

Tiamin och tiaminbrist I vårt ekosystem

Inledning och bakgrund

För ungefär 100 år sedan upptäckte man någonting i vår föda som är mycket viktigt för hälsan, eftersom man blir väldigt sjuk när just detta fattas i maten. I en av de första studierna som ledde fram till denna upptäckt fick duvor äta polerat ris, och just det som polerats bort verkade innehålla det som var viktigt för hälsan. Ämnet kunde isoleras och kallades tiamin, eftersom det innehöll svavel (*theion* på grekiska). Ett annat tidigt namn var aneurin, då man även observerade att ämnet var mycket viktigt för olika neurologiska funktioner. Så småningom blev det också benämnt vitamin B₁, då man insåg att det var ett av de först upptäckta vattenlösliga vitaminerna som människor och djur behöver få i sig via födan. Trots den nya kunskapen fortsatte man att konsumera polerat ris på vissa platser i Asien fram till i mitten på 1900-talet, vilket från och till orsakade tiaminbrist hos människor. Bristsjukdomen kallades i detta sammanhang för beriberi.

Symptombilden vid tiaminbrist är mycket bred och inkluderar effekter på nervsystemet, störningar i flera organ (inklusive hjärt- och kärlförändringar), försämrad reproduktion samt ibland undernäring både hos vuxna individer och deras avkomma. Än idag gör man nya upptäckter av hur olika biologiska system i människors och andra djurs kroppar påverkas negativt av just tiaminbrist. Tiaminet spelar en mycket central roll i våra celler. Idag känner vi till fem olika, helt livsnödvändiga enzymer, som alla behöver tiamin för att fungera och som därmed finns i alla levande celler. Dessa enzymer utför de allra mest centrala kemiska reaktionerna i ämnesomsättningen och är absolut nödvändiga för att levande organismer ska överleva och må bra.



En laxhona och hane som har dött före leken av tiaminbristen primärt. Ett snitt i honans buk visar här tydligt att hennes ägg inte har gått till artens fortlevnad Foto: Mattias Holmqvist

För att inse tiaminets centrala roll i kroppen måste man känna till de metaboliska huvudvägar där de tiaminberoende enzymerna ingår. Ett av dessa enzymer är transketolas, som är aktivt i den så kallade hexosmonofosfat-shunten, som är en viktig reaktionsväg till och från glykolysen. I hexosmonofosfat-shunten produceras: byggstenar för syntes av nukleinsyror (DNA och RNA); NADPH för att skydda cellen mot oxidation och för att möjliggöra syntes av fetter; samt olika monosackarider för vidare metabolism i glykolysen. Slutprodukten i glykolysen är pyruvat, som måste tas om hand av ett annat tiaminberoende enzym, pyruvatdehydrogenas. Detta enzym omvandlar pyruvat till acetyl-CoA, som går vidare till en tredje reaktionsväg, citronsyracykeln, också ofta kallad Krebs cykel. Hämning av pyruvatdehydrogenas vid tiaminbrist leder till att pyruvat istället omvandlas till giftig mjölksyra, som är en trolig orsak till de hjärnsador som tiaminbrist ofta leder till. I citronsyracykeln finns ett tredje tiaminberoende enzym, α -ketoglutaratdehydrogenas, vars hämning vid tiaminbrist minskar produktionen av NADH, som är en drivande molekyl i andningskedjan (cellandningen), dvs. förmågan att utnyttja syret i luften vi andas. När det blir brist på NADH försöker cellen att uppreglera produktionen av denna molekyl genom så kallad β -oxidering (nedbrytning) av fetter. I en normal cell skulle detta fungera utmärkt, medan det vid tiaminbrist bara leder till att fetterna bryts ner. Detta är precis vad som nu observeras hos flera arter av vilda djur i fält. Ett fjärde tiaminberoende enzym behövs för att metabolisera tre specifika aminosyror (valin, leucin och isoleucin). Eftersom dessa och andra aminosyror (vanligtvis 20 olika) är byggstenar i alla proteiner, så kommer även en hämning av detta enzym att leda till kraftigt störd ämnesomsättning. Förändrade proteinkoncentrationer i cellerna har observerats vid tiaminbrist. Det femte tiaminberoende enzymet behövs för så kallad α -oxidering av vissa fetter, som bildas framförallt vid nedbrytningen av klorofyll. Hämning av detta enzym leder till anrikning av fytansyra, som då är mycket giftig. Sammanfattningsvis leder alltså brist på tiamin till allvarliga störningar i ämnesomsättningen av kolhydrater, fett och protein, dvs. de mest grundläggande ämnena i den levande cellen.

