

Ketonska tijela u energetske metabolizmu, staničnoj signalizaciji i terapijskoj primjeni

Mudrovčić, Klaudia

Undergraduate thesis / Završni rad

2024

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:082364>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-03-11**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Klaudia Mudrovčić

KETONSKA TIJELA U ENERGETSKOM METABOLIZMU,
STANIČNOJ SIGNALIZACIJI I TERAPIJSKOJ PRIMJENI

Završni rad

Rijeka, rujan, 2024.

SVEUČILIŠTE U RIJECI

MEDICINSKI FAKULTET

SVEUČILIŠNI PRIJEDIPLOMSKI STUDIJ

SANITARNOG INŽENJERSTVA

Klaudia Mudrovčić

KETONSKA TIJELA U ENERGETSKOM METABOLIZMU,
STANIČNOJ SIGNALIZACIJI I TERAPIJSKOJ PRIMJENI

Završni rad

Rijeka, rujan, 2024.

Mentor rada: Jelena Marinić, dipl.ing.preh.teh. doc.dr.sc.

Završni rad obranjen je dana _____ na Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci, pred povjerenstvom u sastavu:

1. izv. prof. dr. sc. Lara Batičić, dipl. sanit. ing. (predsjednica Povjerenstva)
2. doc. dr. sc. Sunčica Buljević, dipl. sanit. ing.
3. doc. dr. sc. Jelena Marinić, dipl. ing. preh. teh.

Rad sadrži 77 stranica, 7 slika, 3 tablica, 290 literaturnih navoda.

Sadržaj

Sažetak	IV
Summary	V
1. Uvod i pregled područja	1
2. Svrha rada	6
3. Pregled literature na zadanu temu	7
3.1. Masne kiseline i ketonska tijela u održavanju energetske homeostaze	7
3.1.1. Preustoj metabolizma u gladovanju.....	8
3.2. Biokemija ketonskih tijela	9
3.2.1. Ketogeneza	10
3.2.2. Ketoliza	14
3.2.3. Regulacija sinteze i korištenja ketonskih tijela.....	15
3.2.3.1. Regulacija aktivnosti ketogenih i ketolitičkih enzima.....	16
3.2.3.2. Transkripcijska i post-translacijska regulacija HMGCS2 i SCOT	18
3.2.3.3. Fiziološke posljedice stvaranja ketonskih tijela	20
3.3.1. Ketoza.....	21
3.3.1.1. Fiziološka ketoza	21
3.3.1.2. Dijabetička ketoacidoza.....	22
3.3. Određivanje ketonskih tijela u kliničkoj praksi	23
3.3.1. Tradicionalne metode ispitivanja ketona.....	23
3.3.2. Kvantitativni testovi na D-3-hidroksibutirat (3HB) u krvi	24
3.4. Neoksidativne sudbine ketonskih tijela	26
3.5. Signalne funkcije ketonskih tijela	27
3.5.1.1. Vežanje D-3-hidroksibutirata (3HB-a) za receptore na površini stanice.....	27
3.5.1.2. D-3-hidroksibutirat (3HB) kao inhibitor HDAC klase I.....	28
3.5.1.3. β -Hidroksibutirilacija proteina	30
3.6. Upalni i protuupalni odgovori na ketonska tijela	32
3.7. Ketonska tijela i oksidacijski stres	33
3.8. Ketonska tijela, pretilost i nealkoholna masna bolest jetre	35
3.9. Ketonska tijela i miokard	36
3.9.1. Ketonska tijela i zatajenje srca	37
3.9.2. Pristupi usmjereni na ketonska tijela u aterosklerozi i kardiovaskularni rizik	37
3.10. Ketonska tijela u biologiji tumora	38

3.10.1. Pristupi usmjereni na ketonska tijela u onkološkoj terapiji	39
3.11. Pristupi usmjereni na ketonska tijela i crijevna mikrobiota	40
3.12. Ketonska tijela i tjelesna aktivnost	42
3.12.1. Metabolizam ketonskih tijela tijekom vježbanja	42
3.12.1.1. Metabolizam ketonskih tijela tijekom vježbanja u uvjetima endogene ketoze.....	43
3.12.1.2. Hiperketonemija endogenog podrijetla.....	43
3.12.1.3. Hiperketonemija egzogenog podrijetla i suplementacija egzogenih ketonskih tijela	45
3.12.1.4. Metabolizam ketonskih tijela nakon vježbanja: ketoza nakon vježbanja	45
3.13. Pristupi usmjereni na ketonska tijela u kontroli tjelesne težine i šećerne bolesti.....	46
3.14. Pristupi usmjereni na ketonska tijela u Alzheimer-ovoj bolesti	47
3.15.. Pristupi usmjereni na ketonska tijela u epilepsiji.....	48
4. Rasprava.....	50
5. Zaključci.....	57
6. Literatura	58
7. Popis kratica i akronima.....	66
8. Životopis	68
9. Prilog.....	69

Sažetak

Ketonska tijela jedno su od glavnih središta fiziološke homeostaze. Pomoćno su metaboličko gorivo koje zamjenjuje glukozu u većini ekstrahepatičkih tkiva u situacijama ograničene dostupnosti ugljikohidrata, ili nemogućnosti njihovog iskorištavanja. Ove molekule nastaju ketogenezom u jetri, a metaboličkim procesom ketolize iskorištavaju se u ekstrahepatičkim tkivima u energetske svrhe. Pored toga, ketonska tijela su i međuprodukti nekoliko metaboličkih puteva i signalne molekule koje putem površinskih receptora, epigenetičkom regulacijom transkripcije gena i još nepoznatim mehanizmima utječu na mnoge stanične funkcije. Ova nekanonska djelovanja ketonskih tijela odaju sliku moćnih molekula koja nude mogućnosti terapijske primjene kod raznih zdravstvenih stanja kroz modulaciju upale, oksidacijskog oštećenja, acetilaciju histona i druge mehanizme. Ovime se i proširuje razumijevanje fiziološke uloge ketonskih tijela izvan one u održanju energetske homeostaze i ukazuje na njihov pleiotropan potencijal, zbog čega je danas ketonskim tijelima dodijeljena uloga medijatora metaboličkog zdravlja. Stoga je svrha u ovom radu opisati metabolizam i pleiotropne uloge ketonskih tijela s tradacionalnog i suvremenog gledišta te istaknuti fiziološki i terapijski potencijal ovih molekula.

Ključne riječi: ketonska tijela, energetska homeostaza, ketoza, post-translacijska modifikacija histona, GPCR-signalizacija

Summary

Ketone bodies are one of the main molecules of physiological homeostasis. They are auxiliary metabolic fuel that replaces glucose in most extrahepatic tissues in situations of limited carbohydrate availability, or inability to utilize them. These molecules are produced by ketogenesis in the liver, while the metabolic process of ketolysis exploits ketone bodies in extrahepatic tissues for energy purposes. In addition, ketone bodies are also intermediates on multiple metabolic pathways and signaling molecules that, through surface receptors, epigenetic regulation of gene transcription, and yet unknown mechanisms, influence many cellular functions. These noncanonical actions of ketone bodies give an image of powerful molecules that offer therapeutic applications in a variety of health conditions through modulation of inflammation oxidative damage, histone acetylation, alteration of cellular redox status, and other mechanisms. This also extends the understanding of physiological role of ketone bodies beyond that of maintaining energy homeostasis and points to their pleiotropic potential, which is why ketone bodies are today assigned the role of mediators of metabolic health. Therefore, the purpose of this thesis is to describe the metabolism and pleiotropic roles of ketone bodies from a traditional and modern point of view and to highlight the physiological and therapeutic potential of these molecules.

Key words: ketone bodies, energy homeostasis, ketosis, post-translational modifications of histones, GPCR-signalling

1. Uvod i pregled područja

Pijete kavu s maslacem? Grickate ekstramasni tvrdi sir? Konzumirate malo ili nimalo voća? Žitarice i proizvode zamjenjujete kruhom napravljenim od jaja, orašastih plodova i sjemenki? Ribanim škrobnim povrćem i prepreženim mahunarkama oskudno posipate salatu? Tada vjerojatno slijedite ¹ketogenu (ili keto) dijetu – plan prehrane s visokim udjelom masti, umjerenim unosom proteina i iznimno niskim udjelom ugljikohidrata, obično manjim od 50 g/dan (1). Ovaj plan prehrane oponaša metabolizam u postu (ali bez značajne deprivacije kalorija), tijekom kojega metabolizam s iskorištavanja glukoze – poželjnog metaboličkog goriva za sve stanice, skreće ka iskorištavanju ketonskih tijela u energetske svrhe (3, 4). Stoga, kada je unos ugljikohidrata minimalan, ili tijekom prvih par sati gladovanja, koncentracija glukoze u krvi održava se stalnom glikogenolizom u jetri. Međutim, zalihe jetrenog glikogena su ograničene i iscrpe se nakon približno 30 sati gladovanja, pa nakon tog perioda glukoneogeneza iz preteča, kao što su glukogene aminokiseline i glicerol, postaje glavni izvor glukoze u cirkulaciji. Nakon 3 – 4 dana ovisnost o glukoneogenezi se smanjuje, a pospješuje se oslobađanje masnih kiselina lipolizom u masnom tkivu. Nakon prijenosa u jetru, masne kiseline oksidiraju se u molekule acetil-CoA iz kojih potom nastaju ketonska tijela. Po sintezi, ketonska tijela se cirkulacijom distribuiraju u metabolički aktivna tkiva, poput mišića ili mozga, gdje se metaboliziraju u jednu od središnjih molekula energetskog metabolizma, acetil-CoA, i na kraju u ATP. Na ovaj način tijelo ulazi u stanje ketoze, a metabolizam s iskorištavanja glukoze, skreće ka iskorištavanju ketonskih tijela kao izvora energije (6, 7).

Ketonska tijela imaju središnju ulogu u intermedijarnom metabolizmu i fiziološkoj homeostazi, a obuhvaćaju tri u vodi topljive molekule niske molekulske mase i relativno niske toksičnosti: D-3-hidroksibutirat (3HB; poznat i kao β -hidroksibutirat), acetoacetat – biosintetski prekursor 3HB-a, i produkt dekarboksilacije acetoacetata – aceton. Ove molekule metaboličkog goriva nastaju katabolizmom slobodnih masnih kiselina i, u manjoj mjeri, razgradnjom

¹ Radi konteksta, jedna banana od 15 cm ima 30 grama ugljikohidrata, a jedna šalica kuhane tjestenine ima 45 grama. Pojedince na keto dijeti potiče se da svoj dnevni unos kalorija razlože na otprilike 70 – 80% masti, 10 – 20% proteina i 5 – 10% ugljikohidrata, što se postiže konzumacijom hrane s visokim udjelom masnoće – uključujući maslac, ulja, meso, ribu, jaja i sir – te povrća s vrlo malo ugljikohidrata poput cvjetače i lisnatog povrća (2, 3).

ketogenih aminokiselina, u fiziološkom procesu ketogeneze koji se većinom odvija u mitohondrijima jetre tijekom razdoblja ograničene dostupnosti glukoze. Nastala ketonska tijela potom se koriste kao alternativan metabolički izvor energije ugljikohidratima u ekstrahepatičkim tkivima u procesu poznatom kao ketoliza (7).

Kod zdravog, dobro uhranjenog odraslog pojedinca koncentracija ketonskih tijela u plazmi varira od 0,05 – 0,1 mM nakon noćnog gladovanja, raste na 1 – 2 mM nakon 2 dana gladovanja, a razine dosežu 5 – 8 mM kod dugotrajnog gladovanja. Osim u postu, pojačana sinteza ketonskih tijela bilježi se kod dugotrajnog fizičkog napora, kod prehrane s visokim udjelom masti, a restriktivne na ugljikohidratima, u trudnoći i neonatalnom razdoblju. Stanje u kojem se javlja porast koncentracije ketonskih tijela u krvi naziva se ketonemijom, a stanje u kojem je povećano njihovo izlučivanje mokraćom poznato je kao ketonurija. Općenito, ketonemija i ketonurija se zajednički nazivaju ketoza (3, 9). Kada se aktivira ketogeneza, kao što je tijekom posta, razine 3HB-a u krvi rastu mnogo brže od acetoacetata ili acetona, pa je 3HB kvantitativno najzastupljenije ketonsko tijelo, zbog čega se često naziva molekulom “ekstremne gladi” (10). Tako, u ljudi, serumske razine 3HB-a i acetoacetata su obično u niskom mikromolarnom rasponu, dok se aceton ne može detektirati. Razina 3HB-a počinje rasti na nekoliko stotina mikromolarnu nakon 12 – 16 sati gladovanja, dosežući 1 – 2 mM nakon 2 dana gladovanja i 6 – 8 mM s produljenim gladovanjem. U potonjem slučaju koncentracija preostala dva ketonska tijela, acetoacetata i acetona, približno je ista i iznosi 1 – 2 mM. Slično, serumske razine 3HB-a mogu doseći 1 – 2 mM nakon 90 minuta intenzivnog vježbanja, a razine iznad 2 mM također se postižu ketogenom dijetom. Djeca proizvode i iskorištavaju 3HB učinkovitije od odraslih, što je sposobnost ključna u danima neposredno nakon rođenja, kada mozak ovisi o ketonskim tijelima kao izvoru energije, a razine u serumu mogu doseći 2 - 3 mM. Starije osobe stvaraju ketonska tijela nakon brzog ili ketogenog obroka u istoj mjeri kao i mlađe odrasle osobe (6,7).

Razina 3HB-a od 6 – 8 mM u gladovanju je relativno jedinstvena za čovjeka, a smatra se da predstavlja evolucijsku prednost (11). Naime, kao prevladavajuće ketonsko tijelo, 3HB nadmašuje ostala ketonska tijela u istiskivanju glukoze kao glavnog goriva za mozak – organ koji je najveći potrošač tog energenta. Time se pojačanom sintezom 3HB-a smanjuje potreba za sintezom glukoze u jetri (i bubrezima) i prema tome štede preteče iz kojih je moguća sinteza glukoze glukoneogenezom – u prvom redu glukogene aminokiseline dobivene razgradnjom tkivnih proteina, uglavnom iz mišića. Uzimajući u obzir da proteini obavljaju niz za život vitalnih funkcija, skretanje metabolizma s iskorištavanja glukoze na iskorištavanje 3HB-a važna je prilagodba na gladovanje koja omogućuje preživljavanje na duži vremenski period.

Osim toga, 3HB ujedno osigurava više stanične energije po jedinici potrošenog kisika, pa je i bolje gorivo od glukoze ili masnih kiselina, zbog čega se naziva i “supergorivom za mozak”. Navedena dva razloga čine 3HB evolucijski važnom molekulom za koju se smatra da je doprinijela razvoju mozga *Homo sapiens*a i njegovom opstanku tijekom perioda česte gladi uzrokovane prirodnim katastrofama, kao i one koje je izazvao sam čovjek tijekom neprijateljstava i seoba (12, 11). Stoga su 3HB i ostala ketonska tijela jedinstvene molekule metaboličkog goriva budući da, unatoč drastičnim promjenama u koncentraciji, i dalje omogućuju održavanje života, što nije slučaj s ostalim energijom bogatom metaboličkim međuproduktima. Tako se blaga ketonemija nakon ketogene dijete, povremenog posta ili ograničenja energetske unosa, pokazala korisnom u životinjskim modelima i kliničkim istraživanjima, dovodeći do poboljšanih metaboličkih profila, produljenog životnog vijeka i poboljšanih neuroloških odgovora (8). Međutim, iznimno visok porast plazmatske koncentracije ketonskih tijela, čak i do 20 mM pa i više, obilježje je patoloških stanja, kao što je dijabetička ketoacidoza (DKA). DKA je akutna, po život opasna komplikacija šećerne bolesti, većinom šećerne bolesti tipa 1 (T1ŠB), a susreće se i kod alkoholne ketoacidoze, trovanja salicilatima i kod nekih rijetkih metaboličkih poremećaja (3, 13). Kod dijabetičke ketoacidoze, 3HB može porasti na 10 – 20 mM i više, acetoacetat do 1/4 te koncentracije, dok porast koncentracije acetona može iznositi do 10 mM, ovisno o trajanju ketoacidoze. Zahvaljujući svojoj hlapljivosti i slatkastom mirisu, aceton se može detektirati u dah, koži i urinu, pa je i danas od dijagnostičkog značaja kao pokazatelj uznapredovale ketogeneze (7).

Osim što su alternativan izvor energije glukozi, ketonska tijela su i metabolički međuprodukti na putovima kao što su ciklus limunske kiseline (CLK), respiracijski lanac, β -oksidacija masnih kiselina, metabolizam glukoze, *de novo* lipogeneza i biosinteza kolesterola (11). No, imaju i nekanonska djelovanja kao signalne molekule koje putem površinskih receptora, epigenetičkom regulacijom transkripcije gena i još nepoznatim mehanizmima utječu na mnoge stanične funkcije (8, 15, 16). Ovo se prvenstveno odnosi na 3HB, za kojeg je pokazano da može inhibirati histonsku deacetilazu (HDAC), enzim koji uklanja acetilacijske oznake na ϵ -amino skupini lizina u histonima čime sudjeluje u kontroli epigenetičke post-translacijske modifikacije (PTM) proteina. Pokazalo se da je hiperacetilacija histona koja nastaje kao posljedica spomenute inhibicije povezana s antioksidacijskim svojstvima 3HB-a u mišjem modelu (17). Smatra se da 3HB djeluje i kao protuupalna molekula ciljanjem na inflamosome, citosolne multiproteinske komplekse urođenog imunološkog sustava koji su odgovorni za aktivaciju upalnih odgovora i stanične smrti (11). Osim toga, zabilježena je nova PTM histona nazvana β -hidroksibutirilacija, koja se sastoji od stvaranja amidne veze između

karboksilne skupine 3HB-a i ϵ -amino skupine lizina. Ovo otkriće proširilo je repertoar PTM-ova histona i pozicioniralo 3HB kao molekulu uključenu u epigenetičku kontrolu transkripcije (18).

Sveukupno, ova opažanja odaju sliku moćnih molekula koja nude i mogućnosti terapijske primjene kod raznih zdravstvenih stanja kroz modulaciju upale, oksidativnog oštećenja, acetilaciju histona, promjenu staničnog redoks stanja i druge mehanizme (12). Ovime se i proširuje razumijevanje fiziološke uloge ketonskih tijela izvan one u održanju energetske homeostaze i ukazuje na njihov pleiotropan potencijal, zbog čega je danas ketonskim tijelima dodijeljena uloga medijatora metaboličkog zdravlja (19, 20, 21). Ovakav status ketonska tijela uživala su još u ranim 1920-im godinama, kada je ketogeni plan prehrane uveden kao medicinski pristup liječenju epilepsije, posebno kod pacijenata koji ne reagiraju adekvatno na terapiju lijekovima. S osvitom moderne ere liječenja antiepilepticima, ketogena dijeta, nakon dva desetljeća primjene, pala je u zaborav (22). Posljednjih dvadesetak godina bilježi se revitalizacija primjene i znanstvenog interesa za ketogenu dijetu koja ujedno pridobiva sve veći broj sljedbenika čija je želja pospješiti gubitak težine i mentalno blagostanje (23). Danas se ketogena dijeta smatra učinkovitim terapijskim pristupom u kontroli epilepsije otporne na lijekove prema preporuci Cochrane kolaboracije – jedne od institucija koje promiču medicinu temeljenu na dokazima – te Nacionalnog instituta za zdravlje i kliničku izvrsnost (engl. *National Institute of Healthcare and Excellence*; NICE) (24, 25). Također, pokazane su i moguće dobrobiti ketogene dijetu u različitim neurološkim poremećajima, kao što je blago kognitivno oštećenje, poremećaj nedostatka kinaze 5 slične ciklinu ovisnoj kinazi (CDKL5) (engl. *Cyclin-dependent kinase-like 5 (CDKL5) deficiency*), nedostatak kompleksa piruvat-dehidrogenaze, Alzheimerova i Parkinsonova bolest (3). Osim što nadopunjuju repertoar poznatih terapijskih opcija za bolesti živčanog sustava, ketonska tijela temeljem pleiotrofnog djelovanja otvaraju i terapijske mogućnosti za širok raspon zdravstvenih stanja, kao što su ona povezana s metaboličkom disfunkcijom, poput šećerne bolesti tipa 2 (T2ŠB), T1ŠB i pretilosti, potom crijevni poremećaji, respiratorni kompromis, bolesti srca i krvnih žila te rak (9, 26). U 2020. godini na internet stranici *clinicaltrials.com* zabilježeno je 85 planiranih ili aktivnih istraživanja moguće primjene ketogene dijetu ili dijetu s niskim unosom ugljikohidrata za bolesti brojnih organskih sustava, uključujući kardiovaskularne, endokrine, gastrointestinalne, neurološke i psihijatrijske. Ipak, zbog mogućih zdravstvenih rizika potrebna su klinička ispitivanja kako bi se na znanstvenoj osnovi procijenila važna pitanja o dugoročnim učincima i punom potencijalu primjene ketogene dijetu u kliničkom okruženju i ne medicinskoj praksi.

Iako su ketogene dijete u fokusu brojnih istraživanja i u kliničkoj primjeni kao terapeutici za stanja od epilepsije do pretilosti, složeni su planovi prehrane s više mogućih aktivnih komponenti. Stoga je u ovom radu fokus usmjeren samo na ketonska tijela, a njihovi učinci koji su ovdje sažeti mogu stajati u pozadini molekulskih mehanizama intervencija kao što su post, restrikcije u prehrani i ketogene dijete.

2. Svrha rada

Svrha je u ovom završnom preglednom radu opisati metabolizam i pleiotropne uloge ketonskih tijela s tradacionalnog i suvremenog gledišta te istaknuti fiziološki i terapijski potencijal ovih molekula.

Prvo se razmatra metabolizam ketonskih tijela i molekulska signalizacija, a zatim se povezuje razumijevanje biokemije ketonskih tijela s njihovim pretpostavljenim ili dokazanim zdravstvenim dobitima. Daje se pregled fizioloških posljedica iskorištavanja ketonskih tijela, usredotočujući se na (i) fiziološke i patološke uzroke ketoze, (ii) signalizaciju preko površinskih receptora (iii) epigenetičke modifikacije koje utječu na ekspresiju gena (putem post-translacijske modifikacije histona, prvenstveno β -hidroksibutirilacije i acetilacije), (iv) oksidacijski stres (v) potencijal primjene ketonskih tijela u kontekstu metaboličkog zdravlja, upalnih bolesti, kardiovaskularne, kognitivne i imunološke funkcije, zdravlja crijeva i tjelesne kondicije.

3. Pregled literature na zadanu temu

3.1. Masne kiseline i ketonska tijela u održavanju energetske homeostaze

Uz glikogen, zalihe triacilglicerola (masti, TA) važan su izvor pohrambene energije (Prilog, Tablica 1). Iako je glikogen prvi izvor energije u potrebi, pohranjuje se hidratiziran, gdje 1 gram glikogena veže 2 grama vode, pa stoga sadrži oko sedam puta manje metaboličke energije po gramu od masti. Dok se mišićni glikogen koristi za održavanje energetske potreba tog organa, jetreni glikogen izvorom je glukoze koja se može otpustiti u krvotok i iskoristiti za zadovoljenje energetske potreba ostalih tkiva. No, zalihe glukoze pohranjene u jetrenom glikogenu (80 – 100 g u odraslih) dostatne za održavanje fizioloških funkcija ne dulje od jednoga dana, te se po njihovom iscrpljivanju glukoza u krvi održava na suboptimalnoj razini glukoneogenezom u jetri. U odnosu na glikogen, zalihe TA se smatraju superiornijim pohrambenim gorivom koje omogućuje preživljavanje tijekom dužeg vremenskog perioda budući se pohranjuju u bezvodnom obliku, pa je u manjem volumenu moguće pohraniti veću količinu TA, a s obzirom da su atomi ugljika u masnim kiselinama TA reduciraniji nego oni u ugljikohidratima, njihovom se oksidacijom oslobađa više energije (27).

U uvjetima kao što je post, dugotrajno gladovanje, prehrana s visokim udjelom masti, a restriktivna na ugljikohidratima ili dugotrajna fizička aktivnost niskog do srednjeg inteziteta, smanjuje se razina inzulina, a povećava razina glukagona, adrenalina, noradrenalina tireotropnog hormona (TSH) i adrenokortikotropnog hormon (ACTH) koji pospješuju mobilizaciju TA iz masnog tkiva u procesu lipolize, uz posljedični porast razine masnih kiselina u krvi koje se tada počinju iskorištavati kao izvor energije u metaboličkim procesima koji zahtijevaju kisik. Stoga su masne kiseline izvor energije za većinu tkiva, izuzev eritrocita i mozga. Eritrociti ne koriste masne kiseline jer nemaju mitohondrije – centrale oksidacijskog metabolizma, a za takve stanice jedini izvor energije je anaerobni metabolizam glukoze. Mozak ne iskorištava masne kiseline za energiju jer su čvrsto vezane za albumin i druge serumske proteine, pa ne mogu prijeći mozgovno-krvnu barijeru. S druge strane, GLUT1 (izoforma 1 prijenosnika glukoze, kodirana genom *Glut1/Slc2a1*), prijenosnik glukoze visokog afiniteta ($K_M = 1 - 2 \text{ mM}$), glavni je posrednik koji omogućuje energetske neovisan, olakšan transport glukoze kroz krvno-moždanu barijeru i njen prijenos do astrocita i neurona (28). Zapravo, mozak je jedno od energetski najzahtjevnijih tkiva koji je ovisan o glukozi kao glavnom energentu te u odrasloj dobi troši oko 20% bazalnog metabolizma, odnosno 100-120 grama

glukoze/24 sata, a u djeteta je još i zahtjevniji i treba otprilike dvostruko više glukoze od mozga odrasle osobe po gramu moždanog tkiva (5). Međutim, mozak se može postepeno adaptirati na iskorištavanje ketonskih tijela kao alternativnog izvora energije glukozi, pa tijekom dugotrajnog gladovanja ona mogu zadovoljiti i do 2/3 energetske potrebe mozga. No, i brojna druga tkiva, s izuzetkom jetre, eritrocita i malignih stanica (27) koriste ketonska tijela kao izvor energije, čak i u normalnim metaboličkim uvjetima.

3.1.1. Preustroj metabolizma u gladovanju

U gladovanju, dolazi do metaboličkog preustroja, kada metabolizam s iskorištavanjem glukoze skreće prema iskorištavanju ketonskih tijela kao izvora energije.

Glavni je cilj metabolizma u gladovanju opskrbiti mozak glukozom kao i ona tkiva koja se isključivo oslanjaju na glukozu kao metaboličko gorivo. U postapsorpcijskom stanju, uslijed nedostataka ugljikohidrata u prehrani, smanjuje se razina inzulina, a povećava razina glukagona. Ove hormonalne promjene pospješuju glikogenolizu u jetri, pa već u prvim satima posta, dva do tri sata nakon obroka, jetreni glikogen postaje glavni izvor glukoze i zadovoljava približno 75% potreba na glukozu tijekom 24 sata posta. Otprilike tri do četiri sata nakon obroka u krvi počinje rasti koncentracija masnih kiselina, a postupno se povećava s vremenom gladovanja, do otprilike drugog do trećeg dana po postu (Prilog, Slika 1).

