

Webnoter:

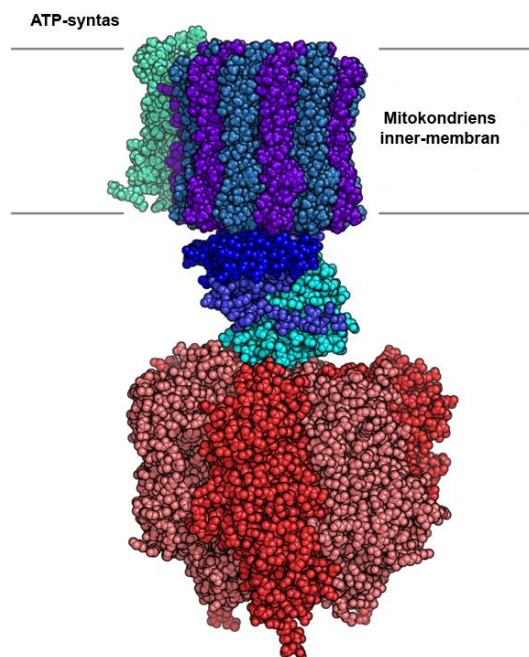
1. Enzymer verkar som katalysatorer, det vill säga gör vissa reaktioner mycket mer sannolika genom att stabilisera konformationer (tredimensionella orienteringar) hos de reagerande ämnena (reaktanterna) som gör "steget" till att övergå till produkter kortare. Om exempelvis en reaktant-molekyl kan, via ett enzyms försorg, förmås anta den konformation som den kommer ha ingående i en produkt, så blir ju steget eller den energimässiga barriären till att bli en produkt mindre. Enzymerna kan på så sätt dramatiskt öka sannolikheten för en fullbordad reaktion och det är inte ovanligt att denna sannolikhetsökning kan göra att reaktionerna går åtskilliga miljarder eller kanske biljoner gånger snabbare (till exempel åstadkommer enzymet ureas åtminstone teoretiskt en hastighetsökning på 10^{14} – hundra biljoner – när urea bryts ned till ammoniumjoner i havsorganismer). Utan enzymer skulle de nödvändiga kemiska reaktioner som sker i kroppen gå för långsamt för att vi ska kunna överleva. Ett intressant exempel som belyser detta är det följande:

En människa består av cirka 40 000 000 000 000 celler, vilket är ett grovt estimat för ingen har ju naturligtvis satt sig ned och räknat dem. För att få inblick i det omöjliga i den uppgiften kan nämnas att det skulle ta (givet ett räkningstempo på en cell per sekund) mer än en miljon år att bara räkna upp till ett så stort tal. Livet det börjar med en enda cell, den "zygot" som bildas när spermien och ägget fuserar, och den ska alltså bli 40 000 000 000 000 genom celledelningar (en exponentiell tillökning, så det behövs visserligen bara cirka 45 celledelningar för att komma upp till en så hög siffra, $2^{45} = \sim 35\,000\,000\,000\,000$). Vid varje celledelning ska cirka 6 000 000 000 nukleotider av DNA noggrant kopieras. Nukleotiderna är som beskrivet ovan byggstenarna som DNA består av (A, T, G och C). Om man skulle räkna DNA-nukleotiderna i en enda cell med samma tempo som i räkneexemplet ovan skulle det ta 190 år. Om vi nu betänker att det som bekant endast tar ungefär 9 månader från det att den ensamma zygoten bildats till att en ny människa föds kan var och en av oss inse att kopierandet av zygotcellens DNA och den DNA som finns i alla de celler som ska bli cirka 40 000 000 000 000, måste ske med en mycket hög hastighet.

2. Fetter, kolhydrater och proteiner i maten bryts ned i många olika reaktionskedjor i kroppen där de stegvis sönderdelas och lämnar ifrån sig energi eller byggstenar för att skapa nya makromolekyler. En del ATP kan återbildas i dessa reaktionskedjor som mynnar i vad som kan liknas vid "ett ämnesomsättnings Rom", dit alla vägar går. Detta Rom består av en serie av reaktioner vi kallar citronsyracykeln och som sker i mitokondrierna. Det stora flertalet av ATP återbildas dock i den syrekrävande celandningen. Den inleds genom att speciella elektronbärande molekyler *reduceras* (= tillförs elektroner), till mestadels i citronsyracykelns reaktioner. Elektronbärande molekyler kan sedan slussa elektronerna vidare till en rad av olika proteinkomplex i de dubbelt membranomgivna mitokondriernas inre membran vilka tillsammans kallas för andningskedjan. I denna kedja bollar elektronerna vidare mellan proteinkomplexen för att till slut reducera syre, som då bildar vatten. Det här sista steget möjliggör fortsatt elektronbärande och är anledningen till att vi andas, men vad är nu vitsen med allt detta bollar med elektroner? Jo, varje gång elektroner lämnas i dessa reaktioner i andningskedjan frigörs det energi och denna energi kan proteinkomplexen använda för att pumpa över laddade partiklar (protoner eller vätejoner) från insidan av det inre membranet till mellanrummet mellan mitokondriens inre och yttre membran, vilket skapar en slags fördämning av protoner. Denna fördämning av protoner är en form av

energi och kan liknas vid fördämningen av vatten vid ett vattenkraftverk där energin i fördämningen omvandlas till elektrisk energi när vattnet flödar genom en turbin. I mitokondrierna flödar också protonerna genom en slags molekylär turbin, men i det här fallet bildas det istället energi i form av energimolekylen ATP.

Den molekylära turbinen är den enastående molekylära maskinen kallad ATP-syntas. ATP-syntasen sitter likt andningskedjans enzymkomplex i mitokondriernas inre membran, är konstruerad av mer än 40 000 atomer (men är ändå ungefär tvåhundra tusen gånger mindre än ett knappnålshuvud) och kan, som sagt, liknas vid en turbin driven av en protonström. Ja just det: ATP-syntasen är så fiffigt konstruerad att när den av andningskedjan skapade fördämningen av protoner tillåts gå igenom den cylinderformade membran-genomträngande delen (kallad F₀) av denna molekylära maskin så skapas en rotation i denna del (cirka 60 varv per sekund). Denna rörelseenergi driver sedan, via en molekylär svängande spak, ändringar i formen (så kallade konformationsförändringar) hos den andra stora delen av ATP-syntaset (F₁), som sticker ut med en vagt svamplik form från insidan av membranet. Till F₁ binder ADP-molekyler och fosfater och dessa konformationsförändringar driver först övergången från ADP + fosfat till ATP och kickar sedan ut produkten. Tjusiga animerade filmer som visar denna fascinerande process finns i skrivande ögonblick bland annat på YouTube. Finns även filmer om hela andningskedjan.



3. När syre får sina elektroner kontrollerat genom proteinkomplexen i andningskedjans försorg bildas vatten, men om elektronerna rekryteras okontrollerat på grund av läckage i andningskedjan kan syreradikaler istället bildas. Om syreradikaler bildas reagerar de omedelbart med ämnen runt omkring och gör dem reaktiva, vilket leder till att det kan skapas långa kedjor av reaktiva ämnen. Vissa ämnen i dessa kedjor är inte så reaktiva, men måste ändå städas bort eftersom mycket reaktiva ämnen kan bildas ur dem. Ett exempel på detta är väteperoxid (H_2O_2), som är stabil, liten och oladdad, vilket gör att den lätt kan ta sig igenom biologiska membran och kan därför spridas till angränsande celler. Väl inne i cellen kan den åter bilda reaktiva ämnen

(väteperoxidradikaler) och därför fungera likt en trojansk häst. Därför finns det speciella organeller, de så kallade peroxisomerna, som har till uppgift att städa bort väteperoxid. I peroxisomerna finns enzymet katalas som, när det är helt mättat, kan städa bort väteperoxid i en förbluffande hög hastighet: 10 000 000 per sekund enligt beräkningar. Försök att visualisera det, du. Lär mer om fria radikaler och deras skadeverkan samt antioxidativt försvar här.

