO. Vi har i denne første delen av vår artikkel sett på ulike tverrsnittstudier som omhandler vitamin D. I disse studiene er det ikke bevist noen årsakssammenhenger. Det er få funn som er gjort ved intervensjonsstudier. Vi ser det samme i vår intervensjonsstudie som omtales i del to.

## **Effekt av vitamin-D tilskudd på serum titer av anti- TPO hos overvektige pasienter**

### Introduksjon

Epidemiologiske studier indikerte at vitamin D kan ha en immunmodulerende effekt (11). Vi ønsket å se nærmere på dette gjennom analyse av anti- thyreoidea peroxidase i serum hos en gruppe personer som har deltatt i en intervensjonsstudie ved Universitetssykehuset Nord- Norge (6).

Anti-TPO er et antistoff mot thyreoperoxidase som finnes i follikkelcellene i thyreoidea (20). En måler forhøyede verdier av anti- TPO hos 90 % av pasienter med autoimmun thyreoideasykdom. Spesielt ved Hashimotos thyreoiditt, men også ved Graves sykdom sees ofte forhøyede verdier av anti-TPO i serum (21).

Thyreoperoxidase er et membranprotein på follikkelcellene i thyreoidea, som har enzymaktivitet. Det er viktig for dannelsen av T4 og T3 ved å feste jod til tyroksin i thyreoglobulinmolekylet, samt koplingen mellom joderte tyroksiner (20).

Den autoimmune responsen til thyreoperoxidase er assosiert til epitoper på molekylet, inkludert det enzymatiske setet (22). Anti-TPO har in vitro vist å ha cytotoxiske effekter, som aktivering av C3 kompliment og antigen-avhengig celle-cytotoxicitet. Dette fører til ødeleggelse av celler i thyreoidea. Det er antatt at membranbundet anti- TPO til antigenpresenterende celle, her infiltrerende B-lymfocytt, modulerer antigen prosesseringen (21). Det er i denne studien ikke sett på effekt av eventuelt vitamin D tilskudd på denne immunologiske responsen.

Anti-TPO benyttes for diagnostikk av autoimmun thyreoideasykdom. Særlig ved hypothyrose sees anti-TPO ofte forhøyet. Imidlertid vil man også se økte nivå av anti-TPO hos 5-15 % av befolkningen uten kjent sykdom i thyreoidea, særlig kvinner kan ha

en latent forhøyet anti-TPO. Dette gir en økt risiko for senere utvikling av autoimmun sykdom i thyreoidea (20).

Flere studier har sett på sammenhengen mellom vitamin D og autoimmun sykdom i thyreoidea. Blant annet har man i to separate studier induisert autoimmun thyreoiditt hos mus og behandlet med enten cyklosporin A alene, cyklosporin A i kombinasjon med vitamin D tilskudd, eller placebo. Begge studiene konkluderte med at vitamin D i kombinasjonsbehandling ga en signifikant reduksjon i utviklingen av thyreoiditt (23,24). En annen studie har sett på effekten av vitamin D tilskudd hos pasienten med Graves sykdom. Man så at pasienter som fikk kombinasjonsterapi med methimazol og vitamin D fikk en betydelig reduksjon av fritt T3 og fritt T4, samt reduksjon av total T3 og T4 i serum sammenliknet med gruppen som fikk behandling med methimazol alene (25). Disse tre studiene indikerer alle at vitamin D tilskudd kan redusere utviklingen av autoimmune thyreoiditter.

Det er også gjort studier som har sett på om polymorfisme i vitamin D bindende reseptor, VDR, og eventuell sammenheng med autoimmun thyreoideasykdom (26,27,28). Mer om VDR i litteraturdelen av vår oppgave. Studiene av VDR-polymorfisme er ikke like entydige i sine konklusjoner. I en studie der man undersøkte DNA hos 130 kvinnelige pasienter med Hashimotos thyreoiditt og 150 kvinnelige kontroller fant man ingen signifikant forskjell ved genotyping av VDR (26). En annen tilsvarende studie fant derimot at det var en signifikant ulikhet i VDR polymorfisme hos pasienter med Hashimotos thyreoiditt sammenliknet med kontrollgruppen (27).