Döda laxyngel ledde till att tiaminbrist upptäcktes i miljön

I början på 1990-talet observerades en omfattande dödlighet hos laxyngel i flera svenska älvar. Undersökningar inleddes då för att ta reda på orsaken, och 1994 upptäckte man att laxynglen led av brist på tiamin.

Det var inte bara i de svenska älvarna som dödligheten bland laxyngel var hög. Liknande dödlighet förekom även hos vandrande laxfiskar i Nordamerika. Kanadensaren John D. Fitzsimons upptäckte 1994 att ägg och yngel hade tiaminbrist, och att det var detta som orsakade en dödlig bristsjukdom. Flera oberoende forskare runt Östersjön kunde kort därefter konstatera att motsvarande brist på tiamin förekom även i Östersjöregionen hos lax och havsöring. Både i Östersjöregionen och vid flera av de Stora Sjöarna på den nordamerikanska kontinenten erinrade sig forskarna att typiska symptom för denna dödlighet hade börjat dyka upp redan 1974. Sjukdomen fick namnet M74 i Östersjöregionen, en förkortning av Miljöfaktor och året 1974, eftersom man misstänkte att problemet var miljöbetingat.

Termen M74 står för andelen honor vars avkomma dör mycket tidigt under utvecklingen, dvs. som embryo eller gulesäcksyngel. Det är viktigt att inse att denna dödlighet endast utgör toppen på ett isberg, då det är välkänt att tiaminbrist även har många negativa hälsoeffekter som inte är direkt dödliga. Frånvaro av dödlighet innebär alltså inte nödvändigtvis frånvaro av tiaminbrist. Även de icke direkt dödliga effekterna av tiaminbrist leder till att populationer efterhand minskar och försvinner. Att det tog mer än 20 år av episodiskt förekommande dödlighet innan forskarna upptäckte att detta berodde på tiaminbrist, visar hur lite vi förstår av de kemiska skeendena i vår natur. När det gäller fåglar från olika arter tog det mer än 35 år innan tiaminbristen påvisades säkert. Typiska symptom hos fåglar observerades kanske första gången 1973 i södra Sverige, men det dröjde ända till 2009 innan dessa säkert, genom kemiska och biokemiska analyser, kunde knytas till tiaminbrist.

Fram till och med 1960-talet byggdes många svenska älvar ut med kraftsverksdammar, vilket förstörde möjligheterna för den vandrande fisken att leka och reproducera sig naturligt. Eftersom man ville behålla laxstammarna från dessa älvar i havet, byggdes så kallade kompensationsodlingar en bit upp från älvmynningen för att föda upp yngel av vandrande lax och havsöring för utplantering. Det var i dessa odlingar man upptäckte att embryona i äggen eller de kläckta ynglen dog. Det är således egentligen till stor del en slump att man över huvud taget upptäckte tiaminbristen i miljön. Det är också intressant att notera att man i slutet på 1980-talet började observera minskande populationer även hos många andra äggläggande djurarter, även om man då inte kopplade detta till tiaminbrist. Det är först på senare tid som bilden har vuxit fram att tiaminbrist troligtvis är en starkt bidragande orsak till flera av de populationsminskningar som vi känner till idag.

