

# Utjecaj ketogene dijete na rast i preživljavanje tumorskih stanica kod životinja

---

Celjak, Ana

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Veterinary Medicine / Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:178:185078>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-06**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Veterinary Medicine -  
Repository of PHD, master's thesis](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU  
VETERINARSKI FAKULTET

Ana Celjak

UTJECAJ KETOGENE DIJETE NA RAST I PREŽIVLJAVANJE  
TUMORSKIH STANICA KOD ŽIVOTINJA

Diplomski rad  
Zagreb, 2021.

Zavod za kemiju i biokemiju  
Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu

Predstojnik: Doc. dr. sc. Luka Krstulović

Mentorica: Prof. dr. sc. Renata Barić-Rafaj

Članovi povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. Prof. dr. sc. Marko Hohšteter
2. Prof. dr. sc. Nada Kučer
3. Prof. dr. sc. Renata Barić-Rafaj
4. Doc. dr. sc. Jelena Šuran (zamjena)

## ZAHVALE

*Želim se zahvaliti, prije svega, svojim roditeljima, koji su me poticali i ohrabivali u najtežim trenucima tijekom cijelog studija. Hvala vam na strpljenju i vjeri u mene.*

*Također veliko hvala ostalim članovima obitelji, prijateljima i kolegama koji su vjerovali u mene, bodrili me i svojom podrškom olakšali završetak školovanja. Bez svih vas ovo ne bi bilo moguće.*

*Zahvaljujem se svojoj mentorici, prof.dr.sc. Renati Barić-Rafaj na stručnom vodstvu, savjetima i trudu prilikom pisanja ovog diplomskog rada.*

## POPIS KRATICA

**ACAT1**- acetil-CoA acetiltransferaza

**ATP** - adenzin trifosfat

**BCAA** (eng. *branched-chain amino acids*) - aminokiseline razgranatog lanca

**BDH 1**- D- $\beta$ -hidroksibutirat dehidrogenaza sukcinil CoA

**FDG** - 2-fluoro-2-deoksi-glukoze

**GTP** – gvanozin trifosfat

**HMG-CoA**-  $\beta$ -hidroksi- $\beta$ -metilglutaril-koenzim A

**LCT** (eng. *long chain triglycerides*) - dugolančani trigliceridi

**MCT** (eng. *medium chain triglycerides*) - srednjelančani trigliceridi

**MMPs** (eng. *matrix metalloproteinases*) – metaloproteinaze matriksa

**NAD<sup>+</sup>/ NADH** - nikotinamid adenin dinukleotid

**NADPH** - nikotinamid adenin dinukleotid fosfat

**ROS** (eng. *reactive oxygen species*) – reaktivni spojevi kisika

**SCOT** - sukcinil-CoA ketokiselina CoA transferaza

**TAM**- (eng. *tumour associated macrophages*) – makrofagi povezani s tumorom

## POPIS SLIKA

**Slika 1.** Krebsov ciklus

**Slika 2.** Sinteza ketonskih tijela iz acetil-CoA

**Slika 3.** Hidroksibutirat kao gorivo

**Slika 4.** Nastanak ketonskih tijela i njihova distribucija iz jetre

**Slika 5.** Warburgov efekt

**Slika 6.** Onkogeni regulacija puta pentoza fosfata

**Slika 7.** Regulacija mikrookoline tumora ketogenom dijetom

## POPIS TABLICA

**Tablica 1.** Istraživanja o antitumorskom učinku ketogene dijetete ili suplementacije ketonskim tijelima

## SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. CILJ RADA.....	2
3. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA.....	2
3.1. ŠTO JE KETOGENA DIJETA.....	2
3.2. KLINIČKA UPOTREBA KETOGENE DIJETE.....	5
3.3. KETOGENA DIJETA U LIJEČENJU TUMORSKIH OBOLJENJA.....	6
3.4. METABOLIZAM KETONSKIH TIJELA.....	7
3.4.1. KETOGENEZA.....	8
3.4.2. KETOLIZA.....	10
3.5. METABOLIZAM U TUMORSKIM STANICAMA.....	12
3.6. METABOLIZAM GLUKOZE U TUMORSKIM STANICAMA.....	13
3.7. WARBURGOV EFEKT.....	15
3.8. OVISNOST TUMORSKIH STANICA O GLUKOZI.....	17
3.9. POJAČAVANJE OKSIDATIVNOG STRESA TUMORSKIH STANICA KETOGENOM DIJETOM.....	19
3.10. REGULACIJA MIKROOKOLINE TUMORA KETOGENOM DIJETOM.....	20
3.11. POTENCIJALNI RIZICI KETOGENE DIJETE.....	22
3.12. KLINIČKA ISTRAŽIVANJA O KORIŠTENJU KETOGENE DIJETE U KONTROLI TUMORSKIH OBOLJENJA.....	24
4. ZAKLJUČAK.....	26
5. POPIS LITERATURE.....	27
6. SAŽETAK.....	34
7. SUMMARY.....	35
8. ŽIVOTOPIS.....	36

## 1. UVOD

Neoplazije su jedan od najvećih zdravstvenih problema diljem svijeta te još uvijek nedostaju metode kojima će se značajno povećati učinak standardnih antikancerogenih terapija.

Unatoč još nerazjašnjenjima ulozima promijenjenog energetskeg metabolizma u nastanku i razvoju tumora, metabolizam tumorskih stanica u zadnje vrijeme postao vrlo interesantna tema. Neka istraživanja navode kako tumori spadaju u metaboličke bolesti. Metaboličke disfunkcije koje se javljaju u tumorskim stanicama predstavljaju potencijalne terapijske strategije u liječenju tumorskih oboljenja. Snižena koncentracija glukoze te pojačan transport elektrona u mitohondrijima uzrokovani primjenom ketogene dijeta remete metabolizam u tumorskim stanicama što utječe na njihov rast i proliferaciju (FENG i sur., 2019.).

Ketogenu dijetu karakterizira unos visokog udjela masti, niskog udjela ugljikohidrata te umjerenog unosa proteina. Posljedično unosu makronutrijenata u navedenim udjelima dolazi do promjene metabolizma tumorskih stanica čime one postaju osjetljivije na standardne terapije (WEBER i sur., 2019.). Ketogena dijeta sprječava rast tumora, štiti zdrave stanice od štetnog učinka kemoterapije ili zračenja, pojačava toksičnost kemoterapeutika prema tumorskim stanicama te smanjuje upalne procese (WEBER i sur., 2019.). Tokom ketogene dijeta dolazi do smanjenja intenziteta metabolizma ugljikohidrata i proteina s posljedičnim iscrpljivanjem glikogena u jetri i skeletnoj muskulaturi te povećanja intenziteta metabolizma masti čime se ograničava opskrba glukozom, istovremeno osiguravajući adekvatne količine energetskih supstrata u obliku masti za tvorbu ketonskih tijela (LIMA i sur., 2014., ALLEN i sur., 2014.). Navedeni metabolizam izravno pogađa metabolizam tumorskih stanica u kojem one koriste glikolizu umjesto oksidativnu fosforilaciju za stvaranje ATP-a, čak i u aerobnim uvjetima (Warburgov efekt), pri čemu glukozu pretvaraju u laktat umjesto metaboliziranja piruvata u ciklusu limunske kiseline i oksidativnoj fosforilaciji (VIDALI i sur., 2015.) Ketoza potiče oksidativni metabolizam mitohondrija te limitira potrošnju glukoze i ostalih ugljikohidrata pri čemu su tumorske stanice izložene metaboličkom oksidativnom stresu (ALLEN i sur., 2014.). Neki tumori nemaju mogućnost iskorištavanja ketonskih tijela za proizvodnju energije zbog nedostatka potrebnih enzima ili mitohondrijske disfunkcije. Svrha ketogene dijeta je smanjiti koncentraciju glukoze i povećati koncentraciju ketonskih tijela kako bi tumorske stanice ostale bez energije, a zdrave stanice koristile ketonska tijela kao izvor energije (WEBER i sur., 2018.). Ketoza se može postići i razdobljima posta ili smanjenjem unosa ugljikohidrata u prehrani (BRANCO i sur., 2016.). Istraživanja su pokazala



da period posta ili kratkotrajnog izgladnjivanja povećava učinak kemoterapije na različite vrste tumora miševa (AMIZADEH-GOHARI i sur., 2017.). Ketogena dijeta pokazala se kao efektivna terapija epileptičkih napadaja djece. Mozak može metabolizirati ketonska tijela za energetske potrebe kad je koncentracija glukoze limitirana te se zato ovaj način prehrane smatra potencijalnom terapijom za ostale neurodegenerativne bolesti poput Alzheimerove i Parkinsonove bolesti te moždanih neoplazija (SEYFRIED i sur., 2011.)

Opisana su dva osnovna oblika ketogenih dijeta: ketogena dijeta na osnovu dugolančanih triglicerida (eng. *long chain triglycerides*, LCT) i ketogena dijeta na temelju srednjelančanih triglicerida (eng. *medium chain triglycerides*, MCT). Kako bi se postigla idealna razina ketonskih tijela te najbolji učinak prehrane, prilikom izrade prehranbenog plana potrebno je uzeti u obzir dijagnozu, starost, spol, težinu, razinu aktivnosti te suradljivost pacijenta (LIU i WANG, 2013.)

## 2. CILJ RADA

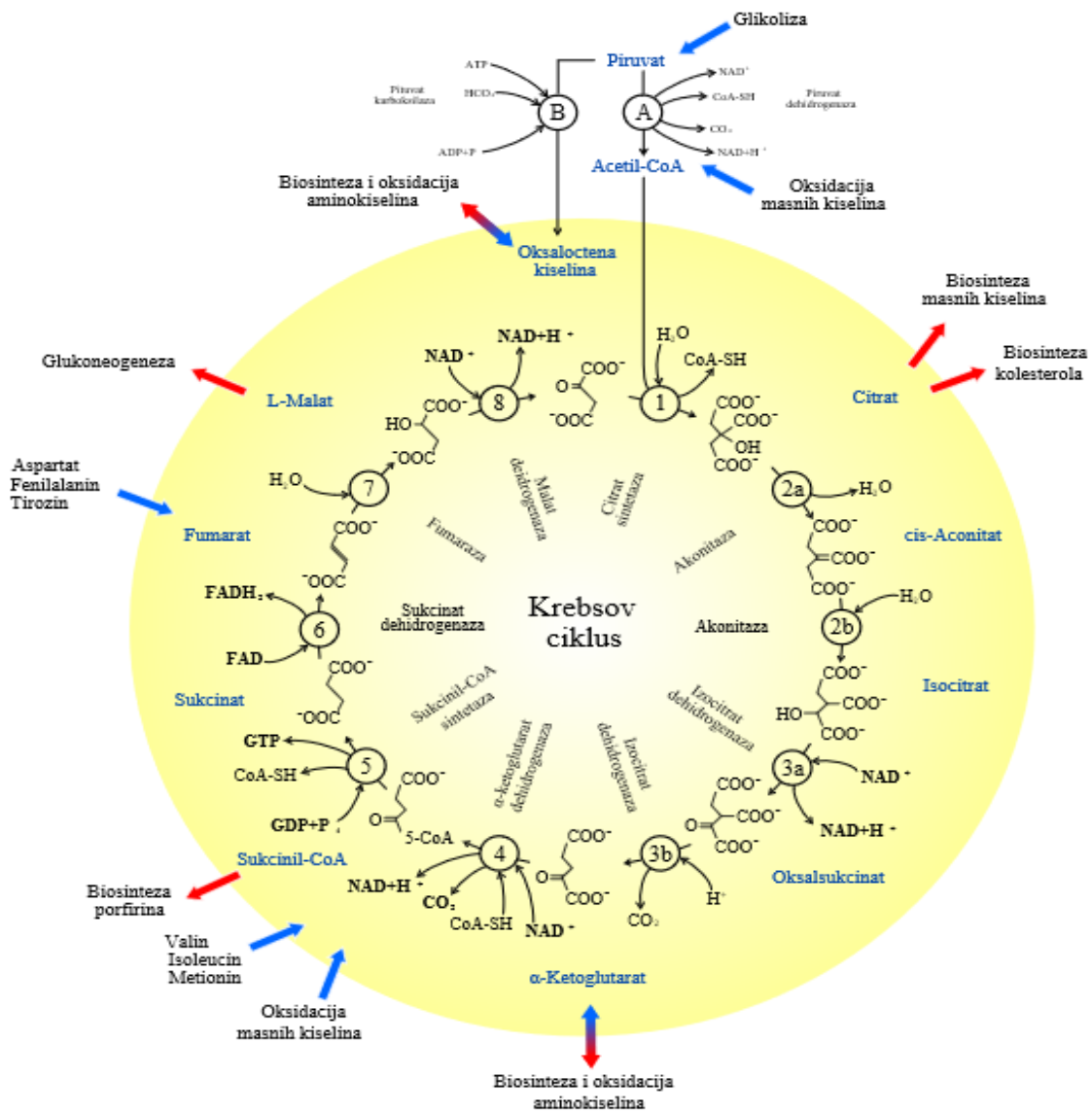
Cilj ovog rada je dati pregled metabolizma ketonskih tijela i rezultata dosadašnjih kliničkih istraživanja primjene ketogene dijetete na onkološkim pacijentima u veterinarskoj medicini, predstaviti prednosti te ukazati na potencijalne rizike ovog načina prehrane kao pomoć u terapiji tumorskih oboljenja.

