



N I F E S
NASJONALT INSTITUTT
FOR ERNÆRINGS- OG
SJØMATFORSKNING

Rapport
2017

Faglig sluttrapport Fish Intervention Studies (FINS)

Jannike Øyen, Prosjektleder FINS 900842

**Nasjonalt institutt for ernærings- og
sjømatforskning (NIFES)**

30.09.2017



Utførende prosjektledere: Jannike Øyen (tidligere: Øyvind Lie, Ingvild Eide Graff, Livar Frøyland)

Tema- og arbeidspakkeledere:

Tema, Metabolsk helse (WP 1, 2 og 3): Gunnar Mellgren, Klinisk institutt 2, Universitetet i Bergen

WP 1: Ottar Nygård, Klinisk institutt 2, Universitetet i Bergen

WP 2: Oddrun A. Gudbrandsen, Klinisk institutt 1, Universitetet i Bergen

WP 3: Lise Madsen, NIFES

Tema, Mental helse (WP 4, 5 og 6): Kjell Morten Stormark, RKBU Vest, Uni Research Helse

WP 5: Jannike Øyen, NIFES

WP 6: Lisbeth Dahl, NIFES

WP 7: Marian Kjellevoid

Prosjektet er finansiert av tilskudd fra FHF og andre kilder, inkludert egeninnsats fra FoU-institusjoner og bedrifter:

FHF (Fiskeri- og havbruksnæringens forskningsfond), NIFES, Universitetet i Bergen, Universitetet i Tromsø, Lerøy Seafood Group ASA, University of Copenhagen / Department of Biology, Marine Harvest Norway AS, Skretting Aquaculture Research Centre (ARC) AS, University of Copenhagen / Department of Human Nutrition, Nasjonalt folkehelseinstitutt, Uni Research AS, East China Normal University (ECNU), Norway Pelagic AS (historisk), Arena Ocean of Opportunities / Blue Planet, Munich / Ludwig-Maximilians-Universität München.

FINS-prosjektet ble formelt avsluttet 01.10.2017, men ikke alle de planlagte vitenskapelige artiklene fra prosjektet er publisert, så denne rapporten vil bli oppdatert.

INNHOLDSFORTEGNELSE

WP1: Prospektive studier på inntak av fisk, metabolsk syndrom og diabetes mellitus.....	5
1. Sammendrag.....	5
2. Innledning.....	8
3. Problemstilling og formål.....	8
4. Prosjektgjennomføring	9
5. Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon.....	11
6. Leveranser	13
WP1, del 2: Fiskeinntak og vitamin D - effekter på sarkopeni, osteoporose og hoftebrudd	15
1. Sammendrag.....	15
2. Innledning.....	17
3. Problemstilling og formål.....	18
4. Prosjektgjennomføring	18
5. Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon.....	19
6. Leveranser	20
WP2: Helseeffekter av inntak av fet og mager fisk i voksne og rotter med overvekt og fedme... 22	22
1. Sammendrag.....	22
2. Innledning.....	24
3. Problemstilling og formål.....	24
4. Prosjektgjennomføring	25
5. Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon.....	26
6. Leveranser	26
WP3: Energiomsetning og fedmeutvikling	29
1. Sammendrag.....	29
2. Innledning.....	30
3. Problemstilling og formål.....	31
4. Prosjektgjennomføring	31
5. Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon.....	31
6. Leveranser	33
WP3, del 2: Energiomsetning og fedmeutvikling.....	35
1. Sammendrag.....	35

2.	Innledning.....	36
3.	Problemstilling og formål.....	37
4.	Prosjektgjennomføring	37
5.	Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon.....	38
6.	Leveranser	40
WP 5: Inntak av feit fisk og kognitiv funksjon hos barnehagebarn		41
1.	Sammendrag.....	41
2.	Innledning.....	43
3.	Problemstilling og formål.....	44
4.	Prosjektgjennomføring	45
5.	Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon.....	46
6.	Leveranser	48
WP6: Feit fisk og læringsevner hos norske ungdommer		50
1.	Sammendrag.....	50
2.	Innledning.....	52
3.	Problemstilling og formål.....	53
4.	Prosjektgjennomføring	53
5.	Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon.....	54
6.	Leveranser	56
WP7: Sjømatinntak, mental helse og spedbarnsutvikling. Liten i Norge.		60
1.	Sammendrag.....	60
2.	Innledning.....	61
3.	Problemstilling og formål.....	61
4.	Prosjektgjennomføring	62
5.	Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon.....	62
6.	Leveranser	63

WP1: PROSPEKTIVE STUDIER PÅ INNTAK AV FISK, METABOLSK SYNDROM OG DIABETES MELLITUS

1. Sammendrag (norsk og engelsk)

Bakgrunn: Inntak av fisk og omega-3 flerumettete fettsyrer (n-3 LC-PUFA) og de potensielle virkninger på livsstilssykdommer som metabolsk syndrom, type 2 diabetes mellitus (T2DM) og koronar hjertesykdom har vært et stort fokus de siste tiårene. Hos pasienter med stabil angina pectoris viser data at et svært lav inntak av n-3 LC-PUFAs tenderer å være forbundet med økt risiko for koronarhendelser, mens et høyt inntak ikke ga noen gunstig effekt sammenlignet med et moderat inntak. Beviset på sammenhengen mellom inntak av fisk og risiko for T2DM er også inkonsekvent. Det er derfor nødvendig med ytterligere undersøkelser. Hovedmålet med dette prosjektet var (1) å undersøke sammenhengen mellom inntak av fisk og n-3 LC-PUFA og plasmametabolitter relatert til kynurenin pathwayen i Western Norway B-vitamin Trial (WENBIT), (2) å undersøke sammenhengen mellom fiskeinntak og metabolsk syndrom og dets komponenter i Helseundersøkelsen i Hordaland (HUSK), og (3) å undersøke sammenhengen mellom fiskeinntak og T2DM i WENBIT.

Metode: HUSK ble gjennomført i 1997-1999 og inkluderte menn og kvinner født i 1950-51 eller 1925-27 bosatt i Hordaland fylke. For gjeldende arbeid ble en tverrsnittstudie blant deltakerne født 1905-51 som besvarte spørsmålet om kostinntak (FFQ) inkludert (n=2875). Helseundersøkelse inkluderte måling av blodtrykk, høyde, vekt og midjeomkrets. Informasjon om utdanningsnivå, bruk av medisiner, røyking og fysisk aktivitet ble samlet gjennom spørreskjemaer. Ikke-fastende blodprøver inkluderte serum total kolesterol, HDL-kolesterol (HDL-C), triglyserider og glukose.

WENBIT ble opprinnelig initiert for å undersøke effekten av B-vitaminer på kardiovaskulære hendelser og dødelighetsforebygging blant pasienter som gjennomgikk koronarangiografi for mistanke om koronar arterie sykdom (n=2324). Hypertensjon, røykestatus, estimert glomerulær filtreringshastighet (eGFR) og omfanget av koronar hjertesykdom ble vurdert. Blodprøver inkluderte metabolitter relatert til kynurenin pathwayen som plasma tryptofan (Trp), kynurenin (Kyn), neopterin, kynurensyre (KA), antranilsyre (AA), 3-hydroksykynurenin (HK), xanthursinsyre (XA) og 3-hydroksyantranilinsyre (HAA). Deltakerne med T2DM ble identifisert fra utgangspunktet i 1999-2004 til 31. desember 2009.

Resultater: Artikkel 1: Inntaket av fisk totalt var negativt korrelert med de inflammatoriske markørene neopterin og kynurenin-til-tryptofan rasion (KTR). Mager fisk var negativt assosiert med den inflammatorisk markøren neopterin, mens feit fisk var negativt korrelert med den inflammatoriske markør KTR. Inntak av feit fisk var negativt forbundet med plasma HK. Inntak av n-3 LC-PUFA var svakt negativt assosiert med plasma HK så vel som med de inflammatoriske markørene neopterin og KTR. Alle disse assosiasjonene var svake. Artikkel 2: Høyt total inntak av fisk og inntak av feit fisk var relatert med lavere sirkulerende triglyserider (TG) og høyere HDL-C, mens magert fiskeinntak var forbundet med lavere sirkulerende TG, men ikke med HDL-C. Inntak av feit fisk var negativt assosiert med serum-

TG hos menn, men ikke hos kvinner. Magert fiskeinntak var negativt relatert med serum TG hos kvinner, men ikke hos menn. Inntak av feit fisk var positivt assosiert med serum HDL-C hos både menn og kvinner. Høyere inntak av fisk totalt var negativt forbundet med metabolsk syndrom i modellen justert for energiinntak, kjønn, BMI og røyking.

Artikkel 3: I ujusterte modeller var høyere totalt fiskeinntak assosiert med økt forekomst av T2DM; eller (95% CI) for høyest versus laveste tertiler var 1,54 (1,02, 2,32), P for trend=0,04. I den kontinuerlige modellen var totalt fiskeinntak ikke relatert med forekomsten T2DM. I den multivariable modellen ble den positive utviklingen over tertiler for totalt fiskeinntak redusert, hovedsakelig på grunn av justeringer for BMI og hypertensjon, og var ikke lenger statistisk signifikant. I stratifiserte analyser var høyere totalt fiskeinntak assosiert med økt risiko for T2DM hos personer med BMI <25 kg/m², men ikke blant personer med BMI 25,0-29,9 eller ≥30,0 kg/m².

Konklusjoner: Inntak av fisk og n-3 LC-PUFA var svakt assosiert med noen plasma kynureniner, noe som tyder på at fiskeinntak ikke er en viktig determinant for individuelle metabolitter i kynurenin pathwayen. Høyere totalt fiskeinntak var knyttet til lavere odds for å ha metabolsk syndrom. Totalt fiskeinntak var negativt forbundet med serum TG hos menn og kvinner, og kvinner for seg. Resultatene på TG etter kjønn og type fisk, kan være en viktig faktor å vurdere i intervensjonsstudier med sikte på å individualisere kostholdsradene. Funnene i denne prospektive studien støtter heller ikke skadelige eller beskyttende virkninger av fiskeinntak på risiko for T2DM hos pasienter med SAP. Styrken i våre studier inkluderer dens design og den omfattende informasjonen med kliniske data og diettdata. Fiskeinntaker er høyt i Norge sammenlignet med mange andre land, og det gjør disse dataene godt egnet for å undersøke ikke bare total fiskeinntak, men også typen fisk som er konsumert.

Sammendrag – engelsk

Prospective studies on fish intake, metabolic syndrome and diabetes mellitus

Background: Dietary intake of fish and n-3 long chain polyunsaturated fatty acids (n-3 LCPUFAs) and their effects on life-style diseases like the metabolic syndrome, type 2 diabetes mellitus (T2DM) and coronary heart disease has been a major focus during the recent decades. In patients with stable angina pectoris, a very low intake of n-3 LCPUFAs tended to be associated with an increased risk of coronary events whereas a high intake provided no beneficial effect compared with a moderate intake. The evidence on the association between fish consumption and risk of T2DM is also inconsistent. Additional research is therefore needed. The main aims of this project were, (1) to investigate the associations between intake of fish and n-2 LCPUFA and plasma metabolites related to the kynurenine pathway, in The Western Norway B-vitamin Trial (WENBIT), (2) to investigate the associations between fish intake and the metabolic syndrome and its components in the Hordaland Health Study (HUSK), and (3) to investigate the associations between fish intake and incident T2DM in the Western Norway B-vitamin Trial (WENBIT)

Methods: HUSK was conducted during 1997-1999 among men and women born 1950-51 or 1925-27 and living in Hordaland county. For the current work, a cross-sectional study among participants born 1905-51 who answered the food frequency questionnaire (FFQ) were included (n=2875). Health examination including measurement of blood pressure, height,

weight, and waist circumference (WC). Information on educational level, medication use, smoking, and physical activity was collected through self-administered questionnaires. Non-fasting blood samples included serum total cholesterol, HDL-cholesterol (HDL-C), triglycerides (TG), and glucose. WENBIT was initiated to investigate the effect of B-vitamins on cardiovascular events and mortality prevention among patients undergoing coronary angiography for suspected CAD (n=2324). Hypertension, smoking status, estimated glomerular filtration rate (eGFR) and extent of CAD were assessed. Blood samples included metabolites related to the kynurenine pathway, e.g. plasma tryptophan (Trp), kynurenine (Kyn), neopterin, kynurenic acid (KA), anthranilic acid (AA), 3-hydroxykynurenine (HK), xanthurenic acid (XA) and 3-hydroxyanthranilic acid (HAA). Participants were followed from baseline in 1999-2004 and through December 31, 2009 and incident T2DM was identified.

Results: Paper 1: Consumption of total fish was inversely correlated with the inflammatory markers neopterin and kynurenin-til-tryptofan ration (KTR). Lean fish was inversely associated with the inflammatory marker neopterin, whereas, fatty fish was inversely correlated with the inflammatory marker KTR. Intake of fatty fish was inversely associated with plasma HK. Intake of n-3 LC-PUFA was inversely associated with plasma HK as well as with the inflammatory markers neopterin and KTR. However, all these correlations were weak.

Paper 2: High total and fatty fish intake was associated with lower circulating TG and higher HDL-C, whereas lean fish intake was associated with lower circulating TG but not with HDL-C. Notably, there were sex differences showing differential associations between type of fish consumed and serum TG. Intake of fatty fish was inversely associated with serum TG in men but not in women. Lean fish intake was inversely associated with serum TG in women but not in men. Fatty fish intake was positively associated with serum HDL-C in both men and women. Higher intake of total fish was inversely associated with the metabolic syndrome in model adjusted for energy intake, sex, BMI, and smoking. Intake of lean or fish products was not associated with having metabolic syndrome.

Paper 3: In the crude model, higher intake of total fish was associated with an increased incidence of T2DM; OR (95% CI) for the highest versus the lowest tertile was 1.54 (1.02, 2.32), *P* for trend=0.04. In the continuous crude model, total fish intake was not associated with incidence T2DM. In the multivariable model, the positive trend across tertiles of total fish intake was attenuated, largely due to adjustments for BMI and hypertension, and was no longer statistically significant; OR (95% CI) for highest versus lowest tertile was 1.47 (0.95, 2.28), *P* for trend=0.10. There were no associations between intake of fatty fish, lean fish or fish products and incident T2DM. In stratified analyses, higher total fish intake was associated with increased risk of T2DM in individuals with BMI <25 kg/m² but not among individuals with BMI 25.0-29.9 or ≥30.0 kg/m².

Conclusions: Fish and n-3 LC-PUFA intake was only weakly associated with a few plasma kynurenines, suggesting that fish intake is not an important determinant of individual metabolites in the kynurenine pathway. Higher total fish intake was associated with lower odds of having the metabolic syndrome. Total fish intake was inversely associated with serum TG in men and women and women combined. The findings of differential associations with TG by sex and type of fish consumed may be an important factor to consider in intervention studies aiming at individualizing nutritional recommendations. Further, the findings of this prospective study do not support either harmful or protective effects of fish intake on risk of T2DM in patients with SAP.

The strengths of our studies include its prospective design and the extensive information of clinical characteristics and dietary data. In addition, habitual intake of fish is high in Norway compared with many other countries making these suitable populations for examining not only total fish intake but also type of fish consumed due to sufficient intake of the different types of fish in order to create sub-groups.

2. Innledning

- *Faglig bakgrunn for at prosjektet ble igangsatt*

Inntak av fisk og omega-3 flerumettete fettsyrer (n-3 LCPUFA) og de mulige fordelaktige virkninger når det gjelder forebygging av livsstilssykdommer som metabolsk syndrom, type 2 diabetes mellitus (T2DM) og koronar hjertesykdom har vært et stort fokus blant både forskere og "vanlige folk" i de siste tiårene. Våre tidligere funn viser at et svært lavt inntak av n-3 LCPUFAs tenderer til å være forbundet med økt risiko for koronarhendelser, mens et høyt inntak ikke ga noen gunstig effekt sammenlignet med et moderat inntak hos pasienter med stabil angina pectoris (SAP). Selv om denne observasjonen kan være i kontrast til den generelle oppfatningen, er våre funn i tråd med flere studier og meta-analyser. Interessant har pågående analyser identifisert undergrupper hvor høyt inntak av n-3 LCPUFA kan være gunstig og ikke gunstig med hensyn til risiko for hjerteinfarkt.

Bevisene på sammenhengen mellom inntak av fisk og risiko for T2DM er også inkonsekvente. De fleste epidemiologiske studiene har fokusert på totalt fiskeinntak og veldig få har undersøkt denne sammenhengen for ulike typer fiskeslag. Derfor ønsker vi i dette prosjektet å undersøke dette nærmere. Fiskeinntaket i Norge er noe av det høyeste i Europa, og å undersøke subgrupper var derfor mulig i disse norske kohortene siden deltakerne hadde et forholdsvis høyt inntak av fisk.

- *Prosjektets omfang*

I dette prosjektet benytter vi data fra de to store kohortstudiene Helseundersøkelsen i Hordaland (HUSK) og Western Norway B-vitamin Intervention Trial (WENBIT). Disse kohortene er beskrevet mer detaljert i metodeavsnittet. Dataene var samlet inn og de fleste metabolittene var analysert før dette prosjektet startet opp, men et omfattende statistisk analysearbeid og skriving av tre artikler er gjennomført.

- *Prosjektorganisering (roller/ansvar: prosjektgruppe, styringsgruppe, andre?)*

Prosjektleder er Prof. Dr. med Ottar Nygård ved Haukeland Universitetssykehus (HUS) og Universitetet i Bergen (UiB). PhD Therese Karlsson (UiB) har vært ansatt som forsker i prosjektet. Videre har forsker Elin Strand (UiB), prof. Jutta Dierkes (UiB), forsker Oddrun Gudbrandsen (UiB), PhD Eva Ringdal Pedersen (UiB), Prof Christian Drevon (Universitet i Oslo), Prof. Per Magne Ueland (UiB), Hilde Rosendahl-Riise (UiB), Prof. Grethe Tell (UiB), og seniorforsker Jannike Øyen (NIFES) vært prosjektmedarbeidere.

3. Problemstilling og formål

- *Redegjøre for prosjektets effektmål (betydning for næringen, nytteverdi, kvantifiseres om mulig)*

Bevisene for en sammenhengen mellom inntak av fisk og risiko for T2DM er inkonsekvente i tidligere epidemiologiske studier og de fleste studier har fokusert på totalt fiskeinntak uten å

stratifisere på ulike fiskeslag. Dette materialet er i så måte unikt siden deltakerne rapporterte høyt fiskeinntak og vi hadde mulighet til å skille mellom feit og mager fisk.

- *Redegjøre for prosjektets resultatmål (leveranser i prosjektet)*
- Leveransene er beskrevet under punkt 6.

4. Prosjektgjennomføring

- *Beskrivelse av metodikk (og evt. hvorfor denne tilnærmingen er valgt)*
- *Gjennomføring av prosjektet*

Studiepopulasjonene

Arbeidet i dette prosjektet er basert på to prospektive kohortstudier med oppfølging, og inkluderer deltakere med koronar arterie sykdom fra WENBIT og deltakere fra den populasjonsbaserte studien HUSK.

HUSK

HUSK ble gjennomført i 1997-1999 og inkluderte menn og kvinner født i 1950-51 eller 1925-27 fra Hordaland. I dette prosjektet har vi gjort en tverrsnittstudie blant deltakerne som er født i 1950-51 og som svarte på spørreskjemaet om kosthold (FFQ). Deltakere som rapporterte et veldig lavt (<3000 kJ/dag for kvinner og <3300 kJ/dag for menn) eller høyt (>15000 kJ/dag for kvinner og >17500 kJ/dag for menn) energiinntak ble ekskludert (n=78). I tillegg ble deltakere som manglet målinger på komponenter for metabolsk syndrom eller C-reaktive protein ekskludert (n=165). I de endelige analysene ble totalt 1225 menn og 1649 kvinner inkludert.

WENBIT

WENBIT ble initiert for å undersøke effekten av B-vitaminer på kardiovaskulære hendelser og dødelighetsforebygging blant 3090 pasienter som gjennomgikk koronarangiografi for mistanke om koronar arterie sykdom. I alle analyser der WENBIT-data ble benyttet, ble deltakerne uten fullført FFQ (n=606), de som hadde mer enn en tom side i FFQ (n=96), og de som rapporterer svært lavt (<3000 kJ/dag for kvinner og <3300 kJ/dag for menn) eller svært høyt (>15000 kJ/dag for kvinner og >17500 kJ/dag for menn) totalt energiinntak (n=37) ble ekskludert.

I arbeidet der vi undersøkte fiskeinntak og T2DM utvikling, ble individer med en tidligere diagnose av type 1 eller 2 DM (n=252), med fastende serumglukose $\geq 7,0$ mmol/l, ikke-fastende serumglukose $\geq 11,1$ mmol/l, HbA1c $\geq 6,5\%$ eller manglende glukose- eller HbA1c-tiltak (n=471) ekskludert. Også pasienter med akutt koronarsyndrom eller stenose ble ekskludert, og dermed var det totalt 1365 menn og kvinner med SAP som ble inkludert i analysene i dette arbeidet.

I arbeidet med fiskeinntak og kynurenine-pathwayen, ble 27 personer uten plasma kynureniner eller neopterin målinger ved baseline utelukket, og totalt 2324 individer ble inkludert i disse analysene.

Kostholdsmåling

Den samme FFQ ble brukt i både HUSK og WENBIT. FFQet var en litt modifisert versjon av et FFQ utviklet ved Institutt for ernæring, Universitetet i Oslo, Norge. Det 169-spørsmåls

semi-kvantitative FFQet ble designet for å inkludere vanlig matinntak og kosttilskudd bruk i løpet av det siste året. Det gjennomsnittlige daglige inntaket av mat (gram per dag) og næringsstoffer (inkludert kosttilskudd) ble beregnet ved hjelp av en database og programvaresystem utviklet ved Institutt for ernæring, Universitetet i Oslo (Kostberegningssystem, versjon 3.2, Universitetet i Oslo). Matdatabasen er hovedsakelig basert på den offisielle norske matkomposisjonstabellen. Validitet og reproduserbarhet av FFQet er evaluert i andre norske populasjoner ved bruk av 14-dagers diett og fettsyrekomposisjon i fosfolipider målt i plasma. Spørsmål i FFQet knyttet til fiskeinntak ble kategorisert i enten fisk som pålegg eller fisk som en del av hovedmåltider. I tillegg til total fisk (mager og feit fisk, fiskeprodukter og fisk som pålegg, totalfisk inkludert også uspesifisert fisk som en del av hovedmåltidet), ble også underkategorier av fiskeinntak analysert og besto av: Mager fisk (torsk, sei eller hyse som en del av hovedmåltidet), feit fisk (makrell, sild, ørret eller laks som en del av hovedmåltidet og fisk som pålegg inkludert hovedsakelig feite fiskearter) og fiskevarer (fiskepinner, fiskepudding, fiskekaker). Rapportert torskeleverolje eller fiskeoljeforbruk ble definert som bruk av disse kosttilskuddene. For daglig total marine n-3 LC-PUFA inntak (kosthold og kosttilskudd) brukte vi summen av eicosapentaensyre (EPA), docosapentaensyre (DPA) og docosahexaensyre (DHA).

I næringsepidemiologi må energiinntaket tas med i betraktningen for å få mest mulig valide resultater. Justering for totalt energiinntak ble utført ved bruk av enten den multivariate næringsdensitetsmetoden, enten som g/1000 kcal (mat) eller som prosent av totalt energiinntak (makronæringsstoffer), eller ved hjelp av residual regresjonsmodeller.

Kliniske og biokjemiske data ved baseline

HUSK

Det ble foretatt en helseundersøkelse som inkluderte måling av blodtrykk, høyde, vekt og midjemål. Informasjon om utdanningsnivå, bruk av medisiner, røyking og fysisk aktivitet ble registrert via spørreskjemaer. Ikke-fastende blodprøver ble tatt og inkluderte serumprøver av totalt kolesterol, HDL-kolesterol (HDL-C), triglyserider (TG) og glukose, og disse ble analysert innen syv dager ved Institutt for klinisk kjemi, Ullevål Universitetssykehus, Oslo, ved hjelp av enzymatiske metoder med reagenser fra Boehringer Mannheim (Roche, Basel, Sveits). Ikke-HDL-C ble beregnet som forskjellen mellom totalt kolesterol og HDL-C.

