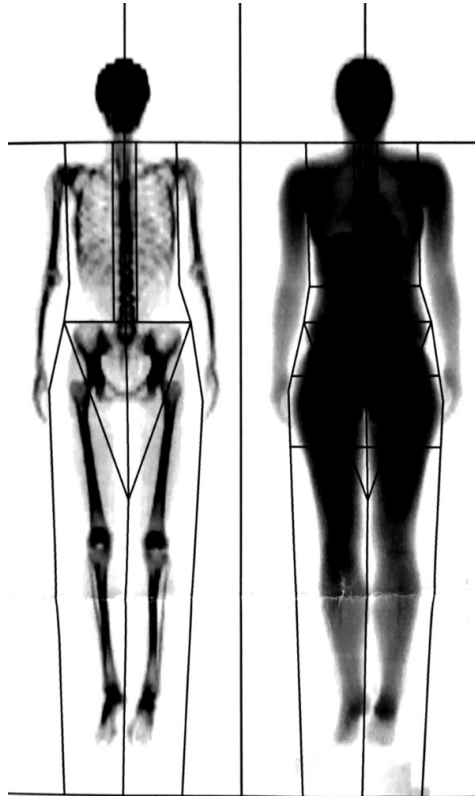
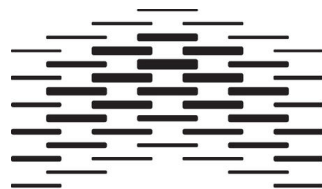


Den beinharde kampen om skjelettet -  
Relasjonen mellom benmineraltetthet og vitamin D-status i en voksen  
Oslobefolkning



Else-Marit Bryn

**Fakultet for helsefag**  
**Institutt for naturvitenskapelige helsefag**



HØGSKOLEN I OSLO  
OG AKERSHUS

Den beinharde kampen om skjelettet -  
Relasjonen mellom benmineraltetthet og vitamin D-status i en voksen  
Oslobefolkning

Else-Marit Bryn

Masterstudium i biomedisin

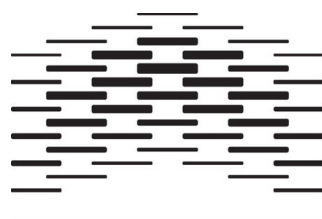
Fakultet for helsefag

Institutt for naturvitenskapelige helsefag

Utført ved Lovisenberg Diakonale Sykehus

Masteroppgave, 60 studiepoeng

November 2017



HØGSKOLEN I OSLO  
OG AKERSHUS



Lovisenberg Diakonale Sykehus

© Else-Marit Bryn

2017

Den beinharde kampen om skjelettet -

Relasjonen mellom benmineraltetthet og vitamin D-status i en voksen

Oslobefolkning

## Forord

En masteroppgave er visst ikke gjort i en fei. Selv om man tror at man vet hva man skal skrive om, er det en lang vei fra prosjektplan til ferdig produkt. Både faglig, praktisk og ikke minst mentalt. Jeg har vært så heldig å få skrive min masteroppgave på min arbeidsplass ved Laboratorium for Medisinsk Biokjemi ved Lovisenberg Diakonale Sykehus. Jeg tror jeg har funnet et tema som ikke bare er interessant og viktig for fagfolk, men som også er et fagfelt som alle kan relatere seg til; osteoporose. De fleste har en nabo, tante, eller bestemor som har falt og brukket hofta. Et hoftebrudd gir ikke bare store konsekvenser for den som er rammet og familien rundt – det gir også store samfunnsøkonomiske utfordringer. Jeg har vært så privilegert å få ha en av de fremste på dette fagfeltet som veileder; Kaare M. Gautvik. Takk for at du har vært så sporty og har hjulpet meg med denne oppgaven. Du er den sprekeste lablegen jeg kjenner, og jeg gleder meg til vi skal feire ferdigskrevet masteroppgave med en skitur til Demmevasshytta.

Jeg ønsker også å rette en stor takk til Olga Shiryeva for god hjelp med de statistiske analysene. Hadde det ikke vært for deg hadde jeg ikke dratt dette i havn. Du har pushet meg hele veien og satt opp jevnlige møter med meg slik at jeg har vært nødt til å jobbe kontinuerlig og effektivt. Tusen takk for at du har tatt deg tiden og bryet, og for at du jevnlig har sendt meg mailer med emnet: So far, so good? Retter også en takk til Sjur Reppe som har tatt seg tid til å lese gjennom oppgaven og kommet med faglige tilbakemeldinger.

Takk også til labben! Takk til Gro og Wenche som har gjort det mulig for meg å ta denne mastergraden ved siden av full jobb. Til damene på Osteoporoselaben, Anne og Aina, som har kjørt DXA-analysene. ”Strikk og drikk”-jentene for avveksling fra hverdagen. Anita for at du har vært så grei og tidvis vært student sammen med meg. Og ikke minst alle dere andre som har hjulpet meg med bytting av vakter så jeg har kunnet kombinere jobb og skole.

Ønsker også å takke studievenninner. Kjersti for gjennomlesning av oppgaven. Solveig, min ”partner in crime” og pultkamerat. Takk for du har kjørt det samme løpet som meg. For lange kvelder med cellebiologi, og for våre mange møter over en sushi hvor vi har drevet med krisemaksimering og ”brannslukking”.

Tilslutt ønsker jeg å takke mine nærmeste: Mari for gjennomlesning av oppgaven, engelskveiledningen og for at du er du. Anne Marit for at du har heiet på meg hele veien, og for at du er ”syster mi”. Mamma og Pappa som alltid er her for meg, og som aldri er tunge å be når Fru Ferner trenger å passes. Og sist, men ikke minst, Fru Ferner: min lykkepille i hverdagen som alltid er like glad og logrende uansett!!

**Oslo, november 2017**

Else-Marit Bryn



## Sammendrag

**Bakgrunn:** Norge er i verdenstoppen når det gjelder hoftebrudd. Årlig brykker ca. 9000 voksne nordmenn hoften. Syv av ti av disse er kvinner. I Norge er det på bakgrunn av bentetthetsmålinger beregnet at ca. 240 000-300 000 personer har osteoporose. Osteoporotiske brudd, og spesielt hoftebrudd, gir ikke bare store konsekvenser for de som rammes av smerter, redusert livskvalitet og økt dødelighet – det gir også store samfunnsøkonomiske utfordringer. Dette skaper et stort behov for forståelse for sykdommen med tanke på forebyggende tiltak som ernæring samt tidligere diagnostisering og behandling.

**Hensikt:** Formålet med oppgaven er å få økt innsikt i mulig sammenheng mellom serum vitamin D-konsentrasjoner (25(OH)D<sub>3</sub>) og benmineralitet (BMD) hos personer over 45 år undersøkt ved Laboratorium for Medisinsk Biokjemi, Lovisenberg Diakonale Sykehus. Hvordan er serum vitamin D-nivåene korrelert til bentetthet og morfologiske parametere som alder og BMI hos en vanlig urban populasjon menn og kvinner over 45 år?

**Utvalg og metode:** Oppgaven er en tverrsnittsundersøkelse med et observerende design. Jeg benyttet rådata fra et pågående prosjekt ved Lovisenberg Diakonale Sykehus, der 186 kvinner og menn er inkludert i studien. Serumanalyser av 25(OH)D<sub>3</sub> og data fra DXA-måling ble benyttet til å fremstille deskriptive, korrelasjons- varians- og regresjonsanalyser.

**Resultater:** 186 kvinner og menn i alderen 45 til 90 år ble inkludert i oppgaven. Utvalget fremviste hele spekteret av BMD-variasjon, fra normal til osteoporose. Når det gjelder serum 25(OH)D<sub>3</sub> hadde ca. 50 % serum 25(OH)D<sub>3</sub>-konsentrasjon større enn 75 nmol/l. Ca. 13 % hadde mindre enn 50 nmol/l. Korrelasjonsanalyser viste en signifikant negativ korrelasjon mellom BMD (g/cm<sup>2</sup>) i hofte total og serum 25(OH)D<sub>3</sub> (nmol/l). Det ble ikke funnet noen sammenheng mellom BMD og serum 25(OH)D<sub>3</sub> ut i fra variansanalyser eller regresjonsanalyser. Kjønn og BMI var de variablene som best forklarte variansen i BMD og var signifikant assosiert med BMD både i lendevirvlene (L2L4), hofte total og total kropps-BMD.

**Konklusjon:** Korrelasjonsanalyser viste en signifikant negativ korrelasjon mellom BMD (g/cm<sup>2</sup>) i hofte total og serum 25(OH)D<sub>3</sub>. Vitamin D og kalsiumtilskudd førte til optimale serum 25(OH)D<sub>3</sub>-konsentrasjoner hos 50 % av deltagerne. Til tross for at kun 19 % av

kvinnene hadde serum 25(OH)D<sub>3</sub>-nivå < 50 nmol/l hadde ca. 50 % osteoporose i L2L4 mot 2 % hos menn med omtrent like stor andel av lavt serum 25(OH)D<sub>3</sub>. Dette taler mot at primær osteoporose har vitamin D som en årsaksfaktor. Primær osteoporose synes å være uavhengig av vitamin D-nivåer innenfor det området dette materialet representerer. Siden optimale serum 25(OH)D<sub>3</sub>-verdier ikke helbreder osteoporose, støtter det at sykdommen hovedsakelig er genetisk.

## Abstract

**Background:** Norway has one of the highest numbers of hip fractures per capita in the world. On a yearly basis, about 9000 adult Norwegians experience a hip fracture. 7 out of 10 of these are women. In Norway, estimates based on measurements of bone mineral density (BMD) show that 240.000-300.000 people have osteoporosis. Osteoporotic fractures, and especially hip fractures, does not only give dramatic consequences in the form of pain, reduced quality of living, and increased death rate for those who suffer from them, but it also leads to significant economic consequences for the society. This induces a need for more knowledge and understanding of the disease to try to find preventive measures through nutrition, and to diagnose and treat the patients at an earlier stage.

**Purpose:** The purpose of this thesis is to gain increased knowledge of a possible correlation between concentrations of serum vitamin D (25(OH)D<sub>3</sub>) and bone mineral density (BMD) with individuals over the age of 45 examined at Laboratorium for Medisinsk Biokjemi, Lovisenberg Diakonale Sykehus. How are levels of serum vitamin D correlated to bone density and morphological parameters such as age and BMI within a normal urban population of men and women of ages above 45 years?

**Population and method:** This thesis is based on a cross section study with an observational design. Baseline data from an ongoing project at Lovisenberg Diakonale Sykehus, with 186 men and women participating, has served as the data source for this study. Serum analyses of 25(OH)D<sub>3</sub> and data from DXA measurements was utilized to populate descriptive, correlation, variance, and regression analyses.

**Results:** 186 men and women of ages between 45 to 90 years participated in the study. The sample included BMD variations on the whole scale from normal to osteoporosis. Around 50 % of the sample population had serum 25(OH)D<sub>3</sub> concentrations above 75 nmol/l. Ca 13 % had concentrations less than 50 nmol/l. Correlation analysis showed a significant negative correlation between BMD in hip total, and serum 25(OH)D<sub>3</sub>. No correlation between BMD and serum 25(OH)D<sub>3</sub> was found in variance and regression analyses. Gender and BMI were the variables that best explained the variances in BMD, and were significantly associated with BMD both in lumbar spines (L2L4), hip total, and BMD for the body in total.

**Conclusion:** Correlation analyses showed a negative correlation between total BMD level ( $\text{g/cm}^2$ ) in the hip and serum 25(OH) $\text{D}_3$ . Vitamin D and calcium supplements gave optimal serum 25(OH) $\text{D}_3$  with 50 % of the participants. Despite the fact that only 19 % of the women had serum 25(OH) $\text{D}_3$ -levels  $< 50$  nmol/l, 50 % of them had osteoporosis in L2L4. In comparison, only 2 % of men with the same level of serum 25(OH) $\text{D}_3$  had the disease. This speaks against the hypothesis of primary osteoporosis having vitamin D as an influencing factor. Primary osteoporosis does not seem to be connected to vitamin D levels within the area that this study represents. Since optimal serum 25(OH) $\text{D}_3$  levels do not prevent or heal osteoporosis, this study supports the assumption that the disease is mainly caused by genetic factors.

## Forkortelser og ordforklaringer

1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub>	1,25-dihydroksyvitamin D (kalsitriol)
25-OHase	D-25-hydroxylase
25(OH)D	25-hydroksyvitamin D
25(OH)D <sub>3</sub>	25-hydroksykolekalsiferol
1-OHase	25-hydroksyvitamin D-1 $\alpha$ -hydroksylase
Anabole prosesser	Benoppbyggende prosess som er et resultat av osteoblastenes funksjon.
Benremodellering	Kontinuerlig prosess gjennom hele livet der ben bygges opp og resorberes (fjernes).
Benresorpsjon	Nedbrytning av ben som bestemmes av osteoklastene.
BMD	Bone Mineral Density (bentetthet)
BMI	Body Mass Index (kg/m <sup>2</sup> )
CT	Computertomografi
DBP	Vitamin D bindende protein
DXA	Dual energy X-ray absorptiometry
DXR	Røntgenometri
MSC	Mesenkymale stamceller
MRM	Elektrospray-MS/MS
LC-MS/MS	Væskeskromatografi-tandem massespektrometri
LDS	Lovisenberg Diakonale Sykehus
OPG	Osteoprotegerin
PTH	Parathyroideahormon
RANK	Reseptor aktivator av nukleær faktor- $\kappa$ B
RANKL	Reseptor aktivator av nukleær faktor- $\kappa$ B ligand
REK	De regionale komiteer for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk
SXA	Singel røntgenstråle måling
T-Score	Antall standardavvik en persons BMD er forskjellig fra gjennomsnittsverdien som er forventet til en ung frisk kvinne.
Z-Score	Antall standardavvik en persons BMD ligger fra gjennomsnittet til de med samme alder som pasienten.
VDR	Vitamin D reseptor
Ergokalsiferol	Vitamin D <sub>2</sub> – Finnes i planter

Kolekalsiferol  
WHO

Vitamin D3– Den humane form av vitamin D.  
Verdens Helseorganisasjon

# Innholdsfortegnelse

Forord .....	i
Sammendrag .....	ii
Abstract .....	iv
Forkortelser og ordforklaringer .....	vi
<b>1. Innledning .....</b>	<b>1</b>
1.1. Bakgrunn .....	1
1.2. Osteoporose .....	2
1.2.1. Patofysiologi .....	2
1.2.2. Definisjon .....	6
1.2.3. Forekomst .....	6
1.2.4. Konsekvenser .....	6
1.2.5. Årsaker og risikofaktorer .....	7
1.1.1. Behandling .....	8
1.1.2. Undersøkelse og diagnose .....	8
1.1. Vitamin D .....	9
1.1.1. Hva er vitamin D? .....	9
1.1.2. Vitamin D metabolisme .....	10
1.1.3. Vitamin D og funksjon .....	12
1.1.4. Måling av Vitamin D .....	12
1.1.5. Hvilket nivå av vitamin D er riktig? .....	13
1.1.6. Konsekvenser av vitamin D-mangel .....	14
1.1.3. Vitamin D og osteoporose .....	15
<b>2. Formål med oppgaven .....</b>	<b>16</b>
2.1. Problemstilling .....	16
<b>3. Utvalg, etikk, studiedesign og metode .....</b>	<b>17</b>
3.1. Hofteprosjektet .....	17
3.2. Utvalg .....	17
3.3. Etikk .....	17
3.4. Studiedesign .....	18
3.5. Metode .....	18
3.5.1. Måling av vitamin D .....	18
3.5.2. DXA-måling .....	18
3.5.3. Statistiske analyser .....	19
<b>4. Resultater .....</b>	<b>21</b>
4.1. Serum 25(OH)D <sub>3</sub> : Sammenligning mellom Aker- og LDS-metodene .....	21
4.2. Demografiske data .....	21
4.2.1. Serum 25(OH)D <sub>3</sub> .....	23
4.2.2. BMD .....	24
4.3. Resultater av korrelasjonsanalyser .....	25
4.3.1. BMD og alder .....	26
4.3.2. BMD og BMI .....	26
4.3.3. BMD og serum 25(OH)D <sub>3</sub> .....	27
4.4. Resultater av gruppesammenligning .....	27
4.4.1. Serum 25(OH)D <sub>3</sub> -nivå .....	27
4.5. Resultater fra regresjonsanalyse .....	29