Stort spektrum av förväntade effekter vid tiaminbrist

Brist på tiamin resulterar således i ett helt spektrum av allvarliga störningar. En del av dem är uppenbara och lätta att diagnosticera, medan andra är mer subtila och kan misstas för andra störningar. Speciellt gäller det de så kallade sekundära effekterna av tiaminbrist, varav en är kraftigt nedsatt motståndskraft mot bakterier, virus, svamp och parasiter. Andra sekundära effekter är minnesstörningar, beteendestörningar och inlärningssvårigheter, försämrad orienteringsförmåga, minskad temperaturregleringsförmåga, ansträngd andhämtning och försämrade sinnesfunktioner såsom lukt, syn och hörsel. Djuren drabbas alltså hårt redan i tidiga stadier av tiaminbrist.

Listan över drabbade arter från olika djurklasser börjar bli lång och inkluderar nu både musslor, fiskar, reptiler och fåglar. Det faktum att tiaminbristen har observerats över stora geografiska områden på norra halvklotet är illavarslande, liksom att vissa områden i Östersjöregionen ser ut att vara extra hårt drabbade, åtminstone tidvis.

Aktuella forskningsresultat

Att tiaminbrist med tiden leder till att djuren dör är välkänt sedan tidigare. Nya forskningsresultat påvisar nu den höga förekomsten av sådana effekter av tiaminbrist som leder till sämre hälsa och reproduktion, men som inte är direkt dödande, så kallade subletala effekter. Även denna påverkan är mycket allvarlig då den på sikt leder till att populationer minskar och försvinner.

Exempel på subletala effekter kopplade till den observerade tiaminbristen i vår yttre miljö är nu minskad tillväxt, förändrade organstorlekar, allmänt försämrad näringsstatus, försämrade blodvärden, ökade infektioner, förändrat beteende, försämrad simförmåga och mycket allvarliga effekter på fortplantningen. Kopplingen mellan dessa effekter och tiaminbrist har tidigare påvisats för flera olika arter av försöksdjur på laboratoriet, men nu således även hos vilda djur i fält.

Exempel på arter från norra halvklotet som nu har undersökts, och där tiaminbrist påvisats, är blåmussla, ejder, amerikansk och europeisk ål, atlantlax och havsöring. Vidare har uppgifter om tiaminkoncentrationer i äggen hos vilda laxfiskar, publicerade i den befintliga litteraturen, utvärderats på nytt i ljuset av de nya resultaten och bidragit till en mer exakt bild av förekomsten av letal och subletal tiaminbrist i Stilla Havet, Nordamerika, Atlanten och norra Europa.

Analyser av både amerikansk och europeisk ål visade att tiaminkoncentrationerna i olika organ och vävnader är alldeles för låga, kanske bara en femtedel av vad som behövs för vandrigen till lekområdena i Sargassohavet och en lyckad fortplantning med frisk avkomma. Denna tiaminbrist kan mycket väl ensam förklara ålpopulationernas kraftiga nedgång på norra halvklotet under de senaste decennierna. Det är också troligt att andra effekter av tiaminbrist som nu observeras hos ålarna – t.ex. försämrad tillväxt, dålig kondition och nedsatt immunförsvar – förekommer analogt även hos andra arter av fiskar och fåglar i de undersökta områdena.

Undersökningar utförda från mitten av 1990-talet och framåt har upprepade gånger påvisat allvarlig tiaminbrist hos laxfiskar i Nordamerika och norra Europa. Dessa undersökningar har dock oftast fokuserat huvudsakligen på direkt dödlighet hos avkomman, dvs. embryodödlighet i äggen och larvdödlighet under gulesäckskonsumtionen. I de nu senast presenterade undersökningarna studeras även de subletala störningarna hos både föräldrar och avkomma, och då kunde konstateras att tiaminbristproblemet är kraftigt underskattat. I tidigare studier av laxfiskar har man ofta kommit fram till att gränsen för direkt dödlighet hos avkomman ligger vid en tiaminkoncentration i äggen på ca 4 nanomol tiamin per gram ägg. I den senaste undersökningen visas att gränsen för subletal tiaminbrist förmodligen ligger kring 18 nanomol tiamin per gram ägg, dvs. väsentligt högre än gränsen för direkt dödlighet. Sammantaget innebär detta att en mycket större andel av populationerna av olika laxfiskar lider av skadlig tiaminbrist än vad man tidigare har insett.