En stor studie i Dehli i India viste at majoriteten av befolkningen hadde lave nivå av vitamin D i serum på tross av gode solforhold. Så mange som 21 % av den indiske befolkningen er anti-TPO positive, og opptil 15 % av disse har en dysfunksjonell thyreoidea. Med utgangspunkt i dette ble det gjort en studie der man ønsket å se om lave nivå av vitamin D i serum ga økt forekomst av autoimmun thyreoiditt. 244 menn og 398 kvinner deltok i studien. Den viste en signifikant invers korrelasjon mellom nivå av

vitamin D og nivå av anti-TPO i serum, altså at lave serumnivå av vitamin D var assosiert med høye nivå av anti-TPO (29).

Vår hypotese var at dersom vitamin D har en immunmodulerende effekt, ville nivået av anti TPO hos pasienter i gruppen som fikk høydosebehandling, bli signifikant redusert, mens nivået av anti TPO hos gruppen som fikk placebo ville være tilnærmet uendret.

## Metode

Vi har i vårt arbeid tatt utgangspunkt i en dobbelt -blind, randomisert og placebo-kontrollert intervensjonsstudie gjort ved Universitetssykehuset Nord-Norge på en gruppe overvektige pasienter (6). Studiens utgangspunkt var å undersøke om vitamin D i høye doser kunne redusere overvekt. Blodprøvematerialet og bakgrunnsinformasjonen fra denne studien har vi arbeidet videre med. Vi har brukt dette til å analysere nivået av anti-TPO i serum hos disse pasientene.

445 personer med BMI 28-47, menn og kvinner, i alderen 21-70 år var inkludert i studien. Personer med tidligere gjennomgått hjerteinfarkt, angina pectoris eller hjerneslag ble ekskludert. Pasienter med sarkoidose eller nyresteinssykdom ble også ekskludert. Personer som brukte antidepressive medisiner eller vektreduserende medikamenter, gravide eller ammende kvinner ble ikke inkludert. Kvinner under 50 år uten adekvat prevensjon ble ikke inkludert. Personer med serum kalsium  $> 2.55$  mmol/L, menn med serum kreatinin  $> 129$   $\mu$ mol/L og kvinner med serum kreatinin  $> 104$   $\mu$ mol/L, ble ikke inkludert. Hvis serum kalsium var mellom 2.50 – 2.55 mmol/L, måtte pasientene ha serum PTH under 5.0 pmol/L for å inkluderes (30).

Personene som deltok i studien ble randomisert til tre grupper, hvor en gruppe fikk 40 000 IU vitamin D /uke, (gruppe DD), en gruppe fikk 20 000 IU/uke, (gruppe DP) og en gruppe fikk placebo, (gruppe PP). Alle ble i tillegg gitt 500 mg kalsium daglig i ett år.

Det ble tatt serumprøver av personene som var inkludert i studien ved oppstart, og etter 12 mnd (6).

Det ble målt høyde og vekt ved start og slutt av studien. Personene ble klassifisert som nåværende røykere eller nåværende ikke-røykere. Det ble registrert bruk av medikamenter, spesielt thyroxin (6).

334 personer gjennomførte studien, og blodprøver fra 333 personer var tilgjengelig for analyse av anti-TPO. Anti-TPO ble målt i disse prøvene, og hos de med anti-TPO > 9 kIE/L ble også serumprøver fra slutten av studien analysert. Fritt T4 (9 - 22 pmol/L), fritt T3 (2,8 - 7,1 pmol/L) og TSH (0,20 - 4,30 mIU/L) ble også målt. For de med anti-TPO < 9 kIE/L satte vi verdien 5 kIE/L i de statistiske analysene.