4.5.1.	<i>Serum 25(OH)D<sub>3</sub></i> .....	30
4.5.2.	<i>Alder</i> .....	30
4.5.3.	<i>BMI</i> .....	30
4.5.4.	<i>Kjønn</i> .....	30
5.	<b>Diskusjon</b> .....	<b>31</b>
5.1.	Analyse av serum 25(OH)D <sub>3</sub> .....	31
5.2.	Relasjon mellom biologiske parametere .....	32
5.3.	Styrker og svakheter ved oppgaven .....	35
6.	<b>Konklusjon</b> .....	<b>36</b>
7.	<b>Litteraturliste</b> .....	<b>37</b>
8.	<b>Vedlegg</b> .....	<b>43</b>
8.1.	Vedlegg 1: regresjonslikning etablert ved metodesammenligning .....	43



# 1. Innledning

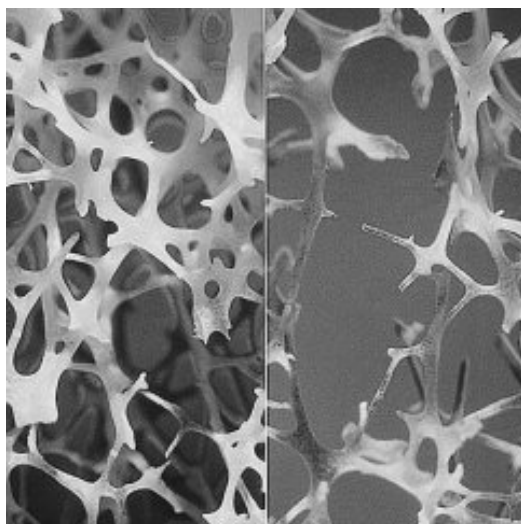
## 1.1. Bakgrunn

Norge er i verdenstoppen når det gjelder hoftebrudd (1). Årlig brykker ca. 9000 voksne nordmenn hoften. Syv av ti hoftebrudd rammer kvinner. Hos både kvinner og menn øker risikoen for hoftebrudd etter 70-årsalderen. En sterk risikofaktor er benskjørhet, eller osteoporose. Osteoporose er en skjelettlidelse der benarkitektur og mekanisk styrke svekkes, og man er disponert for brudd som kan oppstå uten ekstra belastning (2). Redusert benmasse er en del av aldriingsprosessen, men sykdommer og bruk av enkelte legemidler kan også bidra til at man utvikler osteoporose (1). I Norge er det på bakgrunn av bentetthetsmålinger beregnet at ca. 240 000-300 000 har osteoporose og andelen varierer etter hvor i kroppen benmassen måles (1). Dersom man er diagnostisert med osteoporose har man høyere risiko for å pådra seg et brudd, og et tidligere brudd er den sterkeste risikofaktoren for et nytt brudd. Osteoporotiske brudd, og spesielt hoftebrudd, gir ikke bare alvorlige konsekvenser for de som rammes med smerter, redusert livskvalitet og økt dødelighet, men gir også store samfunnsøkonomisk utfordringer. I Norge er hoftebrudd den vanligste årsaken til innleggelse på kirurgisk-ortopediske avdelinger (3). I 2014 ble det utgitt en rapport som omhandlet de kostnadene som er forbundet med tidligere hoftebrudd blant hjemmeboende over 70 år (3). Den viste at i det første året etter et hoftebrudd utgjør direkte helsetjenestekostnader i gjennomsnitt 500 000 kroner. Etter 2 år øker de årlige totalkostnadene som følge av hoftebrudd til 800 000-1 000 000 kroner, og dette er utgifter som staten og kommunene dekker. En stadig høyere levealder i befolkningen vil resultere i flere med lav bentetthet og flere med hoftebrudd. Dette skaper et stort behov for forståelse for sykdommen med tanke på forebyggende tiltak som ernæring, samt tidligere diagnostisering og behandling.

Ved forebyggende behandling av osteoporose blir det generelt benyttet en kombinasjon av vitamin D og kalsium som førstelinjeterapi for de med risiko for osteoporotiske frakturer. Effekten av vitamin D på benhelse er et tema som har vært grundig forsket på. Det er vist en klar årsakssammenheng mellom vitamin D-mangel og utvikling av osteoporose, men effekten av vitamin D på bentetthet er fortsatt uklar. I dette prosjektet ønsker jeg å evaluere sammenhengen mellom serum 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D<sub>3</sub>) og bentetthet (BMD=bone mineral density) i den voksne Oslobefolkningen ved hjelp av statistiske metoder.

## 1.2. Osteoporose

Osteoporose blir definert som en skjelettlidelse som kjennetegnes ved lav bentetthet og svekkelse av mikroarkitekturen i benvevet (figur 1). Lav bentetthet disponerer for brudd som kan oppstå uten ekstra belastning, såkalte ”lavenergibrudd” (2). Den mest alvorlige komplikasjon som følge av osteoporose er hoftebrudd, som er sterkt assosiert med stor sykkelighet, varig invaliditet og 20 % dødelighet i løpet av det første året etter operasjon (4, 5).



Figur 1: Normalt benvev til venstre og osteoporotisk benvev til høyre. Kilde: [www.iofbonehealth.org](http://www.iofbonehealth.org).

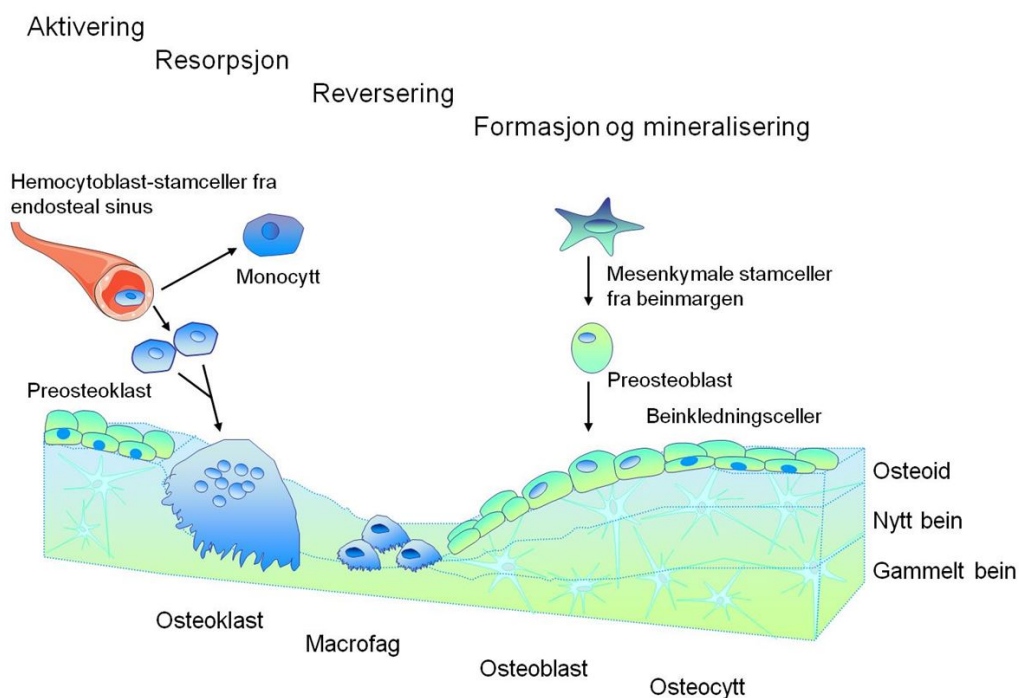
### 1.2.1. Patofysiologi

Benvev er et levende og dynamisk materiale som forandrer seg gjennom hele livet. Benvevets struktur og dynamikk har stor innflytelse på utviklingen av osteoporose. Normalt er ca. 40 % av ben organisk og 60 % kalksalter (hydroksoapatitt) som utfelles på kollagen I i en krystallstruktur (6).

For at skjelettet skal opprettholde sin optimale struktur og tilpasses funksjonelle krav blir benvevet kontinuerlig brutt ned og bygd opp. I tillegg er skjelettet det overordnede organet for kalsiumhemostasen og tjener også som lager for andre typer mineraler, f.eks. magnesium, fosfat, kalium og bikarbonat (7). Makroskopisk består benvev strukturelt av to typer vev; kortikalt (kompakt) vev perifert i lange rørknokler, og trabekulært (svampaktig) vev i den indre enden av rørknoklene og i ryggen (8). Kortikalt vev utgjør hovedmengden av knokkelmassen og er den ytre og kompakte og mekanisk sterke del av rørknoklene. Trabekulært vev finnes i flate knokler (ansikt, hode), i rørknoklenes endestykker, og i ryggvirvler (7). Kombinasjonen av kortikalt og trabekulært vev gjør benvevet sterkt nok til å

tåle harde belastninger (mekanisk styrke), i tillegg til at det blir fleksibelt (plastisk) nok til ikke å brette. I tillegg til organiske og inorganiske deler består benvevet av benoppbyggende celler kalt osteoblaster og osteocytter, og bennedbrytende celler kalt osteoklaster.

I benvevet foregår det en kontinuerlig metabolsk prosess kalt remodelering som er en type benomsetningsprosess der benvev dannes og fjernes. I denne remodeleringsprosessen er det aktiviteten til osteoblaster og osteoklaster som bestemmer balansen mellom benoppbygging (anabolisme) og bennedbrytning (resorpsjon). Benmassen er stabil der disse prosessene er balanserte (9). Osteoklastene fortærer ben fra benoverflaten, mens osteoblastene erstatter det tapte med nytt benvev (figur 2).



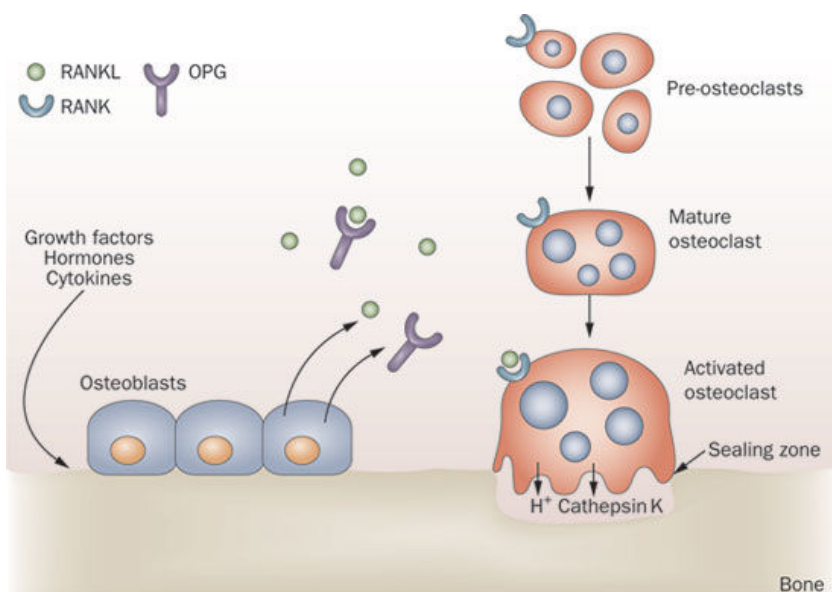
Figur 2: Illustrasjon på benremodellering og de ulike celletyper som inngår i denne prosessen. Kilde: Stunes et.al. (2013): *Bruk av beinmarkører ved osteoporose.*

Osteoblastene er avledet fra mesenkymale stamceller (MSC). Denne celletypen har fire ulike modningsstadier; preosteoblast, osteoblast, osteocytt og bekkledningsceller (figur 2).

Preosteoblast modnes til osteoblast og etter at beinvevet er dannet blir en andel av osteoblastcellene inkorporert i beinmatriks og omdannet til osteocytter (10). Modne osteoblaster har kubisk form og ligger lagvis på benoverflater eller i hulrom i bensubstansen. I forbindelse med nydannelse av benvev er de ansvarlig for produksjonen av en rekke proteiner. Disse proteinene er blant annet kollagen type 1, som er et viktig protein i knokkelmatriksen

og av stor strukturell betydning, og reseptor aktivator av nukleær faktor-kb ligand (RANKL) og osteoprotegerin (OPG), som tilhører cellulære molekylære signalsystemer. På kollagen type 1 utfelles det kalksalter som gir benet mekanisk styrke. RANKL og OPG koordinerer aktiviteten mellom osteoklastene og osteocytene i forhold til kroppens behov (10).

Osteoklastene stammer fra hemotopoetiske stamceller i benmargen og er ansvarlige for nedbrytning av benmatriks. Osteoblastene skiller ut RANKL som binder seg til RANK på overflaten av osteoklastene. Dette resulterer i økt osteoklastdifferensiering og –aktivitet som gir økt benresorpsjon. Dette skjer ved at osteoklastene binder seg til deler av benmatriks, og ved hjelp av protonpumper senkes pH slik at kalsiumkrystallene i knokkeloverflaten løses opp. Da blir benmatriksen tilgjengelig for nedbrytning ved hjelp av proteolytiske enzymer (10). OPG er et kompetitivt protein som binder seg til RANKL og forhindrer RANKL i å binde seg til RANK. På den måten blir differensieringen og aktiviteten til osteoklastene hemmet noe som resulterer i redusert benresorpsjon (11) (figur 3).



Figur 3: Illustrasjon på RANK/RANKL/OPG signalsystem i forhold til osteoklastaktivitet og benresorpsjon. Kilde: Lewiecki, EM (2011): New target for intervention in the treatment of postmenopausal osteoporosis.

Osteocytene utgjør ca. 95 % av alle benceller i et voksent skjelett (12). Inkorporert i benmatriks ligger osteocytene tett sammenkoblet og kommuniserer med hverandre og med osteoblastene på overflaten via lange utløpere som ligger i kanaler (canaliculi) i benmatriksen. Dette legger til rette for passasje av næringsstoffer, oksygen og signalmolekyler fra en celle til den neste, og gjør det mulig for celler dypt nede i benmatriks og kommunisere med celler på overflaten (12). En nøkkelegenskap ved osteocytene er deres evne til å regulere funksjonen

til både osteoblastene og osteoklastene. Osteocytene fungerer som organisatorer av benreparasjon, og integrerer både hormonelle og mekaniske signaler for regulering av benmasse (13).

Fra ung alder blir skjelettet gradvis bygd opp frem til den maksimale benmassen normalt oppnås rundt 20-årsalderen både hos menn og kvinner. I denne fasen er bendannelsen større enn bennedbrytning. Etter vekstfasen følger en fase med stabil benmasse, og fra 40-årene starter et aldersbetinget tap av benmasse (14). Rundt menopause har kvinner en periode med akselerert bentap, men senere skjer bentapet med omtrent samme hastighet hos kvinner og menn (15). Ved balansert remodellering er det en likevekt mellom benoppbygning og bennedbrytning. Gammelt benvev blir erstattet av et nytt, og mikrobrudd som oppstår blir reparert. Når man blir eldre forstyrres likevekten og det blir brutt ned mer benvev enn det blir dannet nytt (figur 1). Vedvarende nedbrytning av benvev skaper patologiske tilstander i skjelettet, slik som osteoporose, som også utvikles sekundært til kroniske tarm- og nyresykdommer og fremstår som bivirkning under medikamentell behandling (16).

Faktorer som påvirker remodelleringen er blant annet hormonelle forhold, ernæring og fysisk aktivitet (14). Det er kjent at hormoner som østrogen (17), Parathyroideahormon (PTH) (18) og kalsitriol ( $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ) (18) er faktorer som påvirker benremodelleringen. Østrogen har en direkte effekt på benceller ved at de binder seg til intracellulære reseptorer (estrogen receptor alpha -  $\text{ER}\alpha$ ) i osteoblastene og osteoklastene (17). PTH er det overordnede hormon som via cellemembranreseptorer på osteoblastene styrer benremodelleringen. Fysiologisk er PTH-sekresjon periodisk og det har en anabol virkning på skjelettet. Vedvarende høy utskillelse av PTH som f.eks. ved parathyreoideaadenom eller kronisk nyresykdom medfører en progressiv benresorpsjon med skjelettsykdom til følge.  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  øker kalsiumtransporten fra tarm til blod og spiller også en viktig rolle i reguleringen av kalsiumhemostasen (18). PTH stimulerer nyrene til å produsere  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ . Er det lite vitamin D tilgjengelig må PTH opprettholde kalsiumnivåene i serum på en annen måte. PTH kan forsterke dannelsen av RANKL som stimulerer osteoblastene og osteoklastene og øker mobiliseringen av kalsium fra skjelettet. RANKL signaliserer til preosteoklaster gjennom dets RANK-/RANKL-interaksjon slik at osteoklastene stimuleres til å frigi  $\text{H}^+$  og enzymer. Dermed hydrolyseres hydroksyapatitten og utskilte proteaser løser opp kollagen matriks. En langvarig økning i osteoklastaktivitet resulterer i vedvarende nedbrytning av benvev som igjen kan forårsake osteopeni og osteoporose (19). Det er vist at også osteocytene kan gi

resorpsjon ved utskillelse av ulike fosfataser og kan dermed frigjøre kalsium fra skjelettet (20).

