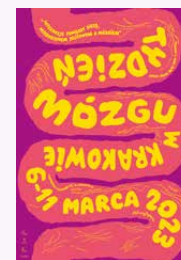


OD POSTU DO DIETY KETOGENNEJ – SPOSÓB NA PADACZKĘ

From fasting to ketogenic diet – a way to cure epilepsy



Doskonała
Nauka

Bartosz Osuch, Piotr Maciejak (Warszawa)

Streszczenie

Skuteczność diety ketogennej w kontrolowaniu napadów padaczkowych wykazały liczne badania eksperymentalne i kliniczne, jednak mechanizm jej działania nadal wymaga wyjaśnienia. Obecnie uważa się, że za wysoką terapeutyczną skutecznością tej diety stoi wiele równoległych procesów zachodzących na różnych poziomach funkcjonowania neuronów i astrocytów. Hypotezy dotyczące mechanizmów jej działania obejmują przede wszystkim: zwiększone wytwarzanie ciał ketonowych, zmiany aktywności niektórych układów neuroprzekaźnikowych i kanałów jonowych, poprawę bioenergetyki komórek nerwowych, a także przeciwdrgawkowe działanie kwasów tłuszczowych. W przedstawionej pracy zebraliśmy aktualne dane literaturowe obejmujące postulowane mechanizmy działania diety ketogennej poparte dodatkowo własnymi badaniami.

Abstract

The effectiveness of the ketogenic diet in controlling epileptic seizures has been demonstrated by numerous experimental and clinical studies, but its mechanism of action still needs to be clarified. It is currently believed that behind the high therapeutic efficacy of this diet are many parallel processes occurring at different levels of neuronal and astrocyte functioning. Hypotheses about its mechanisms of action include primarily: increased production of ketone bodies, changes in the activity of certain neurotransmitter systems and ion channels, improvement of nerve cell bioenergetics and anticonvulsant effects of fatty acids. In the present paper, we have compiled current literature data covering the postulated mechanisms of action of the ketogenic diet further supported by our own research.

Krótką historią diety ketogennej

Wykorzystanie diety w leczeniu padaczki było praktykowane już w starożytności. Hipokrates w III wieku p.n.e. nie tylko jako pierwszy postawił hipotezę zakładającą, że padaczka jest wynikiem choroby mózgu, ale także zaproponował stosowanie przedłużonego postu jako terapii ograniczającej wystąpienie napadów padaczkowych [25]. Przez kolejne stulecia dostrzegano istotną rolę postu w leczeniu padaczki, jednak przełom nastąpił dopiero na początku lat 20. XX wieku, kiedy Russell Wilder opracował dietę naśladującą stan metaboliczny organizmu w trakcie głodzenia. Wtedy po raz pierwszy użyty został termin

„dieta ketogenna”, a Widler napisał w swojej pracy, że „korzyści z głodzenia (...) mogą być uzyskane również, jeśli ketonemia jest wytworzona w inny sposób. Ciała ketonowe (...) są tworzone z tłuszczu kiedykolwiek jest dysproporcja między ilością kwasów tłuszczowych i węglowodanów spalanych przez tkanki (...) Jest możliwe prowokowanie ketogenezy przez stosowanie diet, które są bardzo bogate w tłuszcze i ubogie w węglowodany. Proponuję zatem zastosowanie diet ketogennych u pacjentów z padaczką” [64]. Przy niedoborze węglowodanów w diecie kwasy tłuszczowe ulegają spalaniu w procesie β -oksydacji w mitochondriach hepatocytów, a produktem ich utleniania są ciała ketonowe, które

omijając etap glikolizy wchodzi jako acetylokoenzym-A (acetyl-CoA) bezpośrednio do cyklu Krebsa. Zadaniem tego cyklu jest (w dużym uproszczeniu) utlenienie acetyl-CoA do dwóch cząsteczek CO₂, aby następnie pozyskaną w ten sposób energię ulokować w jej chemicznych nośnikach, takich jak: guanozyno-5'-trifosforan (GTP), dinukleotyd nikotynoamidoadeninowy (NADH) oraz dinukleotyd flawinoadeninowy (FADH₂) [2].

Ciała ketonowe są stale obecne we krwi, niezależnie od sposobu żywienia. Jednakże u ludzi i zwierząt na diecie o zrównoważonej ilości węglowodanów i tłuszczów, ich stężenie w surowicy jest na ogół niskie – od 0,1 do 0,4 mM. Stężenie ketonów wzrasta w warunkach niedoboru składników odżywczych, obniżonej dostępności węglowodanów oraz przy wzmożonej aktywności fizycznej [18]. U ludzi stężenie ciał ketonowych w organizmie wynosi: 1-4 mM po krótkotrwałej restrykcji kalorycznej (2-3 dni) oraz 7-9 mM w warunkach długotrwałego postu (17-24 dni) [18, 41]. Na skutek wzmożonego wysiłku fizycznego ich stężenie w organizmie człowieka osiąga poziom 1-2 mM, natomiast przy niskiej zawartości węglowodanów w diecie oraz podczas stosowania diety ketogennej – stężenie wzrasta do ponad 5 mM [16, 18, 61]. Wyniki badań przedklinicznych wskazują na porównywalne z występującymi u ludzi wartości ciał ketonowych u gryzoni [18, 22, 24, 66]. W przypadku długotrwałego, pięciomiesięcznego stosowania diety ketogennej o zwiększonej zawartości średniołańcuchowych trójglicerydów oraz przy zastosowaniu restrykcji białka, wartość ciał ketonowych we krwi szczurów w dniu zakończenia prowadzonego przez nas eksperymentu wynosiła ponad 5 mM [38].

Bardzo istotne jest przestrzeganie rygoru diety ketogennej, ponieważ nawet nieznaczne odstępstwa od jej założeń mogą doprowadzić do przerwania stanu ketozy. Konsekwencją tego będzie z dużą pewnością nawrót aktywności drgawkowej w ciągu godziny od spożycia węglowodanów (lub dożylnego podania glukozy). Ponowne osiągnięcie ketozy nie jest możliwe od kilku do kilkudziesięciu godzin, co zwiększa ryzyko wystąpienia napadów [39]. W związku z tym Peter Huttenlocher, chcąc uczynić dietę ketogeną mniej restrykcyjną, opracował w 1971 roku jej zmodyfikowaną wersję wzbogaconą o średniołańcuchowe trójglicerydy (MCT) [20]. Okazało się, że dodatek MCT umożliwia zwiększenie spożycia węglowodanów i białek przy jednoczesnym zmniejszeniu ilości spożywanych tłuszczów, a zarazem utrzymuje ketozę na tym samym poziomie, jak podczas stosowania klasycznej diety ketogennej. MCT są wchłaniane z ko-

mórek nabłonka jelitowego, a następnie transportowane bezpośrednio żyłą wrotną do wątroby, omijając w ten sposób układ limfatyczny. W mitochondriach hepatocytów MCT ulegają szybkiemu utlenieniu z wytworzeniem ciał ketonowych. MCT okazały się być bardziej ketogenne niż długołańcuchowe trójglicerydy. Dzięki temu dieta wzbogacona MCT nie wymaga utrzymania tak rygorystycznego reżimu żywieniowego jak klasyczna dieta ketogenna [20, 34, 61, 65].