Anti-TPO måles i serum ved enzymmerket immunometrisk chemiluminescence-metode eller access-metode på UniCel DxI 800 (Beckman Coulter) (20). Referanseverdien for måling av anti-TPO er satt til < 9kIE/L i serum. Fritt T4, fritt T3 og TSH måles også ved access-metode på UniCel DxI 800 (Beckman Coulter) (20).

Statistikk programmet SPSS versjon 15.0 ble brukt i de statistiske analysene. Resultatene våre ble analysert ved kji-kvadrattest, t-test, likelihood ratio og fishers ekstrakte test.

## Resultater

Tabell 1-4 omhandler utgangsmaterialet vårt med totalt 333 personer. Tabell 1 viser alle variablene for de 333 personene samlet. Tabell 2 viser hvordan anti-TPO fordeler seg blant menn og kvinner hos de 333. Blant menn var det 32,3 % som var anti-TPO positive og blant kvinner var det 30,6 %. Det var ingen signifikant forskjell med hensyn på kjønn og anti-TPO positive.

Tabell 3 viser forholdet mellom røyking og anti-TPO. Blant røykere var 33,3 % anti-TPO positive, og blant ikke-røykere var 30,7 % anti-TPO positive. Vi fant dermed ingen signifikans mellom røyking og om personene var anti TPO positiv eller negative, se tabell 3.

Tabell 4 deler de 333 personene inn i anti- TPO positive og anti- TPO negative og viser alle variablene i de to gruppene. Ved studiens start var det ingen signifikant forskjell i nivå av vitamin D i serum hos personene som var anti-TPO positive versus anti-TPO negative.

I tillegg til å se på nivå av vitamin D i serum ved studiens start, se tabell 4, har vi også sett på andre parametere som TSH, fritt T4 og fritt T3. Man ser en statistisk signifikant høyere serumkonsentrasjon av fritt T4 hos personene som er anti-TPO positive.

Imidlertid skyldes denne forskjellen i fritt T4 sannsynligvis at brukere av thyroxin ikke ble ekskludert fra studien. Dersom man ekskluderer thyroxinbrukerne sees ikke lenger noen forskjell i fritt T4 mellom anti-TPO positive og anti-TPO negative ved studiens start, se tabell 5. Derimot ser man som forventet at TSH nå er høyere hos de anti-TPO positive.

Tabell 6 sammenlikner gruppe DD, DP og PP med delta-verdier, det vil si verdier ved studiens start minus verdier ved 12 måneder. Som forventet sees en økning i serumnivå av vitamin D hos gruppe DD sammenliknet med gruppe DP og PP. Det sees derimot ingen signifikante endringer i thyreoidea-hormonbildet. Nivåene av delta TSH, fritt T4 og fritt T3 er tilnærmet like i alle de tre behandlingsgruppene.

Av de 333 personene som hadde gjennomført hele studien og der serum var tilgjengelig, hadde 103 personer (33 i DD gruppe, 33 i DP gruppen og 37 i PP gruppen) anti TPO > 9 kIU/L. Tabell 7 viser gjennomsnittlige anti-TPO verdier for hver gruppe ved studiens start og ved 12 måneder.



Ser man på utgangsverdiene ved studiens start for de anti-TPO positive i gruppe DD, DP og PP, sees en lavere fritt T4 i placebogrupper, men ikke signifikant. I tillegg kan man se at de anti-TPO positive i gruppe DD har et noe høyere utgangsnivå av vitamin D enn gruppe DP og PP, men heller ikke denne forskjellen er signifikant. Se tabell 8.

Tabell 9 viser anti-TPO verdiene og andre parametere ved 12 måneder målt hos de 103 anti-TPO positive personene fordelt på gruppe DD, DP og PP. Som forventet sees et høyere nivå av vitamin D i gruppe DD.