4. En viktig komponent i kroppens antioxidativa försvar är glutation, som består av tre sammanlänkade aminosyror (den är alltså en peptid, en tripeptid). Glutation kan antingen själv oskadliggöra fria radikaler när dess aktiva thiolgrupp (som består av svavel och väte, -SH) oxideras (alltså ger ifrån sig elektroner till oxidanten) eller alternativt kan den samagera med antioxidant-enzymerna glutationperoxidase och glutation-S-transferas. Thiolgruppen kan återuppladdas (reduceras) med hjälp av enzymet glutationreduktas. En andra försvarslinje detoxifierar sekundära oxidanter (bildade i reaktioner mellan ROS och makromolekyler. Produkter av dessa reaktioner pumpas ut ur cellen av speciella membranproteiner

5. Läckaget av elektroner från andningskedjan i mitokondrierna är något som cellen måste stävja för att undvika förstörelse, men det finns faktiskt också cellulära mekanismer och signalvägar som stimulerar denna ROS-produktion för att upprätthålla homeostas (balans) vad gäller oxidanter och antioxidanter. Utöver att proteiner (enzymer) kan regleras genom att en fosfatgrupp antingen binds in eller tas bort från dem, kan de också regleras genom att en av deras ingående aminosyror (aminosyran cystein) antingen berövas eller tillförs elektroner (det vill säga oxideras eller reduceras). Vid laboratorieförsök då mitokondriell ROS-produktion stoppats har proteiner som regleras på så sätt fastnat i ett "reducerat" läge, vilket knappast är till gagn för det mångfacetterade samspelet mellan cellulära komponenter. Det finns vidare, utöver de antioxidantenzymerna som återställer balansen vid oxidativ stress, också enzymer (NADPH oxidaser) som verkar i motsatt riktning. Dessa enzymer behövs dock inte lika ofta som antioxidantenzymerna i den oxiderande atmosfär vi lever i och vi behöver verkligen de ämnen i maten som kallas för antioxidanter.

6. Mätning av antioxidativ kapacitet: (se t ex Gu et al. *Food Chem.Toxicol.* 2012 50:4085-)

Aktivitetmätning baserad på överföring av elektron (SET-single electron transfer): DPPH radical scavenging, Folin-Ciocalteu reagens (FCR), Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) + Cu som oxidant (CUPRAC).

Aktivitetmätning baserad på överföring av väteatom (HAT – hydrogen atom transfer): Inhibering av linolsyras autooxidation, Oxygen radical absorbance capacity (ORAC), total radical trapping antioxidant parameter (TRAP), crocin bleaching assays. ORAC och TRAP är kompetitiva metoder.

Det kan vara en bra idé att mäta antioxidativ aktivitet i en cell (t ex en röd blodkropp) eftersom vi då också tar biotillgängligheten av den uppmätta antioxidanten med i beräkningen. Vi kan också få ett mått på hur antioxidanten påverkar produktionen av cellens egna antioxidanter (dock ej med röda blodkroppar som saknar cellkärna).

Förutom röda blodkroppar används i regel cellinjer (t ex tarm och leverceller) som har cellkärna, men brister i att de härrör från tumörer och därför kan ha egenskaper som skiljer dem från vanliga celler.

7. I en sammanställning av 97 biotillgänglighetsstudier^a av polyfenoler kunde 0,3-43 procent av inmundigade molekyler återfinnas i urinen (i regel i metaboliserad form), medan 0-4 $\mu\text{mol/l}$ ^b kunde detekteras i blodplasma (efter att försökspersoner ätit av en polyfenol motsvarande 50 mg av aglykon-formen). Gallsyra och isoflavonerna genistin och daidzin absorberades bäst, följda av katekinerna katekin och epikatekin, flavanonerna hesperitin och naringenin samt flavanolen quercetin. Sämst absorberades proantocyanidiner (förmodligen bara absorberade som bakteriella metaboliter). Antocyaniner och te-katekinerna EGC och EGCG (epigallokatekin och epigallokatekingallat) absorberades också relativt dåligt. Flavonolen quercetin och isoflavonerna genistin och daidzin stannade kvar längst i blodet. Sammantaget visar dessa studier att polyfenoler inte absorberas särskilt effektivt och lämnar kroppen ganska snabbt.

Fotnot: a) Manach et al. 2005. Bioavailability and bioefficacy of polyphenols in humans. I. Review of 97 bioavailability studies. American J. Clinical Nutrition. 81:230S-. b) $\text{mol} = \text{avogadros nummer} = 6,022 \times 10^{23}$ (antal molekyler), mikro, μ , = en miljondel.

8. En orsak till att kroppen har svårt att ta till sig antioxidanter är att de i regel sorteras som främmande ämnen, något som kroppen därför vill göra sig av med. En viss typ av transportproteiner i tarmarna fungerar som pumpar, vars uppgift är att avlägsna giftiga ämnen i blodet genom att pumpa ut främmande ämnen. Fytokemikalier är, trots deras ofta ofta gynnsamma verkan, också främmande.

Även om polyfenoler och andra antioxidanter lyckas undkomma de ovannämnda utkastarproteinerna behandlas de i regel fortsatt som kroppsfrämmande ämnen: Ett system av enzymer kallade för fas 1 och fas 2 enzymer påskyndar (katalyserar) reaktioner som syftar till att göra det främmande ämnet mer vattenlösligt därmed lättare att avlägsna via urinen. Detta görs genom att vattenlösliga molekyler kopplas till främmlingen. Med det här livsnödvändiga systemet blir vi exempelvis lättare av med många fettlösliga miljögifter, till exempel PCB-er. Dess effekt på antioxidanter medför ofta att metaboliter med sämre antioxidativ kapacitet bildas istället, men detta innebär inte nödvändigtvis en nackdel ur hälsosynpunkt.

Om polyfenolen som gjorts mer vattenlöslig ändå undgår att bli utkastad gör denna modifiering att polyfenolen blir mer stabil och får istället möjlighet att transporteras längre ut i vävnaderna. Ett exempel är när polyfenolen quercetin, som bland annat finns i lök, modifieras på detta sätt^a och blir både mer vattenlösligt och stabilt. Detta innebär att molekylerna kan transporteras längre ut i vävnaderna om den inte avlägsnas direkt. Väl ute i en del vävnader kan quercetinet sedan återbildas med hjälp av ett enzym^b som katalyserar borttagande av den påkopplade vattenlösliga molekylerna. På det här sättet kan den inbundna molekylerna även fungera som en slags transportör. Hur vanligt förekommande denna mekanism är och vilken betydelse den har verkar dock vara dåligt kartlagt. Intressant i detta sammanhang är att enzymer som verkar för att avlägsna

påkopplade molekyler utsöndras av vita blodkroppar vid inflammation. I råttstudier har den modifierade formen av polyfenolen luteolin, som bland annat finns i timjan, ombildats till fri luteolin vid inflammation. Luteolin har både starkare antioxidativ kapacitet och anti-inflammatorisk förmåga samt kan ta sig in i celler lättare än den modifierade formen. Kanske kan detta vara ett sätt att motverka oönskad och långvarig så kallad kronisk inflammation?

Uppskattningsvis når dock bara ett fåtal procent av de polyfenoler vi äter kroppens vävnader, och då oftast i en metaboliserad form. Detta återspeglas i att halterna av modifierat quercetin i blod och urin skiljer sig åt kraftigt; i regel uppmäts betydligt högre halter i urinen. Kroppen tycks således göra sig av med detta främmande ämne ganska snabbt, trots att det verkar skyddas av modifieringen.

Polyfenoler kan dock påverka varandras biotillgänglighet och därmed motverka kroppens ogästvänlighet mot dem. De mekanismer som ligger bakom detta fenomen förklarar till stor del de "synergieffekter" mellan polyfenoler som nämns i slutet av kapitel 3. Polyfenolerna kan bland annat verka genom att hämma de tidigare nämnda "utkastarproteinerna" som har till uppgift att avlägsna främmande ämnen från cellen^c. Dessa proteiner använder ATP som energikälla och det innebär att strukturellt lika polyfenoler kan binda in och störa och på så sätt öka biotillgängligheten. Exempelvis fås högre biotillgänglighet av polyfenolerna resveratrol eller quercetin tillsammans med hesperetin eller naringenin eftersom de senare hämmar ett utkastarprotein^d, som annars i hög grad kastar ut dem. Polyfenoler kan också influera de så kallade fas 1 och fas 2 enzymerna och därigenom påverka biotillgängligheten. Ett känt exempel är naringenin (och eventuellt andra ämnen) från grapefrukt som gjort flera läkemedel mer biotillgängliga och i vissa fall därmed orsakat toxicitet på grund av hög dos (naringenin påverkar för övrigt också "utkastarproteiner"). Biotillgängligheten kan även ökas genom att påverka andra enzymer: exempelvis kan hämning av en grupp enzymer^e göra att klorogensyra, som finns i kaffe, inte bryts ned lika mycket, vilket ökar dess biotillgänglighet.