WENBIT

Studiepersonell samlet inn demografiske og kliniske data. Hypertensjon, røykestatus, estimert glomerulær filtreringshastighet (eGFR) og omfanget av koronar arterie sykdom ble vurdert. Fysisk aktivitet ble registrert ved hjelp av spørreskjema. Blodprøver, fastende eller ikke-fastende ble samlet inn og standard blodlaboratorieparametere ble analysert av laboratorier ved Stavanger og Haukeland Universitetssykehus. Metabolismen relatert til kynurenin pathwayen, f.eks. Plasma tryptofan (Trp), kynurenin (Kyn), neopterin, kynurensyre (KA), antranilsyre (AA), 3-hydroksykynurenin (HK), xanthursinsyre (XA) og 3-hydroksyantranilinsyre (HAA) ble målt hos Bevital AS (www.bevital.no). For å beregne kynurenin-til-tryptofan rasjon (KTR) ble plasmakonsentrasjonen av Kyn delt på plasmakonsentrasjonen av Trp.

Oppfølging og type 2 diabetes mellitus i WENBIT

Deltakerne i WENBIT ble fulgt fra utgangspunktet i 1999-2004 til 31. desember 2009. T2DM tilfeller (insidens) ble identifisert via minst en av tre kilder. Deltakerne ble klassifisert med T2DM hendelse hvis de ved et opphold på et norsk offentlig sykehus hadde T2DM

diagnostisert i henhold til International Classification of Diseases-10 (kodene E11-E14). Denne informasjonen ble hentet fra register for Hjerte- og karsykdommer i Norge (www.cvdnor.no). T2DM-tilfeller ble også identifisert fra den norske reseptdatabasen ved nystartsbeskrivelser av anti-diabetiske stoffer (anatomiske terapeutiske kjemiske klassifikasjonssystemkoder A10). Pasienter som rapporterte en T2DM-diagnose under oppfølging i WENBIT-studien, ble også klassifisert med nyoppdaget T2DM.

Statistiske analyser

Hovedanalysene ble beregnet ved hjelp av Spearmans rangkorrelasjon, multiple lineær regresjon eller logistisk regresjon. Alle er standard statistiske analyser i epidemiologiske studier.

5. Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon

- *Detaljert oversikt over oppnådde resultater*

Karakteristikk og fiskeinntak i WENBIT and HUSK

WENBIT

Deltakerne i WENBIT (n=2324) var i gjennomsnitt 62 (range 55-69) år, og 80% var menn, og 31% var røykere. Totalt 84% hadde SAP og 41% var tidligere diagnostisert med hjerteinfarkt. Fra spørreskjemaet om matinntak viste det seg at det totale fiskeinntaket var på 97 (range 65-141) gram per dag.

HUSK

Deltakerne i HUSK (n=2874) var i alderen 46-49 år) og 36% var røykere. Totalt var 30% av deltakerne diagnostisert med metabolsk syndrom. Totalt fiskeinntak var i gjennomsnitt (SD) på 34 (19) g/1000 kcal og totalt energiinntak var på 2131 (625) kcal per dag.

Artikkel 1: Assosiasjonene mellom inntak av fisk og omega-3 langkjedet fettsyrer og plasma metabolitter relatert til kynurenine pathwayen. The Western Norway B-vitamin Trial (WENBIT)

Resultater

Inntaket av fisk totalt var negativt korrelert med de inflammatoriske markørene neopterin og KTR. Mager fisk var negativt assosiert med inflammasjonsmarkøren neopterin, mens feit fisk var negativt korrelert med KTR. Inntak av feit fisk var negativt assosiert med plasma HK, mens magert fiskeinntak var positivt assosiert med plasma HAA. Ved justering for fastende status var sammenhengen mellom inntak av magert fisk og HAA ikke lenger statistisk signifikant. Inntak av n-3 LC-PUFA var negativt assosiert med plasma HK så vel som med de inflammatoriske markørene neopterin og KTR. Imidlertid var alle disse korrelasjonene svake, noe som tyder på begrenset sammenheng mellom inntak av fisk og kynurenine pathwayen.

Konklusjon

Fisk og n-3 LC-PUFA-inntak var svakt assosiert med noen få plasma kynureniner, noe som tyder på at fiskeinntak ikke er en viktig determinant av individuelle metabolitter i kynurenin pathwayen. Den inverse sammenhengen mellom konsum av fisk og n-3 LC-PUFA og plasma neopterin og KTR kan tyde på en litt lavere immunaktivering med høyere inntak.

Artikkel 2: Assosiasjonen mellom fiskeinntak og metabolsk syndrom og dets komponenter: Helseundersøkelsen i Hordaland (HUSK)

Resultater

Assosiasjonen mellom inntak av fisk og metabolsk syndrom komponenter

Det var ingen sammenhenger mellom fiskeinntak og SBP, DBP eller serumglukose. Høyt total og inntak av feit fisk var forbundet med lavere sirkulerende TG og høyere HDL-C, mens magert fiskeinntak var forbundet med lavere sirkulerende TG, men ikke med HDL-C. Spesielt var det kjønnsforskjeller som viste differensielle assosiasjoner mellom type fisk som var konsumert og serum TG. Inntak av feit fisk var negativt forbundet med serum-TG hos menn, men ikke hos kvinner. Magert fiskeinntak var negativt forbundet med serum TG hos kvinner, men ikke hos menn. Inntak av feit fisk var positivt forbundet med serum HDL-C hos både menn og kvinner. Vi observerte en invers sammenheng mellom inntak av fisk og midjemål. På grunn av den lille effektstørrelsen og mulige unøyaktigheter ved måling av midjemål er imidlertid funnene av begrenset klinisk relevans. Dette er i samsvar med andre epidemiologiske studier der ingen eller bare svake assosiasjoner mellom fiskeinntak og forhøyet midjemål er observert.

Assosiasjonen mellom inntak av fisk og metabolsk syndrom

Høyere inntak av fisk totalt var negativt forbundet med metabolsk syndrom. Høyere inntak av feit fisk var negativt relatert med metabolsk syndrom i modell justert for totalt energiinntak, kjønn, BMI, og røyking. Etter ytterligere justeringer (utdanningsnivå, fysisk aktivitet, alkohol inntak, fiber inntak, inntak av grønnsaker) var ikke inntak av feit fisk statistisk signifikant forbundet med metabolsk syndrom. Inntak av mager fisk eller fiskeprodukter var ikke forbundet med å ha metabolsk syndrom. Vi fant ingen klare tegn på forskjeller mellom kjønn eller type konsumert fisk med hensyn til risiko for å ha metabolsk syndrom.

Konklusjon

I denne tverrsnittstudien av middelaldrende menn og kvinner var høyere total fiskeinntak forbundet med lavere odds for å ha metabolsk syndrom. Det ser ut til å være slik fordi det ble funnet en assosiasjon mellom høyere total fiskeinntak og lavere serum TG og høyere serum HDL-C i stedet for assosiasjon med midjeomkrets eller blodtrykk. Resultatene av assosiasjonene med TG etter kjønn og type fisk som spises, kan være en viktig faktor å vurdere i intervensjonsstudier med sikte på å individualisere kostholdsanbefalingene.

Artikkel 3: Assosiasjonen mellom fiskeinntak og type 2 diabetes mellitus. The Western Norway B-vitamin Trial (WENBIT)

Resultater

I ujusterte modeller var høyere inntak av total fisk forbundet med en økt forekomst av T2DM; eller (95% CI) for høyest versus laveste tertiler var 1,54 (1,02, 2,32), P for trend=0,04. I den kontinuerlige ujusterte modellen var ikke totalt fiskeinntak forbundet med forekomsten T2DM. Når deltakere med ekstremt høyt fiskeinntak ble ekskludert endret ikke resultatene seg vesentlig: Korrigert OR (95% CI) per 20 g/1000 kcal av total fiskeinntak etter utelukkelse var 1,06 (0,92, 1,22), P for trend=0,42. I den multivariable modellen ble den positive utviklingen over tertiler av total fiskeinntak svekket, hovedsakelig på grunn av justeringer for BMI og hypertensjon, og var ikke lenger statistisk signifikant; eller (95% CI) for høyeste versus

laveste tertil var 1,47 (0,95, 2,28), P for trend=0,10. Det var ingen sammenhenger mellom inntak av feit fisk, magert fisk eller fiskeprodukter og T2DM tilfeller. Inkludering av mager fisk i de feite fiskeinntaksmodellene og omvendt endret ikke resultatene vesentlig. I stratifiserte analyser var høyere totalt fiskeinntak forbundet med økt risiko for T2DM hos personer med BMI <25 kg/m², men ikke blant personer med BMI 25,0-29,9 eller ≥30,0 kg/m². P for interaksjon mellom totalt fiskeinntak og BMI-grupper var ikke statistisk signifikant (P=0,31).

Konklusjon

Resultatene av denne studien er viktige siden det er begrensede dataene på sammenhenger mellom fiskeinntak og risiko for T2DM hos pasienter med etablert koronar hjertesykdom, en høyrisikogruppe for utvikling av T2DM. Resultatene av denne prospektive studien viser verken at det er skadelige eller beskyttende effekter av fiskeinntak på risiko for T2DM hos pasienter med SAP med et relativt høyt inntak av fisk.

- *Vurdering av funnene (statistikk, gyldighet, sikkerhet, presisjon etc.)*

Styrken i disse studier inkluderer det prospektive designet og den omfattende informasjonen med kliniske data og diettdata. Statistikken som er benyttet er metoder som er vanlig å benytte på denne typen data. Fiskeinntaket er forholdsvis høyt i Norge sammenlignet med mange andre land og det gjør disse populasjonene egnet for å undersøke ikke bare total fiskeinntak, men også type fisk som er konsumert på grunn av tilstrekkelig inntak av ulike typer fisk for å lage undergrupper. Selvrapportert diettinntak kan være utsatt for bias. Fiskekonsumet ble estimert fra et FFQ spørreskjema som har blitt sammenlignet med n-3 LCPUFA fettsyresammensetningen i fosfolipider hos andre norske. Videre korrelerte det rapporterte inntaket av fisk godt med serumkonsentrasjoner av EPA + DHA i en undergruppe av pasienter i WENBIT (n=492) og lignet på resultater fra andre. Det rapporterte fiskeinntaket i studiene var lik andre rapporter på fiskeinntak i Norge. Estimer av fiskeinntak i våre populasjoner synes således å være rimelige sammenlignet med andre, selv om variasjonen mellom enkeltpersoner kan være betydelig og potensiell feilklassifisering ikke kan utelukkes.

- *Vurdering/drøfting av mulighetene for videre anvendelse av resultater fra prosjektet (implementering)*

Faktorer som fiskesorter, prepareringsmetoder, sesongvariasjon og nivå av forurensninger i fisken som ble spist, var ikke var mulige å vurdere i disse studiene, det er noe som ville gi ytterligere opplysninger om forhold knyttet til fisk og helsemessige forhold, og bør om mulig inkluderes i senere studier. Resultatene av assosiasjonene med TG etter kjønn og type fisk som spises, kan være en viktig faktor å vurdere i intervensjonsstudier med sikte på å individualisere kostholdsanbefalingene.

6. Leveranser

- *Detaljert oversikt over leveranser i prosjektet*

Artikler

1. Karlsson T, Strand E, Dierkes J, Drevon CA, Øyen J, Midttun Ø, Ueland PM, Gudbrandsen OA, Pedersen ER, Nygård O. (2017). Associations between intake of fish and n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids and plasma metabolites related to

the kynurenine pathway in patients with coronary artery disease. *Eur J Nutr* Jan;56(1):261-272 doi: 10.1007/s00394-015-1077-9

2. Karlsson T, Rosendahl-Riise H, Dierkes J, Drevon CA, Tell GS, Nygård O. (2017) Associations between fish intake and the metabolic syndrome and its components among middle-aged men and women: the Hordaland Health Study. *Food Nut Res* Jul;61(1):1347479 doi: 10.1080/16546628.2017.1347479
3. Karlsson T, Strand E, Pedersen ER, Drevon CA, Tell GS, Nygård O. Prospective association between fish intake and incident type 2 diabetes mellitus in patients with stable angina pectoris Prospective association between fish intake and incident type 2 diabetes mellitus in patients with stable angina pectoris. *Under review.*

WP1, DEL 2: FISKEINNTAK OG VITAMIN D OG DERES EFFEKTER PÅ SARKOPENI, OSTEOPOROSE OG HOFTEBRUDD

1. Sammendrag - norsk

Bakgrunn: Ernæring er en nøkkelfaktor for en god helse når man blir eldre. Som en del av den naturlige aldringsprosessen, reduseres både muskel- og benmassen. Denne prosessen kan forverres ved lavt matinntak og dårlig ernæringsstatus. Fisk er en god kilde til proteiner av god kvalitet, vitamin D og omega-3 flerumettete fettsyrer, og dette er alle næringsstoffer som er assosiert med bedre bevaring av muskel- og benmasse. Derfor er det overordnede målet med prosjektet å undersøke fiskeinntak og hvordan dette kan påvirke muskelmasse, mobilitet og risikoen for osteoporose og hoftebrudd.

Metoder: Dette prosjektet er delt i tre deler som følger:
En systematisk litteraturgjennomgang av kliniske studier som undersøkte effekten av vitamin D-tilskudd på muskelstyrke og mobilitet hos eldre som var hjemmeboende.

En klinisk studie av pasienter med hoftebrudd ble fulgt i 3 måneder med fokus på matinntak, mobilitet, og kroppssammensetning. Studien ble gjennomført fra 2014 til 2015.

Analysen av data fra «Helseundersøkelsen i Hordaland» (HUSK) som er en befolkningsstudie med lang oppfølgingstid. I 1997-99, fylte deltagerne ut blant annet et kostholdsskjema og fikk tilbud om en bentetthetsmåling. Man fulgte også deltagerne over flere år, og hentet ut informasjon om blant annet hoftebrudd fra sykehusene i Hordaland. Dette gav muligheten for å analysere sammenhengen mellom fiskeinntak og bentetthet, i tillegg til fiskeinntak og risikoen for hoftebrudd.

Resultater: Fra den systematiske litteraturgjennomgang og meta-analysen kom det fram at vitamin D-tilskudd ikke er assosiert med økt muskelstyrke eller økt mobilitet hos hjemmeboende eldre. Dette funn er basert på 15 studier som oppfylte inklusjonskriteriene våre. Oppfølgingsstudien av pasienter med hoftebrudd viste at de som var lite mobile etter 2-3 måneder hadde mistet signifikant mer vekt og hadde et lavere proteininntak enn de som hadde større grad av mobilitet. Dette antyder viktigheten av å bevare muskelmassen etter et hoftebrudd. Analysene fra HUSK viste at fiskeinntak var positivt assosiert med bentetthet hos eldre kvinner, og da særlig inntaket av mager fisk. I middelaldrende menn og kvinner fant man ingen slik sammenheng. Analysene fra HUSK om fiskeinntak og hoftebrudd gjenstår og vil foreligge medio 2018.

Konklusjoner: Vi ser at vitamin D-tilskudd ikke var assosiert med muskelstyrke og mobilitet, mens matinntak og fiskeinntak viste positive assosiasjoner med mobilitet eller bentetthet. Dette kan tolkes i retning av at det er ikke er isolerte næringsstoffer som har størst betydning for helsen, men at næringsstoffene i maten vi spiser er av betydning. En framtidig klinisk oppfølgingsstudie i for eksempel eldre kvinner med høyt fiskeinntak sammenlignet med annen mat med bentetthetsmålinger som utfallsmål, kunne ha gitt flere svar i denne sammenhengen.

Sammendrag (engelsk)

Fish intake and vitamin D and its effect on sarcopenia, osteoporosis and hip fractures

Background: Nutrition is a key factor for healthy aging. As part of natural aging both muscle mass and bone mass are declining. This process may worsen due to poor dietary intake and limited nutritional status. Fish is a good source of high quality protein, vitamin D and omega 3 fatty acids and these are all nutrients that are associated with preserving both muscle and bone mass. Thus, the overall aim of the project was to investigate whether there is an association of fish intake with muscle mass and mobility and with bone mineral density and the risk for hip fractures.

Methods: The project is divided into three parts as follows:
A systematic search of the available literature followed by a meta-analysis investigating the effects of vitamin D supplementation (with or without calcium) in community-dwelling older subjects on muscle strength and mobility, based on the results from RCTs.

A longitudinal observational study on hip fracture patients with a follow up of two to three months. The patients were recruited from two hospitals in Bergen, Norway; Haukeland University Hospital and Haralds plass Deacon Hospital from February of 2014 until December of 2015.

An analysis of data from the Hordaland Health Study (HUSK). We are investigating the association between fish intake and bone mineral density, and also fish intake and the risk of hip fractures.

Results:

A total of 15 studies out of 2,408 articles from the literature search were included in the systematic review. In the majority of studies, no improvement in muscle strength and mobility was observed after administration of vitamin D with or without calcium supplementation.

The follow up of patients after a hip fracture showed that those who had a low mobility score after 2-3 months had lost significantly more weight than those with normal mobility score. There was also an association of protein intake and mobility.

Analyses from the HUSK study showed an association of high fish intake and bone mineral density in older women, but not in middle-aged women or in men. The analysis of the association between fish intake and the risk of hip fractures has not yet started, and will be available in summer 2018.

Conclusions: While vitamin D from supplements was not associated with muscle strength or mobility, we have shown an association of food intake and especially fish intake with both mobility and bone mineral density. This could be interpreted in a way that not a single nutrient, but the combination of nutrients that is found in food items has a beneficial effect on health outcomes. For further research, we suggest a clinical study on high fish intake compared to low intake in older women with the outcome bone mineral density.

2. Innledning

- *Faglig bakgrunn for at prosjektet ble igangsatt*

Sarkopeni og osteoporose er to helsetilstander med stor innflytelse på helse, livskvalitet og dødelighet hos eldre. Sarkopeni er sett på som en naturlig del av aldringsprosessen og er definert av «the European Working Group on Sarcopenia in Older People» som følgende: «reduced physical performance, strength and muscle mass by predefined diagnostic criteria». Sarkopeni har en estimert prevalens på 5-13% i 60-70 åringer, og 11-50% i eldre over 80 år. Osteoporose er også en helsetilstand som gir store utfordringer i en aldrende befolkning, der den mest alvorlige konsekvensen av osteoporose er et brudd i hoften, håndledd eller ryggvirvel. Diagnosen osteoporose blir enten stilt etter at man har gjennomgått et lavenergibrudd eller ved måling av bentetthet vha «dual-energy x-ray absorptiometry» (DXA). En bentetthet under 2.5 standard avvik av en gjennomsnittlig, ung og frisk voksen er definert som osteoporose av WHO. Norge er et høyrisikoland for hoftebrudd. Risikoen for å gjennomgå et hoftebrudd øker eksponentielt med alderen, og risikoen er nært knyttet opp til bentettheten. Dessverre er det slik at det ikke er noen biomarkører eller tidlige kliniske symptomer på forandringer i bentettheten, slik at et hoftebrudd ofte er det første tegnet på lav benmasse og osteoporose. Etablerte risikofaktorer for lav bentetthet og brudd er lav BMI (og dermed lav muskelmasse), røyking og inaktivitet.

Hvilke rolle kostholdet vårt spiller inn med tanke på utviklingen av sarkopeni og osteoporose er ikke avklart. Hvilke næringsstoffer som er involvert, hvilke rolle et tilstrekkelig energiinntak har i tillegg til ernæringsstatus, er alle områder som diskuteres. I forhold til utviklingen av osteoporose, fokuseres det spesielt på proteininntak og proteinkilder, kalsium, vitamin D, vitamin K og omega-3 fettsyrer. Fisk er en god kilde til protein, og fet fisk spesielt, er en god kilde til vitamin D og omega-3 fettsyrer. Assosiasjonen mellom fiskeinntak og bentetthet har blitt undersøkt i befolkninger fra USA, Kina og Spania med motstridende resultater. Det vil si at det er behov for flere studier på hvilke betydning kostholdet har for utviklingen av osteoporose. Når det gjelder sarkopeni, har fokuset spesielt vært på protein- og energiinntak. «The Society for Sarcopenia, Cachexia, and Wasting Disorders» har funnet ut at et adekvat protein- og energiinntak er avgjørende for forebygging av sarkopeni. Som allerede nevnt, er fisk en utmerket kilde til protein, og også andre næringsstoffer som kan være gunstige i forebyggingen av muskelsvinn. Omega-3 fettsyrer har en mulig gunstig effekt ved at den kan stimulere proteinsyntesen. Vitamin D kan påvirke muskelcellene via vitamin D reseptoren, og er trolig derfor nødvendig for optimal muskelfunksjon og adekvat proteinsyntese.

Det overordnede målet med dette prosjektet var dermed å undersøkte fiskeinntak, i tillegg til vitamin D, og hvordan inntaket påvirker muskelmasse, risikoen for osteoporose og hoftebrudd.

- *Prosjektets omfang*

Prosjektet omfatter en klinisk studie, en meta-analyse og analyser av data fra en kohort (HUSK).

- *Prosjektorganisering (roller/ansvar: prosjektgruppe, styringsgruppe, andre?)*

Prosjektgruppen består av professor Ottar Nygård (UiB/Haukeland Universitetssykehus), professor Jutta Dierkes (UiB), forsker Therese Karlsson (UiB), professor Anette Høyen Ranhoff (UiB), professor Grethe S. Tell (UiB). PhD-stipendiat og klinisk ernæringsfysiolog

Hanne Rosendahl-Riise har vært ansvarlig for praktiske gjennomføring av den kliniske studien, meta-analysen og analysene av dataene fra kohorten. Den kliniske studien ble gjennomført i samarbeid med masterstudent Svanhild Ådnanes.

3. Problemstilling og formål

- *Redegjøre for prosjektets effektmål (betydning for næringen, nytteverdi, kvantifiseres om mulig)*
Fiskeinntak har vist seg i flere studier til å ha en gunstig effekt på aterosklerose, hjerteinfarkt og slag. Men mange av disse studier viser motstridende resultater og ble gjennomført i land med mye lavere fiskeinntak enn Norge. Bruk av data fra befolkningsstudien 'HUSK' gir en unik mulighet til å undersøke sammenhengen mellom fiskeinntak og bentetthet i tillegg til risikoen for hoftebrudd. En beskyttende effekt av fiskeinntak mot lav bentetthet og hoftebrudd kan brukes som argument for både å fremme og forsvare et høyt fiskeinntak.

- *Redegjøre for prosjektets resultatmål (leveranser i prosjektet)*
Resultatene fra prosjektet blir publisert i internasjonale vitenskapelige tidsskrifter med fagfelle vurdering, og vil bli gjort tilgjengelige for publikum gjennom medieoppslag, kronikker og lignende. Se punkt 6 for en detaljert publiseringsplan for de vitenskapelige arbeidene.

4. Prosjektgjennomføring

- *Beskrivelse av metodikk (og evt. hvorfor denne tilnærmingen er valgt)*

Det er benyttet tre metoder i dette prosjektet:

1. Et systematisk søk av litteraturen og en meta-analyse
2. En klinisk studie
3. Analyse av data fra befolkningsstudien 'Helseundersøkelsen i Hordaland' (HUSK)

- *Gjennomføring av prosjektet*

Prosjektet blir gjennomført ved kliniske institutt K1 og K2 ved universitet i Bergen, i perioden 2013 til 2018. Prosjektet startet med datainnsamlingen til en klinisk intervensjonsstudie. På grunn av utfordringer med rekruttering av hoftebruddspasienter, ble studiedesignet endret til en observasjonsstudie med færre inkluderte pasienter enn planlagt. I mellomtiden ble det gjennomført et systematisk litteratursøk og det viste seg at dataene var velegnet til en påfølgende meta-analyse. En meta-analyse er en god metode for å samle resultatene fra studier med sammenliknbare studiedesign og motstridende konklusjoner. Vi fant 15 studier som kunne inkluderes og som gav analysene god styrke.

Datainnsamling i HUSK studien ble gjennomført i 1997-99, og i den perioden ble ca. 7500 menn og kvinner født i årene 1925-27 og i 1950-52 inkludert i Hordaland. Disse leverte informasjon om livsstil og kosthold ved hjelp av et 'food frequency questionnaire' som gir informasjon om både næringsstoffer og matvarer. I dette prosjektet blir matvaregruppen fisk brukt. Inntaket av fisk i HUSK- studien var sammenliknbart med fiskeinntak i den generelle norske befolkningen som ble undersøkt på 90-tallet i NORKOST2-studien. Alle deltakere fikk tilbud om måling av bentetthet ved DXA. Disse dataene har ikke blitt koblet mot hverandre før og gav en unik mulighet til å se på sammenhengen i et land med høyt fiskeinntak. Dette gjorde det også mulig til å skille mager og fet fisk, noe som andre studier ikke har kunnet gjøre pga. lav totalt fiskeinntak.

5. Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon

- *Detaljert oversikt over oppnådde resultater*

Det er planlagt 4 artikler fra dette prosjektet, se punkt 6 for detaljert oversikt. Den første artikkelen er publisert i Human Nutrition and Dietetics i februar 2017.