Tabell 10 viser deltaverdiene for de anti-TPO positive personene fordelt på gruppe DD, DP og PP, det vil si verdier ved studiens start minus verdier ved 12 måneder. Det var ingen signifikant forskjell gruppene i mellom for deltaverdien av anti-TPO, men det bemerkes et høyere standardavvik hos gruppe DD enn for de to andre gruppene med hensyn på anti-TPO. Verdien for vitamin D er som forventet høyere i gruppe DD enn gruppe DP og PP. Ser man på de andre parameterne i tabell 9, sees deltaverdiene for TSH noe høyere i gruppe DP enn gruppe DD og PP. Det sees en reduksjon i anti-TPO i gruppe DD. Dette er ikke statistisk signifikant sammenlignet med de andre gruppene.

Tabell 11 viser resultatet etter at vi har slått sammen gruppe DD og DP til en felles vitamin D- gruppe og sammenlignet den med placebogrupper med henblikk på endring i anti-TPO. Vitamin D-gruppen hadde nedgang i anti-TPO på 16,7 prosent. Placebogrupper hadde nedgang på 21,78 prosent. Ingen signifikant forskjell.

## Diskusjon

Vi kan ut i fra våre resultater og statistisk analyse regne ut at det er ingen statistisk signifikant forskjell mellom høydosebehandling med vitamin D og placebo med hensyn til endring i nivå av anti-TPO. Vi fant altså ingen immunmodulerende effekt av tilskudd med cholecalciferol med hensyn til reduksjon i anti- TPO titer.

Ved studiens start var utgangsnivået av vitamin D omtrent likt hos de anti-TPO positive og de anti-TPO negative personene, se tabell 4. Man kunne forventet et lavere nivå av vitamin D hos de anti-TPO positive dersom lave nivå av vitamin D skulle gi økt risiko for autoimmun thyreoideasykdom (29).

Ut fra våre resultater fant vi ingen signifikans med hensyn på kjønn og anti-TPO positiv eller negativ, se tabell 2. Vi fant heller ingen signifikans med hensyn på røyking og anti-TPO positiv eller negativ, se tabell 3. Vi ventet å se en forskjell med hensyn på kjønn og anti-TPO, da autoimmun thyreoidea-sykdom oftere sees hos kvinner enn hos menn, og fordi kvinner oftere har et latent høyere nivå av anti-TPO enn menn (20).

Det var ingen reduksjon i anti-TPO titer hos personene i gruppen som ble behandlet med høydose vitamin D. Dermed fant vi heller ingen immunmodulerende effekt av vitamin D. Dersom dette funnet sees i lys av andre studier gjort på vitamin D i sammenheng med autoimmun thyreoidea-sykdom, er også resultatene i disse studiene varierende (23,24,25,26,27,28,29). Ut fra dette kan man ikke si at vårt negative resultat med hensyn på effekten av vitamin D på anti-TPO titer var overraskende.

Feilkilder i denne studien kan være målefeil under analyse av serumprøvene. Betydelig fedme og ikterus kan gi usikkerhet i prøveresultatet. Ikterus kan nok utelukkes mens fedme var et inklusjonsparameter. Det var kun 333 personer som var inkludert i studien. Det kan være for få personer til å konkludere ut i fra denne populasjonen. Titerne generelt kan ha vært for lave ved utgangspunkt. Pasientene var fulgt over kun 12 måneder. Dette kan ha vært for kort tid for å kunne se en endring i parametrene.

Flere epidemiologiske studier indikerer en sammenheng mellom vitamin D status og autoimmune sykdommer. Våre resultater derimot, samsvarer med andre intervensjonsstudier. Tilskudd med cholecalciferol resulterer ikke i vektreduksjon hos overvektige personer (6). Det forbedrer heller ikke glykemisk kontroll hos diabetespasienter med normale nivåer av serum 25- hydroksyvitamin D (31). Intervensjonsstudier viser ofte ikke det samme som tverrsnittstudier kan indikere. Det

meste av det som er skrevet om vitamin D og helse er basert på indikasjoner. Som konklusjon kan vi derfor si at tilskudd med vitamin D ikke kan ha stor betydning for anti-TPO nivået, men en mindre effekt kan ikke utelukkes og må avklares i større studier.