U čovjeka koji gladi preko noći, zahvaljujući relativno niskoj razini inzulina, mišićno i masno tkivo prestaju uklanjati glukozu iz cirkulacije te kao izvor energije za svoje potrebe koriste slobodne masne kiseline oslobođene iz masnog tkiva lipolizom. Upotreba masnih kiselina kao goriva povećava se s duljinom posta, pa kod dužeg gladovanja postaju glavno gorivo koje se oksidira u mitohondrijima većine tkiva. Dok se u ekstrahepatičkim tkivima masne kiseline tijekom posta u potpunosti oksidiraju do CO_2 i H_2O , u jetri se dijelom oksidiraju u ketonska tijela koja se otpuštaju u krvotok. Stoga, tijekom početnih faza posta (nakon 2 do 3 dana gladovanja), razina masnih kiselina i razina ketonskih tijela u krvi počinju rasti (29). Nakon noćnog gladovanja, zalihe jetrenog glikogena su tipično iscrpljene, pa glukoneogeneza postaje glavni proces kojim se koncentracija glukoze u krvi održava stalnom. Ovaj proces u jetri podržava oksidaciju masnih kiselina i nastanak acetyl-CoA koji ima inhibicijski učinak na piruvat-dehidrogenazu, osiguravajući da se piruvat koji nastaje glikolizom koristi u glukoneogenezi. Faznu glukoneogenezu također olakšava smanjenje razine inzulina daljnjim promicanjem mobilizacije masnih kiselina i glicerola iz adipocita, te promicanjem proteolize.

Proteoliza osigurava opskrbu glukogenim aminokiselinama koje se pridružuju glicerolu i laktatu (nastalom anaerobnim glikolizom) te se koriste kao supstrati za glukoneogenezu (27).

Kada postimo 3 ili više dana, gladujemo. Tada mišići nastavljaju sagorijevati masne kiseline, ali smanjuju iskorištavanje ketonskih tijela. Kao rezultat toga, koncentracija ketonskih tijela u krvi raste do razine na kojoj se u mozgu počinju oksidirati za energiju (Prilog, Slika 2). Mozak tada treba manje glukoze u odnosu na onu u početku gladovanja, pa jetra smanjuje brzinu glukoneogeneze. Posljedično se manje proteina u mišićima i drugim tkivima razgrađuju za opskrbu glukoneogeneze aminokiselinama. Tako se potrošnja glukoze u mozgu smanjuje sa 120 g dnevno u prva 24 sata nedostatka hrane na približno 40 g dnevno nakon nekoliko tjedana gladovanja, dok se razgradnja tkiva skeletnih mišića smanjuje sa 75 g na oko 20 g dnevno. U ovoj fazi poštede proteina, glavni izvor energije za eritrocite, koštanu srž i srž bubrega i dalje je glukoneogeneza iz laktata i glicerola, iz kojih se stvara približno 40 g glukoze, bez razgradnje proteina (14, 16, 29).

Budući da svaka molekula proteina služi nekim fiziološkim potrebama, pošteda proteina čuva vitalne funkcije i omogućuje preživjeti duža vremenska razdoblja bez uzimanja hrane. Međutim, u ekstremnim slučajevima dugotrajnog nedostatka hranjivih tvari, kada se zalihe masti u masnom tkivu iscrpe, mišićni proteini nastavljaju se iskorištavati kao zadnji resurs, do smrti. Zbog sposobnosti masti da štede glukozu i proteine tijekom akutnog (post) i dugotrajnog (gladovanje) nedostatka hrane, ne čudi da preživljavanje organizma tijekom gladovanja ovisi o zalihama TA pohranjenih tijekom razdoblja obilja. Dok mršav čovjek jedva može preživjeti nekoliko mjeseci samo s vodom (uz suplementaciju vitaminima i mineralima), pretili ljudi mogu preživjeti do jedne godine bez ikakvog zaloga hrane. Stoga je oslanjanje na zalihe masti u masnom tkivu te proteine u mišićima glavna odrednica duljine preživljavanja tijekom gladovanja, gdje masti služe kao gorivo, a proteini kao stroj (5, 16).

3.2. Biokemija ketonskih tijela

Ketonska tijela su obitelj koju čine tri u vodi topljive molekule niske molekulske mase koje mogu lako ući u cirkulaciju i kretati se u tkiva kroz međustanične tekućine, a obuhvaćaju aceton, D-3-hidroksibutirat (3HB) i acetoacetat. Od tri ketonska tijela, samo je aceton pravi keton, acetoacetat je ketokiselina, a 3-hidroksibuturat je hidroksikiselina (14).

Ketonska tijela kontinuirano se stvaraju kod ljudi i sisavaca, a brz porast njihove sinteze predstavlja adaptivni metabolički mehanizam koji se javlja kao fiziološki odgovor na smanjenu dostupnost glukoze, kakva je npr. kod produljenog vježbanja, gladovanja ili smanjenog unosa ugljikohidrata, ali je i patološka posljedica nemogućnosti učinkovitog iskorištavanja ugljikohidrata, kakvo se susreće kod ŠB uslijed nemogućnosti lučenja inzulina iz β -stanica gušterače (27). Stvaranje i iskorištavanje ketonskih tijela doprinosi održavanju bazalnog metabolizma, opskrbljujući energijom većinu ekstrahepatičkih tkiva, poput mozga, srca, kore bubrega i skeletnih mišića. Na primjer, nakon gladovanja preko noći, ketonska tijela opskrbljuju 2 – 6% energije potrebne tijelu, dok nakon 3-dnevnog gladovanja doprinose zadovoljenju 30 – 40% ukupnih energetske potrebe (13). Sposobnost ketonskih tijela da zamijene glukozu u proizvodnji energije ključna je za preživljavanje tijekom dugotrajnog gladovanja, posebno u pogledu očuvanja funkcije mozga. Zapravo, ketonska tijela su „supergorivo“ za mozak, ne samo zato što istiskuju glukozu kao glavni izvor energije, već i stoga što oksidacijom daju više molekula ATP-a po utrošenom kisiku od oksidacije glukoze (6).

Molekule ketonskih tijela nastaju katabolizmom masnih kiselina, a u manjoj mjeri i katabolizmom ketogenih aminokiselina, izoleucina, lizina, fenilalanina, triptofana, tirozina i, posebno, leucina čijom razgradnjom se stvara oko 4% ketonskih tijela u postapsorpcijskom stanju (18). Sintaza ketonskih tijela uglavnom se odvija u perivenoznim hepatocitima te u manjoj mjeri u ekstrahepatičnim tkivima, uključujući crijevne kripte, bubreg, T stanice i astrocite. Sposobnost ovih tkiva ili staničnih linija da stvaraju ketonska tijela ovisi o njihovoj mitohondrijskoj ekspresiji hidrosimetilglutaril-CoA-sintaze 2, ketogenog enzima koji ograničava brzinu sinteze ketonskih tijela (30).

Jetreni metabolizam ketonskih tijela sastoji se od dvije komponente: sinteze iz masnih kiselina u hepatocitima te prijenosa i iskorištavanja u ekstrahepatičkim tkivima (20).

3.2.1. Ketogeneza

U zdravih osoba, jetra je sposobna sintetizirati do 185 g ketonskih tijela dnevno u procesu ketogeneze (27). Taj se proces u mitohondrijima hepatocita odvija brzinom koja je proporcionalna ukupnoj oksidaciji TA, a uključuje sljedeće korake: (i) lipolizu u adipocitima, kojom se mobiliziraju masne kiseline pohranjene u zalihama TA, (ii) ulazak tih masnih kiselina u mitohondrije, (iii) β -oksidaciju masnih kiselina u acetil-CoA i (iv) stvaranje ketonskih tijela iz acetil-CoA (Prilog, Slika 3).

(i) *Lipoliza*. Antagonistički odnos između inzulina i glukagona osigurava da su razine glukoze, acetil-CoA, slobodnih masnih kiselina i ketonskih tijela adekvatne za zadovoljavanje

energetskih potreba, u omjerima koji točno odražavaju promjenjivi nutritivni status i potrebe. Pa tako, uslijed smanjenja koncentracije inzulina i porasta koncentracije glukagona lipoliza postaje dominantna nad lipogenezom te se povećava koncentracija slobodnih masnih kiselina i njihova pretvorba u gorivo u matriksu mitohondrija (Prilog, Slika 3a). Prije ulaska u mitohondrijski matriks, masne kiseline se aktiviraju (Prilog, Slika 3b) stvaranjem tiosterseke veze s koenzimom A (HS-CoA) tvoreći odnosni acil-CoA u reakciji koja se zbiva na vanjskoj membrani mitohondrija, a katalizirana je acil-CoA-sintetazom (zvanom i tiokinaza masnih kiselina) (13, 20).

(ii) *Prijenos masnih kiselina u matriks mitohondrija.* Za razliku od vanjske membrane mitohondrija, unutarnja mitohondrijska membrana ne propušta aktivirane dugolančane masne kiseline. Translokacija masnih kiselina iz međumembranskog prostora (citosola) u mitohondrijski matriks ovisi o izmjenjivačkom prijenosnom sustavu unutarnje membrane koji prenosi dugolančane masne kiseline kao derivate karnitina, a čine ga karnitinske aciltransferaze (CAT) s obje strane unutarnje mitohondrijske membrane i karnitin-acilkarnitin-transferaza usidrena u membrani (Prilog, Slika 3b). Enzimi CAT kataliziraju reverzibilnu reakciju u kojoj acetilna skupina acil-CoA istiskuje atom vodika u središnjoj hidroksilnoj skupini karnitina. Točnije, karnitin-aciltransferaza (palmitoil-CoA: L-karnitin *O*-palmitoil-transferaza 1 (CPT1, EC2.3.1.-) na vanjskoj strani unutarnje membrane mitohondrija povezuje molekule acil-CoA srednjeg ili dugog lanca sa slobodnim karnitinom stvarajući acilkarnitin, koji se potom pasivno prenosi preko unutarnje membrane u matriks mitohondrija karnitin-acilkarnitin-transferazom u zamjenu za slobodni karnitin (Prilog, Slika 4).

U mitohondrijskom matriksu, palmitoil-CoA: L-karnitin *O*-palmitoil-transferaza 2 (CPT2, EC2.3.1.21) katalizira prijenos acilnog ostatka s acilkarnitina ponovno na HS-CoA, uz oslobađanje slobodnog karnitina – spremnog za prijenos natrag u mitohondrijski međumembranski prostor – i nastanak acil-CoA, spremnog za ulazak u β -oksidaciju. Slično tome, kratkolančane masne kiseline (2 – 6 ugljika) povezuju se s karnitinom odgovarajućim karnitinskim *O*-acetiltransferazama (EC2.3.1.7) na vanjskoj i unutarnjoj mitohondrijskoj membrani. Drugi sustav transferaze, karnitin *O*-oktanoiltransferaza (EC 2.3.1.137) može primiti širok raspon masnih kiselina. Budući da većina masnih kiselina ima između 16 i 18 ugljikovih atoma, CPT1/CPT2 je prevladavajući prijenosni sustav za transport aktiviranih masnih kiselina u mitohondrije. Inzulinska stimulacija može inhibirati β -oksidaciju masnih kiselina aktivacijom mitohondrijskog enzima acetil-CoA-karboksilaze (EC 4.6.1.2). Ovaj enzim katalizira ireverzibilnu karboksilaciju acetoacil-CoA u malonil-CoA koji se rabi kao preteča u sintezi masnih kiselina. Malonil-CoA je ujedno inhibitor CPT1 i prijeći transport

acil-CoA u mitohondrijski matriks. Međutim, tijekom gladovanja malonil-CoA manje je učinkovit u inhibiciji aktivnosti CPT2, što promiče β -oksidaciju masnih kiselina (14).

(iii) *Stvaranje acetil-CoA β -oksidacijom masnih kiselina.* Jednom unutar matriksa mitohondrija, acil-CoA se razgrađuje β -oksidacijom (Prilog, Slika 3b), metaboličkim procesom kojim se lanac masnih kiselina postepeno skraćuje za dva atoma ugljika u slijedu četiriju reakcija koje se ponavljaju u ciklusima (oksidacija pomoću FAD, hidratiranje, oksidacija pomoću NAD^+ , te tioliza koenzimom A), a pri tome nastaju FADH_2 , NADH i acetil-CoA. Acetil-CoA je metabolička raskrsnica obzirom je ulazna točka CLK-a, ali i ketogeneze, a njegovu sudbinu određuje dostupnost oksaloacetata.

(a) *Metabolički tok oksaloacetata.* Kako bi ušao u CLK, acetil-CoA mora kondenzirati s oksaloacetatom (Prilog, Slika 5). Oksaloacetat nastaje u anaplerotskoj reakciji karboksilacije piruvata stvorenog glikolizom koju katalizira mitohondrijski enzim, piruvat-karboksilaza. Stoga je bitno imati zadovoljavajuću brzinu glikolize kako bi se osiguralo dovoljno oksaloacetata za kondenzaciju s acetil-CoA (13). Međutim, β -oksidacijom masnih kiselina nastaje NADH i FADH_2 , te se, pored razine acetil-CoA, povećava i omjer NADH/NAD^+ i omjer ATP/ADP (AMP). Kao alosterički regulatori ključnih enzima u metabolizmu ugljikohidrata, NADH i acetil-CoA inhibiraju piruvat-dehidrogenazu (PDH, EC 1.2.4.1), dok ATP i citrat inhibiraju fosfofruktokinazu-1 (FFK-1, EC 2.7.1.11) uslijed čega glikoliza usporava. Tome ujedno doprinosi i sljedeća kontrolna točka glikolize, glukokinaza, izoenzim niskog afiniteta za glukozu, čija je aktivnost u uvjetima ograničene opskrbe glukozom niska. Dodatno, u ekstrahepatičkim tkivima, zbog inhibicije FFK-1 glukoza-6-fosfat se nakuplja i inhibira heksokinazu, izoenzim visokog afinitet za glukozu, što smanjuje preuzimanje glukoze iz krvi i također usporava glikolizu, a pogoduje preuzimanju i iskorištavanju masnih kiselina. (U skeletnim mišićima, ovaj obrazac metabolizma goriva koji pogoduju iskorištavanju masnih kiselina olakšan je smanjenjem koncentracije inzulina). Acetil-CoA ujedno je i efektorska molekula koja, osim što inhibira PDH, alosterički aktivira piruvat-karboksilazu, povećavajući anaplerotičku pretvorbu piruvata u oksaloacet i njegovo kanaliziranje u CLK. S obzirom da je tijekom posta i niske razine inzulina kod ŠB razina glukoze niska, a glikoliza potisnuta, oksaloacetat se preferirano koristi u procesu glukoneogeneze, umjesto za kondenzaciju s acetil-CoA. Ovaj obrazac je reguliran omjerom NADH/NAD^+ , koji je relativno visok tijekom β -oksidacije, što preusmjerava oksaloacetat iz CLK prema malatu i sintezi glukoze glukoneogenezom. Zbog ovakve ograničene dostupnosti oksaloacetata, acetil-CoA se preusmjeruje s iskorištavanjem u CLK prema ketogenezi.

(iv) *Stvaranje ketonskih tijela*. U matriksu mitohondrija, slijedom tri enzimske reakcije dolazi do pretvaranja dviju molekule acetil-CoA u acetoacetat, koji zatim redukcijom prelazi u 3HB. Prvo, acetoacetyl-CoA-tiolaza (tiolaza ili β -tiolaza, EC 2.3.1.9) kondenzira dvije molekule acetil-CoA u acetoacetyl-CoA, uz regeneraciju molekule HS-CoA (Prilog, Slika 3c i Slika 6.). Nakon toga, mitohondrijski izoenzim 3-hidroksimetilglutaril-CoA-sintaza 2 (HMGCS2, EC 2.3.3.10) povezuje još jednu molekulu acetil-CoA tvoreći 3-hidroksimetilglutaril-CoA (HMG-CoA). Ovaj drugi korak je ireverzibilan i predstavlja enzimsku reakciju koja ograničava brzinu ketogeneze. Konačno, HMG-CoA se pretvara u ketonsko tijelo acetoacetat pomoću enzima HMG-CoA-liaze (EC 4.1.3.4). Acetoacetat se zatim može reducirati u drugo, kvantitativno glavno ketonsko tijelo, 3HB, enzimom 3-hidroksibutirat-dehidrogenazom ovisnom o fosfatidilkolinu (BDH1, EC 1.1.1.3) u NADH/NAD⁺ spregnutoj reakciji. Konstanta ravnoteže BDH1 pogoduje nastanku 3HB, ali omjer acetoaceta i 3HB-a izravno je proporcionalan omjeru mitohondrijskog NADH/NAD⁺, pa je stoga aktivnost BDH1 regulirana redoks potencijalom mitohondrija. Kako je omjer NADH/NAD⁺ visok tijekom oksidacije masnih kiselina, favorizirana je sinteza 3HB-a.

Manja frakcija acetoacetata spontano se dekarboksilira u aceton. Aceton može prijeći mozgovno-krvnu barijeru, ali je metabolički inertan, i ne može se izravno prevesti natrag u acetoacetat ili acetyl-CoA. Međutim u jetri, detoksikacijom acetona nastaje laktat koji se može oksidirati u piruvat, i potom u acetyl-CoA. Aceton je hlapljiv, s vremenom poluživota oko 27 sati, i najvećim se dijelom izdiše, a izvorom je slatkog, voćnog mirisa daha kod ljudi koji pate od ketoacidoze (14, 18, 30).

Acetoacetat i 3HB su organske kiseline kratkog lanca (četiri atoma ugljika) koje se otpuštaju iz hepatocita u vensku cirkulaciju transportom kroz plazminu membranu preko monokarboksilatnih transportnih proteina (MCT). Samo tri od 14 MCT izoenzima, MCT1, 2 i 4, uključeni su u transport 3HB. Ekspresija MCT-a specifična je za tkivo, pri čemu se MCT1 eksprimira u svim stanicama, MCT2 se specifično eksprimira u mozgu i bubrezima, a MCT4 se eksprimira u skeletnim mišićima, srcu, plućima i mozgu (8). MCT1 i MCT2 ne pokazuju selektivnost za acetoaceta u odnosu na 3HB (20). Cirkulacijom ketonska tijela dopijevaju do ekstrahepatičkih tkiva gdje se oksidiraju za energiju. Mutacije koje mogu dovesti do gubitka funkcije MCT1 mogu se povezati sa sponatnim napadajima ketoacidoze, a to upućuje na ključnu ulogu preuzimanja ketonskih tijela iz cirkulacije(19).

3.2.2. Ketoliza

Proces kojim se iz ketonskih tijela stvara energije za pokretanje različitih metaboličkih aktivnosti stanica naziva se ketolizom, a odvija se u većini ekstrahepatičkih tkiva, osim u eritrocitima i većini malignih stanica (13, 27).

Koncentracija cirkulirajućih ketonskih tijela veća je od one u ekstrahepatičkim tkivima, što ukazuje da se ketonska tijela u ciljna tkiva transportiraju niz gradijent koncentracije. 3HB je najzastupljenije cirkulirajuće ketonsko tijelo i manje je vjerojatno da će se spontano razgraditi u aceton od acetoacetata. Nakon što ga ciljno tkivo preuzme, 3HB se u matriksu mitohondrija reoksidira do acetoacetata u NADH/NAD⁺ ovisnoj reakciji pomoću BDH1, istog enzima koji katalizira suprotnu reakciju u jetri – nastanak 3HB. Kako bi se izbjegao beskoristan ciklus, nakon ove reakcije se put iskorištavanja ketonskih tijela razlikuje od sintetskog puta.

Acetoacetat se aktivira u acetoacetyl-CoA izmjenom HS-CoA sa sukcinil-CoA u reakciji koju u većini tkiva katalizira sukcinil-CoA: 3-ketokiselina-koenzim A-transferaza (OXCT1, istovrijednica SCOT, EC 2.8.3.5), enzim jedinstven za sisavce koji zaobilazi ireverzibilnu reakciju kataliziranu HMG-CoA-sintazom i ujedno ograničava brzinu ketolize. Hepatociti ne mogu koristiti ketonska tijela za proizvodnju energije jer ne eksprimiraju SCOT, a ovaj nedostatak je prednost jer sprječava ketolizu i beskorisno kruženje acetoacetata natrag u HMG-CoA.

U sljedećem koraku, acetoacetyl-CoA se tioklastično cijepa acetoacetyl-CoA tiolazom (tiolaza ili β -tiolaza, EC 2.3.1.9; enzim koji u ketogenezi stvara acetoacetyl-CoA) u dva acetyl-CoA. Nastale molekule acetyl-CoA kondenziraju s oksaloacetatom (iz katabolizma glukoze ili aminokiselina) radi ulaska u CLK za oksidaciju i proizvodnju ATP (Prilog, Slika 7.) U konačnici, katabolizmom acetoacetata nastaje 23 ATP i 26 ATP kada se katabolizira 3HB. Dodatna 3 ATP rezultat su NADH nastalog oksidacijom 3-hidroksibutirata u acetoacetat. Za usporedbu, 100 grama glukoze daje 8,7 kilograma ATP-a, dok 10,5 kilograma ATP-a nastaje iz 100 grama 3HB i 9,5 kilograma ATP-a iz 100 grama acetoacetata (8, 19, 20, 15).

Sposobnost acetoacetata i 3HB da zamijene glukozu u krvi u proizvodnji energije ključna je za preživljavanje tijekom dugotrajnog gladovanja, posebno u pogledu funkcije mozga.

Izračunato je da mozak odrasle osobe može preživjeti 2-3 tjedna samo od glukoneogeneze, ali ostaje funkcionalan najmanje 2 mjeseca ako se ketonska tijela dobivena iz masnih zaliha koriste kao dodatni izvor energije. Ketonska tijela središnji živčani sustav (SŽS) počinje koristiti kao izvor energije kada dosegnu koncentraciju od oko 4 mmol/L, što je blizu

K_M za glukozu monokarboksilatnog transportera. Zbog povoljne kinetike transporta, ketonska tijela su poželjno gorivo u mozgu tijekom gladovanja, jer acetoacetat i 3HB lako prelaze krvno-moždanu barijeru i koriste se kada je razina glukoze neadekvatna, pa nakon nekoliko tjedana gladovanja, dvije trećine energije potrebne mozgu potječe od ovih molekula (14). Mozak također zahtijeva ketonska tijela tijekom rane postnatalne faze. Metabolizam novorođenčadi je ketotičan zbog niskog sadržaja laktoze u kolostrumu, a gotovo polovica energije koju troši mozak novorođenčeta potječe iz 3HB. Nakon nekoliko dana laktacije, sadržaj laktoze se povećava, a ketoza se povlači (27).

Drugi organ vitalan za preživljavanje je srce. Kao metabolički zahtjevan organ, srce troši > 7 puta više ATP-a od svoje težine dnevno. Energetski zahtjevi ljudskog miokarda su ogromni zbog neprekidnog pumpanja ≈ 7200 L krvi dnevno protiv sistemskog vaskularnog otpora, što zahtijeva 35 L kisika za generiranje potrebnih kilograma ATP-a dnevno. S obzirom na ograničen kapacitet pohranjivanja energije, srce okreće ATP nevjerojatnom brzinom, svakih 10 sekundi, kako bi izvršilo ove zadatke. Masne kiseline osiguravaju većinu energetskog supstrata (60% – 90%) u normalnim uvjetima. Međutim, srce pokazuje metaboličku fleksibilnost i prilagođava se promjenjivoj dostupnosti supstrata, koristeći glukozu (putem glikolize i oksidacije glukoze), ketonska tijela, laktat i aminokiseline razgranatog lanca prema potrebi (31). Upotreba acetoacetata i 3HB u miokardu proporcionalna je sistemskim razinama tako da se njihova potrošnja povećava tijekom ketoze, iako slobodne masne kiseline ostaju glavni supstrat za proizvodnju ATP- a (27).

Zbog velike mase, skeletni mišići čine najveći udio ukupnog metabolizma ketonskih tijela u mirovanju. Doprinos acetoacetata i 3HB proizvodnji ATP-a u skeletnim mišićima značajno varira. Nakon gladovanja preko noći, ketonska tijela opskrbljuju 10-20% potrebne energije, a taj udio može porasti na 50% nakon nekoliko dana gladovanja. Više od polovice energije dolazi iz glukoze u krvi. Odlaganje ketonskih tijela u skeletne mišiće tijekom aerobne vježbe može se povećati do peterostruko, nakon čega slijedi ketoza (0,3-2,0 mmol/L), čiji opseg ovisi o nutritivnom statusu i intenzitetu vježbe (27).

3.2.3. Regulacija sinteze i korištenja ketonskih tijela

Brzinom jetrene ketogeneze upravlja oslobađanje masnih kiselina iz triacilglicerola pohranjenih u zalihama tjelesne masti (ili iz egzogenih TA iz hrane koji se prenose cirkulacijom hilomikronima ili drugim lipoproteinima bogatim TA), transport masnih kiselina u

mitohondrije putem CPT1, tokovi ugljikohidrata u jetri, redoks potencijal mitohondrija, stopa β -oksidacije, koncentracija međuprodukata CLK te koncentracija hormonskih regulatora ovih procesa, pretežno glukagona i inzulina. Ketogeneza je također regulirana transkripcijskom i posttranslacijskom kontrolom (19, 20).

Sinteza ketonskih tijela pretvorbom acetil-CoA u acetoacetat i 3HB odvija se nizom reverzibilnih enzimskih koraka (Prilog, Slika 6).

HMG-CoA-sintaza i HMG-CoA-liaza predstavljaju enzimske korake koji ograničavaju brzinu stvaranja ketonskih tijela u jetrenim mitohondrijima. Međutim, postoji nekoliko drugih enzima koji su ključne kontrolne točke u stvaranju i korištenju ketonskih tijela, od kojih je većina uključena u mehanizme koji se koriste za prelazak s anaboličkog na katabolički metabolizam: lipaza osjetljive na hormone (ili triacilglicerol-lipaza) u perifernim adipocitima, te acetil-CoA-karboksilaza u jetri. Ova dva enzima intermedijarnog metabolizma zauzvrat su kontrolirana razinom anaboličkih hormona (uglavnom inzulina) i kataboličkih hormona (uglavnom glukagona, kortizola i adrenalina) (Prilog, Slika 7).

Kortizol i adrenalin poznati su kao hormoni stresa, a doprinose opstanaku organizma mobiliziranjem izvora energije i smanjenjem metaboličkih procesa koji, u „bori se ili bježi“ situacijama, nisu nužni. Glukagon pokreće najvažniju promjenu u sistemskom metabolizmu tijekom posta. Nizak omjer glukagon/inzulin inhibira ketogenezu, dok visok omjer glukagon/inzulin, kao što se događa kod gladovanja ili dijabetesa, pogoduje ketogenezi promicanjem lipolize u adipocitima i spoticanjem β -oksidacije masnih kiselina u jetri (14, 13).

3.2.3.1. Regulacija aktivnosti ketogenih i ketolitičkih enzima

Ključne točke u hormonskoj regulaciji sinteze i iskorištavanja ketonskih tijela uključuju (i) lipazu osjetljivu na hormone, (ii) acetil-CoA-karboksilazu, (iii) HMG-CoA-sintazu, (iv) HMGSC2, i (v) SCOT. Važnost ovih kontrolnih točaka naglašena je nizom urođenih pogrešaka metabolizma, gdje se enzimski defekti manifestiraju kao poremećaji metabolizma masnih kiselina i ketona.