Obecnie dieta ketogenna stosowana jest głównie w leczeniu padaczki odpornej na farmakoterapię oraz w sytuacjach, w których farmakoterapia jest przyczyną nasilonych bądź trudnych do zaakceptowania efektów ubocznych. Co najmniej jedna trzecia chorych, pomimo leczenia farmakologicznego, w dalszym ciągu wykazuje aktywność napadową oraz towarzyszące jej negatywne konsekwencje zdrowotne, takie jak upośledzenie funkcji poznawczych oraz współistniejące problemy ze zdrowiem psychicznym. Dla wielu z nich dieta ketogenna jest szansą na poprawę jakości życia, przy znacznym spadku częstości napadów [49, 58, 64].

Postulowane mechanizmy działania przeciwdrgawkowego diety ketogennej

W warunkach prawidłowych, tzn. podczas stosowania diet zawierających zrównoważoną ilość węglowodanów i tłuszczów, wyłącznym materiałem energetycznym dla mózgu jest glukoza. W przypadku niedoboru węglowodanów w diecie, energia pozyskiwana jest w procesie β -oksydacji poprzez rozpad kwasów tłuszczowych, co prowadzi do wytworzenia dużych ilości wewnątrzkomórkowego acetyl-CoA. Akumulacja tego związku skutkuje syntezą ciał ketonowych: kwasu β -hydroksymasłowego, kwasu acetylooctowego oraz acetonu. Ciała ketonowe produkowane w wątrobie (w mitochondriach hepatocytów) przedostają się do krwi, a następnie do tkanek obwodowych i przenikają przez barierę krew-mózg. W mitochondriach komórek mózgu wchodzi do cyklu Krebsa jako acetyl-CoA, co prowadzi do wytworzenia NADH. Energia zmagazynowana w elektronach NADH jest następnie przekształcana do adenozy-no-5'-trifosforanu (ATP) w procesie oddychania komórkowego [2, 3, 66] (Ryc. 1).

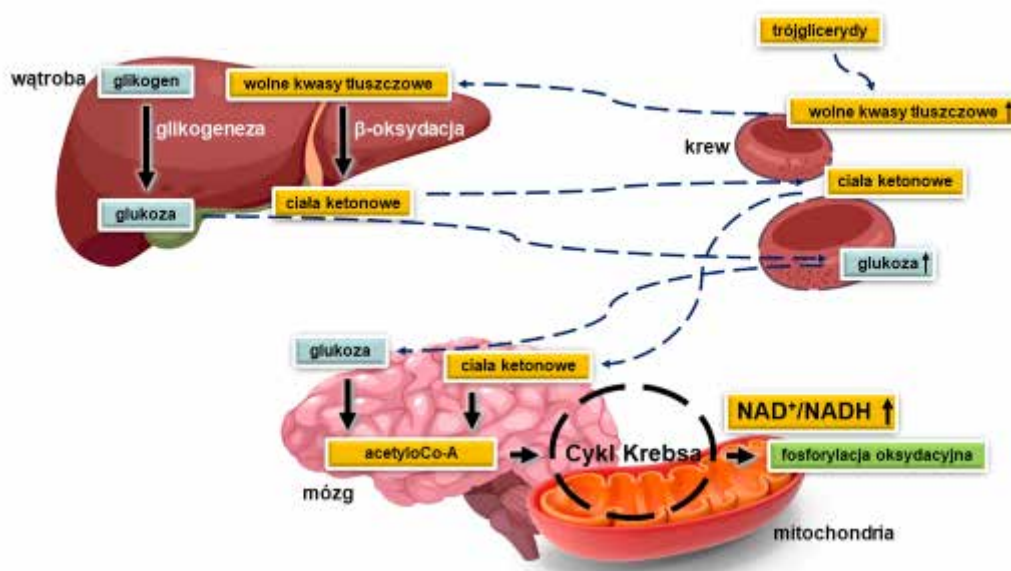
Ciała ketonowe

Początkowo badacze wysuwali hipotezy skoncentrowane przede wszystkim na ciałach ketonowych jako kluczowych mediatorach odpowiadających

za przeciwpadaczkowe działanie diety ketogennej. Owocem tych badań są wyniki wskazujące na przeciwdrgawkowe właściwości acetonu w modelach zwierzęcych padaczki, jednakże dieta ketogenna (KD) konsekwentnie nie zapewniała podobnie wysokiego poziomu tego ketonu, co pozwala wnioskować, że profil działania acetonu różni się od profilu działania diety ketogennej [32, 46]. Stężenie acetonu w osoczu zwierząt karmionych dietą ketogenną było około dziesięciokrotnie niższe od stężenia wykazującego działanie przeciwdrgawkowe [35]. Istnieją

Modulacja aktywności układów neuroprzebieżnikowych oraz kanałów jonowych

Zwiększone wytwarzanie ciał ketonowych może mieć wpływ na zmiany aktywności niektórych neuroprzebieżników (przede wszystkim kwasu γ -aminomasłowego (GABA), adenozyiny i glutaminianu). GABA jest głównym neuroprzebieżnikiem hamującym w układzie nerwowym ssaków, w związku z czym znaczna część leków przeciwpadaczkowych opiera swoje działanie na zwiększeniu przebieżnictwa GABA-er-



Ryc. 1. Ketogeneza. Kwasy tłuszczowe ulegają spaleni w procesie β -oksydacji w mitochondriach hepatocytów, a produktami ich utlenienia są ciała ketonowe, które omijając etap glikolizy, wchodzą jako acetylo-CoA bezpośrednio do cyklu Krebsa.

także modele eksperymentalne, które wykazały działanie przeciwdrgawkowe w przypadku kwasu acetylooctowego [41, 42]. Przeciwdrgawkowych właściwości nie wykazano natomiast w przypadku kwasu β -hydroksymasłowego, który stanowi zdecydowaną większość, bo aż 75–80% wszystkich ciał ketonowych surowicy [7, 42]. Za tym, że ciała ketonowe nie są bezpośrednio odpowiedzialne za terapeutyczne działanie diety ketogennej, może dodatkowo przemawiać fakt, że ketoza rozwija się w przeciągu kilku godzin, natomiast optymalne działanie przeciwdrgawkowe diety obserwowane jest dopiero po około 2 tygodniach jej stosowania. Zaobserwowano natomiast związek pomiędzy ciałami ketonowymi a zmianami aktywności układów neuroprzebieżnikowych oraz modulacją funkcji kanałów błonowych w komórkach nerwowych [42]. Na tej podstawie można wnioskować, że sama ketoza nie jest odpowiedzialna za efekt terapeutyczny, ale najprawdopodobniej uczestniczy w mechanizmach neuroadaptacyjnych lub, jak sugerują najnowsze badania, może wpływać na zmiany w ekspresji genów (zmiany epigenetyczne).

gicznego. Pomimo, że ciała ketonowe nie oddziałują bezpośrednio na receptor GABA, to najprawdopodobniej prowadzą do zwiększenia stężenia GABA w synapsie poprzez zmianę metabolizmu glutaminianu.