## Kilder

1. Michael F. Holick: Vitamin D: important for prevention of osteoporosis, cardiovascular heart disease, type 1 diabetes, autoimmune diseases, and some cancers. *South Med J.* 2005 Oct; 98(10):1024-7.
2. P.Lips. Vitamin D Physiology. *Progress in Biophysics and Molecular Biology.* 2006 Sep; 92(1):4-8.
3. Michael F. Holick. Sunlight and vitamin D for bone health and prevention of autoimmune diseases, cancers, and cardiovascular disease. *Am J Clin Nutr* 2004; Vol 80,No.6,1678S– 88S.
4. Michael F. Holick: Vitamin D: Its role in cancer prevention and treatment. *Prog in Biophys Mol Biol.* Volume 92, Issue 1, September 2006, Pages 49-59.
5. Johan Moan a,b,\* , Alina Carmen Porojnicu a,c, Trude Eid Robsahm d, Arne Dahlback b, Asta Juzeniene a, Steinar Tretli d, William Grant e. Solar radiation, vitamin D and survival rate of colon cancer in Norway. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 78 (2005) 189–193.
6. M. Sneve, Y. Figenschau og R. Jorde. Supplementation with cholecalciferol does not result in weight reduction in overweight and obese subjects. *European Journal of Endocrinology* (2008) 159 675–684.
7. Walter F. Boron, Emile L. Boulpaep. *Medical Physiology.* Updated edition.
8. John N. Hathcock, Andrew Shao, Reinhold Vieth, Robert Heaney: Risk assessment for vitamin D. *Am J Clin Nutr.* 2007 Jan; 85(1):6-18.

9. P. Lips: Which circulating level of 25-hydroxyvitamin D is appropriate? *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2004 May; 89-90(1-5):611-4.
10. Reinhold Vieth: What is the optimal vitamin D status for health? *Prog Biophys Mol Biol.* 2006 Sep; 92(1):26-32.
11. Michael F. Holick: Vitamin D deficiency. *N Engl J Med.* 2007 Jul 19;357(3):266-81.
12. S. Boonen 1, 2, D. Vanderschueren 1, 3, P. Haentjens 4 & P. Lips 5. Calcium and vitamin D in the prevention and treatment of osteoporosis – a clinical update. *Journal of Internal Medicine* 2006; 259: 539–552.
13. Anastassios G. Pittas, Joseph Lau, Frank B. Hu, and Bess Dawson-Hughes. The Role of Vitamin D and Calcium in Type 2 Diabetes. A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Endocrinol Metab*, June 2007, 92(6):2017–2029.
14. Armin Zittermann: Vitamin D and disease prevention with special reference to cardiovascular disease. *Prog Biophys Mol Biol.* 2006 Sep; 92(1):39-48.
15. Daniel D. Bikle: What is new in vitamin D: 2006-2007. *Curr Opin Rheumatol.* 2007 Jul; 19(4):383-8.
16. Yoav Arnon, Howard Amital, Yehuda Shoenfeld: Vitamin D and autoimmunity: new aetiological and therapeutic considerations. *Ann Rheum Dis* 2007;66:1137-1142.
17. Roger Bouillon, Guy Eelen, Lieve Verlinden, Chantal Mathieu, Geert Carmeliet, Annemieke Verstuyf: Vitamin D and cancer. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 102 (2006) 156-162).