## 3. PREGLED REZULTATA DOSADAŠNJIH ISTRAŽIVANJA

### 3.1. ŠTO JE KETOGENA DIJETA

Pod pojmom ketogene dijetete podrazumijevamo unos visokog udjela masti, umjerenog unosa proteina te niskog unosa ugljikohidrata. Posljedično dolazi do smanjenja metabolizma ugljikohidrata i proteina te do povećanja metabolizma masti pri čemu dolazi do stvaranja ketonskih tijela i pada koncentracije glukoze u krvi. U metaboličkom stanju ketoze, organizam se opskrbljuje energijom metaboliziranjem ketonskih tijela, dok u normalnim uvjetima za stvaranje energije primarno koristi glukozu u procesu glikolize. U jetri, slobodne masne kiseline pretvaraju se u acil-koenzim A koji se u mitohondrijima putem  $\beta$ -oksidacije pretvara u acetil koenzim A. Acetil koenzim A može ući u Krebsov ciklus i energiju pohraniti

u obliku dva reducirana koenzima i jedne molekule analoga ATP-a, GTP (gvanozin trifosfat), te u slijedećem koraku oksidacijske fosforilacije transformirati energiju reduciranih koenzima u iskoristivi oblik energije za svaku stanicu, ATP. Druga mogućnost za metabolizam acetil koenzima A je pretvorba u ketonska tijela: acetoacetat,  $\beta$ -hidroksibutirat i aceton. Ketonska tijela se krvlju transportiraju u različita tkiva te tamo služe kao izvor energije. U tkivima ketonska tijela za stvaranje energije ponovno prelaze u acetil koenzim A (BRANCO i sur., 2016.), supstrat u prvom koraku ciklusa limunske kiseline (ALLEN i sur., 2014.). Ketogena dijeta na osnovu dugolančanih triglicerida (LCT) sastoji se od masti i proteina+ugljikohidrata u omjerima 4:1 ili rijeđe 3:1, 2:1 i 1:1 (BRANCO i sur., 2016.). *Ductus thoracicus* služi za transport dugolančanih triglicerida u krv u obliku hilomikrona te im je u jetri za ulazak u mitohondrije i daljnju  $\beta$ -oksidaciju potreban nosač karnitin. Ketogena dijeta na osnovu srednjelančanih triglicerida (MCT), za razliku od LCT dijete, ne bazira se na omjerima makronutrijenata već kalorijama koje potječu od navedenih masnih kiselina s ciljem stvaranja ketonskih tijela (LIU i WANG, 2013.). Prednost MCT naspram LCT dijete je u tome što se masne kiseline bolje apsorbiraju i brže transportiraju u portalni krvotok, prolaze kroz dvostruki fosfolipidni sloj bez proteinskog nosača te se metaboliziraju u mitohondriju neovisno o karnitinu (AMIZEDAH-GOHARI i sur., 2017.). Iz navedenog proizlazi da je metabolizam LCT dijete sporiji od metabolizma MCT dijete te zahtjeva više utrošene energije za stvaranje ketonskih tijela stoga je potrebno manje ukupne masti u MCT dijeti da bi se dostigla željena razina ketoze. Također, manji udio masti, a samim time veći udio proteina i ugljikohidrata, pridonosi većoj palatabilnosti obroka (BRANCO i sur., 2016.). Efektivnost ketonske dijete prati se mjerenjem koncentracije  $\beta$ -hidroksibutirata u krvi i urinu (ALLEN i sur., 2014.).



Slika 1. Krebsov ciklus (Izvor: [https://hr.wikipedia.org/wiki/Krebsov\\_ciklus](https://hr.wikipedia.org/wiki/Krebsov_ciklus))

### 3.2. KLINIČKA UPOTREBA KETOGENE DIJETE

Znanstvena literatura dvadesetog stoljeća obuhvaća nekoliko radova koji predlažu pozitivan učinak kratkog posta kod ljudi u trajanju od 2-3 tjedna na razne bolesti, uključujući epilepsiju (WHELESS, 2004.). Razvojem antikonvulziva, 50-ih godina prošloga stoljeća, interes za ketogenu dijetu slabi. Ketogena dijeta ponovno se počela primjenjivati 1990-ih godina kao glavna alternativa u liječenju epilepsije djece koja ne reagiraju na druge oblike terapije (NEAL i sur., 2008.). Provedeno je istraživanje u trajanju od 6 mjeseci u svrhu usporedbe MCT dijetе sa standardiziranom placebo prehranom kod pasa oboljelih od idiopatske epilepsije koji su kronično na antiepileptičkoj terapiji. Podaci o učestalosti napadaja te klinički i laboratorijski podaci prikupljeni su od 21 pasa. Istraživanje je pokazalo da je učestalost napadaja znatno niža kod pasa hranjenih MCT dijetom u usporedbi sa psima hranjenima sa standardiziranom prehranom. Nisu uočene značajne promjene u serumskim koncentracijama glukoze, fenobarbitala, kalijevog bromida i težini. Prikupljeni podaci pružaju dokaz učinkovitosti MCT dijetе koja se koristila u istraživanju kao terapijska opcija za liječenje epilepsije (LAW i sur., 2015.). Spoznaja sigurnosti i efikasnosti ketogene dijetе u liječenju epilepsije rezultirala je primjenom dijetе i na druge poremećaje. Dijeta se pokazala obećavajućom u usporavanju amiotrofične lateralne skleroze, a sve je više dokaza koji upućuju na pozitivno djelovanje ketogene dijetе na druge neurodegenerativne bolesti kao što su Alzheimerova i Parkinsonova bolest. Postoji nekoliko studija koje ukazuju na poboljšanje stanja pacijenata s autizmom, depresijom, policističnim jajnicima te diabetes mellitus tip 2 (DM-2) (ALLEN i sur., 2014.). Kod dva onkološka pacijenta s dijabetesom ovisnim o inzulinu koji su hranjeni ketogenom dijetom potrebe za inzulinom smanjene su za 75% i 100% (WEBER i sur., 2019.). Uočeni su i pozitivni učinci ketogene dijetе na terapije koje nisu povezane s metabolizmom glukoze kao što su zračenje i hiperbarične terapije kisikom (BRANCO i sur., 2016.).

### 3.3. KETOGENA DIJETA U LIJEČENJU TUMORSKIH OBOLJENJA

Klinička ispitivanja primjene ketogene dijete u onkološkoj populaciji pacijenata uglavnom izvještavaju o povoljnim rezultatima (BRANCO i sur., 2016.). Odličan terapijski učinak zabilježen je u dva pedijatrijska pacijenta oboljelih od malignog astrocitoma. Pored izravnih učinaka na rast tumora, ketogena dijeta potencijalno poboljšava cjelokupno zdravstveno stanje, kao i kvalitetu života. Neke studije izvijestile su o smanjenju ukupnog kolesterola kod onkoloških pacijenata (WEBER i sur., 2019.). Većina kliničkih ispitivanja na životinjskim modelima otkrila je pozitivan učinak ketogene dijete na različite vrste tumora (tumori prostate, želuca, pluća te neuroblastom). U modelu mišjeg karcinoma debelog crijeva, miševi hranjeni ketogenom dijetom u usporedbi s miševima hranjenima standardnom prehranom pokazali su supresiju tumora. Uočena je negativna korelacija između koncentracije ketonskih tijela u krvi i težine tumora. Nadalje, povišena koncentracija ketonskih tijela u krvi pospješuje smanjenje upale održavanjem tjelesne težine i mišićne mase. Također, model miša sa ksenograftom neuroblastoma izložen niskoj razini kemoterapije u kombinaciji sa ketogenom dijetom pokazao je značajno smanjenje tumorske mase (GRAY i sur., 2020.). Terapijska učinkovitost ketogene dijete u liječenju tumorskih oboljenja mozga izravno je povezana s promjenama koncentracije glukoze i ketonskih tijela u krvi. Neke studije ukazuju na činjenicu da je rast tumora miševa ubrzan ukoliko koncentracija glukoze u krvi nije smanjena unatoč povišenoj koncentraciji ketonskih tijela u krvi i normalnoj tjelesnoj težini (SEYFRIED i sur., 2011.). Suprotno tome, neke studije na različitim modelima i sa različitim sastavima ketonske dijete pokazale su pozitivne antitumorske učinke kod miševa hranjenih nerestriktivnom ketonskom dijetom iako je primjećeno da koncentracija glukoze u krvi nije smanjena (BRANCO i sur., 2016.). Kod neuznapredovalog stadija ovarijalnog i endometrijalnog tumora žena koje nisu podvrgnute kemoterapiji uočeno je poboljšano ukupno fizičko zdravlje te veća razina energije (WEBER i sur., 2019.). Svaki pojedinac različito metabolizira kalorije stoga može biti teško inducirati tumorski metabolički stres samo određivanjem unosa kalorija. Iz tog razloga, kao varijabla određivanja količine unosa kalorija, koristi se i tjelesna težina. Neki pojedinci mogu postići metaboličko stanje ketoze bez značajne redukcije težine, dok je nekima redukcija potrebna. S obzirom na navedeno, potreban je individualni pristup svakom pacijentu u određivanju kalorija kako bi se postigao

maksimalni terapijski učinak ketogene dijeta (SEYFRIED i sur., 2011.). Bitno pitanje je tumorska kaheksija za koju je karakterističan neprestani gubitak skeletne muskulature uzrokovan kombinacijom anoreksije, pojačavanja intenziteta metabolizma, hiperkatabolizma i hipooanabolizma. Postupci koji rezultiraju nepotrebnim dodatnim gubitkom tjelesne težine nepoželjni su jer mogu potaknuti/pogoršati razvoj kaheksije. Ketogene dijeta trebale bi biti koncipirane tako da potaknu povećanje tjelesne mase ili da barem održavaju trenutnu težinu što se može postići dodavanjem omega-3 masne kiseline eikozapentanoične kiseline i aminokiselina razgranatog lanca (BCAA) koje imaju antikataboličke i proanaboličke učinke u prehranu (BRANCO i sur., 2016.). Ketogena dijeta blagotvorno djeluje na kahektične pacijente, potiče povećanje tjelesne mase te pacijenti pokazuju pozitivnu ravnotežu dušika (WEBER i sur., 2019.), što znači da je udio izlučenog dušika manji od unesenog, tj. hranom se unosi količina proteina koja je veća od dnevnih potreba, pa višak bjelančevina organizam mora metabolizirati.

Malo je kliničkih studija koje procjenjuju antikancerogeni učinak ketonske dijeta. Klinička ispitivanja usmjerena su na sigurnost izvedivosti primjene ketonske dijeta u onkološkoj populaciji te većinom izvještavaju o povoljnim i ohrabrujućim rezultatima (BRANCO i sur., 2016.).

### 3.4. METABOLIZAM KETONSKIH TIJELA

Ketonska tijela su male molekule koje potječu iz lipida te pružaju energiju tkivima u uvjetima niske razine glukoze u krvi npr. tijekom posta ili dugotrajne fizičke aktivnosti. Nakon što su rezerve glikogena iz skeletne muskulature i jetre iscrpljene, masne kiseline transportiraju se iz adipocita u jetru i pretvaraju se u ketonska tijela u procesu ketogeneze (NEWMAN i VERDIN, 2017.). Osim u jetri, u manjoj količini stvaraju se i u srcu, bubrezima, crijevima te mozgu (WEBER i sur., 2019.). Ketonska tijela distribuiraju se putem krvi iz jetre u ekstrahepatička tkiva na daljnju oksidaciju i stvaranje energije tokom mnogih fizioloških stanja kao što su post, gladovanje, neonatalni period, nakon dugotrajnog vježbanja, tokom trudnoće i pridržavanja dijeta s niskim udjelom ugljikohidrata (PUCHALSKA i CRAWFORD, 2017.). Tri su glavna ketonska tijela u krvi: acetoacetat,  $\beta$ -hidroksibutirat i aceton. Acetoacetat i  $\beta$ -hidroksibutirat najbitniji su supstrati u stvaranju energije, dok se aceton stvara spontano te se izlučuje mokraćom i plućima ili se dalje metabolizira u piruvat,