Kwasy tłuszczowe, bez względu na pochodzenie, zostają utlenione do acetylo-CoA, który następnie włączany jest za pośrednictwem szczawiooctanu do cyklu Krebsa. Jednak z powodu deficytu węglowodanów spada stężenie szczawiooctanu w organizmie, co zmniejsza jego dostępność dla reakcji transaminacji, w której glutaminian jest przekształcany do asparagianu. Dzięki temu stosunkowo więcej glutaminianu włączane jest do reakcji syntezy glutaminy i dekarboksylazy glutaminianowej [2, 3, 68]. Przy udziale dekarboksylazy glutaminianowej zachodzi natomiast reakcja dekarboksylacji kwasu glutaminowego. Towarzyszy temu spadek poziomu glutaminianu – głównego neuroprzebieżnika o działaniu pobudzającym w mózgu. Wyniki badań sugerują zwiększoną konwersję glutaminianu do glutaminy w astrocytach w czasie ketozy [68]. Glutamina jest następnie pobierana do neuronów, gdzie zostaje przekształcona

w GABA, zmniejszając tym samym pobudliwość komórek nerwowych [67]. Istnieją również badania, które nie wykazały zmian w stężeniu GABA w próbkach całego mózgu zwierząt przyjmujących KD [26, 67, 68]. Wskazane jest więc prowadzenie dalszych badań, mających na celu określenie lokalnych zmian w poziomach GABA w komórkach mózgow zwierząt przyjmujących KD.

Udowodniono natomiast wpływ kwasu β -hydroksymasłowego oraz kwasu acetylooctowego na ograniczenie pobudliwości komórek nerwowych, a działanie to było zależne od kanałów potasowych wrażliwych na ATP (K_{ATP}) oraz aktywacji receptora GABA [27]. Zaobserwowano ponadto zwiększone prawdopodobieństwo otwarcia kanałów K_{ATP} w hipokampie w badaniach *in vitro* z wykorzystaniem kwasu β -hydroksymasłowego [57].

Kanały potasowe ATP-zależne są obecne w wielu tkankach i narządach (w tym także w komórkach ośrodkowego układu nerwowego). Ze względu na istotną rolę tych kanałów w odpowiedzi komórki na stres metaboliczny nasz zespół zdecydował się na zbadanie wpływu zmian w potencjale oksydacyjno-redukcyjnym na ich aktywność w mitochondriach hipokampa szczurów. Badania te wykazały aktywność K_{ATP} w mitochondriach hipokampa szczurów karmionych dietą ketogenną oraz jej brak w przypadku zwierząt nieprzyjmujących tej diety [37]. Aktywacja omawianych kanałów powoduje bowiem napływ jonów K^+ do mitochondriów, w wyniku czego dochodzi do depolaryzacji błony mitochondrialnej i uwolnienia jonów Ca^{2+} do cytoplazmy. Istnieją badania sugerujące, że wzrost wewnątrzkomórkowego stężenie wapnia po otwarciu kanałów K_{ATP} nie jest dla neuronów szkodliwy. Dochodzi wtedy do hamowania glikogenolizy oraz spadku aktywności procesów zależnych od potencjału kanałów sodowych, potasowych i wapniowych [5, 47].

Ponadto ważnym neurotransmiterem modulującym aktywność komórek nerwowych jest adenozyne, która wpływa na ograniczenie przewodnictwa błon komórkowych dla jonów wapnia, przyczyniając się jednocześnie do intensyfikacji tego procesu dla jonów potasu. Jest to nukleozyd purynowy (zbudowany z cząsteczki adeniny połączonej z rybozą), określany także mianem neuromodulatora – oddziałuje z receptorami A1, A2 i A3, zlokalizowanymi na powierzchni błony komórkowej neuronów. Receptory A1 mają najsilniejszy wpływ na aktywność komórek nerwowych, a efektem ich pobudzenia jest hiperpolaryzacja błony komórkowej neuronów. Wykazano, że dieta ketogenna prowadzi do zwiększenia poziomu adenozyne, powstającej w wyniku rozpadu ATP. Metabo-

lizm ATP jest znacznie podwyższony w stanie ketozy, co wykazały również prowadzone przez nas badania.

W oparciu o powyższe informacje uprawnione wydaje się przyjęcie założenia, zgodnie z którym ciała ketonowe, szczególnie gdy są podwyższone w określonych warunkach fizjologicznych, takich jak dieta ketogenna, mogą modulować aktywność układów neuroprzekaznikowych oraz kanałów jonowych, odgrywając tym samym istotną rolę w regulacji pobudliwości komórek nerwowych.

Wpływ na metabolizm energetyczny

Podczas stosowania diet zawierających zrównoważoną ilość węglowodanów i tłuszczów, mózg wymaga ciągłego dostarczania glukozy. W cytozolu glukoza jest rozkładana w procesie glikolizy w celu wytworzenia pirogronianu oraz niewielkiej ilości ATP i NADH. Powstały w ten sposób pirogronian przedostaje się do mitochondriów, gdzie wchodzi do cyklu Krebsa, generującego większość komórkowego ATP. Zmiany w metabolizmie energetycznym komórek mózgowych w padaczkę mogą prowadzić do ograniczenia produkcji ATP. Paliwo pomocnicze w postaci kwasów tłuszczowych, a następnie produktów ich spalania – ciał ketonowych, umożliwia obejście etapu glikolizy oraz bezpośrednio wytworzenie acetylo-CoA, stanowiącego substrat cyklu Krebsa [13, 17].

Wykazano ponadto, że przewlekła ketoza prowadzi do zwiększenia rezerw energetycznych w mózgu, poprzez stabilizację oraz zmniejszenie pobudliwości synaps [14]. Wydajność energetyczna komórek związana jest bezpośrednio z funkcjami mitochondriów, ponieważ jako komórkowe „elektrownie” są one głównym miejscem wytwarzania komórkowego ATP [19]. Badania potwierdziły poprawę procesu biogenezy mitochondriów w hipokampach szczurów karmionych dietą ketogenną, wskazując tym samym na wzrost zapasów energii [9]. Wiadomo także, że ciała ketonowe stanowią bardziej wydajne źródło energii niż glukoza w przeliczeniu na jednostkę tlenu, dzięki czemu omawiana dieta zapewnia zwiększenie podaży oraz zapasów energii powstającej w przebiegu oddychania tlenowego [39, 40]. Jednocześnie hamuje glikolizę, co prowadzi do obniżenia stresu oksydacyjnego, dzięki zmniejszeniu ilości reaktywnych form tlenu (ROS). Istnieją badania potwierdzające wpływ diety ketogennej na obniżenie stresu oksydacyjnego w komórkach nerwowych [43]. Ciała ketonowe redukowały reaktywne ROS poprzez zwiększenie utleniania NADH (wzrost stosunku formy utlenionej do zredukowanej – $NAD^+/NADH$) w mitochondriach [8, 28, 42]. Przeprowadzone przez nas badania wykazały

także korzystne zmiany w równowadze potencjału oksydacyjno-redukcyjnego (OXY), mierzone wzrostem NAD^+/NADH w mózgu szczurów przyjmujących dietę ketogenną przez kilka miesięcy [38].