(i) *Lipaza osjetljiva na hormone* (HSL, EC 3.1.1.79) je citosolni enzim koji se nalazi u masnom tkivu i katalizira oslobađanje masnih kiselina iz zaliha TA nakon hormonske aktivacije. Oslobođene masne kiseline potom se koriste kao supstrat za ketogenezu. Katabolički hormoni, glukagon, adrenalin, tireotropni hormon (TSH) i adrenokortikotropni hormon (ACTH), vežu se za receptore na površini stanica spregnute s G-proteinom, što dovodi do aktivacije proteinske kinaze A (proteinska kinaza ovisna o cikličkom AMP-u, PKA) i

fosforilacije HSL-e. Aktivirana HSL katalizira hidrolizu diacilglicerola ili triacilglicerola, oslobađajući masne kiseline i/ili monoacilglicerole (14, 13).

(ii) *Acetil-CoA-karboksilaza* (EC 6.4.1.2.) je citosolni enzim ovisan o biotinu čija je glavna funkcija osigurati malonil-CoA, preteču za sintezu masnih kiselina. Kada se aktivira inzulinom, acetil-CoA-karboksilaza katalizira ireverzibilnu karboksilaciju citosolnog acetil-CoA u malonil-CoA koristeći jednu molekulu bikarbonata i ATP-a. Malonil-CoA osigurava jedinice s dva ugljika, potrebne za produljenje lanca masnih kiselina tijekom biosinteze. Kao što je ranije spomenuto, malonil-CoA također može inhibirati prijenos acilne skupine s acil-CoA na karnitin, korak koji katalizira CPT1 u citosolu. To inhibira transport masnih kiselina u mitohondrijski matriks, potiskuje β -oksidaciju masnih kiselina, a time i stvaranje acetil-CoA potrebnog za ketogenezu. Acetil-CoA-karboksilaza nalazi se u citoplazmi svih stanica osobito u masnom tkivu i mliječnim žlijezdama. (14).

Oba enzima su ključni "prekidači" za ketogenezu, a regulirani su signalizacijom posredovanom glukagonom (+) i inzulinom (-); (Prilog, Tablica 2).

Inzulin inhibira ketogenezu pokretanjem defosforilacije HSL-a i aktivira lipogenezu stimulacijom acetil-CoA-karboksilaze. U adipocitima, defosforilacija HSL-e inhibira razgradnju TA na masne kiseline i glicerol, korak koji ograničava brzinu u otpuštanju slobodnih masnih kiselina iz adipocita. Time se smanjuje količina supstrata koji je dostupan za ketogenezu. Dodatno, inzulinom posredovana defosforilacija jetrene acetil-CoA-karboksilaze povećava stvaranje malonil-CoA i istovremeno smanjuje brzinu kojom masne kiseline mogu ući u jetrene mitohondrije radi oksidacije i sinteze ketonskih tijela.

Glukagon pospješuje ketogenezu pokretanjem fosforilacije HSL-e i acetil-CoA-karboksilaze pomoću PKA. U adipocitima, fosforilacija HSL pomoću PKA pospješuje otpuštanje glicerola i masnih kiselina iz TA. Glicerol cirkulacijom slobodno difundira do jetre. Masne kiseline u cirkulaciji putuju vezane za albumin i prenose se u tkiva kao što su srce, skeletni mišići, bubrezi i jetra gdje se metaboliziraju. U hepatocitima, fosforilacija acetil-CoA-karboksilaze pomoću PKA smanjuje sintezu malonil-CoA, što zauzvrat stimulira prijenos masnih kiselina u mitohondrije i tako povećava količinu supstrata dostupnog za ketogenezu.

(iii) Mitohondrijska *HMG-CoA-sintaza* iz jetre treći je ključni enzim uključen u kontrolu ketogeneze. Aktivnost ovog enzima povećava se s gladovanjem i na prehrani bogatoj mastima, dok inzulin djeluje u suprotnom smjeru. Ovi čimbenici moduliraju aktivnost HMG-CoA-sintaze mijenjanjem količine mRNA tijekom transkripcije te reverzibilnom sukcinilacijom samog enzima u post-translacijskoj fazi sinteze proteina. Povećanje aktivnosti HMG-CoA-sintaze dovodi do stvaranja ketonskih tijela. (13)

(iv) *HMGCS2* je mitohondrijski enzim koji katalizira reverzibilnu reakciju kondenzacije acetil-CoA i acetoacetyl-CoA u HMG-CoA. Ovaj enzim inhibira se inzulinom i postaje pretjerano aktiviran kod nekontrolirane ŠBIT kada su razine inzulina niske. To uzrokuje preusmjeravanje acetyl-CoA u sintezu ketonskih tijela i iscrpljivanje supstrata za glukoneogenezu (posebno oksaloacetata), a prekomjerna aktivacija *HMGCS2* ključna je odrednica u razvoju dijabetičke ketoacidoze (14).

Sukcinil-CoA-sintetaza (EC 6.2.1.4 stvara GTP; EC 6.2.1.5 stvara ATP) je enzim mitohondrijskog matriksa koji katalizira jedan od ključnih koraka u CLK, a koristi sukcinil-CoA za stvaranje nukleozid-trifosfata (GTP ili ATP) fosforilacijom na nivou supstrata. Sukcinil-CoA potreban je za aktivnost SCOT jer u toj reakciji donira HS-CoA acetoacetatu uz nastanak acetoacetyl-CoA i sukcinata. Acetoacetyl-CoA može se potom metabolizirati u acetyl-CoA, a sukcinat može napredovati kroz CLK do oksaloacetata. Kao povratna kontrola, povećane razine acetoacetata u mitohondrijima ciljnih organa inhibira sukcinil-CoA-sintetazu i stoga inhibira metabolizam ketona (14).

(v) SCOT je korak koji određuje brzinu u ketolizi. Aktivnost SCOT najveća je u srcu i bubrezima, zatim u središnjem živčanom sustavu i skeletnim mišićima, a kod visokih razina acetocetata (>5 mM) aktivnost enzima u stanicam je niska. Ovaj fenomen odgovoran je za uočeno povećanje cirkulirajućih razina ketonskih tijela tijekom ranih faza (3 dana do 2 tjedna) gladovanja, unatoč relativno konstantnim stopama jetrene ketogeneze tijekom tog razdoblja (13). Urođene pogreške u funkciji SCOT ukazuju na metaboličku nužnost fiziološke ketogeneze. Nedostatak SCOT rijetka je nasljedna metabolička bolest uzrokovana mutacijom gena *OXCT1* a remeti sposobnost razgradnje ketonskih tijekla u CLK, što dovodi do nakupljanja acetoacetata. Posljedice uključuju napade ketoacidoze koji se javljaju kod polovice oboljelih osoba tijekom prvih četiri dana života, a karakterizira ih ekstremni umor (letargija), gubitak apetita, povraćanje, ubrzano disanje i, povremeno, napadaji i koma. Bolesnici obično imaju trajno povišenu razinu ketona u krvi (perzistentna ketoza) bez simptoma poremećaja između napadaja. Ovo stanje pogoršavaju infekcije, vrućica ili razdoblja bez hrane (post), a učestalost napada ketoacidoze varira među oboljelim osobama (14).

3.2.3.2. Transkripcijska i post-translacijska regulacija *HMGCS2* i SCOT

Kod većine sisavaca, aktivnost *HMGCS2* najizraženija je u hepatocitima i epitelu debelog crijeva, a ekspresija i enzimska aktivnost ovog enzima koordinirani su različitim mehanizmima

Mutacije gena *HMGCS2* dovode do gubitka enzimske aktivnosti i kod ljudi uzrokuju napade hipoketotičke hipoglikemije i kome, kao i masnu jetru, dok delecija *HMGCS2* u jetri odraslih miševa u uvjetima prehrane s visokim udjelom masti uzrokuje oštećenje jetre i promjene u lipidomu (19).

Gen *HMGCS2* pokazuje razvojni obrazac ekspresije, a njegova transkripcija je utišana u fetalnoj jetri i neketogenim tkivima metilacijom, i povećava se u periodu od rođenja do prestanka dojenja, dopuštajući genu da postane osjetljiv na regulaciju hormonima (20, 19). Postnatalno, *HMGCS2* transkripcijski je reguliran na najmanje dva signalna puta koja su kontrolirana dostupnošću hranjivih tvari: prvi uključuje transkripcijski faktor FOXA2, a drugi mTOR (engl. *Mammalian Target of Rapamycin*, ciljna molekula rapamicina u sisavaca).

Transkripcijski faktor FOXA2 posjeduje DNA vezujuću regiju oblika „vilice“ (engl. *forkhead domain* te odakle i slijedi ime *Forkhead box protein A2*, a također je poznat i kao hepatocitni nuklearni faktor 3-beta (HNF-3B). FOXA2 kod sisavaca regulira homeostazu glukoze i lipida u jetri kao odgovor na gladovanje (34), a veže se na promotorsko mjesto gena *HMGCS2* i aktivira njegovu transkripciju.

Sam FOXA2 reguliran je dvojakim hormonskim signalima. U vrijeme viška hranjivih tvari inzulinska signalizacija posredovana inzulinskim fosfatidilinozitol-3-kinazom/Akt dovodi do inaktivacije FOXA2 putem fosforilacije na specifičnom treoninu (T156) i posljedično potiskivanja transkripcije gena *HMGCS2*. U razdobljima lišenosti hranjivih tvari glukagon, djelujući preko cAMP, aktivira FOXA2 signalizaciju kojom se regrutira histonska acetiltransferaza p300 na promotorsko područje *HMGCS2* i povećava ekspresija tog gena (14, 19, 20, 33).

Drugi put regulacije transkripcije *HMGCS2* uključuje mTORC1, PPAR α i faktor rasta fibroblasta 21 (FGF21). Aktivator proliferacije peroksisoma tip alfa (engl. *Peroxisome Proliferator-Activated Receptor alpha*, PPAR α), jezgrin je transkripcijski faktor aktiviran masnim kiselinama, koji regulira korištenje masti kao izvora energije tijekom gladovanja i potreban je za normalan adaptivni odgovor na gladovanje. PPAR α se veže na elemente odgovora DNA kao heterodimer s retinoidnim X receptorom (RXR) kako bi regulirao transkripciju brojnih gena uključenih u transport i oksidaciju masnih kiselina. Među genima koje izravno regulira PPAR α u jetri su oni koji kodiraju acil-CoA-oksidadu, enzim potreban za peroksisomalnu β -oksidaciju masnih kiselina; CPT1 i *HMGCS2*. Stoga, PPAR α ima važnu ulogu tijekom gladovanja jer njegova transkripcijska aktivnost pogoduje oksidaciji masnih kiselina/ketogenezi i promiče osjetljivosti na inzulinsku. Miševi kojima nedostaje PPAR α nakupljaju velike količine triacilglicerola u jetri i postaju hipoketonemični i hipoglikemični

tijekom posta i gladovanja. Osim toga, u jetri, PPAR α regulira i ekspresiju FGF21. Ovaj endokrini hormon koji se inducira preko PPAR α djeluje nizvodno od PPAR α posredujući pleiotropne učinke ovog transkripcijskog faktora te stimulira lipolizu u bijelom masnom tkivu i ketogenezu u jetri tijekom stanja koja zahtijevaju povećanu oksidaciju masnih kiselina, uključujući post i konzumaciju ketogene dijetete (32).

PPAR α zajedno sa svojom metom, FGF21, pospješuje proces transkripcije HMGCS2 u jetri tijekom posta ili primjene ketogene dijetete. Transkripcijska aktivnost PPAR α regulirana je preko kompleksa 1 mTOR-a (engl. *Mammalian Target of Rapamycin Complex 1*, mTORC1). Stoga se ova serin/treoninska kinaza koja pripada fosfatidilinozitol-3 kinaznoj obitelji također ubraja u regulatore ekspresije gena *HMGCS2*. Kako kompleks mTORC1 suprimira PPAR α , inhibicija mTORC1 potrebna je za indukciju PPAR α , a zauzvrat je PPAR α potreban za indukciju sinteze FGF21 koji, preko *HMGCS2* promiče ketogenezu (15).

Aktivnost enzima HMGCS2 i SCOT regulirana je preko više PTM-ova. U odgovoru na ketogenezu, katalitička aktivnost HMGCS2 povećava se fosforilacijom serina. Sirtuin 3 (SIRT3) deacetilira ostatke lizina i može aktivirati HMGCS2, dok su ostaci lizina HMGCS2 mete za sukcinilaciju što inhibira enzim. Hipersukcinilacija ili hiperacetilacija HMGCS2 u miševa s nedostatkom SIRT5 ili SIRT3, bile su u korelaciji s nižom proizvodnjom 3HB u stanjima natašte.

Hiperacetilirani SCOT u mozgu miševa s knockout-om SIRT3 bio je u korelaciji sa smanjenom ketolitičkom sposobnošću. Neenzimska nitracija tirozinskih ostataka SCOT-a u srcu također smanjuje njegovu aktivnost u različitim modelima šećerne bolesti. Nasuprot tome, nitracija ostatka triptofana povećava aktivnost SCOT (19, 20).

3.2.3.3. Fiziološke posljedice stvaranja ketonskih tijela

Razine cirkulirajućih ketonskih tijela razlikuju se među populacijama zdravih, normalno uhranjenih pojedinaca neovisno o dobi i trajanju posta, a smatra se da su posljedica razlika u stopi bazalnog metabolizma, zalihamo glikogena u jetri i razlikama u mobilizaciji aminokiselina iz mišićnih proteina. Izraženi porast koncentracije ketonskih tijela u cirkulaciji vidljiv je u određenim patofiziološkim stanjima, kao što je dijabetička ketoacidoza (Prilog, Tablica 3). Razine cirkulirajućih ketonskih tijela kreću se od <50 μ M postprandijalno do >25 mM kod dijabetičke ketoacidoze (34) Većina se istraživača slaže da je normalna razina ketonskih tijela manja od 0,5 mM; u hiperketonemiji razine su veće od 1,0 mM, dok u ketoacidozi iznose više od 3,0 mM (35).

Omjer ketonskih tijela, definiran kao omjer cirkulirajućeg 3HB i acetoacetata, približno je 1 nakon obroka, ali raste na gotovo 6 nakon produljenog gladovanja (35). Ovaj omjer također može biti značajno povišen u dijabetičkoj ketoacidozi, alkoholnoj ketoacidozi, teškoj hipoksiji, završnom stadiju bolesti jetre, hepatičkoj ishemiji, raznim metaboličkim poremećajima i zatajenju više organa. Sva ova patološka stanja karakteriziraju promjene u redoks potencijalu unutar mitohondrija hepatocita pri čemu je razina reduciranog oblika nikotinamid-adenin-dinukleotida (NADH) visoka, a razina oksidiranog oblika nikotinamid-adenin-dinukleotida (NAD⁺) je niska.

3.3.1. Ketoza

Metaboličko stanje koje karakterizira povišena razina ketonskih tijela u serumu i urinu naziva se ketoza (13, 14). Najčešći uzroci ketoze su fiziološki, a u tom su slučaju prisutne blago do umjereno povišene razine cirkulirajućih ketonskih tijela kao odgovor na gladovanje (osobito tijekom dojenačke dobi ili trudnoće), produljenu tjelovježbu ili ketogenu dijetu (s visokim udjelom masti). Ketoza također može biti uzrokovana patološkim procesima kao što su oni nastali kao posljedica endokrinih bolesti uključujući šećernu bolest, nedostatak kortizola i nedostatak hormona rasta; intoksikacija etanolom i salicilatima; i određene rijetke urođene pogreške metabolizma. Najčešći patološki uzroci ketoze su dijabetička ketoacidoza i toksične ketoacidoze, osobito one povezane s odvikavanjem nakon prekomjernog uživanja alkohola (alkoholna ketoacidoza), predoziranja salicilatom i uzimanja izopropilnog alkohola (13).

3.3.1.1. Fiziološka ketoza

Fiziološka ketoza javlja se u neonatalnom razdoblju i tijekom trudnoće. U novorođenčadi se proizvodnja ketona aktivira visokim sadržajem masti u mlijeku. Nastala blaga hiperketonemija nije povezana s ketonurijom. Ketonurija u novorođenčadi je abnormalna i ukazuje na urođenu pogrešku metabolizma. U male djece hiperketonemija postaje vidljiva unutar 24 sata od početka gladovanja. Blage infekcije u ovoj dobnoj skupini, osobito one povezane s povraćanjem i proljevom, obično uzrokuju porast razine ketonskih tijela iznad 1,0 mM. Djeca ove dobi su stoga podložnija fiziološkoj ketozi zbog smanjenih zaliha glikogena u jetri i proporcionalno većeg središnjeg živčanog sustava od odraslih, kod kojih se razina

ketonskih tijela povećava iznad 1,0 mM tek nakon gladovanja od približno 3 dana, s porastom do 6–8 mM nakon 4 tjedna gladovanja (34).

Trudnoća je povezana s dva do tri puta većim razinama majčinih ketonskih tijela u odnosu na bazalne vrijednosti (35, 36). Utvrđeno je da ketonska tijela slobodno prolaze kroz placentu, a u modelima glodavaca, produljena razdoblja majčine ketoze povezana su s malformacijama fetusa i defektom neuralne cijevi (38).

Ketogene dijete sadrže najmanje 50% kalorija u obliku masti (dvostruko veći udjel od onoga koji se nalazi u tipičnoj prehrani pojedinaca u razvijenim zemljama), a koriste se u određenim planovima prehrane za smanjenje tjelesne težine (39) i za liječenje pacijenata s refraktornom epilepsijom, a također su povezane s fiziološkom ketozom, koju prati porast koncentracije ketonskih tijela na 7-8 mmol/L (13). Fiziološka ketoza, s blagom hiperketonemijom, javlja se i posljedično dugotrajnoj tjelovježbi, pri čemu razina ketonskih tijela nerijetko doseže 1-2 mM (40).

3.3.1.2. Dijabetička ketoacidoza

Dijabetička ketoacidoza (DKA) predstavlja akutnu metaboličku komplikaciju šećerne bolesti koju karakterizira hiperglikemija, hiperketonemija i metabolička acidoza (41), a najčešće se javlja u bolesnika sa ŠBIT, iako je zabilježena u 10 – 30% bolesnika sa T2ŠB (41).

Metabolički poremećaji u ŠB posljedica su hipoinzulinemije, zbog čega se, s jedne strane, smanjuje prijenos i iskorištavanje glukoze u ciljnim tkivima inzulina, a s druge strane se povećava sekrecija glukagona, pa izostaje regulacija glukoneogeneze. Pojačano stvaranje i smanjeno iskorištavanje glukoze povisuje koncentraciju glukoze u krvi, a nakon što koncentracija glukoze premaši reapsorpcijski prag bubrežnih tubula, javlja se glukozurija i povećava se osmotski tok vode u urin (osmotska diureza) s posljedičnim razvojem dehidracije. Uslijed spomenutih hormonskih promjena, smanjena je i supresija lipolize u masnom tkivu te se pojačava iskorištavanje masnih kiselina i njihova pretvorba u ketonska tijela (43). Povećana razina ketonskih tijela u krvi pacijenata s DKA u određenoj je mjeri kompenzirana njihovom povećanom upotrebom u mozgu, skeletnim mišićima i bubrezima. Ketonska tijela filtriraju se putem bubrega, a frakcija koja se ne apsorbira ponovno se izlučuje urinom. U pravilu, brzina stvaranja ketonskih tijela uvijek premašuje kombinirane stope iskorištavanja i izlučivanja ketonskih tijela u DKA (14). U nekontroliranoj dijabetičkoj ketoacidozi ketonska tijela mogu doseći i 20 mmol/L, a ovo je patološko stanje ujedno i povezano s promjenom omjera 3HB i acetoacetata, koji raste do 3:1 ili više (do čak 10:1), s

relativno visokim razinama 3HB koje se stvaraju kao rezultat promjene redoks potencijala u mitohondrijima hepatocita bolesnika s DKA (42).

Kako su 3HB ($pK_a = 4,7$) i acetoacetat ($pK_a = 3,6$) srednje jake kiseline, pri fiziološkim vrijednostima pH krvi gotovo u potpunosti disociraju i cirkulacijom se prenose u anionskom obliku. To, nadalje, dovodi do povećanog izlučivanja pozitivno nabijenih iona (kao natrijevih, kalijevih, kalcijevih, magnezijevih iona) radi održavanja električne neutralnosti, pa uz prekomjerni gubitak vode, dolazi i do gubitka elektrolita. Kada koncentracija vodikovih iona nastalih diosocijacijom ketonskih tijela premaši puferski kapacitet bikarbonatnog pufera u plazmi, pada pH krvi i razvija se metabolička acidoza (ketoacidoza) (43). Aceton, iako je prisutan u abnormalno visokim koncentracijama tijekom DKA, ne doprinosi metaboličkoj acidozi budući da ne disocira. Aceton je topljiv u mastima i sporo se izlučuje putem pluća. Stvara prepoznatljiv, aromatičan miris u dahu pacijenata s DKA (44).

3.3. Određivanje ketonskih tijela u kliničkoj praksi

Tijekom 1970-ih godina praćenje pacijenata oboljelih od ŠB uključivalo je rutinske kućne pretrage urina na glukozu i ketonska tijela u kombinaciji s povremenim laboratorijskim određivanjem glukoze u krvi (13). Ketonska tijela određena u urinu primarno su korištena u pacijenata oboljelih od T1ŠB kao probir za nadolazeću DKA, dok su se ketonska tijela određena u krvi kvalitativno koristila u domeni hitne pomoći i medicinskih odjela za dijagnozu metaboličke acidoze te kao dodatak u liječenju DKA (13).

3.3.1. Tradicionalne metode ispitivanja ketona

Posljednjih godina procesi mjerenja ketonskih tijela u krvi i urinu, kao i kliničke indikacije se nisu značajno promijenili. Testiranje ketona u urinu i danas predstavlja dio praćenja pacijenta, posebno onih oboljelih od T1ŠB, dok testiranje ketona u krvi ostaje usredotočeno na dijagnozu i liječenje akutnih acidobaznih poremećaja poput DKA (13). Američka dijabetička udruga (ADA; engl. *American Diabetes Association*) preporučuje svim osobama oboljelim od ŠB testiranje urina na ketone tijekom razdoblja akutne bolesti ili stresa, kada su razine glukoze u krvi kontinuirano veće od 300 mg/dL, tijekom trudnoće ili kad su prisutni simptomi koji upućuju na ketoacidozu. Komercijalni testovi određivanja ketona u urinu i krvi se oslanjaju na reakciju prema Legal-u, u kojoj acetoacetat iz uzorka krvi ili urina reagira

u prisutnosti lužine s nitroprusidom (nitrofericijanid) stvarajući kompleks ljubičastog obojenja na test traci ili u otopini, a uz dodatak glicina testnom reagensu Legal-ovom reakcijom moguće je otkriti i aceton u uzorku. Nijedan komercijalni test za ketonska tijela ne reagira na prisutnost 3HB u uzorku. Komercijalni testovi na ketonska koja sadrže i glicin u mogućnosti su dokazati prisutnost acetoacetata i acetona u uzorku, dok oni koji ga ne posjeduju služe samo za dokazivanje acetoacetata. Nije dokazano da je neki komercijalni test na ketonska tijela u prednosti nad drugima, a multitestne trakice za urin koje se koriste u ordinacijama i bolnicama koriste navedenu metodu.

No, komercijalni testovi na ketonska tijela u mogućnosti su dati pogrešne informacije u dijagnozi i liječenju DKA, ali i prijetećeg DKA, a povezani su i sa značajnim rizikom od lažno pozitivnih i lažno negativnih rezultata. Komercijalni testovi na ketonska tijela povezani su i s poteškoćama u njihovoj ulozi kao alata za dijagnostiku DKA, pri čemu se visoke koncentracije ketonskih tijela mogu detektirati i u osoba koje nisu u DKA. Zbog nepredvidivih stupnjeva reapsorpcije ketonskih tijela u bubrežima i činjenice da se ketonska tijela mogu otkriti u urinu dugo nakon normaliziranja njihove koncentracije u krvi, komercijalne testove na ketonska tijela u urinu smatra se nepouzdanima za praćenje oporavka. Omjer ketonskih tijela u DKA je 3:1 (3HB : acetoacetat) ili veći, a uvođenjem inzulinske terapije smanjuje se ukupna razina ketonskih tijela kao i konverzija 3HB u acetoacetat koja je potaknuta višim redoks potencijalom u hepatocitima. Ove promjene uzrokuju porast koncentracije acetoacetata u određenom vremenskom razdoblju čak i kada su razine 3HB i ukupne razine ketonskih tijela u naglom padu, pri čemu u takvim okolnostima test s nitroprusidom, bilo da se provodi u krvi ili urinu, ne otkriva sveukupno poboljšanje te može dovesti do potencijalno opasnog povećanja inzulinske terapije. Testovi na ketonska tijela koji su temeljeni na reakciji s nitroprusidom daju i lažno pozitivne rezultate u prisutnosti lijekova koji sadrže sulfhidrilne skupine poput antihipertenzivnog lijeka Captopril®, *N*-acetilcisteina, dimerkaprola i penicilamina (13). Lažno negativni rezultati zabilježeni kod primjene ispitnih traka ili tableta nitroprusida ukoliko su bile izložene zraku dulje vrijeme ili kada su uzorci urina vrlo kiseli kao što je to uslijed uzimanja visokih doza askorbinske kiseline (13).

3.3.2. Kvantitativni testovi na D-3-hidroksibutirat (3HB) u krvi

Zbog nemogućnosti otkrivanja 3HB u reakciji s nitroprusidom potaknuo se razvoj brzih enzimskih metoda za kvantifikaciju razina 3HB u uzorcima malog volumena. Jedan takav sustav je GDS Diagnostic (Elkart, IN, SAD) koji je stolni analizator za upotrebu u kliničkim

laboratorijima i liječničkim ordinacijama i određuje razinu 3HB u kapi krvi (25 μ L) za oko 2 minute. No, potreba za razrjeđivanjem uzoraka kao i potreba za analizom na sobnoj temperaturi, prepreke su brzom i rutinskoj uporabi. Drugi sustav je uređaj Precision XtraTM Advanced Diabetes Management Systems koji je dostupan kao alat za samokontrolu 3HB u krvi kod kuće (13). Ovaj sustav može izmjeriti razinu 3HB u uzorku krvi iz prsta (5 μ L) unutar 30 sekundi i točan je u rasponu koncentracija 3HB od 0 mM do čak 6 mM za razliku od GDS dijagnostičkog sustava čiji je raspon detekcije 3HB 0 – 2 mM. Ovaj sustav koristi posebnu karticu reagensa za 3HB te i jednu za glukozu, pri čemu se omogućuje korisnicima i procjena razine glukoze u serumu tijekom istog postupka.