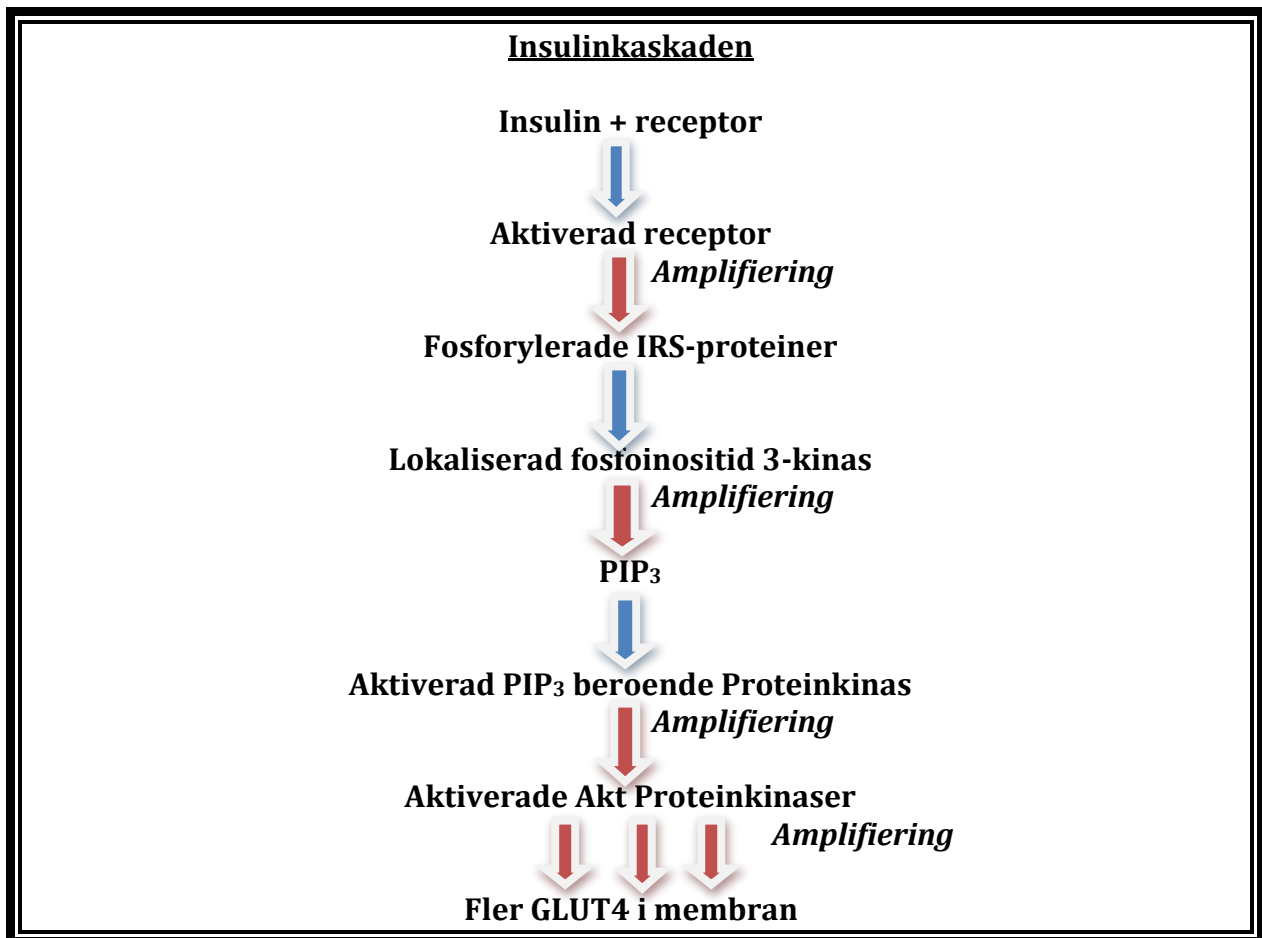
Fotnot: a) glukuronideras (kopplas till glukuronsyra) b) Enzymet glukuronidas c) Dessa proteiner tillhör en familj av proteiner kallade ABC-transportörer d) ABC-transportören BCRP e) Enzymgruppen esteraser

9. En av dessa transkriptionsfaktorer kallas Nrf2 och den kan binda in till en regulatorisk sträcka DNA kallad ARE (antioxidant response element) som finns intill gener som bär informationen för att producera antioxidantzymer. Ämnen i maten, som kurkumin (det gula färgämnet i gurkmeja) och resveratrol (finns i druvor och vin), kan stimulera produktionen av antioxidantzymer genom att stimulera inbindning av Nrf2 till ARE. Nrf2 regleras av proteinet Keap 1, i sin tur reglerad genom att en av dess ingående aminosyror (aminosyran cystein) oxideras eller reduceras, vilket gör att Keap 1 därmed fungerar som en slags sensor av balansen oxidanter/antioxidanter i cellen. När cysteinet oxideras släpper Keap 1 sin hämmande omfamning av Nrf 2.

Andra vanliga transkriptionsfaktorer som kan påverkas av maten vi äter är de som kallas AP-1 och NfκB. Till skillnad från Nrf 2 så inhiberas dessa av nyttiga ämnen eftersom deras aktivitet ofta kopplas till oönskade förlopp såsom kronisk inflammation.

Till nyttiga molekyler i mat räknas i detta sammanhang också bland andra kurkumin och resveratrol.

10.



Förloppet i figuren ovan beskriver bara en del av sanningen om vad som händer efter att insulinmolekylen bundit in till sin receptor. I en annan kedja av reaktioner påverkar proteinet kallat IRS-1 i figuren istället (för PI3K) ett annat kallat Grb2 och proteinkedjan går vidare med proteinerna Sos – Ras – Raf 1 – MEK till ERK, som exempelvis påverkar transkriptionsfaktorn Elk1 och denna kan i sin tur påverka ett hundratal geners uttryck.

En mer komplett bild av insulinkaskaden och andra nätverk av reaktioner den kan interagera med kan ses på <http://www.sabiosciences.com/pathwaycentral.php>. Se även [här](#) för att se animation av förloppet.

Interaktionerna mellan kinaserna i signalkedjorna kan direkt påverkas av matmolekyler. Polyfenoler binder nämligen dels in till kinasernas ATP-bindningsställen (ATP förser kinaserna med fosfatgruppen) och dels till ATP-bindningsställen i andra enzymer och receptorer, vilket kan innebära omfattande påverkan av signaleringen. Polyfenolerna kan även påverka kinasernas aktivitet på andra sätt och de påverkar också *fosfatasernas* aktivitet, det vill säga de enzymer som katalyserar avlägsnandet av fosfatgrupper.

Flavonoider och deras metaboliter har rapporterats påverka många signalkedjor via bland andra fosfoinositid 3-kinas (PI3K), Akt/protein kinas B (Akt/PKB), tyrosinkinaser, proteinkinase C (PKC) och mitogenaktiverade proteinkinaser (MAP-kinaser). Ett exempel är teflavonoiden EGCG:s inhibering av insulinreceptorn (som ju är en tyrosinkinase) vilket minskar upptaget av glukos (Larsen et al. 2010. Tea catechins as inhibitors of receptor tyrosine kinases: mechanistic insights and human relevance. *Pharmacological Research*. 62:457-).

11. Se animation av genexpression [här](#). Modellen gen – mRNA – protein som skissats i boken behöver dock modifieras en aning. För det första är begreppet gen inte lika tydligt som det en gång var: att *en* gen kodar för *ett* protein. Det dröjde nämligen inte länge förrän man blev tvungen att töja på denna definition eftersom det hittades allt fler gener som visade sig koda för fler än ett protein. På senare år pratas det dessutom om en slags gener, kallade RNA-gener, som inte kodar för något protein alls. När dessa gener uttrycks är RNA slutprodukt, inte protein.

Hur kan det då skapas flera proteiner ur en enda gen? Det enklaste svaret på den frågan är att RNA-polymeraset kan läsa av genen bara delvis och därigenom skapa kortare varianter av proteinet. Vi får dock en bättre inblick i hur detta sker om vi känner till hur gener är organiserade: i en typisk gen är nämligen de proteinkodande delarna (kallade exoner) avbrutna av ett varierande antal icke-proteinkodande delar (kallade introner). Det finurliga i den här typen av organisation är att exonerna, eller rättare sagt RNA-kopiorna av exonerna, likt legoklossar kan kombineras ihop på många olika sätt och därmed kan många olika proteiner skapas från en enda gen. Det är dock oklart och omdebatterat vilken betydelse det här har i verkligheten.

Det här kräver naturligtvis ett raffinerat maskineri som klipper och klistrar ihop RNA-bitarna. En liten del av detta maskineri finns faktiskt inom själva genkopier och utgörs, märkligt nog, av intronkopior som kan klippa ut sig själva och koppla ihop de flankerande exon-kopiorna. Det här ett exempel på katalytiskt RNA. Alla enzymer är inte proteiner. Processen då olika kombinationer av exoner bildar flera proteiner kallas alternativ splitsning (från engelskans *alternative splicing*). Senare tids forskning indikerar att splitsningen regleras av processer (så kallad epigenetisk reglering) som i sin tur kan påverkas av ämnen i vår föda.

När proteinet väl har bildats av ribosomen är det ofta inte slut med det; nu sker post-tranlationella modifieringar som kan innebära trimning, klyvning, fastsättande av olika kemiska grupper^a eller lipidsvansar (gör proteinet mer fettlösligt) eller kolhydratsvansar (gör proteinet mer vattenlösligt), vilket möjliggör en större repertoar av former och fysiko-kemiska egenskaper. Aminosyrakedjan som utgör proteinet får dessutom ofta strax efter sin tillkomst också hjälp av ett slags proteinkomplex kallade chaperoner med att vecka ihop sig till sin aktiva tredimensionella form.

