

Áhrif lýsisneyslu á bakteríuvöxt *in vivo*

Ágrip

Auður Þórisdóttir¹,
Jón Reynir
Sigurðsson²,
Helga Erlendsdóttir³,
Ingólfur Einarsson²,
Sigurður
Guðmundsson⁴,
Eggert Gunnarsson⁵,
Ingibjörg
Harðardóttir⁶,
Ásgeir Haraldsson^{2,6}

Tilgangur: Faraldsfræðilegar rannsóknir benda til að mikil neysla ω -3 fitusýra hafi áhrif á ýmsa sjúkdóma svo sem hjarta- og æðasjúkdóma og sjálf-næmissjúkdóma. Líkaminn getur ekki nýmyndað ω -3 fitusýrur, og því er nauðsynlegt að fá þær úr fæðunni. Lýsi er mjög ríkt af slíkum fitusýrum, en jurtaolíur aftur á móti ekki. Rannsóknarhópurinn hefur sýnt fram á aukna lifun músa sem fengið höfðu lýsisbætt fæði samanborið við mýs sem fengu kornolíubætt fæði og voru sýktar með *Klebsiella pneumoniae* í vöðva. Í þessari rannsókn var kannað, hvort þau áhrif væru vegna áhrifa lýsis á bakteríuvöxt *in vivo*.

Efniviður og aðferðir: Mýs voru aldar á lýsisbættu fæði eða kornolíubættu fæði til viðmiðunar í sex vikur og þá sýktar með *Klebsiella pneumoniae* í vöðva. Mýsnar voru aflifaðar á mismunandi tímamörum og var fjöldi baktería í blóði og frá sýkingarstað talinn.

Niðurstöður: Ekki var marktækur munur á bakteríufjöldanum í hópnum á mismunandi tímamörum, hvorki í blóði né á sýkingarstað, þó var tilhneiging til meiri vaxtar í kornolíuhópnum.

Ályktanir: Lýsi virðist ekki hafa marktæk áhrif á bakteríuvöxt *in vivo*. Frekari rannsóknir munu vonandi leiða nánar í ljós hver áhrif lýsisins eru.

Inngangur

Fitusýrur gegna margvíslegum hlutverkum í líkamanum. Fitusýrur eru til dæmis forverjar ýmissa efna sem eru líkamanum nauðsynleg svo sem hormóna og boðefna. Tvær tegundir fitusýra er mönnum nauðsynlegt að fá úr fæðu, ómega-3 (ω -3) og ómega-6 (ω -6) fitusýrur. Það sem aðgreinir þessar tvær fitusýrur og afleiður þeirra er staða fyrsta tvítengis talið frá meþýlenda kolefniskeðjunnar. Lýsi er ríkt af fjölmömettuðum ω -3 fitusýrum (1). Jurtaolíur innihalda hins vegar lítið af ω -3 fitusýrum en eru ríkar af ω -6 fitusýrum (1). Líkaminn getur ekki nýmyndað ω -3 fitusýrur eða breytt ω -6 fitusýrum í ω -3 fitusýrur. Úr ω -3 línólen-sýru getur líkaminn hins vegar myndað aðrar ω -3 fitusýrur, svo sem eikósapentaensýru (EPA) og dókósa-hexaensýru (DHA). Þessar fitusýrur eru hluti frumhimnu frumna líkamans. Afleiður eikósapentaensýru eru til dæmis eikósanóíðar sem koma mjög við sögu í ónæmissvari.

Faraldsfræðilegar rannsóknir benda til að mikil neysla ω -3 fitusýra hafi áhrif á ýmsa sjúkdóma, til dæmis er tíðni hjarta- og æðasjúkdóma lægri á Grænlandi þar sem neysla ω -3 fitusýra er mjög mikil samanborið við önnur lönd í hinum vestræna heimi

ENGLISH SUMMARY

Þórisdóttir A, Sigurðsson JR, Erlendsdóttir H, Einarsson I, Guðmundsson S, Gunnarsson E, Harðardóttir I, Haraldsson Á

The effect of dietary fish oil on bacterial growth *in vivo*

Læknaðlaðið 2001; 87: 715-8

Objective: Epidemiological studies have indicated that high intake of ω -3 fatty acids influence various diseases such as cardiovascular diseases and autoimmune disorders. These fatty acids are essential in the diet since the body can not form them *de novo*. Fish oil is rich in ω -3 fatty acids but the ω -3 content of vegetable oil is low. The research group has shown increased survival of mice fed cod liver oil enriched diet versus mice fed corn oil enriched diet when infected with *Klebsiella pneumoniae* intramuscularly. In the present study we investigated the effect of dietary fish oil on bacterial growth *in vivo*.