Ova nova vrsta dijagnostičkih testova eliminira problem lažno pozitivnih rezultata uzrokovanih lijekovima koji sadrže sulfhidril, a imaju i određene prednosti u osoba oboljelih od T1ŠB, gestacijskog dijabetesa, DKA te kod toksičnih ketoacidoza. Utvrđeno je da ove dvije metode pomoću kojih se mogu precizno izmjeriti razine 3HB u krvi upravo zbog bolje osjetljivosti od nitroprusidnog testa mogu pomoći u liječenju pacijenata s T1ŠB te u otkrivanju nedovoljne inzulinizacije i izbjegavanja DKA. Provođenjem studija otkriveno je da se ovim metodama u nekih pacijenata oboljelih od T2ŠB otkrila povišena razina 3HB u serumu unatoč normalnim razinama glukoze u krvi koja je postignuta dijetom i/ili oralnim antidijabeticima i bez inzulina (13). Brzo određivanje razina 3HB u serumu je korisno i u postavljanju dijagnoze DKA te liječenju pacijenata s kombiniranom dijabetičkom i laktacidozom, produljenom metaboličkom acidozom i dr. miješanim acidobaznim poremećajima. Studijama se uvrđilo i da je akutno liječenje DKA novim inzulinskim režimom koristilo normalizaciju serumskih razina 3HB, umjesto normalizacije serumskih razina glukoze, kao primarnu točku za smanjenje inzulinske terapije s kontinuirane infuzije (5 U/h) na nižu dozu zbog čega je ovaj „produženi režim inzulina“ doveo do povlačenja ketoze otprilike 14 sati ranije od konvencionalnog režima. Istraživači su također nagađali da učinkovitije rješavanje ketoze može dovesti do bržeg poboljšanja inzulinske osjetljivosti tijekom ranog perioda oporavka od DKA i da to može, zauzvrat, potencijalno skratiti duljinu boravka u bolnici. Nedavna istraživanja nisu pronašla jasnu poveznicu između razine 3HB pri prijemu i tijeka DKA i razvoja komplikacija DKA, pri čemu istraživači sugeriraju uporabu nitroprusidnog testa zajedno s mjerenjem laktata čime se može pomoći u razlikovanju miješane acidoze. No, potrebno je znati i da trenutačno dostupni testovi ketonskih tijela u urinu nisu pouzdani za dijagnosticiranje ili praćenje liječenja ketoacidoze (13).

3.4. Neoksidativne sudbine ketonskih tijela

SCOT - ovisna ekstrahepatična oksidacija pretežna je sudbina ketonskih tijela nastalih u jetri. Acetoacetat se može transportirati iz mitohondrija te tako iskoristiti u anaboličkim putevima pretvorbom u acetoacetyl-CoA reakcijom ovisnom o ATP-u koju katalizira citoplazmatska acetoacetyl-CoA sintetaza (EC 2.3.1.194.) (19). Citoplazmatski acetoacetyl-CoA može se ili usmjeriti citosolnim enzimom HMGCS1 u pravcu sinteze sterola, a može se i pocijepati pomoću jedne od dviju citoplazmatskih tiolaza u molekulu acetyl-CoA [acetyl-CoA aciltransferaza 1 (ACAA1; EC 2.3.1.16) i acetyl-CoA acetyltransferaza 2 (ACAT2, EC 2.3.1.9.)] te karboksilirati u malonil-CoA i tako doprinijeti sintezi masnih kiselina (19). Ketonska tijela mogu biti i anabolički susprati u jetri, iako se fiziološki značaj tek treba utvrditi. Korak u ograničavanju sinteze kolesterola je stvaranje molekule 3-hidroksimetilglutaril-CoA (HMG-CoA), koji nastaje kondenzacijom acetoacetyl-CoA i acetyl-CoA u reakciji koju katalizira 3-hidroksimetilglutaril-CoA-sintaza 2 (HMGCS2). Uz pomoć koenzima NADPH, HMG-CoA se enzimski reducira u mevalonat, a potom enzimski fosforilira u mevalonat-5-fosfat koji predstavlja bitan međuprodukt u sintezi izoprenoida (14). Cirkulirajući acetoacetat sintetiziran ketogenezom ili pak stvoren lizom 3HB-a povezuje se i uz ciklus limunske kiseline. U tom slučaju acetoacetat stvara vezu s HS-CoA pomoću enzima SCOT, a koji predstavlja korak ograničenja brzine ketolize kroz ciklus limunske kiseline. S obzirom da je enzim SCOT izražen u svim tkivima osim u jetri, njegova odutnost u jetri sprječava beskorisno kruženje acetoacetata kao i acetyl-CoA u jetrenom tkivu (14). Ujedno odsutnost enzima SCOT u jetri omogućava nastavak sinteze ketonskih tijela za upotrebu u drugim tkivima. Aceton ima sposobnost prelaska krvno-moždane barijere, no s obzirom da je metabolički inertna molekula ne može se izravno prevesti natrag u acetoacetat ili acetyl-CoA. Detoksikacija acetona odvija u jetri pretvorbom u laktat koji se potom može oksidirati u piruvat, te u konačnici u acetyl-CoA (14). Acetoacetat opskrbljuje kolesterologenezu, a ova njegova sudbina pogodovana je niskom vrijednosti K_M (približno 50 μM) acetoacetyl-CoA-sintetaze za acetoacetat što omogućuje aktivaciju acetoacetata čak i prilikom obroka (19). Dinamička uloga citoplazmatskog metabolizma ketonskih tijela pretpostavljena je kod primarnih embrionalnih neurona u miševa i u 3T3-L1 staničnoj liniji adipocita, budući da je knockdown acetoacetyl-CoA sintetaze oslabio diferencijaciju svakog tipa stanice (19). U određenim stanjima, ali i u prirodnom tijeku bolesti, metabolizam citoplazmatskih ketonskih tijela može imati važnu ulogu. Jedan od primjera je prilikom nedostataka enzima SCOT koji predstavlja rijetko nasljedno metaboličko oboljenje koje je

izazvano mutacijom gena OXCT1 koji kodira ovaj mitohondrijski enzim odgovoran za prijenos HS-CoA sa sukcinil-CoA na acetoacetat u cilju stvaranja acetoacetyl-CoA i sukcinata. Ovaj nasljedni metabolički poremećaj razgradnje ketonskih tijela kroz ciklus limunske kiseline dovodi do nakupljanja acetoacetata što za posljedicu ima ketoacidotičke napadaje, a takvi pacijenti obično imaju trajno povišene razine ketonskih tijela u krvi (perzistentna ketoacidoza) bez simptoma između napada ketoacidoze (letargija, povraćanje, gubitak apetita, povremeni napadaji i koma) (14).

3.5. Signalne funkcije ketonskih tijela

Nova istraživanja su počela rasvijetljivati ulogu ketonskih tijela kao signalnih molekula. U tom pogledu ketonska tijela kontroliraju ekspresiju gena, djeluju kao protuupalne signalne, posjeduju zaštitni učinak protiv oštećenja izazvana oksidacijskim stresom, a mogu povezati i okolišne čimbenike poput prehrane s regulacijom starenja (9, 15).

3.5.1. D-3-Hidroksibutirat (3HB) kao posrednik signalizacije

Ketonsko tijelo, 3HB ima nekoliko signalnih djelovanja koje uključuju vezanje 3HB za receptore na površini stanice i inhibiciju histonskih deacetilaza, (engl. *Histone Deacetylase*; HDAC, EC 3.5.1.98), a ujedno je i supstrat za post-translacijsku modifikaciju proteina.

3.5.1.1. Vezanje D-3-hidroksibutirata (3HB-a) za receptore na površini stanice

3HB djeluje preko najmanje dva stanična površinska receptora spregnuta s G proteinom (engl. *G Protein-Coupled Receptors*; GPCR) koji vežu kratkolančane masne kiseline (14). Najviše proučavani signalni učinak 3HB odvija se upravo preko GPR109A (engl. *G protein-Coupled Receptor 109A*, poznat i kao HCAR2 (engl. *Hydroxycarboxylic Acid Receptor 2*) koji je član podobitelji receptora GPCR-a u bijelom i smeđem masnome tkivu te imunološkim stanicama, a ligandi ovog receptora imaju protuupalne uloge u aterosklerozi, pretilosti, upalnoj bolesti crijeva, neurološkim bolestima i raku. Niacin (vitamin B3, nikotinska kiselina) je dobro poznati i moćan egzogeni ligand (EC 50 ~ 0,1 μ M) za GPR109A, koji se desetljećima koristi u kontroli dislipidemije. Jedini poznati endogeni ligand za receptor GPR109A je 3HB, a može se aktivirati pomoću D-3HB-a, L-3HB-a i butirata. Dok niacin pospješuje obrnuti transport kolesterola u makrofagima i smanjuje aterosklerotske lezije, učinci 3HB-a u tom pogledu još su nepoznati. Međutim, aktivacija GPR109 s 3HB za posljedicu ima inhibiciju lipolize u

masnom tkivu. Visoki koncentracijski prag potreban za aktivaciju ovog receptora postiže se pridržavanjem ketogene dijeta, tijekom ketoacidoze ili gladovanja (19).

Nadalje, signalizacijom preko receptora GPR109A 3HB postiže antilipolitički učinak putem inhibicije adenilil-ciklaze (EC 4.6.1.1) te niskom koncentracijom cAMP-a (engl. *Cyclic Adenosine Aonophosphate*) što dovodi do inhibicije lipaze osjetljive na hormone i stvaranja negativne povratne sprege u kojoj ketoza postavlja modulatornu kočnicu ketogenezi smanjujući otpuštanje slobodnih masnih kiselina iz adipocita – učinak pomoću kojeg se može uravnotežiti simpatički pogon koji stimulira lipolizu (18). 3HB također se veže i anagonizira receptor slobodnih masnih kiselina 3 (engl. *Free Fatty Acid Receptor 3*; FFAR3, poznat i kao GPR41) koji je prisutan u simpatičkim ganglijima čime potiskuje aktivnost simpatičkog živčanog sustava rezultirajući smanjenjem potrošnje energije i otkucaja srca, a svojim djelovanjima na HCAR2 i FFAR3 može smanjiti lipolizu, brzinu metabolizma te smanjiti tonus simpatikusa (20, 15). 3HB također ulazi u interakciju s jezgrinim ribonukleoproteinom hnRNP A1 (engl. *Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein A1*) čime se dovodi do pojačane regulacije transkripcijskog faktora OCT4 (engl. *Octamer-Binding Transcription Factor 4*), zbog čega ova regulacija uzrokuje povećanu ekspresiju vlaknastog proteina jezgrine lamine, lamina B1, koji je ključan zaštitni čimbenik starenja DNA u vaskularnim stanicama (20). Lamin B1 ima ulogu održavanja i osiguravanja stabilnosti strukture jezgre, no ovaj protein isto tako može utjecati i na proces starenja stanica reguliranjem distribucije kromatina, ekspresije gena, replikacije kao i transkripcije DNA, staničnog ciklusa i dr. Stanično starenje predstavlja multifaktorijski proces koji se javlja tijekom života organizma, a karakteriziran je gubitkom integriteta stanica i tkiva što rezultira biološkom disfunkcijom kao i povećanim rizikom od bolesti povezanih sa starenjem, osobito malignih bolesti (67).

3.5.1.2. D-3-hidroksibutirat (3HB) kao inhibitor HDAC klase I

HDAC klase I su obitelj proteina koji imaju važnu ulogu u regulaciji ekspresije gena što postižu deacetiliranjem lizinskih ostataka na histonskim i nehistskim proteinima. HDAC klasa I (npr. HDAC1, HDAC2, HDAC3 i HDAC8) su mali i uglavnom jezgrini proteini koji se prvenstveno sastoje od domene deacetilaze i obično se nalaze u velikim regulatornim multiproteinskim kompleksima (7). Hiperacetilacija histona povezana je s aktivacijom ekspresije gena pa su HDAC-posredovanoj deacetilaciji i regulaciji podložni i mnogi nehistski proteini koji uključuju TP53, MYC, MYOD1 i NF- κ B (7). HDAC klasa IIa (npr. HDAC4, HDAC5, HDAC7, HDAC9) predstavlja veće proteine s ekstenzivnim regulatornim

domenama na njihovom *N*-kraju i kreću se između jezgre i citoplazme (15). Ketonsko tijelo 3HB ima važnu ulogu u regulaciji transkripcije, djelujući kao inhibitor histonske deacetilaze klase I (HDAC I). Histonske deacetilaze klase I uklanjaju acetilne skupine iz histona, što rezultira kompaktnijom strukturom kromatina i potiskivanjem ekspresija gena. Inhibicija HDAC-a pomoću 3HB-a dovodi do otvorenijeg kromatina te povećanja ekspresije gena. Acetilacija histona predstavlja temeljni regulacijski mehanizam u poticanju ekspresije gena, te je dokazano da utječe na funkciju, potencijal diferencijacije i mirovanje više tipova odraslih matičnih stanica (69). Prvi identificirani HDAC inhibitor bila je kratkolančana masna kiselina butirat koji se strukturno razlikuje od 3HB po hidroksilnoj skupini, a kasnije je otkriveno najmanje četiri glavne strukturno različite klase HDAC inhibitora. Međutim, 3HB ima manje izražena inhibicijska svojstva u odnosu na klasičan inhibitor, butirat. (7, 15). 3HB inhibira HDAC1, HDAC3 i HDAC4 (klase I i IIa) *in vitro*, s IC_{50} od 2 – 5 mM (14). Hiperacetilacija histona inducira se tretiranjem kultiviranih stanica s 3HB-om ovisno o dozi, osobito na histonskim H3 lizinima 9 i 14 (7). Gladovanje također može inducirati izraženu hiperacetilaciju histona u mnogim tkivima miša, a posebno u bubrezima. Sukladno tome, liječenje miševa 3HB-om putem osmotske pumpe uzrokuje hiperacetilaciju bubrežnih histona koja je povezana sa specifičnim promjenama u ekspresiji gena, uključujući transkripcijski faktor FOXO3a (engl. *Forkhead box O3*) (7). Povećana ekspresija FOXO3a je izravan učinak inhibicije HDAC-a s 3HB-om kojom se pokreće pomak u transkriptomu prema povećanoj ekspresiji gena antioksidacijskih enzima katalaze i superoksid-dismutaze 2 koji reagiraju na oksidacijski stres (7, 15).

3HB može pospješiti hiperacetilaciju proteina i neizravno, metaboličkom transformacijom u acetil-CoA, čime se osigurava dodatni supstrat za enzimsku i neenzimsku acetilaciju proteina, (15). Gladovanje, ograničenje kalorija i prehrana s visokim udjelom masti povezana su povećanim iskorištavanjem lipida i stoga visokom proizvodnjom acetil-CoA, te stoga uzrokuju povećanu acetilaciju proteina mitohondrija, iako nije poznato da HDAC koje inhibira 3HB ulaze u mitohondrije (15). Transport acetil-CoA iz mitohondrija aktivan je proces prvenstveno posredovan citrat-sintazom (EC 2.3.3.1.) i citrat-liazom (EC 2.3.3.8.). No, fiziološke promjene u koncentracijama acetil-CoA proizvedenog pomoću enzima citrat-liaze ovisne o ATP-u također mogu regulirati i acetilaciju histona. Proizvodnjom acetil-CoA pomoću ovog enzima pridonosi se povećanju acetilacije histona tijekom staničnog odgovora na stimulaciju faktora rasta kao i tijekom diferencijacije adipocita.

3.5.1.3. β -Hidroksibutirilacija proteina

3HB osim inhibicije enzima uključenih u regulaciju post-translacijskih modifikacija proteina kao što su HDAC, može modificirati proteine na post-translacijskoj razini (7). Hidroksibutirilacija na ϵ -amino-skupini ostataka lizina u histonima (engl. *Histone lysine β -hydroxybutyrylation*, Kbh**b**) je post-translacijska modifikacija histona (HPTM) identificirana masenom spektrometrijom (u stanicama kvasca, muhe, miša i čovjeka), a regulira transkripciju gena kao odgovor na restrikciju ugljikohidrata ili povišene razine 3HB-a *in vivo* i *in vitro* (52, 7). Središnja komponenta nukleosoma u eukariota je histonski oktamer kojeg čine dvije kopije histona H2A, H2B, H3 i H4, a H1 histon se veže na poveznicu DNA između nukleosoma (52). Histonski aminokiselinski ostaci, posebno oni u repu H3 i H4, kao što su lizin, arginin, serin, tirozin i treonin, lako se modificiraju specifičnim enzimima ili enzimskim kompleksima kako bi se formirale različite vrste HPTM koji uključuju metilaciju, acetilaciju i fosforilaciju (52). HPTM ima važnu ulogu u reguliranju strukture i funkcije kromatina, a što je bitno za određivanje i održavanje specifičnog obrasca ekspresije gena bez mijenjanja sekvence DNA, i u konačnici utječe na različite biološke događaje u eukariotskim stanicama. Acetilacija histona povezana je uz regulaciju staničnog ciklusa, s oštećenjem i popravkom DNA te strukturom kromatina; metilacija histona je uključena u represiju ili aktivaciju gena, dok fosforilacija predstavlja klasičnu modifikaciju povezanu s diobom stanica i apoptozom (52). U fiziološkim uvjetima stanice su stalno izložene varijacijama u dostupnosti hranjivih tvari i stresu iz okoliša, a vjeruje se da HPTM poput acetilacije i metilacije lizina, osiguravaju način prilagodbe tim izazovima za održavanje fiziološke homeostaze (18). Ketoza i 3HB povezani su s kovalentnim modifikacijama i služe kao dinamički regulatori kromatinske arhitekture i transkripcije gena, uključujući acetilaciju i metilaciju što sugerira da 3HB ima funkcije izvan toga da služi kao alternativno gorivo tijekom restrikcije ugljikohidrata (52).

Znanstvenici su 2016. identificirali da 3HB djeluje kao supstrat za Kbh**b** što potom aktivira ekspresiju gena, neovisno o acetilaciji (52). Razina Kbh**b** značajno je inducirana u uvjetima gladovanja ili dijabetičke ketoacidoze izazvane streptozotocinom, fizioloških stanja u kojima su razine 3HB drastično povišene (52, 18). Do sada je otkriveno 46 histonskih Kbh**b** mjesta u četiri histona jezgre (H3, H4, H2A i H2B) i povezača histona H1 *in vivo* i *in vitro*, dok su u ljudskim i mišjim stanicama identificirana 44 histonska Kbh**b** mjesta od kojih je 38 bilo iz 3HB tretiranih humanih stanica HEK239 (engl. Human embryonic kidney 239 cells) i 26 iz jetre izgladnjelih miševa ili miševa kojima je induciran dijabetes streptozotocinom, što ukazuje na to da je Kbh**b** široko rasprostranjena histonska oznaka (52). Kbh**b** opisana je ne samo u histonskim proteinima,

već i u nehistskim proteinima, kao što je p53, supresor tumora i faktor transkripcije koji pokreće ekspresiju gena koji reguliraju zaustavljanje staničnog ciklusa, popravak DNA, apoptozu, starenje i metabolizam kao odgovor na genotoksične, onkogene i druge oblike stanične stresore.

Tjelovježba, post, restrikcija kalorija i ketogena dijeta, kao i bilo koje drugo stanje koje inducira endogenu proizvodnju 3HB, proizvesti će samo R-3HB-a, dok S-3HB-a nije normalan proizvod ljudskog metabolizma (52). U pokretanju Kbhb, 3HB stvoren ketogenezom prenosi se krvlju do tkiva gdje se pretvara u acetil-CoA. Izotropsko metaboličko označavanje pokazuje da se 3HB veže na slobodni HS-CoA tvoreći 3-hidroksibutiril-CoA (3HB-CoA) koji je visokoenergetski donor za Kbhb (51). Postoje dva potencijalna izvora ove kiralne PTM-e, a to su R-3HB te S-3HB-CoA koji je prolazni intermedijer u posljednjem krugu β -oksidacije masnih kiselina, a ključan enzim koji regulira ovaj proces je acil-CoA-sintaza (EC 6.2.1.13) (52). Modifikacije kromatina senzibiliziraju genom za promjene staničnog metabolizma, a čime se uspostavljaju različita funkcionalna adaptivna stanja. Epigenom djeluje kao metabolički senzor koji dopušta brzu prilagodbu transkripcije za regulaciju staničnog metabolizma i nalazi se između metabolizma stanice i regulacije sudbine stanice (52). 3HB koji je proizveden tijekom posta inducira Kbhb što zauzvrat transkripcijski regulira odgovor na gladovanje. Obogaćivanje i uklanjanje ovih epigenetskih oznaka ovisi i o proizvodnji metabolita koji utječu na aktivnost modifikatora kromatina i enzima u histonskim Kbhb putovima (52). Enzimi HMGCS2 i BDH1 osim što djeluju kao ključni enzimi u metabolizmu ketonskih tijela, utječu također i na modifikaciju histona Kbhb. No, gubitkom enzima HMGCS2 narušava se agregacija H3K9bhb i utječe na metaboličke genske programe povezane uz H3K9bhb, što pospješuje proliferaciju matičnih stanica hepatocelularnog karcinoma (52). Kbhb nije pod utjecajem samo ključnih enzima uključenih u metabolizam ketonskih tijela i metaboličkih supstrata, već ga reguliraju i „čitači“, „pisari“ i „brisači“. Pojam „pisari“ odnosi se na enzime koji potiču modifikacije acilacije histona (52). Proteini „čitači“ mogu specifično prepoznati određene HPTM-ove koji zauzvrat reguliraju izvodnu transkripciju gena i utječu na stanične događaje. Enzimi koji uklanjaju modifikacije acilacije poznati su kao „brisači“. „Brisači“ Kbhb su uglavnom HDAC1 i HDAC2 ovisni o cinku i SIRT3 ovisni o NAD⁺ koji posreduju u uklanjanju Kbhb enzimatskom aktivnošću (52). SIRT3 se razlikuje od HDAC-ova ovisnih o cinku činjenicom da SIRT3 pokazuje selektivnu aktivnost za de- β -hidroksibutirilaciju histona favorizirajući H3K4, H3K9, H3K18, H3K23, H3K27 i H4K16, ali ne i H4K5, H4K8, H4K12 (52). Ljudski SIRT3 djeluje kao histonska de- β -hidroksibutirilaza na mjestima H3K4, H3K9, H3K18, H3K23, H3K27 i H4K16, ali ne i H4K5, H4K8, H4K12

budući da nema mogućnost uklanjanja Kbhb na mjestima koja posjeduju bočne ostatke glicina (52, 69). (*S*)-3HB stabiliziran je vodikovim vezama i hidrofobnim kontaktima, ali (*R*)-3HB manje precizno stvara vodikove veze i slabo veže SIRT3. HDAC3 preferira modifikaciju (*R*)- β -hidroksibutirilacije lizina u usporedbi s lizinskom *S*- β -hidroksibutirilacijom *in vitro* (52). Većina različitih PTM-ova ne pojavljuje se na istim ostacima lizina što sugerira da veliki dio PTM-ova ima jedinstvene funkcije. Analizom imunoprecipitacije kromatina i RNA-seq se prikazalo da je Kbhb oznaka obogaćena aktivnim promotorima gena i da su povećane razine H3K9bhb koje se javljaju tijekom gladovanja povezane s genima čija je ekspresija pojačana metaboličkim putevima koji reagiraju na gladovanje (18).

β -hidroksibutirilacija histona stoga predstavlja epigenetsku regulatornu oznaku kojom se reguliraju geni koji reagiraju na metaboličko gladovanje i koja povezuje metabolizam s ekspresijom gena, nudeći put za proučavanje regulacije kromatina i različitih funkcija 3HB-a u kontekstu važnih patofizioloških stanja, uključujući dijabetes, epilepsiju i neoplaziju (18).

3.6. Upalni i protuupalni odgovori na ketonska tijela

Upala nastaje kao obrambeni mehanizam u tijelu nakon povreda i prodora vanjskih patogena. Kao rezultat upale dolazi do privremene ili trajne reakcije tijela i upalnih bolesti. NLRP3 (engl. *Nucleotide-binding domain, Leucine-Rich-containing family, Pyrin domain-containing-3*) je citosolni supramolekulski kompleks odgovoran za aktivaciju upalnih odgovora i stanične smrti, a uključuje proteine Nlrp3 (engl. *Nucleotide-Binding Domain, Leucine-Rich-Containing Family, Pyrin Domain-Containing-3*), ASC (engl. *Apoptosis-Associated Speck-Like Protein*) i pro-kaspazu-1 (30). NLRP3 izražen je u različitim staničnim linijama makrofaga, epitelnih stanica i fibroblasta. Za pojavu ozbiljnih upalnih bolesti (npr. Muckle-Wellsov sindrom i akutni pankreatitis) odgovorna je mutacija na egzonu 3 u genu NLRP3 koji kodira NLRP3 multienzimski kompleks (30). Prema nekim istraživanjima prisutnost ketonskih tijela koje jetra proizvodi smanjila bi postotak uključenih posrednika upale što je obećavajuće za osobe oboljele od autoimunih bolesti i neurodegenerativnih bolesti, ali i šećerne bolesti jer je kronična ketoza koj aprati T1ŠB proupalno stanje. Po tome, uskraćivanje hrane u razdobljima 15 sati do 2 tjedna dovodi do protuupalnog odgovora u organizmi jer pospješuje sintezu ketonskih tijela uključujući 3HB-a (19).

Uloga povišene koncentracije acetoacetata je aktivacija proupalne signalizacije pa se kod visoke koncentracije glukoze povećava oštećenje endotelnih stanica mehanizmom koji ovisi o

NADPH-oksidadzi (EC 1.6.3.1) i oksidativnom stresu (19). Fenomen signalizacije ovisne o ketonskih tijelima koja povezuje ove molekule s proupalnim ili protuupalnim učincima može ovisiti o vrsti stanice, trajanju izloženosti i o koncentracijama ketonskih tijela, a često se pokreće samo visokim koncentracijama ketonskih tijela (> 5 mM) (19).

3.7. Ketonska tijela i oksidacijski stres

Ketonska tijela osim što se koriste kao izvor energije za ekstrahepatična tkiva poput mozga, srca ili skeletnih mišića, imaju i ključnu ulogu kao posrednici signalizacije, modulatori upale, pokretači PTM-ova i oksidacijskog stresa. Oksidacijski stres je stanje u kojem su u suvišku prisutne reaktivne vrste kisika (ROS) zbog prekomjerne ili smanjene eliminacije. U oksidativnom stresu, povećane koncentracije reaktivnih vrste kisika mogu oštetiti proteine i lipide mitohondrijskih membrana i DNA, smanjujući tako sposobnost mitohondrija za sintezu ATP-a. U studijama *in vivo* i *in vitro* opisana je uloga ketonskih tijela u smanjenju staničnih oštećenja posredovanih oksidacijskim stresom u kardiomiocitima i neuronima. Neuroprotektivni učinci ketonskih tijela su važni s obzirom da većina neurona nema sposobnost proizvodnje visokoenergetskih fosfata iz masnih kiselina, iako oksidiraju ketonska tijela u nedostatku ugljikohidrata. D-3HB, L-3HB i acetoacetat smanjuju smrtnost neuronskih stanica kao i nakupljanje reaktivnih vrsta kisika koje je izazvano kemijskom inhibicijom glikolize, a pokazana je i neuroprotektivna uloga ketogene dijete i egzogenih ketonskih estera kod neuroloških stanja kao što su ishemijski moždani udari, Parkinsonova bolest, epileptični napadaji, Alzheimerova bolest i sindromi moždanog udara (19).

Ketonsko tijelo 3HB ima važan utjecaj na metabolizam reaktivnih vrsta kisika. *In vitro* studijama je dokazano da 3HB u izravnoj reakciji može neutralizirati hidroksilni radikal ($\cdot\text{OH}$), ali ima i neizravno antioksidacijsko djelovanje koje ostvaruje pokretanjem adaptivnog (hormetskog) odgovora. Naime, tijekom nestašice hrane ili gladovanja, povećana proizvodnja energije iz ketonskih tijela povezana je s povećanim stvaranjem ROS-a u mitohondrijima, popratnim smanjenjem razine NADH, uz posljedični porast razine NAD^+ , i nižim omjerom AMP/ATP. Povećana proizvodnja ROS-a također se vidi pri izlaganju hepatocita štakora ili humanih endotelnih stanica acetoacetatu. Pored mitohondrijskog porasta ROS, bilježi se i aktivacija, NADPH-oksidadze 4 visokim koncentracijama acetoacetata (4 mmol/L) i 3HB (12 mmol/L) koja u humanim endotelnim stanicama stvara superoksidni anion radikal ($\text{O}_2^{\cdot-}$), doprinoseći oksidacijskom stresu. Oksidacijski stres dovodi do oštećenja stanica na razini

lipida, proteina i DNA i obično je praćen ili dovodi do aktivacije oslobađanja proupalnih citokina i upalnog odgovora (19, 20).