Systematisk oversikt og meta-analyse

Av totalt 2408 artikler fra det systematiske søket, ble 15 studier inkludert. Disse studiene bidro med totalt 2866 deltagere over 65 år. I majoriteten av studiene, fant man ingen forbedring av muskelstyrke eller mobilitet ved tilskudd av vitamin D med eller uten kalsiumtilskudd. I meta-analysen, fant man en ikke-signifikant endring av håndgripestyrke [+0.2 kg (95% konfidensintervall = -0.25 to 0.7 kg, syv studier)] og en liten, signifikant økning (som betyr forverring) i «timed-up-and-go test» [0.3 s (95% konfidensintervall = 0.1 to 0.5 s; fem studier)] ved tilskudd av vitamin D. Meta-analysen viste en stor grad av heterogenitet mellom studien.

Vekttap hos hoftebruddspasienter

Ved Haukeland Universitetssykehus og Haraldsplass Diakonale sykehus, ble 64 pasienter inkludert under innleggelse for deres første hoftebrudd, og 31 av disse pasientene ble undersøkt ca. 2-3 måneder etter bruddet. Vekt og flere antropometriske målinger og kostintervju ble gjennomført på sykehuset (1-2 dager etter operasjonen), på rehabiliteringsinstitusjonen (etter omtrent 17 dager) og hjemme (etter omtrent 69 dager). Energiinntaket hos disse pasientene var utilstrekkelig på sykehuset, og fortsatte å være utilstrekkelig på rehabilitering og ved hjemkomsten. Vekttapet var assosiert med redusert mobilitet og redusert muskelstyrke etter 2-3 måneder.

Fiskeinntak og bentetthet

Det gjennomsnittlige totale fiskeinntaket var 33 ± 18 g/1000 kcal og besto primært av mager fisk. De eldre kvinnene hadde en signifikant lavere bentetthet enn eldre menn og middelaldrende menn og kvinner. I eldre kvinner var det magre fiskeinntaket signifikant og positivt assosiert med bentettheten, og resultatet forble signifikant etter justering for flere faktorer. I de andre gruppene fant man ingen slik signifikant sammenheng.

Fiskeinntak og hoftebrudd

Analysene av dataene er enda ikke avsluttet, og er forventet ferdig medio 2018.

- *Vurdering av funnene (statistikk, gyldighet, sikkerhet, presisjon etc.)*

Styrkene i de studiene som har blitt gjennomført er at de undersøker flere aspekter ved helse ved aldring. Også friske eldre kan være rammet av sarkopeni og osteoporose som vanlig ikke få mye oppmerksomhet i helsevesen før en klinisk hendelse. Studien belyser sarkopeni og osteoporose med hensyn til både kosttilskudd og matinntak. Matvarer som fisk har en kompleks sammensetning og bidrar med flere næringsstoffer. Derfor er det vanskelig å tolke hvilke næringsstoffer som er ansvarlig for den positive helseeffekten. Siden fisk er en god kilde til vitamin D, har vi sett nærmere på vitamin D tilskudd og sarkopeni i meta-analysen, men fant ikke noen positiv effekt. Dette antyder at det ikke er isolert vitamin D (som fisk er en hovedkilde til i kosten) som forebygger mot sarkopeni, men en kombinasjon av andre næringsstoffer som finnes i fisk.

Styrken i meta-analysen er at i utgangspunktet friske hjemmeboende eldre ble undersøkt og ikke analysert sammen med sykehjemsbeboere so tidligere analyser har gjort. Begrensingen var at ikke

flere utfallsmål kunne inkluderes i meta-analysen pga. ikke sammenliknbare utfallsmål eller at antall studier var for lavt for å kunne utføre adekvate analyser.

Det finnes ikke mange studier med langtidsoppfølging av hoftebruddpasienter og særlig ikke med flere målinger i akuttfasen. Mange studier har ikke målt vekten men kun spurt pasientene om sin egen vekt. Derfor anser vi at styrken i den kliniske studien er oppfølging over tid og nøyaktig gjennomføring av antropometriske målinger mens svakheten er et lavt antall inkluderte pasienter.

HUSK er en stor befolkningsstudie som har høy prestisje innen fagområdet epidemiologi. Ernæringsdata fra HUSK har blitt publisert i flere sammenhenger, men aldri for sammenhengen mellom fiskeinntak, bentetthet og hoftebrudd. Tidligere studier har blitt utført i USA og Asia, men det mangler studier fra Europa. Derfor ser vi på disse funnene som verdifulle i en vitenskapelig sammenheng. Høy deltakertall i HUSK gir statistisk styrke til å kunne finne også små forskjeller.

- *Vurdering/drøfting av mulighetene for videre anvendelse av resultater fra prosjektet (implementering)*

Resultatene antyder at et høyt fiskeinntak har positive effekter på bentetthet, spesielt hos eldre kvinner som er mest utsatt for osteoporose og risiko for brudd. Derfor kunne en klinisk studie i eldre kvinner hvor effekten av en intervensjon med fisk sammenliknet med en annen matvare på bentetthet være svært aktuelt. En slik studie bør minimum ha varighet på ett år, da endring av benmassen skjer over lang tid. Resultatene antyder også at fisk som matvare har høyere effekter enn kosttilskudd.

6. Leveranser

- *Detaljert oversikt over leveranser i prosjektet*

Det er planlagt 4 vitenskapelig artikler og et masterprosjekt i dette prosjektet

1. Rosendahl-Riise H, Spielau U, Ranhoff AH, Gudbrandsen OA, Dierkes J. Vitamin D supplementation and its influence on muscle strength and mobility in community-dwelling older persons: a systematic review and meta-analysis. Publisert i Journal of Human Nutrition and Dietetics. 2017;30(1):3-15. Epub 2016/07/28.
2. Hanne Rosendahl-Riise, Therese Karlsson, Christian A. Drevon, Ellen M. Apalset, Ottar K. Nygård, Grethe S. Tell, Jutta Dierkes: "Lean fish intake is positively associated with bone mineral density in older women in the community based Hordaland Health Study". Sendt inn til et internasjonalt vitenskapelig tidsskrift i september 2017.
3. "Fish intake and the risk of hip fractures in the Hordaland Health Study". De statistiske analysene og skriving av manus er påbegynt. Den er planlagt innsendt til et internasjonalt tidsskrift i starten av 2018. Forsinkelse pga. stipendiatens foreldrepermisjon.
4. "Weight changes and mobility in the early phase after hip fractures". De statistiske analysene er ferdige og et råutkast av artikkelen er ferdig. Den er planlagt innsendt til et internasjonalt tidsskrift i løpet av høsten 2017.

Masteroppgaver

Svanhild Ådnanes leverte sin masteroppgave i human ernæring ved Universitetet i Bergen: «Food intake and weight changes in Norwegian hip fracture patients» i mai 2015.

Vitenskapelige presentasjoner

Vitamin D and calcium supplementation and its influence on muscle strength and mobility in community-dwelling elderly: a systematic review and meta-analysis. Plakat på ESPEN-konferansen i September 2014, Genève, Sveits

Vitamin D and calcium supplementation and its influence on muscle strength and mobility in community-dwelling elderly: a systematic review and meta-analysis. Presentasjon av artikkelen på FENS-konferansen i oktober 2015, Berlin, Tyskland

Weight change, energy intake and functional outcomes in Norwegian hip fracture patients. Plakat på ESPEN-konferansen September 2016, København, Danmark, på NCC-konferansen i juni 2016, Göteborg, Sverige og på KEFF-konferansen i mars 2016 i Oslo, Norge.

WP2: HELSEEFFEKTER AV INNTAK AV FEIT OG MAGER FISK I VOKSNE OG ROTTER MED OVERVEKT OG FEDME

1. Sammendrag - norsk

Bakgrunn: Overvekt og fedme er et verdensomspennende folkehelseproblem assosiert med metabolske komplikasjoner som insulinresistens, redusert glukosefølsomhet, dyslipidemi og høyt blodtrykk. Studier med forsøksdyr tyder på at næringsstoffer fra fisk, som proteiner og langkjedete omega-3 fettsyrer, kan bedre metabolske komplikasjoner. Befolkningsstudier indikerer også at forekomsten av livsstilssykdommer er lavere i befolkninger som spiser mye fisk. Dokumentasjon av effekter på glukose- og insulinmetabolisme ved fiskeinntak har vært manglende, derfor var det av interesse å undersøke om fiskeinntak tilsvarende anbefalinger fra Helsedirektoratet kunne være helsebringende for friske voksne med overvekt eller fedme.

Metoder: Det ble gjennomført en randomisert, kontrollert klinisk studie over tre tidsperioder; høst og vår 2014 og vår 2015. Deltakerne ble rekruttert gjennom annonsering og oppslag i lokale medier i Bergensområdet. Friske voksne i alderen 20-55 år med BMI over 28, stabil vekt og fastende blodglukose <7 mmol/l ble inkludert. De inkluderte deltakerne ble fordelt i tre parallelle intervensjonsgrupper: en laksegruppe, en torskgruppe og en kjøttgruppe. Gruppene inntok 150 g av henholdsvis laks, torsk eller magert kjøtt (kylling, svin, storfe) tre ganger i uken i 12 uker. For å gjøre tilbehøret så likt som mulig i gruppene ble deltakerne bedt om å bruke en tredelt tallerkenmodell. Tallerkenmodellen er et pedagogiskverktøy som deler tallerkenen inn i tre like deler der en del er til fisk/kjøtt, en til poteter eller fullkornsprodukter av pasta/ris og en til grønnsaker. Ved oppstart og etter 12 uker ble det tatt blod- og urinprøver, blodtrykk og vekt av alle deltakere, og deltakerne registrerte matinntak og fysisk aktivitet i to perioder. Et utvalg deltakere gjennomgikk en oral glukosetoleransetest, og tok fettbiopsi og avføringsprøver. Det ble også gjennomført dyrestudier der overvektige rotter fikk dietter med rå laks, bakt laks, rå torsk eller bakt torsk, der proteiner fra fiskefileten utgjorde 25% av proteinet i diettene. Diettene ble gitt til rottene i fire uker. Også normalvektige rotter fikk tilsvarende diett med bakt laks. Ved studieslutt ble det tatt prøver av urin, avføring og blod, og organer ble tatt ut for videre analyser.

Resultater: Inntak av dietter med rå eller bakt laks førte til lavere kolesterolnivåer i overvektige rotter sammenlignet med kontrolldiett. Bakt laks hadde mest uttalt effekt, og rottene som fikk bakt laks hadde lavere total, HLD og LDL kolesterol sammenlignet med kontroll, mens rottene som fikk rå laks hadde lavere HDL kolesterol. Begge rottetdiettene førte til høyere nivåer av omega-3 fettsyrer i blod og organer. Vi observerte ingen forskjeller i blodlipider mellom rottene som fikk bakt og rå laks. Samtidig med lavere kolesterolnivåer ble det observert høyere TAG i rottene som fikk laks. Konsentrasjoner av lipider og omega-3 fettsyrer i serum, lever og skjelettmuskulatur var lik mellom rotter som fikk bakt og rå laks. Resultatene fra de andre delstudiene er ikke klare per i dag.

Konklusjoner: Vi vil avvente vurderingen til vi er ferdige med alle analysene, statistikken og tolkningene.

Sammendrag - engelsk

Health effects of consuming fatty fish and lean fish in adults with overweight and obesity

Background: Overweight and obesity are global public health problems associated with metabolic complications such as insulin resistance, decreased glucose sensitivity, dyslipidemia and high blood pressure. Studies with experimental animals suggest that nutrients from fish, such as proteins and long chain omega-3 fatty acids, can improve metabolic complications. Population studies have indicated that the incidence of lifestyle diseases is lower in populations with high fish consumption. Documentation of direct effects on glucose and insulin metabolism after fish intake is lacking, and therefore it was of interest to investigate whether fish intake corresponding to the amounts recommended by the Norwegian Directorate of Health could be beneficial to healthy adults with overweight or obesity.

Methods: A randomized controlled clinical trial was conducted over three periods of time; autumn and spring 2014 and spring 2015. Participants were recruited through advertising and promotion in local media in the Bergen area. Adults aged 20-55 years with a BMI above 28, stable bodyweight and fasting blood glucose below 7 mmol / l were included. The included participants were enrolled to three parallel intervention groups: a salmon group, a cod group and a meat group. The groups were instructed to eat 150 g of salmon, cod or lean meat (chicken, pork, beef), respectively, three times a week for 12 weeks. In order to standardize side dishes to the dinner meals, participants were instructed to use a plate model. The plate model is a visual model dividing the plate into three equal sections where one third of the plate contains fish or meat, the second third contains potatoes or whole grain products, such as whole grain pasta or brown rice, and the last third contain vegetables. At baseline and 12 weeks visits we collected blood and urine samples, and registered blood pressure and weight of all participants, and participants recorded food intake and physical activity for two periods. A sub-group of participants conducted an oral glucose tolerance test and fat biopsies and faeces samples were collected. Animal studies were also conducted, where obese rats were fed diets with raw salmon, baked salmon, raw cod or baked cod where protein from the fish fillet accounted for 25% of the protein in the diets. The dietary intervention in rats was four weeks. Also normal weight rats were fed the corresponding diet with baked salmon. At the end of the study, urine, feces, blood and organs were collected for further analysis.

Results: Intake of diets with raw or baked salmon reduced cholesterol levels in obese rats compared to control diets. Baked salmon had the most pronounced effect, and the rats fed baked salmon had lower total, LDL and LDL cholesterol compared to control, while the rats fed raw salmon had lower HDL cholesterol. Both salmon diets led to higher levels of omega-3 fatty acids in blood and organs. We observed no differences in serum lipids between the rats fed baked and raw salmon. Concomitant with lower cholesterol concentrations, an elevated serum TAG was observed in the rats receiving salmon. Concentrations of lipids and omega-3 fatty acids in serum, liver and skeletal muscle were similar between rats fed baked and raw salmon. Results of the other studies of the project are not finished and are therefore not presented at present time.

Conclusions: Conclusions awaits until all analyses, statistics and interpretations are completed

2. Innledning

- *Faglig bakgrunn for at prosjektet ble igangsatt*

Overvekt og fedme er et verdensomspennende folkehelseproblem assosiert med metabolske komplikasjoner som insulinresistens, redusert glukosefølsomhet, dyslipidemi og høyt blodtrykk. Studier med forsøksdyr tyder på at næringsstoffer fra fisk, som proteiner og langkjedete omega-3 fettsyrer, kan bedre metabolske komplikasjoner. Befolkningsstudier indikerer også at forekomsten av livsstilssykdommer er lavere i befolkninger som spiser mye fisk. Dokumentasjon av effekter på glukose- og insulinmetabolisme ved fiskeinntak har vært manglende, derfor var det av interesse å undersøke om fiskeinntak tilsvarende anbefalinger fra Helsedirektoratet kunne være helsebringende for friske voksne med overvekt eller fedme. Studier i rotter med fedme var nødvendig for å undersøke effekter av fiskeinntak i vev og organer.

- *Prosjektets omfang*

Prosjektet omfatter en klinisk studie og tre rottestudier, og er således et omfattende prosjekt. Gjennomføring av prosjektet er beskrevet i punkt 4.

- *Prosjektorganisering (roller/ansvar: prosjektgruppe, styringsgruppe, andre?)*

Prosjektgruppen består av forsker Oddrun Anita Gudbrandsen (leder), professor Gunnar Mellgren (UiB/Haukeland Universitetssykehus), professor Jutta Dierkes (UiB), professor Ottar Nygård (UiB/Haukeland Universitetssykehus), førsteamanuensis Svein Are Mjøs (UiB), Grethe Rosenlund (Skretting) og Jørgen Borthen (Norsk Sjømatsenter). PhD-stipendiat og klinisk ernæringsfysiolog Linn Anja Vikøren har vært ansvarlig for praktiske gjennomføring av den kliniske studien og rottestudiene, i samarbeid med masterstudentene Iselin Vildmyren og Marthe Bergseth. Sykepleier Margit Solsvik og lege Øyvind Eng har vært ansvarlig for prøvetaking i den kliniske studien. I tillegg har vi hatt hjelp av bioingeniører fra Haukeland Universitetssykehus til prøvetaking i den kliniske studien, og dyrepassere fra UiBs dyrestall har bidratt i dyrestudiene.

3. Problemstilling og formål

- *Redegjøre for prosjektets effektmål (betydning for næringen, nytteverdi, kvantifiseres om mulig)*

Den kliniske studien er den første i sitt slag som undersøker om friske voksne med overvekt/fedme vil oppleve helseeffekter av å innta fisk til middag tre ganger per uke, som er Helsedirektoratets anbefaling. Vi hadde en gruppe som spiste laks og en gruppe som spiste torsk, og disse skal sammenlignes med en gruppe som spiste magert kjøtt. Resultatene fra denne studien er ikke klare per i dag.

Rottestudiene undersøkte effekter av inntak av fileter fra laks og torsk i en rottemodell med fedme, her undersøkte vi både rå og ovnsbakte fileter. Den første artikkelen fra rottestudiene er publisert, og viser at det er liten forskjell på inntak av bakt og rå laks. Dette er interessant i forhold til populariteten til sushi i Norge og andre land, og bør være av interesse for næringen.

- *Redegjøre for prosjektets resultatmål (leveranser i prosjektet)*

Resultatene fra prosjektet vil bli publisert i internasjonale vitenskapelige tidsskrifter med fagfelle vurdering, og vil bli gjort tilgjengelige for publikum gjennom medieoppslag, kronikker og lignende. Se punkt 6 for en detaljert publiseringsplan for de vitenskapelige arbeidene.

4. Prosjektgjennomføring

- *Beskrivelse av metodikk (og evt. hvorfor denne tilnærmingen er valgt)*

Vi søkte etter deltakere ved annonser i media, avisoppslag, intervjuer i TV og radio, og plakater på Haukeland Universitetssykehus, UiB og butikker. Aktuelle deltakere som meldte sin interesse for prosjektet ble intervjuet over telefon og inkludert dersom de passet med inklusjonskriteriene. Alle deltakere ble invitert til et informasjonsmøte før oppstart av studien, der de fikk nødvendig informasjon og bakgrunnen for studien og praktisk informasjon om hva de skulle være med på. Deltakerne møtte til tre visitter i løpet av de 12 ukene studien varte. I tillegg til innsamling av biologisk prøvemateriale ble deltakerne intervjuet for å kontrollere at intervensjonen ble fulgt og at de var friske. Deltakere i fiskegruppene kunne gjennom hele studien avtale henting av fisk ved behov. Alle deltakere fikk utlevert hefter med middagsoppskrifter. Analyser av biologiske prøver ble utført av Laboratorium for klinisk biokjemi og av prosjektgruppen. Vikøren og Gudbrandsen er ansvarlige for de statistiske analysene, som er gjennomført i dialog med statistikere tilknyttet Det medisinske fakultet. Design av den kliniske studien var basert på erfaring fra tidligere fiskespisestudier.

Rottestudiene ble gjennomført med normale dietter (dvs. normale mengder fett, proteiner, karbohydrater, vitaminer og mineraler for rotter) der proteinmengden i fiskefiletene utgjorde 25% av proteinet. I to av studiene brukte vi rotter med arvelig disposisjon for å utvikle fedme og vanlige følgesykdommer for fedme som høyt kolesterol, fettlever og høyt blodtrykk. I den tredje studien brukte vi rotter med normal vekt og metabolisme. I alle studiene var intervensjonsperioden på 4 uker. Rottene ble veid ukentlig, mat- og vanninntak ble målt, urin og avføring ble samlet, blodtrykket ble målt ved start og slutt av studien, og det ble tatt prøver av blod og organer ved avliving. Dette designet er tidligere brukt i vår forskningsgruppe, men aldri før med fiskefilet.

- *Gjennomføring av prosjektet*

Helseeffekter av inntak av fileter fra laks og torsk er undersøkt i en klinisk intervensjonsstudie i friske voksne med overvekt/fedme (BMI over 28) og i tre studier i rotter (både overvektmodell og normal rottemodell). Totalt 158 voksne med overvekt gjennomførte den kliniske intervensjonsstudien, og totalt 70 rotter var inkludert i rottestudiene.

Det ble gjennomført en randomisert, kontrollert klinisk studie over tre tidsperioder; høst og vår 2014 og vår 2015. Deltakerne ble rekruttert gjennom annonsering og oppslag i lokale medier i Bergensområdet. Friske voksne i alderen 20-55 år med BMI over 28, stabil vekt og fastende blodglukose <7 mmol/l ble inkludert. De inkluderte deltakerne ble fordelt i tre parallelle intervensjonsgrupper: en laksegruppe, en torsegruppe og en kjøttgruppe. Gruppene inntok 150 g av henholdsvis laks, torsk eller magert kjøtt (kylling, svin, storfe) tre ganger i uken i 12 uker. For å gjøre tilbehøret så likt som mulig i gruppene ble deltakerne bedt om å bruke en tredelt tallerkenmodell. Tallerkenmodellen er et pedagogiskverktøy som deler tallerkenen inn i tre like deler der en del er til fisk/kjøtt, en til poteter eller fullkornsprodukter av pasta/ris og en til grønnsaker. Ved oppstart og etter 12 uker ble det tatt blod- og urinprøver, blodtrykk og vekt av alle deltakere, og deltakerne registrerte matinntak og fysisk aktivitet i to perioder. Et utvalg deltakere gjennomgikk en oral glukosetoleransetest, og tok fettbiopsi og avføringsprøver.

Det ble også gjennomført dyrestudier der overvektige rotter fikk dietter med rå laks, bakt laks, rå torsk eller bakt torsk, der proteiner fra fiskefileten utgjorde 25% av proteinet i diettene. Diettene ble gitt til rottene i fire uker. Også normalvektige rotter fikk tilsvarende diett med bakt laks. Ved studieslutt ble det tatt prøver av urin, avføring og blod, og organer ble tatt ut for videre analyser.

Den kliniske studien og rottestudiene er ferdig gjennomført men det gjenstår fortsatt analysearbeid, og planlagt tid for dette er skissert under hver artikkel i punkt 6. I tillegg kan

tidsskriftene be om flere analyser enn det vi har planlagt, og vi kan risikere at det vil være nødvendig å utføre etter prosjektperioden. Det er derfor nødvendig å sette av midler både til publiseringsavgifter og til mulige ekstra-analyser.

5. Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon

- *Detaljert oversikt over oppnådde resultater*

Det er planlagt 7 artikler fra dette prosjektet, se punkt 6 for detaljert oversikt. Den første artikkelen er publisert i Food & Nutrition Research: Effects of baked and raw salmon fillet on lipids and n-3 PUFAs in serum and tissues in Zucker fa/fa rats.

Inntak av dietter med rå eller bakt laks førte til lavere kolesterolnivåer i overvektige rotter sammenlignet med kontrolldiett. Bakt laks hadde mest uttalt effekt, og rottene som fikk bakt laks hadde lavere total, HLD og LDL kolesterol sammenlignet med kontroll, mens rottene som fikk rå laks hadde lavere HDL kolesterol. Begge rottetdiettene førte til høyere nivåer av omega-3 fettsyrer i blod og organer. Vi observerte ingen forskjeller i blodlipider mellom rottene som fikk bakt og rå laks. Samtidig med lavere kolesterolnivåer ble det observert høyere TAG i rottene som fikk laks. Konsentrasjoner av lipider og omega-3 fettsyrer i serum, lever og skjelettmuskulatur var lik mellom rotter som fikk bakt og rå laks.

- *Vurdering av funnene (statistikk, gyldighet, sikkerhet, presisjon etc.)*

Her vil vi avvente vurderingen til vi er ferdige med alle analysene, statistikken og tolkningene.

- *Vurdering/drøfting av mulighetene for videre anvendelse av resultater fra prosjektet (implementering)*

Her vil vi avvente vurderingen til vi er ferdige med alle analysene, statistikken og tolkningene.

6. Leveranser

- *Detaljert oversikt over leveranser i prosjektet*

Det er planlagt 7 vitenskapelig artikler i dette prosjektet

1. Effects of baked and raw salmon fillet on lipids and n-3 PUFAs in serum and tissues in Zucker fa/fa rats. Publisert i Food & Nutrition Research 2017.
2. A randomized controlled trial characterizing effects of farmed salmon and wild cod intake on glucose and insulin regulation in overweight and obese adults. Sendt til European Journal of Nutrition for vurdering.
3. Serum triacylglycerol concentration and fatty acid composition in obese Zucker fa/fa rats and normal weight Long-Evans rats fed a diet containing salmon fillet. Sendt til Food & Nutrition Research for vurdering.
4. Effects of diets containing salmon fillet on the development of high blood pressure and hyperfusion damage in kidneys in obese Zucker fa/fa rats. Sendt til Journal of the American Society of Hypertension for vurdering.