Det centrala dogmat

Att informationen enkelriktat går från DNA (via RNA) till protein kallade Francis Crick (en av forskarna bakom DNA-strukturens upptäckt) skämtsamt (?) för molekylärbiologins centrala dogma. Det centrala dogmat handlar om informationsflöde och det är fortfarande giltigt i den meningen att det inte hittats någon omvänd

translationsprocess och med tanke på ribosomens komplexitet är det inte sannolikt att någon sådan process kommer att hittas i framtiden heller. Omvänd transkription har dock hittats (i RNA-virus), men fortfarande kan man kanske anse informationsflödet nukleinsyror till proteiner vara enkelriktat (denna slutsats grundad på frånvaron av omvänd translation är emellertid ifrågasatt)^b.

Fotnot: a) Exempelvis: Hydroxylering: bindning av hydroxyl (OH). Acetylering: bindning av acetyl (CH₃CO). b) se Koonin 2012 Does the central dogma still stand? *Biology Direct* 7:27- och begreppet nedåtgående kausalitet inom systembiologin.

12. Metyleringen av DNA sker med hjälp av enzymerna DNMT1, DNMT3A eller DNMT3B (DNMT = DNA-metyltransferas) och det är alltid DNA-basen cytosin som metyleras, men bara om den följs av basen guanin i kedjan (ett C följt av G betecknas i dessa sammanhang CpG). I regel är dessa CpG-er frekvent förekommande i en DNA-sträcka innan själva genen börjar som kallas promotor. Till promotorn binder de proteinkomplex som läser av DNA så därför kan inbindning av andra molekyler till denna plats påverka hur mycket genen uttrycks. Epigenetiska modifieringar kan också ske i en slags proteinbollar kallade histoner som DNA-kedjan är tätt knuten till. Histonerna finns i fyra varianter kallade H2A, H2B, H3 och H4 och i kromosomen ligger två vardera av dessa tätt tillsammans i en oktamer (okta=8) med DNA-kedjan tätt virad runt om. DNA-kedjans kramande av histonerna bidrar till arvsmassans stabilitet och motverkar ovälkomna strängbrott: det är ju lättare att klippa av en löst hängande tråd än en som är hårt virad runt trådrullen. En hårt bunden DNA-sträng innebär dock samtidigt att proteinkomplexen som läser av DNA får det svårare att binda in. Idag finns över 50 kända epigenetiska modifieringar av histonerna som kan finjustera denna balans mellan genuttryck och skyddande packning^a. Effekterna av modifiering av histonerna är varierande, men acetylering innebär i regel aktivering av gener medan metylering av DNA alltid verkar innebära tystande av gener. Att "tysta ned" har ju en viss negativ klang som man inte ska låta sig luras av. Allt beror ju på vilka gener det är som tystas. Att gener kopplade till cancerutveckling, "onkogener", tystas ned är ju åtminstone vid cancer inte negativt.

Fotnot: a) Kouzarides 2007 SnapShot: Histone-modifying enzymes. *Cell* 131:822-.

13. Det finns tillfällen som kräver en mycket omfattande bortstädning av epigenetiska modifieringar: en process som kallas epigenetisk omprogramering^a sker när spermier och äggceller bildas. Epigenetiska modifieringar som överlever denna första bortstädning utsätts för ytterligare en strax efter fertilisering. Längre har man trott att epigenetisk nedärvning är omöjlig på grund av denna grundliga städning, men senare års forskning visar att denna städning, liksom den städning som sker på entreprenad i sjukvårds-Sverige, inte är perfekt. Det allra mesta är dock bortstädat i zygoten som ska vara totipotent, det vill säga ha förmåga att bilda alla typer av människoceller, inklusive moderkaksceller. Efter ett antal celledelningar bildas ett embryo av zygoten och i denna finns det pluripotenta celler som kan bilda alla celler utom dem i moderkakan (dessa celler kallas också för embryonala stamceller). Nästa steg i denna utvecklingsprocess, kallad differentiering, specialiserar cellerna ytterligare och blir multipotenta. De kan

därefter bilda många olika sorters celler, men bara inom en viss klass, till exempel blodstamceller eller neurala stamceller. Dessa kallas gemensamt somatiska stamceller och finns även i vuxna personer. Differentieringen av cellerna drivs av epigenetiska förändringar som mestadels inaktiverar (men aktiverar också emellanåt) gener för att på så sätt åstadkomma specialisering. En tarmcell har ju exempelvis inte samma set av aktiva gener som en nervcell eftersom de har så olika funktioner. Ibland kan dock skillnaderna i genuttryck mellan två helt olika celler vara mindre än väntat då en och samma genprodukt kan modifieras olika i olika celler och kan ha helt skilda funktioner beroende på cellen den uttrycks i. Från multipotens går differentieringen vidare till oligopotenta celler, som kan bilda ett fåtal olika celler, och sen till unipotenta celler, som bara kan bilda en slags cell. Exempel på de senare cellerna, som nått differentieringens ändpunkt, är hjärtmuskelceller^b.

Reaktiva syreföreningar (ROS) har i flera studier visat sig stimulera celldifferentiering, vilket är ytterligare en viktig ROS-funktion utöver de som nämndes i kapitel 3. Differentieringen är dock inte irreversibel utan kan gå baklänges under vissa omständigheter och kallas då dedifferentiering. Detta sker exempelvis när perifera nervsystemet ska repareras i däggdjur, eller mer drastiskt: när salamandern mist sitt ena ben och återbildar det. Det går att åstadkomma dedifferentiering i en skala jämförbar med den epigenetiska omprogrammeringen på labbet genom att injicera ett djurs DNA i en tom äggcell. Det gjordes först på grodor av nobelpristagaren Gurdon¹⁴⁸ och blev mycket uppmärksammat i medier när det gjordes på får eftersom det resulterade i det klonade fåret Dolly^c. Till forskarvärldens stora förvåning visade en annan nobelpristagare, japanen Yamanaka 2006, att man kan omvandla helt differentierade råttceller till celler med egenskaper lika dem hos embryonala stamceller genom att införa^d endast fyra gener i dem^e. Dessa kallas inducerat pluripotenta celler (iPS celler) och kommer sannolikt ha en mycket stor betydelse för sjukvården framöver, bland annat talas det om att bota blinda personer.

De epigenetiska modifieringarna är som vi tidigare konstaterat reversibla och därför potentiellt påverkbara och de verkar vidare åtminstone delvis styras av händelser på cellnivå som i sin tur är beroende av miljön utanför cellen. Det senare visar inte minst en mängd studier på gnagare, men också studier av enäggstvillingar^f där skillnader i epigenetisk modifiering visade sig öka med högre ålder och hur pass olika deras livsstil varit samt med hur lång tid de levt separerade. Om vi går tillbaka till liknelsen av DNA:t som manus så kanske det inte är någon regissör utan snarare publiken som skriver stödanteckningar och klistrar post-it lappar i manuset. Här ska dock påpekas att det finns studier som visar att det finns genetiska komponenter med i styrningen av metyleringen: hur metyleringen av genomet förändras över tid verkar exempelvis vara lika inom familjer^g. Oftast tenderar metyleringen att minska i äldre människor, men så är det inte inom alla familjer. Hos vissa tycks den till och med öka med åldern.

Fotnot: a) Reik et al. 2001 Epigenetic reprogramming in mammalian development. *Science* 293:1089-. b) I hjärtat finns inga somatiska stamceller ur vilka nya hjärtceller kan bildas, därför resulterar hjärtinfarkt (då hjärtceller dör) i ärrvävnad istället för reparation, vilket förvärrar konsekvenserna. c) Campbell et al. 1996 Sheep cloned by nuclear transfer from a cultured cell line. *Nature* 380:64-. d) Med DNA-teknik kan man skapa s k vektorer, som i regel är ringar av DNA som innehåller gener man vill uttrycka i en cell. Vektorerna kan införas i celler via en tillfällig permeabilitetsökning i cellmembranet som kan ske medelst kemikalier, uppvärmning, elektrisk chock m m. e)

Takahashi and Yamanaka 2006 Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126:663-. f) Fraga et al. 2005 Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins. *Proceedings of the National Academy of Sciences. USA* 102:10604-. g) Bjornsson et al. 2008 Intra-individual change over time in DNA methylation with familial clustering. *J. American Medical Association* 299:2877-.