### 1.2.2. Definisjon

Verdens Helseorganisasjon (WHO) nedsatte en gruppe i 1994 som definerte osteoporose (benskjørhet) basert på bentetthet eller bone mineral density (BMD) målt ved hjelp av kvantitativ røntgenanalyse (DXA-Dual Energy X-ray Absorptiometry) (21). Cut-off verdiene angis i T-Score. T-Score er per definisjon antall standardavvik personens BMD ligger fra gjennomsnittet hos friske unge kvinner eller menn.

Definisjon av osteoporose:

Stadium 1: Normal, T-score  $>-1,0$  SD

Stadium 2: Osteopeni, T-score  $-1,0$  -  $-2,5$  SD

Stadium 3: Osteoporose, T-score  $\leq -2,5$  SD

Stadium 4: Etablert osteoporose, T-score  $\leq 2,5$  SD og tidligere minst ett lavenergi-brudd.

### 1.2.3. Forekomst

På bakgrunn av bentetthetsmålinger er det i Norge beregnet at ca. 240 000-300 000 nordmenn har osteoporose (1). Rundt om i verden vil en av fem menn og en av tre kvinner få et osteoporotisk brudd i løpet av livet (22). I Oslo vil 50 % av alle kvinner og 25 % av alle menn over 50 år oppleve minst en fraktur på grunn av osteoporose (1). Den mest alvorlige følgen av osteoporose er hoftebrudd og det er de skandinaviske land, og da spesielt Norge, som har de høyeste forekomstene med ca. 9000 brudd i året (1). Nasjonalt hoftebruddsregister samler inn data om pasienter som er operert for hoftebrudd i Norge. Denne viser at gjennomsnittsalderen for de som blir operert for hoftebrudd er 80 år og at 70 % av de som blir operert er kvinner (23).

### 1.2.4. Konsekvenser

Osteoporose disponerer sterkt for brudd som kan oppstå uten ekstra belastning, og det mest alvorlige er hoftebrudd. For de som rammes har det en betydelig konsekvens i form av smerte, funksjonssvikt og tap av helse relatert livskvalitet. En undersøkelse på norske pasienter over 50 år innlagt med hoftebrudd på to av de største sykehusene i Norge fra 1996

til 1997, viser at hoftebrudd har store konsekvenser både for pasientene og for samfunnet (24). Pasienter med hoftebrudd er gjerne eldre mennesker som i tillegg har andre sykdommer som medfører økt risiko for død i forbindelse med en operasjon. Av de som overlever hoftebruddet vil 30 % etter tre år trenge hjelpemidler. En betydelig andel av pasientene er heller ikke i stand til å leve i sitt eget hjem ett år etter at de var innlagt med hoftebrudd (24). En prospektive studie av hoftebrudd i Danmark fant at dødeligheten var på 20 % i løpet av det første året etter et hoftebrudd (5). Nasjonalt hoftebruddsregister har også vist at femårsdødeligheten er på hele 60 % etter et hoftebrudd (23).

Et hoftebrudd medfører ikke bare store konsekvenser for de som rammes, men gir også store samfunnsøkonomiske utfordringer. I 2014 ble det utgitt en rapport som handlet om kostnadene som er forbundet med hoftebrudd blant hjemmeboende over 70 år (3). Den viste at i det første året etter et hoftebrudd utgjør direkte helsetjenestekostnader i gjennomsnitt 500 000 kr. Etter to år øker totalkostnadene som følge av hoftebrudd til 800 000-1 000 000 kr, og dette er utgifter som staten og kommunene dekker. Totale hospitale utgifter i forbindelse med behandling av osteoporotiske brudd angis til 1,2 milliarder kroner per år. I Europa er byrden av osteoporose regnet som større enn byrden ved de fleste kreftformer sett i lys av tapte leveår og funksjonstap hos overlevende (25).

#### 1.2.5. Årsaker og risikofaktorer

Bentettheten er 60-80 % genetisk bestemt (26). Livsstilsfaktorer og sykdom vil kunne redusere den genetisk maksimale bentetthet vi kan oppnå, og vil også kunne medføre akselerert bentap i voksen alder (27). De viktigste risikofaktorene for lav bentetthet og fraktur er kjønn, alder og fall, etnisitet, fysisk aktivitet og vekt (28). Andre risikofaktorer er høyt inntak av alkohol og kaffe, røyking og lavt inntak av kalk og vitamin D (29).

Forekomsten av osteoporose og risiko for fraktur er høyere hos kvinner enn hos menn. Årsaken til dette kan være at menn har høyere maksimal BMD og tåler bedre å tape benmasse enn kvinner som har mindre benmasse som utgangspunkt (30). Med økende alder, økt grad av osteoporose og større tendens til å falle øker også risikoen for hoftebrudd (31). De fleste hoftebrudd hos eldre er relatert til osteoporose, og rundt 90 % oppstår i forbindelse med et fall (32). Når det gjelder etnisitet er bruddrisikoen størst hos hvite europeiske kvinner, nord-amerikanske kvinner og asiatiske kvinner, mens afroamerikanske kvinner har lavere risiko og har også en høyere maksimal bentetthet (22). Lav BMI (Body Mass Index) og fysisk

inaktivitet er begge risikofaktorer for hoftebrudd (33). Hos både menn og kvinner er trening og fysisk aktivitet når skjelettet er i vekst assosiert med økning i maksimal beinmasse (34). Hos middelaldrende og eldre kvinner og menn er det vist at fysisk aktivitet er assosiert med redusert risiko for fraktur i vekt bærende deler av skjelettet (35). Røyking påvirker BMD negativt og øker risikoen for fraktur (36).

#### 1.1.1. Behandling

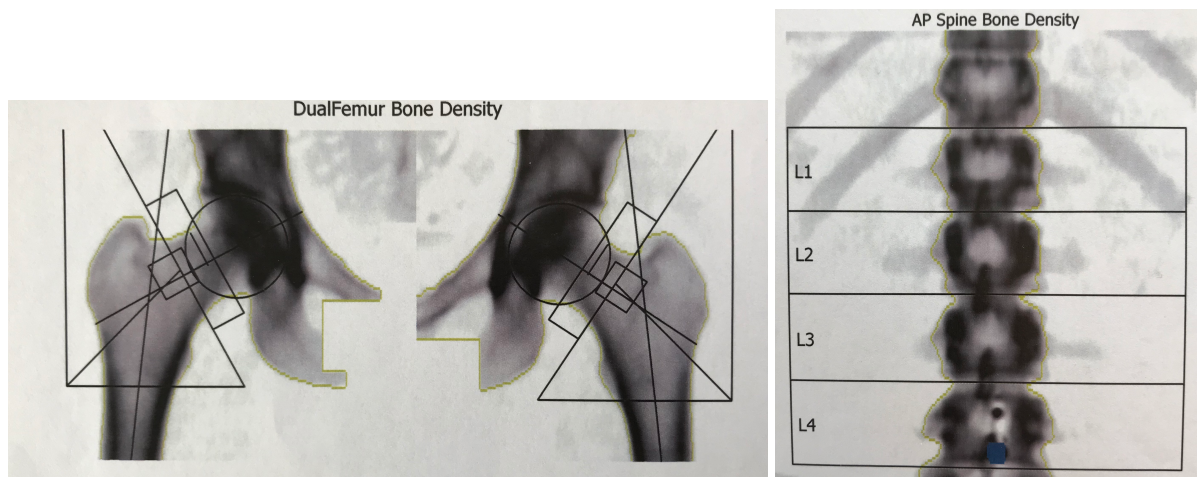
Behandling av osteoporose kan deles inn i forebygging (primær- og sekundærprofylakse) og behandling (tertiærprofylakse). Basis i all behandling av osteoporose er kalsium og vitamin D. Prinsippene for medikamentell behandling av osteoporose er å hindre videre benresorpsjon (antiresorpsjonsbehandling) og bygge nytt ben (anabol behandling) (37). Som antiresorpsjonsmidler regnes kalsium/vitamin D, bisfosfater og ulike biologiske preparater som består av humaniserte antistoffer rettet mot f.eks. RANK-/RANKL-systemet. Ved å hemme resorpsjonen oppnår man å vedlikeholde benmassen, men den øker i liten grad. Anabol behandling representert ved PTH gitt som injeksjon en gang daglig (periodisk) gir sterkt øket nydannelse slik at BMD kan stige mer enn 10 % på 2 år (38).

#### 1.1.2. Undersøkelse og diagnose

Osteoporose oppstår stille og skjer progressivt. Det er som regel ingen symptomer før man eventuelt får en fraktur. Målet med diagnostisering er å kunne starte behandling av osteoporose for å forebygge fremtidige brudd. En gullstandard for diagnostikk av osteoporose er bentetthetsmåling med DXA-skanning av rygg, hofte og lårhals (figur 4). DXA er en type dobbelt røntgenabsorpsjonsmetri hvor det benyttes to ulike lavenergiske røntgenstråler. Røntgenstrålen med høyest energi går gjennom benvev og bløtvev mens røntgenstrålen med lavest energi går kun gjennom bløtvev. Differansen i strålegjennomgangen blir et uttrykk for bentettheten.

Resultatene man får fra en DXA-skanning inkluderer blant annet BMD ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ), T-score og Z-score. Forskjellen mellom T-score og Z-score er at T-score per definisjon er antall standardavvik personens BMD ligger fra gjennomsnittet hos friske unge kvinner eller menn. Z-score derimot er antall standardavvik personens BMD ligger fra gjennomsnittet hos de med samme alder som pasienten.





Figur 4: Bilde av hofte og lumbaldel i ryggen ved DXA-måling

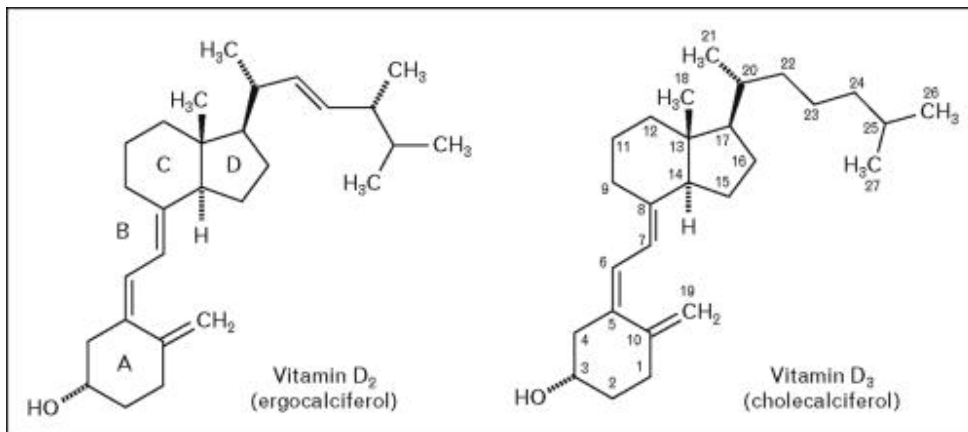
Andre metoder som kan benyttes til bentetthetsmåling er singel røntgenstråle måling (SXA) av radius, ultralyd av calcaneus og røntgenometri (DXR) av metacarper samt computertomografi (CT) (39).

Den viktigste komplikasjonen og indikatoren på osteoporose er forekomsten av lavenergifraktur. Derfor står frakturutredning sentralt i diagnostikk av osteoporose. WHO har utviklet tilnærmingen FRAX for å predikere frakturer. Denne tilnærmingen baserer seg på pasientens kliniske risikofaktorer og BMD-måling av lårhalsen. FRAX gir et estimat av fremtidig absolutt risiko for lårhalsbrudd og andre større osteoporotiske brudd (39).

## 1.1. Vitamin D

### 1.1.1. Hva er vitamin D?

Vitamin D er et fettoppløselig steroidhormon som finnes i to varianter: vitamin D2 (ergokalsiferol) og vitamin D3 (kolekalsiferol) (40). Forskjellen mellom disse ligger i en dobbeltbinding og en metylgruppe i den kjemiske strukturen (figur 5). Vitamin D2 tilføres med kosten eller kan tas som kosttilskudd. Man finner hovedsakelig vitamin D2 i planteriket, blant annet i sopp, men dette er ikke en vanlig kilde i Norge. Vitamin D3 blir tilført gjennom animalsk næring fra blant annet fet fisk, torskelerver, tran og eggeplomme, og det finnes også som tilsetning i melk og margarin. For en stor del av verdens befolkning vil den viktigste kilden være egenproduksjon av vitamin D3 syntetisert fra 7-dehydrokolesterol (7-DHC) i huden når den blir eksponert for UVB-lys med bølgelengde 290-315 nm (41).

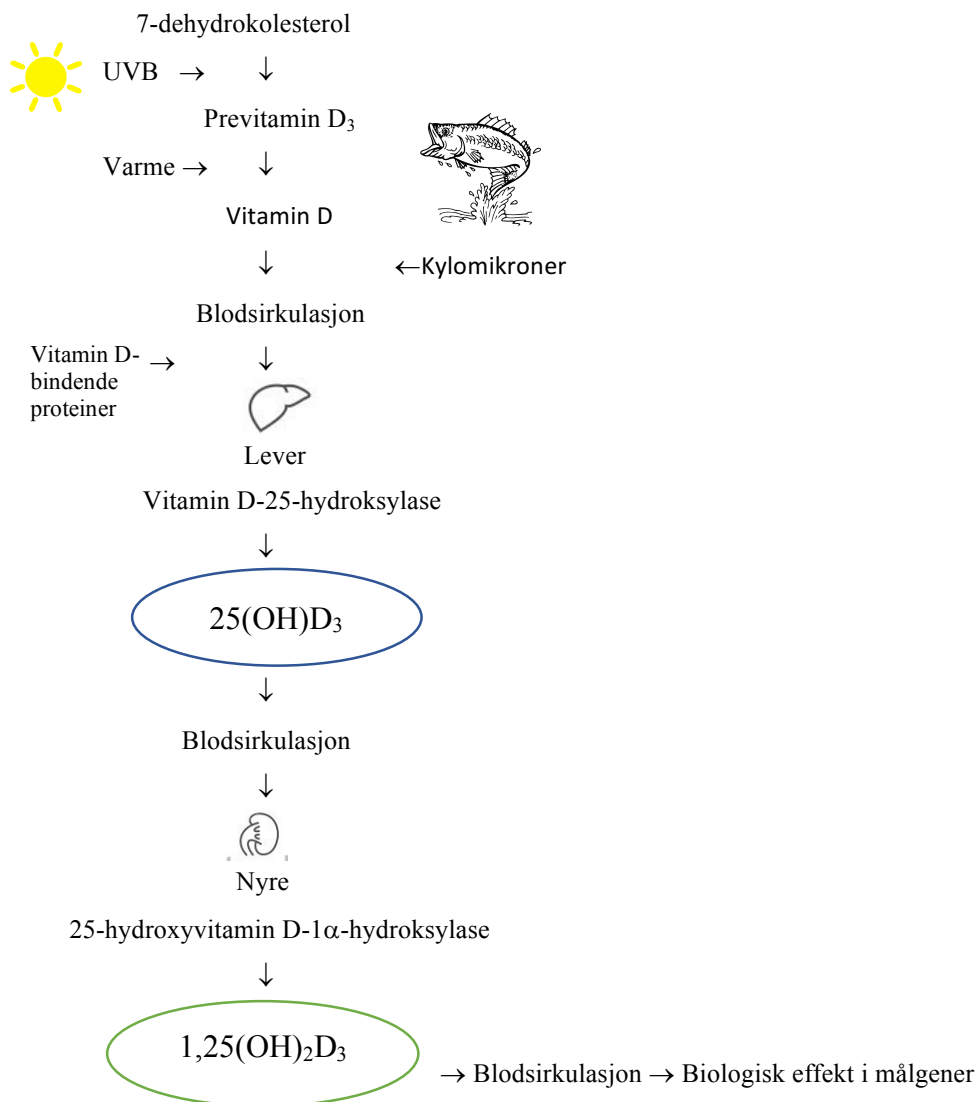


Figur 5: Kjemisk struktur av vitamin D<sub>2</sub> og vitamin D<sub>3</sub>. Kilde: Boullata, I.J (2010): *Vitamin D supplementation: a pharmacologic perspective*.