5. Effects of cod fillet on serum cholesterol and n-3 LC PUFAs in serum and organs in hypercholesterolemic obese Zucker fa/fa rats. Artikkel under arbeid. Mesteparten av analysene er ferdige, og vi regner med at analysene er ferdige i løpet av september 2017, og at artikkelen sendes til tidsskrift kort tid etter.
6. Effects of cod fillet on kidneys and protein metabolism in obese Zucker fa/fa rats. Artikkel under arbeid. Mesteparten av analysene er ferdige, og vi regner med at analysene er ferdige i løpet av september 2017, at statistikk og tolkning er ferdig i løpet av november 2017, og at artikkelen sendes til tidsskrift kort tid etter.
7. Fish intake and effects on gene regulation in white adipose tissue and blood lipids from overweight adults. Artikkel under arbeid. Alle planlagte lipidanalyser i serum er ferdige, og vi regner med at analysene av genuttrykk og de statistiske analysene vil være ferdige i slutten av november 2017, og at artikkelen sendes til tidsskrift for vurdering i desember 2017.

Vitenskapelige presentasjoner

Fisk som proteinkilde til barn, voksne og eldre. Foredrag på YoungFish, "Laks på tallerken", september 2014, Bergen

Presentasjon av FINS WP2: «Sunn og Frisk» og «Ung og Frisk». Foredrag på Fedmedagen, oktober 2014 i Bergen

Intake of fish protein and effects on glucoseregulation and lipid metabolism in obese Zucker rats. Plakat på The 37th ESPEN Congress, september 2015 i Lisboa, Portugal.
Effects of intake of baked and raw fish on serum lipids and fatty acid composition in obese rats.

Plakat på Nordic Nutrition Conference, juni 2016, Göteborg, Sverige.
Effects of salmon filet intake on blood pressure regulation. Plakat på Nordic Nutrition Conference, juni 2016, Göteborg, Sverige.

Intake of baked and raw salmon fillet and effects on serum markers of organ damage and fatty acid profile in obese Zucker rats. Plakat på Sjømat og helsekonferansen, september 2016 i Bergen.

En studie av effekter av fiskeinntak på blodtrykk og nyrefunksjon. Foredrag på Sjømat og helsekonferansen, september 2016 i Bergen.

Helseeffekter av fiskeinntak i overvektige voksne. Foredrag på Keff-konferansen, mars 2017 i Oslo

Medieoppslag i forbindelse med forskningsprosjektet

Forskarar deler ut gratis kjøtt og fisk. Viss du er overvektig og vil stilla opp for forskinga, får du gratis kjøtt eller fisk i tre månader. 24.01.14 <http://www.nrk.no/hordaland/forskarar-gir-gratis-kjott-og-fisk-1.11492782>

Må ha flere overvektige. Forskere i Bergen er i gang med et kjempeprosjekt om kosthold
08.02.14 <http://www.ba.no/nyheter/helsemagasinet/article7125389.ece>

Søker overvektige barn. Forskere i Bergen søker overvektige barn til nytt prosjekt med fokus
på å spise sunne middager. 22.08.14 <http://www.dagensmedisin.no/nyheter/soker-overvektige-barn-/>

Universitetet i Bergen søker 120 overvektige barn. Forskere skal la barna skal spise sunne
middager i tolv uker for å se om det påvirker helsen deres. 22.08.14
<http://www.dagbladet.no/2014/08/22/nyheter/ertering/helse/overvekt/barn/34911758/>

Difor bør du eta meir fisk. Ernæringsforskar Oddrun Anita Gudbrandsen meiner at fisk er
godt for både kropp og sjel. Vi spurde ho kvifor. 28.08.14
<http://www.uib.no/aktuelt/80406/difor-b%C3%B8r-du-eta-meir-fisk>

Fisk hjelper mot mange livsstilssykdommer. Fiskeribladet Fiskaren 16. september 2016.

Svaret overrasket forskerne: Nei, rå fisk var ikke det sunneste. Bergens Tidende 13. juni 2017.
https://www.bt.no/100Sport/sprek/Svaret-overrasket-forskerne-Nei_-ra-fisk-var-ikke-det-sunneste-236619b.html

Før ble man rådet til å velge rå laks framfor ovnsbakt. Nå overrasker forskernes ferske studie.
Dagbladet 14. juni 2017. <https://www.dagbladet.no/mat/for-ble-man-radet-til-a-velge-ra-laks-framfor-ovnsbakt-na-overrasker-forskernes-ferske-studie/67680492>

Helseforskning gjøres med «skreddersydd» laks. Morgenbladet 30. juni 2017.
<https://morgenbladet.no/aktuelt/2017/06/helseforskning-gjores-med-skreddersydd-laks>

Intervjuer i TV/radio

NRK Hordaland 24.01.14

P4s utvidete nyhetssending 22. april 2014

NRK Dagsnytt 22.08.14

NRK Hordaland 20.08.14

TV2 Lørdagsmagasinet 10. mai 2014 (egen sak om spiseforsøkene våre)

WP3: ENERGIOMSETNING OG FEDMEUTVIKLING

1. Sammendrag - norsk

Dietter med høyt proteininnhold er populære i forhold til beskyttelse og reduksjon av fedme. Vi har vist at dietter med forskjellige typer proteiner har ulik kapasitet til å beskytte mot fedmeutvikling. Proteiner fra melk beskytter mot fedme, mens proteiner fra landdyr fremmer fedmeutviklingen. Sammenliknet med proteiner fra kylling og svin, virker marine proteinkilder gunstige i forhold til utvikling av fedme og diabetes type 2. Resultatene kan relateres til forskjellig føreffektivitet og påvirkning av de brune fettcellene sin evne til å omdanne energi til varme. For å undersøke om høyprotein diettene også er egnet for slanking ble de gitt til mus som allerede var fetet opp. Høyprotein diettene var, med mindre de ble kombinert med energirestriksjon, ikke egnet for å reversere fedme i mus.

For å undersøke om mager sjømat kan påvirke fedmeutvikling dersom sjømaten inngår i en helt vanlig sammensatt diett laget vi såkalt «Western-diets» der proteinkilden var enten en blanding av mager sjømat eller ren torskefilet. Kontrollgruppene fikk en blanding av magert kjøtt fra landdyr eller svin. Mus som fikk sjømat la mindre på seg og hadde en høyere forbrenning enn mus som spiste landdyr. Musene som fikk sjømat spiste litt mindre enn dem som fikk kjøtt. For å undersøke betydningen av dette inkluderte vi en gruppe som fikk begrenset tilgang på fôr når svin ble brukt som proteinkilde. Denne gruppen av mus la som forventet mindre på seg enn de musene som hadde fri tilgang på svinedietten, men de la mer på seg enn musene som fikk torsk. Dette betyr at torsk sannsynligvis øker forbrenningen i tillegg til å virke mettende.

Til tross for at torsk er en mager fisk var fettsyremønsteret i både røde blodceller og lever i musene som hadde fått torsk forskjellig fra mus som hadde fått svin. Anrikningen av marine omega-3 fettsyrer i røde blodceller og lever var mye større enn hva som var forventet, og kan bety at biotilgjengeligheten av marine fettsyrer fra mager fisk er høy. For å undersøke betydningen av fettsyrene i mager fisk sammenliknet vi effekten av dietter med torsk, kylling og pangasius. Fedmeutviklingen i mus som fikk pangasius i dietten var betraktelig høyere enn i mus som fikk torsk, men noe lavere sammenliknet med mus som fikk kylling. Fettsyremønsteret i røde blodceller og lever fra mus som var føret med pangasius liknet fettsyremønsteret i kyllingførede mus.

Sammendrag - engelsk

Energy expenditure and obesity development

High-protein diets are popular in terms of protection and reduction of obesity. Here, we have shown that diets with different types of proteins have varying capacity to protect against obesity development. Proteins from milk protect against obesity, whereas proteins from terrestrial animals promote obesity. Compared with chicken and pork proteins, are marine proteins favorable in relation to obesity and type 2 diabetes. The results can be related to different feed efficiency and influence of the ability of brown fat cells to convert energy into heat. To investigate whether the high protein diets were suitable for dieting, the high protein diets were given to already obese mice. However, the high protein diets, unless combined with energy restriction, were not able to reverse obesity in mice.

To investigate if lean seafood can affect obesity development if seafood is included in a common diet, we made so-called "Western diets" where the protein sources were a mixture of lean seafood or pure cod fillet. Control groups received a mixture of lean meats from land animals or proteins from lean pork meat. Mice that received seafood consumed less energy and had higher metabolic activity than mice fed terrestrial meat. To investigate the impact of reduced feed-intake, we included a group that had limited feed availability and pork as a protein source. As expected, these mice gained less weight than the mice who had free access to the pork-diet, but they gained more weight than the mice who received cod. Hence, it is likely that cod may act anti-obesogenic by increasing satiety as well as energy expenditure.

Despite the fact that cod is a lean fish, the fatty acid composition was altered in both red blood cells and livers in cod fed mice. The enrichment of marine omega-3 fatty acids in red blood cells and liver was much greater than expected and the results suggest that the bioavailability of marine fatty acids from lean fish is high. To further investigate the importance of the fatty acids in lean fish, we compared the effect of diets with cod and pangasius. The obesity development in mice receiving pangasius in the diet was significantly higher than in mice receiving cod but somewhat lower than in mice who received chicken. The fatty acid composition in red blood cells and liver from mice fed pangasius resembled the fatty acid composition in chicken-fed mice.

2. Innledning

- *Faglig bakgrunn for at prosjektet ble igangsatt*

Fedme er en av de viktigste underliggende faktorer for utvikling av en rekke metabolske sykdommer. Selv om det lenge har vært kjent at marine oljer kan beskytte mot fedme har det vært gjennomført lite forskning på hvorvidt andre komponenter i sjømat kan ha den samme effekten. I dette prosjektet ønsket vi å studere hvorvidt marine proteiner kan beskytte mot fedmeutvikling. Det finnes mange studier som indikerer at et høyt inntak av proteiner er gunstig i forhold til fedme. Proteiner gir en større metthetsfølelse enn både fett og karbohydrater. Sammenliknet med de andre hovednæringsstoffene bruker kroppen mer energi på å fordøye proteiner. Mens hele 20-30% av energien fra proteiner går med til fordøyelse, er de tilsvarende tallene for fett og karbohydrat henholdsvis 0-3 og 5-10%. Energien som brukes til å fordøye et måltid kalles diett-indusert termogenese. Hvorvidt den diett-induserte termogenesen er forskjellig dersom proteinene kommer fra ulike kilder var ikke kjent.

I forsøk med mus har vi vist at høyt inntak av melkeproteiner øker energiforbruket og reduserer føreffektiviteten, noe som viser at flere kalorier er nødvendig for å øke kroppsvekten til forsøksdyret med ett gram. En av hovedgrunnene til dette ser ut til å være at et høyt inntak av melkeproteiner medfører et større antall av brune fettceller. I motsetning til de alminnelige hvite fettceller som lagrer energi, kan de brune fettcellene omdanne energi til varme. Når proteinene byttes ut med karbohydrater reduseres gradvis evnen til de brune fettcellene til å omdanne energi til varme.

- *Prosjektets omfang*

I prosjektperioden ble det utført en rekke fôringsforsøk med mus der vi systematisk sammenliknet hvordan marine proteiner kunne forhindre utvikling av fedme og påvirke effekten av slanking.

- *Prosjektorganisering (roller/ansvar: prosjektgruppe, styringsgruppe, andre?)*

Prosjektgruppen besto av forskningssjef Lise Madsen, seniorforsker Bjørn Liaset, forskerne Lene Secher Myrnel, Even Fjære og Ulrike Liisberg (NIFES). I tillegg har Kristin Røen Fauske som ble ansatt som PhD-student, og masterstudentene Astrid Elise Hasselberg og Nina Nordberg (2014), Hanne Andersen og Mona Søgne (2015) og Karianne Korsmo (2016) vært tilknyttet. Arbeidet har vært gjennomført i samarbeid med Karsten Kristiansen og medarbeidere ved Biologisk Institutt, Universitetet i København. Deler av arbeidet er også gjennomført i samarbeid med prof Anne Raben ved NEXT, Universitetet i København og prof Jan Kopecky ved The Czech Academy of Sciences i Praha.

3. Problemstilling og formål

- *Redegjøre for prosjektets effektmål (betydning for næringen, nytteverdi, kvantifiseres om mulig)*

Resultatene fra disse forsøkene viser at sammenliknet med proteiner fra magre kjøttkilder, som kylling og svin, medfører inntak av proteiner fra mager sjømat redusert fedmeutvikling. Dette gjenspeiles også i redusert utvikling av diabetes type 2. Denne effekten kan knyttes til både økt metthetsfølelse og økt forbrenning. I forsøk hvor overvektige dyr slankes bevares muskelmassen bedre dersom musene føres med marine proteiner. Et viktig funn er også at selv om torsk er en mager fisk kan de marine fettsyrene som er tilstede allikevel være av betydning for effekten. De systematiske undersøkelsene kan legge grunnlag for design av humane intervensjonsstudier.

- *Redegjøre for prosjektets resultatmål (leveranser i prosjektet)*

Leveransene i prosjektet er detaljert beskrevet under punkt 6. Tre artikler er publisert og det er presentert 3 postere på internasjonale møter. Ytterligere 4 manuskripter er under utarbeidelse. Fem masterstudenter er uteksaminert. Disputas for PhD-student er utsatt pga fødselspermisjon, men vil bli gjennomført i 2018.

4. Prosjektgjennomføring

- *Beskrivelse av metodikk (og evt. hvorfor denne tilnærmingen er valgt)*

Vi har benyttet C57Bl/6J mus i føringforsøk som har gått over 12 uker. Denne musestammen utvikler fedme og diabetes som et resultat av endringer i diett og er den mest brukte innen denne typen forskning. Fedme ble kvantifisert ved hjelp av NMR og disseksjon og påfølgende veiing av fettvev. Diabetesutvikling ble målt ved hjelp av standard glukose- og insulin- belastningstester. Annen metodikk omfatter standardprosedyrer som real-time qPCR, western-blotting, histologi, immunohistokjemi og gasskromatografi.

- *Gjennomføring av prosjektet*

Det har vært gjennomført 2-3 føringforsøk hver høst siden oppstart. Prøvene har blitt analysert påfølgende vinter og vår.

5. Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon

- *Detaljert oversikt over oppnådde resultater*

Dietter med høyt proteininnhold er populære i forhold til beskyttelse og reduksjon av fedme. Vi har vist at dietter med forskjellige typer proteiner har forskjellig kapasitet til å beskytte mot

fedmeutvikling. Proteiner fra melk beskytter mot fedme, mens proteiner fra landdyr fremmer fedmeutviklingen. Sammenliknet med proteiner fra kylling og svin, virker marine proteiner gunstig i forhold til utvikling av fedme og diabetes type 2. Resultatene kan relateres til forskjellig føreffektivitet og påvirkning av de brune fettcellene sin evne til å omdanne energi til varme. Resultatene er publisert i *Adipocyte* (Lisberg et al). Se pkt 6.

For å undersøke om høyproteindiettene også var egnet for slanking ble de gitt til mus som allerede var fetet opp. Høyproteindiettene var, med mindre de ble kombinert med energirestriksjon, ikke egnet til å reversere fedme i mus. Fedme ble forverret i mus som ble forsøkt slanket med høyproteindietter der svin utgjorde proteinkilden, mens fedmeutvikling ble stabilisert, men ikke reversert, dersom proteinkilden var torsk. Vi blandet torsk og svin i lavfett dietter og gjentok slankeforsøkene. Ved avslutning hadde mus som fikk svin mer fettvev enn mus som fikk torsk. I forsøkene der musene ble utsatt for energirestriksjon ble muskelmassen bedre bevart dersom proteinkilden i dietten var torsk. Resultatene vil bli relatert til energiomsetning i brunt fett. Manuskript er under utarbeiding, se pkt 6.

For å videre studere hvorfor høyproteindietter med torsk og svin/kylling påvirker fedme i så forskjellig grad ble forsøket med disse diettene gjentatt. Vi inkluderte en gruppe som fikk kylling diett, men vi begrenset tilgangen slik at disse musene ikke la på seg mer enn musene som fikk torsk. Til tross for at fettmassen i gruppen som fikk torsk og gruppen som fikk begrensende mengder kylling var lik, hadde musene som fikk torsk spist 20% mer energi. Dette betyr at energien fra dietten som inneholder torsk ikke lagres i musene, men forbrennes. Vi undersøker nå om dette kan være relatert til tarmfloraens sammensetning. Analyser pågår og manuskript er påbegynt, se pkt 6.

Overvektige mus ble føret lavfett dietter med laks eller entrecôte som proteinkilde. For å undersøke effekten av trening fikk halvparten av musene tilgang på løpehjul. Den slankende effekten av lavenergidiettene med laks og entrecôte var like, og trening hadde en forsterkende effekt påvirket effekten. Alle musene fikk også forbedret insulinfølsomhet. Musene som ble slanket ved hjelp av en diett som inneholdt laks hadde imidlertid mindre fett i leveren. Resultatene vil bli relatert til effekter av diett og trening på tarmfloraens sammensetning. Manuskript er under utarbeiding, se pkt 6.

For å undersøke om mager sjømat kan påvirke fedmeutvikling dersom sjømaten inngår i en helt vanlig sammensatt diett laget vi såkalt «Western-diets» der proteinkilden var en blanding av magre landdyr eller mager sjømat. Mus som fikk sjømat la mindre på seg enn mus som spiste landdyr. Musene som fikk sjømat spiste litt mindre enn dem som fikk kjøtt. Dette indikerer at sjømat kan være mer mettende enn kjøtt. Når vi regnet ut føreffektiviteten, et mål på hvor mange kalorier som behøves for å øke kroppsvekten til forsøksdyret med ett gram, så vi at denne var lavere hos sjømatgruppen. Dette indikerte at forbrenningen var høyere. Resultatene er publisert i *J Nutr Biochem* (Holm et al), se pkt 6.

For å videre undersøke betydningen av at mus som får sjømat har lavere førinntak ble forsøket som er beskrevet ovenfor gjentatt. I dette forsøket brukte vi torsk og svin som proteinkilder, og vi inkluderte en gruppe som fikk begrenset tilgangen på føde når svin ble brukt som proteinkilde. Denne gruppen av mus la som forventet mindre på seg enn de musene som hadde fri tilgang på svinedietten, men de la mer på seg enn musene som fikk torsk. Dette betyr at torsk sannsynligvis øker forbrenningen i tillegg til å virke mettende. Til tross for at torsk er en mager fisk var fettsyremønsteret i både røde blodceller og lever i musene som hadde fått torsk forskjellig fra mus

som hadde fått svin. Anrikningen av marine omega-3 fettsyrer var mye større enn hva som var forventet, og kan bety at biotilgjengeligheten av marine fettsyrer fra mager fisk er høy. Resultatene er publisert i J Nutr Biochem (Liisberg et al), se pkt 6.

For å undersøke betydningen av fettsyrene i mager fisk har vi sammenliknet effekten av dietter med torsk, kylling og pangasius. Fedmeutviklingen i mus som fikk pangasius i dietten var betraktelig høyere enn i mus som fikk torsk, men noe lavere enn i mus som fikk kylling. Fettsyremønsteret i røde blodceller og lever fra mus som var fôret med pangasius liknet fettsyremønsteret i kyllingfôrede mus. Mus som var fôret med torsk hadde høy omega-3 indeks og lavere nivå av signalstoffer som dannes fra arakidonsyre i blodet. Dette bekrefter at biotilgjengeligheten fettsyrer i mager sjømat er god. Manuskript er under utarbeiding, se pkt 6.

- *Vurdering av funnene (statistikk, gyldighet, sikkerhet, presisjon etc.)*

Funnene vurderes som robuste. Tre artikler er publiserte i anerkjente peer-review journaler.

- *Vurdering/drøfting av mulighetene for videre anvendelse av resultater fra prosjektet (implementering)*

Resultatene fra denne studien bør gi grobunn for humane intervensjonsforsøk.

6. Leveranser

- *Detaljert oversikt over leveranser i prosjektet*

Publikasjoner

1. The protein source determines the potential of high protein diets to attenuate obesity development in C57BL/6J mice. Ulrike Liisberg, Lene Secher Myrmel, Alexander K. Rønnevik, Even Fjære, Susanne Bjelland, Kristin Røen Fauske, Astrid Linde Basse, Jacob B. Hansen, Bjørn Liaset, Karsten Kristiansen and Lise Madsen. *Adipocyte*. 2016 17;5(2):196-211
2. Effects of Western diets based on lean seafood or lean meat on energy intake, diet-induced obesity and gut microbiota in C57BL/6J mice. Jacob Bak Holm, Alexander Rønnevik, Hanne Sørup Tastesen, Even Fjære, Kristin Røen Fauske, Ulrike Liisberg, Lise Madsen, Karsten Kristiansen and Bjørn Liaset. *J Nutr Biochem*. 2016 May;31:127-36
3. Exchanging a lean terrestrial protein source with a lean seafood source influences fatty acid composition in tissue phospholipids and attenuates obesity and hepatic steatosis in mice. Ulrike Liisberg, Kristin Røen Fauske, Ondrej Kuda, Even Fjære, Lene Secher Myrmel, Nina Nordberg, Livar Frøyland, Ingvild Eide Graff, Bjørn Liaset, Karsten Kristiansen, Jan Kopecky and Lise Madsen. *J Nutr Biochem*. 2016 Jul;33:119-27.

Manuskripter

1. Cod has a higher potential than pork to induce weight loss in obese C57BL/6J mice. Lene Secher Myrmel, Kristin Røen Fauske, Even Fjære, Astrid Hasselberg, Mona Søgne, Bjørn Liaset, Karsten Kristiansen and Lise Madsen (in preparation).

2. The importance of microbiota in mediating the anti-obesity effect of cod. Lene Secher Myrmel, Even Fjære, Helene Søgne, Xiao Liang, Karsten Kristiansen and Lise Madsen (in preparation).
3. Low fat diet combined with exercise reversed diet-induced obesity and increased UCP1 expression in iBAT. Even Fjære, Lene Secher Myrmel, Hanne Andersen, Rita Hannisdal, Karsten Kristiansen and Lise Madsen (in preparation).
4. The obesogenic potential of high fat/high protein diets is determined by both amino acid- and fatty acid composition of the protein source used. Even Fjære, Lene Secher Myrmel, Karianne Korsmo, Jan Kopecky and Lise Madsen (in preparation).

Postere

The protein source determines the potential of high protein diets to attenuate obesity development. Ulrike Liisberg, Lene Secher Myrmel, Alexander K. Rønnevik, Even Fjære, Susanne Bjelland, Kristin Røen Fauske, Astrid Linde Basse, Jacob B. Hansen, Bjørn Liaset, Karsten Kristiansen and Lise Madsen. Poster presentert på Beige and Brown Fat: Basic Biology and Novel Therapeutic. Keystone symposia. Snowbird, Utah, USA 17-22 April 2015.

Cod fillet protects against diet-induced obesity in a Western diet. Kristin Røen Fauske Ulrike Aune, Ondrej Kuda, Even Fjære, Nina Nordberg, Livar Frøyland, Ingvild Eide Graff, Bjørn Liaset, Karsten Kristiansen, Jan Kopecky and Lise Madsen. Poster presentert på 28th Lipidforum Symposium, Reykjavik, Island, 3-6 Juni 2015.

Low fat diet combined with exercise reversed diet-induced obesity and increased UCP1 expression in iBAT. Even Fjære, Lene Secher Myrmel, Hanne Andersen, Rita Hannisdal, Karsten Kristiansen and Lise Madsen. Poster presentert på DIABAT, Prague, 28-29 September 2015.

Masteroppgaver

2014: Astrid Elise Hasselberg. A high proportion of dietary casein attenuates the obesogenic effect of high fat diets in C57Bl/6J mice

2014: Nina Norberg. The obesogenic effect of Western diets is influenced by protein source

2015: Hanne Andersen. Combining a low fat diet with exercise reverses diet-induced obesity and improves glucose homeostasis in mice.

2015: Mona Søgne. Dietary casein has a higher potential than cod and pork to induce weight loss in obese C57BL/6J mice.

2016. Karianne Korsmo. The obesogenic potential of high fat/high protein diets is determined by both amino acid- and fatty acid composition of the protein source used.

WP3, DEL 2: ENERGIOMSETNING OG FEDMEUTVIKLING

1. Sammendrag - norsk

Bakgrunn: Fedme er en viktig årsak for utvikling av metabolske sykdommer. Marine oljer kan beskytte mot fedme hos gnagere, men det er lite kjent hvorvidt andre komponenter og hele sjømatmåltider kan ha den samme effekten. I dette prosjektet ønsket vi å studere hvordan marine proteiner kan påvirke fedmeutvikling, og påvirke forbrenningen, sammenlignet med proteiner fra landdyr.