Zmiana stosunku NAD^+ do NADH

Utrzymanie homeostazy potencjału oksydacyjno-redukcyjnego w komórkach w warunkach fizjologicznych polega (w dużym uproszczeniu) na utrzymaniu równowagi pomiędzy NAD^+ i NADH oraz związkami związanymi z cyklem Krebsa, takimi jak: pirogronian, mleczan, jabłczan i szczawiooctan. W astrocytach zachodzi jeden z kluczowych procesów metabolicznych, polegający na rozkładzie materiału zapasowego komórki – glikogenu, utlenianiu produktu tego rozkładu do mleczanu, a następnie uwalnianiu go z astrocytów. Stosunek NAD^+ do NADH ulega zmniejszeniu, gdy neurony pobierają mleczan i przekształcają go do pirogronianu. Wykazano, że podczas stosowania KD stężenie mleczanu spada, a efekt ten może korelować ze skutecznością KD [6, 45].

Obecnie nie ma wątpliwości co do tego, że NAD^+ ogranicza wystąpienie napadów, a eksperymentalnie zwiększone poziomy NAD^+ poprawiają funkcję mitochondriów, zmniejszają stres oksydacyjny w komórkach oraz chronią je przed śmiercią. W prowadzonych przez nas badaniach, wzrostowi NAD^+/NADH w mózgu szczurów towarzyszyły zmiany morfologii mitochondriów w komórkach nerwowych wywołane podaniem KD. Obserwacje ultrastrukturalne (z wykorzystaniem mikroskopu elektronowego) mitochondriów w próbkach hipokampa tych zwierząt ujawniły gęstsze upakowanie tych organelli [37]. Może to wskazywać na reorganizację sieci mitochondrialnej w odpowiedzi na KD. Taki schemat żywieniowy może mieć korzystny wpływ na funkcje, dynamikę oraz biogenezę mitochondriów. To z kolei sugeruje możliwość poprawy metabolizmu komórkowego oraz zmniejszenie stresu oksydacyjnego.

Megakanaly mitochondrialne

Uważa się, że dieta ketogenna może modulować funkcje mitochondriów, metabolizm oraz energetykę komórek nerwowych. Dieta ketogenna oraz ciała ketonowe zwiększają poziom komórkowego ATP oraz zmniejszają ilość ROS – dwóch wskaźników metabolizmu energetycznego komórek opartego na pracy mitochondriów. Nie jest natomiast jasne, w jaki sposób takie działania mogą przekładać się na efekty przeciwpadaczkowe. Jednym z potencjalnych wyjaśnień

dla przeciwpadaczkowej skuteczności KD w kontekście jej wpływu na metabolizm energetyczny komórki, jest związek między zahamowaniem aktywności megakanalów mitochondrialnych (MPTP) a kontrolą napadów. MPTP regulują komórkowe poziomy ATP i ROS, a przedłużone otwarcie tych kanałów prowadzi do uszkodzenia mitochondriów i apoptozy komórki. Aktywacja MPTP następuje głównie pod wpływem zwiększonych stężeń jonów wapnia. W wewnętrznej błonie mitochondrialnej powstaje wtedy nieselektywny kanał, przez który mogą przechodzić w obie strony substancje o ciężarze nieprzekraczającym 1,5 kDa (w tym m.in. jony Ca^{2+} , H^+ oraz cytochrom c). Uruchomienie tego procesu prowadzi prawdopodobnie do rozprężenia fosforylacji oksydacyjnej i utraty komórkowych zasobów ATP (produkcja ATP maleje, a uszkodzone mitochondria stają się konsumentem ATP powstającego w innych, nieuszkodzonych mitochondriach i/lub w procesie glikolizy) [4, 10, 23, 51, 62].

Istnieją badania opisujące wpływ ciał ketonowych na MPTP w modelu padaczki z wykorzystaniem myszy transgenicznych z brakiem kanału potasowego (mutanty Kcna1-null). Wykazały one znaczne podniesienie progu otwarcia kanałów MPTP indukowanego wapniem w mitochondriach izolowanych z hipokampa myszy. Dodatkowo farmakologiczna inhibicja oraz aktywacja MPTP *in vivo* odpowiednio odwróciły i odwracały efekty przeciwpadaczkowe KD. Prawdopodobnie ciała ketonowe nie oddziałują bezpośrednio na MPTP, a przedstawione efekty wydają się być raczej modulowane przez niepoznane dotąd zmiany w bioenergetyce mitochondrialnej [23, 63].

Średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe i średniołańcuchowe trójglicerydy

Dodatek średniołańcuchowych trójglicerydów do diety ketogennej prowadzi do uwolnienia średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych, głównie kwasów: oktanowego i dekanowego, które w wątrobie szybko przekształcane są do ciał ketonowych [53]. Ponadto sugeruje się, że dieta ketogenna promuje biogenezę mitochondriów, aktywuje ochronne czynniki transkrypcyjne, takie jak receptor aktywowany proliferatorem peroksydomów- γ 2 (PPAR γ 2), a także ma działanie przeciwutleniające i przeciwzapalne, co łącznie może ograniczać generowanie napadów. Wykazano poprawę biogenezy mitochondriów w odpowiedzi na kwas dekanowy poprzez mechanizm regulowany przez PPAR γ w systemach hodowli ludzkich neuronów. Ponadto kwas dekanowy prowadził do zwiększenia transkrypcji genów związanych z metabolizmem kwasów tłuszczowych,

przy jednoczesnym zmniejszeniu ekspresji genów związanych z metabolizmem glukozy. Zaobserwowano, że kwas dekanowy promował astrocytarną (ale nie neuronalną) glikolizę oraz tworzenie mleczanów, podczas gdy kwas oktanowy nie wpływał na glikolizę, ale zwiększał astroglejową ketogenezę. Podejrzewa się, że średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe modułują metabolizm astrocytów, dostarczając mleczan i ketony jako „paliwo” dla sąsiadujących neuronów poprzez system wahadłowy glejowo-neuronalny [17, 36, 53].