I de nu senaste presenterade undersökningarna kunde också konstateras att tiaminbristen varierar i intensitet i både tid och rum. T.ex. verkar den svenska östersjökusten (Egentliga Östersjön) vara särskilt hårt drabbad, jämfört med t.ex. flera områden på Island. Allvaret i den rådande situationen understryks också av att många av de undersökta individerna verkar ha en tiaminstatus som ligger på gränsen för att de överhuvud taget ska överleva.



Uppspolade döda blåmusslor. Foto: Le Carlsson.

Forskningens mål

Det övergripande målet för forskningen är att finna den bakomliggande orsaken till tiaminbristen, dvs. hur den uppkommer i våra ekosystem. Den frågan är fortfarande obesvarad, trots att ett hundratal forskare arbetade med tiaminbristen hos lax och havsöring under ett antal år på 1990-talet. De presenterade resultaten från oss och andra forskare utgör dock nödvändig baskunskap för att kunna gå vidare och undersöka möjliga biokemiska mekanismer. Denna baskunskap innefattar bland annat tiaminbristens utbredning i tid och rum, samt bland olika arter. Härigenom kan möjliga orsakssammanhang börja urskiljas och kandidater till en mekanism sållas fram, för att sedan undersökas mer i detalj. Det är mest sannolikt att det finns en gemensam orsak till tiaminbristen hos alla de arter som är drabbade idag. Under åren har några få hypoteser förts fram, men ingen generell förklaring har accepterats ännu.

Det vidare arbetet kommer att kräva många kemiska och biokemiska analyser, och sannolikt även en hel del metodutvecklingsarbete. Allt tiamin i näringsväven ska produceras av de gröna växterna, samt i begränsad omfattning även av vissa svampar och bakterier, medan alla djur måste få i sig tiamin via födan. Precis som andra biomolekyler kan tiamin vara känsligt för skadlig inverkan från olika miljöstörningar.

Det kan idag inte uteslutas att den observerade tiaminbristen är så allvarlig att den bidrar signifikant till det pågående globala utdöendet av många djurarter. Denna förlust av biologisk mångfald har av andra forskare utpekats som det just nu allvarligaste hotet mot livet på jorden. Alldeles nya presenterade studier (januari 2018), av 24 andra forskare, har intressant och mycket alarmerande nu uppmärksammat de vetenskapliga publiceringarna från Stockholms universitet angående tiaminbristen i vår miljö och gör motsvarande vetenskapliga tolkningar (Sutherland *et al.* 2018). Detta faktum, om något, borde ju föranleda att Svenska myndigheter tar sitt ansvar. Bristen av tiamin, orsakande dödlighet och andra skador i våra ekosystem, är något som inte bör ignoreras och förnekas längre av de ansvariga.

Våra studier av tiaminbristen har till största delen finansierats av stiftelsen BalticSea2020 och Engkvists stiftelser.

Ett drygt dussin nyckelreferenser för tiamin och tiaminbrist i vårt ekosystem. Listan är inte 100%-ig beskrivande men utgör en bra start för kunskapsläget.

Upptäckten av att laxfiskar saknar tiamin för dess överlevnad och reproduktion, samt att det just är tiamin specifikt som saknas;

Fitzsimons, J. D. The effect of B-vitamins on a swim-up syndrome in Lake Ontario Lake trout. *Suppl. J. Great Lakes Res.* 21, 286–289 (1995).