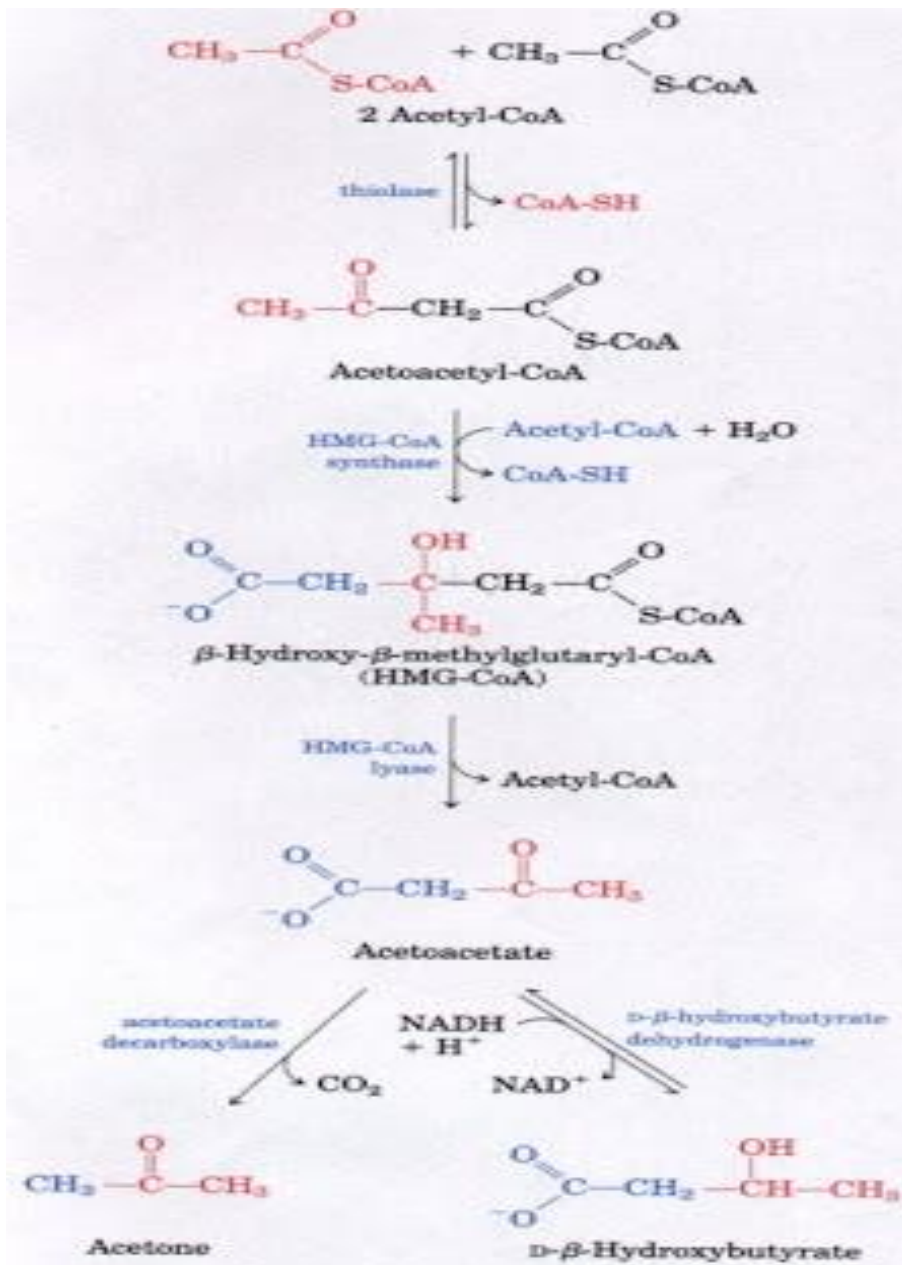
laktat i acetat (WEBER i sur., 2019.). Ketonska tijela imaju važnu ulogu u staničnom metabolizmu sisavaca, homeostazi i signalizaciji raznih fizioloških i patoloških stanja (PUCHALSKA i CRAWFORD, 2017.).

#### 3.4.1. KETOGENEZA

Ketogeneza se odvija prvenstveno u mitohondrijalnom matriksu hepatocita (PUCHALSKA i CRAWFORD, 2017.). Najbitniji supstrati za stvaranje ketonskih tijela su masne kiseline, iako se manji dio sintetizira iz leucina i u metabolizmu fenilalanin-tirozina. Slobodne masne kiseline transportiraju se iz masnog tkiva u jetru, podvrgavaju se  $\beta$ -oksidaciji te kao produkt nastaje acetil-koenzim A (WEBER i sur., 2019.). Dvije molekule acetil-koenzima A povezuju se reakcijom koju katalizira enzim tiolaza čime nastaje acetoacetyl-koenzim A. Potom acetoacetyl-CoA reagira s još jednom molekulom acetyl-CoA u reakciji koju katalizira enzim  $\beta$ -hidroksi- $\beta$ -metilglutaril-CoA-sintaza, a nastaje  $\beta$ -hidroksi- $\beta$ -metilglutaril-CoA (HMG-CoA). Nakon toga enzim HMG-CoA-liaza katalizira odcjepljenje jedne molekule acetyl-CoA čime se dobije acetyl-CoA i acetoacetat, koji se dalje može reducirati u  $\beta$ -hidroksibutirat pomoću  $\beta$ -hidroksibutirat dehidrogenaze.  $\beta$ -hidroksibutirat daje više energije nego glukoza, stoga se ketonska tijela smatraju metabolički učinkovitijima od glukoze (WEBER i sur., 2019.). Osim redukcije u  $\beta$ -hidroksibutirat, acetoacetat spontanom dekarboksilacijom izdvajanjem karboksilne skupine u obliku  $\text{CO}_2$  može preći u aceton, neenzimatski nusprodukt metabolizma acetoacetata koji se vrlo brzo izlučuje urinom i izdisanjem (POFF i sur., 2014.), ili se dalje metabolizira u piruvat, laktat i acetat (WEBER i sur., 2019.).

Brzina ketogeneze u jetri ovisi o nizu biokemijskih reakcija. Primarni regulatori uključuju lipolizu masnih kiselina iz triacilglicerola, transport kroz plazmatsku membranu hepatocita, transport u mitohondrije pomoću karnitin pamlitoil transferaze 1,  $\beta$ -oksidaciju, redoks-potencijal te hormonalne regulatore ovog procesa inzulin i glukagon (PUCHALSKA I CRAWFORD, 2017.). Inzulin inhibira ketogenezu time što stimulira acetyl-CoA karboksilazu te inhibira HMG-CoA sintazu što je ograničavajuće za brzinu ketogeneze (WEBER i sur., 2019.). Smanjuje lipolizu inhibicijom lipaze te inhibira prijenos slobodnih masnih kiselina u

matriks mitohondrija. Suprotno tome, glukagon potiče mitohondrijsku konverziju slobodnih masnih kiselina u ketonska tijela.



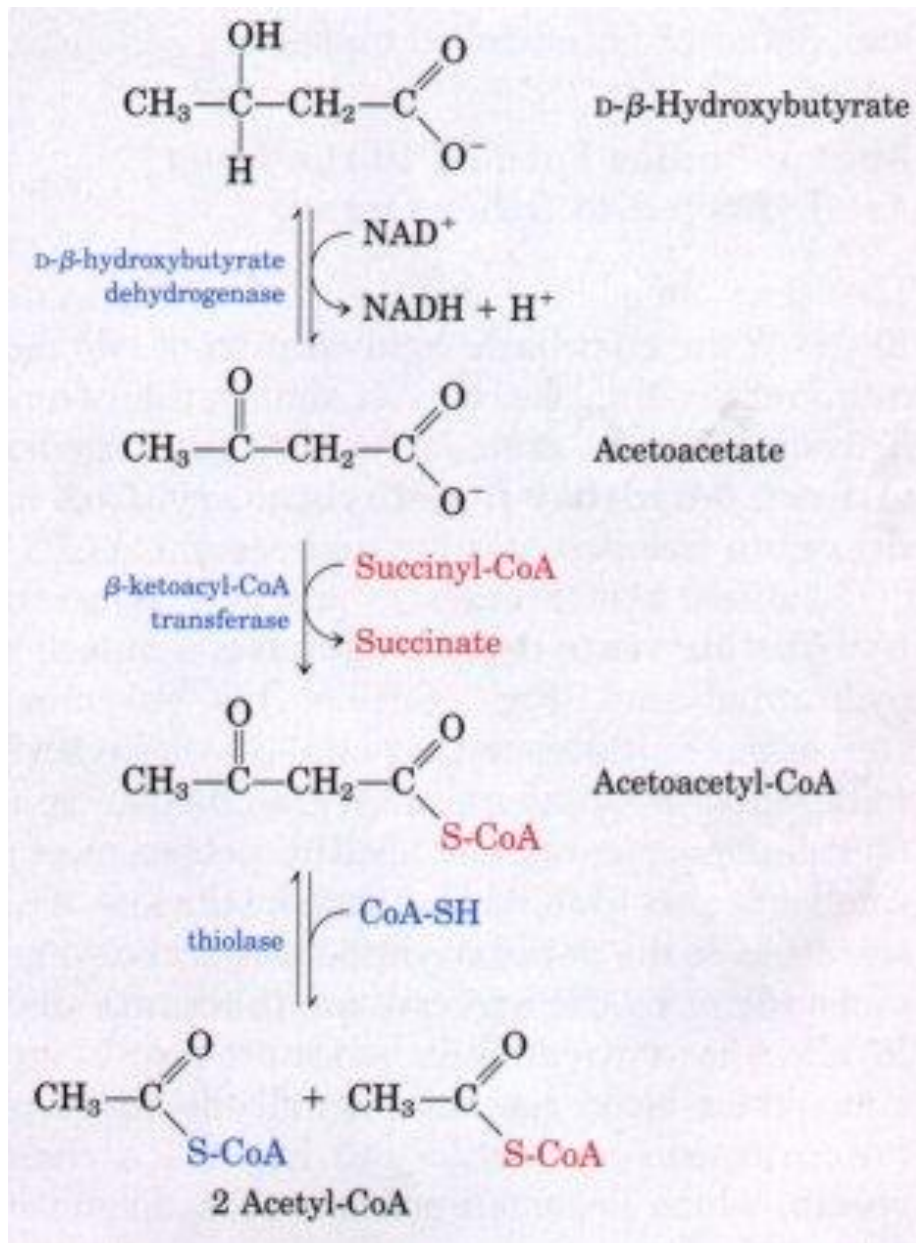
**Slika 2.** Sinteza ketonskih tijela iz acetil-CoA. U uvjetima pojačanog stvaranja acetil-CoA (npr. izgladnjivanje ili neliječeni dijabetes) tiolaza katalizira kondenzaciju dvaju molekula acetil-CoA u acetoacetyl-CoA, preteče svih triju ketonskih tijela. Navedene reakcije događaju



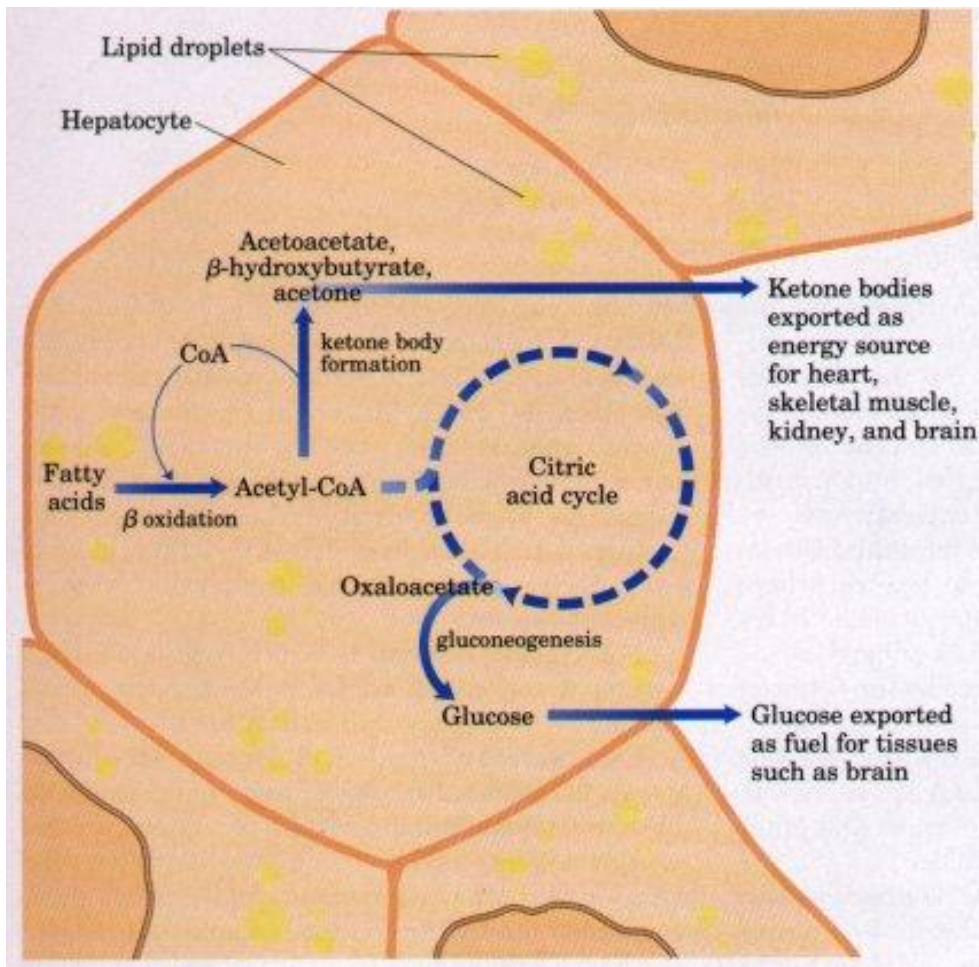
se u mitohondrijskom matriksu. HMG-CoA također je posrednik u biosintezi sterola, no enzim koji stvara HMG-CoA je citosolički. HMG-CoA liaza prisutna je u matriksu, no ne i u citosolu. (Izvor: <http://www.bioinfo.org.cn/book/biochemistry/chapt16/bio4.htm>)

### 3.4.2. KETOLIZA

Ketoliza je proces tokom kojeg se ketonska tijela degradiraju nazad u acetil-CoA koji se dalje oksidira u ciklusu trikarboksilne kiseline te stvara adenzin trifosfat. Ketolizu reguliraju tri mitohondrijska enzima: D- $\beta$ -hidroksibutirat dehidrogenaza (BDH 1), sukcinil CoA i acetil-CoA acetiltransferaza (ACAT1).  $\beta$ -hidroksibutirat dehidrogenaza katalizira međusobnu konverziju acetoacetata i  $\beta$ -hidroksibutirata. Sukcinil CoA katalizira prijenos koenzima A iz sukcinil CoA do acetoacetata što dovodi do stvaranja acetoacetil-CoA koji se dalje katalizira u ACAT1 za stvaranje dvije molekule acetil-CoA koje mogu ući u ciklus trikarboksilne kiseline, oksidirati se i stvoriti ATP. Jetra proizvodi ketonska tijela ali ih ne može oksidirati zbog nedostatka potrebnih enzima (WEBER i sur. 2019.).