Početni porast ROS-a i proupalnih medijatora aktivira adaptivni obrambeni odgovor stanice kojim se aktiviraju zaštitni mehanizmi, uključujući povećanu antioksidacijsku i protuupalnu aktivnost, popravak stanica i mehanizme regeneracije. Ovi stanični odgovori posredovani su transkripcijskim faktorom Nrf2 (engl. *Nuclear factor erythroid E2-related factor 2*) te histonskim deacetilazama iz obitelji sirtuina (SIRT) i AMP-om aktiviranim proteinskim kinazama.

Transkripcijski faktor Nrf2 jedan je od glavnih regulatora nekoliko stotina gena uključenih u antioksidacijsku zaštitu, protuupalni odgovor, popravak i regeneraciju stanica. Aktivacija Nrf2 usko je povezana s mitohondrijskim stresom u kojem se, među ostalim, povećava razina NAD^+ , što u povratnom odgovoru uzrokuje aktivaciju sirtuina 1 i 3, histonskih deacetilaza ovisnih o ovom kofaktoru. Spomenuti enzimi promiču pojačanu ekspresiju skupa gena koji su također uključeni u antioksidacijske i protuupalne aktivnosti, a ujedno podržavaju autofagiju, mitohondrijske funkcije i rast, pa se time njihova aktivacija djelomično preklapa sa skupom gena aktiviranim preko Nrf2. Daljnja važna aktivnost sirtuina 3 je deacetilacija i aktivacija NADP^+ -ovisnih izocitrat-dehidrogenaza u mitohondrijima i citoplazmi što dovodi do povećanog stvaranja NADPH koji se koristi za inaktivaciju lipidnih peroksida.

Omjer AMP/ATP (i AMP/ADP) je pokazatelj energetske homeostaze. Stanice reagiraju na nižu razinu ATP-a regulacijom AMP-om aktiviranih proteinskih kinaza (AMPK). Ovi enzimi obnavljaju razine ATP-a stimuliranjem procesa koji stvaraju ATP (npr. oksidacija masnih kiselina) i inhibicijom drugih koji troše ATP, ali nisu akutno potrebni za preživljavanje (npr. sinteza triacilglicerola i proteina, proliferacija stanica). Isto tako, AMPK promiče aktivnosti zaštite stanica koje se preklapaju s onima koje inducira Nrf2 ili sirtuini, uključujući potporu mitohondrijske funkcije kao i regulaciju antioksidacijskog i protuupalnog odgovora i funkcije popravka stanica (popravak DNA, autofagija).

Stoga, tijekom ketoze, acetoacetat i/ili 3HB uzrokuju oksidacijski i metabolički stres koji aktivira signalizaciju putem Nrf2 i sirtuina 1 i 3 i aktivaciju AMPK što rezultira zaštitnim adaptivnim odgovorom koji daje otpornost na stres, karakteriziranim poboljšanom funkcijom mitohondrija, antioksidacijskom zaštitom i protuupalnim odgovorom, ojačanim mehanizmima popravka stanica (kao što su popravak DNK i autofagija) te smanjenjem anaboličkog metabolizma (13, 19, 20, 63).

Sljedeći aspekt antioksidacijskih učinaka ketonskih tijela je njihova sposobnost neizravne oksidacije koenzima Q (ubikinon) do koje dolazi uslijed porasta razine NAD^+ tijekom ketolize.

Ubikonon je pokretni prenositelj elektrona u mitohondrijskom respiracijskom lancu koji se tijekom prijenosa elektrona djelomično reducira u semikinonski, radikalni oblik (QH[•]). Ova radikalna vrsta ulazi u reakciju s kisikom stvarajući superoksidni anion radikal (O₂^{•-}). Stoga se i oksidacijom (polu)reduciranog oblika koenzima Q, može smanjiti mitohondrijska proizvodnja slobodnih radikala (11).

3.8. Ketonska tijela, pretilost i nealkoholna masna bolest jetre

Nealkoholna masna bolest jetre (NAFLD, engl. *Nonalcoholic Fatty Liver Disease*) smatra se glavnim uzrokom kroničnog oboljenja jetre. Definirana je kao spektar bolesti jetre, a koje nisu povezane sa značajnim unosom alkohola ili drugim poznatim uzrocima nakupljanja masti u jetri, a obuhvaća prokomjerno nakupljanje masti u jetri uzrokujući jednostavnu steatozu ili steatozu uz upalu, oštećenje jetrenih stanica i smrt jetrenih stanica (nealkoholni steatohepatitis; NASH; engl. *Nonalcoholic Steatohepatitis*) (20, 55). Prevalencija NAFLD je značajno porasla tijekom posljednjih godina, popratno s povećanjem prevalencije i pretilosti i metaboličkog sindroma. Globalna prevalencija NAFLD se trenutno procjenjuje na 25%, a najviša prevalencija je zastupljena na Bliskom istoku Južnoj Americi, dok je najniža u Africi (56). Ovo je također bolest koja se svrstava u glavne uzroke transplatacije jetre. Ciroza koja je uzrokovana NASH-om uzrokovana je neuspješnom regeneracijom zdrave jetre, promicanjem diferencijacije zvjezdastih stanica jetre u miofibroblaste te fibrinogenezom (20). U patogenezi NAFLD-a specifične uloge mitohondrijske disfunkcije ostaju nejasne, a četiri studije neovisne metodologije izvješćuju o povećanom toku CLK ciklusa jetre, anaplerozi i/ili glukoneogenezi kod pretilosti i/ili NAFLD (20). Sudbinu za dio suviška masti osigurava oksidativni tok, iako ne kompenzira u potpunosti opterećenje hepatocita, pridonoseći ektopičnom nakupljanju masti (20). Povećana bi oksidacija masti mogla ublažiti toksično nakupljanje lipidnih vrsta, a oksidacija također može povećati i proizvodnju superoksida putem respiracijskog lanca. Evolucijom od jednostavne steatoze do NASH-a, jetreni mitohondrijski oksidativni tokovi se mogu smanjiti. Suprotni model patogeneze NAFLD-a tvrdi da je mitohondrijska oksidacija masti smanjena ili neprimjereno normalna te da bi čišćenje jetrene masnoće putem terapijskih povećanja oksidacije masti moglo pružiti terapijsku korist. Veliki je interes za korištenje sredstava koja povećavaju oksidaciju masti u jetri, uključujući i ketogenu dijetu, povremeni post, ali i ketogene farmakoterapije (poput inhibitora natrij-glukoznog kotransportera (engl. *Sodium-glucose Cotransport Protein-2 Inhibitors; SGLT2i*)) u liječenju pretilosti,

inzulinske rezistencije i NAFLD (20). Postoje brojni primjeri u skeletnim mišićima i jetri pri čemu smanjenje opskrbe mitohondrija gorivom optimizira ravnotežu opskrbe odnosno potražnje energije na način koji možda neće smanjiti steatozu, no može smanjiti ozljede tkiva kao i inzulinsku rezistenciju. Ketogeneza je pokazatelj oksidacije masti u jetri, ali nepotpune, jer je za dobivanje potpunog indeksa oksidacije masti u jetri potrebna neovisna kvantifikacija ketogeneze i CLK ciklusa (20). Nedavnom studijom je potvrđeno da su stope jetrene ketogeneze u gladovanju u obrnutoj korelaciji s ozbiljnošću jetrene steatoze u ljudi s NAFLD-om, dok je tok CLK ciklusa u gladovanju u izravnoj korelaciji s jetrenom steatozom (20). Smanjenje ketogeneze u gladovanju s progresivnim NAFLD-om u skladu je s prethodnim izvješćima koja su uspoređivala biopsije jetre prikazujući da se jetreni HMGCS2 i BDH1 smanjuju u progresivnom nealkoholnom steatohepatitisu, uz odgovarajuće smanjenjem koncentracije ketonskih tijela u cirkulaciji u gladovanju (20).

3.9. Ketonska tijela i miokard

Kardiomiociti pripadaju obitelji mišićnih stanica koje formiraju srčane komore i karakterizira ih velika gustoća mitohondrija zbog čega imaju sposobnost oksidacije različitih supstrata u svrhu proizvodnje ATP-a. Srce odraslog čovjeka troši više energije nego bilo koje drugo tkivo u organizmu (oko 400 kcal/kg tkiva miokarda dnevno) (59). U uvjetima normalne prehrane, glavni izvor energije kardiomiocitima je oksidacija slobodnih masnih kiselina. Međutim srce je „svejed“, pa se ovisno o fiziološkom stanju i stanju uhranjenosti oslanja na iskorištavanje drugih metaboličkih goriva, uključujući glukozu, laktat i ketonska tijela. Primjerice, u sitosti, kada je povećana razina inzulina, značajan izvor energije je razgradnja glukoze aeoobnom glikolizom, dok u akutnom stanju gladovanja masne kiseline i ketonska tijela služe kao primarno srčano gorivo. Dakle, srce normalno oksidira ketonska tijela proporcionalno njihovom dotoku i to u izravnoj konkurenciji sa iskorištavanjem masnih kiselina i glukoze kao izvora energije, a miokard je i najveći potrošač ketonskih tijela po jedinici mase (20). Ketonska tijela se smatraju učinkovitijim izvorom energije u odnosu na glukozu ili slobodne masne kiseline jer daju više energije po metaboliziranom ugljiku od glukoze te zahtjevaju manje kisika od slobodnih masnih kiselina za stvaranje ATP-a (20, 57). Dokazano je da metabolički pomak prema povećanom korištenju ketonskih tijela može povećati protok krvi u miokardu. Pretpostavlja se i da kardio-zaštitni učinak imaju inhibitori natrij-glukoza kotransportera 2 (engl. *Sodium-Glucose Cotransporters* tip 2; SGLT2) i kao djelomičnu posljedicu metaboličke promjene u korist ketonskih tijela (57).

3.9.1. Ketonska tijela i zatajenje srca

Prilikom srčanog zatajenja dolazi do porasta koncentracije oksidirajućih ketonskih tijela, pretežno 3HB-a, zajedno s pojačanom sposobnošću disfunkcionalnog srca da oksidira ketonska tijela. Kod bolesnika sa srčanim zatajenjem pronađena je pozitivna korelacija prilikom povećanja potrošnje energije miokarda, razine acetona i 3HB-a pa se ketonska tijela mogu iskoristiti kod bolesnika sa srčanim zatajenjem kao bioindikator. Istraživanjima na životinjskim modelima srčanog zatajenja dokazalo se da se povećanjem koncentracije cirkulirajućih ketonskih tijela putem ketogene dijetе ili infuzije 3HB-om ublažava patološko problikovanje srca, ali i poboljšava srčana funkcija (59).

Kod ljudi sa srčanim zatajenjem, egzogeni 3HB smanjuje sistemski vaskularni otpor i povećava minutni volumen srca. Akutna isporuka 3HB mogla bi poboljšati srčanu funkciju pozitivnim učinkom na energiju miokarda, smanjiti naknadno opterećenje preko opuštenog vaskularnog tonusa ili na oba ova načina (19). 3HB antagonizira simpatički živčani sustav u interakciji s GPR41 i ima potencijal smanjiti aterosklerozu putem signalizacije preko GPR109A, a ovo ketonsko tijelo aktivira i kalijeve kanale što pospješuje vazodilataciju. 3HB također suzbija upalu inhibicijom inflamasa NLRP3 u bubrežima, smanjujući hipertenziju, a u endotelu, oksidacija ketonskih tijela podržava angiogenezu i poboljšava protok krvi u miokardu. Inhibicijom HDAC klase I, 3HB može doprinijeti transkripcijskim promjenama koje doprinose otpornost na oksidacijski stres. Prema tome, ketonska tijela djeluju različitim putevima kako bi poboljšala preživljavanje stanica, smanjila disfunkciju i staničnu proliferaciju, pa ketonska tijela, osim što su izvor dodatne energije, mogu iskazati kardioprotektivno djelovanje i drugim mehanizmima (86). Kod srca u radu energetske koristi miokarda od egzogenih ketona nisu vidljive u svim eksperimentalnim postavkama.

3.9.2. Pristupi usmjereni na ketonska tijela u aterosklerozi i kardiovaskularni rizik

Ateroskleroza i kardiovaskularni rizik su blisko međusobno povezana stanja. Stvaranje aterosklerotskog plaka je sporo napredujući događaj, a započinje nakupljanjem naslaga lipida koji potiču upalu, lezije vaskularnog endotela, a u konačnici sužavanje i zadebljanje krvnih žila zbog stvaranja aterosklerotskih plakova (30). Različiti stadiji definiraju aterosklerotsku progresiju, od kojih stadiji I, II i III definiraju rane lezije, a stadiji IV, V i VI su naprednije lezije koje potiču taloženje izvanstaničnih lipida i kristala kolesterola (30).

Unos masti tradicionalno se smatra predisponirajućim faktorom pretilosti i kardiovaskularne bolesti. Brojne su studije povezale ketogenu prehranu s povećanom razinom

cirkulirajućih lipoproteinima, osobito kolesterolom kojeg prenose lipoproteini niske gustoće (LDL). Povećana koncentracije LDL kolesterola tijekom ketogene dijeta ne mora imati negativne posljedice jer kardiovaskularni rizik ovisi o populaciji, te o veličini LDL čestica. Primjećeno je da ketogene dijeta mogu selektivno povećati obilje većih LDL čestica koje imaju kardioprotektivna svojstva u odnosu na potklasu LDL-a manje gustoće. Porast koncentracije LDL kolesterola u krvi nije primijećen kada je većina zasićenih masnih kiselina u prehrani (75%) zamijenjena višestruko nezasićenim masnim kiselinama, a dobro je poznato da omega 3 višestruko nezasićene masne kiselina podiže razinu HDL lipoproteina koji se nazivaju i „dobrim kolesterolom“ i tako održava zaštitni učinak na kardiovaskularni sustav (30).

Dok učinci ketogenih dijeta na profil lipida u krvi (kardiovaskularni čimbenik rizika) uvelike ovise o sastavu prehrane, unos egzogenih ketona akutno snižava trigliceride bez neželjenih učinaka na druge frakcije lipida u krvi. Nadalje, u prekliničkim modelima počinju se pojavljivati dokazi koji podupiru sposobnost 3HB-a da izravno utječe na metabolizam lipida i/ili razvoj aterosklerotske kardiovaskularne bolesti putem GPR109A. Međutim, ovo područje istraživanja ostaje u svojim najranijim fazama i potrebna su ispitivanja na ljudima kako bi se dalje istražili potencijalni mehanizmi koji leže u pozadini (86).

3.10. Ketonska tijela u biologiji tumora

Tumorske stanice ne koriste CLK ciklus i oksidacijsku fosforilaciju u svrhu proizvodnje energije već se oslanjaju na aerobnu glikolizu praćenu fermentacijom laktata za sintezu ATP-a čak i u obilju kisika (62). No, aerobna glikoliza predstavlja neučinkovit način stvaranja ATP-a, a prednost koju ovaj proces daje tumorskim stanicama ostaje nejasan. Istraživanjima se pokazalo da su mnoge tumorske stanice neučinkovite u iskorištavanju ketonskih tijela zbog disfunkcije mitohondrija ili nedostaka ketolitičkih enzima. Zabilježeno je i da tumorske stanice koriste ketonska tijela kao preteče u sintezi lipida, a ne kao energetske supstrate. Međutim, neke stanice tumora imaju mitohondrije i ekspimiraju ketolitičke enzime te metaboliziraju ketonska tijela (61). S tim u vezi, ulogu u rastu tumora i metastaziranju tumora može imati i enzim SCOT. Acetil-CoA dobiven u koracima putem enzima SCOT-a od vitalnog je značaja za tumorske stanice, za razliku od drugih izvora mitohondrijskog acetil-CoA dobivenog ili putem β -oksidacije masnih kiselina ili putem procesa glikolize preko enzima piruvat-dehidrogenaze i piruvat-kinaze. (70). Stoga, samo ketonska tijela osiguravaju acetil-CoA dobiven u koracima putem enzima SCOT-a koji se potom kondenzira sa citratom te tako ulazi u ciklus limunske

kiseline. Stoga, inhibicijom SCOT mitohondriji tumorskih stanica lišavaju se acetil-CoA, što bi trebalo zaustaviti razvoj tumora (70). Važnost ketogeneze u tumorskim stanicama nameće se kao važno pitanje s obzirom da proizvodnja ketonskih tijela tumorskim stanicama inhibira ili potiče rast i proliferaciju tumorskih stanica (61). Ekspresija i aktivnost enzima HMGCS2 je smanjena u tumorskim stanicama što rezultira i smanjenom proizvodnjom 3HB-a. Gubitak ekspresije enzima HMGCS2 u jetri i debelom crijevu sisavaca u korelaciji je s lošom prognozom praćenja tumorskih tvorevina (20). Jedan od događaja u ranom stanju razvoja hepatocelularnog karcinoma je nepotpuna oksidacija acetoacetata u jetrenim makrofazima. Gubitak ketogenog kapaciteta hepatocita je povezan s hepatocelularnim karcinomom kod kojeg je ekspresija BDH1 i HMGCS2 potisnuta. Dokazano je i da gladovanje potiče metaboličko reprogramiranje stanica hepatocelularnog karcinoma stimulirajući ekspresiju SCOT što za posljedicu ima iskorištavanje ketonskih tijela kao izvora energije za rast stanica u uvjetima ograničene prehrane (71). Važno je naglasiti da se kliničkim istraživanjima otkrilo da povećana ekspresija SCOT predviđa i povećanu smrtnost pacijenta.

Putem ispunjavanja energetske potrebe stanice ili mehanizama signalizacije, ketonska tijela mogu utjecati na razvoj tumora i rast tumorskih stanica. Na konačni učinak tumorskih stanica utječe metabolička sudbina ketonskih tijela, a stanice koje su manje sposobne za oksidaciju ketonskih tijela bolje reagiraju na inhibiciju HDAC-a (20).

3.10.1. Pristupi usmjereni na ketonska tijela u onkološkoj terapiji

Na mišjem modelu kolorektalnog tumora pokazano je da 3HB smanjuje tumorigenezu, proces kojim se normalne stanice transformiraju u tumorske stanice. Ovo djelovanje 3HB-a postiže se aktivacijom GPR109A kojom pokreće ekspresiju gena koji kodira transkripcijski faktor Hopx, negativni regulator tumorigeneze, koji smanjuje proliferaciju stanica kripti debelog crijeva i snažno potiskuje rast tumora crijeva. Ovime se otvara mogućnost postizanja rezultata u prevenciji i terapiji raka prilagodbom sastava makronutrijenata u prehrani prema obrascu ekspresije gena koji je specifičan za određeni tipu tumora. Ketogena dijeta i 3HB također poboljšavaju imunosupresivno tumorsko mikrookruženje inhibicijom NLRP3 čime pojačavaju antitumorske učinke imunoterapije (61).

Na rast tumorskih stanica također se može utjecati ketogenom dijetom na način da se smanji razina inzulina i inzulinu sličnog faktora rasta (engl. *Insulin-Like Growth Factor 1*, IGF-1) čime se potiskuju signalni putevi koji su ovisni o receptorskoj tirozin kinazi, poput signalnog puta

PI3K-Akt-mTOR (engl. *The phosphoinositide 3 kinase/ Akt/mammalian target of rapamycin*), kojega čine fosfatidilinozitol-3-fosfat kinaza (PI3K) i dvije serin/treonin kinaze, Akt (protein kinaza B – PKB) i mTOR, a zadužen je za proliferaciju tumorskih stanica kao i za njihov rast. Nadalje, pokazalo se da ketoza, bilo izazvana postom ili ketogenom dijetom, povećava učinkovitost kemoterapije protiv stanica tumora i smanjuje nuspojave kemoterapijskog liječenja. Ketogena dijeta je vrsta izgladnjivanja tumorskih stanica jer ih lišava glukoze i laktata, supstrata potrebnih za rast i proliferaciju, usmjerujući metabolizam prema mitohondrijskoj oksidacijskoj fosforilaciji za zadovoljenje energetske potrebe, što uzrokuje mitohondrijski oksidacijski stres. Metabolički oksidacijski stres uzrokuje hipersenzibilizaciju tumorskih stanica i osjetljivost na citotoksine i zračenje, čineći ketogenu dijetu sigurnom i praktičnom pomoćnom terapijom. (85, 61).

Iako ketonska tijela i ketogena dijeta pokazuju terapijski potencijal u liječenju tumora, pretkliničke studije pokazuju da svi tumori ne reagiraju na isti način. Različiti odgovori tumora na ketonska tijela i ketogenu dijetu se mogu objasniti razlikama u sposobnosti stanica tumora u iskorištavanju ketonskih tijela kao izvora energije putem procesa ketolize. Stanice koje su imale niske razine enzima BDH1 i OXCT1 u *in vitro* i *in vivo* studijama bolje su reagirale na 3HB i ketonsku dijetu.

3.11. Pristupi usmjereni na ketonska tijela i crijevna mikrobiota

Crijevnju mikrobiotu u gastrointestinalnom traktu ljudi čini trilijun mikroskopskih organizama. Ova zajednica se sastoji od 8000 različitih vrsta bakterija, gljivica i virusa koji žive u složenom ekosustavu, a na genetski sustav crijevne mikrobiote, mikrobiom, mogu utjecati čimbenici načina života koji uključuju (ali nisu ograničeni) na: upotrebu antibiotika, tjelevoježbu i prehranu. Bakterije koje su dio mikrobioma mogu promijeniti naš odgovor na različite izvore hrane jer se razlikuju u svojoj sposobnosti prikupljanja energije iz hrane, utječući na postprandijalni odgovor glukoze. Kontrolom razine glukoze u krvi smanjuje se rizik od metaboličkih bolesti, pretilosti i dijabetesa, pa je bitno otkriti kako crijevna mikrobiota i prehrana međusobno djeluju i kako je ta interakcija povezana s cjelokupnim zdravljem, ali i utvrditi hoće li promjene u prehrani, poput ketogene dijete pozitivno ili negativno utjecati na ukupnu raznolikost crijevne mikrobiote i sastav vrsta. Trenutno znanstvenici nemaju podataka o dugoročnim učincima ketogene dijete na crijevnju mikrobiotu. Ovom dijetom održava se umjereni unos proteina oko 1,5 g/dan po kilogramu tjelesne težine, te bi pojedinci koji

konzumiraju crveno meso trebali moći dobiti i odgovarajuće količine željeza. Međutim, ketogene dijete nutritivno su neadekvatne, ne samo zbog nedostatka vitamina, minerala već i prehrambenih vlakana koja su primarni izvor supstrata za crijevnu mikrobiotu, pa osobe koje slijede ketogenu dijetu možda neće zadovoljiti dovoljan unos neprobavljivih ugljikohidrata za održavanje mikrobioma povezanog sa zdravljem. Tako je istraživanjima na mišjem modelu utvrđeno je da primjena ketogene dijete značajno mijenja mikrobnu taksonomiju duž gastrointestinalnog trakta (20), pri čemu se porast koncentracije ketonskih tijela povezuje s manjom brojnošću bakterija roda *Bifidobacterium* i *Lactobacillus*.

No, neka istraživanja predviđaju da će ketogena prehrana pozitivno utjecati na mikrobiom povećanjem broja vrsta *Bacteroidetes* i *Bifidobacter* povezanih s poboljšanim zdravljem i smanjenjem mikrobnih vrsta za koje se zna da povećavaju zdravstvene rizike. Studijama se otkrilo da je poremećena crijevna mikrobiota dojenčadi s epilepsijom poboljšana jednodijetnom ketogenom dijetom čime se uspjela povećati brojnost *Bacteroides* za približno 24%, a šestomjesečnom studijom provedenom na djeci s refraktornom epilepsijom značajno smanjenje *Firmicutes* i povećanje *Bacteroides*, iako se ukupna raznolikost smanjila. Studijama se pokazalo i da je nizak omjer *Firmicutes* i *Bacteroidetes* pokazatelj zdravog mikrobioma. Smanjenje pretilosti ketogenom dijetom može rezultirati pozitivnim promjenama u mikrobiomu, a istraživanjem su se analizirale promjene u crijevnoj mikrobioti kod pretilih pacijenata otpornih na inzulin koji su slijedili izokalorične ketogene dijete koje se varirale u izvoru proteina (45). Vrlo niskokalorične ketogene dijete su sadržavale proteine sirutke, životinjske i biljne bjelancevine, a podaci su pokazali da su sve skupine imale smanjenje relativnog obilja *Firmicutes* i povećanje *Bacteroides* nakon 45 dana, dok su pozitivne promjene bile manje izražene u skupini koja je konzumirala životinjske izvore proteina (45).

Studijama *in vivo* i *in vitro* poduprta je ideja da je rast bakterijskih sojeva moduliran prisutnošću 3HB-a ili ketonskih estera, a ketonski esteri ili ketogena dijeta modulirali su ne samo rast odabranih bakterijskih sojeva, nego i intestinalne protuupalne Th17 stanice tankoga crijeva (20). Nejasno je dopijevaju li ketonska tijela iz crijeva u sistemsku cirkulaciju ili svoju funkciju ostvaruju lokalno, isključivo u crijevnoj sluznici. Također ostaje nejasno u kojoj mjeri ketonska tijela sintetizirana u jetri mogu izravno utjecati na imunitet crijevne sluznice kao i na mikrobnu ekologiju.

3.12. Ketonska tijela i tjelesna aktivnost

Sportašima i trenerima je ključno optimiziranje treninga i provođenje adekvatne prehrambene strategije, a većina pristupa u potonjem pogledu usmjerena je na prilagođavanje unosa masti, ugljikohidrata i zadovoljenje energetske potrebe. Hranjive tvari konzumirane prije i tijekom vježbanja mogu podržati optimalnu izvedbu odgađanjem pojave umora i pomaganjem u procesu oporavka obnavljanjem zaliha endogenih supstrata, što je iznimno bitno u sportovima izdržljivosti koje karakteriziraju visoke stope i apsolutne razine potrošnje energije (54). Odgovarajući unos hranjivih tvari ključan je za poticanje tjelesne aktivnosti, kao i odgađanja pogoršanja izvođenja vježbi te promicanja oporavka nakon treninga. Za sportove izdržljivosti, istraživanja su usmjerena na poboljšanje dostupnosti ugljikohidrata da bi se zadovoljile očekivane potrebe energije prilikom izvođenja vježbi, no alternativne strategije temeljene na prilagodbi na dijetu s ograničenim unosom ugljikohidrata, a visokim udjelom masti povećavaju oksidaciju masti tijekom vježbanja i kao takve mogu pomoći u poštediti ograničenih zaliha glikogena u tijelu (54).

Aktivan skeletni mišić iskorištava ketonska tijela, a sposobnost preuzimanja kao i oksidacije ketonskih tijela prilikom tjelesne aktivnosti veća je u skeletnim mišićima treniranim vježbanjem. Ketonska tijela imaju niz metaboličkih učinaka, uključujući smanjeno iskorištavanje glukoze u perifernim tkivima, potencijalno slabljenje proteolize u skeletnim mišićima i anti-lipolitičke učinke na masno tkivo (53), dok 3HB kao djeluje kao inhibitor HDAC-a, važnih regulatora adaptivnog odgovora na vježbanje u skeletnim mišićima.