18. Joan M Lappe, Dianne Travers-Gustafson, K Michael Davies, Robert R Recker, and Robert P Heaney. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am. J.Clin.Nutr* 2007;85:1586-91.
19. Forelesning; genetik ved colorectalcancer vår 07 for med 400 UiTø.
20. [www.msa.ahus.no](http://www.msa.ahus.no) – Medisinsk Serviceavdelinger Ahus.
21. Thierry Chardes, Nicolas Chapal, Damien Bresson, Cedric Bes, Veronique Giudicelli, Marie- Paule Lefranc, Sylvie Peraldi- Roux. The human anti-thyroid peroxidase autoantibody repertoire in Graves and Hashimotos autoimmune thyroid diseases. *Immunogenetics* (2002) 54:141–157.
22. V. Kaczur, Gy. Vereb, I. Molnar, G. Krajczar, E. Kiss, N.R.Farid and Cs.Balazs. Effekt of anti-thyroid peroxidase (TPO) antibodies on TPO activity measured by chemiluminescence. *Clinical Chemistry*. 1997;43:1392-1396.
23. Fournier C, Gepner P, Sadouk M, Charreire J. In vivo beneficial effects of cyclosporine A and 1,25-dihydroxyvitamin D3 on the induction of experimental autoimmune thyroiditis. *Clin Immunol Immunopathol*. 1990 Jan;54(1):53-63.
24. Chen W, Lin H, Wang M. Immune intervention effects on the induction of experimental autoimmune throiditis. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*. 2002;22(4):343-5, 354.
25. Takako Kawakami-Tani, Etsushi Fukawa, Hirotooshi Tanaka, Yoshifumi Abe, Isao Makino. Effect og 1 $\alpha$ -Hydroxyvitamin D3 on Serum Levels of Thyroid Hormones in Hyperthyroid Patients With Untreated Graves' Disease. *Metabolism*, Vol 46, No 10(October), 1997: pp 1184-1188.

26. Yoshiyuki Ban, Matsuo Taniyama, Yoshio Ban. Thyroid. June 2001, 11(6): 607-608. Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms in Hashimoto's Thyroiditis.
27. Wei-Yong Lin, Lei Wan, Chang-Hai Tsai, Rong-Hsing Chen, Cheng-Chun Lee, Fuu-Jen Tsai. Vitamin D Receptor Gene Polymorphisms Are Associated With Risk Of Hashimoto's Thyroiditis in Chinese Patients in Taiwan. Journal of Clinical Laboratory Analysis 20:109-112 (2006).
28. Abdellatif Maalej, Elisabeth Petit-Teixeira, Ghazi Chabchoub, Mariam Ben Hamad, Ahmed Rebai, Nadir R. Farid, Francois Cornelis, Hammadi Ayadi. Lack of Association of VDR Gene Polymorphisms with Thyroid Autoimmune Disorders: Familial and Case/Control Studies. J Clin Immunol DOI 10.1007/s10875-007-9124-9.
29. Ravinder Goswami, Raman Kumar Marwaha, Nandita Gupta, Nikhil Tandon, Vishnubhatla Sreenivas, Neeraj Tomar, Debarati Ray, Ratnesh Kanwar and Rashmi Agarwal. Prevalence of vitamin D deficiency and its relationship with thyroid autoimmunity in Asian Indians: a community-based survey. British Journal of Nutrition (2009), page 1 of 5.
30. R. Jorde, M. Sneve, Y. Figenschau, J. Svartberg og K. Waterloo. Effects of vitamin D supplementation on symptoms of depression in overweight and obese subjects: randomized double blind trial Journal of Internal Medicine, Vol. 264, No. 6. (December 2008), pp. 599-609.
31. Rolf Jorde, Yngve Figenschau. Supplementation with cholecalciferol does not improve glycaemic control in diabetic subjects with normal serum 25-hydroxyvitamin D levels. Eur J. Nutr.

Vedlegg

Tabell 1. Alle variabler for de 333 samlet.

	<b>Antall</b>	<b>Gjennomsnitt</b>	<b>Standardavvik</b>
<b>Alder (år)</b>	333	49	11,22
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>) utgangsverdi</b>	333	34,6	3,86
<b>Serum-TSH mIU/L</b>	333	1,9	0,87
<b>Serum Fritt T4 pmol/L</b>	333	15,5	2,67
<b>Serum Fritt T3 pmol/L</b>	333	5,0	0,72
<b>Anti-TPO kIE/L utgangsverdi</b>	333	44	159,25
<b>25(OH)D nmol/L utgangsverdi</b>	333	54,2	16,68

Tabell 2. Fordelingen av anti-TPO blant de 333 med hensyn på kjønn.