Metoder: Det er utført to humane studier som separate randomiserte intervensjonsstudier med kryss over design, hvor hver forsøksperson skulle delta i fire testdager. Det ble randomisert 25 forsøkspersoner til studie 1 og 23 forsøkspersoner til studie 2. I studie 1 testet vi laks og kalv i kombinasjon med karbohydrater med høy og lav GI (potetmos og pasta). I studie 2 testet vi torsk og kalv i kombinasjon med karbohydrater med høy og lav GI (potetmos og pasta).

Resultater: Resultatene viser en signifikant større diett-indusert termogenese etter måltidet med laks+potetmos sammenlignet med laks+pasta. Dette betyr at deltagerne har en høyere totalforbrenning når de spiser laks sammen med potetmos, enn når de spiser laksen sammen med pasta. En tilsvarende forskjell finnes ikke dersom proteinkilden er kalv. I forhold til deltagerens subjektive metthetsfølelse (vurderes via VAS, visual analogue scores) ses økt metthetsfølelse og redusert etterfølgende matinntak etter måltidet med laks og potetmos sammenliknet med de andre eksperimentelle gruppene.

Sammendrag - engelsk

Energy expenditure and obesity development

Background: Obesity is the main underlying factor for development of metabolic syndrome. Marine oils are known to protect against diet-induced obesity in rodents, but it is largely unknown whether other components of the seafood meal can have the same effect. In this project, we would like to study how marine proteins can influence development of obesity, and the metabolism, compared to proteins from terrestrial animals.

Methods: Two human randomized intervention studies with a cross over design have been carried out, where it was intended that every test person should participate for four test days. For the first study, 25 test persons was randomized, and 23 test persons was randomized for the second study. In the first study, salmon and veal was tested in combination with carbohydrates with high and low GI (potato mash and pasta). The second study tested the

effect of cod and veal in combination with carbohydrates of high and low GI (potato mash and pasta).

Results: The results shows a significant increase in diet induced thermogenesis after a meal of salmon and potato mash compared to salmon and pasta. This means that the participants have a higher total metabolism when eating salmon with mash, compared to salmon with pasta. A similar difference was not seen when the protein source was veal. In connection to the test person's subjective satiety (considered via VAS: visual analogue scores), an increased satiety and decreased food intake is seen after a meal with salmon and mash compared to the other groups.

2. Innledning

- *Faglig bakgrunn for at prosjektet ble igangsatt*

Denne arbeidspakken benytter data fra mekanismestudier i modelldyr for å generere hypoteser om sjømatens påvirkning på metabolisme og fedmeutvikling, og deretter testes hypotesene ut i humane intervensjonsforsøk. I forsøket brukes et unikt oppsett som vil gi kunnskapsbasert informasjon om effekten av sjømat på metabolismen. Både mager (torsk) og feit fisk (laks) vil bli brukt i de humane intervensjonsstudiene og i dyremodellstudiene. Siden fisk vanligvis spises sammen med annen mat i et måltid, og nyere funn som viser at bakgrunnsdietten, spesielt type og mengde karbohydrater, påvirker antifedme effekten til marine oljer og termisk respons av diett i mus, vil sjømaten gis i kombinasjon med ulike karbohydratkilder. Basert på tilgjengelig data forventer vi at sjømatproteiner gitt i riktig kombinasjon med karbohydrater er bedre enn kjøtt i å fremme både metthet, og energiforbruk. En nøkkelproblemstilling er om sjømatproteiner fremmer økt energiforbruk som et resultat av mer rekruttering og aktivering av brune fettceller, både hos folk og gnagere. Et høyt inntak av fisk og sjømat kan ha en positiv effekt på energiforbruk og metthet, som potensielt kan lede til økt vekttap og forhindre vekttoppgang.

- *Prosjektets omfang*

De humane studiene ble utført på Institutt for idrett og ernæring (NEXS), på Universitetet i København. Før studiene ble startet opp ble det utført en pilotstudie. Formålet med pilotstudien var å bestemme rett timing for målingene (indirekte kalometri og blodprøver) og teste GI verdien av potensielle karbohydrater.

De to humane studiene var utført som separate randomiserte overkryssningstudier, hvor hver forsøksperson skulle delta i 4 testdager. Det var 25 randomiserte forsøkspersoner til studie 1 og 23 forsøkspersoner til studie 2. I studie1 testet vi laks og kalv i kombinasjon med karbohydrater med høy og lav GI (potetmos og pasta). I studie 2 testet vi torsk og kalv i kombinasjon med karbohydrater med høy og lav GI (potetmos og pasta).

Det primære endepunkt er forskjell i kost-indusert termogenese mellom de fire testmåltider.

De sekundære endepunkter omfatter forskjellen mellom de fire testmåltider i:

Metthet

Matpreferanser

Postprandiale konsentrasjoner av:

- Glukose, insulin, glucagon og C-peptid
- Plasma aminosyrer
- Appetittregulerende hormoner, herunder glucagonlignende peptid-1 (GLP-1)
- Lipolyse (evaluert ved analyser av frie fettsyrer (FFA) og glycerol)

- *Prosjektorganisering (roller/ansvar: prosjektgruppe, styringsgruppe, andre?)*

Lise Madsen (NIFES) er WP-leder, Anne Raben (ansvarlig for NEXS intervensjonen og hovedveileder, KU), Lone Vestergaard Nielsen (PhD-stipendiat, KU), Karsten Kristiansen (medveileder, KU), Bjørn Liaset (NIFES), Signe Nyby (NEXS, KU, tidligere PhD-stipendiat), Lars Klingenberg (NEXS, KU), Christian Ritz (NEXS, KU).

3. Problemstilling og formål

- *Redegjøre for prosjektets effektmål (betydning for næringen, nytteverdi, kvantifiseres om mulig)*

Det ses generelt positive effekter etter inntak av laks sammenlignet med kalvekjøtt (med samme fettinnhold), som vises på glukosemetabolisme og ghrelin (sulthormon). Dessuten har det betydning om laks spises sammen med karbohydrater med høy eller lav glykemisk indeks. Dermed gir laks med pasta (lav GI) en mere gunstig profil end laks med potetmos (høy GI). Hvorvidt disse resultater har betydning over tid krever studier av lenger varighet. Mht. torsk var det ingen forskjeller i de målte parameterne sammenlignet med kalvekjøtt.

- *Redegjøre for prosjektets resultatmål (leveranser i prosjektet)*

Beskrevet i punkt 6.

4. Prosjektgjennomføring

- *Beskrivelse av metodikk (og evt. hvorfor denne tilnærmingen er valgt)*

De humane studiene

Studiene ble utført som en randomisert overkrysningsstudie. Deltagerne møtte opp til 4 forsøksdager, med minimum en ukes mellomrom. På hver forsøksdag ankom deltageren til universitetet i fastende tilstand kl. 7.30. Ved ankomst tømte deltakeren blæren og ble vegd. Deretter la deltageren seg til å hvile og fikk plassert hånden i en varmeboks. Etter 15 minutter ble et intravenøst kateter innført på håndens bakside, slik at det var mulig å ta blodprøver ved bruk av «the heated-hand box method». Dette er en metode for å få arterialisert venøst blod. Deretter ble det målt blodtrykk og temperatur. Kl. 8:15 ble det tatt en fastebloodprøve, og de første VAS-skjemaene ble utfylt for å registrere subjektiv appetitt og gastro-intestinale følelser. Videre ble hvile stoffskiftet målt ved bruk av et ventilert kuppel system. Kl. 8:55 fikk deltageren et av de fire testmåltidene. Deltagerne ble instruerte til å spise i et konstant tempo, og til å fordele måltidet over 15 minutter. Etter testmåltidet fylte deltageren ut VAS-skjema til bestemmelse av appetittfølelse og til vurdering av testmåltidets smak. De neste tre timene til kl. 12.30 ble opptak av O₂ og utskillelse av CO₂ målt i 6x25 minutter med 5 minutters pause mellom hver måling. Det ble tatt blodprøver hvert 20. minutt etter at deltageren startet testmåltidet, og subjektive appetittfølelse ble vurdert hvert 30. minutt til kl. 12.30. Gastro-intestinale følelse ble også vurdert. Etter at de siste blodprøvene ble tatt, ble deltagerne bedt om at tømme blæren. Deretter ble det servert en ad libitum lunsj-buffet.

Test måltidene

Testmåltidene i studie 1.

Kjøttboller av laks servert med potetmos (laks og høy GI CHO).
Kjøttboller av laks servert med fullkornspasta (laks og lavt GI karbohydrat).
Kjøttboller av kalvekjøtt og potetmos (kalvekjøtt og høy GI karbohydrat).
Kjøttboller av kalvekjøtt og fullkornspasta (kalvekjøtt og lavt GI karbohydrat).

Testmåltidene i studie 2.

Kjøttboller av torsk servert med potetmos (torsk og høy GI CHO).
Kjøttboller av torsk servert med fullkornspasta (torsk og lavt GI karbohydrat).
Kjøttboller med kalvekjøtt og potetmos (kalvekjøtt og høy GI karbohydrat).
Kjøttboller med kalvekjøtt og fullkornspasta (kalvekjøtt og lavt GI karbohydrat).

Alle måltidene ble servert med tomatsaus og vann. Testmåltidene var isokaloriske $\sim 2,01$ MJ / måltid og hadde en identisk makronæringsfordeling (ca. 25,5 E% protein, 40,5 E% karbohydrat og 34,0 E% fett) og et balanserte fiberinnhold.

- *Gjennomføring av prosjektet*

De humane studiene

I studie 1 startet 25 forsøkspersoner og 20 gjennomførte alle 4 forsøksdagene.

I studie 2 startet 23 forsøkspersoner og 21 gjennomførte alle 4 forsøksdagene.

5. Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon

- *Detaljert oversikt over oppnådde resultater*

Pga. foreldrepermisjon er prosjektet forsinket, og vi har ikke alle resultatene klar.

Studie 1: Laks og potetmos

Vi fant en høyere kost-indusert termogenese etter måltidet med laks og potetmos sammenlignet med måltidet med laks og pasta (mean difference \pm SE: $45\pm 13,31$ kJ, $p=0,001$).

RQ var lavere (dvs. fettforbrenningen var høyere) etter måltidet med laks og pasta sammenlignet med laks og potetmos, og kalv med potetmos ($p<0.001$). RQ var også lavere etter kalv og pasta sammenlignet med kalv og potetmos ($p<0.001$). Videre var RQ lavere for måltidet med laks og pasta sammenlignet med kalv og pasta ($p=0.04$).

Vi fant en positiv interaksjon mellom måltid og tid for glukose ($p<0.001$). Ved videre parvise sammenligninger fant vi en forskjell i maksimum-måling ved 40 minutter. Her medførte måltidet med kalv og potetmos en høyere topp sammenlignet med de tre andre måltider (alle $p<0.001$), mens måltidet med laks og pasta hadde en lavere topp sammenlignet med de tre andre måltidene (all $p<0.05$). Der var ingen forskjell i maksimum-målingene mellom måltidet med kalv og pasta og måltidet med laks og potetmos.

Der var en positiv interaksjon mellom måltid og tid for både insulin ($p=0,0226$) og C-peptid ($p=0,003$). Ved videre parvise sammenligninger fant vi at måltidene med potetmos ga en høyere respons av insulin og C-peptid 20-60 minutter etter inntak sammenlignet med pastamåltidene.

Vi fant en positiv interaksjon mellom tid og måltid for triglycider ($p=0,0032$). Parvise sammenligninger viste at nivået av triglycider fra 100-200 minutter etter man har spist måltidet generelt var høyere etter laksemåltidene sammenlignet med kalvemåltidene.

Der var en positiv interaksjon mellom tid og måltid for ghrelin ($p<0,001$). Her fant vi ved parvise sammenligninger at ghrelin generelt var mere undertrykt etter laksemåltidene sammenlignet med måltidene med kalv.

Vi fant ingen forskjell i metthet og sult mellom måltidene. Prospektiv mat inntak var større for kalv og pasta sammenlignet med laks og potetmos (mean difference \pm SE: $8,7\pm 3,0$ mm, $p=0,02$). Vi fant ingen forskjell mellom måltidene i *ad libitum* energi inntak ved lunsjbuffeten ($p=0,71$).

Konklusjon: Ved inntak av laks er den kost-induserte termogenesen sensitiv for karbohydratenes GI. RQ er generelt styrt av den karbohydratkilden proteinene spises sammen med. Likevel ser det ut til at laks og pasta gir en lavere RQ sammenlignet med kalv og pasta. Måltidene med laks gir lavere glukose målinger sammenlignet med måltidene med kalv kombinert med samme karbohydratkilde. Utskillelse av C-peptid og insulin påvirkes ikke av proteinkilden, men styres av karbohydratkilden. Ghrelin-nivået er generelt undertrykt etter laksemåltidene uavhengig av karbohydratenes GI. Der var ingen forskjell i *ad libitum* energi inntak, sult eller metthet mellom laksmåltidene og kalvemåltidene.

Studie 2: Torsk og potetmos

Der var ingen forskjell i kost-indusert termogenese mellom de fire måltider ($p=0,189$). Vi fant heller ingen forskjell i RQ mellom måltidene ($p=0,107$).

Vi fant en signifikant interaksjon mellom måltid og tid for glukose ($P=0,04$). Ved parvise sammenligninger fant vi at glukose nivået var høyest ved 40 minutter, og var signifikant høyere for måltidene med potetmos sammenlignet med måltidene med pasta (alle, $p<0,05$). Der var en interaksjon mellom måltid og tid for både C-peptid ($P=0,001$) og insulin ($p<0,001$). Måltidene med potetmos ga en høyere respons av insulin og c-peptid 20-60 minutter etter inntak sammenlignet med pasta-måltidene.

Der var ingen forskjell i metthet og sult eller prospektivt matinntak mellom måltidene (alle $p>0,05$). Det var heller ingen forskjell i *ad libitum* energi inntak ved lunsjbuffeten ($p=0,73$).

Konklusjon: Der var ingen forskjell i kost-indusert termogene mellom måltidene med torsk og kalv. Det var heller ingen forskjell i RQ. Måltidene med potetmos (høy GI) ga, uavhengig av proteinkildene, høyere måling av glukose, insulin og C-peptid sammenlignet med måltidene med pasta (lav GI). Der var ingen forskjell i metthet, sult eller *ad libitum* energi inntak mellom torskemåltidene og kalvemåltidene

Samlet konklusjon

Det ses generelt positive effekter etter inntak av laks sammenlignet med kalvekjøtt (med samme fettinnhold), som vises på glukosemetabolisme og ghrelin (sulthormon). Dessuten har det betydning om laks spises sammen med karbohydrater med høy eller lav glykemisk indeks. Dermed gir laks med pasta (lav GI) en mere gunstig profil enn laks med potetmos (høy GI). Hvorvidt disse resultater har betydning over tid krever studier av lenger varighet. Mht. torsk var det ingen forskjeller i de målte parameterne sammenlignet med kalvekjøtt.

- *Vurdering av funnene (statistikk, gyldighet, sikkerhet, presisjon etc.)*

De statistiske analyser på de humane studier, er utført med veiledning fra vår statistiker på NEXS Christian Ritz og vurderes som robuste.

- *Vurdering/drøfting av mulighetene for videre anvendelse av resultater fra prosjektet (implementering)*

Her vil vi avvente vurderingen til vi er ferdige med alle analysene, statistikken og tolkningen av resultatene.

6. Leveranser

- *Detaljert oversikt over leveranser i prosjektet*

Poster

Data er presentert som postere på European Obesity Summit (EOS), juni 2016 og på Nordic Nutrition Conference, juni 2016.

Abstrakts

Nyby, S; Nielsen, L.V; Klingenberg, L; Ritz, C; Liaset, B.; Kristiansen, K; Madsen, L; Raben, A. Increased diet-induced-thermogenesis after consumption of fish protein in combination with high glycemic index carbohydrates compared with meat protein – a randomized crossover study. *Obes Facts* 2016;9 (suppl 1):1-376.

Nielsen, L.V; Nyby, S; Klingenberg, L; Ritz, C; Liaset, B.; Kristiansen,K; Madsen, L; Raben, A. Protein from salmon can potentially reduce appetite sensations to a greater extent than protein from veal. *Obes Facts* 2016;9 (suppl 1):1-376.

Nyby, S; Nielsen, L.V; Klingenberg, L; Ritz, C; Liaset, B.; Kristiansen, K; Madsen, L; Raben, A. Modulation of diet-induced-thermogenesis in response to protein and carbohydrate source - a randomized crossover study. *Food & Nutrition Research* 2016, 60.

Nielsen, L.V; Nyby, S; Klingenberg, L; Ritz, C; Liaset, B.; Kristiansen,K; Madsen, L; Raben, A. Meals with salmon has potential to suppress appetite sensations to a greater extent than meals with veal. *Food & Nutrition Research* 2016, 60.

WP 5: INNTAK AV FEIT FISK OG KOGNITIV FUNKSJON HOS BARNEHAGEBARN

1. Sammendrag - norsk

Bakgrunn: Marine ressurser, inkludert fisk, er viktige kilder til n-3 langkjedede flerumettede fettsyrer (n-3 LC-PUFAs). Eikosapentaensyre (EPA) og docosahexaensyre (DHA) spiller en viktig rolle for å optimalisere hjernens utvikling, og kan være av betydning for senere kognitiv funksjon fra barndommen gjennom hele levetiden. Intervensjonsstudier som har sett på effekten av n-3 LC-PUFA-tilskudd på kognitiv funksjon hos barn har vist både positive resultater og nullfunn. En nylig meta-analyse av randomiserte kontrollerte intervensjonsforsøk konkluderte med at det er en gunstig effekt av n-3 LC-PUFA-tilskudd for kognitiv utvikling hos for tidlig fødte spedbarn, men at det ikke foreligger konsekvente bevis for en lignende effekt hos barn generelt. I lys av det høye nivået av n-3 LC-PUFA i feit fisk, er det sannsynlig med en positiv effekt av høyt fiskeinntak på kognitiv funksjon. Observasjonsstudier har vist et positivt assosiasjon mellom inntak av fisk og kognitiv funksjon hos ungdom og voksne. Så langt vi vet er det ingen intervensjonsstudier hvor inntak av feit fisk og kognitiv funksjon er undersøkt hos barn. Målet med studien var å sammenligne effektene av inntak av feit fisk og kjøtt på kognitiv funksjon hos barnehagebarn.

Metoder: Barna i denne toarmede, enkelt-blindet randomiserte kontrollerte intervensjonsstudien, Fish Intervention Studies-KIDS (FINS-KIDS) ble rekruttert fra barnehager i Bergen i Norge. 17 av totalt 250 barnehager i Bergen kommune ble invitert, og 13 ble inkludert i studien. Barna ble tilfeldig randomisert til lunsjmåltider med feit fisk (sild/makrell) eller kjøtt (kylling/storfe/lam) tre ganger i uken i 16 uker. Totalt ble 314 barn inviterte til å delta. Familier med 232 barn (73,9%) ønsket å delta, og disse barna ble mellom 19. desember 2014 og 9. februar 2015 registrert og allokert til randomisering. Intervensjonen ble fullført 12. juni 2015. Av de 232 barna ble 114 (49,1%) randomisert til å studiemåltider med fisk og 118 (50,9%) til kjøtt. Ti barn fullførte ikke intervensjonsperioden, og fire ble utelatt fra analysene på grunn av ugyldige kognitive tester. Således ble 218 (93,7%) barn inkludert i den endelige analysene, 105 (92,1%) og 113 (95,8%) i henholdsvis fisk- og kjøttgruppen. Det primære utfallsmålet var kognitiv funksjon målt ved Wechsler Preschool og Primary Intelligence Scale (WPPSI-III) og 9-Hole Peg Test (9-HPT) før og etter intervensjonen. Blod- urin- og hårprøver ble tatt på begge tidspunkter. Instruerte forskerassistenter, som ellers ikke var involvert i studien, serverte måltidene og veide fisken og kjøttet før og etter hvert måltid for å registrere det eksakte forbruket i gram for hver deltaker. Linjære effektmodeller ble brukt i de statistiske analysene for de primære utfallsvariablene.

Resultater: Barna spiste i gjennomsnitt (SD) 2070g (978) og 2675g (850) fisk eller kjøtt fra studiemåltidene ($p < 0,0001$). Fiskegruppen hadde en signifikant økning av n-3 LC-PUFA i røde blodceller. Serum 25-hydroxyvitamin D økte i begge gruppene. Jod konsentrasjonen i urin var uendret i fiskegruppen og redusert i kjøttgruppen fra pre- til post-intervensjon. Det

var ingen effekt av intervensjonen på kognisjon målt med WPPSI-III i hovedanalysene. Ved justering for mengde fisk/kjøtt spist (dietary compliance), viste fiskegruppen høyere forbedringer i WPPSI-III totale råskåre (20,4, 95% CI, 17,5 til 23,3) sammenlignet med kjøttgruppen (15,2, 95% CI, 12,4 til 18,0) og en medieringseffekt av DHA ble funnet. Det var en interaksjon mellom intervensjonsgruppe og dietary compliance, noe som ble vist ved at WPPSI-III totale råskåre økte med 1,2 poeng mer per 100g spist fisk sammenlignet med kjøtt ($p < 0.001$). Vi fant en signifikant forbedring i 9-HPT for den ikke-dominerende hånden i fiskegruppen sammenlignet med kjøttgruppen i hovedanalysene og i sub-analysene etter justeringer for mengde fisk/kjøtt konsumert (-4,5 sekunder, 95% CI: - 5,6 til -3,4 versus -2,5 sekunder, henholdsvis 95% CI: -5,6 til -3,4). Det var ingen signifikante forskjeller mellom intervensjonsgruppene for dominant-hånd. En lengre intervensjonsperiode kan være nødvendig for å demonstrere gunstige effekter på kognitiv funksjon, selv om resultatene våre indikerer at fire måneder er tilstrekkelig så lenge deltakerne konsumerer tilstrekkelige mengder av intervensjonsmåltidene.

Konklusjoner: Ingen signifikante effekter av økt inntak av sild og makrell ble funnet på kognitiv funksjon i hovedanalysene. I sub-analysene, der mengden fisk eller kjøtt ble tatt med i vurderingen viser resultatene at lunsjmåltider med feit fisk er gunstig for kognitiv funksjon, både for generelle intellektuelle evner, og mer spesifikt for prosesseringshastigheten hos barnehagebarn. DHA forklarer noe av denne effekten.

Sammendrag - engelsk

Fatty fish intake and cognitive function in kindergarten children

Background: Marine resources including fish are important sources of n-3 long chain polyunsaturated fatty acids (n-3 LC-PUFAs). Eicosapentaenoic acid (EPA) and docosahexaenoic acid (DHA) play a critical role in optimizing brain development, and may be of importance for subsequent cognitive functioning from childhood throughout the lifespan. Intervention studies on the effect of n-3 LC-PUFA supplementation on cognitive functioning in children has shown both positive and zero results. A recent meta-analysis of randomized controlled intervention trials (RCTs) concluded that there is a beneficial effect of n-3 LC-PUFA supplementation for cognitive development in pre-term infants, but that there is no consistent evidence for a similar effect in children in general. In view of the high level of n-3 LC-PUFAs in fatty fish, an effect of fish consumption on cognitive function seems possible. Observational studies have shown a positive relation between fish consumption and cognitive function in adolescents and adults. To our knowledge, there are no intervention studies involving fatty fish consumption and cognitive function in children. The aims were to compare the effects of fatty fish and meat intake on cognitive function in preschoolers.

Methods: The children in the two-armed single-blinded RCT, Fish Intervention Studies-KIDS (FINS-KIDS) were recruited from kindergartens in Bergen, Norway. Seventeen out of the total 250 kindergartens in Bergen municipality were invited, and 13 agreed to participate. The children were randomly assigned to lunch meals with fatty fish (herring/mackerel) or meat (chicken/lamb/beef) three times a week for 16 weeks. Totally 314 children were eligible and invited to participate. Families of 232 children (73.9%) agreed to participate, and these children were between December 19, 2014, and February 9, 2015 enrolled and allocated for

randomization. The intervention was completed on June 12, 2015. Of the 232 children, 114 (49.1%) were randomized to study meals with fish and 118 (50.9%) to meat. Totally ten children did not complete the intervention period, and four were excluded from the analyses due to invalid cognitive tests. Thus, 218 (93.7%) children were included in the final study sample, 105 (92.1%) and 113 (95.8%) in the fish and meat group, respectively. The primary outcome was cognitive function measured by Wechsler Preschool and Primary Intelligence Scale (WPPSI-III) and the 9-Hole Peg Test (9-HPT) pre- and post-intervention. Blood, urine and hair samples were taken at both time points. Instructed research assistants, not otherwise involved in the study, served the meals and weighed the fish and meat before and after the lunch to record the exact consumption in grams for each participant (dietary compliance). Linear mixed effect models were used for the primary outcome variables.