**Slika 3.** Hidroksibutirat kao gorivo. D-β-hidroksibutirat sintetiziran u jetri ulazi u krv putem koje dolazi u ostala tkiva gdje se pretvara u acetyl-CoA potreban za stvaranje energije. Nakon oksidacije u acetoacetat, aktiviran koenzimom A iz sukcinil-CoA, degradira se pomoću tiolaze. Ketonska tijela pojačano se stvaraju tokom gladovanja i dijabetesa. (Izvor: <http://www.bioinfo.org.cn/book/biochemistry/chapt16/bio4.htm>)



**Slika 4.** Nastanak ketonskih tijela i njihova distribucija iz jetre. Stanja koja potiču glukoneogenezu (dijabetes, gladovanje) usporavaju ciklus limunske kiseline (iskorištavajući oksaloacetat) i povećavaju pretvorbu acetyl-CoA u acetoacetat. Oslobođeni koenzim A omogućava kontinuiranu oksidaciju masnih kiselina.

(Izvor:<http://www.bioinfo.org.cn/book/biochemistry/chapt16/bio4.htm>)

### 3.5. METABOLIZAM U TUMORSKIM STANICAMA

Tumorigeneza ovisi o reprogramiranju staničnog metabolizma, što je izravna i neizravna posljedica onkogenih mutacija. Zajednička karakteristika tumorskih stanica je sposobnost pribavljanja potrebnih hranjivih sastojaka iz često siromašnog okoliša i korištenja tih sastojaka za izgradnju nove biomase. Promjene u unutarstaničnim i izvanstaničnim metabolitima koji prate reprogramiranje metabolizma povezano s tumorom mogu imati jake učinke na ekspresiju gena, staničnu diferencijaciju i mikrookoliš tumora. U skladu sa spomenutim, Pavlova i suradnici podijelili su poznate metaboličke promjene povezane s

tumorima u 6 skupina: 1. nereguliran unos glukoze i aminokiselina, 2. korištenje oportunističkih oblika nutrijenata, 3. korištenje metabolita glikolize i ciklusa limunske kiseline za biosintezu i sintezu NADPH, 4. povećana potreba za dušikom, 5. promjene u regulaciji gena uzrokovane metabolitima te 6. interakcije metabolita s mikrookolišem. Većina tumora pokazuje samo nekoliko navedenih obilježja. Ta specifična obilježja mogu pridonijeti klasifikaciji određenog tumora te samim time dati smjernice liječenja. Danas je poznato da metaboličke promjene povezane s tumorigenezom prate sve faze interakcije staničnih metabolita: 1. utjecaj na ulazak metabolita u stanicu te povećanje sposobnosti pribavljanja potrebnih nutrijenata, 2. oblikovanje preferiranog načina iskorištavanja nutrijenata metaboličkim putevima koji doprinose staničnim tumorigenim svojstvima te 3. stvaranje dugotrajnih učinaka na sudbinu stanica, među kojima su promjene u diferencijaciji samih tumorskih stanica, kao i komponentama tumorskog mikrookoliša (PAVLOVA i THOMPSON, 2016.).

### 3.6. METABOLIZAM GLUKOZE U TUMORSKIM STANICAMA

Promjene u mikrookolišu tumora kao što su kiselost i hipoksija bitni su čimbenici za proliferaciju tumora i invaziju okolnog tkiva. Ukoliko se tumorske stanice nalaze u blizini krvne žile omogućena je obilna opskrba hranjivim tvarima, čimbenicima rasta i kisikom. U nedostatku opskrbe potrebnim tvarima, tumorske stanice oslanjati će se na proces glikolize, što ih prisiljava na razvijanje strategije za opstanak i širenje. (BARTONS i sur., 2018.). U procesu glikolize iz jedne molekule glukoze nastaju dvije molekule ATP-a (VAIL i sur., 1990.) što je vrlo malo te zahtjeva visok metabolizam glukoze i metaboličke supstrate za biosintezu potrebnih molekula. Visok metabolizam glukoze u stanicama zadovoljit će se metaboličkim reprogramiranjem tumorskih stanica, ali i drugih stanica prisutnih u mikrookolišu tumora. Reprogramiranje podrazumijeva interakciju onkogeni, tumor supresorskih gena, čimbenika rasta te lokalnih faktora u mikrookolišu tumora (BARTONS i sur., 2018.). Pojačana ekspresija onkogeni uzrokuje povećan transport glukoze. Metaboličke promjene usmjerene su prema povećanoj sintezi biomolekula, visokoj opskrbi energijom i održavanju staničnog redoks statusa (JAYASRI i sur., 2016.). Metabolizam glukoze osigurava međuprodukte potrebne za biosintetske puteve npr. ribozu za sintezu nukleotida,

glicerol i citrat za proizvodnju lipida, neesencijalne aminokiseline i NADPH (BARTONS i sur., 2018.). Značajno povećanje aktivnosti heksokinaze, jednog od glavnih enzima glikolize, u tumorskim tkivima dojke pasa, ukazuje na visoku glikolitičku aktivnost. Zabilježena je i značajna korelacija između povećanja koncentracije 2-fluoro-2-deoksi-glukoze (FDG) i pojačane ekspresije izoenzima heksokinaze II djelovanjem onkogeno kod tumora dojke miševa (JAYASRI i sur., 2016.). Nadalje, uspoređujući serumske vrijednosti laktata i inzulina nakon 90 minutnog intravenoznog testa tolerancije glukoze izmjerene su značajno više vrijednosti kod pasa s limfomom u odnosu na kontrolnu skupinu (VAIL i sur., 1990.). Dokazano je da je djelovanje enzima glukoneogeneze, glukoza-6-fosfataze i fruktoza-1,6-biofosfataze, značajno niže u tkivu tumora u usporedbi sa zdravim tkivom (JAYASRI i sur., 2016.).

Graham i sur. (2012.) istraživali su osjetljivost različitih tumorskih stanica na nedostatak glukoze te povezanost metabolizma i staničnog odgovora. Otkrili su da tumorske stanice koje su osjetljive na nedostatak glukoze pokazuju povećanu razinu fosforilacije tirozina pomoću tirozin kinaze. U vezi s nedostatkom glukoze, dokazana je povećana koncentracija reaktivnih vrsta kisika (ROS). Inhibicija aktivnosti ROS dovela je do smanjenja staničnog odgovora na nedostatak glukoze u obliku pojačane fosforilacije. Zaključno, nedostatak glukoze povećava koncentraciju ROS koji dovode do suprafiziološke razine fosforilacije tirozina što dovodi do pozitivne povratne sprege između proizvodnje ROS i signalizacije tirozin kinaze. To u konačnici rezultira staničnom smrću (BRYSON i WHITE, 2012.).

U tumorskim stanicama glukoza se procesom glikolize pretvara u laktat (VIDALI i sur., 2015.). Porast koncentracije laktata dodatno opterećuje metabolizam domaćina koji proizvedeni laktat pretvara nazad u glukozu u Cori ciklusu (VAIL i sur., 1990.) čime se dodatno povećavaju energetske potrebe stanice. Prepoznavanje metaboličkih puteva te enzima i izoenzima važnih za proliferaciju i preživljavanje tumora važno je za prepoznavanje terapijskih ciljeva (JAYASRI i sur., 2016.) i stvaranje novih pristupa liječenju tumorskih oboljenja.

### 3.7. WARBURGOV EFEKT

Obilježje gotovo svih tumorskih stanica je promjenjen metabolički fenotip kojeg je prvi opisao Otto Warburg. Karakteriziran je promjenom metabolizma od staničnog disanja prema glikolizi neovisno o dostupnosti kisika (BRANCO i sur., 2016.). Warburgov efekt podrazumijeva nastajanje laktata iz glukoze putem aerobne glikolize redukcijom piruvata, za razliku od zdravih stanica u kojima se piruvat metabolizira u mitohondrijima putem oksidativne fosforilacije (VIDALI i sur., 2015.). Stanice tumora piruvat koriste za nastanak laktata putem mliječno-kiselog vrenja, što im pruža nekoliko prednosti. Prvo, to im omogućuje učinkovitije stvaranje ugljikovih spojeva koji se koriste za sintezu makromolekula, što je bitno za proliferaciju tumora. Drugo, zaobilazi se oksidativni metabolizam u mitohondrijima i njihova proizvodnja reaktivnih vrsta kisika (ROS) (BRANCO i sur., 2016.). To im omogućuje preživljavanje, budući da su tumorske stanice, za razliku od zdravih, osjetljivije na apoptozu uzrokovanu reaktivnim vrstama kisika (AYKIN-BURNS i sur., 2009.). Također, pojačana glikoliza i stvaranje laktata dovodi do nastajanja kisele sredine, što tumorskim stanicama olakšava invaziju i progresiju u okolno tkivo (BRANCO i sur., 2016.). Tumorske stanice izlučuju  $H^+$  ione koji difundiraju u okolno tkivo i mijenjaju struju tumora što pojačava invazivnost (LIBERTI i LOCASALE, 2016.).

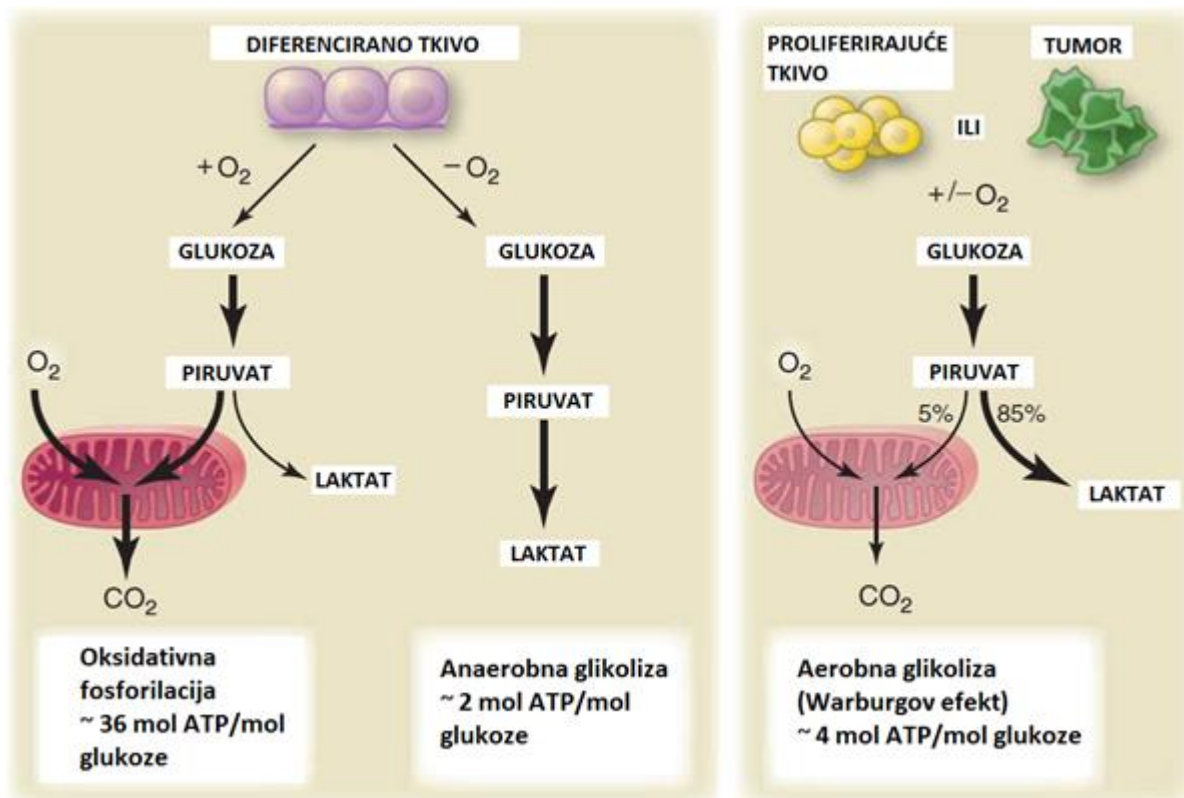
U zdravim stanicama ciklusom limunske kiseline i oksidativnom fosforilacijom jedna molekula glukoze aerobnom fermentacijom proizvede 36 molekula ATP-a, dok u tumorskim stanicama procesom glikolize iz jedne molekule glukoze nastaju samo dvije molekule ATP-a. Uz to, glikolizom proizvedeni laktat se u procesu glukoneogeneze pretvara natrag u glukozu čime se dodatno troši energija. Navedeni procesi dovode organizam u stanje energetske deficita što dovodi do lipolize i proteolize i, na kraju, kaheksije (GRAY i sur., 2020.).