### 1.1.2. Vitamin D metabolisme

Vitamin D må hydroksyleres både i leveren og i nyrene for å danne den biologisk aktive 1,25-dihydroksey-vitamin D<sub>3</sub> (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>). Det er denne formen av vitaminet som har biologisk aktivitet, og det virker som et steroidhormon med reseptorer i målorganers cellekjerner.

Når huden blir eksponert for UV-lys blir 7-DHC i huden konvertert til previtamin D<sub>3</sub>, som igjen blir konvertert til vitamin D<sub>3</sub> via en varmeavhengig prosess (41). Vitamin D (vitamin D<sub>2</sub> og vitamin D<sub>3</sub>) som blir tilført gjennom kosten blir inkorporert i kylomikroner og transportert via lymfesystemet inn i blodsirkulasjonen (40). Vitamin D syntetisert i huden eller tilført gjennom kosten blir lagret i og frigjort fra fettceller (42). I blodsirkulasjonen er vitamin D bundet til vitamin D bindende protein (DBP). Ved hjelp av DBP blir vitamin D transportert til leveren hvor vitamin D hydroksyleres av D-25-hydroxylase (25-OHase) til 25-hydroksey-vitamin D<sub>3</sub> (25(OH)D<sub>3</sub>). 25(OH)D<sub>3</sub> er biologisk inaktiv og må videre hydroksyleres i nyrene av 25-hydroxyvitamin D-1 $\alpha$ -hydroksylase (1-OHase, også kjent som CYP27B1) for å aktiveres til den aktive formen for vitamin D; 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (41) (figur 6).



Figur 6: Enkel skjematisk oversikt over vitamin D metabolismen. Modifisert etter Holick, M (2008): *Vitamin D: a D-lightful health perspective*.

I dyr og mennesker virker 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> gjennom Vitamin D-reseptor (VDR), en ligandaktiverende transkripsjonsfaktor som man finner i nyrene og i mange andre vev. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> bundet til VDR kontrollerer genekspressjon og stimulerer syntesen til en rekke proteiner i blant annet tarmcellene, nyrecellene og i bencellene (43). 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> øker transporten av kalsium fra tarm og nyrelumen til blod (44). Den renale produksjonen av 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> blir regulert av serum kalsiumnivåer og fosfat, samt av PTH (40). VDR har viktige funksjoner i en rekke vev som bein, muskler, bukspyttkjertel og hypofysen (44).

Når det gjelder UV-lys og vitamin D<sub>3</sub>-syntesen er det ikke alle bølgelengder som kan indusere produksjon av vitamin D<sub>3</sub> i hud. Ultrafiolett stråling består av både UVA- og UVB-

stråler. UVB-strålene finnes i bølgelengdeområdet 280-320 nm, og det er dette bølgelengdeområdet som ansees som optimal i forhold til vitamin D-syntesen i huden (41). Derfor vil breddegraden man befinner seg på ha en innvirkning på hvor mye UVB-fotoner man blir eksponert for. Hvor mye UVB-fotoner som når jordens overflate påvirkes av solens vinkling i forhold til jorden og ozonlaget som absorberer UVB-stråler (45). Dette forklarer hvorfor previtamin D<sub>3</sub>-produksjonen varierer med hvilken breddegrad man befinner seg på, hvilken årstid man er i samt tid på dagen. I nordlige breddegrader vil man ikke klare å bli eksponert for nok sol i vinterhalvåret. Dette betyr igjen at i Norge vil kostholdet være avgjørende for at man får i seg tilstrekkelige mengder med vitamin D siden sollyset ikke kan syntetisere tilstrekkelig vitamin D i huden annet enn i noen få måneder av året (46).

Alder har også innvirkning på UVB-lysets vitamin D-syntese i huden. Konsentrasjonen av 7-DHC i huden er lavere hos eldre enn hos yngre. Dette resulterer i at det hos eldre blir produsert mindre vitamin D<sub>3</sub> sammenlignet med hos yngre når huden blir utsatt for sol (47).

#### 1.1.3. Vitamin D og funksjon

Hovedfunksjonen til vitamin D er å opprettholde kalsiumhomeostasen ved å øke opptaket av kalsium fra tarmen (14). Lavt kalsiumnivå stimulerer PTH-syntesen og utskillelsen fra biskjoldbruskkjertelen. Dette fører til økt produksjon av 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> i nyrene. Lavt nivå av serum 25(OH)D<sub>3</sub> gir derfor kompensatorisk PTH-økning, som er den viktigste regulator av Ca<sup>2+</sup>-konsentrasjonen i blodet.

#### 1.1.4. Måling av Vitamin D

Det finnes ulike måter å måle serumkonsentrasjon av 25(OH)D<sub>3</sub> og 25(OH)D<sub>2</sub>. Mange norske laboratorier benytter væskechromatografi-tandem massespektrometri (LC-MS/MS) og immunoassay.

##### 1.1.4.1. LC-MS/MS

Ved LC-MS/MS blir 25(OH)D<sub>3</sub>, 25(OH)D<sub>2</sub> og eventuelle interferenser separert på omvendt-fase LC. Deteksjon skjer med elektropray-MS/MS (MRM), og den absolutte analyttkonsentrasjonen måles direkte på bakgrunn av ladning og masse. Denne metoden bestemmer den absolutte serumkonsentrasjonen av både 25(OH)D<sub>3</sub> og 25(OH)D<sub>2</sub>. LC-MS/MS oppnår høy sensitivitet og spesifisitet da kun analytter som har definert retensjonstid

på separasjonskolonnen og danner ioner med en definert molekylvekt, blir detektert og identifisert i massespektrometeret. Interferenser kan være komponenter med samme masse som analytten.

#### 1.1.4.2. Immunoassay

Immunoassay baserer seg på en immunologisk reaksjon mellom antigen (analytt) og et antistoff. Et eksempel er elektrokjemiluminescens bindings-analyse som er en metode med et immunologisk kompetitivt prinsipp der analysen bruker et vitamin D-bindingsprotein som capture-protein for å binde 25(OH)D<sub>3</sub> og 25(OH)D<sub>2</sub>. Når det gjelder interferenser ved immunoassayanalyse kan den immunologiske reaksjonen gi kryssreaksjoner mellom antistoff og andre komponenter i prøven, f.eks. 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub> og 24,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>2</sub>/D<sub>3</sub>. En beskrivelse og dokumentasjon av antistoffspesifisiteten som mål på kroppens reaksjon er derfor viktig.

#### 1.1.5. Hvilket nivå av vitamin D er riktig?

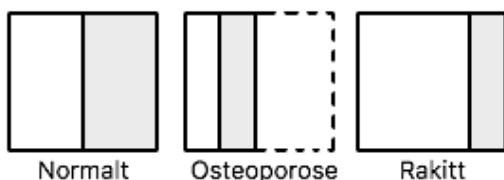
I 2010 ble det gjort en landsomfattende kostholdsundersøkelse blant menn og kvinner i alderen 18-70 år i Norge. Denne viste at det gjennomsnittlige inntaket av vitamin D ligger på 6 µg/dag for menn og 4,9 µg/dag for kvinner (48). Dette er lavere enn de nordiske anbefalingene for daglig vitamin D-inntak. Deres anbefalinger ligger på 10 µg (400 IE) for barn og voksne opp til 74 år, og 20 µg (800 IE) for eldre over 75 år (49).

Når det gjelder konsentrasjonen av vitamin D i blodet er det en pågående diskusjon om hva som er fysiologisk tilstrekkelig. Den vanligst benyttede serum biomarkør for vitamin D-status er 25(OH)D<sub>3</sub>. Serumkonsentrasjon av 25(OH)D<sub>3</sub> er opptil 1000 ganger høyere enn den aktive 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>, og har en halveringstid på to til tre uker (50). Serum 25(OH)D<sub>3</sub> reflekterer også vitamin D fra både syntesen i huden, og fra kostholdet (51). Halveringstiden til 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> er på rundt fire timer og representerer dårlig kroppens vitamin D lager. Måling av denne analytten kan derfor ikke benyttes til å monitorere pasientenes vitamin D-status (50). I Norge har en arbeidsgruppe for nasjonalt råd for ernæring satt grenseverdien for tilfredsstillende serum vitamin D-nivå til 25(OH)D<sub>3</sub> >50 nmol/L, og grensen for vitamin D-mangel til 25(OH)D<sub>3</sub> <25 nmol/L (48). Dette er grenseverdier som blant annet er bestemt på bakgrunn av hvilke nivåer av 25(OH)D<sub>3</sub> som fører til en økning i PTH. I 2011 publiserte The American Institute of Medicine retningslinjer for inntak av kalsium og vitamin D gjennom kosten. Konklusjonen etter litteraturgjennomgang var at serum 25(OH)D<sub>3</sub>-nivåer >50 nmol/l

sannsynligvis dekker behovet hos 97,5 % av befolkningen når det gjelder effekt på benhelse (52). En rekke vev i kroppen har VDR for den aktive formen av vitamin D,  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . Mange av disse vevene innehar også enzymet 1-OHase. 1-OHase aktivitet konverterer fritt sirkulerende  $25(\text{OH})\text{D}_3$  til aktivt  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , men med lavere affinitet slik at det kreves et høyere nivå av serum  $25(\text{OH})\text{D}_3$ . En del eksperter mener derfor at  $>75$  nmol/L bør være anbefalt nivå, men det er foreløpig mangelfull dokumentasjon på dette (53). National Osteoporosis Foundation, American Assosiation for Clinical Endocrinologists og The American Geriatric Society har alle foreslått at et  $25(\text{OH})\text{D}_3$ -nivå på  $>75$  nmol/l bør være et anbefalt nivå for tilstrekkelig og optimal mengde vitamin D (42).

#### 1.1.6. Konsekvenser av vitamin D-mangel

Det finnes flere studier som viser en statistisk korrelasjon mellom lave nivåer av serum vitamin D og økt risiko for ulike typer sykdommer. En statistisk sammenheng betyr ikke det samme som årsakssammenheng og vitamin D sin rolle må i tilfelle bekreftes på annen måte. Alvorlig mangel av vitamin D hos barn kan føre til misdannelser av skjelettet, også kjent som rakitt, som ble oppdaget i London på 1800-tallet ("engelsk syke"). Røyk fra begynnende industri hindret tilgang på sol og vitamin D-dannelse i London. Det gikk mest ut over det voksende skjelettet hos barn, som endte opp med feilstillinger i ben og rygg på grunn av underforkalket skjelett selv om skjelettets organiske innhold var normalt (19) (figur 7).



Figur 7: Illustrasjon over normalt benvev, osteoporotisk benvev og benvev hos pasienter med rakitt. I normalt benvev er ca. 40 % organisk og 60 % forkalket ben. Ved osteoporose vil det være mindre ben pr. volumenhet, men benet er normalt forkalket. Ved rakitt er normalt ben underforkalket.

Vitamin D-mangel kan gi økt risiko for osteoporose (54). Det er også vist at mangel på vitamin D kan gi proksimal muskelsvekkelse og økt fallrisiko (55). En randomisert kontrollert studie har vist at tilskudd av vitamin D kan gi økt muskelstyrke, bedre balanse og minsker risikoen for fall og brudd. Andre studier har vist at det er en assosiasjon mellom vitamin D-mangel og økt dødelighet (56), risiko for multippel sklerose (57), risiko for diabetes (58) og for flere typer cancer (59).

Det kan være mange årsaker til vitamin D-mangel, men de viktigste er lavt inntak, lite soleksponering, økt metabolisering eller perifer resistens (60). I Norge i dag er det særlig hos innvandrere fra Sørøst-Asia og Nord-Afrika, og hos institusjonaliserte eldre som er lite ute, man finner svikt i vitamin D-tilførsel og vitamin D-mangel (61).

At vitamin D i de senere år har fått påvist en rekke positive medisinske tilleggseffekter, samt legenes bevissthet rundt risikoen for mangel av vitamin D i Norge, kan gjenspeiles i mengden rekvirerte analyser av serum vitamin D på Laboratorium for Medisinsk Biokjemi ved Lovisenberg Diakonale Sykehus (LDS). I 2010 ble det rekvirert 597 serum vitamin D-analyser (25(OH)D<sub>3</sub>) på LDS, mens antallet serum vitamin D-analyser i 2016 var på 7982. Det vil si at i løpet av de siste seks år har det vært ca.13 ganger økning i antall serum vitamin D-analyser på LDS.

#### 1.1.3. Vitamin D og osteoporose

1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> er involvert i en rekke trinn i benremodelleringsprosessen, og både enzymet 1-OHase og VDR finnes i benceller (44).

*In vitro*-forsøk har blant annet funnet at 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> forsterker koblingen og kommunikasjonen mellom osteoklaster og osteoblaster (62). Behandling med 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> hindrer svekkelsen av osteoplastenes funksjon ved cellulær aldring (63), og lokalproduksjon av 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> er viktig i differensieringen av osteoblaster fra benmargen (64).

Vitamin D og kalsium blir generelt benyttet som førstelinjeterapi for mennesker med risiko for osteoporotiske frakturer, men effekten av vitamin D på BMD er fortsatt uklar. Det kan være essensielt å evaluere pasientenes vitamin D-nivåer av flere grunner. Vitamin D-mangel hos osteoporotiske pasienter kan forårsake økt demineralisering av skjelettet som igjen resulterer i redusert benmasse og større risiko for fraktur. Det er også viktig at pasienter med osteoporose har tilstrekkelige mengder vitamin D for at antiresorptive og anabole medikamenter skal ha best mulig effekt (65). Flere studier har funnet en sammenheng mellom serum 25(OH)D<sub>3</sub> og BMD (66-70), mens andre studier ikke har funnet en slik sammenheng eller korrelasjon mellom serum 25(OH)D<sub>3</sub> og BMD (71-74).

## 2. Formål med oppgaven

Formålet med oppgaven er å få økt innsikt i mulig sammenheng mellom serum vitamin D-konsentrasjoner og BMD hos et utvalg personer over 45 år undersøkt ved Laboratorium for Medisinsk Biokjemi, LDS. LDS er lokalsykehus for bydelene Gamle Oslo, Grünerløkka, Sagene og St. Hanshaugen. Pasienter henvises hit til vitamin D-analyse fra fastleger og spesialister. I tillegg har sykehuset ansvar for klinisk biokjemisk diagnostikk ved flere sykehjem.

### 2.1. Problemstilling

Er det en sammenheng mellom serum  $25(\text{OH})\text{D}_3$  og bentetthet målt som BMD i en voksen Oslobefolkning, og i tilfelle, hvordan kan sammenhengen best beskrives? Hvordan er serum vitamin D-nivåene korrelert til bentetthet og morfologiske parametere som alder og BMI hos en vanlig urban populasjon menn og kvinner over 45 år?



## 3. Utvalg, etikk, studiedesign og metode

### 3.1. Hofteprosjektet

Materialet som ble benyttet i denne masteroppgaven er hentet fra et større forskningsprosjekt kalt Hofteprosjektet ved LDS. Prosjektet startet i 2010, og formålet med denne studien er å øke forståelsen for hvilke gener som er av betydning for BMD og utvikling av osteoporose. Man ønsket å karakterisere gener som er uttrykt i lårhalsen og som er korrelert med bentetthet og brudd. I Hofteprosjektet vil man sammenligne genuttrykk i osteoporotisk ben fra lårhalsbruddstedet med ikke-osteoporotisk ben. Det ikke-osteoporotiske benet blir hentet fra personer som får kunstig hofte som følge av artrose. Innsamling av serum og benbiopsi vil kunne danne grunnlag for utvikling av bedre diagnostiske hjelpemidler for osteoporose, og for utvikling av ny behandling. Prosjektet er ledet av Kaare M. Gautvik.