Material and methods: Mice were fed fish oil enriched diet and a control group was fed corn oil enriched diet for six weeks and then the mice were infected with *Klebsiella pneumoniae* intramuscularly. The mice were sacrificed at various time intervals and bacteria were counted in blood and in the infected muscle.

Results: The bacteria count in blood and tissue was not significantly different between the two groups although a trend was noted towards more growth in the control group.

Conclusions: We conclude that fish oil does not significantly affect bacterial growth *in vivo*. Hopefully, future research will reveal the pathophysiological effect of fish oil.

Key-words: fish oil, bacterial growth, immune response, mice.

Correspondence: Ásgeir Haraldsson. E-mail: asgeir@landspitali.is

(2). Fleiri rannsóknir hafa bent til áhrifa lýsis til minnkunar á hjarta- og æðasjúkdómum (3) og sjálf-næmissjúkdómum svo sem gigt (4) og sóra (5). Einnig hefur því verið haldið fram að ung börn sem fá lýsisbætta mjólkurblöndu sýni hraðari þroska en þau börn sem fá blönduna án lýsis (6). Þá hafa niðurstöður bent til áhrifa lýsis á einstaklinga með lesblindu (7) og þunglyndi (8).

Rannsóknarhópur okkar hefur sýnt fram á aukna lifun músa sem fengið hafa lýsisbætta fæðu miðað við viðmiðunarhóp fyrir sýkingu með *Klebsiella pneu-*

¹Liffræðideild Háskóla Íslands, ²Barnaspítali Hringins, Landspítali Hringbraut, ³sýklafræðideild Landspítala Hringbraut, ⁴landlækniseimbættið, ⁵Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum, ⁶læknadeild Háskóla Íslands. Fyrirspurnir, bréfaskipti: Ásgeir Haraldsson, Barnaspítala Hringins, Landspítala Hringbraut, 101 Reykjavík. Sími: 560 1050; bréfasími: 560 1055; netfang: asgeir@landspitali.is

Lykilorð: lýsi, bakteríuvöxtur, ónæmissvar, mýs

moniae í vöðva (9). Niðurstöður annarra rannsókna hafa þó ekki allar verið á einn veg (10-13). Þó ber að geta að rannsóknir hafa verið mismunandi að framkvæmd, bakteríutegundum og tilraunadýrum.

Ljóst er að mörgum spurningum er ósvarað um áhrif lýsisneyslu á sjúkdóma. Einn þeirra þátta sem enn er óviss er hvort lýsisneysla hafi bein hamlandi áhrif á bakteríuvöxt *in vivo*. Rannsókn okkar nú miðaði þess vegna að því að athuga hvort þau jákvæðu áhrif lýsis á lifun sem rannsóknarhópurinn hefur þegar sýnt fram á væri mögulega vegna hindrandi áhrifa þess á vöxt *Klebsiella pneumoniae in vivo*.

Efniviður og aðferðir

Kvenkyns mýs (NMRI), 20-25 grömm að þyngd, voru fengnar frá Tilraunastöð Háskóla Íslands í meinafræði að Keldum. Músunum var skipt í tvo hópa og gefið hefðbundið nagdýrafóður (Special Diets Services, Witham, Essex, Englandi) að viðbættu lýsi 10 wt% (Lýsi hf., Grandavegi) eða kornolíu 10 wt% (Hunt-Wesson Inc. Fullerton, Bandaríkjunum). Hóparnir fengu fæðið í sex vikur samfleytt. Að sex vikum liðnum voru mýsnar sýktar í etersvæfingu í báða lærvöðva með gram-neikvæðri bakteríu, *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 43816), í 0,1 ml lausn í hvort læri. Mýs úr báðum fæðuhópunum voru aflífaðar 0, 4, 8, 12 eða 24 klukkustundum eftir sýkingu. Tilraunin var framkvæmd þrisvar sinnum.