	<b>Menn</b>	<b>Kvinner</b>	<b>Total</b>
<b>Antall anti-TPO positiv ved studiens start</b>	41 (32,3%)	63 (30,6%)	104
<b>Antall anti-TPO negativ ved studiens start</b>	86 (67,7%)	143 (69,4%)	229
<b>Total</b>	127	206	333

Tabell 3. Forholdet mellom røyking og anti-TPO

	<b>Røyker</b>	<b>Ikke-røyker</b>	<b>Total</b>
<b>Anti-TPO positive ved studiens start</b>	21 (33,3%)	83 (30,7%)	104
<b>Anti-TPO negative ved studiens start</b>	42 (66,6%)	187 (69,3%)	229
<b>Total</b>	63	270	333



Tabell 4. Deler de 333 personene i positive og negative og viser alle variablene i de to gruppene.

	Anti-TPO positiv			Anti-TPO negativ		
	Antall	Gj.snitt	Std. avvik	Antall	Gj.snitt	Std. avvik
<b>Alder (år)</b>	104	50	11,51	229	49	11,09
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>) utgangspunkt</b>	104	34,5	3,45	229	34,6	4,04
<b>Serum- TSH mIU/L</b>	104	2,0	0,99	229	1,9	0,81
<b>Serum Fritt T4 pmol/L</b>	104	15,9	3,25*	229	15,2	2,34*
<b>Serum Fritt T3 pmol/L</b>	104	5,0	0,75	229	5,1	0,71
<b>Anti-TPO kIE/L utg.verdi</b>	104	130	266,22	229	5	0,00
<b>25(OH)D nmol/L utg.verdi</b>	104	54,0	17,79	229	54,3	16,19

\*signifikant sammenlignet med anti-TPO negative

Tabell 5. Ekskluderer thyroxin-brukere

	Anti -TPO positiv			Anti-TPO negativ		
	Antall	Gj.snitt	Std. avvik	Antall	Gj.snitt	Std. avvik
<b>Alder (år)</b>	79	50	11,19	218	48	11,15
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>) utgangsverdi</b>	79	34,7	3,59	218	34,7	4,06
<b>Serum- TSH mIU/L</b>	79	2,1	0,86	218	1,9	0,78
<b>Serum- Fritt T4 pmol/L</b>	79	14,8	1,97	218	15,1	1,97
<b>Serum- Fritt T3 pmol/L</b>	79	5,1	0,73	218	5,1	0,69
<b>Anti- TPO kIE/L utg.verdi</b>	79	106	250,5	218	5	0,00
<b>25(OH)D nmol/L utg.verdi</b>	79	54,7	17,73	218	53,9	16,17

Tabell 6. Deltaverdier (dvs. verdier ved studiens start minus verdier ved 12 mnd) for alle 333 personene i studien fordelt på gruppe DD (40 000 IU vitamin D /uke), DP (20 000 IU/uke) og PP (placebo).

	DD			DP			PP		
	Antall	Gj.snitt	Std.avvik	Antall	Gj.snitt	Std.avvik	Antall	Gj.snitt	Std.avvik
$\Delta$ Vitamin D nmol/L	115	-59,93	21,18	105	-37,81	15,76	113	2,31	9,5
$\Delta$ TSH mIU/L	115	-0,44	1,05	105	-0,62	2,18	113	-0,30	1,01
$\Delta$ Fritt T4 pmol/L	115	-0,39	2,36	105	-0,27	2,23	113	-0,23	1,9
$\Delta$ Fritt T3 pmol/L	115	-0,03	0,66	105	0,08	0,65	113	0,04	0,83

$\Delta$  = delta

Tabell 7. Gjennomsnittlige anti-TPO verdier for hver gruppe ved studiens start og ved 12 måneder. Gruppe DD (40 000 IU vitamin D /uke), DP (20 000 IU/uke) og PP (placebo).