### 3.2. Utvalg

De som har blitt invitert til å delta i hofteprosjektet er kvinner og menn i alderen 45-85 år som kommer inn til kirurgisk behandling for akutt lårhalsbrudd. I tillegg har også pasienter som er innlagt for planlagt operasjon for hofteleddsartrose med innsetting av protese blitt invitert til å delta. Dette materialet er grundig vurdert ved hjelp av klinisk undersøkelse, samt utvidet spørreskjema og intervju rundt kliniske faktorer, kostholdstilskudd og medisiner som kan påvirke skjelettet.

Eksklusjonskriterier:

- Thyreotoksikose
- Primær hyperparathyreodisime
- Nyresykdom
- Kreft
- Osteomalasi
- Kronisk tarmsykdom
- Bruk av kortikosteroider

### 3.3. Etikk

Hofteprosjektet er godkjent av De regionale komiteer for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk (REK) (REK nr.: 2010/2539). Deltakerne i prosjektet har signert et informert samtykkeskjema med bakgrunnsinformasjon om studien, fordeler og ulemper, hva som skjer

med blod- og vevsprøver og deltakerens informasjon, personvern, biobank, økonomi og forsikring. All informasjon om pasientene er anonymisert. Hovedveileder Kaare M. Gautvik sikret at bruken av dataene for å besvare problemstillingen til denne masteroppgaven ligger innenfor den REK-godkjenning som allerede foreligger for Hofteprosjektet.

Rådata hentet fra hovedstudien er lagt inn manuelt og bearbeidet av undertegnede.

Datamaterialet ble lagret på Lovisenbergs Diakonale sykehus egen forskningsserver, og det er kun de som arbeider med prosjektet som har tilgang til dataene.

### 3.4. Studiedesign

Masteroppgaven er en tverrsnittundersøkelse med et observerende design der det er benyttet rådata fra hovedstudien.

### 3.5. Metode

#### 3.5.1. Måling av vitamin D

25(OH)D<sub>3</sub> ble målt i serum ved Hormonlaboratoriet på Aker Sykehus og ved Laboratorium for Medisinsk Biokjemi på LDS. Prøvene ble kjørt i rutine og med daglig intern kvalitetskontroll. Ved Aker Sykehus analyseres vitamin D ved hjelp av LC-MS/MS.

Referanseområde for barn og voksne er 37-131 nmol/l, mens metodens måleområde er 12-1211 nmol/l (25(OH)D<sub>3</sub>). Ved Laboratoriet på LDS analyseres Vitamin D på Cobas 6000, e-601, ved hjelp av en elektrokjemiluminenscens bindings-analyse. Metodens måleområde er 7,50-175 nmol/l (25(OH)D<sub>3</sub>).

#### 3.5.2. DXA-måling

Benmineraltetthet i ryggstøyle, hofte og helkropp ble målt ved hjelp av et DXA-instrument og er uttrykt som gram kalsium/cm<sup>2</sup>, som betegnes Bone Mineral Density (BMD). DXA-instrumentet som ble benyttet i studien var en Lunar Prodigy fra GE Healthcare, DF+12649 (Lunar 4). Måling ble utført av fagbioingeniør eller bioingeniør med opplæring i DXA-måling. DXA-målingen ble gjort i daglig rutine der standard prosedyrer ble fulgt og det ble gjort daglig kalibrering. Presisjonen i målingene mellom de to som utførte arbeidet er bedre enn 3 %.

DXA-måling av ryggsoylen inkluderte lumbaldelen i ryggen (lendevirvel L2- lendevirvel L4). DXA-måling av hoften inkluderte trokanter, lårhalsen og intertrokantært område (hofte total). Ved måling av hofte ble gjennomsnitt av venstre og høyre hofte benyttet til analysene. Dersom pasienten hadde hofteprotese i en av hoftene ble målingen av den gjenværende hoften benyttet til analysene. I tillegg ble resultatene fra DXA-måling av kroppen som helhet (total kropps-BMD) benyttet til analysene.

Programvaren til DXA-instrumentet, Lunar iDXA enCORE versjon 12.30, kalkulerte T-score på bakgrunn av referanseverdier fra USA.

### 3.5.3. Statistiske analyser

Statistisk behandling av datamaterialet ble gjort med SPSS versjon 24. Signifikansnivået ble satt til  $p < 0,05$ .

Analyseresultatene oppsummeres i tabeller og blir uttrykt som antall/frekvens (n) og prosentandel for kategoriske data, og som gjennomsnittsverdier  $\pm$  standardavvik (SD) og minimums- og maksimumsverdi for kontinuerlige data.

Serum 25(OH)D<sub>3</sub>-nivåene ble analysert som kontinuerlig variabel (nmol/l), og som kategoriske variabler der de var stratifisert etter klinisk cut-off: vitamin D-mangel (<50 nmol/l), suboptimalt nivå (50-75 nmol/l) og optimalt nivå (>75 nmol/l). Dette er de nivåene som vanligvis brukes i forskningsprosjekter da de best reflekterer assosiasjonen mellom serum 25(OH)D<sub>3</sub> og BMD (50).

Bentetthet og graden av osteoporose ble analysert som kontinuerlig variabel ( $\text{g/cm}^2$ ) og som kategoriske variabler basert på T-score; normal (T-score:  $\geq -1\text{SD}$ ), osteopeni (T-score:  $< -1 > - 2,5\text{SD}$ ) og osteoporose (T-score:  $< -2,5\text{SD}$ ). Jeg valgte å benytte T-score for å analysere graden av osteoporose siden T-score er den internasjonalt vanligste måte å beskrive benmineralitet eller BMD og er nær knyttet til benets mekaniske styrke. T-score er benyttet i de fleste internasjonale arbeider for å beregne sammenhengen mellom bentetthet og bruddrisiko. Et alternativ hadde vært å benytte Z-score som sammenligner BMD med hva som er normalt for en frisk person på samme alder. De fleste personer viser en aldersavhengig reduksjon i BMD, og Z-score vil derfor være misvisende i denne sammenhengen.

Dataene ble undersøkt for normalfordeling ved hjelp av Kolmogorov-Smirnov og Shapiro-Wilk tester, understøttet av histogrammer. Ikke alle data var normalfordelte, så det ble benyttet både parametriske- og ikke-parametriske tester. Sammenheng mellom variabler ble undersøkt med Pearson r- og Spearman rho korrelasjonstest. Sammenligning av tre grupper på rationivå ble analysert ved hjelp av enveis variasjonsanalyser (enveis-ANOVA eller Welch-ANOVA). Tukey test ble benyttet for å identifisere hvilke grupper som var signifikant forskjellige fra hverandre. Kategoriske variabler i ulike subgrupper ble sammenlignet ved hjelp av kji-kvadrattest. Det ble også kjørt multiple regresjonsanalyser.

## 4. Resultater

### 4.1. Serum 25(OH)D<sub>3</sub>: Sammenligning mellom Aker- og LDS-metodene

Ved implementering av serum 25(OH)D<sub>3</sub>-analysen på LDS, ble resultatene sammenlignet mot metoden benyttet ved Hormonlaboratoriet på Aker Sykehus, da dette er en akkreditert metode. Førtifem prøver ble analysert både hos LDS og hos Aker Sykehus, og det ble funnet at resultatene ikke er direkte sammenlignbare over hele måleområdet. Ved serum 25(OH)D<sub>3</sub>-konsentrasjoner opp til 50 nmol/l viser metodene meget god overensstemmelse. Med økende serumkonsentrasjoner gir metoden på LDS høyere svar. I denne oppgaven blir det benyttet resultater både fra LDS og Aker Sykehus. For at resultatene skal bli sammenlignbare har 25(OH)D<sub>3</sub>-resultatene på Aker Sykehus blitt transformert ved hjelp av regresjonslikning etablert ved metodesammenligningen (vedlegg 1).

### 4.2. Demografiske data

186 kvinner og menn en gjennomsnittsalder på 70,5 år (44,8 år til 89,9 år, SD=7,9) ble inkludert i oppgaven. Av disse var 76 menn med en snittalder på 69,4 år (SD 7,4) og 110 kvinner med en snittalder på 71,4 år (SD 8,3). Tabell 1 viser distribusjonen av de kontinuerlige variablene slik som alder (år), serum 25(OH)D<sub>3</sub> (nmol/l), BMD (g/cm<sup>2</sup>) for L2L4, Hofte total og total kropps-BMD samt BMI (kg/m<sup>2</sup>) for menn og kvinner og for hele utvalget samlet.

Tabell 1: Oversikt over utvalget. Kontinuerlige variabler oppgitt i antall, gjennomsnitt  $\pm$  standardavvik, og minimum- og maksimumsverdi.

Variabel	Kategori	Antall	Gjennomsnitt $\pm$ SD	Minimum- maksimumsverdi
<b>Alder (år)</b>	Menn	76	69,4 $\pm$ 7,4	54,2-89,5
	Kvinner	110	71,4 $\pm$ 8,3	44,8-89,9
	Totalt	186	70,5 $\pm$ 7,9	44,8-89,9
<b>Serum 25(OH)D<sub>3</sub> (nmol/l)</b>	Menn	69	75 $\pm$ 29	18-147
	Kvinner	107	80 $\pm$ 30	28-161
	Totalt	176	78 $\pm$ 30	18-161
<b>L2L4 BMD (g/cm<sup>2</sup>)</b>	Menn	45	1,37 $\pm$ 0,21	0,90-1,88
	Kvinner	56	1,08 $\pm$ 0,22*	0,61-1,63
	Totalt	101	1,21 $\pm$ 0,25	0,61-1,88
<b>Hofte total BMD (g/cm<sup>2</sup>)</b>	Menn	68	1,08 $\pm$ 0,16	0,65-1,41
	Kvinner	100	0,85 $\pm$ 0,16*	0,51-1,24
	Totalt	168	0,94 $\pm$ 0,19	0,51-1,41
<b>Total kropps-BMD (g/cm<sup>2</sup>)</b>	Menn	76	1,32 $\pm$ 0,11	1,00-1,60
	Kvinner	110	1,09 $\pm$ 0,13*	0,74-1,34
	Totalt	186	1,18 $\pm$ 0,17	0,74-1,60
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	Menn	76	27,8 $\pm$ 4,1	20,6-43,2
	Kvinner	110	26,6 $\pm$ 4,7	16,2-40,7
	Totalt	186	27,1 $\pm$ 4,5	16,2-43,2

\*Signifikant forskjell mellom menn og kvinner  $p < 0,000$  (uavhengig t-test).

Tabell 2 viser distribusjonen av de kategoriske variablene for menn og kvinner og for hele utvalget samlet. Serum 25(OH)D<sub>3</sub> er inndelt i mangelnivå, suboptimalt nivå og optimalt nivå. BMD i L2L4, hofte total og total kropps-BMD er inndelt i normal, osteopeni og osteoporose.

Tabell 2: Oversikt over studiepopulasjonen, kategoriske variabler oppgitt i antall og andel (%).

Parameter	Menn		Kvinner		Totalt	
	Antall	%	Antall	%	Antall	%
Antall	76		110		186	
<b>25(OH)D<sub>3</sub>-nivå</b>						
Mangel (<50 nmol/l)	16	23,2	18	16,8	34	19,3
Suboptimalt (50-75 nmol/l)	18	26,1	37	34,6	55	31,3
Optimalt (>75 nmol/l)	35	50,7	52	48,6	87	49,4
<b>L2L4 BMD</b>						
Normal	41	91,1	28	26,8	69	68,4
Osteopeni	3	6,7	13	23,2	16	15,8
Osteoporose	1	2,2	15	50,0	16	15,8
<b>Hofte total BMD</b>						
Normal	55	80,9	41	41,0	96	57,1
Osteopeni	10	14,7	35	35,0	45	26,8
Osteoporose	3	4,4	24	24,0	27	16,1
<b>Total kropps-BMD</b>						
Normal	71	93,5	71	64,5	142	76,4
Osteopeni	3	3,9	22	20,0	25	13,4
Osteoporose	2	2,6	17	15,5	19	10,2

#### 4.2.1. Serum 25(OH)D<sub>3</sub>

Gjennomsnittlig serum 25(OH)D<sub>3</sub>-nivå for hele utvalget var på 78 nmol/l (SD=30). Kvinner hadde et gjennomsnittlig serum 25(OH)D<sub>3</sub>-nivå på 80 nmol/l (SD=30), mens menn hadde et gjennomsnittlig serum 25(OH)D<sub>3</sub>-nivå på 75 nmol/l (SD=29) (tabell 1). Det vil si en ikke signifikant forskjell. Av de 186 personene som er inkludert i studien opplyste 84 % om inntak av vitamin D-tilskudd, og 54 % av disse tok vitamin D tilskudd i form av tran eller tran-kapsler. De som tok vitamin D-tilskudd hadde et signifikant høyere nivå av serum 25(OH)D<sub>3</sub> enn de som ikke tok vitamin D-tilskudd (83±29 nmol/l sammenlignet med 69±27 nmol/l, p=0,004) (tabell 3).

Totalt hadde 19,3 % (n=34) av utvalget serum 25(OH)D<sub>3</sub>-verdier under 50 nmol/l. 31,3 % (n=55) hadde 25(OH)D<sub>3</sub>-verdier mellom 50 og 75 nmol/l, og 49,4 % (n=87) hadde serum 25(OH)D<sub>3</sub>-nivå over 75 nmol/l (tabell 2). Andelen menn med lave, suboptimale eller optimale serumnivåer av 25(OH)D<sub>3</sub> var ikke signifikant forskjellig fra andelen kvinner (p=0,39).

Det ble ikke funnet noen signifikante forskjeller i gjennomsnittlig serum 25(OH)D<sub>3</sub>-konsentrasjon hos pasienter med ulike BMD-nivåer (normal, osteopeni eller osteoporose) hverken i L2L4 (p=0,54), hofte total (p=0,14) eller total kropps-BMD (0,09) (tabell 3).

Tabell 3: Gjennomsnittlig 25(OH)D<sub>3</sub>-konsentrasjon (nmol/l) for hver av kategoriene i gruppene: Vitamin D-tilskudd, BMD L2L4, BMD Hofte total, BMD Total kropps-BMD, og korresponderende p-verdi.

Variabel	Kategori	N	Serum 25(OH)D <sub>3</sub> (nmol/l) (Gjennomsnitt ± SD)	P-verdi <sup>a</sup>
Vitamin D-tilskudd	Ja	80	83±29	0,004*
	Nei	68	69±27	
L2L4 BMD	Osteoporose	16	82±34	0,54
	Osteopeni	14	81±36	
	Normal	65	74±30	
Hofte total BMD	Osteoporose	27	86±38	0,14
	Osteopeni	45	80±30	
	Normal	88	73±26	
Total kropps-BMD	Osteoporose	19	87±36	0,09
	Osteopeni	24	86±34	
	Normal	133	75±28	

<sup>a</sup>Uavhengig t-test, enveis-ANOVA og Welch-ANOVA

\*Signifikant forskjell mellom de som oppga at de tok vitamin D-tilskudd og de som ikke tok tilskudd.

#### 4.2.2. BMD

Det var en signifikant forskjell i gjennomsnittlig BMD (g/cm<sup>2</sup>) mellom menn og kvinner i L2L4 (p<0,000), hofte total (p=<0,000) og total kropps-BMD (p=<0,000) (tabell 1).

I henhold til WHO's kriterier om diagnostiske cut-off-verdier (21) hadde 68,4 % (n=69) normal bentetthet, 15,8 % (n=16) osteopeni og 15,8 % (n=16) var osteoporotiske i L2L4 BMD (tabell 2). I hofte total BMD var 57,1 % (n=96) normale, 26,8 % (n=45) hadde osteopeni og 16,1 % (n=27) osteoporotiske. Når det gjelder total kropps-BMD var 76,4 % (n=142) normale, 13,4 % (n=25) hadde osteopeni og 10,2 % (n=19) var osteoporotiske (tabell 2). Dersom man stratifiserer utvalget etter kjønn hadde 50 % (n=15) kvinner og 2,2 % (n=1) menn osteoporose i L2L4, 24 % (n=24) kvinner og 4,4 % (n=3) menn osteoporose i hofte total og 15,5 % kvinner (n=17) og 2,6 % menn (n=2) osteoporose i total kropps-BMD



(tabell 2). Osteoporose målt i ryggen eller hoften viser at sykdommen forekommer ca. fem ganger hyppigere hos kvinner enn hos menn i vårt materiale hvilket er i tråd med internasjonal litteratur (75).