Egzogena ketonska tijela unose se u obliku 3HB soli ili ketonskih estera kako bi se proizvela akutna nutritivna ketoza, a poboljšanje tjelesne izvedbe nakon njihove primjene potvrđeno je u profesionalnom biciklizmu (53).

3.12.1. Metabolizam ketonskih tijela tijekom vježbanja

Povećanjem intenziteta tjelesne aktivnosti, dolazi do pomaka metabolizma s iskorištavanja slobodnih masnih kiselina i glukoze na iskorištavanje zaliha intramuskularnih triacilglicerola i mišićnog glikogena, pa pri umjerenom i visokom intenzitetu vježbanja mišićni glikogen predstavlja glavni izvore energije. Istraživanja su utvrdila da se iskorištavanje ketonskih tijela u skeletnim mišićima povećava peterostruko tijekom tjelesne aktivnosti (53). No, ubrzo nakon tjelesne aktivnosti dolazi do pada koncentracije ketonskih tijela, prvenstveno 3HB-a, što prati porast oksidacije ketonskih tijela u skeletnim mišićima, kao i veća stopa metaboličkog čišćenja

(engl. *The Metabolic Clearance Rate*; MCR) koja se odnosi na mjeru sposobnosti tkiva da uklone ketonska tijela iz krvi u jedinici vremena (53). Stupanj ketonemije predstavlja najvažniju determinantu metabolizma ketonskih tijela tijekom tjelesne aktivnosti, a može biti endogenog ili egzogenog podrijetla.

3.12.1.1. Metabolizam ketonskih tijela tijekom vježbanja u uvjetima endogene ketoze

Prilikom ketonemije niskog stupnja koja se može javiti kao rezultat gladovanja tijekom noći, kada su koncentracije ketonskih tijela u plazmi ispod 0,1 mM, stopa metaboličkog čišćenja u mirovanju, MCR, četiri je puta veća nego što je u slučaju produljenog gladovanja. Tijekom produljene tjelesne aktivnosti niskog do umjerenog intenziteta nakon gladovanja tijekom noći, MCR se povećava za 50 – 75% , što ukazuje da mišić koji radi ima povećanu sposobnost izdvajanja ketonskih tijela iz krvi u usporedbi s mirujućim mišićjem. No, kada koncentracija ketonskih tijela prijeđe 2,5 mM, kao što je to u stanju produljenoga gladovanja dužeg od 72 sata dolazi do smanjenja prirasta MRC. Za ketozu koja se postigne produljenim gladovanjem dužim od 72 sata postoji zanemariv doprinos oksidacije ketonskih tijela u opskrbi energijom, no nakon gladovanja tijekom noći doprinos se kreće 2 – 10%. Prilikom produljenog gladovanja koje traje duže od 72 sata glavni izvori energije u aktivnom mišiću su ugljikohidrati i masti. Opadanje MCR-a koje je stimulirano tjelovježbom sugerira da postoji prag koncentracije iskorištavanja ketonskih tijela, iznad kojeg kapacitet skeletnih mišića da oksidiraju ketonska tijela postaje zasićen i/ili da je sama hiperketonemija faktor samoinhibicije. To može biti posredovano ili inhibicijom OXCT povišenim acetoacetatom i/ili inhibicijom ketolize koja je posredovana slobodnim masnim kiselinama. Ova regulacija ključna je u odgovoru na gladovanje jer kapacitet jetre za proizvodnju ketonskih tijela odgovara zahtjevima mozga da koristi ketonska tijela kao izvor energije, pa bi stoga prekomjerna oksidacija u mišićima koji su u pokretu ugrozila preživljavanje, dok njezina inhibicija štedi cirkulirajući supstrat za mozak (53).

3.12.1.2. Hiperketonemija endogenog podrijetla

Produljena tjelesna aktivnost koja se izvodi nakon razdoblja posta stimulira ketogenezu i rezultira hiperketonemijom. Koncentracije ketonskih tijela mogu doseći približno 0,5 – 1,0 mmol/L kao odgovor na 2 sata tjelesne aktivnosti obavljenje u stanju gladovanja tijekom noći

i mogu naknadno porasti na približno 1 – 4 mmol/L tijekom ranog oporavka poslije tjelovježbe. Na opseg hiperketonemije koja je izazvana tjelesnom aktivnosti i razdobljem nakon tjelesne aktivnosti utječu intenzitet, trajanje izvođenja vježbe kao i stanje uhranjenosti pojedinca. Unos ugljikohidrata obrokom neposredno prije tjelesne aktivnosti uvelike smanjuje porast koncentracije ketonskih tijela u plazmi do kojeg dolazi uslijed tjelesne aktivnosti, a dobro trenirani pojedinci pokazuju manji porast koncentracije ketonskih tijela tijekom i nakon izvođenja vježbi u usporedbi s netreniranim pojedincima, što se pripisuje prigušivanju porasta koncentracije slobodnih masnih kiselina nakon izvođenja vježbi i/ili povećanoj aktivnosti enzima uključenih u iskorištavanje ketonskih tijela.

Postizanjem stanja ketoze mogu se značajno poboljšati i sportske i fizičke izvedbe. Studija provedena na taekwondo sportašima dokazala je da ketogena dijeta osim što je poboljšala njihov aerobni kapacitet, smanjila je i umor. Dobrobit ketoze na aerobne izvedbe dodatno je podržana provedenom studijom na biciklistima u kojoj je utvrđeno da kod aerobnih sportova ketogena dijeta može biti korisna tijekom pripremne sezone u kojoj sportaši treniraju niskim do umjerenim intenzitetom zbog značajnog povećanja maksimalnog unosa kisika. Kombinacija prehrane s niskim udjelom ugljikohidrata, a visokim udjelom masti i vježbi izdržljivosti niskog intenziteta smanjuju tjelesnu masu, postotak tjelesne masti te smanjuju i opseg oštećenja mišića nakon tjelesne aktivnosti, omogućujući brži oporavak. No, pokazalo se da primjena ove ketogene dijeta neće imati koristan učinak na tjelovježbe visokog intenziteta ili tijekom natjecateljske sezone određenih sportova koje uključuju biciklizam, kada je proces glikolize neophodan za maksimalan učinak rada. Stanje ketoze povećava fizičku izdržljivost uslijed smanjenog oslanjanja na glikolizu u korist ketolize, što dovodi do smanjenja koncentracije laktata u plazmi i pruža alternativni izvor supstrata za oksidativnu fosforilaciju, rezultirajući manjim zamorom mišića (85).

Iako je primjena ketogene dijeta predlaže u različitim sportskim disciplinama, treba imati na umu da poticanje nutritivne ketoze ovisi o zalihama glikogena u jetri i mišićima te tek po njihovom iscrpljivanju dolazi do endogene sinteze ketonskih tijela. Osim toga, ketogena dijeta može smanjiti kapacitet iskorištavanja ugljikohidrata čime se ugrožava i intenzitet tjelesne aktivnosti kao i izvedba vježbi, osobito tijekom aktivnosti umjerenog do visokog intenziteta vježbanja poput maratonskog trčanja, ubrzanja tijekom biciklističkih utrka, sprinteva i uspona. Stoga, oralna suplementacija ketonskim tijelima može predstavljati alternativu povećanja koncentracije ketonskih tijela u plazmi kod sportaša (54).

3.12.1.3. Hiperketonemija egzogenog podrijetla i suplementacija egzogenih ketonskih tijela

Nadomjestak ketonskih tijela u organizam postiže se intravenskom ili oralnom primjenom ketonskih tijela u obliku soli 3HB-a ili ketonskih estera. Komercijalno dostupni dodaci ketonskim tijelima u obliku soli osiguravaju približno 8 – 12 g 3HB-a i 1 g natrija po porciji te služe kao sredstvo za brzo povećanje dostupnosti cirkulirajućih ketonskih tijela. Ketonski ester (*R*)-3-hidroksibutiril-(*R*)-3-hidroksibutirat, praktičan je način povećanja dostupnosti ketonskih tijela u krvi, a nakon oralne primjene ovaj monoester se cijepa u crijevima i asorbira putem crijevnog epitela i monokarboksilatnih transportera u cirkulaciju, ili podliježe metabolizmu prvog prolaza u jetri. Uzimanjem dodataka prehrani s ketonskim tijelima mogu se brzo povećati koncentracije ketonskih tijela u plazmi, dostižući vršne razine unutar 1 – 2 sata. Koncentracija ketonskih tijela u plazmi može porasti do 3 mmol/L, 1 sat nakon ingestije približno 400 mg ketonskih estera po kilogramu tjelesne težine. Suplementi s ketonskim tijelima mogu izazvati hiperketonemiju, iako je koncentracija ketonskih tijela koja se postiže nakon ingestije pod utjecajem istodobnog unosa hrane. Istodobno uzimanje ketonskih estera s drugim nutrijentima može utjecati na pražnjenje želudca i/ili unos unesenih ketonskih tijela u tkivo što može imati implikacije u pogledu učinkovitosti suplementacije ketonskim esterima kod sportaša koji unose velike količine ugljikohidrata tijekom natjecanja i prilagođavaju svoj unos hranjivih tvari tijekom natjecanja u skladu sa svojim specifičnim prehranbenim potrebama. Važno pitanje za sportaše izdržljivosti može biti utječe li nadopuna ketonskim tijelima na unos drugih važnih supstrata ili ih pak ugrožava, poput ugljikohidrata. No, dodatno se razmatra i kako sportaši toleriraju unos ketonskih tijela prilikom tjelesne aktivnosti, a zabilježeno je da su zdravi ispitanici koji su prilikom istraživanja konzumirali 714 mg/kg napitka s ketonskim esterima na bazi mlijeka tri puta dnevno, osjećali nelagodu te nadutost u trbuhu i glavobolje (54).

3.12.1.4. Metabolizam ketonskih tijela nakon vježbanja: ketoza nakon vježbanja

U postapsortivnom stanju je uočeno da koncentracija ketonskih tijela postupno raste tijekom produljene tjelesne aktivnosti u rasponu od 0,2 – 0,4 mM, nakon čega se uočava ketoza nakon vježbanja s vrijednostima koncentracije ketonskih tijela od 0,3 – 2,0 mM nakon tjelesne aktivnosti (53). Pri prestanku tjelesne aktivnosti, stopa pojavljivanja ketonskih tijela povećava se u skladu sa smanjenjem MCR-a u odnosu na stope prisutne tijekom vježbanja. MCR ostaje

iznad vrijednosti u mirovanju nekoliko sati nakon tjelesne aktivnosti tijekom vremena kada ketogeneza premašuje ketolizu. Regulacija se vjerojatno nalazi na nekoliko mjesta uključenih u regulaciju transporta masti u hepatocite putem malonil-CoA putem CPT1 uz dostupnost acetil-CoA za ketogenezu i oksaloacetata za CLK (53). Ovi regulacijski mehanizmi su osjetljivi na prehrambene manipulacije prije i nakon tjelesne aktivnosti, ali i na trening aerobnog vježbanja s obzirom na utjecaj dostupnosti supstrata i njihovo iskorištavanje tijekom tjelesne aktivnosti (53).

3.13. Pristupi usmjereni na ketonska tijela u kontroli tjelesne težine i šećerne bolesti

Dokazano je da ketogena dijeta učinkovita terapija za mršavljenje jer u pogledu termodinamičkih principa mršavljenja, dijeta s niskim udjelom ugljikohidrata smanjuje razinu inzulina. Inzulin je glavni anabolički hormon koji pospješuje unos glukoze u miocite i adipocite, potiskuje otpuštanje masnih kiselina iz masnog tkiva te inhibira proizvodnju ketona iz jetre poticanjem pohrane masti i glikogena (49). Stoga je primjećeno da osobe koje su slijedile dijetu s niskim udjelom ugljikohidrata imaju nižu koncentraciju triacilglicerola u plazmi u odnosu na pojedince koji se pridržavaju dijeta s niskim udjelom masti (50). U pretilih pacijenata može se postići smanjenje apetita, povećan osjećaj sitosti, kao i povećanje lipolize i smanjenje lipogeneze čime se poboljšava tjelesni sastav organizma u vidu smanjenja postotka tjelesne masti i indeksa tjelesne mase pacijenata. Mehanizmi sagorijevanja masti u ketozi ne samo da smanjuju ukupnu tjelesnu masnoću, nego smanjuju i visceralno masno tkivo, masnoću koja okružuje vitalne organe, čime se ujedno smanjuje individualno opterećenje bolesti povezanih sa pretilošću. Iako ketogena dijeta može dovesti do gubitka na težini, rani, izrazit gubitak težine može biti posljedica gubitka vode, zbog čega je potrebno praćenje duljine pridržavanja ketogene dijeta. Iako se i proces proteolize odvija u stanju ketoze da bi se podržao proces glukoneogeneze u jetri, istraživanja su pokazala da prehrana s niskim udjelom ugljikohidrata može potaknuti i očuvanje mišićne mase, te da ketonska tijela mogu imati supresivni učinak na razgradnju mišićnog tkiva. Istraživanjima se pokazalo i da ketonsko tijelo D-3-hidroksibutirat može smanjiti oksidaciju leucina i pojačati sintezu novih proteina čime se postiže očuvanje mišićne mase (50, 85).

Ketogena dijeta ne samo da smanjuje razinu inzulina već i poboljšava osjetljivosti na inzulin i postprandijalnu glikemiju te može imati pozitivan učinak u liječenju metaboličkih bolesti poput T2ŠB i pretilosti (49). T2ŠB je stanje karakterizirano prekomjernom glikemijom i rezistencijom na inzulin, zbog čega je liječenje ove bolesti ketogenom dijetom jedna od

najjednostavnijih terapijskih primjena ketoze. Istraživanja upućuju da je ketogena dijeta sigurna i učinkovita u vraćanju glukoze na normalne razine i vraćanju osjetljivosti na inzulin što može smanjiti ili potpuno ukloniti antidijabetičku terapiju (30, 85).

Ketogena dijeta može se primjeniti i u liječenju T1ŠB jer značajno smanjuje razinu HbA1c (*Hemoglobin A1c*) i potrebnu dnevnu dozu inzulina (49). No, potreban je oprez u pacijenata koji boluju od T1ŠB zbog potencijalnog rizika od hipoglikemije, dijabetičke ketoacidoze te dislipidemije. Koncentracija ketonskih tijela ne smije prijeći 15 mM, osobito u pacijenata koji boluju od T1ŠB jer će se inače razviti metabolička acidoza, što dovodi do zatajenja bubrega i cerebralnog edema (30).

3.14. Pristupi usmjereni na ketonska tijela u Alzheimer-ovoj bolesti

Alzheimerova bolest je progresivni neurodegenerativni poremećaj karakteriziran kognitivnom disfunkcijom, uključujući i poremećaje u ponašanju, pamćenju i učenju (45). Najistaknutiji čimbenik za razvoj Alzheimerove bolesti je starenje s početkom u osoba starijih od 65 godina, a rani početak ovog oboljenja može se otkriti u osoba s obiteljskom Alzheimerovom bolešću zbog mutacija u genima za APP (prema engl. *Amyloid Precursor Protein*) prouzročenom mitohondrijskom disfunkcijom i padom funkcije respiratornog lanca čime se dovodi do proizvodnje patogenih fragmenata amiloida- β , PSEN1 (prema engl. *Presenilin-1*) i PSEN2 (prema engl. *Presenilin-2*) (45, 46). Mozak koji je zahvaćen Alzheimerovom bolešću pokazuje hipometabolizam glukoze zbog smanjenog unosa i iskorištavanja glukoze kroz različite vrste GLUT transportera glukoze. Unos glukoze u mozak odvija se pomoću prijenosnika GLUT1 i GLUT3, pri čemu je kod ovog oboljenja ustanovljena smanjena ekspresija GLUT1 prenositelja lokaliziranih u astrocitima i moždanoj mikrovaskulaturi. Nedostatak glukoze pritom uzrokuje energetska krizu koja utječe na ATP i omjer $NAD^+/NADH$, ometa biosintezu neurotransmitera i jetrene sijalične kiseline (47). Poremećeni energetska metabolizam mozga se može nadoknaditi prilagodbom prehrane koja u konačnici rezultiraju povećanjem koncentracije ketonskih tijela u serumu, ali i katabolizma masnih kiselina. Ketogena dijeta osigurava dovoljno proteina za rast i razvoj, ali nedovoljne količine ugljikohidrata za metaboličke potrebe te se energija dobiva iz masti isporučene prehranom i iskorištenjem tjelesne masti, pri čemu se ketonska tijela koriste kao dominantan izvor energije u zamjenu za glukozu za središnji živčani sustav (46). Unutar nekoliko sati od početka primjene ketogene dijete uočavaju se promjene u koncentraciji ketonskih tijela u

plazmi, inzulinu, glukagonu i glukozu, što rezultira padom koncentracije glukoze u krvi, kao i omjera glukagona i inzulina (46). Ketonska tijela se metaboliziraju brže nego glukoza te mogu zaobići glikolitički put izravnim ulaskom u ciklus limunske kiseline, dok glukoza treba proći kroz glikolizu (46). Ketonska tijela smanjuju proizvodnju ATP-a glikolizom te podižu proizvodnju ATP-a mitohondrijskom oksidacijom čime se pojačava oksidacijski metabolizam mitohondrija što rezultira korisnim metaboličkim promjenama koje uključuju ketozu, višu razinu lipida u serumu te niskoj razini glukoze u serumu što doprinosi zaštiti od gubitka neurona apoptozom i nekrozom (46). Terapijska ketoza se može smatrati oblikom metaboličke terapije osiguravanjem alternativnih energetske supstrata, gdje se kroz ove metaboličke promjene metabolizam mozga poboljšava, pri čemu se proizvodnja ATP-a u mitohondrijima obnavlja, opaža se smanjena proizvodnja reaktivnih kisikovih vrsta, antioksidacijski učinci, povećana aktivnost neurotrofnih čimbenika, smanjen upalni odgovori te stabilizacija simpatičke aktivnosti između neurona kroz povećane razine intermedijera ciklusa limunske kiseline, povećanjem omjera GABA-glutamata (prema engl. GABA; *gamma amino butyric acid*) te aktivaciju kalijevih kanala osjetljivih na ATP (46).

Primjenom ketonskih estera ili ketonskih polimera moguće je postići visoke razine cirkulirajućih ketonskih tijela (2 – 8 mM) kakve su u produljenom gladovanju što bi u određenim slučajevima moglo poboljšati kliničku učinkovitost terapije ketonskim tijelima (76). Neki od takvih slučajeva su pružanje učinkovitijeg izvora energije po jedinici utrošenog kisika za liječenje određenih tipova srčanog zatajenja i neurodegenerativnih bolesti poput Parkinsonove i Alzheimerove bolesti. Kod bolesnika koji se nalaze u ranoj fazi Alzheimerove bolesti zbog razvoja hipometabolizma glukoze koji se očituje smanjenom stopom cerebralnog metabolizma glukoze, dolazi do nedostatka neuronske energije koji može biti presudan čimbenik u smanjenju kognitivnih sposobnosti zbog čega ketonska tijela preuzimaju ulogu alternativnog izvora goriva za mozak. Dodatkom trikaprilina (blagog ketogenog srednjelančanog triacilglicerola), dobivenog acilacijom triju hidroksilnih skupina glicerola oktanskom kiselinom, postiže se zadržavanje sposobnosti iskorištavanja ketonskih tijela kao izvora energije kao i poboljšanje kognitivnih funkcija u osoba s blagom do umjerenom Alzheimerovom bolešću (76, 77).

3.15.. Pristupi usmjereni na ketonska tijela u epilepsiji

Učinkovitost ketogenih dijeta posebno je cijenjeno kod liječenja epileptičnih napadaja, a posebno u onih pacijenata koji su rezistentni na lijekove. Ketogena dijeta trenutno ima široki

raspon terapeutskih primjena uglavnom u dječjoj epilepsiji. Mogući su različiti mehanizmi antiepileptičkog učinka ketogenih dijeta, a neki od njih su i signalne aktivnosti, posebno modulacija kalijevih kanala, poticanje sinteze GABA i aktivacija FFAR3 receptora (7). Terapeutski pristup ketogenom dijetom u liječenju epilepsije otkrio je 1921. godine dr. Russell Wilder na Klinici Mayo, koji je primjetio da apsolutni post zaustavlja epileptične napadaje (30). U pokušaju da oponaša učinak posta, čime se dovodi do stvaranja ketonskih tijela, bez nekog velikog gubitka na mišićnoj masi, uveo je upotrebu ketogene dijetete u liječenje farmakološki otporne epilepsije (30). Većina studija je procijenila učinak ketogenih dijeta u djece te je otkriveno oko 50% smanjene učestalosti epileptičkih napadaja poslije 3 mjeseca, s poboljšanom učinkovitošću u odabranim sindromima (19). Ovo iskustvo je ograničenije u odraslih pacijenata, a bolji odgovor u vidu smanjenja broja napadaja su imali pacijenti sa simptomatskom generaliziranom epilepsijom (19).

Studije pokazuju da bi ketonska tijela mogla doprinijeti smanjenju učestalosti epileptičkih napadaja inhibicijom glutamat-dekarboksilaze i povećanjem stvaranja GABA (uz glutamat, glavni inhibitorni i ekscitacijski neurotransmiter u mozgu). Povećane razine GABA hiperpolariziraju neurone, na način da stimuliraju receptore klornih kanala i omogućuju dotok negativno nabijenih iona. Ovom hiperpolarizacijom neurona dodatno se može pridonijeti kontroli napadaja inhibicijom kalcijevih i natrijevih kanala koji su bitni za ekscitaciju neurona (85).

4. Rasprava

Sposobnost suočavanja s promjenjivom dostupnošću hranjivih tvari najvažnija je za život. Metabolički preustroj, uz potiskivanje jednih, a pojačavanje drugih metaboličkih procesa jedan je od mehanizama suočavanja s oskudicom na staničnoj i sistemskoj razini (11, 12).

Ketogeneza je vitalan metabolički proces koji se oslanja na zalihe masti, i usklađuje se s glukoneogenezom i s oksidacijom masnih kiselina kako bi osigurala ketonska tijela - specifična metabolička goriva koja smanjuju potrebu za glukozom i štede proteine, što pomaže očuvanje vitalnih funkcija i omogućuje preživjeti duža vremenska razdoblja bez uzimanja hrane. Ovi evolucijski očuvani energijom bogati supstrati obuhvaćaju 3-hidroksibutirat (3HB), acetoacetat i aceton. Iako se aceton smatra članom ove obitelji, njegova uloga kao fiziološki značajnog ketonskog tijela je zanemariva. Ketonska tijela kontinuirano se stvaraju u ljudi i sisavaca, uglavnom u mitohondrijima hepatocita, iz acetil-CoA kao preteče, čiji dotok većinom osigurava proces β -oksidacije masnih kiselina, a manjim dijelom (<10%) i razgradnja ketogenih aminokiselina. Brz porast njihove sinteze predstavlja adaptivni metabolički mehanizam koji se javlja kao fiziološki odgovor na ograničenu dostupnost glukoze (dugotrajan fizički napor, gladovanje ili smanjen unos ugljikohidrata, trudnoća, neonatalno razdoblje života), ali je i patološka posljedica nemogućnosti učinkovitog iskorištavanja glukoze, kakvo se susreće kod šećerne bolesti. U ovim stanjima ketonska tijela se mogu zamijeniti i izmjenjivati s glukozom i postaju alternativni izvor energije u ekstrahepatičkim tkivima posebno onima s visokom razinom aktivnosti, kao što su središnji živčani sustav, srce i skeletni mišići, u kojima se oksidiraju radi stvaranja ATP-a u procesu ketolize.

Metabolizam ketonskih tijela reguliraju tri ključna koraka: 1) mobilizacija masnih kiselina iz zaliha masnog tkiva, (ili iz egzogenih triacilglicerola koji se prenose cirkulacijom lipoproteinima); 2) aktivnost CPT1 koja određuje udio masnih kiselina koji se oksidira u matriksu mitohondrija; i 3) metabolički tok acetil-CoA između puta ketogeneze i ciklusa limunske kiseline.

HMG-CoA-sintaza i HMG-CoA-liaza su enzimi koji ograničavaju brzinu stvaranja ketonskih tijela u jetrenim mitohondrijama, dok je kontrolna točka u ketolizi SCOT, enzim prisutan u većini tkiva, osim u jetri koja ih stoga ne može iskorištavati u energetske svrhe. Ekspresija i aktivnost ključnih enzima koji ograničavaju brzinu metabolizma ketonskih tijela kontrolirani su regulacijom transkripcije i post-translacijskim modifikacijama. Enzimi intermedijarnog metabolizma, lipaza osjetljiva na hormone u adipocitima te acetil-CoA-karboksilaza u jetri

dodatne su kontrolne točke ketogeneze koje omogućuju prelazak s anaboličkog na katabolički metabolizam, a regulirane su omjerom inzulina i glukagona: glukagon pospješuje, a inzulin potiskuje jetrenu ketogenezu. Procesu ketogeneze ujedno pogoduju i hormoni stresa – kortizol i adrenalin (5, 14, 30, 13, 8, 15, 19, 20).

Premda su u prošlosti stigmatizirana kao toksični metaboliti koji dovode do ketoacidoze kod pacijenata s dijabetesom, posljednjih godina svjedočimo rastućem broju dokaza da ketonska tijela imaju klinički korisne učinke na ciljne organe i na razini cijelog tijela.

Najveći znanstveni interes pobudilo je ketonsko tijelo koje se smatra “supergorivom” za mozak, 3HB, jer je kvantitativno dominantno ketonsko tijelo i jer, za razliku od acetoacetata, aktivira određene specifične stanične signale. U tijelu 3HB dolazi u dva enantiomerna oblika, D- i L-3HB, a pretpostavljalo se da je D-3HB jedini biološki aktivan i prisutan oblik. Ova pretpostavka je dovedena u pitanje otkrićem prisutnost L-3HB-a u različitim koncentracijama u različitim tkivima i spoznajom da se može metabolizirati, (iako vjerojatno sporijom brzinom), te također pretvoriti u D-3HB (79).

Osim što je učinkovito metaboličko gorivo, 3HB također djeluje kao specifični modulator unutarstaničnih signalnih događaja. Dio korisnih učinaka 3HB, ostvaruje reguliranjem ekspresije gena putem epigenetskih i post-translacijskih modifikacija histona i nehistskih proteina.

3HB kovalentno modificira ostatke lizina u histonima u procesu nazvanom β -hidroksibutirilacija, i pri tome 3HB povećava ekspresiju gena uključenih u putove koji reagiraju na gladovanje, a predstavljaju važan mehanizam pomoću kojeg se stanice prilagođavaju promjenama u staničnim izvorima energije (18, 19). Osim toga hidroksibutirilacija na ϵ -amino-skupini ostataka lizina u histonima aktivira i ekspresiju gena koja može potaknuti stvaranje faktora rasta vaskularnog endotela (VEGF), a koji štiti od ozljede endotela aorte kod štakora koji su razvili dijabetes (79). Acetoacetat također može kovalentno modificirati ostatke lizina tijekom patoloških stanja kao što je dijabetička ketoza. Naime, u šećernoj bolesti dolazi do nakupljanja reaktivnog metabolita glikolitičkih intermedijera, metilglioksala. Ako ga endogeni sustav glioksalaze ne detoksificira, ovaj α -oksoaldehid ostvaruje štetne učinke, primarno reakcijom s DNA i proteina. Tijekom ketoze, acetoacetat putem izravne neenzimske aldolne reakcije s metilglioksalom stvara 3-hidroksiheksan-2,5-diona (3-HHD). 3-HHD je neglikirajući metabolit koji se može reducirati u diole i triole u krvnim stanicama ili dovesti do kovalentnih modifikacija lizina u serumskom albuminu. Fiziološka važnost ovih fenomena čeka istraživanje, a od osobito je važno, obzirom je albumin najzastupljeniji protein u krvi, gdje služi

kao prijenosnik mnogih vrsta spojeva – hormona, masnih kiselina, minerala, vitamina i lijekova (19).