Gruppenummer	Antall anti- TPO pos	Gjennomsnitt ved start	Gjennomsnitt ved 12 mnd
DD	33	186,3	136,3
DP	33	109,6	110,2
PP	37	101,6	79,5

Tabell 8. Anti-TPO positive ved studiens start fordelt på de ulike gruppene. Gruppe DD (40 000 IU vitamin D /uke), DP (20 000 IU/uke) og PP (placebo).

	DD			DP			PP		
	Antall	Gj.-snitt	Std.-avvik	Antall	Gj.-snitt	Std.-avvik	Antall	Gj.-snitt	Std.-avvik
<b>Alder (år)</b>	33	50	11,56	33	48	12,11	37	53	10,79
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	33	33,9	3,51	33	33,9	2,95	37	35,4	3,52
<b>Anti-TPO kIE/L</b>	33	186	333,86	33	110	240,65	37	102	218,41
<b>25(OH)D nmol/L</b>	33	55,6	16,97	33	53,2	20,30	37	53,6	16,50
<b>S-TSH mIU/L</b>	33	2,0	1,09	33	1,9	0,90	37	2,1	0,97
<b>S-Fritt T4 pmol/L</b>	33	17,2	3,78	33	16,3	3,43	37	14,6	1,86
<b>S-Fritt T3 pmol/L</b>	33	4,9	0,76	33	4,9	0,74	37	5,1	0,76

S = Serum

Tabell 9. Verdier for de anti- TPO pos ved 12 mnd fordelt på gruppe DD, DP og PP.

Gruppe DD (40 000 IU vitamin D /uke), DP (20 000 IU/uke) og PP (placebo).

	DD			DP			PP		
	Antall	Gj.snitt	Std.avvik	Antall	Gj.snitt	Std.avvik	Antall	Gj.snitt	Std.avvik
<b>25(OH)D nmol/L</b>	33	120,9	25,36	33	94,6	23,57	37	50,7	14,15
<b>Anti-TPO kIE/L</b>	33	136	261,13	33	110	254,88	37	79	146,31
<b>S-TSH mIU/L</b>	33	2,4	1,27	33	3,3	3,53	37	2,5	1,47
<b>S-Fritt T4 pmol/L</b>	33	17,5	3,04	33	16,2	3,27	37	14,5	1,91
<b>S-Fritt T3 pmol/L</b>	33	5,0	0,62	33	4,9	0,66	37	5,0	0,87

S = Serum

Tabell 10. Deltaverdier for anti-TPO pos fordelt på de ulike gruppene. Gruppe DD (40 000 IU vitamin D /uke), DP (20 000 IU/uke) og PP (placebo).

	DD			DP			PP		
	Antall	Gj.snitt	Std.avvik	Antall	Gj.snitt	Std.avvik	Antall	Gj.snitt	Std.avvik
$\Delta$ Anti-TPO kIE/L	33	50,06	169,74	33	-0,70	29,17	37	22,14	96,08
$\Delta$ 25(OH)D nmol/L	33	-65,33	20,04	33	-41,45	14,51	37	2,94	10,02
$\Delta$ TSH mIU/L	33	-0,41	1,12	33	-1,47	3,58	37	0,37	1,28
$\Delta$ Fritt T4 pmol/L	33	-0,27	2,11	33	0,03	2,94	37	0,14	1,83
$\Delta$ Fritt T3 pmol/L	33	-0,11	0,71	33	0,06	0,62	37	0,06	1,08

$\Delta$  = Delta

Tabell 11. Felles vitamin D- gruppe, sammenlignet placebogruppen. Gruppe DD (40 000 IU vitamin D /uke), DP (20 000 IU/uke) og PP (placebo).

Gruppenummer	Antall anti- TPO pos	Gjennomsnitt ved start	Gjennomsnitt ved 12 mnd
DD og DP	66	295,88	246,51
PP	37	101,59	79,46