

Slutrapport – Jon Lundberg

Darienummer: 2022-14

Projekttitel: Samspelet mellan kost och bakterier i kontroll av diabetes typ 2

Kontaktperson: Professor Jon Lundberg MD, PhD. Institutionen för Fysiologi och Farmakologi, Karolinska Institutet. Biomedicum B5, Solnavägen 9, 171 63, Stockholm.

Projektsammanfattning:

Bakgrund: Kvävemonoxid (NO) är en signalsubstans som bildas av enzym, sk. NO-syntas i våra blodkärl och i andra vävnader. Minskat NO är en viktig orsak till hjärtkärlsjukdom. Vi har funnit en alternativ bildningsväg för NO i kroppen där jonerna nitrat och nitrit reduceras till NO. Bakteriefloren i munnen spelar en överraskande nyckelroll i denna process. NO produktion kan stimuleras genom tillförsel av nitrat via dieten med gynnsamma effekter på metabolism och hjärtkärlfunktion

Syfte/Metod: Vi studerar betydelsen av hur samspelet mellan kost och bakterier påverkar uppkomst av metabola störningar såsom diabetes typ-2. Specifikt tittar vi på hur manipulering av munnens bakteriefloren kan påverka bildningen av NO-relaterade bioaktiva substanser samt om viss kost kan stimulera till ökad bildning av bioaktiva NO-relaterade substanser med antidiabetiska effekter.

Huvudresultat: Vi visar att behandling med helt vanlig antiseptisk munsköljvätska hos möss som väntat slår ut munhålebakterier, men också leder till förändrad bakteriefloren i tarmen. Upprepad daglig behandling med denna munsköljvätska minskade fett- och proteinupptag i tarmen på så sätt att dessa djur får mindre diabetesliknande symptom (mindre kroppsfett, högre insulinkänslighet) i respons till en onyttig s.k. Western diet med högt innehåll av socker och fett. Dessa resultat var mycket oväntade men samtidigt väldigt intressanta. Intresset för vår studie återspeglas inte minst i att vår artikel rankades bland de 100 mest nedladdade och lästa artiklarna av totalt 35 000 i samma tidskrift under 2024. Vi går nu vidare för att se hur munhållans bakterier påverkar tarmfloran och absorption av näringsämnen. Vänligen se **Publikation a** (*lista nedan*).

I det kanske mest spännande projektet visar vi att en substans kallad di-nitrosyl iron complex (DNIC), som man tidigare trodde bildas av speciella enzym i vävnader, istället helt bildas av bakterier i magtarmkanalen. Vi har bland annat sett att bakteriefria djur (*germfree*) helt saknar förmåga att bilda DNIC. Vi har även kartlagt i detalj hur DNIC bildas och substraten är oorganiskt nitrat och icke-hemjärn från kosten. Bakterierna har sen ett enzym, nitratreduktas som katalyserar bildningen av DNIC i tarmen. Matar vi möss med järn tillsammans med nitrat ökar bildningen av DNIC och mest remarkabelt kan vi visa att detta ger ett kraftigt skydd mot kostorsakade (s.k. Western diet) metabola störningar (exv. övervikt, insulinresistens, högt blodtryck, och fettlever). Vänligen se **Publikation g** (*lista nedan*).

Betydelse: Nötter och bladgrönsaker har i stora epidemiologiska studier visat sig skyddande mot flera folksjukdomar inklusive hjärtkärlsjukdom och diabetes typ 2. De bakomliggande mekanismerna är dock fortfarande oklara. Vi hoppas kunna visa att nitrat ensamt eller i kombination med icke-hemjärn är en viktig orsak till grönsakers (stor nitratkälla) och nötters

(stor järnkälla) positiva hälsoeffekter. Ur detta kan sen växa fram helt nya naturliga läkemedel och kosttillskott för att förebygga och behandla diabetes och associerade hjärtkärlproblem.

Framtida planer: I en planerad uppföljande humanstudie avser vi att undersöka bildningen av DNIC efter dietär supplementering med järn och/eller nitrat. Samtidigt kommer vi att studera potentiella gynnsamma fysiologiska effekter, såsom blodtryckssänkning och förbättrad glukos- och insulinhomeostas, samt korrelera dessa med DNIC-bildningen. Om studiens resultat bekräftar vår hypotes – att kombinationen av nitrat och järn leder till DNIC-bildning med mätbara fysiologiska effekter – planerar vi att genomföra en större randomiserad, placebokontrollerad studie (RCT) på patienter med övervikt, typ 2-diabetes och högt blodtryck. Dessa studier, särskilt RCT:n med patienter, är kostsamma, och vi behöver därför söka ytterligare forskningsmedel. Vi hoppas att Ekhgastiftelsen ser positivt på vårt projekt och våra preliminära fynd och vill vara med och delfinansiera de planerade fortsättningsprojekten.