3HB također promiče acetilaciju histona kroz najmanje dva mehanizma: povećava stanični fond acetyl-CoA koji je supstrat za histonske acetiltransferaze i izravno inhibira aktivnost klase I HDAC, obitelj proteina koji potiskuju ekspresiju gena deacetiliranjem lizinskih ostataka na histonskim i nehistskim proteinima. Inhibitori HDAC doprinose hiperacetilaciji histona koja je općenito povezana s aktivacijom ekspresije gena i povezuju se s nizom korisnih učinaka, uključujući zaustavljanje staničnog ciklusa raka, smanjenu angiogenezu i modulaciju imunoloških odgovora i oksidacijskog stresa. Specifično, 3HB inhibira HDAC klase I što otvara strukturu kromatina i povećava ekspresiju gena FOXO3a koji potom promiče ekspresiju gena antioksidacijskih enzima, katalaze i superoksid-dizmutaze 2 te i metalotioneina 2 (9).

Nadalje, 3HB u izravnoj reakciji može inaktivirati jednu od najreaktivnijih vrsta kisika, hidroksilni radikal (63), što je dodatni mehanizam kojim 3HB može doprinijeti smanjenju opsega oksidacijskog stresa, a tomu doprinosi i sposobnost ketonskih tijela da pospješuju stvaranje oksidiranog oblika koenzima Q, sprječavajući nastanak njegovog radikalskog oblika, QH[•], koji u mitohondrijima doprinosi nastanku superoksidnog anion radikala (11).

3HB također štiti od oksidacijskog stresa promicanjem transkripcijske aktivnosti Nrf2 i antioksidacijskih gena pod njegovom kontrolom (SOD2, nikotinamid-adenin-dinukleotid-fosfat-NADPH-kinon-oksido-reduktaze 1 (NQO1), glukoza-6-fosfat-dehidrogenaze (G6PDH)) i glutamat-cistein-ligaza (GCL) (63). Međutim sugerira se da stvaranje ketonskih tijela u početnoj fazi prilagodbe na gladovanje ili restrikciju kalorija, može potaknuti mitohondrijski stres, kojeg karakterizira povećan omjer (NAD⁺/NADH), (AMP/ATP) i (AMP/ADP) te povećana razina reaktivnih kisikovih vrsta (ROS) koja dovodi do oksidacijskog stresa. Unatoč tome, oksidacijski stres izazvan ketonskim tijelima može biti koristan jer može pokrenuti adaptivne odgovore aktivacijom glavnih regulatora citoprotekcije, kao što je Nrf2, SIRT1 i 3, i AMPK (63).

AMPK, AMP-om aktivirana proteinska kinaza, je enzim koji osjeća dostupnost metaboličkih goriva i aktivira se smanjenjem energijskog naboja stanice, što se odražava u povećanom omjeru AMP/ATP. Kada se aktivira, pokreće metaboličke i genetske događaje koji obnavljaju razine ATP-a stimulirajući procese koji stvaraju ATP (npr. oksidaciju masnih kiselina) i inhibirajući druge koji troše ATP, ali nisu akutno potrebni za preživljavanje (npr. sinteza triacilglicerola i proteina, proliferacija stanica). Osim toga, AMPK pokreće promjene u biogenezi i funkciji mitohondrija koje bi mogle povećati sposobnost stanice da stvara ATP i

umanji oksidacijski stres. S druge strane, sirtuin 1 (SIRT1) je histonska/ proteinska deacetilaza ovisna o NAD⁺ koja deacetiliranjem ciljnih proteina ostvaruje epigenetsku ulogu u regulaciji homeostaze tkiva. Kao odgovor na gladovanje, SIRT1 kontrolira glukoneogenezu u jetri, oksidaciju masnih kiselina, biogenezu mitohondrija, oksidacijsku fosforilaciju, metaboličke procese u jetri, mobilizaciju masti u bijelom masnom tkivu. Možda je najpoznatija uloga SIRT1 posredovanje u povećanju dugovječnosti uzrokovanog kalorijskim ograničenjem i zaštita od pojave bolesti povezanih sa starenjem kao što su šećerna bolest, steatoza jetre, kardiovaskularne bolesti, ateroskleroza, osteoporoza i neurodegenerativni poremećaji. Stoga se i nutritivna ketoza i aktivacija SIRT1 javljaju kao odgovor na nedostatak kalorija i posreduju u pozitivnim učincima na stanični metabolizam i starenje. Osim toga, ketozu prati porast razine NAD⁺ potrebnog za aktivaciju SIRT1, a kako je gore opisano, aktivacija SIRT1, u sprezi s AMPK, doprinosi regulaciji oksidacijskog stresa koji se javlja u odgovoru na metabolički pomak prema oksidaciji masti i ketogenezi tijekom gladovanja ili tijekom ketogene dijeta. Ovo ukazuje na kooperativnu interakciju između ketonskih tijela i SIRT1 koja bi mogla biti od važan alat u kontroli metaboličkih poremećaja, kao što su pretilost, T2ŠB i kardiovaskularne bolest (80, 81).

Oba ketonska tijela, 3HB i acetoacetat, moduliraju signalizaciju putem površinskih GPCR receptora. 3HB potiskuje aktivnost simpatičkog živčanog sustava antagonizirajući GPR41 izražen na simpatičkim ganglijima, što rezultira smanjenom potrošnjom energije i otkucanjima srca. Nadalje, kao antagonistički ligand za GPR41 na adipocitima, 3HB dovodi do pada intracelularnog cAMP-a i time potiskuje lipolizu. Ovo smanjenje može omogućiti kontrolu lipolize tijekom razdoblja gladovanja, čime se ograničava prekomjerna upotreba zaliha masti. S druge strane, acetoacetat može pogodovati lipolizi aktivacijom GPR43 receptora izraženih na adipocitima.

U adipocitima, stanicama imunološkog sustava i nekim epitelnim stanicama 3HB se veže na receptor GPR109A. Kao agonist za GPR109A receptor na adipocitima, 3HB ima antilipolitički učinak, stvarajući negativnu povratnu spregu u kojoj ketoza inhibira lipolizu u masnom tkivu i vjerojatno također ima antiaterogene te protuupalne učinke, pa i ne iznenađuju podaci koji ukazuju na potencijal primjene 3HB u liječenju stanja povezanih sa sistemskom upalom niskog stupnja - zajedničkog aspekta svih metaboličkih bolesti (pretilost, T2ŠB i kardiovaskularne bolesti). Međutim, ponekad se čini da odnos između ketoze i upale nije usklađen. Na primjer, iako 3HB ispoljava primarno protuupalni odgovor visoke koncentracije acetoacetata mogu potaknuti proupalni odgovor. Slično, produljena deprivacija hranjivih tvari smanjuje upalu, a kronična ketoza kod T1ŠB dovodi do proupalnog stanja. (80). U svjetlu ovih spoznaja, može se pretpostaviti da fenomen signalizacije ovisne o ketonskih tijelima koja povezuje ove molekule

s proupalnim ili protuupalnim učincima može ovisiti o vrsti stanice, trajanju izloženosti i o koncentracijama ketonskih tijela (19).

Treba napomenuti da GPR109A nije jedini koji posreduje u sposobnosti ketonskih tijela da moduliraju imunološki sustav, budući da 3HB može ublažiti upalu posredovanu inflamatomom NLRP3 u imunološkim stanicama (83). Ovo može biti od važnosti obzirom se pokazalo da bi kombinacija inhibicije NLRP3 i farmakološke imunosupresivne terapije mogla pojačati učinkovitost imonoterapije u liječenju melanoma, te da bi NLRP3, koji je ključna stanična meta 3HB, mogao postati nova terapijska meta liječenja melanoma. Osim toga, 3HB može utjecati na transformaciju normalnih stanica u maligne stanice aktivacijom GPR109A kojom pokreće ekspresiju gena koji kodira transkripcijski faktor Hopx, negativni regulator tumorigeneze, što pruža dodatnu podršku primjene ketonskih tijela na terapijskom području onkologije

Sumarno, ovi signalni događaji impliciraju da 3HB ima potencijal ograničiti upalu, lipolizu, aterosklerozu, angiogenezu, oksidacijski stres i karcinogenezu, poboljšati sposobnost obavljanja tjelevoježbe i optimirati omjer masne i mršave mase tijela, a možda i doprinosi produljenoj dugovječnosti povezanoj s vježbanjem i ograničenjem kalorija (80, 84). Ovakva otkrića sugeriraju da ketonska tijela mogu imati sustavne učinke i da posjeduju terapijski potencijal u kliničkom okruženju.

Najčešća klinička manifestacija povezana s ketonskim tijelima je ketoza koja se tradicionalno smatrala znakom potencijalno smrtonosne dijabetičke ketoacidoze u kojem ketonska tijela mogu doseći 25 mM u krvi, uzrokujući pad cirkulirajućeg bikarbonata s posljedičnom ozbiljnom acidozom. Ovo i popratna hipovolemija uslijed gubitka vode urinom zbog hiperglikemije i glikozurije, uz gubitak natrija i kalija zbog ketonurije, rezultira smrću ako se ne liječi. Stoga je testiranje ketona u mokraći preporučeni pristup praćenju tijeka šećerne bolesti, posebno bolesnika sa šećernom bolesti tipa 1, a testiranje ketona u krvi dio je dijagnoze i liječenje akutnih acidobaznih poremećaja kao što je DKA.

Za razliku od kliničke slike kod dijabetičke ketoacidoze, blaga do umjerena hiperketonemija (do ~8 mM) može produžiti preživljavanje tijekom razdoblja gladovanja i može imati terapijski potencijal (79). Različite su strategije za izazivanje ketoze, od gladovanja preko promjena u prehrani do primjene egzogenih izvora ketone. Ketogena dijeta jedan je od pristupa indukcije blage ketonemije prehranom, a postiže se konzumacijom masti i proteina u omjeru 4 : 1, uz izostavljanje ugljikohidrata, gotovo u potpunosti (općenito <50 g dnevno) (9). Potpuno izgladnjivanje nije opcija, budući da vodi u smrt, otprilike nakon 68-72 dana kod normalno uhranjenog odraslog muškarca.

Pridržavanje ketogene dijete promiče gubitak težine, može smanjiti ili eliminirati potrebu za inzulinom u ŠB, ublažava simptome metaboličkog sindroma, smanjuje upalu, mijenja mikrobiom, poboljšava epigenetski profil, a ketogena dijeta pokazala se i obećavajućom dopunskom terapijom kod onkoloških pacijenata i potencijalni put prema očuvanju funkcija mozga (45).

Međutim, prehrana s visokim udjelom masti i malom zastupljenošću ugljikohidrata kod odraslih može dovesti do povišenja triacilglicerola ili LDL-kolesterola ili oboje. Prateća vaskularna patologija ove promjene ograničava primjenu takvih pristupa prehrani, posebno kod pojedinaca starije životne dobi. Također, kod pojedinaca koji slijede ketogenu dijetu primjećeno je i veći rizik od gastrointestinalnih tegoba, smanjenja koštane mase, dugotrajne promjene u imunološkom sustavu te veće vjerojatnosti za kardijalnu fibrozu. Iako su osmišljene visoko masne dijete obogaćene s višestruko nezasićenim ili kratkolančanim masnim kiselinama koje mogu spriječiti povišenje razine kolesterola, ekstremni sastav ketogene dijete čini je neukusnom što bolesnicima otežava pridržavati se ovog plana prehrane. Nadalje, učinkovitost liječenja bolesnika ketogenom dijetom nije uvijek replicirana na eksperimentalnim modelima glodavaca, što otežava istraživanje temeljnih molekularnih mehanizama, a vjerojatna je posljedica bioloških razlika u metaboličkim stopama i staničnom odgovoru na ketonska tijela između ljudi i glodavaca, kao i činjenice da je ketoza strogo kontrolirana kod ljudi, dok miševi i štakori imaju *ad libitum* pristup hrani (84, 82).

Posljednjih godina u istraživanjima terapijskih učinaka ketonskih tijela povećala se popularnost pristupa izazivanja egzogene ketoze solima ili esterima ketonskih tijela ili njihovim slobodnim oblicima nakon parenteralne ili oralne primjene. Istraživanja na životinjama i/ili ljudima pokazuju da egzogena ketonska tijela posreduju u zdravstvenim učincima posta i tjelovježbe, pomažu očuvati tjelesne proteine, smanjuju unos glukoze, povećavaju cerebralni protok krvi i protok krvi u srcu kod zdravih ispitanika i ispitanika sa zatajenjem srca, te da bi mogla biti korisna u liječenju T2ŠB i metaboličkog sindroma u smislu smanjenja kardiovaskularnog rizika, gubitka težine i očuvanja nemasne mase tijela (79).

Nekoliko je faktora koji ograničavaju primjenu egzogenih ketona. Soli ketonskih tijela obično su smjese D- i L-izomera kojima je teško kontrolirati početak ketoze zbog prisutnosti L-izomera kojega tijelo obično ne proizvodi. Bolju enantiomernu kontrolu koja je selektivna za D-izomer moguće je postići bakterijskom sintezom, pa je tako danas je u primjeni biorazgradivi polihidroksibutirat (PHB), sastavljen je od D-3HB monomera, dobiven iz novog bakterijskog soja, *Halomonas* TD01 koji može izazvati brži odgovor u smislu porasta razine cirkulirajućeg D-3HB u usporedbi s postojećim dodacima solima i esterima. Nadalje, primjena ketonskih soli

povećava vjerojatnost prekomjerne konzumacije soli koja može dovesti do hipertenzije te gastrointestinalnih tegoba uslijed prekomjernog unosa minerala. Esteri ketonskih tijela u jetri se moraju prvo hidrolizirati u odnosne slobodne oblike, što može odgoditi ketozu u usporedbi s izravnom aapsorpcijom slobodnih ketonskih tijela. Osim toga potrebna su istraživanja za utvrđivanje farmakokinetičkih profila ovih pripravaka, podataka o sigurnosti i njihovoj podnošljivosti kod ljudi, kao i studije doza-odgovor u korelaciji s različitim medicinskim stanjima (83).

5. Zaključci

Dva fiziološki važna ketonska tijela, D-3-hidroksibutirat i acetoacetat, pomoćno su metaboličko gorivo koje zamjenjuje glukozu u većini ekstrahepatičkih tkiva tijekom razdoblja ograničene dostupnosti ugljikohidrata ili nemogućnosti njihovog iskorištavanja. Pored uloge u održanju energetske homeostaze, ketonska tijela se smatraju i medijatorima metaboličkog zdravlja. Zaštitni učinci ketonskih tijela, u prvom redu D-3-hidroksibutirata, mogu biti posredovani mitohondrijskim stresom izazvanim ketolizom ili njihovim međudjelovanjem s nekoliko ciljnih proteina uključujući histonske/proteinske deacetilaze, histone, površinske receptore spregnute s G-proteinom. Ovakva djelovanja sugeriraju da ketonska tijela mogu imati sustavne učinke i da posjeduju terapijski potencijal u kliničkom okruženju. Ketogeni plan prehrane i primjena egzogenih izvora ketona, koristan su istraživački alati za manipuliranje metabolizmom i izazivanje ketoze, s potencijalnom terapijskom primjenom koja cilja na različite aspekte nekoliko vodećih nezaraznih kroničnih bolesti današnjice. Ovi alati trebali bi dati važne uvide koji se mogu koristiti za maksimiziranje zdravstvenih dobrobiti ketonskih tijela – od metaboličkog zdravlja, upalnih bolesti, kardiovaskularne, kognitivne i imunološke funkcije do tjelesne kondicije i dugovječnosti.

6. Literatura

1. Bueno, N. B., De Melo, I. S. V., De Oliveira, S. L., & Da Rocha Ataíde, T. (2013b). Very-low-carbohydrate ketogenic diet v. low-fat diet for long-term weight loss: a meta-analysis of randomised controlled trials. *British Journal of Nutrition*, *110*(7), 1178–1187. Dostupno na: <https://doi.org/10.1017/s0007114513000548>
2. Roehl, K., & Sewak, S. L. (2017b). Practice Paper of the Academy of Nutrition and Dietetics: Classic and Modified Ketogenic Diets for Treatment of Epilepsy. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, *117*(8), 1279–1292. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.jand.2017.06.006>
3. Veneti, S., Grammatikopoulou, M. G., Kintiraki, E., Mintziori, G., & Goulis, D. G. (2023b). Ketone bodies in diabetes mellitus: friend or foe? *Nutrients*, *15*(20), 4383. Dostupno na: <https://doi.org/10.3390/nu15204383>
4. Zhu, H., Bi, D., Zhang, Y., Kong, C., Du, J., Wu, X., Wei, Q., & Qin, H. (2022c). Ketogenic diet for human diseases: the underlying mechanisms and potential for clinical implementations. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, *7*(1). Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00831-w>
5. Cahill GF Jr, Veech RL. Ketoacids? Good medicine? *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2003;114:149-61; discussion 162-3. PMID: 12813917; PMCID: PMC2194504. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2194504/>
6. Dean R. Appling, Spencer J. Anthony-Cahill, Christopher K. Mathews. 2nd edition: New York, Pearson (2019)
7. Newman, J. C., & Verdin, E. (2017b). B-Hydroxybutyrate: a signaling metabolite. *Annual Review of Nutrition*, *37*(1), 51–76. Dostupno na: <https://doi.org/10.1146/annurev-nutr-071816-064916>
8. Dąbek A, Wojtala M, Pirola L, Balcerczyk A. Modulation of Cellular Biochemistry, Epigenetics and Metabolomics by Ketone Bodies. Implications of the Ketogenic Diet in the Physiology of the Organism and Pathological States. *Nutrients*. 2020 Mar 17;12(3):788. doi: 10.3390/nu12030788. PMID: 32192146; PMCID: PMC7146425. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7146425/>
9. Hwang CY, Choe W, Yoon KS, Ha J, Kim SS, Yeo EJ, Kang I. Molecular Mechanisms for Ketone Body Metabolism, Signaling Functions, and Therapeutic Potential in Cancer. *Nutrients*. 2022 Nov 21;14(22):4932. doi: 10.3390/nu14224932. PMID: 36432618; PMCID: PMC9694619. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9694619/>
10. Falkenhain, K., Islam, H., & Little, J. P. (2022b). Exogenous ketone supplementation: an emerging tool for physiologists with potential as a metabolic therapy. *Experimental Physiology*, *108*(2), 177–187. Dostupno na: <https://doi.org/10.1113/ep090430>
11. Veech RL, Chance B, Kashiwaya Y, Lardy HA, Cahill GF Jr. Ketone bodies, potential therapeutic uses. *IUBMB Life* 2001;51:241-7. Dostupno na: <https://doi.org/10.1080/152165401753311780>
12. Ludwig DS. The Ketogenic Diet: Evidence for Optimism but High-Quality Research Needed. *J Nutr.* 2020 Jun 1;150(6):1354-1359. doi: 10.1093/jn/nxz308. PMID: 31825066; PMCID: PMC7269727. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7269727/>
13. Laffel L. Ketone bodies: a review of physiology, pathophysiology and application of monitoring to diabetes. *Diabetes Metab Res Rev.* 1999 Nov-Dec;15(6):412-26. doi: 10.1002/(sici)1520-7560(199911/12)15:6<412::aid-dmrr72>3.0.co;2-8. PMID: 10634967. Dostupno na: [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-7560\(199911/12\)15:6<412::AID-DMRR72>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-7560(199911/12)15:6<412::AID-DMRR72>3.0.CO;2-8)

14. Kuykendall, N. S., & Kuykendall, J. R. (2024b). Ketones in the life sciences – biochemistry, metabolism, and medicinal significances. In *Biochemistry*. Dostupno na: <https://doi.org/10.5772/intechopen.114276>
15. Newman, J. C., & Verdin, E. (2014c). Ketone bodies as signaling metabolites. *Trends in Endocrinology and Metabolism*, 25(1), 42–52. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2013.09.002>
16. Rojas-Morales, P., & Pedraza-Chaverri, J. (2017f). The ketone body Beta-Hydroxybutyrate in starvation. In *Springer eBooks* (pp. 1–15). Dostupno na: https://doi.org/10.1007/978-3-319-40007-5_51-1
17. Shimazu T, Hirsche MD, Newman J, He W, Shirakawa K, Le Moan N, Grueter CA, Lim H, Saunders LR, Stevens RD, Newgard CB, Farese RV Jr, de Cabo R, Ulrich S, Akassoglou K, Verdin E. Suppression of oxidative stress by β -hydroxybutyrate, an endogenous histone deacetylase inhibitor. *Science*. 2013 Jan 11;339(6116):211-4. doi: 10.1126/science.1227166. Epub 2012 Dec 6. PMID: 23223453; PMCID: PMC3735349. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3735349/>
18. Xie Z, Zhang D, Chung D, Tang Z, Huang H, Dai L, Qi S, Li J, Colak G, Chen Y, Xia C, Peng C, Ruan H, Kirkey M, Wang D, Jensen LM, Kwon OK, Lee S, Pletcher SD, Tan M, Lombard DB, White KP, Zhao H, Li J, Roeder RG, Yang X, Zhao Y. Metabolic Regulation of Gene Expression by Histone Lysine β -Hydroxybutyrylation. *Mol Cell*. 2016 Apr 21;62(2):194-206. doi: 10.1016/j.molcel.2016.03.036. PMID: 27105115; PMCID: PMC5540445. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5540445/>
19. Puchalska P, Crawford PA. Multi-dimensional Roles of Ketone Bodies in Fuel Metabolism, Signaling, and Therapeutics. *Cell Metab*. 2017 Feb 7;25(2):262-284. doi: 10.1016/j.cmet.2016.12.022. PMID: 28178565; PMCID: PMC5313038. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5313038/>
20. Puchalska P, Crawford PA. Metabolic and Signaling Roles of Ketone Bodies in Health and Disease. *Annu Rev Nutr*. 2021 Oct 11;41:49-77. doi: 10.1146/annurev-nutr-111120-111518. PMID: 34633859; PMCID: PMC8922216. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8922216/>
21. Nasser S, Vialichka V, Biesiekierska M, Balcerczyk A, Pirola L. Effects of ketogenic diet and ketone bodies on the cardiovascular system: Concentration matters. *World J Diabetes*. 2020 Dec 15;11(12):584-595. doi: 10.4239/wjd.v11.i12.584. PMID: 33384766; PMCID: PMC7754168. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7754168/>
22. Wheless, J.W. (2008), History of the ketogenic diet. *Epilepsia*, 49: 3-5. Dostupno na: <https://doi.org/10.1111/j.1528-1167.2008.01821.x>
23. Blanco JC, Khatri A, Kifayat A, Cho R, Aronow WS. Starvation Ketoacidosis due to the Ketogenic Diet and Prolonged Fasting - A Possibly Dangerous Diet Trend. *Am J Case Rep*. 2019 Nov 22;20:1728-1731. doi: 10.12659/AJCR.917226. PMID: 31756175; PMCID: PMC6883983. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6883983/>
24. Martin-McGill KJ, Bresnahan R, Levy RG, Cooper PN. Ketogenic diets for drug-resistant epilepsy. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020 Jun 24;6(6):CD001903. doi: 10.1002/14651858.CD001903.pub5. PMID: 32588435; PMCID: PMC7387249. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7387249/>
25. National Institute for Health and Care Excellence. National Institute for Health and Care Excellence Draft for Consultation Epilepsies in Children, Young People and Adults: Diagnosis and Management [12] Evidence Review: Ketogenic Diets for Drug-Resistant Epilepsy NICE Guideline <number> Evidence Review Underpinning Recommendation 8.1.1 and a Research Recommendation in the NICE Guideline DRAFT FOR CONSULTATION Contents; NICE: London, UK, 2021.[[Google Scholar](#)]

26. Zhu H, Bi D, Zhang Y, Kong C, Du J, Wu X, Wei Q, Qin H. Ketogenic diet for human diseases: the underlying mechanisms and potential for clinical implementations. *Signal Transduct Target Ther.* 2022 Jan 17;7(1):11. doi: 10.1038/s41392-021-00831-w. PMID: 35034957; PMCID: PMC8761750. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8761750/>
27. Kolb H, Kempf K, Röhling M, Lenzen-Schulte M, Schloot NC, Martin S. Ketone bodies: from enemy to friend and guardian angel. *BMC Med.* 2021 Dec 9;19(1):313. doi: 10.1186/s12916-021-02185-0. PMID: 34879839; PMCID: PMC8656040. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8656040/>
28. Gorovits, N. and Charron, M.J. (2003), What we know about facilitative glucose transporters: Lessons from cultured cells, animal models, and human studies. *Biochem. Mol. Biol. Educ.*, 31: 163-172. Dostupno na: <https://doi.org/10.1002/bmb.2003.494031030227>
29. Lieberman Michael, Marks Allan D. And Peet Alisa. 2013. Marks' Basic Medical Biochemistry: A Chlinical Approach. Fourth edition, Philadelphia:Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, str. 421. – 423.
30. Bendridi N, Selmi A, Balcerzyk A, Pirola L. Ketone Bodies as Metabolites and Signalling Molecules at the Crossroad between Inflammation and Epigenetic Control of Cardiometabolic Disorders. *International Journal of Molecular Sciences.* 2022; 23(23):14564.Dostupno na: <https://doi.org/10.3390/ijms232314564>
31. Selvaraj S, Kelly DP, Margulies KB. Implications of Altered Ketone Metabolism and Therapeutic Ketosis in Heart Failure. *Circulation.* 2020 Jun 2;141(22):1800-1812. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.119.045033. Epub 2020 Jun 1. PMID: 32479196; PMCID: PMC7304522. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7304522/>
32. Inagaki, T., Dutchak, P., Zhao, G., Ding, X., Gautron, L., Parameswara, V., Li, Y., Goetz, R., Mohammadi, M., Esser, V., Elmquist, J. K., Gerard, R. D., Burgess, S. C., Hammer, R. E., Mangelsdorf, D. J., & Kliewer, S. A. (2007b). Endocrine regulation of the fasting response by PPARA-Mediated Induction of Fibroblast Growth Factor 21. *Cell Metabolism*, 5(6), 415–425. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.05.003>
33. van Gent R, Di Sanza C, van den Broek NJ, Fleskens V, Veenstra A, Stout GJ, Brenkman AB. SIRT1 mediates FOXA2 breakdown by deacetylation in a nutrient-dependent manner. *PLoS One.* 2014 May 29;9(5):e98438. doi: 10.1371/journal.pone.0098438. PMID: 24875183; PMCID: PMC4038515. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4038515/>
34. Bonnefont, J. P., Specola, N. B., Vassault, A., Lombes, A., Ogier, H., De Klerk, J. B. C., Munnich, A., Coude, M., Paturneau-Jouas, M., & Saudubray, J.-. (1990b). The fasting test in paediatrics: Application to the diagnosis of pathological hypo- and hyperketotic states. *European Journal of Pediatrics*, 150(2), 80–85. Dostupno na: <https://doi.org/10.1007/bf02072043>
35. Mitchell GA, Kassovska-Bratinova S, Boukaftane Y, Robert MF, Wang SP, Ashmarina L, Lambert M, Lapierre P, Potier E. Medical aspects of ketone body metabolism. *Clin Invest Med.* 1995 Jun;18(3):193-216. PMID: 7554586. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7554586/>
36. Montelongo, A., Lasuncion, M. A., Pallardo, L. F., & Herrera, E. (1992). *Longitudinal Study of Plasma Lipoproteins and Hormones During Pregnancy in Normal and Diabetic Women.* *Diabetes*, 41(12), 1651–1659. Dostupno na: <https://doi.org/10.2337/diab.41.12.1651>
37. PATERSON, P. (1967). *MATERNAL AND F\$OElig;TAL KETONE CONCENTRATIONS IN PLASMA AND URINE.* *The Lancet*, 289(7495), 862–865. Dostupno na: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(67\)91426-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(67)91426-2)