Iako se smatralo da pojačano iskorištavanje glukoze u tumorskim stanicama potpomaže pojačanu proliferaciju i energetske zahtjeve tumorskih stanica, nedavna istraživanja predlažu da pojačana glikoliza u tumorskim stanicama predstavlja adaptacijski odgovor na oksidativni stres uzrokovan promijenjenim oksidativnim metabolizmom mitohondrija (AYKIN-BURNS i sur., 2009.). Poznato je da je u tumorskim stanicama uočena pojačana glikolitička aktivnost i aktivnost puta pentoza fosfata čak i u prisutnosti kisika, kao i

promjene u strukturi i funkciji mitohondrija što rezultira povećanim stvaranjem reaktivnih vrsta kisika poput  $O_2^-$  i  $H_2O_2$  (ALLEN i sur., 2013.).

Jedna od hipoteza je da tumorske stanice opstaju u uvjetima kroničnog oksidativnog metaboličkog stresa posredovanog povišenim koncentracijama  $O_2^-$  i  $H_2O_2$  (ALLEN i sur., 2013.). Ključno je održavanje odgovarajuće ravnoteže ROS-a budući da njihova prekomjerna koncentracija oštećuje stanične membrane i nukleinske kiseline, uz mnoge druge štetne učinke. Preniska koncentracija ROS-a, s druge strane, ometa određene signalne procese koji su korisni za proliferaciju stanica (LIBERTI i LOCASALE, 2016.).

Antitumorski učinci ketogene dijete mijenjaju ekspresiju gena koji sudjeluju u reguliranju stvaranja reaktivnih vrsta kisika i oksidativnog stresa. Ograničavajući dostupnost glukoze ketogenom dijetom mogao bi se selektivno inducirati metabolički oksidativni stres u tumorskim stanicama (WEBER i sur., 2019.). Prema dosadašnjim istraživanjima, životinje oboljele od tumora koje su izložene zračenju ili kemoterapiji, dobro podnose ketogenu dijetu. Iz tih rezultata proizlazi zaključak da bi prehrana ketogenom dijetom mogla poslužiti kao jednostavna pomoćna terapija za poboljšanje terapijskog odgovora na zračenje ili kemoterapiju (ALLEN i sur., 2013.).



**Slika 5.** Warburgov efekt (Izvor: <https://medium.com/@drjasonfung/the-paradox-of-cancers-warburg-effect-7fb572364b81>)

### 3.8. OVISNOST TUMORSKIH STANICA O GLUKOZI

Glikoliza je proces enzimatske razgradnje glukoze do piruvata, koji se u prisutnosti kisika pretvara u acetilkoenzim A te ulazi u ciklus limunske kiseline u mitohondrijima. U odsutnosti kisika, piruvat se prevodi u laktat. Zdrave stanice povezuju sintezu piruvata sa procesom oksidativne fosforilacije u mitohondrijima za učinkovito stvaranje ATP-a te pokazuju nisku razinu glikolize i stvaranja laktata. Tumorske stanice, za razliku od zdravih, pokazuju pojačano iskorištavanje glukoze čak i u prisutnosti kisika, što se najvjerojatnije događa zbog poremećaja u mitohondrijskom staničnom disanju pri čemu pojačana glikoliza predstavlja kompenzatorni odgovor (WARBURG, 1956.).

1983., M.J. Tisdale u svojoj studiji prikazao je različitost aktivnosti enzima metabolizma ketonskih tijela u ekstrahepatičkim tumorskim tkivima ljudi i životinja (BERGSTROM i sur., 1984.). Aktivnosti enzima u srcu, bubrezima i limfocitima bile su



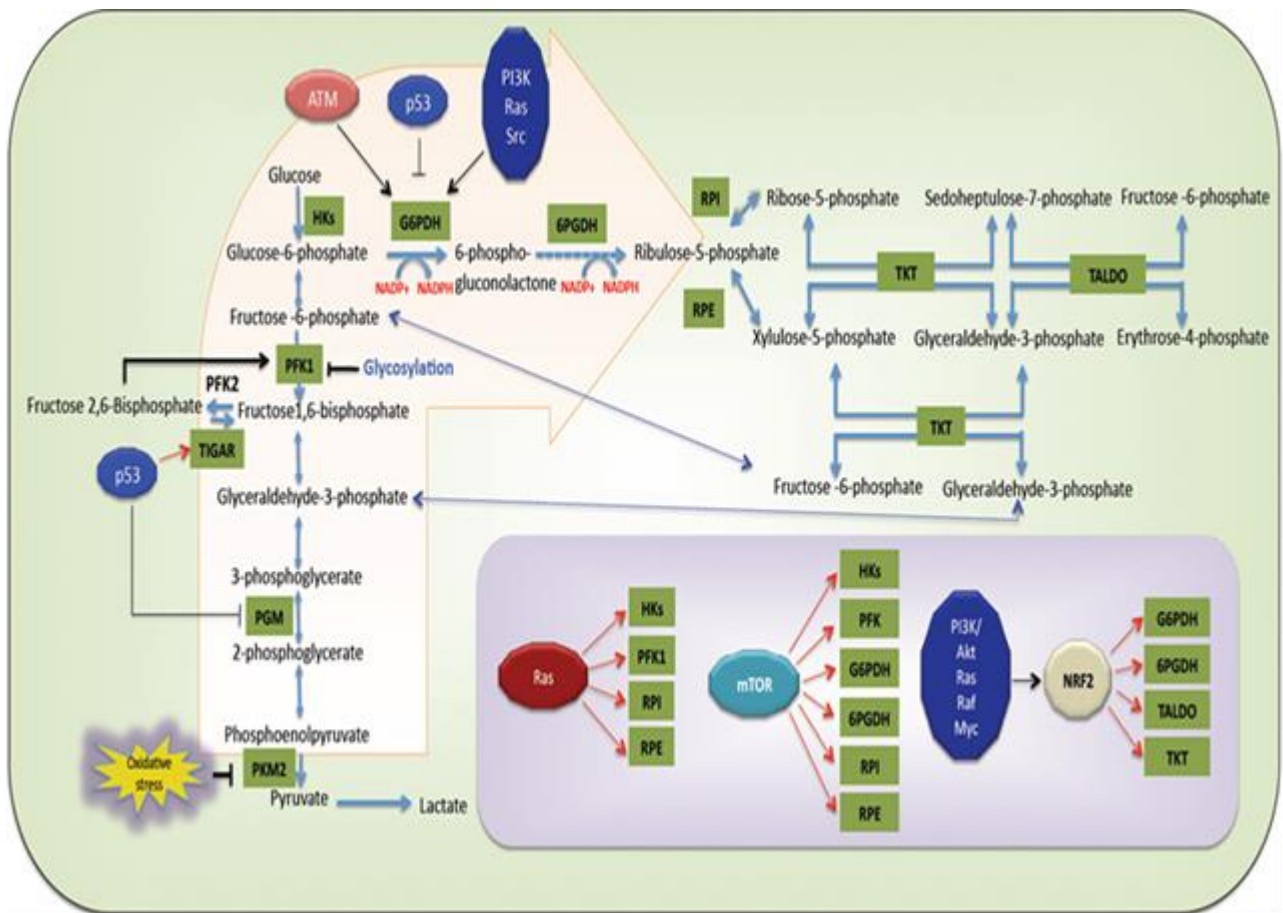
visoke, dok su aktivnosti sukcinil-CoA-ketokiselina CoA transferaza (SCOT) i acetoacetyl-CoA tiolaze u tumorskim tkivima bile snižene ili se nisu mogle ni očitati. Ovi rezultati podupiru teoriju da se zdrave stanice uspješno štite od hipoglikemije i zadovoljavaju svoje energetske potrebe koristeći masne kiseline i ketonska tijela kao izvor energije u uvjetima snižene koncentracije glukoze. Korištenje  $\beta$ -hidroksibutirata u ciklusu limunske kiseline za stvaranje energije štetno je za tumorske stanice s obzirom na mitohondrijske abnormalnosti (VEECH, 2004.). Stoga, ketonska tijela, osim što inhibiraju rast tumora, imaju i mali učinak na metabolizam i funkciju normalnih stanica (FENG i sur., 2019.)

Uz neobičnu aerobnu glikolizu, tumorske stanice imaju i povećanu aktivnost puta pentoza fosfata (AYKIN-BURNS i sur., 2009.). Put pentoza fosfata oksidira glukozu pri čemu nastaju dvije molekule nikotinamid adenin dinukleotid fosfata (NADPH) i riboza-5-fosfat koje služe za detoksikaciju nastalih peroksida i smanjenje oksidativne štete (GRAY i sur. 2020.). NADPH djeluje kao kofaktor za sustav glutation/glutation peroksidaza i tioredoksin/tioredoksin reduktaza (BUETTNER, 2011.). Spomenuti tiolni sustavi odgovorni su za detoksikaciju vodikovog peroksida i organskih peroksida, čime preveniraju i popravljaju oksidativna oštećenja i tako održavaju redoks ravnotežu (ALLEN i sur., 2014.).

Poznato je da metabolizam glukoze ima bitnu ulogu u detoksikaciji peroksida, putem stvaranja piruvata (koji neutralizira perokside direktno kroz reakciju deacetilacije) i regeneriranjem redoks kofaktora NADPH (ALLEN i sur., 2014.).

Glukozu koja nije iskorištena za biosintezu proliferativne stanice pretvaraju u laktat kako bi očuvale dovoljno  $\text{NAD}^+$  potrebnog za glikolizu te spriječile preplavlivanje mitohondrija sa NADH koji bi smanjio intenzitet ciklusa limunske kiseline (CHOWDHURY i sur., 2005.). Povećana količina ekstracelularnog laktata utječe na imunološki odgovor, oslabljujući aktivaciju dendritičkih i T stanica te migraciju monocita (GOETZE i sur., 2011.). Nadalje, laktat stimulira polarizaciju rezidentnih makrofaga u takozvano M2 stanje, koje je bitno za imunosupresiju i cijeljenje rana (COLEGIO i sur., 2014.). Povećana količina laktata također stimulira stvaranje hijaluronske kiseline u fibroblastima, što može doprinjeti invazivnosti tumora (STERN i sur., 2002.). Povećana ekstracelularna kiselost stimulira proteolitičku aktivnost matriksnih metaloproteinaza (MMPs) i katepsina, promovirajući tako degradaciju ekstracelularnog matriksa i potičući invaziju tumora (ROTHBERG i sur.,

2013.



**Slika 6.** Onkogeno regulacija puta pentoza fosfata.

(Izvor: PATRA i HAY, 2014.)