14. I ett annat experiment fick gula dräktiga honor en kost rik på ämnen som lätt donerar metylgrupper, såsom folsyra, vilket resulterade i ett skifte i riktning mot vildtypsfärg bland ungarna^a. Kosten kunde alltså påverka metyleringen av agoutigenen. I ett liknande experiment av andra forskare byttes metyldonatorerna i kosten ut mot genistein (250 milligram per kilo mus). Flera tidigare studier har visat samband mellan konsumtion av detta fytoöstrogen (som finns i soja) och minskning av vissa typer av cancer samt minskat kroppsfett. Resultaten från experimentet visar att man kan åstadkomma liknande effekter med genisteintillskott som med folsyra eller andra metyldonatorer^b. Även om vissa studier indikerar att sojakonsumtion också verkar mot fetma i människor så är dessa resultat inte överförbara eftersom vi ännu inte vet exakt hur genisteinet påverkar metyleringen av fetma-relaterade gener i människor. Effekterna av metyldonatorer såsom folat på metylering börjar dock nu också bekräftas i försök på människor. Senare resultat på gnagare visar också att metyleringen till följd av exponering för folat och andra näringsämnen är bland annat beroende av tidpunkten för exponeringen, genotyp hos gnagaren och vävnadstyp^c. Forskningen har vidare visat att oxidativ stress påverkar den epigenetiska regleringen i människoceller, så matkomponenter kan alltså via motverkande av oxidativ stress påverka den epigenetiska regleringen. De kan också direkt påverka de epigenetiska enzymerna: exempel på detta är EGCG (epigallokatekingallat i grönt te), som i studier har visat sig påverka enzymer som styr DNA-metylering och histonmodifiering, vilken i sin tur associerats med motverkande av cancer^d. Detta är i överensstämmelse med andra typer av studier som påvisar statistiska samband mellan konsumtion av grönt te och minskad risk för cancer. Det är dock inte säkert att all påverkan av EGCG via epigenetisk reglering medför positiva hälsoeffekter. Kurkumin (från gurkmeja) kan också påverka histonacetylering, men här framträder en mer komplex bild av ämnets verkan: kurkuminets verkan mot levercancer celler kopplas nämligen till hämning av histonacetyltransferaser, HAT (vilket motverkar acetylering av histoner, HAT katalyserar acetylering av histoner), medan dess verkan mot hjärntumörceller kopplas till inhibering av HDAC (motverkar deacetylering av histoner)^d. Det går alltså inte att generellt koppla aktivering/inhibering av de epigenetiska enzymerna till en viss effekt på cancer: effekten beror ju på vilka gener det är som påverkas (onkogen eller tumörsuppressorgen?) och detta kan variera mellan olika typer av celler.

Mer om aveln av agoutimössen nämnda i kapitel 5:

Tystandet av agoutigenen sker med små steg, ett för varje metylgrupp som binds in. Genom mödosam avel har mössen blivit genetiskt identiska, så variationen i pälsfärg

beror endast på metyleringsgrad. Mutationen i denna stam kallad Avy (vy=viable yellow) finns egentligen utanför själva agouti-locus (platsen för genen). Ett mobilt genetiskt element kallat retrotransposom (av typen IAP – intracisternal A particle) driver så kallad ektopisk expression^e av genen och det är retrotransposomen som metyleras, inte agoutigenen.

Fotnot: a) Wolff et al. 1998 Maternal epigenetics and methyl supplements affect agouti gene expression in Avy/a mice. *FASEB J.* 12:949-. b) Dolinoy 2006 Maternal genistein alters coat color and protects Avy mouse offspring from obesity by modifying the fetal epigenome. *Environmental Health Perspectives.* 114:567-. c) Anderson et al. 2012 Nutrition and epigenetics: an interplay of dietary methyl donors, one-carbon metabolism and DNA methylation. *J. Nutritional Biochemistry.* 23:853-. d) Malireddy et al. 2012 Phytochemical antioxidants modulate mammalian cellular epigenome: implications in health and disease. *Antioxidants and Redox Signaling* 17:327-. e) Duhl et al 1994 Neomorphic agouti mutations in obese yellow mice. *Nature Genetics* 8:59-

15. Transkriptionsfaktorn NFκB styr produktionen av diverse cytokiner^a, som i sin tur influerar inflammation och immunförsvar. NFκB påverkar även produktionen av kväveoxid (NO), via enzymet inducerbart kväveoxidsyntas (iNOS)^b. Gasen NO fungerar likt ett lokalt hormon som i låga koncentrationer kan ligga bakom gynnsamma hälsoeffekter genom att orsaka vidgade blodkärl (dilatation) och bättre blodflöde, men i de höga koncentrationer iNOS ger upphov till, verkar NO huvudsakligen pro-inflammatoriskt^c. NFκB stimulerar inflammationen vidare genom att öka produktionen av enzymet cyklooxygenas 2 (COX-2). Uttryck av COX-2 associeras med inflammation, medan iso-enzymet COX-1 produceras i de flesta celler. Problemet med NSAIDer (COX-hämmare) såsom aspirin är att de samtidigt stoppar COX-produkter som i vissa sammanhang har hälsobefrämjande egenskaper, så det är tveksamt om långtidsbruk kan rekommenderas. NSAIDernas förmåga till smärtlindring på lång sikt ifrågasätts också^d, men det finns studier som dock påvisar en skyddande effekt mot hjärt- och kärlsjukdom vid låg dosering. Ett exempel på negativ effekt är hämningen av den tarmepitel-skyddande verkan av COX-produkten prostacyclin, vilken medför att aspirinkonsumtion associeras med blödningar i tarmen. För att undvika denna oönskade effekt har det gjorts försök att bara inhibera COX-2, men de har inte varit helt lyckade eftersom användandet kopplats till en ökad risk för hjärtattack (exempelvis medicinen Vioxx som återtogs av tillverkaren 2004)^e.

Fotnot: a) Cytokiner är hormonliknande ämnen som verkar lokalt. Exempel på cytokiner: interferoner, interleukiner, tumör-nekrosfaktor (TNF) familjen, kemokiner, kolonistimulerande faktorer. b) Tan et al. 2011 Molecular pathways for cancer chemoprevention by dietary phytochemicals. *Nutrition and Cancer* 63:495-. c) Det finns även andra kväveoxidsyntaser, t ex eNOS i endotelet, som associeras med hälsosam blodkärlsutvidgning. d) Bjordal et al. 2004 Non-steroidal anti-inflammatory drugs, including cyclo-oxygenase-2 inhibitors, in osteoarthritic knee pain: meta-analysis of randomised placebo controlled trials. *British Medical J.* 329:1317-. e) Rudic et al. 2005 COX-2-derived prostacyclin modulates vascular remodeling. *Circulation Research* 96:1240-.

16. Cancerutvecklingen kan ske i differentierade (utvecklade, specialiserade) somatiska (kroppss-) celler som genom dedifferentiering kan återskapa en stamcellslig förmåga att föröka sig^a. Utvecklingen av prostatacancer tycks överensstämma väl med denna modell^b. Enligt en alternativ modell sker cancerutvecklingen istället i somatiska stamceller (som blir så kallade cancerstamceller)^c. Denna modell verkar kunna beskriva utvecklingen av leukemi väl^d.

Cancerförloppet kan beskrivas med begreppen initiering, promotion och progression. Detta innebär en utveckling inkluderande initiala cellförändringar, tillväxt och celldelning oberoende av yttre signaler, förhindrande av apoptos, ökad tillväxttakt och adaptationsförmåga, dedifferentiering, utseendeförändringar, invasivitet och förmåga till metastasering. I vården använder man "TNM-systemet" för att noggrannare identifiera stadium av cancerutvecklingen.

Det finns olika teorier om vilka cellförändringar det är som initierar cancer:

Enligt den äldsta modellen, den *somatiska mutationsteorin* (SMT)^e förklarar mutationer initieringen av cancer, så ett carcinogen är något som framkallar mutationer. Det är främst mutationer i "onkogener" (gener som förknippats med cancerutveckling) eller "tumörrepressorgener" (gener som motverkar cancerutveckling) som är viktiga.

I en alternativ modell står istället kromosomerna i centrum, eller rättare sagt kromosomala abnormiteter, som är vanliga i cancerceller. Det kan röra sig om skadade kromosomer eller förändrat antal kromosomer (aneuploidi). Modellen kallas därför ofta *aneuploiditeorin*^f. Modellens förespråkare såg att cancerceller inte muterar mer frekvent än normala celler, men att de uppvisar fler kromosomala avvikelser och dessa uppstår i regel till följd av problem med gener som verkar för att behålla kromosomernas integritet under celldelningen. I ytterligare en modell initieras cancer av *epigenetiska förändringar*. Forskare har upptäckt konstig reglering av onkogener och tumörsuppressorgener i frånvaro av mutationer och ändrade metyleringsmönster i samband med cancer. Ett av de bästa tidiga tecknen på cancer är nämligen en global hypometylering av cancercellens DNA^g, vilket leder till att fler gener kan avläsas (till exempel onkogenerna) och även till en ökad instabilitet i kromosomerna. Vid ett för modellen avgörande experiment kunde man via epigenetisk intervention normalisera leukemiceller^h (se vidare om epigenetisk terapi nedanⁱ).