Í fyrstu tilrauninni voru 30 mýs í hvorum fæðuhópi, samtals 60 mýs, og var hver mús sýkt með $7,1 \times 10^4$ bakteríum í hvort læri. Við hvern hinna fyrirfram ákveðnu tímamunkta (0, 4, 8, 12 og 24 klukkustundir) voru sex mýs aflífaðar úr hvorum fæðuhópi. Í annari tilrauninni voru 19 mýs í hvorum hópi, samtals 38 mýs, og þær sýktar með $1,7 \times 10^4$ bakteríum í hvort læri. Tvær mýs voru aflífaðar úr hvorum fæðuhópi við tíma 0 en fjórar við tímamunkta fjórar, átta og 12 klukkustundir, en fimm við tímamunkta 24 klukkustundir. Í þriðju tilrauninni voru 25 mýs í hvorum hópi, samtals 50 mýs, og þær sýktar með $4,8 \times 10^3$ bakteríum í hvort læri. Tvær mýs úr hvorum fæðuhópi voru aflífaðar við tímann 0 klukkustund, fjórar úr hvorum fæðuhópi eftir fjórar stundir, átta mýs úr hvorum hópi eftir átta og 12 klukkustundir og þrjár mýs úr hvorum hópi eftir 24 stundir. Í tveimur seinni tilraununum var einnig tekið blóð úr músunum þegar þær voru aflífaðar. Í annari tilrauninni var tekið blóð úr fjórum músunum úr hvorum fæðuhópi eftir átta og 12 tíma en úr fimm músunum eftir 24 tíma. Í þriðju tilrauninni var tekið blóð úr fjórum músunum úr hvorum fæðuhópi eftir fjóra tíma, átta músunum eftir átta og 12 tíma og úr þremur músunum eftir 24 tíma.

Þegar mýsnar höfðu verið aflífaðar voru læri músanna fjarlægð og sett í saltvatn (3 ml). Lærin voru síðan tætt upp með til þess gerðu tæki (omni tissue homogenizer 220; Omni International Vi, Bandarík-

unum) og gerðar tíffaldar þynningar í saltvatni. Þessari lausn var síðan sáð á McConkey agar og fjöldi sýklaþyrpinga sem óx var talinn eftir vöxt í hitaskáp í 16-20 klukkustundir. Blóðinu var sáð á agarskálar í mismunandi magni, og fjöldi baktería í hverjum millilítra blóðs reiknaður.

Fjöldi sýklaþyrpinga var talinn í hverju læri við hvern tímamunkta. Meðalfjöldi sýklaþyrpinga í lærum við hvern tímamunkta var reiknaður annars vegar fyrir mýs fódraðar á lýsisbættu fæði og hins vegar fyrir mýs fódraðar á kornolíubættu fæði. Á sama hátt var meðalfjöldi sýkla í hverjum millilítra blóðs við hvern tímamunkta reiknaður fyrir báða fæðuhópana. Meðaltölín voru borin saman með t-prófi. Marktækur munur var settur við $p < 0,05$.

Niðurstöður

Mýsnar þrifust vel á fæðinu og ekki var munur á þyngdaraukningu hópanna á tímabilinu.

Meðalfjöldi bakteríanna í öllum tilraununum við tímana 0, 4, 8, 12 og 24 klukkustundir á sýkingarstað og í blóði í báðum hópunum er sýndur á mynd 1. Eftir 24 tíma var aukning á meðalfjölda baktería í lærum $3,1 \times 10^4$ í lýsishópnum en $3,7 \times 10^4$ í kornolíuhópnum (mynd 1). Meðalfjöldi baktería í blóði eftir 24 stundir var $8,3 \times 10^3$ í lýsishópnum en $1,6 \times 10^4$ í kornolíuhópnum (mynd 2). Munurinn á bakteríuvexti á milli hópanna var ekki tölfræðilega marktækur, hvorki í lærum músanna ($p=0,27$) (mynd 1) né í blóði ($p=0,13$) (mynd 2). Vöxturinn var þó lítið eitt meiri í þeim músunum sem aldar höfðu verið á kornolíubættu fæði samanborið við mýs sem aldar höfðu verið á lýsisbættu fæði.

Vaxtarhraði bakteríanna var sambærilegur við mismunandi fjölda baktería sem sýkt var með hverju sinni; ekki var munur á vaxtarhraðanum í þeim tilraunum þar sem sýkingarskammturinn var lægstur miðað við hæsta skammt.

Umræða

Ljóst er að lýsisneysla hefur áhrif á lifun músa eftir sýkingar með *Klebsiella pneumoniae* (1,9,13). Rannsóknir, þar sem notaðir eru mismunandi sýklar og mismunandi tilraunadýr, gefa þó ekki alltaf samhljóða niðurstöður (9-13). Þó færa megi rök fyrir ónæmisbælandi áhrifum lýsis eru ýmsir þættir ónæmissvarsins enn óljósir. Rannsókn þessi var því gerð til að kanna bein áhrif lýsisneyslu á bakteríuvöxt *in vivo*.

Fáeinir rannsóknir hafa glímt við spurninguna um bein áhrif lýsis á vöxt sýkla. Þannig virðast fjölómættaðar fitusýrur hafa hamlandi eða dreppandi áhrif á ýmsar veirur *in vitro* (14) þó niðurstöður *in vivo* séu af skornum skammti. Einnig hafa niðurstöður rannsókna bent til að lýsisríkt fæði hindri að nokkru vöxt *Helicobacter pylori* í músunum (15). Slífri hömlun á vexti *Helicobacter pylori* hefur einnig verið

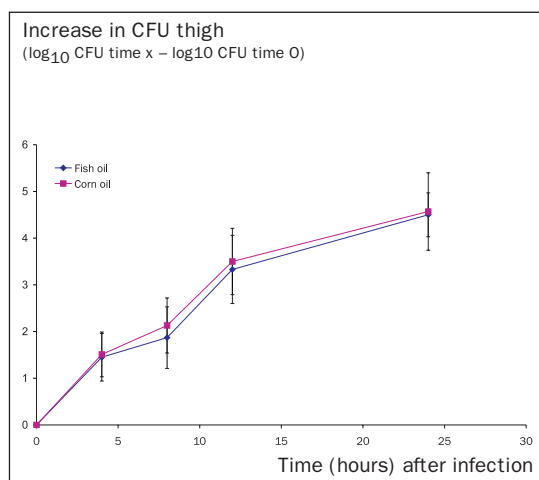


Figure 1. Bacterial growth in the thigh shown as a logarithm of the increasing number of colony forming units (difference in growth ($\Delta\log_{10}$) at times 4, 8, 12 or 24 hours compared to bacterial count at time 0). All three experiments are pooled. Number of mice in each group: time 0: 10 mice, time 4: 14 mice, time 8: 18 mice, time 12: 18 mice and time 24: 14 mice. Standard deviation in parenthesis.

lýst *in vitro* (16). A hinn bógin hefur komið í ljós að fjöldi *Listeria monocytogenes* er meiri í milta sýktra músa sem fengu lýsisríkt fæði samanborið við viðmiðunarhóp (17). Ekki liggja fyrir niðurstöður um áhrif lýsis á vöxt *Klebsiella pneumoniae* í músum *in vivo*.

Niðurstöður rannsókna okkar nú benda til að vöxtur *Klebsiella pneumoniae* í músum sem aldar hafa verið á lýsisbættu fæði annars vegar og kornolíubættu fæði hins vegar sé sambærilegur þó vöxturinn hafi verið örlítið meiri í músum sem aldar voru á kornolíubættu fæði. Því teljum við að draga megi þá ályktun að áhrif lýsis á lifun sem rannsóknarhópurinn hefur þegar sýnt fram á (9) stafi ekki af beinum hindrandi áhrifum lýsis á bakteríuvöxtinn *in vivo*.

Til að meta hvort bakteríumagn sem sýkt var með hefði áhrif á vaxtarhraðann var rannsóknin framkvæmd þrisvar sinnum og var sýkt með mismunandi fjölda baktería í hvert skipti. Niðurstöðurnar voru hins vegar þær sömu í öllum tilraununum. Því má álykta að upphafs fjöldi bakteríanna sem sýkt var með hafi ekki áhrif á bakteríuvöxtinn í lærunum í tilrauninni en samsvörum er á milli fjölda baktería í lærum og fjöldanum í blóði.

Verndandi áhrif lýsis í sýkingum sem fram hafa komið í fyrri tilraunum (9) virðist því ekki vera vegna beinna hamlandi áhrifa á bakteríuvöxt. Hvernig er virkninni þá háttáð? Nokkrar hugmyndir verðskulda nánari umfjöllun. Rannsóknir okkar nú staðfesta að sýkingin er ekki staðbundin eins og blóðsýkingin sýnir fram á. Ræsing ónæmiskerfisins er því væntanlega öflug og framleiðsla frumuboðefna verður mikil. Við þessar aðstæður verður aukin framleiðsla á

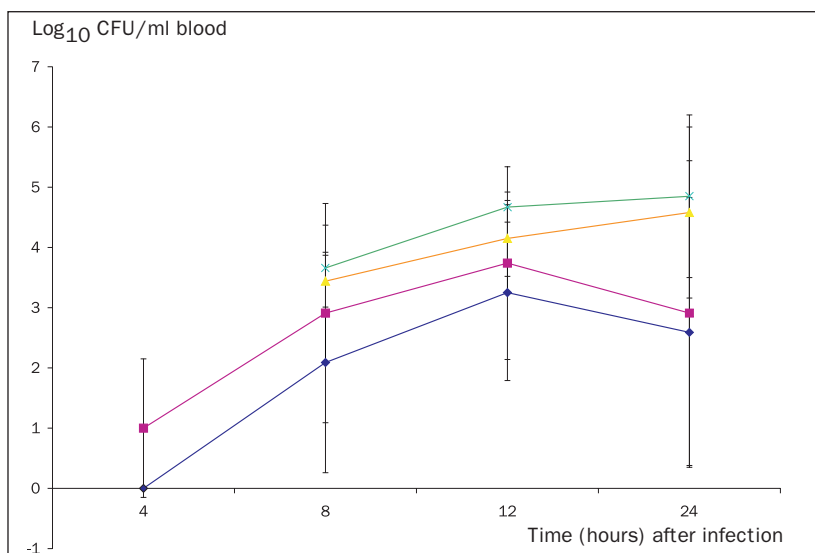


Figure 2. Number of colony forming units of *Klebsiella pneumoniae* in blood (CFU/ml blood). The lines indicate the two experiments with different number of bacteria in the inoculum. Number of mice in each group in experiment 2: time 8: four mice, time 12: four mice and time 24: five mice. Number of mice in each group in experiment 3: time 4: four mice, time 8: eight mice, time 12: eight mice and time 24: three mice.

afleiðum af arakídónsýru og eikósapentaensýru, það er eikósanóíðum, próstaglandínnum, þromboxani, leukótríennum og prostacýklíni. Neysla ω -3 fitsýra leiðir almennt til myndunar minna virkra eikósanóíða. Þetta leiðir til breytinga á sjúkdómsástandi vegna vægara ónæmissvars. Loks má nefna að eikósanóíðar koma víða við sögu í myndun frumuboðefna (18-20). Neysla lýsis hefur því áhrif á framleiðslu frumuboðefna sem einnig breytir ónæmissvarinu. Þessar hugmyndir verðskulda frekari rannsóknir.

Einnig er mögulegt að áhrif lýsisins á lifun dýranna megi rekja til oxunaráhrifa þess. Rannsóknir hafa sýnt fram á aukna lifun músa sem fengið hafa lýsisbætt fæði eftir sýkingu með malaríusýklinum *Plasmodium yoelii* (21,22) en hægt var að snúa þessum jákvæðu áhrifum lýsis við með því að gefa músunum E-vítamín samhliða lýsinu. E-vítamín er öflugur andoxari og því gætu jákvæð áhrif lýsisins verið vegna oxunar þess. Fjölómettaðar fitsýrur eru mjög viðkvæmar fyrir oxun og geta því myndast ýmis skadleg efni, svo sem frjáls sindurefni sem mögulega gætu hindrað vöxt bakteríanna. Þessi tilgáta þarfnast nánari rannsókna.

Það kann að skjóta skökku við að hvatt sé til aukningar á neyslu ω -3 fitsýra sem ef til vill leiðir til bælingar ónæmiskerfisins. Ástæðan fyrir þessu er að í mörgum tilvikum er það ekki sýkingin sem veldur mestum sjúkdómseinkennum eða dregur sjúklinginn til dauða heldur ónæmissvarið sjálft. Minni ræsing ónæmiskerfisins og þar með minni losun þátta er örva meðal annars bólgu, æðavíkkun og æðaleka kunna þannig að vera dýrinu til gagns.

Niðurstöður okkar benda til að áhrif lýsis á betri lifun músa eftir sýkingu með *Klebsiella pneumoniae* sé ekki vegna beinna hamlandi áhrifa þess á bakteríuvöxt *in vivo*. Þetta er í samræmi við fyrri tilgátur okkar og annarra að áhrif lýsis séu vegna áhrifa þess á ónæmissvarið sem einnig kemur heim og saman við jákvæð áhrif lýsis á ýmsa sjálfnæmissjúk-

dóma (2,4,5). Frekari rannsókna er þó þörf til að ganga úr skugga um hver þessi áhrif lýsis á ónæmiskerfið eru.

Þakkir

Sonja Vilhjálmsdóttir annaðist dýrahald á Keldum. Styrkir til rannsóknarinnar fengust frá Rannís, Nýsköpunarsjóði námsmanna og Aðstoðarmannasjóði Háskóla Íslands. Lýsið var fengið frá Lýsi hf. og sýklafræðideild Landspítala lagði til bakteríurnar.

Heimildir

- Björnsson S, Hardardóttir I, Gunnarsson E, Haraldsson Á. Lýsineysla eykur lifun músa eftir sýkingu með *Klebsiella pneumoniae*. Læknablaðið 1997; 83: 289-93.
- Kromann N, Green A. Epidemiological studies in the Upernavik district, Greenland. Acta Med Scand 1980; 208: 401-6.
- Robertson TL, Kato H, Gordon T, Kagan A, Rhoads GG, Land CE, et al. Epidemiologic studies of coronary heart disease and stroke in Japanese men living in Japan, Hawaii and California. Am J Cardiol 1977; 39: 244-9.
- Kremer JM, Jubiz W, Michalek A, Rynes RI, Bartholomew LE, Bigaouette J, et al. Fish oil fatty acid supplementation in active rheumatoid arthritis. A double blinded, controlled, crossover study. Ann Intern Med 1987; 106: 497-503.
- Bittner SB, Tucker WF, Cartwright I, Bleehen SS. A double blind, randomised, placebo-controlled trial of fish oil in psoriasis. Lancet 1988; 1: 378-80.
- Willatts P, Forsyth JS, DiModugno MK, Varma S, Colvin M. Effect of long-chain polyunsaturated fatty acids in infant formula on problem solving at 10 months of age. Lancet 1998; 352: 688-91.
- Stordy BJ. Benefit of docosahexaenoic acid supplements to dark adaptation in dyslexics [letter]. Lancet 1995; 346: 385.
- Hibbeln JR, Salem N Jr. Dietary polyunsaturated fatty acids and depression: when cholesterol does not satisfy. Am J Clin Nutr 1995; 62: 1-9.
- Björnsson S, Hardardóttir I, Gunnarsson E, Haraldsson Á. Dietary Fish Oil Supplementation Increases Survival in Mice Following *Klebsiella pneumoniae* infection. Scand J Infect Dis 1997; 29: 491-3.
- Paul KP, Leichsenring M, Pfisterer M, Mayatepek E, Wagner D, Domann M, et al. Influence of n-6 and n-3 polyunsaturated fatty acids on the resistance to experimental tuberculosis. Metabolism 1997; 46: 619-24.
- Peck MD, Alexander JW, Ogle CK, Babcock GF. The effect of dietary fatty acids on response to *Pseudomonas* infection in burned mice. J Trauma 1990; 30: 445-52.
- Rosa DM, Spillert CR, Flanagan JJ, Lazaro EJ. Beneficial effect of cod liver oil in murine endotoxemia. Res Comm Chem Pathol Pharmacol 1990; 70: 125-7.
- Blok WL, Vogels MTE, Curfs JHAJ, Eling WMC, Buurman WA, van der Meer JWM. Dietary fish oil supplementation in experimental gram-negative infection and in cerebral malaria in mice. J Infect Dis 1992; 165: 898-903.
- Thormar H, Isaacs CE, Brown HR, Barshatzky MR, Pessano T. Inactivation of enveloped viruses and killing of cells by fatty acids and monoglycerides. Antimicrob Agents Chemother 1987; 31: 27-31.
- Wang X, Sjunnesson H, Sturegard E, Wadstrom T, Willen R, Aleljung P. Dietary factors influence the recovery rates of *Helicobacter pylori* in a BALB/cA mouse model. Zentralbl Bakteriologie 1998; 288: 195-205.
- Thompson L, Cockayne A, Spiller RC. Inhibitory effect of polyunsaturated fatty acids on the growth of *Helicobacter pylori*: a possible explanation of the effect of diet on peptic ulceration. Gut 1994; 35: 1557-61.
- Fritsche KL, Shahbazian LM, Feng C, Berg JN. Dietary fish oil reduces survival and impairs bacterial clearance in C3H/He mice challenged with *Listeria monocytogenes*. Clin Sci (Colch) 1997; 1: 95-101.
- Calder PC. Can n-3 polyunsaturated fatty acids be used as immunomodulatory agents? Biochem Soc Trans 1996; 24: 211-20.
- Hardardóttir I, Kinsella JE. Tumor necrosis factor production by murine resident peritoneal macrophages is enhanced by dietary n-3 polyunsaturated fatty acids. Biochimica et Biophysica Acta 1991; 1095: 187-95.
- Kunkel SL, DG Remick, M Spengler, Chensue SW. Modulation of macrophage-driven interleukin-1 and tumor necrosis factor by prostaglandin E2. Adv Prostaglandin Thromboxane Leukotriene Res 1987; 17: 155-8.
- Fevang P, Sääv H, Høstmark AT. Dietary Fish Oils and Long-Term Malaria Protection in Mice. Lipids 1995; 30: 437-41.
- Taylor DW, Levander OA, Krishna VR, Evans CB, Morris VC, Barta JR. Vitamin E-Deficient Diets Enriched with Fish Oil Suppress Lethal Plasmodium yoelii Infections in Athymic and scid/bg mice. Infect Immun 1997; 65: 197-202.

Fræðigreinar íslenskra lækna í erlendum tímaritum

Sendið heiti greinar, nöfn höfunda og birtingarstað. Miðað er við greinar sem birst hafa á yfirstandandi og síðasta ári. Til glöggvunar verður íslenskra höfunda getið með fornaði þótt svo hafi ekki verið við birtingu.

• **Gunnar Sigurðsson, Leifur Franzson, Hólmfríður Þorgeirsdóttir, Laufey Steingrimsdóttir**

A Lack of Association between Excessive Dietary Intake of Vitamin A and Bone Mineral Density in Seventy-Year-Old Icelandic Women. In: Burckhardt P, Dawson-Hughes B, Heaney RP, eds. Nutritional Aspects of Osteoporosis. Nutritional Impact on Prevention and Treatment. London: Academic Press; 2001.

• **Gunnar Sigurðsson, Leifur Franzson**

Increased bone mineral density in a population-based group of 70-year-old women on thiazide diuretics, independent of parathyroid hormone levels. J Int Med 2001; 250: 51-6.

• **Sunna Guðlaugsdóttir, van Blankenstein M, Dees J, Wilson JHP.** *A majority of patients with Barrett's oesophagus are unlikely to benefit from endoscopic cancer surveillance.* Eur J Gastroenterol Hepatol 2001; 13: 639-45.