Results: The children consumed a mean (SD) of 2070g (978) and 2675g (850) of fish or meat, respectively from the meals ($p < 0.0001$). The fish group had a significant increase of n-3 LC-PUFAs in red blood cells. S-25-hydroxyvitamin D increased significantly in both groups. Urinary iodine concentrations were unchanged in the fish group and decreased levels were observed in the meat group from pre- to post-intervention. There were no effects of the intervention on cognition measured by WPPSI-III in the main analysis. In sub-analyses, adjusting for dietary compliance, the fish group showed higher improvements in the WPPSI-III total raw-score (20.4; 95% CI, 17.5 to 23.3) compared to the meat group (15.2; 95% CI, 12.4 to 18.0), and a mediation effect of DHA was found. There was an interaction between intervention group and dietary compliance, reflecting that the WPPSI-III total raw-score increase with 1.2 points more per 100g eaten foods in the fish compared to the meat group ($P < 0.0001$). We found a significant improvement in the 9-HPT for the non-dominant hand in the fish group compared to the meat group in the main analyses and after adjusting for pre-intervention scores, age and dietary compliance in sub-analyses (-4.5 seconds; 95% CI: -5.6, -3.4 versus -2.5 seconds; 95% CI: -5.6, -3.4, respectively). No differences between intervention groups were found for the 9-HPT dominant hand. A longer intervention period may be necessary to demonstrate favorable effects on cognitive function, although our results do indicate that four months is long enough to demonstrate differences in abilities as long as the participants consume sufficient amounts of the intervention meals.

Conclusions: No significant effects of serving herring and mackerel were found on cognitive functioning in the main analyses. However, in the sub-analyses analyses when taking the amount of fish or meat consumed into account, our findings suggest that lunch meals of fatty fish are beneficial for cognitive function, both for general intellectual ability, and more specifically, for the processing speed in preschoolers, and that DHA explains some of this effect.

2. Innledning

- *Faglig bakgrunn for at prosjektet ble igangsatt*
Sild og makrell er gode kilder til fettsyrene EPA og DHA, vitamin D og jod og har dessuten en høy proteinkvalitet. Marine omega-3 fettsyrer og jod er assosiert med positiv effekt på kognitive funksjoner. I observasjonsstudier har man funnet positiv sammenheng mellom sjømatinntak og kognitiv funksjon, men resultater fra randomiserte intervensjonsforsøk med enkeltkomponenter slik som omega-3 kapsler viser sprikende resultater. Sjømat inneholder

flere av næringsstoffene som kan forklare en positiv effekt på kognitiv funksjon, men foreløpig er det ikke gjennomført intervensjonsstudier med sjømat på barn og unge, så derfor ønsket vi å undersøke dette i en randomisert kontrollert studie med de feitestede fiskeslagene, nemlig sild og makrell.

- *Prosjektets omfang*

Dette prosjektet ble satt i gang fordi tilsvarende forsøk i München, Tyskland ikke gikk som planlagt og studiemåltidene der måtte endres til å inkludere laks istedenfor sild og makrell. Den studien ble derfor trukket fra FINS, og denne studien kom derfor inn som en erstatning. Tiden til å planlegge forsøket ble derfor noe kort. Prosjektet er blant de mest omfattende spiseforsøket på sjømat for førskolebarn, og den mest omfattende studien av effektene av sjømat på barns generelle evnenivå. Mange personer måtte involveres for å få det gjennomført, som det fremgår av beskrivelsen under punkt 4. I tillegg til planlegging av selve studien, dialog med de 13 deltagende barnehagene, informasjon til og innhenting av samtykke fra barnas foreldre, og logistikken rundt gjennomføringen av måltidene i barnehagene, krevde gjennomføringen av individuell kartleggingen av generelt evnenivå hos 232 førskolebarn en omfattende logistikk for å få gjennomført all testingen av barna, samtidig som spiseforsøket begynte og mat skulle deles ut. Det var mange teknikere fra NIFES og noen innleide som ble engasjert som mathjelpere i de 13 barnehagene som deltok i studien. Videre var det mye etterarbeid etter at dataene var samlet inn og mange prøver som skulle analyseres på de ulike labbene ved NIFES. Det tok derfor en del tid før alle data var ferdig analyserte.

- *Prosjektorganisering (roller/ansvar: prosjektgruppe, styringsgruppe, andre?)*

Prosjektgruppen består av seniorforsker Jannike Øyen, som er prosjektleder, forsker Lisa Kolden Midtbø, forskningssjef Marian Kjellevold, forskningsdirektører Ingvild Eide Graff og Øyvind Lie fra NIFES. Forsker og spesialist i klinisk barne- og ungdomspsykologi Ingrid Kvestad (RKBU) har vært ansvarlig for test-teamet som skal utføre de kognitive testene sammen med forskningssjef Mari Hysing og Prof. Kjell Morten Stormark ved Regionalt Kunnskapssenter for barn og unge (RKBU), Uni Helse. I tillegg har Dr. med prof. Berthold Koletzko og forsker Hans Demmelmair bistått underveis i prosessen (Ludwig-Maximilians-Universität Munich, Tyskland). Forsker Maria Wik Markhus (NIFES), forskningsdirektør Livar Frøyland (NIFES), statistikker Valborg Baste (Uni Helse), forsker Lisbeth Dahl (NIFES), Prof. Dr. med Tor Strand (Sykehuset Innlandet, UiB), Prof. Dr. med. Per Magne Ueland (UiB, Bevital A/S), medisinstudent Hallvard Hurum (UiB), PhD-kandidat Beate Stokke Solvik (Sykehuset Innlandet/UiB) har også bidratt.

3. Problemstilling og formål

- *Redegjøre for prosjektets effektmål (betydning for næringen, nytteverdi, kvantifiseres om mulig)*

Denne intervensjonsstudien er den første som dokumenterer sammenheng mellom inntak av sild og makrell (feit fisk) på ernæringsstatus og helseeffekt hos barnehagebarn. Dette er derfor en unikt studie som bidrar med ny viten innenfor et felt der det finnes lite dokumentasjon. Resultatene viser at disse barna før intervensjonen hadde en god ernæringsstatus, men barna som fikk sild og makrell økte blant annet sine nivåer av flerumettede fettsyrer og vitamin D i løpet av intervensjonen. Omega-3 indeksen økte f.eks. til over 8% som blir sett som en indikator for god hjertehelse hos voksne, noe som illustrerer at spiseforsøket resulterte i god ernæringsstatus. Videre viser studien at kognitiv funksjon var signifikant forbedret etter at vi

tok høyde for hvor mye de spiste. Dette indikerer at man må spise forholdsvis mye for at en effekt skal gjøre seg gjeldene for dette utfallsålet. Disse resultatene bør derfor ha stor betydning for næringen med bakgrunn i de positive effektene vi har dokumentert i denne studien.

- *Redegjøre for prosjektets resultatmål (leveranser i prosjektet)*

Leveransene i prosjektet er detaljert beskrevet under punkt 6. Hovedresultatene fra studiene er beskrevet i et manuskript som er sendt inn for vurdering til et tidsskrift med et bredt nedslagsfelt innenfor medisinsk forskning. Det er flere andre artikler som er ferdige og som skal sendes inn så snart hovedartikkelen er publisert.

4. Prosjektgjennomføring

- *Beskrivelse av metodikk (og evt. hvorfor denne tilnærmingen er valgt)*

Både før oppstart og ved avslutning av spiseforsøket ble konsentrasjon og læring testet med anerkjente psykologisk tester. For kognitiv funksjon ble IQ-testen Wechsler Preschool and Primary Scale of Intelligence–3rd edition (WPPSI-III) og motorikk testen Nine hole peg test (9-HPT) benyttet. De biologiske prøvene omfattet blod-, urin-, hår- og spyttprøver. I tillegg fylte foreldrene ut et spørreskjema via internett. Her ble kostholdsvaner, sosial status, vekt/høyde, mental helse og søvn kartlagt. Metodene som ble valgt i denne studien ble valgt fordi det er anerkjente validerte tester som passet bra til hovedutfallsålet kognitiv funksjon og til å undersøke biologiske faktorer som har betydning for hovedutfallsålet og ernæringsstatus.

For de statistiske analyser av hovedresultatene for å se om det var forskjell mellom intervensjonsgruppene fra pre til post (endringer) ble lineære miksete effekt modeller med random intercept for barnehage benyttet. Videre justerte vi for mengden fisk eller kjøtt som ble spist i løpet av intervensjonsperioden i sub-analyser.

- *Gjennomføring av prosjektet*

Totalt 17 barnehager i Bergensområdet ble invitert til å delta i studien. Vi informerte disse om studien muntlig via møter og skriftlig informasjon ble i tillegg delt ut til både styrerne i barnehagene og til foreldrene. Tretten barnehager takket ja til å delta. Inklusjonskriteriene var at barna måtte være 4-6 år og de og en av foreldrene måtte kunne snakke norsk. Dette for å kunne gjennomføre testingen som var på norsk. Videre ble barn med kjent matvareallergi ekskludert. Totalt var det 314 aktuelle barn og av disse takket familiene til 232 barn ja til deltakelse. Disse ble individuelt randomisert på kjønn til lunsjmåltider med feit fisk (n=114) eller kjøtt (n=118). Spiseforsøket ble gjennomført i perioden januar til juni 2015 og lunsjmåltider basert på feit fisk eller kjøtt ble servert tre ganger ukentlig i totalt 16 uker. Totalt var det 10 barn som trakk seg fra studien underveis og fire ble ekskludert på grunn av ugyldige kognitive tester. Da sto vi igjen med 218 barn (93.7%) (105 i fiskegruppen og 113 i kjøttgruppen). Hvert måltid bestod av 50-80 gram feit fisk (sild/makrell) eller kjøtt (storfe, lam, kylling). Maten ble servert varm og tilbehøret varierte med ulike typer grønnsaker, ris, pasta etc. som var likt for begge intervensjonsgruppene. Måltidene ble laget av cateringfirmaet Søtt + Salt A/S i Bergen som også leverte maten ut til barnehagene. I barnehagene hadde vi såkalte mathjelpere fra NIFES og noen innleide, som tok imot maten fra sjåføren i Søtt + Salt A/S, fordelte maten på tallerkener til barna og veide fisken og kjøttet før og etter hvert måltid. Dette ble nøyaktig registrert, og dermed fikk vi et mål på hvor mye deltakerne faktisk spiste (dietary compliance). Videre ble det gjort grundige næringsanalyser

(dobbeltporsjoner) av måltidene. Både før oppstart og ved avslutning av spiseforsøket ble konsentrasjon og læring testet med anerkjente psykologisk tester. For kognitiv funksjon ble IQ-testen WPPSI-III og finmotoriske venter ble testet med 9-HPT. Ingrid Kvestad ved RKBUS sto for opplæringen av ni medisinstudenter/ernæringsfysiologer. Testene ble utført i barnehagene, enkeltvis på hvert barn og hver test tok fra 75-90 minutter. De biologiske prøvene ble også tatt i barnehagene av bioingeniører og omfattet blod-, urin-, hår- og spyttprøver. I tillegg fylte foreldrene ut et spørreskjema via internett både ved oppstart og avslutningen av spiseforsøket. Her ble kostholdsvaner, sosial status, vekt/høyde, mental helse og søvn kartlagt. Etter at den siste datainnsamlingen ble avsluttet i juni 2015 ble de biologiske prøvene sendt til analysering. Arbeidet med statistikk og skriving av artikler har pågått etter dette.

5. Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon

- *Detaljert oversikt over oppnådde resultater*

Resultatene er oppsummert i henhold til de artiklene som er nevnt under punkt 6.

Hovedartikkelen: “Fatty fish intake and cognitive function: FINS-KIDS a RCT in preschool children”:

Resultater: Det var ingen effekt av intervensjonen på kognisjon målt av WPPSI-III i hovedanalysene. I sub-analysene ved justering for mengde fisk/kjøtt spist (dietary compliance), viste fiskegruppen høyere forbedringer i WPPSI-III totale råskåre (20,4, 95% CI, 17,5 til 23,3) sammenlignet med kjøttgruppen (15,2, 95% CI, 12,4 til 18,0, $p=0.006$) og en medieringseffekt av DHA ble funnet. Det vil si at DHA forklarte 19.2% av forskjellen i endringen av den totale råskåren mellom de to intervensjonsgruppene fra pre- til post-intervensjon. Det var en interaksjon mellom intervensjonsgruppe og dietary compliance, noe som gjenspeiles ved at WPPSI-III totale råskåre økte med 1,2 poeng mer per 100 g spist fisk sammenlignet med kjøttgruppen ($p<0.001$).

Vi fant en signifikant forbedring i 9-HPT for den ikke-dominerende hånden i fiskegruppen sammenlignet med kjøttgruppen i hovedanalysene og i sub-analysene etter justeringer for mengde fisk/kjøtt konsumert (-4,5 sekunder, 95% CI: - 5,6 til -3,4 versus -2,5 sekunder, 95% CI: -5,6 til -3,4). Ingen forskjeller mellom intervensjonsgrupper ble funnet for 9-HPT dominant hånd. Ytterligere justeringer for sosioøkonomisk status og kvikksølvnivåer endret ikke de signifikante funnene.

Konklusjon: Det var ingen gunstig effekt av feit fisk i forhold til kjøtt på kognitiv funksjon hos barnehagebarn i hovedanalysene. Når vi derimot tok hensyn til hvor stort inntaket av feit fisk barna hadde viste analysene at det var en fordelaktig effekt av inntak av feit fisk på kognitive funksjon.

“Can fish intake improve mental health and sleep in preschool children? FINS-KIDS a randomized controlled trial”: Resultater: Det ble ikke funnet noen signifikante forskjeller mellom intervensjonsgruppene som spiste feit fisk og kjøtt på mental helse målt med spørreskjemaet SDQ, eller søvn målinger også målt med spørreskjema svar fra foreldrene i verken ujusterte eller justerte modeller ei heller startifiserte modeller (80 percentile SDQ,score) ($P>0.005$).

Konklusjon: Økt inntak av feit fisk hadde ingen effekt på mental helse eller søvn hos barnehagebarn i alderen 4-6 år.

“Iodine status and associations with dietary sources of iodine in the FINS-KIDS”:

Resultater: Urinprøver var tilgjengelig fra 220 barn ved oppstart av studien. Median (interkvartil range) jodkonsentrasjon i urin (UIC) var 132 (96) µg/L. Inntak av søt melk ≥ 2 ganger / dag mot < 2 ganger / dag var assosiert med tilstrekkelig UIC (odds ratio [OR] 2,17, 95% konfidensintervall [CI] 1,07 til 4,38, $p=0,031$). Denne assosiasjonen var sterkere etter justering for kreatininkonsentrasjon i urin, kjønn og foreldres utdanning (OR 2,53, 95% CI 1,18 til 5,44, $p=0,018$). Ingen andre sammenhenger mellom UIC og jodrike kostkilder ble observert på disse dataene ved oppstart av studien.

Konklusjon: Førskolebarna hadde tilstrekkelig jodstatus ved oppstart av studien. Inntak av søt melk var en signifikant prediktor for tilstrekkelig jodstatus.

“Vitamin D-status and associated sources of vitamin D in FINS-KIDS”:

Resultater: Vitamin D-metabolitter ble analysert fra 212 barn, og diettdata og informasjon om solfylte ferier var tilgjengelige på 194 av dem ved oppstart av studien. Den gjennomsnittlige (SD) s-25(OH)D3-statusen var 60,7 (13,8) nmol/L. Førti (18,9%) barn hadde s-25(OH)D3 status < 50 nmol/L, 139 (65,6%) hadde mellom 50-75 nmol/L og 33 (15,6%) hadde > 75 nmol/L. Sydenturer var forbundet med s-25(OH)D3 > 75 nmol/L (OR 5,33, 95% CI 1,93 til 14,77, $p=0,001$). I analyser delt på kjønn, var inntak av melkeprodukter ≥ 2 ganger daglig mot < 2 ganger daglig forbundet med s-25(OH)D3 > 75 nmol/L hos jentene, mens bruk av vitamin D-tilskudd var forbundet med s-25(OH)D3 > 75 hos guttene.

Konklusjon: Førskolebarn i alderen fire til seks år i Bergen hadde en gjennomsnittlig tilfredsstillende vitamin D-status ved oppstart av studien. Den sterkeste assosiasjonen med vitamin D-status > 75 nmol/L ble observert for sydenturer.

“Fatty fish consumption on hair mercury levels: FINS-KIDS a randomized controlled trial in preschool children”:

Resultater: Kvikksølvprøver var tilgjengelig på 210 av barna i studien ved pre- og post-intervensjon. Gjennomsnittlig kvikksølvnivå hos alle barna ved oppstart av studien var 373.7 (SD 204.1) µg/kg. Fiskegruppen hadde signifikant økte nivåer av kvikksølv fra pre- til post-intervensjonen (gjennomsnittlig endring 162,0, 95% CI 111,0 til 213,1 µg/kg) og kjøttgruppen hadde reduserte nivåer (-52,5, 95% CI -103,1 til -1,8 µg/kg) ($p < 0.001$). Endringene økte ytterligere i begge grupper etter justering for mengden fisk/kjøtt spist (dietary compliance).

Konklusjon: Barnehagebarna hadde lave nivåer av kvikksølv ved oppstart av studien. Det ble observert en strek positiv sammenheng mellom inntak av feit fisk og kvikksølv fra pre- til post-intervensjon, men ingen av barna passerte grenseverdien for kvikksølv bestemt av WHO.

- *Vurdering av funnene (statistikk, gyldighet, sikkerhet, presisjon etc.)*

Statistikken er gjort i samarbeid med statistikker Valborg Baste ved Uni Helse. Mye arbeid er lagt ned i det statistiske arbeidet og nøye vurderinger av aktuelle metoder ble foretatt på forhånd. Vi har fått gode tilbakemeldinger på valgt av statistiske metoder i løpet av review-prosessene gjort av fagfeller eller redaktørene i de ulike vitenskapelige tidsskriftene.

Styrken i denne studien inkluderer intervensjonsdesignet med individuell randomisering og lav frafallsprosent blant deltakerne. Vi analyserte studiemåltidene og således er næringsinnholdet publisert. Videre har vi detaljert registrering (av forskningsassistenter) av hvor mye fisk og kjøtt barna spiste av studiemåltidene. Dette ble veid for hvert måltid og brukt som et mål på “dietary compliance”. Vi har også detaljert informasjon om biomarkører. Vår kognitive vurdering viste høy grad av samstemthet sammenlignet med den norske

normative prøven, og dette gir støtte til gyldigheten og påliteligheten til de innsamlede dataene. Begrensninger inkluderer mangelen på spesifikke nevropsykologiske tester som kunne ha gitt funn i andre kognitive domener under påvirkning av n-3 LC-PUFA og såpass korte intervensjonsperioder som 16 uker. En lengre intervensjonsperiode kan være nødvendig for å demonstrere gunstige effekter på kognitiv funksjon, selv om resultatene våre indikerer at fire måneder er tilstrekkelig så lenge deltakerne konsumerer tilstrekkelige mengder av intervensjonsmåltidene. Det er også mulig barna hadde en treningseffekt på grunn av kort tid mellom pre- og post-testingen, men begge gruppene vil da forventes å ha tilsvarende forbedringer.

- *Vurdering/drøfting av mulighetene for videre anvendelse av resultater fra prosjektet (implementering)*

Erfaringene og resultatene fra denne studien bør gi grobunn for videre anvendelse. Det er noen spinn-off prosjekter allerede og mange biologiske markører er analysert, men ennå ikke statistisk analysert. En av markørene er vitamin B12 som blant annet er en viktig markør for barns utvikling. I denne studien hadde barna i gjennomsnitt en god ernæringsstatus og god kognitiv funksjon ved oppstart av studien. Likevel fant vi flere positive helseeffekter av å intervensere med feit fisk. Tidligere studier viser at forbedringspotensialet hos barn med dårlig ernæringsstatus og IQ er større enn hos barn med god status. Det er derfor et stort potensiale for en implementering til andre grupper av barn som har et dårligere utgangspunkt enn barna i denne studien, som f.eks. barn i u-land eller barn med redusert helse.

6. Leveranser

- *Detaljert oversikt over leveranser i prosjektet*

Vitenskapelige artikler

Følgende vitenskapelige artikler er sendt inn og skal sendes inn til internasjonale tidsskrifter:

1. Fatty fish intake and cognitive function: FINS-KIDS a RCT in preschool children. Under review.
2. Can fish intake improve mental health and sleep in preschool children? FINS-KIDS a randomized controlled. Skal sendes inn til tidsskrift i løpet av november 2017.
3. Iodine status and associations with dietary sources of iodine – the FINS-KIDS study. Submitted november 2017.
4. Vitamin D-status and associated sources of vitamin D in FINS-KIDS. Skal sendes inn til tidsskrift i løpet av desember 2017.
5. Fatty fish consumption on hair mercury levels: FINS-KIDS a randomized controlled trial in preschool children. Skal sendes inn i løpet av januar-februar 2018.

Flere artikkel vil bli skrevet og publisert:

Vi har en artikkel som det arbeides med der data på mental-helse og søvn ved oppstart av studien er inkludert. Medisinstudent Hallvard Hurum jobber med denne og inkluderer den også som sin semesteroppgave. Det forventes at denne sendes inn til aktuelt tidsskrift første halvdel av 2018.

Det er også to spinn-off prosjekter: Vi har fått analysert mange metabolitter blant annet plasma B12 og der vil bl.a. en doktorgradsstipendiat skrive tre artikler med disse dataene. I tillegg vil det bli skrevet to til på plasma homocystein og choline. Dette er i samarbeid med Prof. Tor Strand, Universitet i Bergen/Sykehuset Innlandet og Prof. Per Magne Ueland, Universitetet i Bergen/Bevital A/S.

Videre har vi fått analyser flere fettmetabolitter og det er blitt gjort genetiske analyser (FADS) ved LMU in Tyskland. På disse dataene vil det også bli publisert to artikler.

Masteroppgaver

Vitamin D-status hos førskolebarn i alderen 4-6 år. Hvilken betydning har kostholdet og soleksponering? Lena Bøhnsdalen Nygård.

Iodine status in Norwegian preschool children and significance of dietary sources of iodine and parental socio-economic factors - A cross-sectional study. Mathilde Odland.

Kartlegging av omega-3 fettsyrestatus i røde blodceller og betydningen av sjømatinntak for omega-3 fettsyrestatus hos barn i alderen 4-6 år. - En tverrsnittstudie. Rebekka Hamre Mæland.

The impact of fish and seafood consumption on hair mercury levels in 4-6 year old children in Bergen. Silje Skålnes Vabø.

Presentasjoner

Betydningen av feit fisk på kognitiv funksjon. En randomisert intervensjonsstudie. Sjømat og Helsekonferansen, Bergen, 15. September 2016.

Impact of fatty fish intake on cognitive performance. A randomized intervention trial. ISSFAL, Stellenbosch, South-Africa, September 9th. 2016.

Feit fisk og kognitiv funksjon. Havforskningsinstituttet. April 2017.

Nyhetsbrev

Det ble sendt ut nyhetsbrev til barnehagene og foreldrene av barna som deltok i studien den 14.03.17.

Media

Bergens Tidende 28.06.2015. "Tester barnas husk med sild og makrell."

WP6: FEIT FISK OG LÆRINGSEVNER HOS NORSKE UNGDOMMER

1. Sammendrag - norsk

Sjømat er den viktigste kostkilden til langkjede omega-3 flerumettede fettsyrer (n-3 LCPUFA) og vitamin D, samt en viktig kilde til selen, jod og proteiner av høy kvalitet. N-3 LCPUFAs eikosapentaensyre (EPA) og spesielt docosahexaensyre (DHA) spiller en viktig rolle i hjernefunksjonen, inkludert nevronal vekst, differensiering og membranfluiditet. Et høyt inntak av sjømat i barn- og ungdommen har vært assosiert med bedre kognitiv ytelse, skolekarakterer og mental helse. Imidlertid viser randomiserte kontrollerte studier (RCT) med n-3 LCPUFA-tilskudd motstridende funn om kognisjon og atferd hos barn og ungdom. Effekten av sjømat kan være relatert til andre næringsstoffer i sjømat eller til den kombinerte effekten av disse næringsstoffene. Vi undersøkte effektene av å gi en skolelunsj med fet fisk tre ganger i uken i 12 uker på ungdommenes kognitive ytelse (oppmerksomhet), psykisk helse status og markører av ernæringsstatus i forhold til en tilsvarende skolelunsj uten fisk (dvs. kjøtt/ost) eller kosttilskudd med n-3 LCPUFA.