### 3.9. POJAČAVANJE OKSIDATIVNOG STRESA TUMORSKIH STANICA KETOGENOM DIJETOM

Metabolizam ketonskih tijela inhibira proliferaciju tumorskih stanica stvaranjem nepovoljnog redoks statusa za njihov opstanak te na taj način štiti zdravo tkivo koje se nalazi u blizini tumora (POFF i sur., 2014.). Ketogena dijeta može poslužiti kao pomoćna terapija u liječenju tumorskih oboljenja putem dva različita mehanizma koji se temelje na povećavanju oksidativnog stresa unutar tumorskih stanica. Metabolizam masti ograničava dostupnost glukoze potrebne za glikolizu smanjujući stvaranje laktata i glukoza-6-fosfata koji bi ušli u

put pentoza fosfata i poslužili za stvaranje NADPH. Nadalje, metabolizam masti prisiljava stanice da se opskrbljuju energijom proizvedenom u mitohondrijima. S obzirom na hipotezu da je u tumorskim stanicama prisutna mitohondrijalna disfunkcija, pretpostavlja se da će ketogenom dijetom tumorske stanice selektivno biti izložene oksidativnom stresu. Slično metabolizmu masti, proizvodnja energije metabolizmom proteina, kao npr. glutaminolizom, stanice su prisiljene na opskrbu energijom iz mitohondrija, što jednako tako dovodi do oksidativnog stresa (ALLEN i sur., 2014.). Ketonska tijela prenose se u stanicu pomoću prijenosnika monokarboksilata (MCT) koji su odgovorni i za izlazak laktata iz stanice. Dokazano je da inhibiranje aktivnosti MCT1 kao i izlaza laktata iz stanice drastično smanjuje rast i preživljavanje stanica tumora (DHUP i sur., 2012.). Uskraćivanjem glukoze oduzima se glavni izvor za nastajanje kofaktora bitnih za smanjenje ROS-a, čime se pojačava oksidativni stres (ALLEN i sur., 2014.). Antioksidans glutation i Nrf2 transkripcijski faktor sudjeluju u održavanju ravnoteže ROS-a (KUMARI i sur., 2018.). U provedenim studijima na štakorima, dokazano je da ketogena dijeta podiže koncentraciju glutationa (JARRET i sur., 2008.) i aktivira Nrf2 transkripcijski faktor (MILDER i sur., 2010.). U modelu mišjeg glioma ketogena dijeta smanjila je proizvodnju ROS-a mijenjajući ekspresiju gena koji sudjeluju u regulaciji koncentracije ROS-a (STAFFORD i sur., 2010.). Kombinacija ketogene dijetete i zračenja povećala je razinu oksidativnog stresa te usporila rast tumora pluća i štitnjače miševa (ALLEN i sur., 2013.). U konačnici, antitumorski učinak ketogene dijetete povezan je i sa smanjenim i sa povećanim koncentracijama ROS-a što ukazuje na pretpostavku da ketogena dijeta remeti ravnotežu ROS-a u tumorskim stanicama (MITTLER, 2016.).

### 3.10. REGULACIJA MIKROOKOLINE TUMORA KETOGENOM DIJETOM

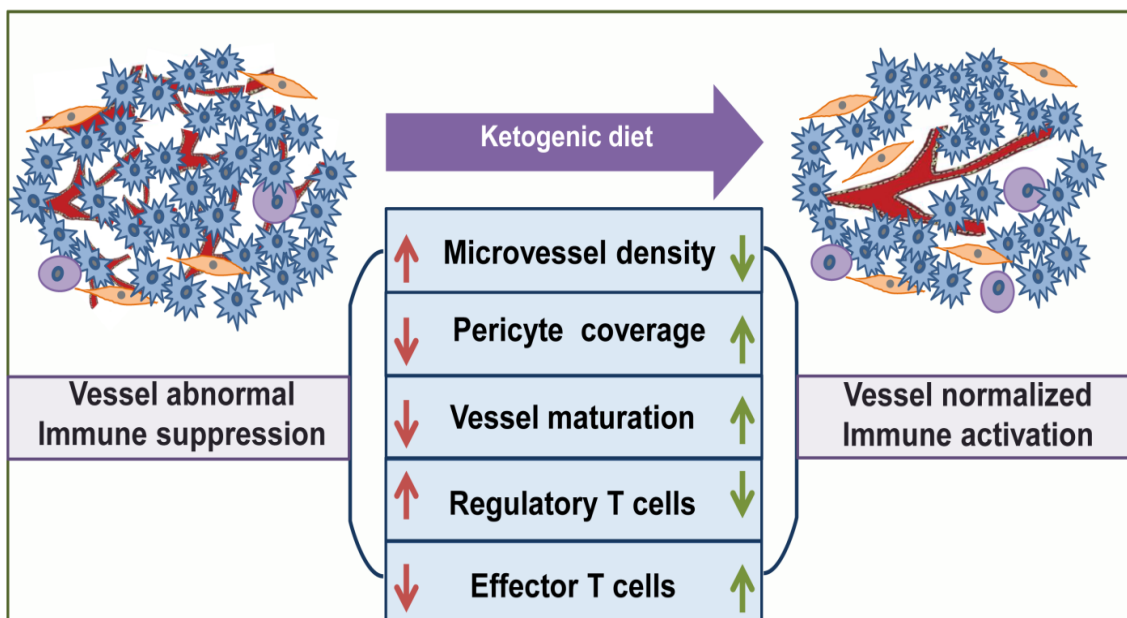
Tumorska mikrookolina vrlo je stabilna te se u njoj nalaze tumorske stanice, fibroblasti povezani s tumorom, stromalne stanice i ekstracelularni matriks koji tumoru omogućuju rast, razvoj, invazivnost i metastaziranje.

Glavna obilježja tumorske mikrookoline su agresivna angiogeneza i imunosupresija. Krvožilni sustav tumora strukturalno i funkcionalno je abnormalan u vidu povećane gustoće mikrovaskularne mreže te smanjene koncentracije pericita u stijenci krvnih žila. Hipoksični

uvjeti u tumorskom mikrookolišu sprječavaju antitumorski učinak T stanica i potiču pretvorbu makrofaga povezanih s tumorom (TAM, od engl. tumour associated macrophages) u imunosupresivni tip stanica M2 koji će onesposobiti imunosnu reakciju zbog nemogućnosti stvaranja specifičnih protutijela. Ketogena dijeta efektivno normalizira tumorske krvne žile, poboljšava uvjete mikrookoliša te pojačava antitumorske učinke (FENG i sur., 2019.).

Kisela mikrookolina tumora kao posljedica nakupljanja laktata u svrhu pojačavanja glikolize omogućuje tumoru preživljavanje i zloćudnost. Povećana ovisnost tumorskih stanica o glikolizi kao izvoru energije predstavlja osnovu za sprječavanje rasta tumora inhibicijom glikolize (PELICANO i sur., 2006.).

Osim korištenja ketonskih tijela u samom liječenju tumorskih oboljenja, pažnja bi se trebala posvetiti i na njihov značaj u prevenciji razvoja tumora (FENG i sur., 2019.)



**Slika 7.** Regulacija mikrookoline tumora ketogenom dijetom

(Izvor: FENG i sur., 2019.)

### 3.11. POTENCIJALNI RIZICI KETOGENE DIJETE

Korištenje ketogene dijetete pokazalo se učinkovitim u kontroli raznih patoloških stanja no uočene su razne kratkoročne i dugoročne nuspojave. Kratkoročne nuspojave uključuju gastrointestinalne smetnje kao što su gastroezofagealni refluks, konstipacija, acidoza (WIBISONO i sur., 2015.), hipoglikemija (DHAMIJA i sur., 2015.), dehidracija i letargija (BANSAL i sur., 2014.). Dugoročne nuspojave stvaraju veće probleme i obuhvaćaju hiperlipidemiju, hiperkolesterolemiju (WIBISONO i sur., 2015.), nefrolitijazu nastalu uslijed povišenog kalcij/kreatinin omjera u urinu (SAMPATH i sur., 2007.), kardiomiopatije (KANG i sur., 2004.) zbog kombinacije acidoze i nedostatka selen (SIRIKONDA i sur., 2012.), nisku razinu albumina i karnitina u krvi (COPPOLA i sur., 2006.), povećan rizik od infekcije, deficit određenih vitamina i minerala te rijetko fatalni pankreatitis uslijed abnormalnog metabolizma masnih kiselina (BUSE i sur., 2004.). Opisano je nekoliko slučajeva u kojima je došlo do produženog QT intervala tokom elektrokardiograma i iznenadne smrti (BANK i sur., 2008.). Najčešće nuspojave su povraćanje i hiperlipidemija (KEENE, 2006.). Također, dijete bogata kolesterolom može uzrokovati prijevremene bolesti srca (MANNINEN i sur., 1992.). Akutne nuspojave najčešće su znak netolerancije na uzimanje velikih količina masti, a uključuju letargiju, mučninu, povraćanje (DHAMIJA i sur., 2013.), hipoglikemiju, pretjeranu ketozu i acidozu (MOSEK i sur., 2009.). One nisu prisutne u svakom slučaju, no ukoliko se pojave uvelike otežavaju pridržavanje propisane dijetete (GRAY i sur., 2020.). Rizik od hipoglikemije najveći je u novorođenčadi i male djece koja ne mogu održavati odgovarajući kalorijski unos te često povraćaju. Najčešći razlog ranog prekida dijetete su gastrointestinalne smetnje, a u pravilu se javljaju kod odraslih (NANGIA i sur., 2012.). Mosek i sur. (MOSEK i sur., 2008.) u svojem pilot istraživanju izvjestili su o povišenju koncentracije ukupnog kolesterola za 33% kod pacijenata hranjenih ketogenom dijetom nakon 11-12 tjedana.

Neke studije izvjestile su o padu serumskih vrijednosti minerala poput selen, bakra i cinka kod pacijenata na ketogenoj dijeti, što ukazuje na potrebu uzimanja suplemenata minerala u tragovima tokom prehrane ketogenom dijetom (HAYASHI i sur., 2013.). Kod nekih pacijenata javlja se progresivni gubitak koštanih minerala, no smatra se da do toga dolazi zbog više faktora kao što su uzimanje steroida i izloženost kemoterapiji (BERGQVIST i sur., 2008.).

Moguće je i bubrežno oštećenje uslijed izlučivanja dušikovih spojeva (WESTERTERP-PLANTENGA i sur., 2009.). Iako nijedno istraživanje nije izvjestilo o jakom bubrežnom oštećenju povezanom s ketogenom dijetom, 6% ljudi s epilepsijom imalo je bubrežne kamence nakon primjene ketogene dijete u trajanju od 1-5 godina (SAMPATH i sur., 2007.). Najjače prijavljene nuspojave kod djece pojavile su se kod pacijenata koji su na ketogenoj dijeti dulje od godinu dana, a uključuju hipertrigliceridemiju, smanjen rast zbog niskih razina inzulinu sličnog faktora rasta 1 te progresivni gubitak koštanih minerala (BERGQVIST i sur., 2008.).

Prijašnje studije izvještavaju o činjenici da ketogena dijeta uzrokuje gubitak težine (KLEMENT i sur., 2006.). Provedena je studija na štakorima koji su podijeljeni u dvije skupine. Jedna skupina bila je na ketogenoj dijeti koja je sadržavala 78% masti i 0.76% ugljikohidrata, a druga, kontrolna skupina, bila je na prehrani koja je sadržavala 5% masti i 65% ugljikohidrata. Nakon 3 tjedna prehranbenog režima, skupina hranjena ketogenom dijetom pokazala je značajan gubitak na težini u odnosu na kontrolnu skupinu (MILDER i sur., 2010.). Unatoč tome, nedavna istraživanja ipak sugeriraju da ketogena dijeta može prevenirati tumorsku kaheksiju te održati tjelesnu težinu (NAKAMURA i sur., 2018.). Poznato je da neka zdrava tkiva poput mozga, mrežnice i testisa koriste glukozu kao glavni izvor energije, stoga inhibicija glikolize za ta tkiva može biti potencijalno toksična. Još nije u potpunosti jasno mogu li ta tkiva učinkovito koristiti alternativne izvore energije (masne kiseline, aminokiseline itd.) za stvaranje dovoljne količine ATP-a putem metabolizma mitohondrija za potrebne stanične funkcije (PELICANO i sur., 2006.).

Povišena koncentracija ketonskih tijela u krvi problematična je kod dijabetičnih pacijenata kod kojih postoji veća opasnost od razvijanja ketoacidoze opasne po život (ALLEN i sur., 2014.).

Navedena istraživanja na ljudima ukazala su na određene nuspojave, no zbog metaboličkih razlika među vrstama potrebno je provesti još mnogo istraživanja na životinjama kako bi se mogli donijeti konačni zaključci o koristima i šteti primjene ketogene dijete kao terapijskog pristupa na životinjama.

### 3.12. KLINIČKA ISTRAŽIVANJA O KORIŠTENJU KETOGENE DIJETE U KONTROLI TUMORSKIH OBOLJENJA

Ketogena dijeta ili suplementacija ketona, kao netoksični terapijski pristup liječenju tumorskih oboljenja, pokazao je određene prednosti u terapiji širokog spektra malignih oboljenja (FENG i sur., 2019.).