Średniołańcuchowe trójglicerydy w przewodzie pokarmowym są hydrolizowane, powstałe w ten sposób wolne średniołańcuchowe kwasy tłuszczowe są wchłaniane bezpośrednio z komórek nabłonka jelitowego, a następnie transportowane żyłą wrotną do wątroby (do mitochondriów hepatocytów).

Nienasycone kwasy tłuszczowe

Jeden z postulowanych mechanizmów działania przeciwdrgawkowego diety ketogennej związany jest z obecnością w diecie nienasyconych kwasów tłuszczowych, w tym przede wszystkim wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. U zwierząt karmionych dietą ketogenną obserwowano wzrost poziomu nienasyconych kwasów tłuszczowych, zarówno w surowicy, jak również i w mózgu [56]. Wykazano także związek pomiędzy ograniczeniem aktywności drgawkowej a wzrostem ich stężenia we krwi pacjentów leczonych dietą ketogenną [33, 59, 60]. Obecnie uważa się, że ten rodzaj diety oddziałuje na receptory aktywowane przez proliferatory peroksysomów (PPAR), stanowiące grupę jądrowych czynników transkrypcyjnych, które odgrywają istotną rolę w regulacji mechanizmów molekularnych związanych z gospodarką energetyczną komórki [3, 8, 48]. Co ciekawe, wykazano, że w przypadku jednej z izoform PPAR (PPAR γ), kieszeń wiążąca ligand jest znacznie większa w porównaniu do kieszeni innych receptorów jądrowych, co zapewnia specyficzne miejsce wiązania nie tylko dla nienasyconych, ale także dla nasyconych kwasów tłuszczowych [3, 50]. Dzięki temu kwasy tłuszczowe mogą być wiązane i aktywowane w odpowiednich fizjologicznie stężeniach. Wykazano, że potencjał aktywacyjny tych kwasów jest silniejszy wraz ze wzrostem długości łańcucha węglowego oraz rosnącą liczbą wiązań podwójnych [12]. Prawdopodobne jest więc, że kwasy tłuszczowe (zwłaszcza wielonienasycone) dostarczane przez dietę ketogenną mogą prowadzić do aktywacji PPAR γ , prowadząc do zwiększenia rezerw energetycznych, stabilizując tym samym aktywność synaptyczną oraz ograniczając

pobudliwość komórek nerwowych. Wykazano ponadto, że nienasycone kwasy tłuszczowe mogą modulować funkcje kanałów błonowych. Prowadzą do zahamowania funkcji zależnych od napięcia kanałów sodowych i wapniowych, aktywują hiperpolaryzujące kanały K 2P oraz zwiększają aktywność pompy sodowo-potasowej (Na $^{+}$ /K $^{+}$ ATPazy), co skutkuje hiperpolaryzacją błony komórkowej neuronów, prowadząc tym samym do podniesienia progu drgawkowego i ograniczenia napadów [15, 44]. Obecnie uważa się także, że wielonienasycone kwasy tłuszczowe mogą redukować napady, indukując ekspresję błonowych białek rozprzęgających (UCP).

Błonowe białka rozprzęgające

Błonowe białka rozprzęgające są integralnymi białkami błonowymi, należącymi do dużej rodziny mitochondrialnych nośników anionów. Zlokalizowane są w wewnętrznej błonie mitochondriów, gdzie biorą udział w regulacji przepływu protonów w łańcuchu oddechowym, umożliwiając powrót elektronów do matrix mitochondrialnej przy zmniejszonej produkcji ATP [3, 8]. Aktywacja tych białek powoduje zwiększenie efektywności funkcjonowania łańcucha transportu elektronów, prowadząc tym samym do ograniczenia poziomu reaktywnych form tlenu, a w konsekwencji zmniejszenia stresu oksydacyjnego. Wykazano, że indukowana oligomycyną (inhibitor syntazy ATP) produkcja ROS jest obniżona w przypadku myszy karmionych dietą ketogenną [55]. Stres oksydacyjny może odgrywać (pośrednio) rolę w patogenezie padaczki, ponieważ drgawki zaburzają funkcję mitochondriów oraz zwiększają produkcję ROS. Udowodniono, że dieta ketogenna zwiększa ekspresję i aktywność UCP, chroniąc neurony przed uszkodzeniami wywołanymi drgawkami [54, 55].

Pomimo, że teoretycznie zwiększenie ilości UCP powinno skutkować zmniejszeniem ilości powstającej w komórkach energii, to w praktyce zwiększona biogeneza mitochondrialna mogłaby powodować jej wzrost w tkance nerwowej [1, 9, 21, 52].

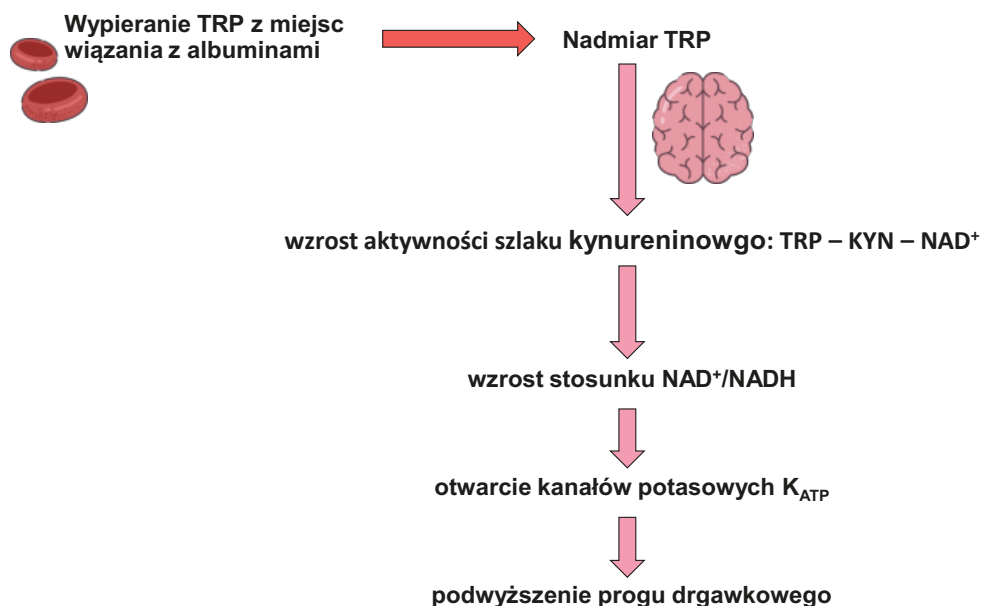
Szlak kynureninowy

Szlak kynureninowy jest głównym niebiałkowym szlakiem katabolizmu tryptofanu (TRP) w wątrobie, prowadzącym do powstania neuroaktywnych metabolitów w ośrodkowym układzie nerwowym oraz stanowiącym punkt wyjścia do syntezy NADH w organizmie człowieka. Istnieje coraz więcej dowodów potwierdzających zaangażowanie szlaku kynureninowego

w przeciwdrgawkowe działanie diety ketogennej. Uważa się, że zaledwie około 10% egzogenego TRP jest wykorzystywana w procesach anabolicznych, natomiast pozostała część – metabolizowana na drodze tego szlaku. TRP i jego metabolit, kynurenina, przekraczają barierę krew-mózg, gdzie są degradowane do kwasu kynureninowego i kwasu chinolinowego, aby oddziaływać (w sposób farmakologicznie przeciwny – pierwszy neuroprotekcynie, drugi neurotoksycznie) na receptory NMDA. Zdaje się, że długotrwałe stosowanie diety ketogennej może powodować zwiększenie stężenia kwasu kynureninowego w mózgu [29, 30, 31, 38].

Nasze badania są kontynuacją wcześniejszych poszukiwań mechanizmów leżących u podstaw przeciwdrgawkowych właściwości komponentów KD, tzn. kwasów tłuszczowych (C8 i C10) oraz kwasu walproinowego, który strukturalnie także jest rozgałęzionym kwasem tłuszczowym [29, 30, 31, 38]. Kwas walproinowy jest od wielu lat stosowany w leczeniu zaburzeń ośrodkowego układu nerwowego, w tym przede wszystkim padaczki. Pomimo długiej historii wykorzystania tego leku w praktyce klinicznej, mechanizm jego działania nie został jak

tłuszczowych, związane z długotrwałym stosowaniem diety ketogennej, może powodować wypieranie tryptofanu z miejsc wiązania na albuminach krwi, prowadząc do wzrostu jego frakcji wolnej. Zwiększenie wolnej frakcji tryptofanu we krwi przyspiesza jego metabolizm oraz transport do mózgu, co z kolei prowadzi do wzrostu ośrodkowego stężenia tryptofanu i kynureniny. Wzrost stężenia tych produktów może wpłynąć na ośrodkową aktywność szlaku kynureninowego, a wtórnie na zmiany aktywności i metabolizmu komórek nerwowych w wyniku przesunięć w równowadze potencjału oksydacyjno-redukcyjnego. Głównym regulatorem reakcji utleniania i redukcji jest NAD^+ , którego jednym z najważniejszych źródeł powstawania *de novo* jest tryptofan. W związku z powyższym założono, że dieta ketogenna powoduje wzrost aktywności szlaku: tryptofan – kynurenina – NAD^+ , wywołując zmiany potencjału oksydacyjno-redukcyjnego (wzrost stężenia NAD^+ , tym samym wzrost stosunku $NAD^+/NADH$) w neuronach, prowadząc do otwarcia kanałów potasowych i podwyższenia progu drgawkowego (Ryc. 2). Istnieją dane, które w sposób pośredni mogą wspierać poczynione założenia. Zaobserwowano bowiem, że wzrost TRP



Ryc. 2. Postulowane przeciwpadaczkowe działanie diety ketogennej związane z modyfikacją aktywności szlaku kynureninowego.

dotąd do końca poznany. Wcześniejsze badania wykazały, że zarówno kwas walproinowy, jak również kwasy tłuszczowe (jako podobne do siebie związki) powodują wzrost stężenia tryptofanu oraz jego metabolitów (kynureniny i kwasu kynureninowego) w mózgu. Na tej podstawie wysnuliśmy przypuszczenie, zgodnie z którym zwiększenie podaży kwasów

może wywierać efekt przeciwdrgawkowy oraz że podnosi stężenie NAD^+ , a tym samym zmienia stosunek $NAD^+/NADH$ [11].

Nasze badania przemawiają za słusznością tej hipotezy. Wykazaliśmy wzrost aktywności szlaku kynureninowego (mierzony jako wzrost obwodowego i ośrodkowego stężenia jego metabolitów:

kynureny i kwasu kynureninowego) oraz wzrost stosunku NAD⁺/NADH.

Podsumowanie

Liczne dane literaturowe oraz wyniki prowadzonych przez nas badań sugerują (przynajmniej pośrednio) zmianę potencjału oksydacyjno-redukcyjnego komórki jako konsekwencję zmian metabolicznych prowadzących do przeciwpadaczkowego działania diety ketogennej. Daje to szansę na zaproponowanie w przyszłości potencjalnych miejsc uchwytu dla substancji farmakologicznych, które mogłyby zastąpić KD. Padaczka jest jednak chorobą o złożonej etiolo-

gii i patogenezie, dlatego konieczne jest dalsze badanie zależności pomiędzy złożonymi mechanizmami neurobiologicznymi i genetycznymi a wystąpieniem objawów choroby. Rozwijanie wiedzy na temat patomechanizmów choroby oraz wnikliwa ocena wpływu napadów na funkcjonowanie mózgu pozwoli na opracowanie nowych skutecznych działań terapeutycznych. Niezbędna jest więc współpraca klinicystów oraz badaczy nauk podstawowych w szukaniu powiązań pomiędzy badaniami molekularnymi a specyficznymi aspektami padaczki.

Bibliografia:

1. Alan L., Smolkova K., Kronusova E., Santorova J., Jezek P. (2009) Absolute levels of transcripts for mitochondrial uncoupling proteins UCP2, UCP3, UCP4, and UCP5 show different patterns in rat and mice tissues. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, 41: 71-78.
2. Arora N., Metha T.R. (2020) Role of the ketogenic diet in acute neurological diseases. *Clinical Neurology and Neurosurgery*, 192.
3. Barzegar M., Afghan M., Tarmahi V., Behtari M., Rihimi Khamaneh S., Raesi S. (2019) Ketogenic diet: overview, types, and possible anti-seizure mechanisms. *Nutritional Neuroscience*, 24: 307-316.
4. Beręsewicz A. (2011) Endogenne mechanizmy kardioprotekcyjne – co to takiego i jak to działa? *Kardiologia Polska*, 69: 59-66.
5. Bickler P.E., Buck L.T. (1998) Adaptations of vertebrate neurons to hypoxia and anoxia: maintaining critical Ca²⁺ concentrations. *Journal of Experimental Biology*, 201: 1141-1152.
6. Boison D. (2017) New insights into the mechanisms of the ketogenic diet. *Current Opinion in Neurology*, 30: 187-192.
7. Bough K.J., Chen R.S., Eagles D.A. (1999) Path analysis shows that increasing ketogenic ratio, but not beta-hydroxybutyrate, elevates seizure threshold in the Rat. *Developmental Neuroscience*, 21: 400.
8. Bough K.J., Rho J.M. (2007) Anticonvulsant mechanisms of the ketogenic diet. *Epilepsia*, 48: 43–58.
9. Bough K.J., Wetherington J., Hassel B., Pare J.F., Gawryluk J.W., Greene J.G. i wsp. (2006) Mitochondrial biogenesis in the anticonvulsant mechanism of the ketogenic diet. *Annals of Neurology*, 60: 223–235.
10. Brenner C., Moulin M. (2012) Physiological roles of the permeability transition pore. *Circulation Research*, 111: 1237–1247.
11. Broeks M.H., van Karnebeek C.D.M., Wanders R.J.A., Jans J.J.M., Verhoeven-Duif N.M. (2021) Inborn disorders of the malate aspartate shuttle. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 44: 792-808.
12. Dahlin M., Hjelte L., Nilsson S., Åmark P. (2007) Plasma phospholipid fatty acids are influenced by a ketogenic diet enriched with n-3 fatty acids in children with epilepsy. *Epilepsy Research*, 73: 199–207.
13. Diener B.G. (2019) Metabolism: integration of energetics with function. *Physiological Reviews*, 99: 949–1045.
14. D’Andrea Meira I., Romao T.T., Pirez do Prado H.J., Kruger L.T., Paiva Pires M.E., Oliviera da Conceicao P. (2019) Ketogenic diet and Epilepsy: What We Know So Far. *Front in neuroscience*, 13: 5.
15. Elinder F., Liin S. (2017) Actions and Mechanisms of Polyunsaturated Fatty Acids on Voltage-Gated Ion Channels. *Frontiers in Physiology*, 8: 43.

16. Evans M., Cogan K.E., Egan B. (2017) Metabolism of Ketone Bodies During Exercise and Training: Physiological Basis for Exogenous Supplementation. *The Journal of Physiology*, 595: 2857–2871.
 17. Han F.Y., Conboy-Schmidt L., Rybachuk G. i wsp. (2021) Dietary medium-chain triglycerides for management of epilepsy: New data from the human, dog, and rodent studies. *Epilepsia*, 62: 1790-1805.
 18. Harvey K.L., Holcomb L.E., Kolwicz S.C. (2019) Ketogenic Diets and Exercise Performance. *Nutrients*, 11: 2296.
 19. Heine K.B., Hood W.R. (2020) Mitochondrial behaviour, morphology, and animal performance. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 95: 730-737.
 20. Huttenlocher P.R., Wilbourn A.J., Signore J.M. (1971) Medium-chain triglycerides as a therapy for intractable childhood epilepsy. *Neurology*, 21: 1097-1103.
 21. Kashiwaya Y., Pawlosky R., Markis W. i wsp. (2010) A ketone ester diet increases brain malonyl-CoA and Uncoupling proteins 4 and 5 while decreasing food intake in the normal Wistar Rat. *Journal of Biological Chemistry*, 285: 25950–25956.
 22. Kennedy A.R., Pissios P., Otu H. i wsp. (2007) A high-fat, ketogenic diet induces a unique metabolic state in mice. *American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism*, 292: 1724-1739.
 23. Kim J.A., Yoon J.R., Lee E.J. i wsp. (2016) Efficacy of the classic ketogenic and the modified Atkins diets in refractory childhood epilepsy. *Epilepsia*, 57: 51–8.
 24. Kolwicz S.C., Olson D.P., Marney L.C., Garcia-Menendez L., Synovec R.E., Tian R. (2012) Cardiac-Specific Deletion of Acetyl Coa Carboxylase 2 Prevents Metabolic Remodeling during Pressure-Overload Hypertrophy. *Circulation Research*, 111: 728–738.
 25. Lennox W.G., Cobb S. (1928) Epilepsy: from the standpoint of physiology and treatment. *Medicine*, 7: 105-290.
 26. Levy R.G., Cooper P.N., Giri P. (2012) Ketogenic diet and other dietary treatments for epilepsy. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 3: CD001903.
 27. Ma W, Berg J., Yellen G. (2007) Ketogenic diet metabolites reduce firing in central neurons by opening K(ATP) channels. *The Journal of Neuroscience*, 27: 3618-3625.
 28. Maalouf M., Rho J.M. (2008) Oxidative impairment of hippocampal long-term potentiation involves activation of protein phosphatase 2A and is prevented by ketone bodies. *Journal of Neuroscience Research*, 86: 3322-3330.
 29. Maciejak P., Szyndler J., Kołosowska K. i wsp. (2014) Valproate Distrubs the Balance Between Branched and Aromatic Amino Acids in Rats. *Neurotoxicity Research*, 25: 358-368.
 30. Maciejak P., Szyndler J., Turzyńska D. i wsp. (2016) Is the interaction between fatty acids and tryptophan responsible for the efficacy of a ketogenic diet in epilepsy? The new hypothesis of action. *Neuroscience*, 28: 130-148.
 31. Maciejak P, Szyndler J, Turzyńska D i wsp. (2013) The kynurenine pathway: a missing piece in the puzzle of valproate action? *Neuroscience*, 234: 135–145.
 32. McNally M.A., Hartman A.L. (2012) Ketone Bodies in Epilepsy. *Journal of Neurochemistry*, 121: 28-35.
 33. Nathan J., Bailur S., Datay K., Sharma S., Khedekar Kale D. (2019) A Switch to Polyunsaturated Fatty Acid Based Ketogenic Diet Improves Seizure Control in Patients with Drug-resistant Epilepsy on the Mixed Fat Ketogenic Diet: A Retrospective Open-Label Trial. *Cureus*, 11: 6399.
 34. Neal E.G., Chaffe H., Schwartz R.H. i wsp. (2009) A randomized trial of classical and medium-chain triglyceride ketogenic diets in the treatment of childhood epilepsy. *Epilepsia*, 50: 1109–17.
 35. Neal E.G., Chaffe H., Schwartz R.H. i wsp. (2008) The ketogenic diet for the treatment of childhood epilepsy: a randomised controlled trial. *Lancet Neurology* 7: 500–506.
 36. Nylen K., Likhodii S.S., Hum K.M., Burnham W.M. (2006) A ketogenic diet and diallyl sulfide do not elevate afterdischarge thresholds in adult kindled rats. *Epilepsy Research*, 71: 23–31.
-