Det var signifikante forskjeller i gjennomsnittlig alder på pasientene mellom kategoriene osteoporose, osteopeni og normal i hofte total ( $p=0,043$ ), og i total kropps-BMD ( $p=0,034$ ) (tabell 4). Tuckey Post-Hoc-analyse indikerer at den gjennomsnittlige alderen hos de med normal BMD er signifikant lavere enn de med osteopeni. I lendevirvlene (L2L4) var det ingen forskjell i alder mellom kategoriene osteoporose, osteopeni eller normal ( $p=0,91$ ) (tabell 4).

Tabell 4: Gjennomsnittlig pasientalder (år) for hver av kategoriene osteoporose, osteopeni og normal BMD fordelt på L2L4, hofte total, total kropps-BMD samt korresponderende p-verdi.

Gruppe	Kategori	N	Alder (år) (Gjennomsnitt ± SD)	P-verdi <sup>a</sup>
BMD (klassifikasjon) L2L4	Osteoporose	16	68,5±10,2	0,91
	Osteopeni	16	69,9±7,5	
	Normal	69	69,1±9,0	
BMD (klassifikasjon) hofte total	Osteoporose	27	72,7±9,8	0,043 *
	Osteopeni	45	72,6±8,4	
	Normal	96	69,3±7,3	
BMD (klassifikasjon) total kropps-BMD	Osteoporose	19	71,5±10,5	0,034 *
	Osteopeni	25	74,8±9,0	
	Normal	142	69,7±7,1	

<sup>a</sup>Enveis-ANOVA og Welch-ANOVA

\*Signifikant forskjell i gjennomsnittlig alder på pasientene mellom kategoriene osteoporose, osteopeni og normal BMD.

### 4.3. Resultater av korrelasjonsanalyser

Sammenhengen mellom BMI ( $\text{kg}/\text{cm}^2$ ), serum 25(OH)D<sub>3</sub> (nmol/l) og BMD ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) i L2L4, hofte total og total kropps-BMD ble undersøkt ved hjelp av Pearson korrelasjonskoeffisient ( $r$ ) for parametriske data og Spearman rho korrelasjonskoeffisient for ikke-parametriske data (tabell 5).

Tabell 5: Oversikt over Pearson r- og Spearman rho korrelasjonsanalyser mellom BMI (kg/m<sup>2</sup>), serum 25(OH)D<sub>3</sub> (nmol/l), BMD (g/cm<sup>2</sup>) i L2L4, hofte total og total kropps-BMD for menn og kvinner og for hele utvalget samlet.

	Alder (år)			BMI (kg/cm <sup>2</sup> )			25(OH)D <sub>3</sub> (nmol/l)		
	Menn	Kvinner	Totalt	Menn	Kvinner	Totalt	Menn	Kvinner	Totalt
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	-0,35*	0,95	-0,073						
<b>25(OH)D (nmol/l)</b>	0,17	-0,15	-0,017	-0,11	-0,15	-0,13			
<b>BMD L2L4 (g/cm<sup>2</sup>)</b>	-0,09	0,13	-0,023	0,18	0,42*	0,37*	-0,08	-0,18	-0,15
<b>BMD Hofte total (g/cm<sup>2</sup>)</b>	-0,41*	-0,07	-0,25*	0,30*	0,57*	0,46*	-0,19	-0,17	-0,18*
<b>Total kropps-BMD (g/cm<sup>2</sup>)</b>	-0,32*	-0,08	-0,20*	0,34*	0,55*	0,44*	-0,15	-0,10	-0,13

Pearson r- og Spearman rho korrelasjonsanalyser

\*Signifikant korrelasjon, alle med p<0,02.

#### 4.3.1. BMD og alder

Hos menn og hos hele utvalget samlet ble det funnet en signifikant negativ korrelasjon mellom alder og BMD målt både i total hofte (menn: r=-0,41, p=0,001) (hele utvalget: r=-0,25, p=0,001) og total kropps-BMD (menn: r=-0,32, p=0,005) (hele utvalget: r=-0,20, p=0,005). I forhold til lumbal BMD (L2L4) ble det ikke funnet noen signifikant korrelasjon til alder.

#### 4.3.2. BMD og BMI

Ser man på utvalget stratifisert etter kjønn og hele utvalget samlet ble det funnet en signifikant positiv korrelasjon mellom BMI og BMD i hofte total (menn: r=0,30, p=0,014) (kvinner: r=0,57, p<0,001) (hele utvalget: r=0,46, p<0,001) og total kropps-BMD (menn: r=0,34, p=0,002) (kvinner: r=0,55, p=0,000) (hele utvalget: r=0,44, p<0,001). Når det gjelder lumbaldelen (L2L4) var det en signifikant positiv korrelasjon mellom BMD og BMI hos kvinner (r=0,42, p=0,001) og hos hele utvalget samlet (r=0,37, p<0,001) (tabell 5).

#### 4.3.3. BMD og serum 25(OH)D<sub>3</sub>

Det ble funnet en svak, men signifikant negativ korrelasjon mellom BMD i hofte total og serum 25(OH)D<sub>3</sub> hos hele utvalget samlet ( $r=-0,18$ ,  $p=0,02$ ). Det ble ikke funnet noen signifikant korrelasjon mellom serum 25(OH)D<sub>3</sub> og BMD i L2L4 eller total kropps-BMD hverken hos menn, kvinner eller hele utvalget samlet (tabell 5).

### 4.4. Resultater av gruppesammenligning

#### 4.4.1. Serum 25(OH)D<sub>3</sub>-nivå

Siden man vet at vitamin D er viktig i utvikling, vekst og vedlikehold av skjelettet gjennom hele livet ønsket jeg å verifisere om det var en signifikant forskjell mellom tre grupper av serum 25(OH)D<sub>3</sub>-nivå (mangel, suboptimalt og optimalt) i relasjon til utvalgets gjennomsnittlige alder (år), BMI (kg/m<sup>2</sup>) og BMD (g/cm<sup>2</sup>) målt i L2L4, hofte total og total kropps-BMD. Tabell 6 viser en sammenligning av alder (år), BMI (kg/m<sup>2</sup>) og BMD (g/cm<sup>2</sup>) i L2L4, hofte total og total kropps-BMD mellom de tre sub-gruppene av serum 25(OH)D<sub>3</sub>. Ca. 50 % av deltakerne (35 menn og 52 kvinner) fant vi i den ”optimale gruppen” mens ca. 13 % (16 menn og 18 kvinner) var i ”mangelgruppen”.

Tabell 6: Sammenligning av alder (år), BMI (kg/m<sup>2</sup>) og BMD (g/cm<sup>2</sup>) i tre grupper av 25(OH)D<sub>3</sub>-nivå: mangel, suboptimalt og optimalt.

		Serum 25(OH)D <sub>3</sub>		
		Mangel (<50 nmol/l)	Suboptimalt (50-75 nmol/l)	Optimalt (>75 nmol/l)
<b>Alder (år)</b>	Menn	69,7±9,0 (n=16)	68,0±6,7 (n=18)	70,3±7,2 (n=35)
	Kvinner	73,7±10,2 (n=18)	71,1±8,3 (n=37)	71,0±7,4 (n=52)
	Hele Utvalget	71,8±9,7 (n=34)	70,1±7,9 (n=55)	70,7±7,3 (n=87)
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	Menn	28,1±4,8 (n=16)	27,7±5,1 (n=18)	27,6±3,2 (n=35)
	Kvinner	25,2±3,8 (n=18)	28,2±4,8 (n=37)	26,0±4,9 (n=52)
	Hele utvalget	26,6±4,5 (n=34)	28,1±4,8 (n=55)	26,7±4,4 (n=87)
<b>BMD L2L4 (g/cm<sup>2</sup>)</b>	Menn	1,42±0,21 (n=12)	1,29±0,19 (n=9)	1,40±0,23 (n=20)
	Kvinner	1,09±0,20 (n=11)	1,10±0,21 (n=19)	1,06±0,24 (n=24)
	Hele utvalget	1,26±0,26 (n=23)	1,16±0,22 (n=28)	1,21±0,29 (n=44)
<b>BMD Hofte total (g/cm<sup>2</sup>)</b>	Menn	1,09±0,15 (n=14)	1,07±0,13 (n=17)	1,06±0,18 (n=31)
	Kvinner	0,83±0,16 (n=17)	0,89±0,17 (n=34)	0,82±0,16 (n=47)
	Hele utvalget	0,95±0,20 (n=31)	0,95±0,18 (n=51)	0,92±0,20 (n=78)
<b>BMD Total kropps-BMD (g/cm<sup>2</sup>)</b>	Menn	1,34±0,11 (n=16)	1,30±0,09 (n=18)	1,31±0,12 (n=35)
	Kvinner	1,07±0,13 (n=18)	1,12±0,12 (n=37)	1,07±0,14 (n=52)
	Hele utvalget	1,20±0,18 (n=34)	1,18±0,14 (n=55)	1,17±0,17 (n=87)

Verdiene er gjennomsnitt±standardavvik (antall).  
Enveis-ANOVA og Welch-ANOVA

#### 4.4.1.1. Alder og serum 25(OH)D<sub>3</sub>

Utvalget var meget homogent med henhold til alder med en liten tendens til at menn i gruppene med mangelnivåer og suboptimale nivåer av serum 25(OH)D<sub>3</sub> var litt yngre enn kvinner. Det var ingen signifikant forskjell i alder innen de tre serum 25(OH)D<sub>3</sub>-gruppene (tabell 6).

#### 4.4.1.2. BMI og serum 25(OH)D<sub>3</sub>

Når det gjelder BMI (kg/m<sup>2</sup>) både hos menn og kvinner og hos hele utvalget samlet var det ingen signifikante forskjeller mellom gruppene med lave, suboptimale eller optimale nivåer av serum 25(OH)D<sub>3</sub> (tabell 6).

#### 4.4.1.3. BMD og serum 25(OH)D<sub>3</sub>

BMD (g/cm<sup>2</sup>) i L2L4, hofte total eller total kropps-BMD viste ingen signifikante forskjeller mellom de tre gruppene av serum 25(OH)D<sub>3</sub>-nivå. Dette gjaldt også da utvalget ble stratifisert etter kjønn (tabell 6).

### 4.5. Resultater fra regresjonsanalyse

Ut i fra korrelasjonsanalysene og variansanalysene ble det ikke funnet noen sammenheng mellom BMD og serum 25(OH)D<sub>3</sub> bortsett fra en signifikant negativ korrelasjon mellom BMD (g/cm<sup>2</sup>) i hofte total og serum 25(OH)D<sub>3</sub> i hele utvalget samlet. I regresjonsanalysen ble alder (år), BMI (kg/m<sup>2</sup>), serum 25(OH)D<sub>3</sub> (nmol/l) og kjønn inkludert da disse i litteraturen er beskrevet å være assosiert med bentetthet med BMD som den avhengige variabelen. Tabell 7 oppsummerer disse resultatene:

Tabell 7: Lineær regresjonsanalyse med BMD (g/cm<sup>2</sup>) som avhengig variabel

Variabel	Standardisert regresjonskoeffisient	P-verdi
<b>Avhengig: BMD L2L4</b>		
Alder (år)	0,064	0,434
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0,293	0,001
25(OH)D (nmol/l)	-0,092	0,265
Kjønn (m/k)	-0,520	0,000
<b>R<sup>2</sup>=0,41</b>		
<b>Avhengig: BMD hofte total</b>		
Alder (år)	-0,149	0,010
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0,344	0,000
25(OH)D (nmol/l)	-0,116	0,046
Kjønn (m/k)	-0,505	0,000
<b>R<sup>2</sup>=0,50</b>		
<b>Avhengig: Total kropps-BMD</b>		
Alder (år)	-0,102	0,040
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0,346	0,000
25(OH)D (nmol/l)	-0,059	0,237
Kjønn (m/k)	-0,608	0,000
<b>R<sup>2</sup>=0,59</b>		

#### 4.5.1. Serum 25(OH)D<sub>3</sub>

Serum 25(OH)D<sub>3</sub> er signifikant svakt negativt assosiert med BMD i hofte total ( $r=-0,116$ ,  $p=0,046$ ), men ikke i L2L4 ( $r=-0,092$ ,  $p=0,27$ ) eller total kropps-BMD ( $r=-0,059$ ,  $p=0,24$ ) (tabell 7).

#### 4.5.2. Alder

Alder er signifikant negativt assosiert med BMD i hofte total ( $r=-0,149$ ,  $p=0,010$ ) og total kropps-BMD ( $r=-0,102$ ,  $p=0,040$ ), men ikke til BMD i L2L4 ( $p=0,43$ ) (tabell 7).

#### 4.5.3. BMI

BMI er signifikant assosiert med BMD i L2L4 ( $r=0,293$ ,  $p=0,001$ ), hofte total ( $r=0,344$ ,  $p<0,000$ ) og total kropp-BMD ( $r=0,346$ ,  $p=0,000$ ) (tabell 7).

#### 4.5.4. Kjønn

Kjønn er sterkt signifikant assosiert med BMD i L2L4 ( $r=-0,520$ ,  $p<0,000$ ), hofte total ( $r=-0,505$ ,  $p<0,000$ ) og total kropps-BMD ( $r=-0,608$ ,  $p<0,000$ ) (tabell 7).

I denne modellen viste regresjonsanalysen at BMI og kjønn er signifikant assosiert med BMD i L2L4 der alle variablene forklarer 41 % av totalvariansen i BMD. Når det gjelder hofte total kan alle variablene forklare 51 % av totalvariansen i BMD der alle variablene er signifikant assosiert med BMD. I total kropps-BMD er alder, BMI og kjønn signifikant assosiert med BMD, der alle variablene forklarer 59 % av variansen (tabell 7).

## 5. Diskusjon

Oppgaven tar for seg et tilfeldig utvalg menn og kvinner som ikke har andre sykdommer som påvirker skjelettet eller bruker medisiner som reduserer bentettheten. Utvalget representerer menn og kvinner bosatt i Oslo og de fremviste hele spekteret av BMD-variasjon fra normal til osteoporose.

### 5.1. Analyse av serum 25(OH)D<sub>3</sub>

Det ble benyttet to ulike laboratorier for analyse av serum 25(OH)D<sub>3</sub>. Serumprøver før 2015 ble analysert på Hormonlaboratoriet ved Aker Sykehus, mens prøver tatt etter 2015 ble analysert på Laboratorium for medisinsk biokjemi ved LDS. Bakgrunnen for dette er at denne analysen ikke ble implementert på LDS før i februar 2015. Ved Aker ble det benyttet LC-MS/MS, mens det ved LDS blir benyttet en elektrokjemiluminenscens bindings-analyse. Dette er to ulike metoder der LC-MS/MS måler absolutt analyttkonsentrasjon direkte på bakgrunn av ladning og masse, mens elektrokjemiluminenscens bindings-analysen baserer seg på en immunologisk reaksjon mellom antigen og antistoff. Når det gjelder interferenser kan det i LC-MS/MS-analysen være komponenter med samme masse som analytten. Ved en immunoassayanalyse kan den immunologiske reaksjonen gi kryssreaksjoner mellom antistoff og andre komponenter i prøven. Dette er på forhånd testet ut av produsent, og mulige kryssreaksjoner er kjent og tatt hensyn til i denne oppgaven. Ved begge metoder måler man i utgangspunktet både 25(OH)D<sub>2</sub> og 25(OH)D<sub>3</sub>. Forskjellen mellom metodene blir tydeligere ved medbestemmelse av andre metabolitter slik som 3-epi-(OH)D<sub>3</sub> og 24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> (60). 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub> har samme molekylvekt som 25(OH)D<sub>3</sub> og kan derfor interferere i LC-MS/MS-analysen og gi for høyt svar. 3-epi-25(OH)D<sub>3</sub> gjenkjennes derimot ikke av antistoffet i immunoassayanalysene, og vil ikke kunne kryssreagere. Når det gjelder 24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> vil ikke denne interferere i LC-MS/MS da den har en annen molekylvekt og en ulik retensjonstid enn 25(OH)D<sub>3</sub>. Derimot har denne metabolitten ofte 100 % kryssreaktivitet med antistoff brukt i immunoassaymetoden og vil derfor interferere i analysen og gi for høyt svar (60). 24,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> dannes i nyrene i stedet for 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> når 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> serumkonsentrasjoner er langt over normale grenser og representerer en ”avgiftningsreaksjon” da metabolitten er biologisk inaktiv. Innenfor de serumkonsentrasjoner som dette materialet representerer vil den immunologiske kryssreaksjonen være neglisjerbar.