481 av 785 ungdommer (61%) samtykket til å delta og 34 (7%) droppet ut. Analyser av utvalgte næringsstoffer i lunsj måltider viste høyere nivåer av n-3 fettsyrer, vitamin D og n-6 fettsyrer i fisken sammenlignet med kjøttmåltidene. Resultatene fra «compliance» registreringen (score 0-144) viste at inntaket i fiskegruppen (59 ± 35) var signifikant lavere enn i kjøttgruppen (83 ± 31) og kapselgruppen (105 ± 25). Resultatene fra ungdommenes prestasjoner på oppmerksomhetsoppgaven (the d2 test of selective and sustained attention) viste at forbedringen i prosessingshastighet var betydelig lavere i kjøtt- og kapselgruppen sammenlignet med fiskegruppen. Kapselgruppen viste også mindre forbedring i total ytelse sammenlignet med fiskegruppen. Gruppene forskjeller var imidlertid små og er vanskelig å tolke på grunn av lav «compliance» til intervensjonen. Ved start var gjennomsnittlig omega-3-indeks $5,8 \pm 1,3\%$, og suboptimal ernæringsstatus ble funnet hos mange elever for vitamin D (54%), jernstatus (10%) og jodstatus (40%). Intervensjonen ga en økning i DHA og omega-3-indeksen som var større i kapselgruppen sammenlignet med fisk- og kjøttgruppen, og i fiskegruppen sammenlignet med kjøttgruppen. Ingen forskjeller mellom gruppene ble observert for endringer i vitamin D-, jern- eller jodstatus. Ingen av disse biomarkørene påvirket funn i d2-konsentrasjonstesten.

Inntaket av fet fisk og «sunnhets-scoren» viste en liten sammenheng med elevens skåre på prosesseringshastighet ved start. Det var ingen effekter av fet fisk i forhold til kjøtt eller n-3 LCPUFA på ungdommens selvrapporterte beskrivelse av mental helse (the Strength and Difficulties Questionnaire). Blant ungdommer som skårer over grenseverdien for mulige psykiske vansker, forbedret fiskegruppen seg mindre sammenlignet med kjøttgruppen. Funnene bør imidlertid betraktes som foreløpige, da størrelsen på høy-skårergruppen gjorde at analysene hadde begrenset statistiske styrke.

Resultatene viser at det er mulig å gjennomføre en RCT med fet fisk i skolen. Men som resultatene viser er det vanskelig å få ungdommene til å øke fiskeinntaket. Det viser hvor viktig det er å samle detaljert informasjon om hvor mye den enkelte eleven spiser for å kunne analysere utfallet av intervensjonen. Ungdommene hadde suboptimalt status for flere viktige næringsstoffer, noe som kan forbedres med et høyere inntak av fisk eller n-3 LCPUFA-tilskudd. Imidlertid fant vi ingen sammenheng mellom ernæringsstatus og skåre på konsentrasjonstesten. Dermed bør ytterligere

studier undersøke sammenhengen mellom fiskeinntak, konsentrasjon og mental helse hos ungdommer.

Sammendrag - engelsk

Oily fish and learning abilities in Norwegian youth

Seafood is the main dietary source of the long chain omega-3 polyunsaturated fatty acids (n-3 LCPUFA) and vitamin D, as well as an important source of selenium, iodine and high-quality proteins. The n-3 LCPUFAs eicosapentaenoic acid (EPA) and especially docosahexaenoic acid (DHA) play an important role in brain function, including neuronal growth, differentiation, and membrane fluidity. A high intake of seafood in childhood and adolescents has been associated with better cognitive performance, school grades and mental health. However, randomized controlled trials (RCTs) with n-3 LCPUFA supplementation show contradictory findings on cognition and behavior in children and youth, and the effect from seafood may be related to other nutrients typically found in seafood or to the combined effect of these nutrients.

We aimed to investigate the effects of giving a schoolmeal with fatty fish three times per week for 12 weeks on adolescents' cognitive performance on an attention test, mental health status and markers of nutritional status compared to a similar schoolmeal without fish (i.e. meat/cheese) or supplements with n-3 LCPUFA.

In total, 481 out of 785 adolescents (61%) agreed to participate and 34 (7%) dropped out. Analyses of selected nutrients in the lunch meals showed higher levels of n-3 fatty acids, vitamin D and n-6 fatty acids in the fish compared to the meat meals. Dietary compliance (score 0–144) revealed that the intake in the fish group (59 ± 35) were significantly lower than in the meat group (83 ± 31) and supplement group (105 ± 25). Results from the attention test (the d2 test of selective and sustained attention) showed that the improvement in processing speed was significantly lower in the meat and supplement group compared to the fish group. The supplement group also showed inferior improvement in total performance compared to the fish group. However, the group differences were small and could be difficult to interpret due to low dietary compliance. The incidence rate ratio of doing omission errors decreased in the meat group compared to the fish group, but the difference disappeared when controlling for dietary compliance. At baseline, the mean omega-3 index was $5.8 \pm 1.3\%$ and deficient nutritional status were identified for s-25(OH)D (54%), s-ferritin (10%) and UIC (40%). The intervention gave an increase in DHA and the omega-3 index which was larger in the supplement group compared to the fish and meat group, and in the fish group compared to the meat group. No differences between the groups were observed for changes in vitamin D-, iron- or iodine status. None of the biomarkers mediated performance on the attention test. The intake of fatty fish and a healthy dietary pattern was associated with scores in processing speed at baseline.

There were no effects of school meals with fatty fish compared to similar meals with meat or n-3 LCPUFAs on the adolescents' self-reported symptom scores for mental health. Among adolescents scoring above cut-off on a brief behavioral and emotional screening questionnaire (the Strength and Difficulties Questionnaire), the fish- improved less than the meat-group. However, the findings should be regarded as preliminary, as the analyses for the high-scorer group were underpowered. The results show that it is possible to conduct a RCT with fatty fish in a school-based setting. However, as the compliance results shows, it is difficult to get the adolescents to increase their fish intake. The results also emphasize the importance of collecting

detailed records of dietary compliance, as this information is important when interpreting and analyzing the outcome of dietary interventions. The adolescents had insufficient status of important nutrients, which may be improved with fatty fish consumption or n-3 LCPUFA supplements. However, nutritional status was not associated with scores on the attention test. Thus, further studies should investigate the associations between fish consumption and adolescents' cognitive performance and mental health.

2. Innledning

- *Faglig bakgrunn for at prosjektet ble igangsatt*

Det har vært økt oppmerksomhet omkring kosthold og næringsstoffers rolle for læring blant skolebarn. Maten vi spiser bidrar med mange ulike typer næringsstoffer og energi. En balansert tilførsel av alle disse næringsstoffer fremmer ikke bare fysisk vekst og helse for barn og ungdommer, men også kognitiv utvikling og funksjon igjennom hele livet.

Helsemyndigheter, nasjonalt og internasjonalt, anbefaler den generelle befolkningen å spise sjømat, spesielt fet fisk for å redusere risikoen for hjerte- og karsykdommer. Fisk og sjømat er de viktigste kostkildene til marine n-3 PUFA, men fisk inneholder også vitamin D, selen, jod og proteiner av høy kvalitet, som alle er viktige næringsstoffer. Hittil har flertallet av studiene på marine næringsstoffer fokusert på enkeltkomponenter, som n-3 PUFA, eller vitamin D eller jod osv. Derfor er anbefalinger i stor grad basert på studier som bruker fiskeolje eller rensset EPA / DHA i kapsler mens det mangler dokumentasjon av helseeffekter av fiskeforbruk som sådan (eller kompleks mat generelt) hos mennesker. Det er viktig å merke seg at fisk spises som del av et måltid, og den kombinerte effekten av næringsstoffene er ikke nødvendigvis lik den oppsummerte effekten av enkelt næringsstoffene når de studeres som enkeltkomponenter. Målet for FINS-TEENS prosjektet var bidra til å øke kunnskapen om sjømat som mat og undersøke om et økt inntak av fet fisk har betydning for kognitiv funksjon.

- *Prosjektets omfang*

Det ble gjennomført en intervensjon med fisk, kjøtt og kapsler blant skoleungdommer ved åtte ungdomsskoler i Bergen. Dette har vært et meget omfattende prosjekt både å planlegge og gjennomføre i praksis, men også i forhold til å bearbeide og kvalitetssikre innsamlet datamateriale, samt valg og tolkning av statistikk og resultater. Det har vært mange personer som har vært involvert for å greie å gjennomføre denne intervensjonen som inkluderte rundt 450 elever.

- *Prosjektorganisering (roller/ansvar: prosjektgruppe, styringsgruppe, andre?)*

Prosjektgruppen består av prosjektleder: Lisbeth Dahl, PhD student: Katina D. Handeland, Post doc: Siv Skotheim. I tillegg har Kjell Morten Stormark, Marian Kjellevoid, Ingvild Eide Graff, Øyvind Lie, Maria W Markhus, Jannike Øyen, Valborg Baste og Livar Frøyland vært involvert i prosjektet. Vi har også samlet inn blodprøver og sendt til UiT ved Karl-Erik Eilertsen og Ida Johanne Jensen. Nina Wollertsen har vært teknisk ansvarlig. Mathjelpere, blodprøvetakere og assistenter som har gjort en betydelig innsats har vært: Runa B Barnung, Nina Wollertsen, Annie Fürstenberg, Tonja Lill Eidsvik, Berit Solli, Siri Bargård, Edel Erdal, Laila Oksholm, Anne Karin Syvertsen, Vivian Krakeli, Eirik Goksøyr, Siren Hatland, Anita Birkenes, Gard Østbø, Eirin Vik, Elisabeth Rasmussen, Irene Nygård og Turid A Braseth.

3. Problemstilling og formål

- *Redegjøre for prosjektets effektmål (betydning for næringen, nytteverdi, kvantifiseres om mulig)*
Det viktigste målet med studien var å undersøke om det å få skolemat med fet fisk, skolemat med kjøtt/ost eller omega-3 kapsler tre ganger i uken i til sammen 12 uker har betydning for konsentrasjon, mental helse og ernæringsstatus hos ungdomsskoleelever.
- *Redegjøre for prosjektets resultatmål (leveranser i prosjektet)*
Leveransene i form av publikasjoner, presentasjoner og medieoppslag er beskrevet under pkt 6.

4. Prosjektgjennomføring

- Beskrivelse av metodikk (og evt. hvorfor denne tilnærmingen er valgt)
- Gjennomføring av prosjektet

I forhold til opprinnelig plan for denne arbeidspakken så skulle intervensjonen gjennomføres våren 2014, men oppstart ble utsatt ett år. Det var i utgangspunktet planlagt å rekruttere 6 skoler til studien og deretter ut i fra screening av elevenes omega-3 status, velge ut de 4 skolene hvor elevene hadde lavest omega-3 status til selve intervensjonen. Dette var ikke mulig å gjennomføre fordi skolekretsene i Bergen kommune overlappet i varierende grad med levekårssonene, noe som medførte at det ikke var mulig å trekke ut hele skoler eller klasser med lav sosioøkonomisk status. For å ta høyde for dette ble det også gjort en ny styrkeberegning og det skulle gjøres individuell randomisering av elevene for å ta hensyn til både klasse og skole i statistiske analyser for finne en liten til moderat effektstørrelse på primært utfallsmål (konsentrasjonstest). Det var 26 ungdomsskoler i Bergen og skoler med mer enn tre klasser ble invitert til å delta i studien. Rektor på hver skole ble først kontaktet og hvis det var aktuelt å delta, arrangerte vi et informasjonsmøte med elevene på 9.trinn på skolen.

Intervensjonen ble gjennomført i perioden januar til juni 2015 på åtte ungdomsskoler i Bergen kommune. Elever på 9.trinn ble rekruttert i januar og deltakende elever ble randomisert til en av tre intervensjonsgrupper; sjømat, kjøtt eller omega-3 kapsel. Ved start og slutt samlet vi inn individuelle data: hver elev utførte en konsentrasjonstest («d2-test»), samt en lese og skriveferdighetstest («Kartleggeren»), svarte på spørreskjema om kosthold, fysisk aktivitet, søvn og psykisk helse og tok biologiske prøver (blod,- urin og hårprøve). I tillegg ble det sendt ut via e-post spørreskjema til foresatte med spørsmål om sosioøkonomisk status samt om elevens søvn og psykiske helse ved start og slutt av studien.

Elevene fikk skolelunsj eller kapsler tre ganger i uken i 12 uker. Ved hver skole har en mathjelper fra NIFES stått for utdeling av mat og kapsler, samt registrert hvor mye elevene har spist av mat og kapsler. Søtt + Salt AS i Bergen fikk oppdraget etter anbudsrunde på Doffin med å lage lunsjmåltidene og å levere disse på de ulike skolen. I løpet av intervensjonen ble det servert 21 måltider med laks, 10 med sild og tre med makrell. Hvert måltid bestod av 80-100g fisk eller kjøtt/ost. I tillegg bestod måltidet av ulike typer grønnsaker, brød, pasta etc. Det ble samlet dobbeltforsjoner av måltidene for bestemmelse av energi og næringsstoffer, samt for fremmedstoffene kvikksølv og dioksin og dioksinlignende PCB. Det ble også gjort tilsvarende analyser av fisken (laks, makrell og sild). Mengden marint omega-3 i laks og i makrell samt tidligere analyser av mengden marint omega-3 i sild fra et tidligere prosjekt ble brukt til å beregne antall omega-3 kapsler som denne gruppen skulle ta.

Elevene i kapselgruppen fikk 8 kapsler per gang de første ni serveringene og 7 kapsler på de neste 27 serveringene. Elevene som fikk kapsler fikk ikke noe mat fra studien og kunne spise egen medbrakt lunsj.

For å ha kontroll på hvor mye mat eller kapsler hver elev inntok i løpet av intervensjonen registrerte vi rester etter hver servering. Registrering av matrester ble gjort på øyemål og det ble registrert på en skala fra 0 (ingenting spist) til 4 (alt spist). For kapslene ble antall kapsler i rest registrert.

Studien ble meldt inn til Regionale komiteer for medisinsk og helsefaglig forskningsetikk, men vurdert til å falle utenfor Helseforskningslovens virkeområde av REK Øst (Referanse 2014/1439). Studien ble dermed meldt inn til Norsk samfunnsvitenskapelig datatjeneste (NSD) (Prosjektnr 41030) siden studien samler inn person og helseopplysninger på elevene. Studien er registrert i Clinical Trials (NCT 02350322).

5. Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon

• *Detaljert oversikt over oppnådde resultater*

På de åtte skolene som deltok i studien var det til sammen 785 elever. Av disse var det 481 elever som sa ja til å delta i studien. Dette gir en deltakerprosent på 62%. Det var bare 36 elever som valgte å trekke seg fra studien i løpet av intervensjonen. Dette gir en trekkprosent på 7%. Selv om lærerne ved skolene var hjelpsomme og positive til studien, så erfarte vi at det var utfordrende å få ungdommene til å spise opp maten, og da spesielt fiskemåltidene. Når vi ser på registreringen av restene, så finner vi at kapselgruppen hadde best «compliance» og at fiskegruppen hadde dårligst. Vi finner at 90% av elevene i kapselgruppen spiste i snitt halvparten eller mer av kapslene, mens for fiskegruppen spiste i snitt 40% av elevene halvparten eller mer av maten. For kjøtt/ost gruppen spiste i snitt 70% av elevene halvparten eller mer av maten. Noen forklaringer på dette kan være at maten ble servert kald og at ungdommer i utgangspunktet har et lavt inntak av fisk. Det gjorde at bare et fåtall av elevene øke sitt fiskeinntak tilsvarende det studien la opp til. Som for andre studier av tiltak i skolen hadde denne studien også praktiske utfordringer knyttet til å tilpasse tiltaket til skolehverdagen. Dette utgjorde likevel bare mindre problemer.

Analyser av lunsjmåltidene viser at vekt for hele porsjoner, samt fisk/kjøtt- og ost, grønnsaker og pasta/brød/pai/wraps er lik for fiskegruppen og for kjøtt/ost gruppen. Hver porsjon inneholdt i gjennomsnitt 71 gram fisk og 69 gram kjøtt/ost. Når det gjelder næringsstoffene så inneholdt fiskemåltidene signifikant mer marine omega-3 fettsyrer, vitamin D og sum omega-6 fettsyrer sammenlignet med kjøtt/ost-måltidene. Når gjelder fisk og kjøtt måltidene viser analysen av dioksin og dioksinlignende PCB (ng TEQ/kg) et gjennomsnitt på 0,19 i fiskemåltidene og på 0,12 i kjøttmåltidene. Begge er langt under grenseverdiene for ukentlig inntak.

Vi har brukt elevenes svar om kosthold fra matfrekvensskjema til å lage en «sunnhetsscore» basert på Helsedirektoratets anbefalinger. Denne scoren viser oss at ca. 1/3 av elevene i studiepopulasjonen har et usunt kosthold (med bl.a. lite fisk, frukt og grønt osv.), ca. 1/3 av elevene har et middels sunt kosthold og ca. 1/3 har et sunt kosthold.

Det aller viktigste målet med studien var å undersøke om det å få skolemat med fet fisk, skolemat med kjøtt/ost eller omega-3 kapsler tre ganger i uken i til sammen 12 uker har betydning for konsentrasjonsevnen til ungdommene. Testen som het «d2 test for oppmerksomhet» gikk ut på å krysse av riktige d'er på en linje i løpet av 20 sekunder. Resultatene viser at fiskegruppen har en signifikant større forbedring i utfalls målet 'prosesseringshastighet' sammenlignet med de to andre

gruppene. Denne forskjellen er synlig både i de primære analysene, og i analysene justert for mengde mat/kapsler spist. Fiskegruppen har også større forbedring i «total prestasjon» (prosesseringshastighet minus antall feil) enn kapselgruppen, og en trend til forskjeller mellom fisk- og kjøttgruppen er også funnet. Det ble dog ikke funnet noen sammenheng mellom mengde spist (compliance) og endring i disse utfallsmålene i fiskegruppen som underbygger disse resultatene. Flere studier må derfor til før vi kan konkludere på om disse effektene skyltes fisken og ikke var et tilfeldig funn. Det er videre også funnet i de primære analysene at fiskegruppen hadde en høyere risiko for å begå type 1 feil 'E1 errors' sammenlignet med kjøttgruppen etter intervensjonen, men dette finner vi ikke igjen i analysene justert for mat/kapsler spist.

Vi brukte screeninginstrumentet Strengths and Difficulties Questionnaire (SDQ) som gir et bilde på elevenes fungering på fem ulike områder (emosjonelle problemer, atferdsproblemer, hyperaktivitet/oppmerksomhetsvansker, problemer i forhold til jevnaldrende og prososial atferd). Eleven kan få en skåre på hvert av disse områdene, i tillegg til en total problemskåre basert på de fire problem områdene. SDQ skjema ble også fylt ut av ca. 60% av foreldrene til elevene som deltok. Analysene viser at ingen av gruppene forbedret sin mentale helsestatus fra pre- til post-intervensjon, verken i de primære analysene eller etter justering for mengde spist. Dette indikerer at det må mer til for å endre mental helse status enn intervensjonen som ble gjennomført i denne studien.

Elevenes lese- og skriveferdigheter ble målt ut i fra kartleggeren, som er et verktøy som brukes i den norske skolen for å måle elevenes ferdigheter i basisfagene. Testen består av flere ulike oppgaver og gir et bilde på elevens språkferdigheter i norsk og underkategoriene lesing, rettskrivning og ordforråd. Elevene får en skåre på de ulike områdene som sees i forhold til normen eller landsgjennomsnittet på det aktuelle klassetrinnet. Foreløpig resultater viser at elevene som er med på studien ligger tett opp til normen for samme alderstrinn og dermed at de representerer et normalutvalg av norske ungdommer når det gjelder basisferdigheter i norsk. Denne testen er utviklet for å identifisere de som ligger lavt i forhold til disse ferdighetene og som trenger ekstra oppfølging. Det er forventet at ca 20% av en elevgruppe vil ha behov for oppfølging i større eller mindre grad, men 80 % ligger innenfor normal området. Til tross for at dette er en nasjonal test som brukes i den norske skolen i dag og hvor resultatene fra en slik test ville hatt stor overføringsverdi til den norske skolen, så kan det diskuteres om den var godt nok egnet som et endringsmål.

- *Vurdering av funnene (statistikk, gyldighet, sikkerhet, presisjon etc.)*

Statistikken som er brukt er gjort etter nøye diskusjoner i prosjektgruppen og i dialog med statistiker som ble knyttet til prosjektet under utarbeidelsen av manuskriptene. Mye arbeid er lagt ned i det statistiske arbeidet og vurderinger ble foretatt løpende. Det er en styrke at studien er randomisert og at antall elever er tilfredsstillende i forhold til styrkeberegningen som ble gjort før studien. Det er lavt frafall fra studien, men det er problematisk at «compliance» i fiskegruppen er så mye lavere sammenlignet med både kapsel og kjøttgruppen. Selv om vi finner en statistisk forskjell hos fiskegruppen sammenlignet med de to andre gruppene på oppmerksomstesten, så er det viktig å være oppmerksomme på at forskjellene mellom gruppene er små. De svake sammenhengene mellom compliance of endring i de signifikante utfallsmålene i d2 testen i fiskegruppen sår som nevnt også ytterligere tvil om hvilken effekt vi kan konkludere med at fisken i denne studien hadde.

I forhold til andre funn i studien på kostholdet, så har elevene trolig mye å hente på å øke sitt inntak av frukt og grønnsaker samt fisk slik at inntaket er mer i samsvar med anbefalingene. Dette fordi

disse to matvaregruppene bidrar med viktige næringsstoffer og vil kunne påvirke elevens ernæringsstatus.

- *Vurdering/drøfting av mulighetene for videre anvendelse av resultater fra prosjektet (implementering)*

Det er absolutt mulig å få til flere spin-off prosjekter utover det som er avtalt i FINS prosjektet. Det er allerede vært to masterstudenter i klinisk ernæring fra UiB som har sett på jodstatus og jernstatus hos elevene. Per i dag er det planer om en publikasjon på jodstatus hos elevene, da dette er helt unike data som ikke finnes i Norge på nåværende tidspunkt for denne aldersgruppen. Det er videre planer om å gjøre kvikksølv analyser i hårprøvene fra elevene. Dette kan bli både en masteroppgave og en publikasjon. Studien er en av få studier som har gitt elever mat eller kapsler i løpet av skoledagen. Da dette er en aldersgruppe som vi vet har et for lavt inntak av blant annet sjømat, er det av stor nytteverdi for senere studier å være klar over av tilberedning og hvilken meny som serveres, er avgjørende for gjennomføringen av en slik type studie. Det betyr at næringen bør ha fokus på å utvikle smakfulle sjømatretter som enkelt kan tilberedes på en skolekantine. Det er derfor rimelig å spekulere i at et høyere inntak av sjømat har et potensiale for å bedre både ernæringsstatus og derigjennom også på elevenes kognitiv ytelse.

6. Leveranser

- *Detaljert oversikt over leveranser i prosjektet*

Vitenskapelige artikler

1. Katina Handeland, Marian Kjellevoid, Maria Wik Markhus, Ingvild Eide Graff, Livar Frøyland, Øyvind Lie, Siv Skotheim, Kjell Morten Stormark, Lisbeth Dahl and Jannike Øyen. A Diet Score assessing Norwegian adolescents' adherence to dietary recommendations – development and test-retest reproducibility of the score. *Nutrients* 2016, 8, 467; doi:10.3390/nu8080467 <http://www.mdpi.com/2072-6643/8/8/467>
2. Siv Skotheim, Lisbeth Dahl, Katina Handeland, Livar Frøyland, Øyvind Lie, Jannike Øyen, Marian Kjellevoid, Kjell Morten Stormark and Ingvild Eide Graff. Design of the FINS-TEENS study: A randomized controlled trial assessing the impact of fatty fish on cognitive performance in adolescents. *Scandinavian Journal of Public Health* 2017 Aug;45(6):621-629. doi: 10.1177/1403494817717408. Epub 2017 Jul 9
3. Katina Handeland, Jannike Øyen, Siv Skotheim, Ingvild Eide Graff, Valborg Baste, Marian Kjellevoid, Livar Frøyland, Øyvind Lie, Lisbeth Dahl, Kjell Morten Stormark. Fatty fish intake and attention performance in 14-15 years old adolescents: FINS-TEENS - a randomized controlled intervention trial. *Nutrition Journal*, oktober 2017.
4. Katina Handeland; Siv Skotheim; Valborg Baste; Ingvild Eide Graff; Livar Frøyland; Øyvind Lie; Marian Kjellevoid; Maria Wik Markhus; Kjell Morten Stormark; Jannike Øyen; Lisbeth Dahl. The effects of fatty fish intake on adolescents' nutritional status and associations with attention performance: Results from the FINS-TEENS randomized controlled trial. Under review i *Nutrition Journal*, august 2017.