Tumor	Kategorija istraživanja	Koncentracija ketonskih tijela	Ishod/ učinkovitost
Gliom	Kliničko	-	Pacijenti s niskom i vrlo niskom aktivnošću ključnih ketolitičkih enzima reagiraju bolje na terapiju ketogenom dijetom.
Glioblastom	Kliničko	2.5 mM (urin)	Nisu nađena značajna tumorska tkiva.
Gliom	Pretkliničko	3 mM (krv)	Pojačana hipoksija u tumorskom okolišu.
Gliom	Pretkliničko	1-2 mM (krv)	Dijetalna suplementacija BD i KE produljila je preživljavanje kod VM-M3 miševa sa sistemskim metastatskim tumorima za 51% i 69%.
Glioblastom	Pretkliničko	KD+KE,2,6 mM; KD+KE+HBOT, 1 mM (krv)	Kod nekoliko miševa bioluminiscencija tumora bila je ispod detektibilne, tumorske metastaze su se smanjile.
Astroцитom	Pretkliničko	-	Prosječna težina tumora bila je značajno niža u miševa na DR ( $51 \pm 7$ mg) u usporedbi s kontrolnom skupinom ( $209 \pm 40$ mg).
Astroцитom	Pretkliničko	-	Intracerebralni rast usporen je za 80%.
Astroцитom	Pretkliničko	-	Težina tumora je za otprilike 48% i 80% manja u KD-R i KD-R+2-DG skupina miševa u usporedbi sa SD-UR skupinom.
Astroцитom i	Pretkliničko	-	Težine astrocitoma i glioma bile su otprilike

gliom			63% i 80% pod DR.
Tumor pluća ne-malih stanica	Pretkliničko	Kontrolna skupina: 0.43 ± 0.10 DR skupina 0.75 ± 0.18 mM (krv)	Volumen tumora bio je značajno inhibiran kod kontrolne skupine ( $636 \pm 102 \text{ mm}^3$ ) u usporedbi sa DR skupinom. ( $377 \pm 69 \text{ mm}^3$ ). Mikrookolina tumora poboljšana je nakon korištenja restriktivne dijeta.
Tumor crijeva	Pretkliničko	Oko 2 mM (krv)	Vrijeme preživljavanja u SD, MKD i LKD skupinama bilo je $24.8 \pm 3.1$ , $35.1 \pm 7.6$ and $33.8 \pm 6.7$ . Nekrotičko područje tumora povećano je u skupini tretiranoj KD.
Želučani adenokarcinom	Pretkliničko	SD vs. KD: $0.6 \pm 0.1$ vs. $1.3 \pm 0.5$ mM (krv)	Prosječno vrijeme preživljavanja životinja u KD skupini je $34.2 \pm 8.5$ , a u SD skupini je $23.3 \pm 3.9$ .

**Tablica 1.** Istraživanja o antitumorskom učinku ketogene dijeta ili suplementacije ketonskim tijelima.

KD: Ketogena dijeta; BD: 1, 3-butanediol; KE: Ketonski ester; HBOT: Hiperbarični kisik; DR: Restriktivna dijeta; KD-R: Dijetalne restrikcije ketogene dijeta; 2-DG: 2-deoksi-D-glukoza; SD-UR: Standardna prehrana glodavaca u neograničenim količinama; SD: Standardna prehrana; MKD: Ketogena dijeta bogata omega-3 masnim kiselinama i srednjelančanim trigliceridima; LKD: Ketogena dijeta bogata mastima.

( Izvor: FENG i sur., 2019.).



#### 4. ZAKLJUČAK

Iako mehanizam kojim ketogena dijeta pokazuje antikancerogeno djelovanje u kombinaciji s kemoterapijom i radioterapijom još nije u potpunosti razjašnjen, rezultati pretkliničkih studija pokazali su njenu upotrebu kao sigurnu i učinkovitu (ALLEN i sur., 2014.). Mehanizmi njenog djelovanja uključuju djelovanje na metabolizam tumora, ekspresiju gena i tumorsku mikrookoline. Dostupna znanstvena literatura ukazuje da bi, na temelju dosadašnjih istraživanja, stroga ketogena dijeta mogla biti korisna u liječenju niza različitih tumora. Osim izravnih učinaka na rast tumora, ketogena dijeta potencijalno poboljšava cjelokupno zdravstveno stanje, kao i kvalitetu života (WEBER i sur., 2019.).

Unatoč visokoj učinkovitosti kemoterapije i radijacije u uništavanju tumorskih stanica, neizbježan je i njihov štetan učinak na zdrave stanice. Upotreba nekih od terapija ograničena je zbog vrlo štetnog djelovanja na organizam. Uzimajući u obzir različitosti metaboličkih obilježja između tumorskih i zdravih stanica, povećana koncentracija ketonskih tijela ketonskom dijetom ili suplementacijom ketona predstavlja alternativni izvor energije i može biti dobar izbor za liječenje tumorskih oboljenja. Osim korištenja ketogene dijete kao monoterapije u liječenju tumorskih oboljenja, pokazala se i kao dobar dodatak kemoterapiji i radioterapiji pojačavajući njihov učinak (FENG i sur., 2019.).

Neki pojedinci mogu postići metaboličko stanje ketoze bez značajne redukcije težine, dok je nekima redukcija potrebna. S obzirom na navedeno, potreban je individualni pristup svakom pacijentu u određivanju unosa kalorija kako bi se postigao maksimalni terapijski učinak ketogene dijete (SEYFRIED i sur., 2011.). Daljnja klinička istraživanja na velikom broju pacijenata potrebna su kako bi se, uz unos kalorija, odredila i precizna prehrana (sastav i omjer) te optimalna koncentracija glukoze i ketonskih tijela u krvi za postizanje maksimalnog terapijskog učinka (WEBER i sur., 2019.).

Istraživanja na ljudima ukazala su na određene nuspojave, no zbog metaboličkih razlika među vrstama potrebno je provesti još mnogo istraživanja na životinjama kako bi se mogli

donijeti konačni zaključci o koristima i šteti primjene ketogene dijeta kao terapijskog hranidbenog pristupa na životinjama. Iako postoje mnogobrojni dokazi u istraživanjima provedenim na laboratorijskim životinjama i ljudima, navedeni rezultati i smjernice moraju se uzeti sa zadržkom zbog opsežnih metaboličkih razlika između vrsta.

## 5. POPIS LITERATURE

1. ALLEN, B. G., S. K. BHATIA, C. M. ANDERSON, J. M. EICHENBERGER-GILMORE, Z. A. SIBENALLER, K. A. MAPUSKAR, J. D. SCHOENFELD, J. M. BUATTI, D. R. SPITZ, M. A. FATH (2014.): Ketogenic diets as an adjuvant cancer therapy: history and potential mechanism. *Redox Biol.* 2, 963–970.
2. ALLEN, B.G., S. K. BHATIA, J. M. BUATTI, K. E. BRANDT, K. E. LINDHOLM, A. M. BUTTON, L. I. SZWEDA, B. J. SMITH, D. R. SPITZ, M. A. FATH (2013.): Ketogenic diets enhance oxidative stress and radio-chemo-therapy responses in lung cancer xenografts. *Clin. Cancer Res.* 19, 3905–3913.
3. AMIZADEH-GOHARI, S., R. G. FEICHTINGER, S. VIDALI, F. LOCKER, T. RUTHERFORD, M. O'DONNELL, A. STÖGER-KLEIBER, J. A. MAYR, W. SPERL, B. KOFLER (2017.): A ketogenic diet supplemented with medium-chain triglycerides enhances the anti-tumor and anti-angiogenic efficacy of chemotherapy on neuroblastoma xenografts in a CD1-nu mouse model. *Oncotarget* 8, 64728-64744.
4. AYKIN-BURNS, N., I. M. AHMAD, Y. ZHU, L. W. OBERLEY, D. R. SPITZ (2009.): Increased levels of superoxide and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mediate the differential susceptibility of cancer cells versus normal cells to glucose deprivation. *Biochem. J.* 418, 29–37.
5. BANSAL, S., L. CRAMP, D. BLALOCK, T. ZELLEKE, J. CARPENTER, A. KAO (2014.): The ketogenic diet: initiation at goal calories versus gradual caloric advancement. *Pediatr. Neurol.* 50, 26–30.

6. BARTRONS, R., H. SIMON-MOLAS, A. RODRÍGUEZ-GARCÍA, E. CASTAÑO, A. NAVARRO-SABATÉ, A. MANZANO, U. E. MARTINEZ-OUTSCHOORN (2018.): Fructose 2,6-Bisphosphate in Cancer Cell Metabolism. *Front. Oncol.* 8, 331.
7. BERGQVIST, C., J. I. SCHALL, V. A. STALLINGS, B. S. ZEMEL (2008.): Progressive bone mineral content loss in children with intractable epilepsy treated with the ketogenic diet. *Am. J. Clin. Nutr.* 88, 1678–1684.
8. BERGSTROM, J.D., G. A. WONG, P. A. EDWARDS, J. EDMOND (1984.): The regulation of acetoacetyl-CoA synthetase activity by modulators of cholesterol synthesis in vivo and the utilization of acetoacetate for cholesterologenesis. *J. Biol. Chem.* 259, 14548-14553.
9. BRANCO, A. F., A. FERREIRA, R. F. SIMÕES, S. MAGALHÃES-NOVAIS, C. ZEHOWSKI, E. COPE, A. M. SILVA, D. PEREIRA, V. A. SARDÃO, T. CUNHA-OLIVEIRA (2016.): Ketogenic diets: from cancer to mitochondrial diseases and beyond. *Eur. J. Clin. Invest* 46, 285–298.
10. BRYSON, B. D., F. M. WHITE (2012.): Signaling for death: tyrosine phosphorylation in the response to glucose deprivation. *Mol. Syst. Biol.* 8, 591-598.
11. BUETTNER, G. R. (2011.): Superoxide dismutase in redox biology: the roles of superoxide and hydrogen peroxide. *AntiCancer Agents Med. Chem.* 11, 341–346.
12. BUSE, G. J., K. D. RILEY, C. M. DRESS, T. D. NEUMASTER (2004.): Patient with gemfibrozil-controlled hypertriglyceridemia that developed acute pancreatitis after starting ketogenic diet. *Curr. Surg.* 61, 224-226.
13. CHOWDHURY, S. K., A. GEMIN, G. SINGH (2005.): High activity of mitochondrial glycerophosphate dehydrogenase and glycerophosphate-dependent ROS production in prostate cancer cell lines. *Biochem. Biophys. Res. Co.* 333, 1139–1145.

14. COLEGIO, O. R., N. Q. CHU, A. L. SZABO, T. CHU, A. M. RHEBERGEN, V. JAIRAM, N. CYRUS, C. E. BROKOWSKI, S. C. EISENBARTH, G. M. PHILLIPS, G. W. CLINE, A. J. PHILLIPS, R. MEDZHITOV (2014.): Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid. *Nature* 513, 559–563.
15. COPPOLA, G., P. VEGGIOTTI, E. M. DEL GIUDICE, G. BELLINI, F. LONGARETTI, M. TAGLIALATELA, A. PASCOTTO (2006.): Mutational scanning of potassium, sodium and chloride ion channels in malignant migrating partial seizures in infancy. *Brain & Dev.* 28, 76-79.
16. CUNHA-OLIVEIRA, T. (2016.): Ketogenic diets: from cancer to mitochondrial diseases and beyond. *Eur. J. Clin. Invest.* 46, 285-298.
17. DHAMIJA, R., S. ECKERT, E. WIRRELL (2013.): Ketogenic diet. *Can. J. Neurol. Sci.* 40, 158–67.
18. DHUP, S., R. K. DADHICH, P. E. PORPORATO, P. SONVEAUX (2012.): Multiple Biological Activities of Lactic Acid in Cancer: Influences on Tumor Growth, Angiogenesis and Metastasis. *Curr. Pharm. Design* 18, 1319-1330.
19. FENG, S., H. WANG, J. LIU, J. AA, F. ZHOU, G. WANG (2019.): Multi-dimensional Roles of Ketone Bodies in Cancer Biology: Opportunities for Cancer Therapy. *Pharmacol. Res.* 150, 104500.
20. GOETZE, K., S. WALENTA, M. KSIAZKIEWICZ, L. A. KUNZ-SCHUGHART, W. MUELLER-KLIESER (2011.): Lactate enhances motility of tumor cells and inhibits monocyte migration and cytokine release. *Int. J. Oncol.* 9, 453–463.
21. GRAY, A., B. N. DANG, T. B. MOORE, R. CLEMENS, P. PRESSMAN (2020.): A review of nutrition and dietary interventions in oncology. *SAGE open medicine* 8, 1-16.

22. HAYASHI, A., T. KUMADA, F. NOZAKI, I. HIEJIMA, T. MIYAJIMA, T. FUJII (2013.): Changes in serum levels of selenium, zinc and copper in patients on a ketogenic diet using Ketonformula. No. To. Hattatsu. 45, 288–293.
23. JARRETT, S. G., J. B. MILDNER, L. P. LIANG, M. PATEL (2008.): The ketogenic diet increases mitochondrial glutathione levels. J. Neurochem. 106, 1044-1051.
24. JAYASRI, K., K. PADMAJA, M. SAIBABA (2016.): Altered oxidative stress and carbohydrate metabolism in canine mammary tumors. Vet. World 9, 1489-1492.
25. KANG, H. C., D. E. CHUNG, D. W. KIM, H. D. KIM (2004.): Early- and late-onset complications of the ketogenic diet for intractable epilepsy. Epilepsia 45, 1116–1123.
26. KEENE, D. L. (2006.): A systematic review of the use of the ketogenic diet in childhood epilepsy. Ped. Neurol. 35, 1–5.
27. KUMARI, S., A. K. BADANA, M. G. MOHAN, G. SHAILENDER, R. MALLA (2018.): Reactive Oxygen Species: A Key Constituent in Cancer Survival. Biomarker Insights 13, 1–9.
28. LAW, T. H., E. S. DAVIES, Y. PAN, B. ZANGHI, E. WANT, H. A. VOLK (2015.): A randomised trial of a medium-chain TAG diet as treatment for dogs with idiopathic epilepsy. Br. J. Nutr. 114, 1438-1447.
29. LIBERTI, M. V., J. W. LOCASALE (2016.): The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells?. Trends Biochem Sci. 41, 211–218.
30. LIMA, P. A., L. P. SAMPAIO, N. R. DAMASCENO (2014.): Neurobiochemical mechanisms of a ketogenic diet in refractory epilepsy. Clinics (Sao Paulo) 69, 699–705.