I den sista modellen som tas upp här är det istället *händelser utanför cellen* som initierar cancerutvecklingen. Cancer kan uppstå till följd av kraschade cell till cell interaktioner^j. Att omgivande celler spelar roll visar inte minst de försök där man transplanterat bröstcancerceller till normala celler och på så sätt fått cancercellerna att uppträda normalt igen^k. Den här modellen kan bättre förklara de fall av spontan återbildning av cancer som då och då sker. Kollaps av kommunikationen kan också kanske vara en mekanism för att skapa den globala hypometylering som förknippas med cancerceller.

Fotnot: a) Daley 2008 Common themes of dedifferentiation in somatic cell reprogramming and cancer. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 73: 171-. b) Schulz and

Hatina 2006 Epigenetics of prostate cancer: beyond DNA methylation. *J. Cellular and Molecular Medicine*. 10:100-. c) Tu et al. 2002 Stem-cell origin of metastasis and heterogeneity in solid tumours. *Lancet Oncology* 3:508-, Sales et al 2007 Stem cells and cancer: an overview. *Stem Cell Reviews* 3:249-, Trosko 2009 Review paper: cancer stem cells and cancer nonstem cells: from adult stem cells or from reprogramming of differentiated somatic cells. *Veterinary Pathology* 46:176-. d) Johnsen 2009 Cancer stem cells and the cellular hierarchy in haematological malignancies. *European J. Cancer* 45 (Suppl. 1): 194-. e) Curtis 1965 Formal discussion of: somatic mutations and carcinogenesis. *Cancer Research* 25:1305-. f) Duesberg 2005 Does aneuploidy or mutation start cancer? *Science* 307:41-. g) Gaudet et al. 2003 Induction of tumors in mice by genomic hypomethylation. *Science* 300:489-, Feinberg et al. 2006 The epigenetic progenitor origin of human cancer. *Nature Reviews Genetics* 7:21-. h) Lotem and Sachs 2002 Epigenetics wins over genetics: induction of differentiation in tumor cells. *Seminars in Cancer Biology* 12:339-. i) Allmänt epigenetisk terapi: Ganesan et al. 2009 Epigenetic therapy: histone acetylation, DNA methylation and anti-cancer drug discovery. *Current Cancer Drug Targets* 9:963-. Epigenetisk terapi mot cancer med 5-azacytidine (varumärke t ex Vidaza): ersätter cytidin i DNA:t (vid replikering). Har en kväve istället för kol på det ställe metylen binds in vid metylering. Detta medför att det inte blir någon metylering. SAHA (varumärke t ex Zolinza) – HDAC inhibitor – motverkar borttagande av expressionsbefrämjande histonacetylering. Exempelvis verkar den mot den lägre acetyleringen av tumörsuppressorgener associerade med bröstcancer (Lu et al. 2006 E2F-HDAC complexes negatively regulate the tumor suppressor gene ARHI in breast cancer. *Oncogene* 25:230-). j) se t ex Capp 2005 Stochastic gene expression, disruption of tissue averaging effects and cancer as a disease of development. *BioEssays* 27:1277-. k) Kenny and Bisell 2003 Tumor reversion: correction of malignant behavior by microenvironmental cues. *International J. Cancer* 107:688-.

17. LDL påverkar genom att inledningsvis förändra endotelets (blodkärlens inre lager av celler) genomsläpplighet och fästegenskaper. De vita blodkroppar som kallas monocyter ansamlas och transformeras till makrofager, som mumsar i sig LDL till den grad att de omvandlas vidare till *skumceller*. I detta skede utsöndras tillväxtfaktorer och proinflammatoriska ämnen, vilket leder till celltillväxt som ger en förtjockning av kärlväggen och ytterligare ansamling av skumceller och fetter från skumceller som genomgått nekros (celldöd). Med tiden förkalkas denna ansamling och blir hård (åderförkalkning). I det förträngda kärlet kan blodkroppar fastna lättare och orsaka blodpropp, vilken i sin tur exempelvis kan leda till hjärtinfarkt och (ischemisk) stroke (båda dessa innebär celldöd på grund av syrebrist).

18. Bakterier och inflammation

Inflammationsstatus i kroppen kan också påverkas av tarmfloran, genom att exempelvis påverka kvoten proinflammatoriska/antiinflammatoriska cytokiner. Detta kan ske via de korta fettsyrorerna bakterierna producerar av framförallt växtpolysackarider, som kan vara sammanlänkade på många olika sätt (vår egen repertoar av spjälkande enzymer

räcker inte till för att sönderdela dessa). Exempelvis kan den korta fettsyran smörsyra (butyrat) påverka cytokinproduktionen i vissa av våra immunförsvarsceller^a och påverka genuttryck via epigenetisk modifiering^b, som bland annat tros motverka tarmcancer^c. Smörsyra tillsammans med de andra vanliga korta fettsyror producerade av bakterier, propansyra (propionat) och ättiksyra (acetat), kan även dämpa inflammation via inbindning till så kallade G-proteinkopplade receptorer i tarmepitelet och den påverkan dessa har på cellens signalvägar^d. Dessa korta fettsyror verkar för övrigt också för att stärka detta tarmepitel och förhindra att proinflammatoriska substanser (exempelvis LPS, lipopolysackarider från bakterier) läcker igenom^a. En diet med högt fettinnehåll har associerats med sådant läckage, vilket kanske kan bero på fiberbristen, och ökad inflammation har kopplats till ökad insulinresistens^e. Existensen av det här sambandet stöder inte användandet av LCHF-diet (lågt innehåll av kolhydrater och en stor mängd fett från engelskans low carb high fat) vid diabetes (om denna innebär en kraftig reduktion av fibrer i kosten), men behöver å andra sidan inte heller utesluta möjligheten att fördelarna med denna diet överväger för en del personer (personer med typ 2 diabetes gynnas av en sådan diet enligt en rapport från Statens beredning för medicinsk utvärdering men resultat om effekter på lång sikt saknas). <http://www.sbu.se/matviddiabetes>

Fotnot: a) Kau et al. 2011 Human nutrition, the gut microbiome and the immune system. *Nature* 474:327-.. b) Tremaroli and Bäckhed 2012 Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. *Nature* 489:242-. c) Russel et al. 2013 The gut microbial metabolome: modulation of cancer risk in obese individuals. *Proceedings of the Nutrition Society*. 72:178-. d) Shanahan 2012 The gut microbiota-a clinical perspective on lessons learned. *Nature Reviews Gastroenterology and Hepatology* 9:609-. e) Scarpellini et al. 2010 Gut microbiota and obesity. *Internal and Emergency Medicine*. 5:553-.

19. Systembiologi och omiker:

Uppskalning av gentester

Samband mellan snippar och den fenotyp man vill studera (exempelvis en sjukdom som diabetes eller en sjukdomsmarkör som högt blodtryck) kan undersökas i stor skala eftersom kostnaderna för så kallade DNA-chip till att detektera snippar har minskat rejält. DNA-chip, även kallade mikromatriser, möjliggör samtidig detektion av tusentals gener. Så istället för att undersöka associationer mellan förändringar av en gen och en sjukdom skannar man av hela arvsmassan hos individer på alla snippar man hittat i mänskliga genomet. Över 16 miljoner snippar är identifierade i människans genom och runt 1500 av dem har kunnat knytas till kroppsliga effekterⁱ. Detta kallas GWAS (*genome-wide association studies*). Man har på detta sätt kunnat identifiera en mängd nya gener med variationer som kan kopplas till olika sjukdomar med hjälp av statistik. Sedan den första vågen av GWAS-studier kring 2007 har var och en av tillstånd som fetma, typ-2 diabetes och hjärt- och kärlsjukdom kunnat statistiskt kopplas till 30-50 gener (och deras varianter)ⁱⁱ. Dessa statistiska associationer används sedan för att kalkylera sjukdomsrisk vid individuella gentest. Analysen av snippar i GWAS-studierna

kommer troligen att ersättas av full sekvensering i takt med att den blir billigare, vilket kommer göra fler genetiska variationer mer synliga, till exempel variationer i kopienummer. Full sekvensering av arvsmassan hos föräldrar och deras barn har redan avslöjat en mutationstakt på cirka 60 nya mutationer per generation. Detektion av nya snippar och nya sjukdomar är ett arbete utan slutⁱⁱⁱ.

Nya perspektiv

Den uppskalning och inriktning på att samla kopiösa mängder data, som vi sett i exemplet GWAS ovan, är också en trend när andra saker ska mätas och undersökas. Det är här det relativt nya och gränsöverskridande forskningsområdet kallat systembiologi träder in^{iv}. Inom systembiologin försöker man använda matematiska och datorbaserade modeller för att försöka förstå komplexa biologiska system utifrån ett mer holistiskt perspektiv jämfört med traditionell reduktionistisk vetenskap. Den reduktionistiska metoden, som den moderna vetenskapen fram till dags dato helt dominerats av, bygger på att reducera helheter till byggstenar och studera isolerade detaljer för att på så sätt utröna underliggande strukturer och mekanismer. Man utgår således från att helheten är summan av delarna och att helheten kan förutsägas utifrån delarna. Ur ett holistiskt perspektiv däremot, kan inte delar av ett system på ett bra sätt studeras isolerade då de i sin rätta miljö påverkas av andra delar av systemet. Det senare låter ju naturligtvis rimligt, men att i praktiken studera delar av ett system i sin rätta miljö är ofta inte så enkelt: särskilt inte om vi pratar om molekylernas lilla värld. Ett reduktionistiskt perspektiv har i regel varit det enda möjliga. Den bilden håller på att förändras: Tekniska landvinningar i tekniker såsom NMR (nukleär magnetisk resonansspektrometri), MS (masspektrometri) och mikromatriser (DNA-chip) medger samtidig mätning av en stor mängd olika ämnen. Detta, kombinerat med en snabbt växande datakraft och matematiska modeller, kan ge en bättre inblick vad gäller interaktioner mellan molekyler i sin rätta miljö och således ett mer holistiskt perspektiv.

Efter en mycket framgångsrik era av reduktionism där världen sönderdelats i allt mindre delar som isolerat kartlagts i allra minsta detalj står nu vetenskapen på tröskeln till att bygga upp världen igen.

Det levande biologiska systemet, till exempel en cell, är alltså i fokus inom systembiologin. Det studeras genom att försöka mäta så många saker som möjligt parallellt på olika systemnivåer, till exempel gennivå eller transkriptionsnivå, och sedan görs matematiska modeller som prövas genom nya experimentella mätningar.

Ett så pass komplext system som cellen med sin enorma mångsidighet i fråga om molekylära strukturer och interaktioner borde egentligen vara helt omöjligt att beskriva, men det finns en övergripande hierarkisk ordning som underlättar detta arbete: man kan tala om olika nivåer i cellen och andra komplexa system, vilket illustreras väl i en ofta citerad historia:

Det var en gång två urmakare, vid namn Hora och Tempus, som tillverkade exklusiva armbandsur. Båda ansågs mycket duktiga så deras telefoner ringde ofta när ständigt nya kunder hörde av sig. Det var emellertid endast Hora som lyckades med affärerna, medan Tempus blev allt fattigare och förlorade till slut sin uraffär. Hur kommer detta sig? Klockorna urmakarna tillverkade bestod av 1000 delar var. Tempus konstruerade sina

klockor bit för bit och i ett enda flöde, så när han blev tvungen att lägga ifrån sig en ofärdig klocka – för att exempelvis svara i telefonen – föll konstruktionen isär och han fick börja om från början igen. Ju mer kunderna tyckte om hans klockor och ringde honom, desto mindre tid hade han för att färdigställa en klocka. Klockorna Hora tillverkade var lika komplexa som de Tempus gjorde, men han konstruerade dem på så sätt att han satte ihop mindre konstruktioner om tio bitar var. Tio av dessa stabila del-konstruktioner kunde sedan plockas ihop för att få en större del-konstruktion och tio av de senare tillsammans utgjorde en hel klocka. När Hora stördes av telefonen i arbetet förlorade han därigenom inte så mycket tid och arbetstiden per konstruerad klocka blev en bråkdel jämfört med den Tempus behövde^v.

Likt Hora i historien om de två urmakarna verkar evolutionen använda sig av små stabila funktionella enheter (moduler) av proteiner som dessutom kan användas i flera olika sammanhang. Detta underlättar en snabb uppbyggnad av cellen och gör den och dess ingående strukturer samtidigt lättare att beskriva.

OMIKerna

Systembiologiska ansatser till att beskriva cellens och våra kroppars kemi finns i OMIKerna (från ändelsen *omik*, engelska: *OMICs*), till exempel transkriptomik, proteomik och metabolomik där systemnivåerna transkriptomet (det som transkriberas från genomet), proteomet respektive metabolomet (metaboliter i en organism) studeras. När begreppet nutrigenomik används avses ofta de här tre OMIKerna inom nutritionsforskningen. Dessa OMIK-plattformar förväntas identifiera fler ämnen i vår mat som har betydelse för den biologiska aktiviteten och för molekylära reaktionsvägar i kroppen. Redan nu har det identifierats mängder av nya markörer kopplade till sjukdom och hälsa med hjälp av den här tekniken. Så ifrån att länge ha mätt enstaka markörer såsom CRP (C-reaktivt protein som en markör av infektion och inflammation) och LDL-kolesterol (som vid förhöjda nivåer innebär en ökad risk för hjärt-kärlsjukdom) kommer det framöver att handla om studier av mönster där hundratals markörer ingår. För att underlätta kopplingen mellan dessa markörmönster och faktiska hälsoeffekter kan kanske självlärande datoriserade matematiska modeller, artificiella neurala nätverk, komma till användning^{vi}. Nedan följer några OMIKer som används inom livsmedelsforskningen.

(Nutri-)Transkriptomik är den av OMIKerna som använts flitigast inom forskningen och innebär analys av RNA-sammansättningen i ett prov en viss tidpunkt (mikromatriser¹⁹⁶ används för detta).

(Nutri-)Proteomik innebär att mängden och typerna av proteiner i ett prov bestäms. Känsligheten är begränsad och det är dyrt, men proteomik är bra för att hitta nya biomarkörer i både människan, värden, (inklusive tarmfloran) och maten vi äter.

(Nutri-)Metabolomik är studier av små molekyler som ingår i ämnesomsättningen (metaboliter) i ett prov, ofta begränsat till en speciell del av ämnesomsättningen eller en specifik grupp av metaboliter. Det finns cirka 8000 beskrivna metaboliter i människor^{vii}. Om något är på tok med metabolismen i kroppen återspeglas detta i regel tidigt i form av

koncentrationsförändringar av metaboliter i kroppen. Även små omätbara förändringar av proteomet kan ofta ge detekterbara skillnader i metabolomet. Efterhand kommer allt fler karaktäristiska mönster av koncentrationsförändringar bland en växande skara av uppmätta metaboliter kunna kopplas till tidiga skeden av sjukdomar.

(Nutri-)Epigenomik, det vill säga epigenetiska förändringar i epigenomet kopplade till variationer i dieten, har hittills studerats ganska lite. Intressanta förändringar i epigenomet till följd av fasta (metylering av vissa gener) har det dock rapporterats om.

Data från OMIKerna kan användas för att skapa datorgenererade nätverk för att få en bättre inblick över interaktionerna i cellen (eller vävnaden, kroppen) och dessa kommer utgöra basen i vad som kallas *nätverksmedicin*^{viii,ix}.

20. Nätverksmedicin

Data från OMIKerna kan användas för att skapa datorgenererade nätverk (komplexa exempel finns i skrivande stund [på YouTube](#)) för att få en bättre inblick över interaktionerna i cellen (vävnaden och kroppen) och dessa kommer utgöra basen i vad som kallas nätverksmedicin^{a,b}. Utarbetade nätverksmodeller kommer således fungera som en brygga mellan floder av OMIK-data och implementering inom medicinen (så kallad maskinbaserad inlärning kan också finna en tillämpning här). Nätverk med noder representerande exempelvis gener, proteiner eller sjukdomstillstånd och med bågar (edges) representerande exempelvis fysiska interaktioner eller korrelationer i nivåer av genexpression, kan skapas med diverse dataprogram/matematiska modeller direkt från OMIK-data och/eller med input i form av kunskap från den vetenskapliga litteraturen. Det arbetas nu med att integrera data från olika OMIK-plattformar och skapa nätverk som förhoppningsvis synliggör nya viktiga samband mellan molekyler inom en cell eller inom en vävnad och faktiskt också samband mellan molekyler i olika organ i kroppen. Redan idag talas det om nätverk av koordinerad genexpression mellan olika vävnader och dess betydelse för komplexa sjukdomar, exempelvis har man funnit att många DNA-sekvensvarianter knutna till typ 2 diabetes bara verkar utöva sitt negativa inflytande i personer med BMI över 26 och på motsvarande sätt tycks vissa DNA-sekvensvarianter länkade till högt blodtryck enbart vara skadliga vid låg fysisk aktivitet^b.

Fotnot: a) Silverman and Loscalzo 2012 Network medicine approaches to the genetics of complex diseases. *Discovery Medicine*. 14:143-. b) Schadt and Björkegren 2012 NEW: network-enabled wisdom in biology, medicine, and health care. *Science Translational Medicine* 4:115rv1.

21. En roll för en grupp proteiner kallade sirtuiner (som ofta deacetylerar andra proteiner) vid livsförlängning identifierades först i jäst kort före millennieskiftet. Inaktivering av genen för jäst-sirtuinen kallad Sir-2 ledde till kortare liv för jästcellerna, medan överuttryck av genen ledde till längre liv^a. Liknande resultat efter överuttryck av motsvarande gen i nematoden (rundmasken) *Caenorhabditis elegans* och bananflugan *Drosophila melanogaster* har rapporterats, men dessa resultat har senare ifrågasatts^a. Det finns 7 olika sirtuiner i däggdjur kallade SIRT 1-7 och bland dem är SIRT 1 och SIRT 3 mest lika Sir-2 i jäst. SIRT 1, som finns i cellkärna och cytosol, verkar bland annat

genom att öka expressionen av antioxidantzymer, minska inflammation (via nedreglering av transkriptionsfaktorn NfκB), öka lipidnedbrytning och mitokondriell aktivitet. SIRT 3, som finns i mitokondrierna, aktiverar också antioxidantzymer och andningskedjan. Knock-out studier i möss har visat att kalorirestriktionen inte längre medför längre livslängd när SIRT 1 är inaktiverad och SIRT 3 tycks vara nödvändig för att kalorirestriktionen ska minska oxidativ stress. Vidare leder inaktivering av SIRT 6 (finns i cellkärnan) till möss med defekt kapacitet till DNA-reparation och förtida död. Överuttryck av SIRT 6 i möss leder däremot till längre liv (cirka 15 procent) och mer SIRT 1 och SIRT 3 verkar också ha gynnsamma effekter på överlevnaden.

Fotnot: a) Merksamer et al. 2013 The sirtuins, oxidative stress and aging: an emerging link. *Aging* 5:144-.

22. Viktig nedbrytning

Det är viktigt att få bort skadade eller felaktigt veckade proteiner eftersom dessa kan ställa till med mycket problem i cellen; ibland kan dock felaktigt veckade proteiner förmås anta sin rätta tredimensionella struktur med hjälp av proteiner kallade chaperoner. Dessa assisterar även vid veckningen av många nybildade proteiner. Avlägsnandet av förbrukade proteiner kan ju knappast gå till på så sätt att proteintuggande proteaser släpps ut i cellen utan kontroll eftersom detta skulle äventyra även de proteiner som fortfarande behövs, så därför finns proteasomer (och även speciella organeller kallade lysosomer, se nedan). Proteasomerna är stora tunnformade proteinkomplex med det proteinuppslitande maskineriet väl dolt på insidan. In till köttkvarnen tas endast proteiner märkta med en flagga bestående av molekylen ubiquitin. Flaggan fästs på förbrukade proteiner av ett litet gäng andra proteiner som ständigt skannar av proteinbeståndet i cellen. Lysosomer är vesiklar (membranpåsar) innehållande enzymer som bryter ned cellens makromolekyler. Lysosomer är inblandade i nedbrytningsprocesser kallade autofagi. Dessa processer finns i flera varianter: Lysosomerna kan själva "svälja" delar av sin omgivning (mikroautofagi) eller sammansmälta med vesiklar innehållande oönskade proteinaggregat, s k autofagosomer (makroautofagi). Upptaget av proteiner som ska brytas ned kan också assisteras av chaperoner (chaperon-medierad autofagi, CMA).

23. Adiponektin verkar, exempelvis i muskelceller, via energisensorn AMP-kinas samt orsakar högre halter SIRT 1 och dessa aktiverar tillsammans ett protein kallat PGC1-α (peroxisom proliferator aktiverad receptor γ koaktivator 1-α) som i sin tur påverkar en annan central aktör inom energibalans, nämligen PPARγ (peroxisom proliferator aktiverad receptor γ)^a. PGC1-α reglerar även produktionen av mitokondrier, vilket innebär att adiponektin verkar för högre halter mitokondrier och effektivare produktion av ATP. Sammantagna kan dessa samband ge en förunderlig effekt: I kapitel 2 nämndes att personer som lider av fetma ganska ofta lider av vitamin- och mineralbrist, men enligt ovanstående samband kan de också, skenbart helt emot sunt förnuft, faktiskt lida av energibrist, det vill säga den lättillgängliga energiformen ATP^b. Sambanden låter mer rimliga om vi betänker att personer som lider av fetma inte utmärker sig genom fysisk uthållighet och får ofta passa sig för att inte överanstränga hjärtat. Nedregleringen av

mitokondrieproduktionen eldas dessutom på, via cytokinen TNF- α , genom den kroniska inflammationen som associeras med fetma^c. Lyckligtvis kan man både öka adiponektinfrisättning och sänka TNF- α produktion och därigenom öka mitokondrieproduktionen genom, ja just det: kalorirestriktion.

Fotnot: a) Costa et al. 2010 Nutritional genomics era: opportunities toward a genome-tailored nutritional regimen. *J.Nutritional Biochemistry*. 21:457-. b) Wlodek and Gonzales 2003 Decreased energy levels can cause and sustain obesity. *Journal of Theoretical Biology* 225:33-, Wisloff et al. 2005 Cardiovascular risk factors emerge after artificial selection for low aerobic capacity. *Science* 307:418-. I den senare studien kunde ökad risk för kardiovaskulär sjukdom/metabolt syndrom framkallas i råttor genom att selektera dem med sämre fysisk uthållighet (konditionsförmåga). Efter 11 generationer var skillnaden mot råttor som tvärtom selekterats för uthållighet vid löpning påtagliga vad gäller sjukdomsmarkörer och mitokondriell funktion. c) Valerio et al. 2006 TNF-alpha downregulates eNOS expression and mitochondrial biogenesis in fat and muscle of obese rodents. *J. Clinical Investigation*. 116:2791-.

24. Åldrandets nätverk

Det molekylära maskineriet för tillväxt, och troligen åldrande, består av en väv av olika signalkedjor associerade med åldrande och bland dem finns en involverande insulin/IGF-1 (insulinlik tillväxtfaktor). IGF-I är en strukturellt lik systemmolekyl till insulin som agerar tillväxthormon. Inbindningen av IGF-I till sin receptor (som är lik insulinreceptorn) orsakar samma signalkedjor som av insulinets inbindning till sin receptor. De signalkedjor och effekter som nämndes i kapitel 4 är dock bara en del av verkligheten: exempelvis kan den kinas kallad Akt (insulinkaskad-figuren kapitel 4) också påverka andra molekylkomponenter som är viktiga för åldrandeprocessen. Till dessa hör en kinas kallad TOR^a, som reglerar tillväxt och agerar sensor för tillgången på näringsämnen, och en grupp transkriptionsfaktorer kallade FOXO^b, som påverkar produktionen av antioxidantzymer och reglerar cellcykel, differentiering, DNA-reparation och apoptos. Vid kalorirestriktion uppregleras bland andra energisensorn AMP-kinas (nämndes i kapitel 7) som i sin tur nedreglerar TOR och den senare nedregleras ytterligare genom att insulin/IGF-I signaleringen motverkas av kalorirestriktionen. Sirtuinen SIRT 1 uppregleras också vid kalorirestriktion och den påverkar i sin tur inte bara histoner som nämndes ovan: den har en stor mängd olika molekylära måltavlor, bland andra de ovannämnda FOXO, vilka i sin tur influerar en mångfald av processer: socker- och lipid-nedbrytning/-produktion, andningskedjan, autofagi med mera. Tillsammans utgör alla komponenter som påverkar åldrandet ett underbart komplext nätverk som förhoppningsvis kommer att förstås bättre av vetenskapen i framtiden.

Fotnot: a) (m)TOR = (mammalian) target of rapamycin. b) FOXO = Forkhead box O.

-
- ⁱ Rubio-Aliaga 2012 Biomarkers of nutrient bioactivity and efficacy: a route toward personalized nutrition. *J. Clinical Gastroenterology*. 46:545-.
- ⁱⁱ Qi 2012 Gene-Diet Interactions in Complex Disease: Current Findings and Relevance for Public Health. *Current Nutrition Reports*. 1:222-.
- ⁱⁱⁱ Kere 2010 Genetics of complex disorders. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 396:143-.
- ^{iv} Läsavert om systembiologi: Denis Noble 2006 "The Music of Life" Oxford University Press ISBN: 978-0-19-922836-2
- ^v Simon 1962 The architecture of complexity *Proceedings of the American Philosophical Society*. 106:467-.
- ^{vi} Nagahama et al. 2011 Efficient approach for simultaneous estimation of multiple health-promoting effects of foods. *J. Agriculture and Food Chemistry*. 59:8575-.
- ^{vii} se Human metabolome database, <http://hmdb.ca/>
- ^{viii} Silverman and Loscalzo 2012 Network medicine approaches to the genetics of complex diseases. *Discovery Medicine*. 14:143-.
- ^{ix} Schadt and Björkegren 2012 NEW: network-enabled wisdom in biology, medicine, and health care. *Science Translational Medicine* 4:115rv1.