Publikationer:

- a. Antibacterial mouthwash alters gut microbiome, reducing nutrient absorption and fat accumulation in Western diet-fed mice. Carvalho LRR, Boeder AM, Shimari M, Kleschyov AL, Esberg A, Johansson I, Weitzberg E, Lundberg JO, Carlstrom M. *Sci Rep*. 2024 Feb 18;14(1):4025.

Kommentar: Här visar vi att behandling med helt vanlig antiseptisk munsköljvätska hos möss påverkar fett- och protein-upptag i tarmen på så sätt att dessa djur får mindre diabetesliknande symptom (mindre kroppsfett, högre insulinkänslighet) i respons till en onyttig s.k. Western diet med högt innehåll av socker och fett. Dessa resultat var mycket oväntade men väldigt intressanta. Vi går nu vidare för att se hur munhålans bakterier påverkar tarmfloran och absorption av näringsämnen.

- b. Stimulation of Erythrocyte Soluble Guanylyl Cyclase Induces cGMP Export and Cardioprotection in Type 2 Diabetes. Jiao T, Collado A, Mahdi A, Tengbom J, Tratsiakovich Y, Milne GT, Alvarsson M, Lundberg JO, Zhou Z, Yang J, Pernow J. *JACC Basic Transl Sci*. 2023 Aug 21;8(8):907-918.
- c. NO-ferroheme is a signaling entity in the vasculature. Kleschyov AL, Zhuge Z, Schiffer TA, Guimarães DD, Zhang G, Montenegro MF, Tesse A, Weitzberg E, Carlström M*, Lundberg* JO. *Nature Chem Biol*. 2023 Oct;19(10):1267-1275. * shared senior authors.
- d. Hypoxic erythrocytes mediate cardioprotection through activation of soluble guanylate cyclase and release of cyclic GMP. Yang J, Sundqvist ML, Zheng X, Jiao T, Collado A, Tratsiakovich Y, Mahdi A, Tengbom J, Mergia E, Catrina SB, Zhou Z, Carlström M, Akaike T, Cortese-Krott MM, Weitzberg E, Lundberg JO*, Pernow J*. *J Clin Invest*. 2023 Sep 1;133(17):e167693. * shared senior authors.

Kommentar: En serie på tre arbeten i högprofilerade tidskrifter där vi visar att den röda blodkroppen exporterar skyddande NO bioaktivitet till hjärtat. Det sker delvis i en helt ny form av NO nämligen NO bundet till en heme-grupp (NO-heme). Vi tror att mekanismen bakom nitrat i grönsaker och dess effekter som vi ämnar studera i huvudstudien på diabetiker faktiskt går via den röda blodkroppen. Nitrat bildar fört nitrit som går in i den röda blodkroppen och bildar NO, som sen bildar heme-NO som i sin tur aktiverar lösligt guanylylcyclas inne i blodkroppen. Det

cGMP som då bildas exporterats till hjärtmuskeln som då skyddas mot ischemi-reperfusionsskada.

- e. Nitric oxide signaling in health and disease. Lundberg JO, Weitzberg E. Cell. 2022 Aug 4;185(16):2853-2878.
- f. Nitric Oxide Signaling and Regulation in the Cardiovascular System: Recent Advances. Carlstrom M, Weitzberg E, Lundberg JO. Pharmacological Reviews (*provisionally accepted for publication, 2024-05-20*)
- g. Gut microbiota generate dinitrosyl-iron complexes with cardiovascular and metabolic benefits. **Manuscript submitted under review.** Andrei L. Kleschyov, Miho Shimari, Tomas A. Schiffer, Sander van Riet, Gianluigi Pironti, Zhengbing Zhuge, Drielle D. Guimarães, Gaia Picozzi, Chiara H. Moretti, Lucas R.R.A. Carvalho, Carina Nihlén, Magnus Ingelman-Sundberg, Eddie Weitzberg, Jon O. Lundberg*, Mattias Carlström* (*shared senior authors).

Kommentar: Här visar vi att nitrat och järn ombildas av magtarmkanalens vanliga bakterier till sk DNIC, NO-liknande substanser med kraftigt antidiabetiska effekter.