38. Moore, D. C. P., Stanistreet, M., & Clarke, C. A. (1989). *Morphological and physiological effects of β -hydroxybutyrate on rat embryos grown in vitro at different stages*. *Teratology*, 40(3), 237–251. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2595599/>
39. Atkins R (ed). *Dr Atkins's Diet Revolution*. New York: Bantam Books, 1973.
40. Kitabchi AE, Wall BM. Diabetic ketoacidosis. *Med Clin North Am*. 1995 Jan;79(1):9-37. doi: 10.1016/s0025-7125(16)30082-7. PMID: 7808097. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7808097/>
41. Marshall S, Walker M, Alberti K. Diabetic ketoacidosis and hyperglycaemic non-ketotic coma. In *International Textbook of Diabetes Mellitus*, Alberti K, DeFronzo R, Keen H, Zimmet P(eds). New York: John Wiley & Sons, 1992; 1151±1166
42. Stephens JM, Sulway MJ, Watkins PJ. Relationship of blood acetoacetate and 3-hydroxybutyrate in diabetes. *Diabetes*. 1971 Jul;20(7):485-9. doi: 10.2337/diab.20.7.485. PMID: 4997333. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4997333/>
43. Nelson, R. W. (2015). Diabetic ketoacidosis. In *Elsevier eBooks* (pp. 315–347). <https://doi.org/10.1016/b978-1-4557-4456-5.00008-0>
44. Hood V, Tannen R. Maintenance of acid-base homeostasis during ketoacidosis and lactic acidosis. *Diabetes Reviews* 1994; 2: 177±194.
45. Dowis K, Banga S. The Potential Health Benefits of the Ketogenic Diet: A Narrative Review. *Nutrients*. 2021 May 13;13(5):1654. doi: 10.3390/nu13051654. PMID: 34068325; PMCID: PMC8153354. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8153354/>
46. Rusek M, Pluta R, Ułamek-Kozioł M, Czuczwar SJ. Ketogenic Diet in Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci*. 2019 Aug 9;20(16):3892. doi: 10.3390/ijms20163892. PMID: 31405021; PMCID: PMC6720297. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6720297/>
47. Ramezani M, Fernando M, Eslick S, Asih PR, Shadfar S, Bandara EMS, Hillebrandt H, Meghwar S, Shahriari M, Chatterjee P, Thota R, Dias CB, Garg ML, Martins RN. Ketone bodies mediate alterations in brain energy metabolism and biomarkers of Alzheimer's disease. *Front Neurosci*. 2023 Nov 16;17:1297984. doi: 10.3389/fnins.2023.1297984. PMID: 38033541; PMCID: PMC10687427. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10687427/>
48. Weber DD, Aminazdeh-Gohari S, Kofler B. Ketogenic diet in cancer therapy. *Aging (Albany NY)*. 2018 Feb 11;10(2):164-165. doi: 10.18632/aging.101382. PMID: 29443693; PMCID: PMC5842847. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5842847/>
49. Bolla AM, Caretto A, Laurenzi A, Scavini M, Piemonti L. Low-Carb and Ketogenic Diets in Type 1 and Type 2 Diabetes. *Nutrients*. 2019 Apr 26;11(5):962. doi: 10.3390/nu11050962. PMID: 31035514; PMCID: PMC6566854. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6566854/>
50. McGaugh E, Barthel B. A Review of Ketogenic Diet and Lifestyle. *Mo Med*. 2022 Jan-Feb;119(1):84-88. PMID: 36033148; PMCID: PMC9312449. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9312449/>
51. Dyrńska D, Kowalcze K, Charuta A, Paziewska A. The Ketogenic Diet and Cardiovascular Diseases. *Nutrients*. 2023 Jul 28;15(15):3368. doi: 10.3390/nu15153368. PMID: 37571305; PMCID: PMC10421332. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10421332/>

52. Zhou T, Cheng X, He Y, Xie Y, Xu F, Xu Y, Huang W. Function and mechanism of histone β -hydroxybutyrylation in health and disease. *Front Immunol.* 2022 Sep 12;13:981285. doi: 10.3389/fimmu.2022.981285. PMID: 36172354; PMCID: PMC9511043. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9511043/>
53. Evans M, Cogan KE, Egan B. Metabolism of ketone bodies during exercise and training: physiological basis for exogenous supplementation. *J Physiol.* 2017 May 1;595(9):2857-2871. doi: 10.1113/JP273185. Epub 2016 Dec 7. PMID: 27861911; PMCID: PMC5407977. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5407977/>
54. Pinckaers PJ, Churchward-Venne TA, Bailey D, van Loon LJ. Ketone Bodies and Exercise Performance: The Next Magic Bullet or Merely Hype? *Sports Med.* 2017 Mar;47(3):383-391. doi: 10.1007/s40279-016-0577-y. PMID: 27430501; PMCID: PMC5309297. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5309297/>
55. Watanabe M, Tozzi R, Risi R, Tuccinardi D, Mariani S, Basciani S, Spera G, Lubrano C, Gnessi L. Beneficial effects of the ketogenic diet on nonalcoholic fatty liver disease: A comprehensive review of the literature. *Obes Rev.* 2020 Aug;21(8):e13024. doi: 10.1111/obr.13024. Epub 2020 Mar 24. PMID: 32207237; PMCID: PMC7379247. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7379247/>
56. Post A, Garcia E, van den Berg EH, Flores-Guerrero JL, Gruppen EG, Groothof D, Westenbrink BD, Connelly MA, Bakker SJL, Dullaart RPF. Nonalcoholic fatty liver disease, circulating ketone bodies and all-cause mortality in a general population-based cohort. *Eur J Clin Invest.* 2021 Dec;51(12):e13627. doi: 10.1111/eci.13627. Epub 2021 Jun 13. PMID: 34120339; PMCID: PMC9285047. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9285047/>
57. Shemesh E, Chevli PA, Islam T, German CA, Otvos J, Yeboah J, Rodriguez F, deFilippi C, Lima JAC, Blaha M, Pandey A, Vaduganathan M, Shapiro MD. Circulating ketone bodies and cardiovascular outcomes: the MESA study. *Eur Heart J.* 2023 May 7;44(18):1636-1646. doi: 10.1093/eurheartj/ehad087. PMID: 36881667; PMCID: PMC10411932. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10411932/>
58. Manolis AS, Manolis TA, Manolis AA. Ketone Bodies and Cardiovascular Disease: An Alternate Fuel Source to the Rescue. *Int J Mol Sci.* 2023 Feb 10;24(4):3534. doi: 10.3390/ijms24043534. PMID: 36834946; PMCID: PMC9962558. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9962558/>
59. Papazafiropoulou AK, Georgopoulos MM, Katsilambros NL. Ketone bodies and the heart. *Arch Med Sci Atheroscler Dis.* 2021 Dec 30;6:e209-e214. doi: 10.5114/amsad.2021.112475. PMID: 36161216; PMCID: PMC9487827. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9487827/>
60. Miller AI, Diaz D, Lin B, Krzesaj PK, Ustoyev S, Shim A, Fine EJ, Sarafraz-Yazdi E, Pincus MR, Feinman RD. Ketone Bodies Induce Unique Inhibition of Tumor Cell Proliferation and Enhance the Efficacy of Anti-Cancer Agents. *Biomedicines.* 2023 Sep 12;11(9):2515. doi: 10.3390/biomedicines11092515. PMID: 37760956; PMCID: PMC10526402. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10526402/>
61. Hwang, C.Y.; Choe, W.; Yoon, K.-S.; Ha, J.; Kim, S.S.; Yeo, E.-J.; Kang, I. Molecular Mechanisms for Ketone Body Metabolism, Signaling Functions, and Therapeutic Potential in Cancer. *Nutrients* **2022**, *14*, 4932. <https://doi.org/10.3390/nu14224932>

62. Alparslan Z, Kızılcıca B. METABOLIC PERSPECTIVE OF CANCER: KETOGENIC DIET AND METABOLISM ANTAGONISTS. *Turk Med Stud J.* 2023 Oct;10(3):99-104. doi:10.4274/tmsj.galenos.2023.2023-4-2. Dostupno na: <https://turkmedstudj.com/articles/metabolic-perspective-of-cancer-ketogenic-diet-and-metabolism-antagonists/doi/tmsj.galenos.2023.2023-4-2>
63. Rojas-Morales P, Pedraza-Chaverri J, Tapia E. Ketone bodies, stress response, and redox homeostasis. *Redox Biol.* 2020 Jan;29:101395. doi: 10.1016/j.redox.2019.101395. Epub 2019 Nov 28. PMID: 31926621; PMCID: PMC6911969. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6911969/>
64. Libretexts. (2021, November 2). 5.2: Lipolysis, β -oxidation, and ketogenesis. *Medicine LibreTexts*. Dostupno na: https://med.libretexts.org/Bookshelves/Basic_Science/Cell_Biology_Genetics_and_Biochemistry_for_Pre-Clinical_Students/05%3A_Fuel_for_Later/5.02%3A_Lipolysis_oxidation_and_ketogenesis
65. El-Gharbawy A, Vockley J. Inborn Errors of Metabolism with Myopathy: Defects of Fatty Acid Oxidation and the Carnitine Shuttle System. *Pediatric Clinics of North America.* 2018 Apr;65(2):317-335. DOI: 10.1016/j.pcl.2017.11.006. PMID: 29502916; PMCID: PMC6566095. Dostupno na: <https://europepmc.org/article/pmc/pmc6566095>
66. Shimi T, Butin-Israeli V, Adam SA, Hamanaka RB, Goldman AE, Lucas CA, Shumaker DK, Kosak ST, Chandel NS, Goldman RD. The role of nuclear lamin B1 in cell proliferation and senescence. *Genes Dev.* 2011 Dec 15;25(24):2579-93. doi: 10.1101/gad.179515.111. Epub 2011 Dec 8. PMID: 22155925; PMCID: PMC3248680. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3248680/>
67. Lv, T., Wang, C., Zhou, J., Feng, X., Zhang, L., & Fan, Z. (2024). Mechanism and role of nuclear laminin B1 in cell senescence and malignant tumors. *Cell Death Discovery*, 10(1). Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/s41420-024-02045-9>
68. Andersen OE, Poulsen JV, Farup J, de Morree A. Regulation of adult stem cell function by ketone bodies. *Front Cell Dev Biol.* 2023 Aug 31;11:1246998. doi: 10.3389/fcell.2023.1246998. PMID: 37745291; PMCID: PMC10513036. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10513036/>
69. Zhang, X., Cao, R., Niu, J., Yang, S., Ma, H., Zhao, S., & Li, H. (2019). Molecular basis for hierarchical histone de- β -hydroxybutyrylation by SIRT3. *Cell Discovery*, 5(1). Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/s41421-019-0103-0>
70. Israël, M., & Schwartz, L. (2020). *The metabolic rewiring observed in cancer renders tumor cells dependent of ketone bodies and vulnerable to SCOT inhibition.* Dostupno na: <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:215535636>
71. Huang D, Li T, Wang L, Zhang L, Yan R, Li K, Xing S, Wu G, Hu L, Jia W, Lin SC, Dang CV, Song L, Gao P, Zhang H. Hepatocellular carcinoma redirects to ketolysis for progression under nutrition deprivation stress. *Cell Res.* 2016 Oct;26(10):1112-1130. doi: 10.1038/cr.2016.109. Epub 2016 Sep 20. PMID: 27644987; PMCID: PMC5113304. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5113304/>
72. Cheng CW, Biton M, Haber AL, Gunduz N, Eng G, Gaynor LT, Tripathi S, Calibasi-Kocal G, Rickelt S, Butty VL, Moreno-Serrano M, Iqbal AM, Bauer-Rowe KE, Imada S, Ulutas MS, Mylonas C, Whary MT, Levine SS, Basbınar Y, Hynes RO, Mino-Kenudson M, Deshpande V, Boyer LA, Fox JG, Terranova C, Rai K, Piwnicka-Worms H, Mihaylova MM, Regev A, Yılmaz ÖH. Ketone Body Signaling Mediates Intestinal Stem Cell Homeostasis and Adaptation to Diet. *Cell.* 2019 Aug 22;178(5):1115-1131.e15. doi:

- 10.1016/j.cell.2019.07.048. PMID: 31442404; PMCID: PMC6732196. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6732196/>
73. Wang Q, Zhou Y, Rychahou P, Fan TW, Lane AN, Weiss HL, Evers BM. Ketogenesis contributes to intestinal cell differentiation. *Cell Death Differ.* 2017 Mar;24(3):458-468. doi: 10.1038/cdd.2016.142. Epub 2016 Dec 9. PMID: 27935584; PMCID: PMC5344206. Dostupno na: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27935584/>
74. Youm YH, Nguyen KY, Grant RW, Goldberg EL, Bodogai M, Kim D, D'Agostino D, Planavsky N, Lupfer C, Kanneganti TD, Kang S, Horvath TL, Fahmy TM, Crawford PA, Biragyn A, Alnemri E, Dixit VD. The ketone metabolite β -hydroxybutyrate blocks NLRP3 inflammasome-mediated inflammatory disease. *Nat Med.* 2015 Mar;21(3):263-9. doi: 10.1038/nm.3804. Epub 2015 Feb 16. PMID: 25686106; PMCID: PMC4352123. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4352123/>
75. Basnet, A., & Basnet, A. (2020, April 23). *Ketone Bodies* / *Online Biochemistry Notes*. Online Biochemistry Notes | Biochemistry Notes by Anup Basnet. Dostupno na: <http://biocheminfo.com/2020/04/23/ketone-bodies/>
76. Hashim SA, VanItallie TB. Ketone body therapy: from the ketogenic diet to the oral administration of ketone ester. *J Lipid Res.* 2014 Sep;55(9):1818-26. doi: 10.1194/jlr.R046599. Epub 2014 Mar 5. PMID: 24598140; PMCID: PMC4617348. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4617348/>
77. National Center for Biotechnology Information (2024). PubChem Compound Summary for CID 10850, Tricaprylin. Retrieved September 13, 2024 from. Dostupno na: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Tricaprylin>.
78. Nelson, A. B., Queathem, E. D., Puchalska, P., & Crawford, P. A. (2023). Metabolic Messengers: ketone bodies. *Nature Metabolism*, 5(12), 2062–2074. Dostupno na: <https://doi.org/10.1038/s42255-023-00935-3>
79. Niels Møller, Ketone Body, 3-Hydroxybutyrate: Minor Metabolite - Major Medical Manifestations, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, Volume 105, Issue 9, September 2020, Pages 2884–2892. Dostupno na: <https://doi.org/10.1210/clinem/dgaa370>
80. Tozzi, R., Cipriani, F., Masi, D., Basciani, S., Watanabe, M., Lubrano, C., Gnassi, L., & Mariani, S. (2022). Ketone Bodies and SIRT1, Synergic Epigenetic Regulators for Metabolic Health: A Narrative review. *Nutrients*, 14(15), 3145. Dostupno na: <https://doi.org/10.3390/nu14153145>
81. Nakagawa T, Guarente L. Sirtuins at a glance. *J Cell Sci.* 2011 Mar 15;124(Pt 6):833-8. doi: 10.1242/jcs.081067. PMID: 21378304; PMCID: PMC3048886. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3048886/>
82. García-Rodríguez, D., & Giménez-Cassina, A. (2021). Ketone bodies in the brain beyond fuel metabolism: from excitability to gene expression and cell signaling. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 14. Dostupno na: <https://doi.org/10.3389/fnmol.2021.732120>
83. Yao, A., Li, Z., Lyu, J., Yu, L., Wei, S., Xue, L., Wang, H., & Chen, G. (2021). On the nutritional and therapeutic effects of ketone body d- β -hydroxybutyrate. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(16–17), 6229–6243. Dostupno na: <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11482-w>
84. 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*, 70(3), 309–319. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.plefa.2003.09.007>

85. Smith, M. P. (2020). Medical and Therapeutic Applications of ketosis: An Overview. *Health Science Journal*, 14(1). Dostupno na: <https://doi.org/10.36648/1791-809x.14.1.690>
86. Matsuura TR, Puchalska P, Crawford PA, Kelly DP. Ketones and the Heart: Metabolic Principles and Therapeutic Implications. *Circ Res*. 2023 Mar 31;132(7):882-898. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.123.321872. Epub 2023 Mar 30. PMID: 36996176; PMCID: PMC10289202. Dostupno na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10289202/>

7. Popis kratica i akronima

ACAA1 – enzim acetil-CoA aciltransferaza 1 (EC 2.3.1.16)

ACAT2 – enzim acetil-CoA acetiltransferaza 2 (EC 2.3.1.9)

APP-engl. Amyloid Precursor Protein

ASC (engl. Apoptosis-Associated Speck-Like Protein)

BDH1- enzim (engl. 3-hydroxybutyrate dehydrogenase 1) (EC 1.1.1.3)

CLK – ciklus limunske kiseline

CDKL5 – ciklin ovisna kinaza 5 (engl. Cyclin dependent kinase – like 5)

CPT1 – enzim palmitoil-CoA: L-karnitin *O*-palmitoil transferaza 1 (EC 2.3.1)

CPT2 - enzim palmitoil-CoA: L-karnitin *O*-palmitoil transferaza 2 (EC 2.3.1.21)

CS – citrat sintaza (EC 2.3.3.1)

DKA – dijabetička ketoacidoza

FFA- slobodne masne kiseline (engl. Free Fatty Acids)

FFAR3 (engl. Free Fatty Acid Receptor 3)

FFK1 – fosfofruktokinaza 1 (EC 2.7.1.11)

FOXA2 – transkripcijski faktor (engl. Forkhead box protein A2)

GABA (engl. gamma amino butyric acid)

GLUT-1 – prijenosnik glukoze 1

GPCR (engl. G protein-Coupled Receptors, površinski receptor)

GPR109A (engl. G protein Coupled receptor 109A)

3HB – D-3-hidroksibutirat ili β -hidroksibutirat

HbA1c- hemoglobin A1c

HCAR2 (engl. Hydroxycarboxylic acid receptor 2)

HDAC – enzim histonska deacetilaza

HDL (engl. High-density lipoprotein), lipoproteini ili tzv. „dobar kolesterol“

3-HHD)- 3-hidroksiheksan-2,5-dion

HEK239 (engl. Human embryonic kidney 239 cells)

HS- CoA- koenzim A

HMGCS2 – enzim 3-hidroksimetilglutaril-CoA sintaza 2 (EC 2.3.3.10)

HMG-CoA liaza – enzim 3-hidroksimetilglutaril- CoA liaza (EC 4.1.3.4.)

HPTM-pottranslacijske modifikacije

HSL- enzim hormon osjetljiva lipaza (EC 3.1.1.79)

KE- ketonski esteri

LDL (engl. Low density lipoprotein)

MCT- monokarboksilatni transporter proteina

MCR (engl. The metabolic clearance rate)

mTOR (engl. Mammalian Target of Rapamycin; ciljna molekula rapamicina u sisavaca)

NAFLD –nealkoholna masna bolest jetre (engl. Nonalcoholic Fatty Liver Disease)

NLRP3 (engl. Nucleotide-binding domain, Leucine-Rich-containing family; Pyrin domain-containing 3)

OCT4 (engl. octamer – Binding Transcription Factor 4)

PDH- enzim piruvat dehidrogenaza (EC 1.2.4.1)

PKA- proteinska kinaza A

PPAR α - aktivator proliferacije peroksisoma tip alfa (engl. Peroxisome Proliferator- Activated Receptor Alpha)

PSEN 1 (Presenilin 1)

PSEN 2 (Presenilin 2)

SCOT (ili OXCT1) –enzim sukcinil-CoA: 3-ketokiselina- koenzim A- transferaza (EC 2.8.3.5)

TA-triacilgliceroli

8. Životopis

Klaudia Mudrovčić rođena je 07. kolovoza 2000. godine u Ogulinu. Od 2007. do 2015. godine pohađala je Osnovnu školu „Ivana Gorana Kovačića“ u Vrbovskom. Od 2016. do 2020. godine pohađala je opću gimnaziju u „Srednja škola Delnice“ u Delnicama. Upisala je Sveučilišni prijediplomski studij Sanitarno inženjerstvo pri Medicinskom fakultetu Sveučilišta u Rijeci 2021. godine. Članica je Organizacijskog odbora Studentskog kongresa zaštite zdravlja – Sanitas i urednica Knjige sažetaka 2024. godine.

9. Prilog

Popis tablica:

Tablica 1. Zaliha molekula goriva u čovjeka 70 kg. Tjelesne zalihe svake zastupljene komponente prikazane su u kilogramima i kalorijskoj vrijednosti izraženoj u kilokalorijama, kao i njihova ukupna energetska vrijednost. Prilagođeno prema (5).-stranica VII

Tablica 2. Učinci hormona glukagona i inzulina na ključne enzime koji kontroliraju ketogenezu. Prilagođeno prema (12).-stranica XVII

Tablica 3. Rasponi razina ketonskih tijela u ljudskoj plazmi u različitim fiziološkim uvjetima. Prilagođeno prema (26).-stranica XX

Popis slika:

Slika 1. Razine ketonskih tijela (D-3-hidroksibutirata i acetoacetata) u krvi tijekom različitog vremena gladovanja. Prilagođeno prema (28). –stranica VIII

Slika 2. Promjene u metabolizmu i raspodjeli molekula goriva tijekom gladovanja. A) Koncentracija glukoze, slobodnih masnih kiselina i D-3-hidroksibutirata u krvi tijekom gladovanja u ljudi. B) Prikazan je postotak glukoze u krvi tijekom sitosti te u stanju gladovanja kada ketonska tijela, D-3-hidroksibutirat i acetoacetat, zamjenjuju glukozu u svrhu opskrbe energijom ekstrahepatičkih tkiva. FFA – slobodne masne kiseline; BHB i 3HB – D-3-hidroksibutirat. Prilagođeno prema (15).-stranica IX

Slika 3. Koraci u iskorištanju masnih kiselina tijekom ketogeneze: (a) lipoliza, (b) prijenos dugolančanih masnih kiselina u matriks mitohondrija i β -oksidacija masnih kiselina u molekulu acetil-CoA i (c) sinteza ketonskih tijela iz acetil-CoA (slika c). Prilagođeno prema (65). – stranica X

Slika 4. Prijenos masnih kiselina u matriks mitohondrija. Translokacija masnih kiselina dugog/srednjeg lanca iz međumembranskog prostora (citosola) u mitohondrijski matriks odvija se pomoću palmitoil-CoA: L-karnitin *O*-palmitoil-transferaze 1 (CPT1) koja se nalazi na vanjskoj strani unutarnje membrane mitohondrija i dovodi do stvaranja acilkarnitina. Palmitoil-CoA: L-karnitin *O*-palmitoil-transferaza 2 (CPT2) katalizira nastanak acil-CoA uz oslobađanje karnitina. Nastali acil-CoA tada može podlijeći procesu β -oksidacije. Masne kiseline kratkog lanca ne zahtijevaju posrednika u prijenosu do matriksa mitohondrija. Dio slobodnih masnih kiselina može kondenzirati s koenzimom A (HS-CoA) te se tako uključiti u procese poput ciklusa limunske kiseline u cilju stvaranja energije. Preuzeto iz (66). – stranica XI

Slika 5. Sažetak sinteze, korištenja i izlučivanja ketonskih tijela. U normalnim uvjetima acetil-CoA kondenzira s oksaloacetatom ulazeći tako u ciklus limunske kiseline u cilju sinteze ATPa. No, prilikom

pojačane lipolize oksaloacetat se iskorištava za sintezu glukoze glukoneogenezom zbog čega ga nema u dovoljnoj količini za kondenzaciju s oksaloacetatom koji nastaje procesom β -oksidacije masnih kiselina oslobođenih iz masnog tkiva. Stoga se iz acetyl-CoA u jetri i kreće sa sintezom ketonskih tijela.

Preuzeto iz: (76). – stranica XII

Slika 6. Proces ketogeneze u hepatocitima jetre i proces ketolize u ekstrahepatičnim tkivima. Slobodne masne kiseline (FFA); mitohondrijska tiolaza; hidrosimetilglutaril-CoA-sintaza 2 (HMGCS2); hidrosimetilglutaril-CoA liaza (HMGCL); 3-hidroksibutirat-dehidrogenaza (BDH1); monokarboksilatni transpostni protein 1/2 (MCT1/2); citrat sintaza (CS); sukcinil-CoA: 3-ketokiselina-koenzim A-transferaza (SCOT); Prilikom ograničene dostupnosti oksaloacetata, procesom β -oksidacije masnih kiselina dolazi do nakupljanja acetyl-CoA koji se usmjerava u ketogeni put sinteze acetoacetata. Većim dijelom se acetoacetat reducira u D-3- β -hidroksibutirat (D-3-hidroksibutirat; 3HB), a manji dio acetoacetata podliježe reakciji spontane dekarboksilacije u aceton. Sintetizirani 3HB i acetoacetat preuzimaju ekstrahepatične stanice koje ga pretvaraju u acetyl-CoA koji se onda potom uključuje u ciklus limunske kiseline (TCA ciklus; ciklus trikarboksilne kiseline) nakon kondenzacije s oksaloacetatom uz pomoć enzima citrat sinataze (CS) budući da nema procesa glukoneogeneze koja bi iscrpljivala zalihe priruvata i oksaloacetata. Preuzeto iz (26). – stranica XIII

Slika 7. Odnos između hepatocita i adipocita u metabolizmu glukoze i lipida. Hepatociti i adipociti mjesta su pohrane i iskorištavanje glukoze i masnih kiselina. Na to utječe omjer glukagona i inzulina. Ketogeneza ovisi o lipazi osjetljivoj na hormone u adipocitima (desna slika). Kod visoke razine inzulina (lijeva slika) glukoza se pretvara u energiju (ATP) koja se pohranjuje u hepatocitima kao glikogen, a masne kiseline se pretvaraju u triacilglicerole. Lipoproteini prenose triacilglicerole na pohranu u adipocitima. Kod smanjene razine inzulina (desna slika) hepatociti oslobađaju rezerve glikogena u obliku glukoze koju stanice potom koriste kao izvor energije. To je popraćeno aktivnošću lipaze osjetljive na hormone koja je regulirana glukagonom i inzulinom. Triacilgliceroli se u adipocitima oslobađaju kao masne kiseline. Kod pada razina glukoze, masne kiseline postaju gorivo za većinu stanica. U hepatocitima se povećava proizvodnja ketonskih tijela. Preuzeto iz (12). – stranica XIV