Utvalget i denne oppgaven hadde i gjennomsnitt et relativt høyt nivå av serum 25(OH)D<sub>3</sub> (78 nmol/l, SD=30) med en lavere forekomst av personer med vitamin D-mangel. Ca. 50 % av deltakerne (35 menn og 52 kvinner) fant vi i gruppen med optimale serum 25(OH)D<sub>3</sub>-nivåer (>75 nmol/l), mens ca. 13 % (16 menn og 18 kvinner) var i mangelgruppen (serum 25(OH)D<sub>3</sub>-nivå på <50 nmol/l). Det var en signifikant forskjell i serum 25(OH)D<sub>3</sub>-konsentrasjon mellom de som tok vitamin D-tilskudd og de som ikke tok supplement, men også sistnevnte gruppe hadde gjennomsnittsverdier >50 nmol/l (tabell 3). Det betyr at også denne gruppen neppe vil ha negative virkninger på skjelettet på grunn av lavt serum 25(OH)D<sub>3</sub>.

## 5.2. Relasjon mellom biologiske parametere

Når det gjelder BMD viste utvalget at 50 % (n=15) av kvinnene og 2 % (n=1) av mennene hadde osteoporose i lendevirvlene (L2L4), og 24 % (n=24) kvinner og 4 % (n=3) menn hadde osteoporose i total hofte. Osteoporose målt i lendevirvlene eller i hoften viser at sykdommen forekommer ca. fem ganger hyppigere hos kvinner enn hos menn, hvilket er det samme forhold som er funnet i store populasjonsstudier (75). Til tross for at kun 19 % av kvinnene hadde serum 25(OH)D<sub>3</sub><50 nmol/l hadde ca. 50 % av kvinnene osteoporose i L2L4 mot 2 % hos menn med omtrent like stor andel av lavt serum 25(OH)D<sub>3</sub>. Dette taler mot at primær osteoporose har vitamin D som en årsaksfaktor.

Korrelasjonsanalysene viste at det var en negativ korrelasjon mellom alder (år) og BMD (g/cm<sup>2</sup>) i hofte total og total kropps-BMD. Når det gjelder lendevirvlene (L2L4) ble det ikke funnet noen korrelasjon. Det er derimot velkjent at degenerative forandringer ("forkalkninger") eller helede gamle virvelbrudd vil gi overestimert av BMD og falskt høye verdier, noe som er en mulig forklaring på hvorfor det ikke ble funnet noen korrelasjon i lendevirvlene.

Når det gjelder korrelasjon mellom serum 25(OH)D<sub>3</sub> (nmol/l) og BMD (g/cm<sup>2</sup>) ble det funnet en negativ korrelasjon i hofte total. Det vil si at jo høyere nivåer av 25(OH)D<sub>3</sub>, jo lavere BMD. En sannsynlig forklaring til dette kan være at de med osteoporose eller osteopeni, og som har større risiko for osteoporotiske frakturer, får vitamin-D tilskudd foreskrevet av sin lege. Siden vitamin D og kalsium generelt er førstelinjeterapien for de med risiko for osteoporotiske frakturer, vil de med lav BMD naturlig nok har et høyere nivå av serum



25(OH)D<sub>3</sub> på bakgrunn av at de tar vitamin D-tilskudd. 51 % av de med normal BMD og 40 % av de med osteoporose tok vitamin D-tilskudd. Hele 65 % av de med osteopeni tok vitamin D-tilskudd. Det ble derimot ikke funnet noen signifikante forskjeller i gjennomsnittlig 25(OH)D<sub>3</sub>-konsentrasjon hos pasienter med ulike BMD-nivåer (normal, osteopeni eller osteoporose) hverken i L2L4, hofte total, eller total kropps-BMD. Primær osteoporose synes å være uavhengig av vitamin D-nivåer innenfor det området dette materialet representerer.

Utvalget ble delt i tre grupper på bakgrunn av serum 25(OH)D<sub>3</sub>-nivå (mangelnivå, suboptimalt nivå og optimalt nivå) for å sammenligne alder og bentetthet (BMD, g/cm<sup>2</sup>) mellom disse. I alder var det en homogen gruppe med en liten tendens til at mennene i de to laveste serum 25(OH)D<sub>3</sub>-gruppene var litt yngre enn kvinnene. Det var ingen forskjell i gjennomsnittlig BMD (g/cm<sup>2</sup>) mellom de tre gruppene av 25(OH)D<sub>3</sub>-nivå. At det ikke ble funnet noen assosiasjon mellom serum 25(OH)D<sub>3</sub> og BMD er i samsvar med andre lignende studier (71-74, 76). I de fleste av disse studiene, i likhet med i denne oppgaven, har utvalget som er rekruttert en relativt god helse og mindre forekomst av vitamin D-mangel. I studien til Hosseinpanath, et al. (73) som var en populasjonsbasert tverrsnittsstudie av 245 kvinner fra 40-80 år bosatt i Teheran, ble det ikke funnet noen assosiasjon mellom serum 25(OH)D<sub>3</sub> og BMD hverken i hofte eller lendevirvler (L2L4). Disse hadde et gjennomsnittlig serum 25(OH)D<sub>3</sub>-nivå på 73 nmol/l. Det samme gjelder studien til Sigurdsson et al. (76), som så på 248 kvinner bosatt i Reykjavik alle var 70 år gamle. 83 % av disse kvinnene tok tran som kosttilskudd, og den gjennomsnittlige serum 25(OH)D<sub>3</sub>-konsentrasjonen var på 53 nmol/l. Det ble ikke funnet noen signifikant assosiasjon mellom serum 25(OH)D<sub>3</sub> og BMD (g/cm<sup>2</sup>) hverken i lendevirvler (L2L4), hofte total eller total kropps-BMD. På den annen side har flere studier vist at det er en sammenheng mellom BMD og serum 25(OH)D<sub>3</sub> (68-70). Mangel på overensstemmelse mellom disse studiene og denne oppgaven kan for det første være forskjell mellom hvilke grupper som er analysert, og forskjeller innad i gruppene. I denne oppgaven er den gjennomsnittlige serum 25(OH)D<sub>3</sub>-konsentrasjonen relativt høyt. I noen av disse studiene har assosiasjonen mellom BMD og 25(OH)D<sub>3</sub> kun blitt funnet i lavere nivåer av serum 25(OH)D<sub>3</sub> (69, 70). Et eksempel er Sadat-Ali et al. (69), som så på hvilken påvirkning vitamin D har på bentetthet og osteoporose. Deres studie inkluderte 400 kvinner og menn fra en saudiarabisk populasjon. De fant at hovedvekten av de med serum 25(OH)D<sub>3</sub>-mangel hadde lav BMD, og alle subjektene med serum 25(OH)D<sub>3</sub>-mangel hadde enten osteopeni eller osteoporose. Deres studie viste også en positiv korrelasjon mellom BMD og serum 25(OH)D<sub>3</sub>, hovedsakelig i de gruppene med serum 25(OH)D<sub>3</sub>-mangel eller med

suboptimale nivåer av serum 25(OH)D<sub>3</sub>. En annen studie, av Malavolta et al. (70), viste at det var en signifikant positiv korrelasjon mellom BMD i lendevirvlene (L2L4) og i lårhalsen. Dette var en studie på 156 italienske kvinner etter overgangsalder hvor ca. halvparten hadde serum 25(OH)D<sub>3</sub>-nivå mindre enn 37 nmol/l. Et annet generelt problem ved sammenligningen av ulike studier er mangelen på en internasjonal standard i forhold til måling av serum 25(OH)D<sub>3</sub> (77). Mangelen på en global kalibrator og bruken av ulike metoder for måling av serum 25(OH)D<sub>3</sub> gjør det vanskelig å sammenligne studier direkte.

For å se hvilke variabler som forklarer den største delen av variasjonene i BMD (g/cm<sup>2</sup>) ble det benyttet multippel regresjon. Ønsket var å se hvilken påvirkning serum 25(OH)D<sub>3</sub> har på BMD i forhold til andre forklaringsvariabler som alder, BMI og kjønn. Når det gjelder alder ser man også her, i likhet med i gruppesammenligningene, at det er en assosiasjon mellom alder og BMD i hofte total og total kropps-BMD, men ikke i lendevirvlene (L2L4). Når det gjelder serum 25(OH)D<sub>3</sub> sitt bidrag på BMD i hofte total var den på 1 % etter at man har tatt hensyn til de andre variablene. I L2L4 og total kropps-BMD ble det ikke funnet noen signifikant påvirkning. Dette kan også her blir forklart av at den gjennomsnittlige serum 25(OH)D<sub>3</sub>-konsentrasjonen i denne oppgaven er relativt høy. Siden optimale serum vitamin D-konsentrasjoner ikke helbreder osteoporose, støtter det at sykdommen er hovedsakelig genetisk. Det er derimot BMI og kjønn som i størst grad forklarer variansen i BMD i dette materialet.

Det ble ikke funnet noen signifikante forskjeller mellom BMD og serum 25(OH)D<sub>3</sub> på ulike steder i skjelettet, vurdert i forhold til om man har mangelnivåer, suboptimale nivåer eller optimale nivåer. Hvilket konsentrasjonsnivå av serum 25(OH)D<sub>3</sub> som er det optimale nivået er hyppig debattert. Nasjonalt råd for ernæring satte grenseverdien for tilfredsstillende vitamin D-nivå til >50 nmol/l (48). I de senere år er det foreslått en grenseverdi på >75 nmol/l i forhold til både benhelse og andre sykdommer (42). Denne oppgaven viste at serum 25(OH)D<sub>3</sub>-konsentrasjon <50 nmol/l ikke var assosiert med lavere BMD (g/cm<sup>2</sup>) i forhold til de som hadde en serum 25(OH)D<sub>3</sub>-konsentrasjon på 50-75 nmol/l eller >75 nmol/l. Samtidig er det i denne oppgaven et mindre utvalg av de med vitamin D-mangel sammenlignet med de som hadde optimale nivåer. Man vet at vitamin D er viktig for utvikling, vekst og vedlikehold av skjelettet hele livet. I en populasjon der vitamin D- og kalsiumnivået generelt er bra indikeres det vitamin D spiller en mindre rolle i forhold til benhelsen, men det er avgjørende

at serum vitamin D- og kalsiumnivå er normale dersom antiosteoporotisk behandling skal virke (76, 78).

### 5.3. Styrker og svakheter ved oppgaven

Den generelle gyldigheten av resultatene i denne oppgaven avhenger av om utvalget er representativt også for andre populasjoner. Den inkluderte gruppen er etnisk homogen og har en balansert alderssammensetning hos menn og kvinner. Studien har klare inklusjons og eksklusjonskriterier og ingen med sykdommer, eller brukere av medikamenter med virkning på skjelettet, er inkludert. Også andre individer er inkluderte for å få god variasjon i BMD. Vi mener at resultatene er representative for befolkningen i Oslo. På den annen side representerer oppgaven en relativt liten kohort, spesielt de med osteoporose. Mange har mottatt kalsium og vitamin D-supplement, og derfor er ikke studien representativ for å belyse sammenhengen mellom vitamin D-mangel og BMD.

## 6. Konklusjon

Korrelasjonsanalyser viste en signifikant negativ korrelasjon mellom BMD ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ) i hofte total og serum 25(OH) $\text{D}_3$ . Det vil si at jo høyere nivåer av 25(OH) $\text{D}_3$ , jo lavere BMD ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ). Siden vitamin D og kalsium generelt er førstelinjeterapien for de med risiko for osteoporotiske frakturer vil de med lav BMD naturlig nok har et høyere nivå av serum 25(OH) $\text{D}_3$  på bakgrunn av at de tar vitamin D-tilskudd. Vitamin D- og kalsiumtilskudd førte til optimale serum 25(OH) $\text{D}_3$ -konsentrasjoner hos 50 % av deltagerne. Til tross for at kun 19 % av kvinnene hadde serum 25(OH) $\text{D}_3 < 50$  nmol/l hadde ca. 50 % osteoporose i L2L4 mot 2 % hos menn med omtrent like stor andel av lavt serum 25(OH) $\text{D}_3$ . Dette taler mot at primær osteoporose har vitamin D som en årsaksfaktor. Osteoporose målt i lendevirvlene eller i hoften viser at sykdommen forekommer ca. fem ganger hyppigere hos kvinner enn hos menn, hvilket er det samme forhold som er funnet i store populasjonsstudier. Primær osteoporose synes å være uavhengig av vitamin D-nivåer innenfor det området dette materialet representerer. Siden optimale serum 25(OH) $\text{D}_3$ -verdier ikke helbreder osteoporose, støtter det at sykdommen hovedsakelig er genetisk.

## 7. Litteraturliste

1. Meyer HE, Søgaard A-J. Fakta om beinskjørhet og brudd (osteoporose og osteoporotiske brudd) [Internett]. Oslo: Folkehelseinstituttet; 2016 [oppdatert 20. Oktober 2016; sitert 8. August 2017] Tilgjengelig fra: <https://www.fhi.no/fp/folkesykdommer/beinskjorhet/beinskjorhet-og-brudd---fakta-om-os/>.
2. Osteoporosis International. Consensus development conference: Prophylaxis and treatment of osteoporosis. 1991;1(2):114-7.
3. Hektoen LF. Kostnader ved hoftebrudd hos eldre. Oslo: Høgskolen i Oslo og Akershus. Rapport 2014 nr 3.
4. Forsén L, Søgaard AJ, Meyer HE, Edna TH, Kopjar B. Survival after hip fracture: short- and long-term excess mortality according to age and gender. Osteoporosis International. 1999;10(1):73-8.
5. Vestgaard P, Rejnmark L, Mosekilde L. Increased mortality in patients with hip fracture-effect of pre-morbid conditions and post-fracture complications. Osteoporosis International. 2007;18:1583-93.
6. Jones T. Bone Matrix [Internett]: orthobullets.com; 2017 [sitert 20. August 2017]. Tilgjengelig fra: <https://www.orthobullets.com/basic-science/9003/bone-matrix?expandLeftMenu=true>.
7. Rosen CJ, Bouillion R, Compston JE. Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism. 8. utg.: Wiley; 2013.
8. International Osteoporosis Foundation. Introduction to bone biology: all about our bones [Internett]. iofbonehealth.org; 2017 [sitert 8. August 2017]. Tilgjengelig fra: <https://www.iofbonehealth.org/introduction-bone-biology-all-about-our-bones>.
9. Ribom EL, Piehl-Aulin K. Aktivitetshåndboken - fysisk aktivitet i forebygging og behandling, Osteoporose. 2009; 454-65.
10. Stunes AK, Mosti MP, Syversen U. Bruk av beinmarkører ved osteoporose [Internett] Bioingeniøren; 2016 [oppdatert 12. Mai 2016, sitert 5. Mai 2017]. Tilgjengelig fra: <https://www.bioingenioren.no/fag/fag-oversiktsartikkel/bruk-av-beinmarkorer-ved-osteoporose/>.
11. Lewiecki EM. New targets for intervention in the treatment of postmenopausal osteoporosis. Nature reviews rheumatology. 2011;7(11):631-8.
12. Dallas SL, Prideaux M, Bonewald LF. The osteocyte: An endocrine cell...and more. Endocrine reviews. 2013;34(5):658-90.
13. Prideaux M, Findlay DM, Atkins GJ. Osteocytes: The master cells in bone remodelling. Current opinion in pharmacology. 2016;28:24-30.

14. Halse J. Benmetabolisme [Internett]. Store medisinske leksikon; 2009 [sitert 4. April 2017] Tilgjengelig fra: <https://sml.snl.no/benmetabolisme>.
15. Khosla S. Estrogen and bone: Insights from estrogen-resistant, aromatase-deficient, and normal men. *Bone*. 2008;43(3):414-7.
16. Marie PJ, Kassem M. Extrinsic mechanisms involved in age-related defective bone formation. *The journal of clinical endocrinology & metabolism*. 2011;96(3):600-9.
17. Zallone A. Direct and indirect estrogen actions on osteoblast and osteoclasts. *Annals of the New York academy of sciences*. 2006;1068(1):173-9.
18. Holick MF, Nieves JW. Nutrition and bone health. 2. utg. Springer New York; 2015.
19. Holick MF. Resurrection of vitamin D deficiency and rickets. *The journal of clinical investigation*. 2006;116(8):2062-72.
20. Kogawa M, Wijenayaka AR, Ormsby RT, Thomas GP, Anderson PH, Bonewald LF, et al. Sclerostin regulates release of bone mineral by osteocytes by induction of carbonic anhydrase 2. *Journal of bone and mineral metabolism*. 2013;28(12):2436-48.
21. World Health Organization. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Rome 1994.
22. Syversen U. Osteoporose: Epidemiologi, risikofaktorer og beinmetabolisme. I: Eriksen EF, red. En praktisk tilnærming for behandling av osteoporose – patofysiologi, diagnostikk og behandling. Oslo: Eli Lilly Norge AS; 2014. s. 4-7.
23. Engesæter LB, Gjertsen J-E, Dybvik E, Kvamsdal LB. Nasjonalt Hoftebruddsregister: Årsrapport for 2015 med plan for forbedringstiltak. Nasjonal kompetansetjeneste for leddproteser og hoftebrudd; 2016.
24. Osnes EK, Lofthus CM, Meyer HE, Falch JA, Nordsletten L, Cappelen I, Kristiansen IS. Consequences of hip fractures on activities of daily life and residential needs. *Osteoporosis International*. 2004;15(7):567-74.
25. Johnell O, Kanis JA. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporosis International*. 2006;17(12):1726-33.
26. Nguyen TV, Howard GM, Kelly PJ, Eisman JA. Bone mass, lean mass, and fat mass: same genes or same environments? *American journal of epidemiology*. 1998;147(1):3-16.
27. International Osteoporosis Foundation. Who's at risk? [Internett]. [iofbonehealth.org](http://iofbonehealth.org); 2015 [sitert 20. August 2017]. Tilgjengelig fra: <https://www.iofbonehealth.org/whos-risk>.
28. Syversen U, Halse J I. Medikamentell behandling av osteoporose. *Tidsskriftet Den Norske Legeforening*. 2003;123:2263-4.
29. R.G Cumming MCN, S.R Cummings. Epidemiology of hip fractures. *Medline*. 1997;19:244-57.

30. Cawthon PM. Gender differences in osteoporosis and fractures. *Clinical orthopaedics and related research*. 2011;469(7):1900-5.
31. Lofthus CM, Osnes EK, Falch JA, Kaastad TS, Kristiansen IS, Nordsletten L, et al. Epidemiology of hip fractures in Oslo, Norway. *Bone*. 2001;29(5):413-8.
32. Cumming RG, Nevitt MC, Cummings SR. Epidemiology of hip fractures. *Epidemiologic reviews*. 1997;19(2):244-57.
33. Johnell O, Gullberg B, Kanis JA, Allander E, Elffors L, Dequeker J, et al. Risk factors for hip fracture in european women: The MEDOS study. *Journal of bone and mineral reserach*. 1995;10(11):1802-15.
34. Karlsson MK, Nordqvist A, Karlsson C. Physical activity increases bone mass during growth. *Food & nutrition research*. 2008;52(1).
35. Morseth B, Ahmed LA, Bjørnerem Å, Emaus N, Jacobsen BK, Joakimsen R, et al. Leisure time physical activity and risk of non-vertebral fracture in men and women aged 55 years and older: The Tromsø study. *European journal of epidemiology*. 2012;27(6):463-71.
36. Cusano NE. Skeletal effects of Smoking. *Current osteoporosis reports*. 2015;13(5):302-9.
37. Syversen U, Halse JI. Bisfosfonatbehandling av osteoporose og andre skjelettsykdommer. *Tidsskrift for Den norske legeförening*. 2011;131(3):244-7.
38. Felleskatalogen [Internett]. Felleskatalogen.no; 2017 [sitert 19. September 2017] Tilgjengelig fra: <https://www.felleskatalogen.no/medisin/forsteo-lilly-559380>.
39. Halse J. Diagnostikk og pasientoppfølging. I: Eriksen EF, red. *En praktisk tilnærming for behandling av osteoporose – patofysiologi, diagnostikk og behandling*. Oslo: Eli Lilly Norge AS; 2014. s. 9-13.
40. Boullata JI. Vitamin D supplementation: a pharmacologic perspective. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care*. 2010;13(6):677-84.
41. Holick MF. Vitamin D: a lightful health perspective. *Nutrition reviews*. 1990;66:182-94.
42. Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Reviews in endocrine and metabolic disorders*. 2017;18(2):153-65.
43. Pike JW, Meyer MB. The vitamin D receptor: New paradigms for the regulation of gene expression by 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Endocrinology metabolism clinics of North America*. 2010;39(2):255-69.
44. Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: Consequences for bone loss and fractures and therapeutic implicatoinis. *Endocrine reviews*. 2001;22(4):477-501.

45. Holick MF. Vitamin D: a D-lightful health perspective. *Nutrition reviews*. 2008;66(2):182-94.
46. Pedersen JI. Vitamin D requirement and setting recommendation levels - current nordic view. *Nutrition reviews*. 2008;66(2):165-9.
47. Wacker M, Holick MF. Sunlight and vitamin D - A global perspective for health. *Dermato endocrinology*. 2013;5(1):51-108.
48. Meyer H, Brunvand L, Brustad M, Johansson L, Paulsen JE. Tiltak for å sikre en god vitamin D-status i befolkningen. Oslo: Helsedirektoratet, Nasjonalt råd for ernæring; 2006.
49. Nordic nutrition recommendations. Integrating nutrition and physical activity [Internett]. [norden.org](http://www.norden.org); 2012 [sitert 2. Juli 2017]. Tilgjengelig fra: <http://www.norden.org/en/theme/former-themes/themes-2016/nordic-nutrition-recommendation/nordic-nutrition-recommendations-2012>.
50. Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The journal of clinical endocrinology & metabolism*. 2011;96(7):1911-39.
51. Prentice A. Vitamin D deficiency: a global perspective. *Nutrition reviews*. 2008;66(2):153-64.
52. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, Durazo-Arvizu RA, Gallagher JC, Gallo RL, Jones G, Kovacs CS, Mayne ST, Rosen CJ, Shapses SA. The 2011 Report on dietary reference intakes for calcium and Vitamin D from the Institute of medicine: What clinicians need to know. *The journal of clinical endocrinology & metabolism*. 2011;96(1):53-8.
53. Bikle D. Nonclassic actions of vitamin D. *The journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2009;94(1):26-34.
54. International Osteoporosis Foundation. Epidemiology [Internett]. [iofbonehealth.org](http://iofbonehealth.org); 2015 [sitert 20. August 2017]. Tilgjengelig fra: <https://www.iofbonehealth.org/epidemiology>.
55. Venning G. Recent developments in vitamin D deficiency and muscle weakness among elderly people. *British medical journal*. 2005;330(7490):524.
56. Zittermann A, Lodice S, Pilz S, Grant WB, Bagnardi V, Gandini S. Vitamin D deficiency and mortality risk in the general population: a meta-analysis of prospective cohort studies. *The American journal of clinical nutrition*. 2012;95(1):91-100.
57. Alharbi FM. Update in vitamin D and multiple sclerosis. *Neurosciences (Riyadh)*. 2015;20(4):329-35.
58. Berridge MJ. Vitamin D deficiency and diabetes. *Biochemical journal*. 2017;474(8):1321-32.



59. Jockers D. Vitamin D deficiency increases risk of cancer [Internett]. [cancertutor.com](http://cancertutor.com); 2016 [oppdatert 6. Oktober 2016; sitert 17. Juli 2017]. Tilgjengelig fra: <https://www.cancertutor.com/vitamin-d-deficiency-increases-risk-of-cancer/>.
60. Dahl SR, Thorsby PM. Hvordan måle vitamin D-status? Tidsskrift for Den norske legeforening. 2014;7(134):729-31.
61. Meyer HE, Falch JA, Søgaard AJ, Haug E. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism and the association with bone mineral density in persons with Pakistani and Norwegian background living in Oslo, Norway: The Oslo health study. *Bone*. 2004;35(2):412-7.
62. Kogawa M, Findlay DM, Anderson PH, Ormsby R, Vincent C, Morris HA, Atkins GJ. Osteoclastic metabolism of 25(OH)-Vitamin D3: A potential mechanism for optimization of bone resorption. *Endocrine Reviews*. 2010;31(5):774.
63. Kveiborg M, Rattan SIS, Clark BFC, Eriksen EF. Treatment with 1,25-dihydroxyvitamin D3 reduces impairment of human osteoblast functions during cellular aging in culture. *Journal of cellular physiology*. 2001;186(2):298-306.
64. Geng S, Zhou S, Glowacki J. Effects of 25-hydroxyvitamin D3 on proliferation and osteoblast differentiation of human marrow stromal cells require CYP27B1/1alpha-hydroxylase. *Journal of bone and mineral research*. 2011;26(5):1145-53.
65. Need AG, O'Loughlin PD, Morris HA, Coates PS, Horowitz M, Nordin BC. Vitamin D metabolites and calcium absorption in severe Vitamin D deficiency. *Journal of bone and mineral research*. 2008;23(11):1859-63.
66. Bischoff-Ferrari HA, Dietrich T, Orav EJ, Dawson-Hughes B. Positive association between 25-hydroxy vitamin d levels and bone mineral density: a population-based study of younger and older adults. *The american journal of medicine*. 2004;116(9):634-9.
67. Melin AL, Wilske J, Ringertz H, Säaf M. Vitamin D status, parathyroid function and femoral bone density in an elderly Swedish population living at home. *Aging (Milano)*. 1999;11(3):200-7.
68. Mezquita-Raya P, Munoz-Torres M, Luna JDD, Luna V, Lopez-Rodriguez F, Torres-Vela E, Escobar-Jiménez F. Relation between vitamin D insufficiency, bone density, and bone metabolism in healthy postmenopausal women. *Journal of bone and mineral research*. 2001;16(8):1408-15.
69. Sadat-Ali M, Elq AHA, Al-Turki HA, Al-Mulhim FA, Al-Ali AK. Influence of vitamin D levels on bone mineral density and osteoporosis. *Annals of Saudi medicine*. 2011;31(6):602-8.
70. Malavolta N, Pratelli L, Frigato M, Mulé R, Mascia ML, Gnudi S. The relationship of vitamin D status to bone mineral density in an Italian population of postmenopausal women. *Osteoporosis international*. 2005;16(12):1691-7.

71. Tsai KS, Hsu SHJ, Cheng JP, Yang RS. Vitamin D stores of urban women in Taipei: Effect on bone density and bone turnover, and seasonal variation. *Bone*. 1997;20(4):371-4.
72. Tsai KS, Wahner HW, Offord KP, III LJM, Kumar R, Riggs BL. Effekt of aging on vitamin D stores and bone density in women. *Calcified tissue international*. 1987;40(5):241-3.
73. Hosseinpanah F, Rambod M, Hossein-nejad A, Larijani B, Azizi F. Association between vitamin D and bone mineral density in Iranian postmenopausal women. *Journal of bone and mineral metabolism*. 2008;26(1):86-92.
74. Alkhenizan A, Mahmoud A, Hussain A, Gabr A, Alsoghayer S, Eldali A. The relationship between 25(OH)D levels (Vitamin D) and bone mineral density (BMD) in a Saudi population in a community-based setting. *Plos one*. 2017;12(1):e0169122
75. Hernlund E, Svedbom A, Ivergård M, Compston J, Cooper C, Stenmark J, et al. Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden. *Archives of osteoporosis*. 2013;8:136.
76. Sigurdsson G, L. Franzson, Steingrimsdottir L, H S. The association between parathyroid hormone, vitamin D and bone mineral density in 70-year-old icelandic women. *Osteoporosis International*. 2000;11(12):1031-5.
77. Carter GD. 25-hydroxyvitamin D assays: The quest for accuracy. *Clinical chemistry*. 2009;55(7).
78. Roddam AW, Neale R, Appleby P, Allen NE, Tipper S, Key TJ. Association between plasma 25-hydroxyvitamin d levels and fracture risk: the EPIC-Oxford study. *American journal of epidemiology*. 2007;166(11):1327-36.

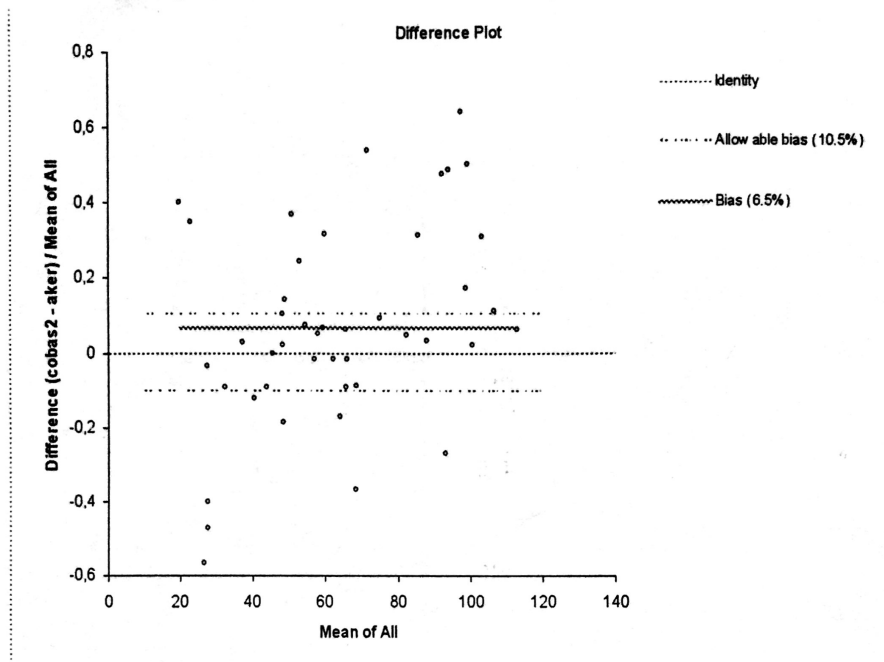
## 8. Vedlegg

### 8.1. Vedlegg 1: regresjonslikning etablert ved metodesammenligning

- **Bias / ekstern kvalitetskontroll**

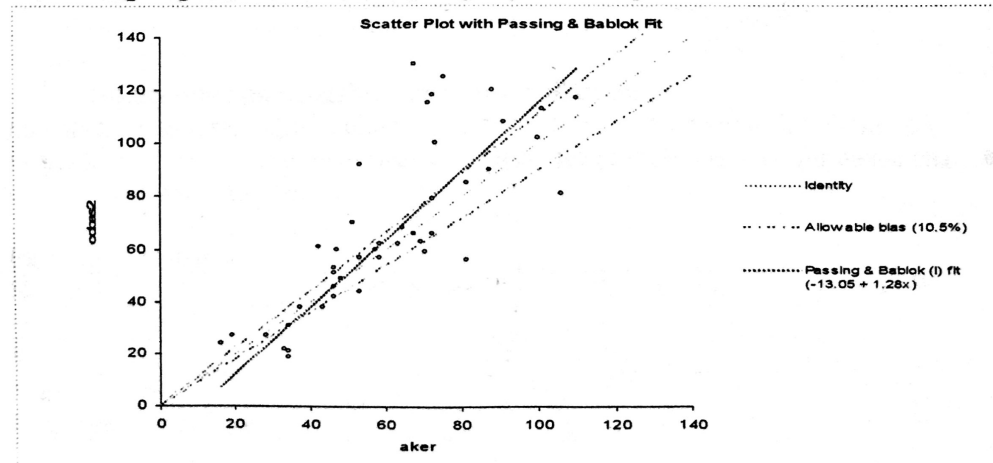
Riktighet / bias er basert på resultat fra sammenligning utført mot akkreditert metode, LC-MS/MS, ved Aker Hormonlaboratorium og siste resultat fra EKV.

#### Sammenligning mot annen metode, differanseplot i %:



Gjennomsnittlig oppnådd bias: 6,5 % n=45

#### Sammenligning mot annen metode, regresjonslikning:



	Bias	95% CI
Constant	-13,05	-30,80 to -3,38
Proportional	1,28	1,09 to 1,60

Lovisenberg Diakonale Sykehus