Åkerman, G. & Balk, L. Descriptive studies of mortality and morphological disorders in early life stages of cod and salmon originating from the Baltic Sea. *Am. Fish. Soc. Symp.* 21, 41–61 (1998).

Påvisad tiaminbrist i tre ytterligare klasser av djur, nämligen reptiler, musslor och fåglar, samt även i icke laxfiskar;

Sepúlveda, M. S. *et al.* Organochlorine pesticides and thiamine in eggs of largemouth bass and American alligators and their relationship with early life-stage mortality. *J. Wildlife Dis.* 40, 782–786 (2004).

Balk, L. *et al.* Wild birds of declining European species are dying from a thiamine deficiency syndrome. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106, 12001–12006 (2009).

Balk, L. *et al.* Widespread episodic thiamine deficiency in Northern Hemisphere wildlife. *Sci. Rep.* 6, 38821; doi: 10.1038/srep38821 (2016). (www.nature.com/articles/srep38821)

Mörner, T. *et al.* Thiamine deficiency impairs common eider (*Somateria mollissima*) reproduction in the field. *Sci. Rep.* 7, 14451; doi: 10.1038/s41598-017-13884-1 (2017).

Internationella forskar-symposier, sammanfattande volymer, som visar på olika aspekter av laxfiskars pågående tiaminbrist (exempelvis immunsystem påverkan) i Östersjön och i Nordamerika;

McDonald, G., Fitzsimons, J. D. & Honeyfield, D. C. (eds.). Early life stage mortality syndrome in fishes of the Great Lakes and Baltic Sea, American Fisheries Society, Symposium 21 (1998).

Bengtsson, B.-E., Hill, C., Nellbring, S. & Kessler, E. (eds.). Reproductive disturbances in Baltic Sea fish: An international perspective, *Ambio* 28(1) (1999).

Blazer, V. S. & Brown, L. L. (eds.). Early mortality syndrome in Great Lakes salmonines, *Journal of Aquatic Animal Health* 17(1) (2005).

Påvisad tiaminbrist i havet;

Sañudo-Wilhelmy, S. A. *et al.* Multiple B-vitamin depletion in large areas of the coastal ocean. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 109, 14041–14045 (2012).

Review artikel om tiaminets betydelse och effekter vid brist;

Manzetti, S., Zhang, J. & van der Spoel, D. Thiamin function, metabolism, uptake, and transport. *Biochemistry* 53, 821–835 (2014).

Effekter på en laxgrupp under vandrigen i älven när de har tiaminbrist;

Fitzsimons, J. D. *et al.* The effect of thiamine injection on upstream migration, survival, and thiamine status of putative thiamine-deficient coho salmon. *J. Aquat. Anim. Health* 17, 48–58 (2005).

Human tiaminbrist, långsiktiga skador på viktiga funktioner i hjärnan;

Fattal-Valevski, A. *et al.* Outbreak of life-threatening thiamine deficiency in infants in Israel caused by a defective soy-based formula. *Pediatrics* 115, e233–e238; 10.1542/peds.2004-1255 (2005).

Mimouni-Bloch, A. *et al.* Thiamine deficiency in infancy: Long-term follow-up. *Pediatr. Neurol.* 51, 311–316 (2014).

Tiaminbristen uppmärksammas globalt som ett hot mot våra arter;

Sutherland et al. A 2018 horizon scan of emerging issues for global conservation and biological diversity. Trends in Ecology & Evolution, January 2018, 33, (1). [http://www.cell.com/trends/ecology-evolution/pdf/S0169-5347\(17\)30289-6.pdf](http://www.cell.com/trends/ecology-evolution/pdf/S0169-5347(17)30289-6.pdf)

Ytterligare information

Lennart Balk

Professor i Miljöbetingad och Biokemisk Toxikologi

Mob. phone 073-692 34 68 (+46-73-692 34 68)

e-post lennart.balk@aces.su.se

Enheten för ekotoxikologi (ACESx)

Institutionen för miljövetenskap och analytisk kemi (ACES)

Stockholms universitet