5. Siv Skotheim, Katina Handeland, Marian Kjellevoid, Ingvild Eide Graff, Jannike Øyen, Øyvind Lie, Livar Frøyland, Valborg Baste, Kjell Morten Stormark, Lisbeth Dahl. The effect of school meals with fatty fish on adolescents' self-reported symptoms for mental health: FINS-TEENS - a randomized controlled intervention trial. Food and Nutrition Research, oktober 2017.

Manuskripter under utarbeidelse

Siv Skotheim, Katina Handeland, Marian Kjellevoid, Valborg Baste, Ingvild Eide Graff, Jannike Øyen, Maria Wik Markhus, Øyvind Lie, Livar Frøyland, Kjell Morten Stormark, Lisbeth Dahl. Associations between adherence to the Norwegian dietary recommendations and mental health problems in adolescents.

Lisbeth Dahl, Katina Handeland, Siv Skotheim, Karoline Løseth Espelid, Jannike Øyen, Marian Kjellevoid, Maria Wik Markhus. Iodine status in Norwegian adolescents – Results from the FINS-TEENS study.

Doktorgrad

Katina Handeland leverte sin doktorgradsavhandling 28. september 2017. Avhandlingen er godkjent og disputas vil finne sted 15. desember 2017 på NIFES.

Sjømatreviewer

1. Nutrient and contaminants in fish species used in human studies.
2. Challenges in examining the effect on seafood intake on cognitive outcome in infants children and adolescents – methodological consideration
3. Seafood in a healthy diet – prevention of overweight and diabetes.

Norsk artikkel

Katina D. Handeland, Maria Wik Markhus, Eli Aadland, Lisbeth Dahl, Lisa Midtbø, Ingvild E. Graff, Livar Frøyland, Marian K. Malde, Jannike Øyen. «Kjapp i toppen med fisk i kroppen! – Hvorfor gravide og barn bør spise fisk». Norsk Tidsskrift for Ernæring (NTFE), juni 2015; <http://www.ntfe.no/>

Postere

Katina D. Handeland, Marian Kjellevoid Malde, Jannike Øyen, Ingvild Eide Graff, Øyvind Lie, Siv Skotheim, Kjell Morten Stormark, Lisbeth Dahl. “A cross-sectional study evaluating dietary habits among Norwegian adolescents by constructing a Healthy diet Score”. Poster på Europeisk ernæringskonferanse FENS, Berlin oktober 2015; <http://www.fensberlin2015.org/>

Katina Handeland, Jannike Øyen, Karoline Løseth Espelid, Mathilde Odland, Siv Skotheim, Ingvild Eide Graff, Marian Kjellevoid, Livar Frøyland, Øyvind Lie, Kjell Morten Stormark and Lisbeth Dahl. Sufficient iodine status in Norwegian adolescents. Poster på den 11. Nordiske ernæringskonferanse i Göteborg, Sverige 20-22 juni 2016. Poster på Iodine Global Network/EUthyroid/European Thyroid Association Satellite Meeting, 2-3 sept. 2016 København, DK. Poster på karrieredagene UiB.

Presentasjoner

Lisbeth Dahl, Katina Handeland og Siv Skotheim. Betydningen for kosthold for konsentrasjon hos ungdomsskoleelever. Sjømat og helse konferansen 15. september 2016, Bergen.

Siv Skotheim presenterte studien på UNI Research Helse sitt årlige seminar i Bergen i august 2016.

Øyvind Lie Fish Intervention Studies (FINS) -Hva har vi funnet så langt? Sjømat og helse konferansen 15. september 2016, Bergen.

Katina Handeland. Mat og Helse i fremtidens skole, Høyskolen i Bergen, april 16

Masteroppgaver i klinisk ernæring ved UiB

Karoline Løseth Espelid. Har ungdommer tilfredsstillende jodstatus og hvilken betydning har kostholdet?

Miriam Lode. Kartlegging av jernstatus og betydningen av kosthold og sosioøkonomisk status hos 14-15 åringer i Bergen kommune.

Nyhetsbrev til deltakerne ble delt ut på skolene uke 24, 2016.

Mediesaker

Katina D Handeland deltok i Forsker Grand Prix 23 september 2015. Her ble Skolestudien presentert før resultatene forelå.

NIFES la ut en sak i forbindelse med Forsker Grand Prix.

Forskningsdagene 2015. Sak for å promotere alle kandidatene til Forsker Grand Prix, inklusive doktorgradsarbeidet til Katina Handeland.

Katina Handeland:

Forskning.no <http://forskning.no/forebyggende-helse-mat-barn-og-ungdom/2016/08/bergensungdommer-spiser-lite-gronnsaker-og-fisk>

NRK Hordaland <https://www.nrk.no/hordaland/lite-fisk-og-gront-blant-ungdom-1.13101026>

Kyst.no <http://kyst.no/nyheter/bergensungdommer-spiser-for-lite-gronnsaker-og-fisk/>

Matportalen

http://www.matportalen.no/kosthold_og_helse/bergensungdommer_spiser_for_lite_gronnsaker_og_fisk

NRK Hordaland <https://www.nrk.no/hordaland/ungdom-et-alt-for-lite-fisk-og-gronnsaker-1.13104985>

BA (25.08.2016): «Minimalt med fisk»

Radio NRK P2 (25.08.2016)

Radio NRK Hordaland (25.08.2016)

Lisbeth Dahl

Forskningsrådet: <http://www.forskningsradet.no/servlet/Satellite?c=Nyhet&cid=1254020121363&agenamne=ForskningsradetNorsk%2FHovedsidemal>

www.matoppskrift.no: <http://www.matoppskrift.no/artikkel/Kun-to-av-fem-i-niende-spiser-nok-fisk>

Brosjyre og plakat

Det er laget til en brosjyre og en tilhørende plakat i forbindelse med rekruttering av elever på skolene. Tittel: «*Vær med og bidra til ny kunnskap om kosthold og læring*». Brosjyren ble delt

ut til hver elev sammen med informasjons- og samtykkeskriv da vi rekrutterte elever på skolen. Plakaten ble hengt opp i klasserom og/eller informasjonstavler på skolen.

WP7: SJØMATINNTAK, MENTAL HELSE OG SPEDBARNsutvikling. LITEN I NORGE.

1. Sammendrag - norsk

Liten i Norge er en populasjonsbasert prospektiv kohortstudie hvor 1036 gravide ble rekruttert. Deltagerne ble fulgt fra graviditet og frem til barnet var 18 måneder. Prosjektet har vært ledet av Regionsenter for barn og unges psykiske helse, Helseregion Øst og Sør (RBUP Øst og Sør) og NIFES har vært ansvarlig for risikofaktorer knyttet til ernæring i prosjektet. Studien gjennomføres for å undersøke pre- og postnatale risikofaktorer som påvirker barns utvikling slik at det er mulig å kunne gi tilpasset hjelp og støtte på et tidlig tidspunkt. NIFES sin oppgave i prosjekter har vært å studere sammenhengen mellom sjømatinntak, ernæringsstatus og kognitiv utvikling hos barnet, samt sammenheng mellom sjømatinntak, ernæringsstatus og mental helse hos mor. Sjømat er en viktig del av et balansert kosthold og bidrar med viktige næringsstoffer som for eksempel marine omega-3 fettsyrer, vitamin D og jod. Foreløpige resultater viser at de gravide som gruppe hadde et lavere inntak av sjømat enn anbefalingene. Til tross for dette var nivåene av de marine fettsyrene målt i blod tilfredsstillende. Det viktigste resultatet ut i fra et folkehelseperspektiv er at omtrent 80% av de gravide hadde moderat til mild jodmangel. Mager fisk er den beste jodkilden i norsk kosthold, mens melkeprodukter er den viktigste siden inntaket fra denne matvaregruppen er høyere. Foreløpig finnes det lite data på om moderat jodmangel i graviditeten har negative konsekvenser for barnets utvikling. Dette er ett av flere forskningsspørsmål som NIFES prøver å finne svaret på i *Liten i Norge*.

Sammendrag - engelsk

Seafood intake, mental health and infant development.

Little in Norway is a population-based prospective cohort study where 1036 pregnant women were recruited. Participants were followed from pregnancy until the child was 18 months old. The project has been led by the Regional Center for Child and Adolescent Mental Health, Eastern and Southern Norway and NIFES has been responsible for risk factors related to nutrition in the project. The study was conducted to investigate pre- and postnatal risk factors influencing developmental plasticity from pregnancy to age 18 months to enable personalized support and support at an early stage. NIFES's assignment in the project has been to study the association between seafood intake, nutritional status and cognitive development of the child, as well as the relation between seafood intake, nutritional status and mental health of the mother. Seafood is an important part of a balanced diet and contributes with important nutrients such as marine omega-3 fatty acids, vitamin D and iodine. Preliminary results show that the pregnant, as a group, had a lower intake of seafood than the Norwegian recommendations. Despite this, the levels of the marine fatty acids measured in blood were adequate. The most important result from a public health perspective is that about 80% of pregnant women had moderate- to mild iodine deficiency. Lean fish is the best source of iodine in the Norwegian diet, while dairy products are the most important since the intake of this food group is higher. Currently, there is little data on whether moderate iodine deficiency in pregnancy has

negative consequences for the child's development. This is one of several research questions that NIFES attempts to reveal in *Little in Norway*.

2. Innledning

- *Faglig bakgrunn for at prosjektet ble igangsatt*
- *Prosjektets omfang*

Ernæringsdelen av Liten i Norge bygger på resultater fra «Fjell-studien», gjennomført i Fjell kommune utenfor Bergen. I denne studien fulgte vi ca 100 gravide fra svangerskap og fram til barnet var 12 måneder. Hovedresultatene i denne studien viste at mors status av marine fettsyrer i graviditeten kunne være en risikofaktor for utvikling av fødselsdepresjon, samt ha betydning for spedbarnets utvikling. Liten i Norge er en større og mer omfattende studie enn Fjell-studien. Det er rekruttert gravide fra ni helsestasjoner. Alle helseregioner er representert og de dekker områder med ulike sosioøkonomisk status. Datainnsamlingen startet med rekruttering i september 2011 og siste 18-måneders kontroll ble gjennomført i november 2014. Utvalget består av 1036 familier. Mødrene har besvart et kort matfrekvensskjema med fokus på sjømat og avgitt urinprøve gjentatte ganger gjennom studien. Det har blitt tatt blodprøver av et underutvalg av mødrene i svangerskapet, og av et underutvalg av mødre og spedbarn 6 og 12 måneder etter fødsel. Vi har også samlet urinprøver fra et underutvalg av barna ved 18 måneders alder. Foreldrene har også fylt ut et matfrekvensskjema om barnets kostvaner. Det har vært gjennomført et omfattende testbatteri for å kartlegge barnas utvikling. Det er først og fremst den kognitive testen, Bayley III, utført ved 6, 12 og 18 måneder, som sees opp mot ernæringsstatus. Hovedprosjektet har vært finansiert av Norges forskningsråd (196156), mens midler fra FINS i hovedsak har dekket analysekostnader av biologiske prøver.

- *Prosjektorganisering (roller/ansvar: prosjektgruppe, styringsgruppe, andre?)*

Prosjektgruppen består av prosjektleder Marian Kjellevoid, NIFES. Øvrige medlemmer fra NIFES er Maria Wik Markhus og Lisbeth Dahl. Fra RKBV Vest: Ingvild Eide Graff og Kjell Morten Stormark. Fra Universitetet i Oslo: Vibeke Moe og Lars Smith. Nasjonalt Folkehelseinstitutt: Hellen Margrete Meltzer. Anne-Karin Syversen, NIFES, har vært teknisk ansvarlig.

3. Problemstilling og formål

- *Redegjøre for prosjektets effektmål (betydning for næringen, nytteverdi, kvantifiseres om mulig)*
- *Redegjøre for prosjektets resultatmål (leveranser i prosjektet)*

Målet med ernæringsdelene av LiN er å studere sammenheng mellom sjømatinntak, ernæringsstatus og kognitiv utvikling hos spedbarn, samt sammenhengen mellom sjømatinntak, ernæringsstatus og mental helse hos mor. Resultatene har vist at gravide har et lavere inntak av sjømat enn anbefalingene. Når det gjelder ernæringsstatus er det viktigst funnet så langt at en høy andel av mødrene har moderat til mild jodmangel i graviditeten. Island skiller seg ut som eneste nordiske land der gravide har tilfredsstillende jodstatus. Det ville vært interessant å studere i hvilken grad et inntak av mager fisk i tråd med anbefalingene påvirker jodstatus hos gravide. Denne type kunnskap er viktig å få dokumentert for å kunne avgjøre om man kan ha en kostbasert strategi for å bedre jodstatus i befolkningen kontra beriking/supplement.

Hovedleveransen i prosjektet var å samle inn biologiske prøver samt analysere disse for fettsyreprofil, vitamin D metabolitter og jod/kreatinin, samt kvalitetssikre og score matfrekvensskjemaene. Det har blitt analysert 1316 blodprøver (røde blodceller) for fettsyreprofil,

1308 blodprøver (serum) for vitamin D metabolitter og 5176 urinprøver for jod. Det er fire masterstudenter som har skrevet oppgave på prosjektet, vi har tre manus i prosess og flere planlagte.

4. Prosjektgjennomføring

- *Beskrivelse av metodikk (og evt. hvorfor denne tilnærmingen er valgt)*
- *Gjennomføring av prosjektet*

Design på studien er en populasjonsstudie med prospektiv kohort-design. Det har blitt brukt et validert matfrekvensskjema med fokus på sjømatinntak for å kartlegge sjømatinntak hos deltakerne. I tillegg er det samlet inn biologiske prøver som har blitt analysert for jod, fetttsyreprofil og vitamin D metabolitter. Det har vært ulike ordninger for innsamling av blodprøver. På to av helsestasjonene var det forskningsassistenten (helsesøster) som tok prøver av mor. På tre helsestasjoner ble det inngått avtale med sykehus, og på to helsestasjoner ble det inngått avtale med Fürst. Forskningsassistentene samlet inn urinprøver. Prøvene ble lagret lokalt på frys inntil det ble sent til NIFES for lagring fram til analyse. Matfrekvensskjemaene ble fylt ut elektronisk, lagret hos RBUP og gjort tilgjengelig for NIFES.

5. Oppnådde resultater, diskusjon og konklusjon

- *Detaljert oversikt over oppnådde resultater*

Per i dag er det publisert fire masteroppgaver og en norsk artikkel.

Hovedresultatene fra masteroppgavene er:

God status av de marine omega-3 fettsyrene.

De gravide har en god status av de marine fettsyrene i røde blodceller i prøver tatt under graviditeten. Det finnes ikke per i dag referanseområde for nivåer av de marine fettsyrene i blodprøver, slik at status er vurdert ut ifra omega-3-index. Omega-3-index er foreslått i litteraturen som en index som indikerer beskyttelse mot hjerte-kar-lidelser. Det er foreslått at verdier over 8% gir god beskyttelse mot hjerte-kar-lidelser. Gjennomsnittlig omega-3-index i vårt utvalg var 7,5% (n=244) (Nerhus, 2014).

Moderat til mild jodmangel i svangerskap.

De gravide (n=1008) ble klassifisert til å ha mild til moderat jodmangel. Median jod i urin var 82 mikrogram/L, og 80% av deltakerne hadde jodkonsentrasjon under 150 mikrogram/liter (Sanchez et al, 2015). WHO regner spotprøver av urin som gullstandard for å måle jodstatus på gruppenivå.

Sjømatinntak lavere enn anbefalingene.

Deltakerne (n=1036) hadde et mediant ukentlig inntak av sjømat til middag tilsvarende ett måltid. Av dette utgjorde mager/halv fet fisk 53%, mens fet fisk utgjorde 37%. De norske anbefalingene er å spise 2-3 måltider sjømat ukentlig. Det var kun høyeste 25-prosentil av deltakerne som rapporterte et inntak i samsvar med anbefalingen (Høgden, 2014). Matfrekvensskjemaet som er brukt i studien er validert (Dahl et al, 2011; Markhus et al. 2013).

Tidligere introduksjon av fast føde enn anbefalingen kan ha positiv effekt på jernstatus.

En betydelig andel av deltakere hadde jernmangel, spesielt hvis man bruker det nye jernstatusmålet - mengde hemoglobin i retikulocytter (CHR). Jernstatus kan påvirke kognitiv utvikling og er derfor viktig å inkludere i videre databehandling når man skal undersøke sammenheng mellom sjømatinntak, ernæringsstatus og kognitiv utvikling hos barn.

Norsk artikkel:

Katina D. Handeland, Maria Wik Markhus, Eli Aadland, Lisbeth Dahl, Lisa Midtbø, Ingvild E. Graff, Livar Frøyland, Marian K. Malde, Jannike Øyen. «Kjapp i toppen med fisk i kroppen! – Hvorfor gravide og barn bør spise fisk». Norsk Tidsskrift for Ernæring (NTFE), juni 2015; <http://www.ntfe.no/>

- *Vurdering av funnene (statistikk, gyldighet, sikkerhet, presisjon etc.)*

Det er brukt validerte instrumenter (matfrekvensskjema, kognitive tester) i studien. I tillegg har vi samlet inn biologiske prøver som er analysert på validerte kjemiske metoder. Både bruk av validerte instrumenter og analyse av biologiske prøver er en styrke ved studien. En svakhet er at de biologiske prøvene er tatt på ulike tidspunkter i svangerskapet (siden tidspunkt for inklusjon varierer).

- *Vurdering/drøfting av mulighetene for videre anvendelse av resultater fra prosjektet (implementering)*

Liten i Norge har en longitudinell studiedesign, og det vil derfor være interessant å følge cohorten videre. Resultatene på jodstatus er i overensstemmelse med andre nasjonale studier, og har allerede resultert i oppfølgingsstudien «Mammas mat» finansiert av FHF.

6. Leveranser

- *Detaljert oversikt over leveranser i prosjektet*

Masteroppgaver

Nerhus, I (2014). Sjømatinntak og fettsyresammensetning i røde blodceller hos gravide i Liten i Norge. Masteroppgave i human ernæring, Universitetet i Bergen.

Høgden, HAR (2014). Sammenheng mellom sjømatinntak under svangerskap og nivå av kvikksølv i hår fra mor og spedbarn. Masteroppgave i human ernæring, Universitetet i Bergen.

Sanchez, PVR (2015). Urinary iodine concentration and iodine intake in pregnant Norwegian women. Results from the “Little in Norway” study (LiN). Masteroppgave i klinisk ernæring, Universitetet i Bergen.

Tisthamar, N (2016). Jernstatus hos mor og barn i graviditeten, seks og tolv måneder etter fødsel, samt en analyse av sammenheng mellom amming, introduksjon av fast føde og jernstatus hos barnet. Masteroppgave i klinisk ernæring, Universitetet i Bergen.

Vitenskapelige artikler

1. Moe, V., Kjellevoid, M., Lyle, R., Stormark, K.M., Vannebo, U.T., Dahl, L., Markhus, M.W., Graff, I.E., Spongsveen, L.L., Hansen, M.B., Smith, L. Cohort profile. The Little in Norway (LiN) Study. Int J Epidemiology (Submitted 2014, men ble ikke akseptert i påvente at vi måtte inkludere flere resultater. Vil bli resubmittet i løpet av 2017/2018).

2. Dahl, L., Markhus, MW., Sanchez, PVR., Moe, V. Smith, L., Graff, IE., Meltzer, HM, Kjellevold M. Iodine deficiency assessed by urinary iodine concentration in Norwegian pregnant women – methodological considerations (planlagt submittet høsten 2017).
3. Markhus, MW., Dahl, L., Moe, V., Brantsæter, AL., Øyen, J., Meltzer, HM, Stormark, KM., Graff, IE., Smith, L., Kjellevold, M. Effect of inadequate iodine status in Norwegian pregnant women on infant developmental skills: results from the Little in Norway cohort (planlagt submittet høsten 2017).

Planlagte manus (ikke påbegynt)

Jodstatus barn ved 18 mnd
 Sjømatinntak/fettsyrestatus og fødselsdepresjon hos mor
 Vitamin D status hos mor og barn
 Jodstatus longitudinelt mor
 Kvikksølvnivå i hårprøver fra barn

Konferansebidrag

Malde MK, Markhus MW, Dahl L, Rasinger JD, Moe V, Smith L, Meltzer HM, Spongsveen LL, Stormark KM, Graff IE (2013). Seafood intake and postpartum depression. Abstract accepted for poster presentation at IUNS 20th International Congress of Nutrition, Granada, 15-20. September.

Dahl, L., Nerhus, I., Sanchez, P.V.R., Markhus, M.W., Graff, I.E., Meltzer, H.M., Moe, V., Smith, L., Stormark, K.M., Malde, M.K. (2013). Seafood intake, n-3 fatty acid levels and iodine status in pregnant Norwegian women. Preliminary results from a longitudinal population study. The power of Programming, München.

Høgden HAR, Bernhard A, Markhus MW, Amlund H, Lundebye AK, Frøyland L, Dahl L, Rasinger JD, Graff IE, Moe V, Smith L, Stormark KM, Malde MK, Brattelid T. The role of seafood intake in late pregnancy on mercury levels in hair of mothers and their infants. Norwegian Society of Pharmacology and Toxicology winter meeting, 23-26 January 2014, Beitostølen, Norway.

Malde MK (2014) «Helseeffekter av sjømat hos gravide». Åpningskonferansen for nasjonalt senter for mat, helse og fysisk aktivitet. Bergen, 28.-29. oktober 2014.

Markhus MW, Graff IE, Seldal CF, Dahl L, Frøyland L, Øyen J, Skotheim S, Braarud H, Stormark KM and Malde MK. Effects of inadequate iodine status in pregnancy on infant development. Results from a Norwegian longitudinal observational study. DOHAD 2015, 9th World Congress on Developmental Origins of Health and Disease, South Africa.

Lisbeth Dahl. Iodine deficiency – a ghost from the past revisiting us. Oral presentation (invited). 11th Nordic Nutrition Conference, Goteborg, 2016.

Marian Kjellevold presenterte deler av WP7 på workshop “Small fish and food security” 29.-30. November 2017. «The role of fish in nutrition security – examples from Norway and Ethiopia». Marian Kjellevold, Gro-Ingunn Hemre og Amund Maage.

Thilsted SH, Maage A, Dahl L, Frøyland L, Misund OA, Hemre G-I, Kjellevold M. “The role of fish in food security and nutrition. EADI Nordic Conference, Bergen, august 2017.

Markhus MW, Dahl L, Moe V, Brantsæter AL, Øyen J, Meltzer HM, Stormark KM, Graff IE, Smith L, Kjellevold M. Effect of inadequate iodine status in pregnant women on infant developmental skills: results from the Little in Norway cohort. 10th World Congress on Development Origins of Health and Disease, 15 – 18th October 2017 in Rotterdam, The Netherlands.

Foredrag/populærvitenskapelig

Nyhetsbrev «Til deg som deltar i Liten i Norge-studien». Sommeren 2014.

Nyhetsbrev «Til deg som deltar i Liten i Norge-studien». Sommeren 2015.

Lisbeth Dahl. Hvordan forsker NIFES på helseeffekter av sjømat.

Seminar Sjømat Norge havbruk Vest, Bergen 17 november 2016.

Sofia Manousou, Lisbeth Dahl, Betina Heinsbæk Thuesen, Lena Hulthén, Helena Nyström Filipsson.

Iodine Deficiency and Nutrition in Scandinavia. *Minerva medicus*, 2016.

Marian Kjellevold presenterte WP7 på Sjømat- og helsekonferansen 14.-15. september 2016.

«Jodstatus i graviditeten – betydning for spedbarns utvikling». Marian Kjellevold, Maria Wik Markhus og Lisbeth Dahl.

Marian Kjellevold presenterte deler av WP7 på workshop “Small fish and food security” 29.-30.

November 2016. «The role of fish in nutrition security – examples from Norway and Ethiopia».

Marian Kjellevold, Gro-Ingunn Hemre og Amund Maage.

Øyvind Lie presenterte hele FINS-prosjektet inkludert WP7 muntlig på Sjømat- og

helsekonferansen 15. september 2016 i Bergen. «FISH intervention studies. Hva har vi funnet så langt?»

Øyvind Lie presenterte deler av WP5-WP7 for pelagisk forum i Bergen i august 2016. «Hvorfor

putte pelagisk fisk i pannen? – Kan det ha betydning for barns læreevne?». Øyvind Lie, Jannike Øyen, Marian Kjellevold, Katina Handeland, Maria Wik Markhus, Lisbeth Dahl og Ingvild Eide Graff.

Øyvind Lie og Ingvild Eide Graff presenterte deler av WP5-WP7 for pelagisk forum i Barcelona i november 2016. «PELAGIC FISH – SMART FOOD?»