37. Osuch B. (2022) Ocena potencjału oksydacyjno-redukcyjnego komórki jako istotnego czynnika zaangażowanego w przeciwpadaczkowe działanie diety ketogennej. Rozprawa doktorska, Instytut Psychiatrii i Neurologii, Warszawa.
 38. Osuch B., Kołosowska K., Chmielewska N. i wsp. (2022) Increased hippocampal afterdischarge threshold in ketogenic diet is accompanied by enhanced kynurenine pathway activity. *Neurochemical Research*, 47: 2109-2122.
 39. Parasad A.N., Stafstrom C.E. (1998) Dietary therapy of epilepsy in the nineties; renewed experience with the ketogenic diet. *Nutrition Research*, 18: 403-416.
 40. Puchalska P., Crawford P.A. (2017) Multi-dimensional roles of ketone bodies in fuel metabolism, signaling, and therapeutics. *Cell Metabolism*, 25: 262-284.
 41. Reichard G.A., Owen O.E., Haff A.C., Paul P. (1974) Bortz W.M. Ketone-Body Production and Oxidation in Fasting Obese Humans. *Journal of Clinical Investigation*, 53: 508–515.
 42. Rho J.M., Anderson G.D., Donevan S.D., White H.S. (2002) Acetoacetate, acetone, and dibenzyl amine (a contaminant in l-(+)-beta-hydroxybutyrate) exhibit direct anticonvulsant actions in vivo. *Epilepsia*, 43: 58–361.
 43. Rho J.M. (2017) How does the ketogenic diet induce anti-seizure effects? *Neuroscience Letters*, 637: 4–10.
 44. Rowley S., Patel M. (2013) Mitochondrial involvement and oxidative stress in temporal lobe epilepsy. *Free Radical Biology & Medicine*, 62: 121-131.
 45. Sada N., Inoue T. (2018) Electrical Control in Neurons by the Ketogenic Diet. *Front Cell Neuroscience*, 12: 208.
 46. Sada N., Lee S., Katsu T., Otsuki T., Inoue T. (2015) Targeting LDH enzymes with a stiripentol analog to treat epilepsy. *Science*, 347: 1362–1367.
 47. Samala R., Willis S., Borges K. (2008) Anticonvulsant profile of a balanced ketogenic diet in acute mouse seizure models. *Epilepsy Research*, 81: 119–127.
 48. Shin D.S., Wilkie M.P., Pamerter M.E., Buck L.T. (2005) Calcium and protein phosphatase 1/2A attenuate N-methyl-D-aspartate receptor activity in the anoxic turtle cortex. *Comparative Biochemistry & Physiology. Molecular and Integrative Physiology*, 142: 50-57.
 49. Sikder K., Shukla S.K., Patel N., Singh H., Rafiq K. (2018) High Fat Diet Upregulates Fatty Acid Oxidation and Ketogenesis via Intervention of PPAR γ . *Cellular Physiology and Biochemistry*, 48: 1317-1331.
 50. Simeone T.A., Matthews S.A., Samson K.K., Simeone K.A. (2017) Regulation of brain PPAR γ 2 contributes to ketogenic diet anti-seizure efficacy. *Experimental Neurology*, 287: 54–64.
 51. Simone T.A., Simeone K.A., Rho J.M. (2017) Ketone Bodies as Anti-Seizure Agents. *Neurochem Research* 42: 2011-2018.
 52. Smith B.N. (2017) Breath Easy: Modifying Mitochondrial Respiration to Treat Seizures. *Epilepsy Currents*, 16: 34-35.
 53. Srivastava S., Baxa U., Niu G., Chen X., Veech R.L. (2013) A ketogenic diet increases brown adipose tissue mitochondrial proteins and UCP1 levels in mice. *IUBMB Life*, 65: 58-66.
 54. St-Pierre V., Vandenberghe C., Lowry C.M. i wsp. (2019) Plasma ketone and medium-chain fatty acid response in humans consuming different medium-chain triglycerides during a metabolic study day. *Frontiers in Nutrition*, 6: 46.
 55. Sullivan P.G., Dubé C., Dorenbos K., Steward O., Baram T.Z. (2003) Mitochondrial uncoupling protein-2 protects the immature brain from excitotoxic neuronal death. *Annals of Neurology*, 53: 711.
 56. Sullivan P.G., Rippey N.A., Dorenbos K., Cocepcion R.C., Agarwal A.K., Rho J.M. (2004) The ketogenic diet increases mitochondrial uncoupling protein levels and activity. *Annals of Neurology*, 55: 576.
-

57. Taha A.Y., Ryan M.A., Cunnane S.C. (2005) Despite transient ketosis, the classic high-fat ketogenic diet induces marked changes in fatty acid metabolism in rats. *Metabolism*, 54: 1127.
58. Tanner G.R., Lutas A., Martinez-Francois J.R., Yellen G. (2011) Single K ATP channel opening in response to action potential firing in mouse dentate granule neurons, *The Journal of Neuroscience*, 31: 689-8696.
59. Ułamek-Kozioł M., Czuczwar S.J., Januszewski S., Pluta R. (2019) Ketogenic Diet and Epilepsy. *Nutrients*, 11: 2510.
60. Vasquez A., Farias-Moeller R., Tatum W. (2019) Pediatric refractory and super-refractory status epilepticus. *Seizure*, 68: 62–71.
61. Volek J.S., Freidenreich D.J., Saenz C., Kunces L.J., Creighton B.C., Bartley J.M. i wsp. (2016) Metabolic Characteristics of Keto-Adapted Ultra-Endurance Runners. *Metabolism*, 65: 100–110.
62. Warren E.C., Walker M.C., Williams R.S.B. (2018) All You Need Is Fats-for Seizure Control: Using Amoeba to Advance Epilepsy Research. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, 12: 199.
63. Wenzel H.J., Vacher H., Clark E. i wsp. (2007) Structural consequences of Kcna1 gene deletion and transfer in the mouse hippocampus. *Epilepsia*, 48: 2023–2046.
64. Wilder R.M. (1921) The effects of ketonemia on the course of epilepsy. *The Clinic Bulletin*, 2: 307-308.
65. Winesett S.P., Bessone S.K., Kossoff E.H. (2015) The ketogenic diet in pharmaco-resistant childhood epilepsy. *Expert Review of Neurotherapeutics*, 15: 621-628.
66. Yan J., Young M.E., Cui L., Lopaschuk G.D., Liao R., Tian R. (2009) Increased Glucose Uptake and Oxidation in Mouse Hearts Prevent High Fatty Acid Oxidation but Cause Cardiac Dysfunction in Diet-Induced Obesity. *Circulation*, 119: 2818–2828.
67. Yan H., Xia M., Chang X. i wsp. (2011) Circulating fibroblast growth factor 21 levels are closely associated with hepatic fat content: a cross-sectional study. *PLOS One* 6: 24895.
68. Youngson N.A., Morris M.J., Ballard W.O. (2017) The mechanisms mediating the antiepileptic effects of the ketogenic diet, and potential opportunities for improvement with metabolism-altering drugs. *Seizure*, 52: 15-19.
69. Yudkoff M., Daikhin Y., Horyn O., Nissim I. (2008) Ketosis and brain handling of glutamate, glutamine, and GABA. *Epilepsia*, 49: 73–75.
70. Yudkoff M., Daikhin Y., Nissim I., Horyn O., Lazarow A., Luhovyy B., Wehrli S., Nissim I. (2005) Response of brain amino acid metabolism to ketosis, *Neurochemistry International*, 47: 119-128.

Piotr Maciejak, Zakład Neurochemii, Instytut Psychiatrii i Neurologii, Warszawa. E-mail: pmaciejak@ipin.edu.pl, ORCID: 0000-0002-1589-361X

Bartosz Osuch, Zakład Fizjologii Zwierząt, Instytut Fizjologii i Żywności Zwierząt im. Jana Kielanowskiego Polskiej Akademii Nauk, Jabłonna. ORCID: 0000-0003-2873-5597