31. LIU, Y. M., H. S. WANG (2013.): Medium-chain triglyceride ketogenic diet, an effective treatment for drug-resistant epilepsy and a comparison with other ketogenic diets. *Biomed. J.* 36, 9–15.
32. MANNINEN, V., L. TENKANEN, P. KOSKINEN, J. K. HUTTUNEN, M. MANTTARI, O. P. HEINONEN, M. H. FRICK (1992.): Joint effects of serum triglyceride and LDL cholesterol and HDL cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. Implications for treatment. *Circulation* 85, 37–45.
33. MILDNER, J. B., L. P. LIANG, M. PATEL (2010.): Acute Oxidative Stress and Systemic Nrf2 Activation by the Ketogenic Diet. *Neurobiol Dis.* 40, 238–244.
34. MITTLER, R. (2016.): ROS Are Good. *Trends in Plant Science* 22, 11-19.
35. MOSEK, A., H. NATOUR, M. Y. NEUFELD, Y. SHIFF, N. VAISMAN (2009.): Ketogenic diet treatment in adults with refractory epilepsy: a prospective pilot study, *Seizure* 18, 30–33.
36. NAKAMURA, K., H. TONOUCHE, A. SASAYAMA, K. ASHIDA (2018.): A Ketogenic Formula Prevents Tumor Progression and Cancer Cachexia by Attenuating Systemic Inflammation in Colon 26 Tumor-Bearing Mice. *Nutrients* 10, 206.
37. NEAL, E. G., H. CHAFFE, R. H. SCHWARTZ, M. S. LAWSON, N. EDWARDS, G. FITZSIMMONS, A. WHITNEY, J. H. CROSS (2008.): The ketogenic diet for the treatment of childhood epilepsy: a randomised controlled trial. *The Lancet Neurol.* 7, 500-506.
38. NEWMAN, J. C., E. VERDIN (2017.):  $\beta$ -Hydroxybutyrate: A Signaling Metabolite. *Ann. Rev. Nutr.* 37, 51-76.

39. NANGI A, S., R. H. CARABALLO, H. C. KANG, D. R. NORDLI, I. E. SCHEFFER (2012.): Is the ketogenic diet effective in specific epilepsy syndromes? *Epilepsy Res.* 100, 252-257.
40. PATRA, K.C., N. HAY (2014.): The pentose phosphate pathway and cancer. *Trends in Biochem. Sci.* 39, 347-354.
41. PAVLOVA, N. N., B. B. THOMPSON (2016.): The Emerging Hallmarks of Cancer Metabolism. *Cell Metabolism* 23, 27-47.
42. PELICANO, H., D. S. MARTIN, R. H. XU, P. HUANG (2006.): Glycolysis inhibition for anticancer treatment. *Oncogene* 25, 4633-4646.
43. POFF, A. M., C. ARI, P. ARNOLD, T. N. SEYFRIED, D. P. D'AGOSTINO (2014.): Ketone supplementation decreases tumor cell viability and prolongs survival of mice with metastatic cancer. *Int. J. Canc.* 135, 1711-1720.
44. PUCHALSKA, P., P. A. CRAWFORD (2017.): Multi-dimensional Roles of Ketone Bodies in Fuel Metabolism, Signaling, and Therapeutics. *Cell Metabol.* 25, 262-284.
45. ROTHBERG, J.M., K. M. BAILEY, J. W. WOJTKOWIAK, Y. BEN-NUN, M. BOGYO, E. WEBER, K. MOIN, G. BLUM, R. R. MATTINGLY, R. J. GILLIE, B. F. SLOANE (2013.): Acid-mediated tumor proteolysis: contribution of cysteine cathepsins. *Neoplasia* 15, 1125–1137.
46. SAMPATH, A., E. H. KOSSOFF, S. L. FURTH, P. L. PYZIK, E. P. VINING (2007): Kidney stones and the ketogenic diet: risk factors and prevention. *J. Child Neurol.* 22, 375–378.
47. SEYFRIED, T. N., M. A. KIEBISH, J. MARSH, L. M. SHELTON, L. C. HUYSENTRUYT, P. MUKHERJEE (2011): Metabolic management of brain cancer. *Biochim. Biophys. Acta.* 1807, 577–594.

48. SIRIKONDA, N. S., W. D. PATTEN, J. R. PHILLIPS, C. J. MULLETT (2012.): Ketogenic diet: rapid onset of selenium deficiency-induced cardiac decompensation. *Ped. Cardiol.* 33, 834-838.
49. STAFFORD, P., M. G. ABDELWAHAB, D. Y. KIM, M. C. PREUL, J. M. RHO, A. C. SCHECK (2010.): The ketogenic diet reverses gene expression patterns and reduces reactive oxygen species levels when used as an adjuvant therapy for glioma. *Nutrition & Metabolism* 7, 74.
50. STERN, R., S. SHUSTER, B. A. NEUDECKER, B. FORMBY (2002.): Lactate stimulates fibroblast expression of hyaluronan and CD44: the Warburg effect revisited. *Exp. Cell Res.* 276, 24-31.
51. VAIL, D. M., G. K. OGILVIE, M. J. FETTMAN, S. L. WHEELER (1990.): Exacerbation of hyperlactatemia by infusion of lactated Ringer's solution in dogs with lymphoma. *J. Vet. Int. Med.* 4, 228-232.
52. VEECH, R. L. (2004.): The therapeutic implications of ketone bodies: the effects of ketone bodies in pathological conditions: ketosis, ketogenic diet, redox states, insulin resistance, and mitochondrial metabolism. Prostaglandins, leukotrienes, and essential fatty acids. *Plefa* 70, 309-319.
53. VIDALI, S., S. AMINZADEH, B. LAMBERT, T. RUTHERFORD, W. SPERL, B. KOFLER, R. G. FEICHTINGER (2015.): Mitochondria: The ketogenic diet- A metabolism-based therapy. *Int. J. Biochem. & Cell Biol.* 63, 55-59.
54. WARBURG, O. (1956.): On the origin of cancer cells. *Science* 123, 309-314.
55. WEBER, D. D., S. AMINZADEH-GOHARI, J. TULIPAN, L. CATALANO, R. G. FEICHTINGER, B. KOFLER (2019.): Ketogenic diet in the treatment of cancer – Where do we stand?, *Mol. Met.* 33, 102-121.



56. WEBER, D. D., S. AMINZADEH-GOHARI, B. KOFLER (2018.): Ketogenic diet in cancer therapy. *Aging* 10, 164-165.
57. WESTERTERP-PLANTENGA, M. S., A. NIEUWENHUIZEN, D. TOMÉ, S. SOENEN, K. R. WESTERTERP (2009.): Dietary protein, weight loss, and weight maintenance. *Ann. Rev. Nutr.* 29, 21–41.
58. WHELESS, J. W. (2004.): History and origin of the ketogenic diet. U: *Epilepsy and the Ketogenic Diet* (Stafstrom, C. E., J. M., Rho), Humana Press, Totowa, NJ, 31–50.
59. WIBISONO, C., N. ROWE, E. BEAVIS, H. KOPREOTES, F. E. MACKIE, J. A. LAWSON, M. CARDAMONE (2015.): Ten-year single-center experience of the ketogenic diet: factors influencing efficacy, tolerability, and compliance. *J. Pediatr.* 166, 1030–1036.

## 6. SAŽETAK

Utjecaj ketogene dijeta na rast i preživljavanje tumorskih stanica kod životinja

Neoplazije predstavljaju jedan od najvećih zdravstvenih problema diljem svijeta te su česti uzrok uginuća životinja. Još uvijek nedostaju metode kojima će se značajno povećati učinak standardnih antikancerogenih terapija. Pod pojmom ketogene dijeta podrazumijevamo unos visokog udjela masti, niskog udjela ugljikohidrata te umjerenog unosa proteina. Posljedično unosu makronutrijenata u navedenim udjelima, dolazi do promjena u energetske metabolizmu: postiže se stanje ketoze i hipoglikemije. Stanje ketoze može se postići razdobljima posta ili smanjenim unosom tj. restrikcijom ugljikohidrata u prehrani. Metaboličke disfunkcije koje se javljaju u tumorskim stanicama predstavljaju potencijalne terapijske strategije u liječenju tumorskih oboljenja. Tumorske stanice koriste glikolizu umjesto oksidativnu fosforilaciju za stvaranje ATP-a čak i anaerobnim uvjetima. Pojačana

glikoliza predstavlja kompenzatorni odgovor na poremećaj u mitohondrijskom staničnom disanju stoga bi primjena ketogene dijeta, limitirajući potrošnju glukoze, poticala oksidativni metabolizam mitohondrija i time izložila tumorske stanice metaboličkom oksidativnom stresu. Neki tumori nemaju mogućnost iskorištavanja ketonskih tijela za dobivanje energije pa je svrha ketogene dijeta smanjiti koncentraciju glukoze i povećati koncentraciju ketonskih tijela kako bi tumorske stanice ostale bez energije, a zdrave koristile ketonska tijela kao izvor energije. Dosadašnja istraživanja ukazuju na povoljni utjecaj ketogene dijeta kao pomoćne terapije u liječenju tumorskih oboljenja, ali i u liječenju drugih patoloških stanja. Unatoč dobrim rezultatima, neka istraživanja ukazuju i na određene kratkoročne i dugoročne nuspojave kao što su gastrointestinalne smetnje, hiperlipidemija, hiperkolesterolemija, nefrolitijaza, kardiomiopatije, niska razina albumina i karnitina u krvi, povećan rizik od infekcije, deficit određenih vitamina i minerala te rijetko fatalni pankreatitis. S obzirom na različite metaboličke potrebe, potreban je individualan pristup kliničara i dijetetičara kako bi se postigao maksimalni terapijski učinak ketogene dijeta kod svakog pojedinog pacijenta. Svakako je potrebno još prekliničkih i kliničkih istraživanja za određivanje unosa kalorija, precizne prehrane (sastav i omjer) te optimalne koncentracije glukoze i ketonskih tijela u krvi, uzimajući u obzir metaboličke razlike među vrstama. Prehrana za onkološke pacijente trebala bi daljnjim istraživanjima postati specifična za određeni tip tumora i stadij bolesti.

Ključne riječi: ketogena dijeta, tumorske stanice, metabolizam, terapija

## 7. SUMMARY

### Influence of ketogenic diet on tumor cell growth and survival in animals

Neoplasms are one of the biggest health problems worldwide and are a common cause of animal deaths. There is still a lack of methods to significantly increase the effect of standard anticancer therapies. The term ketogenic diet means a high fat intake, a low carbohydrate intake and a moderate protein intake. Consequently, the intake of macronutrients in these proportions, there are changes in energy metabolism: a state of ketosis and hypoglycemia is achieved. The state of ketosis can be achieved by periods of fasting or

restriction of carbohydrates in the diet. Metabolic dysfunctions that occur in tumor cells represent potential therapeutic strategies in the treatment of tumor diseases. Tumor cells use glycolysis instead of oxidative phosphorylation to generate ATP even under anaerobic conditions. Increased glycolysis is a compensatory response to a disorder in mitochondrial cellular respiration therefore the application of a ketogenic diet, limiting glucose consumption, would stimulate oxidative mitochondrial metabolism and thus expose tumor cells to metabolic oxidative stress. Some tumors do not have the ability to use ketone bodies for energy, so the purpose of a ketogenic diet is to reduce the concentration of glucose and increase the concentration of ketone bodies so that tumor cells run out of energy and healthy ones use ketone bodies as a source of energy. Previous research indicates a beneficial effect of ketogenic diet as an adjuvant therapy in the treatment of tumors, but also in the treatment of other pathological conditions. Despite good results, some studies also indicate certain short-term and long-term side effects such as gastrointestinal disorders, hyperlipidemia, hypercholesterolemia, nephrolithiasis, cardiomyopathy, low blood albumin and carnitine levels, increased risk of infection, deficiency of certain vitamins and minerals and rare fatal pancreatitis. Given the different metabolic needs, an individual approach by clinicians and dietitians is required to achieve the maximum therapeutic effect of the ketogenic diet in each individual patient. More preclinical and clinical research is certainly needed to determine calorie intake, precise diet (composition and ratio), and optimal blood glucose and ketone body concentrations, taking into account metabolic differences between species. The diet for oncology patients should become specific to a particular tumor type and stage of the disease through further research.

Key words: ketogenic diet, tumor cells, metabolism, therapy

## 8. ŽIVOTOPIS

Rođena sam 30.10.1990. u Zagrebu. 2004. godine završila sam osnovnu školu Susedgrad te upisala Gimnaziju Tituša Brezovačkog. Po završetku gimnazije, 2009. godine, upisala sam Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu.