

Ketogen diæts virkningsmekanismer er talrige

Thomas Møhl¹ & Maria J. Miranda²

STATUSARTIKEL

1) SUND, Københavns Universitet

2) Børneafdelingen, Herlev Hospital

Ugeskr Læger
2018;180:V05170345

I Danmark lider over 50.000 mennesker af epilepsi [1]. Fremstilling af stadig nye antiepileptiske lægemidler ændrer ikke ved, at ca. en tredjedel af patienterne har medicinsk intractabel epilepsi og ikke responderer på to eller flere korrekt anvendte medikamenter [2].

Ketogen diæt (KD) er et af flere behandlingsalternativer ved medicinsk intractabel epilepsi. Faste har i årtusinder, og høj-fedt/ lav-kulhydrat-diæt har siden 1920'erne været anvendt til reducere af epileptiske anfald. Når glukose ikke er tilgængeligt i kroppen, metaboliseres fedtsyrer, og der dannes ketonstoffer. Disse passerer blod-hjerne-barrieren og indgår som alternativ energikilde i Krebs' cyklus ved fraværet af glukose. Mindst 50% af de patienter, der prøver KD, oplever mindst 50% anfaldsreduktion, og 10-15% bliver anfaldsfrie af KD [3]. De stadig ukendte virkningsmekanismer for KD har været omdrejningspunkt for forskning i over 20 år, og der er fremsat mange hypoteser. Formålet med denne artikel er at gennemgå KD's virkningsmekanismer fordelt på fem hypoteser: ændring i neurotransmittere, glukoserestriktion, øget mitokondriel funktion, effekt af fedtsyrer og inhibering af *mammalian target of rapamycin* (mTOR)-*pathway* (Tabel 1). Disse hypoteser kan skabe perspektiver for forståelse af sygdomsmekanismer og fremtidsmuligheder i behandlingen af svære epilepsier og andre neurologiske sygdomme.

NEUROTRANSMITTERREGULERING

Neurotransmitteren gammaaminobutyrat (GABA) er den primære inhibitoriske neurotransmitter i hjernen. I hippocampus på rotter er der målt øgede ekstracellulære niveauer af GABA i forbindelse med KD [4]. I neuroner konkurrerer ketoner med glukose som kilde til Krebs' cyklus ved inhibering af glykolytisk flow op-

strøms for pyruvatkinase [5]; denne *shunting* af ketoner til oxidativ metabolisme øger kapaciteten af intermediater til dannelse af GABA [5]. KD menes at have antiepileptisk effekt via anaplerosis, genopfyldning af intermediater i Krebs' cyklus, da øget neurotransmission ved epilepsi fører til udtømming heraf [6].

Ketoner hæmmer den excitatoriske glutaminerige neurotransmission [7]. Glutamatfrigørelse er afhængig af den vesikulære glutamattransporter 2 (VGLUT2), som aktiveres allosterisk af Cl⁻. Ketoner hæmmer kompetitivt det aktiverende site for Cl⁻ på VGLUT2.

En anden indvirkning på neurotransmittere kan udøves gennem adenosin. Adenosin nedsætter hjernens excitabilitet ved binding til adenosin A₁-receptoren (A₁R). Resultater hos mus viser, at KD øger adenosinniveauet i hjernen [8] og nedsætter anfald gennem A₁R [9]. Stigningen i adenosinniveauet menes at skyldes et adenosintrifosfat (ATP)-*efflux* pga. nedsat glukoseniveau, som defosforyles til adenosin [10]. Hos mus med nedsat ekspresion af A₁R eller øget ekspresion af adenosinkinase (omsætter adenosin til adenosinmonofosfat) kunne tre ugers diæt fjerne de epileptiske anfald. Denne effekt forsvandt ved deletion af A₁R, hvilket indikerer, at A₁R er vigtig for effekten af KD. Aktivering af A₁R resulterer i et K⁺-*efflux* ved åbning af en ATP-sensitiv kalium (K_{ATP})-kanal [10], som skaber en hyperpolarisering af neuronet.

Epileptogenese kan skyldes epigenetiske ændringer som øget DNA-metylering [19]. KD's hæmning af epileptogenese associeres med nedsat DNA-metylering [8], hvilket kan induceres af øget adenosinniveau [20]. Epigenetiske ændringer kan være årsagen til, at KD forsat har virkning efter ophørt diæt.

Med ovenstående mekanismer virker KD sandsynligvis fremmende på de inhibitoriske signalveje og hæmmer excitatoriske signalveje i hjernen, hvilket nedsætter hjernens excitabilitet.

GLUKOSERESTRIKTION

Ved infusion eller indtagelse af glukose stopper den anfaldspræventive effekt af KD øjeblikkeligt [21], hvilket indikerer, at fraværet af glukose kan være årsagen til KD's effekt.

Genmanipulerede mus, der mangler *Bsl2-associated death promoter* (BAD)-proteinet, har nedsat glukoseoxidation og øget ketonmetabolisme som ved KD [22].

HOVEDBUDSKABER

- ▶ Ketogen diæt kan reducere anfald hos egnede patienter, der har medicinsk intractabel epilepsi, men virkningsmekanismerne er endnu ikke afklaret.
- ▶ Hypoteser omhandler, men er ikke begrænset til: neurotransmitterregulering, glukoserestriktion, øget mitokondriel funktion, fedtsyrer og hæmning af *mammalian target of rapamycin pathway* som virkningsmekanismer.
- ▶ Denne indsigt kan føre til nye behandlingsmål for antiepileptika og udvide brugen af ketogen diæt til behandling af andre neurologiske lidelser.

TABEL 1

Oversigt over ketogen diæts virkningsmekanismer.

Mediator	Basis	Mekanisme	Resultat	Reference
GABA	Keton- <i>shunting</i> til oxidativt metabolisme fører til øget dannelse af GABA	Øget inhibitorisk neurotransmission	Antikonvulsivt	[4, 5]
Anaplerose	Genopfyldning af anfalds reducerede Krebs' cyklus-mediatorer	-	Antikonvulsivt	[6]
Glutamat	Ketoner hæmmer kompetitivt VGLUT2	Excitatorisk glutamat-frigivelse hæmmes	Antikonvulsivt	[7]
Adenosin	Øget ATP omdannes til adenosin	Aktivering af A ₁ R medfører åbning af K _{ATP} -kanal	Antikonvulsivt	[8-10]
Nedsat glykolyse	Øget BDNF-niveau	Åbning af K _{ATP} -kanal	Antikonvulsivt	[11]
Øget mitokondriel funktion	Nrf2 inducerer glutationsyntesen mPT hæmmes	Nedsætter ROS-niveau og øger ATP-dannelsen Nedsætter ROS-niveau	Antiepileptogenetisk	[12, 13]
PUFA	Ketogen diæt medfører øget PUFA	Åbner spændingsstyrede K-kanaler	Antikonvulsivt	[14]
Mellemkædede fedtsyrer	Stigning i plasmakoncentration af octansyre og decansyre	Øget mitokondriel funktion Hæmmer glutaminerg AMPA-receptor	Antiepileptogenetisk Antikonvulsivt	[15-17]
mTOR-hæmning	Ukendt	Hæmmer mTOR-pathway	Antiepileptogenetisk	[18]

A₁R = adenosin A₁-receptor; AMPA = α -amino-3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-propionsyre; BDNF = *brain-derived neurotrophic factor*; GABA = γ -aminobutyrat; K_{ATP} = ATP-sensitiv kaliumkanal; mPT = mitokondriel permeabilitetstransitions-spore; mTOR = *mammalian target of rapamycin*; Nrf2 = *nuclear factor E2-related factor 2*; PUFA = flerumættede fedtsyrer; ROS = reaktive iltforbindelser; VGLUT2 = vesikulær glutamattransporter 2.

Den reducerede glukosemetabolisme i BAD-knockoutmus har antikonvulsiv virkning i forskellige epilepsimodeller. Den præventive effekt hos BAD-knockoutmus er afhængig af K_{ATP}-kanaler i hippocampus, som er påvist at være essentielle for KD's antikonvulsive virkning [11]. Mekanismen for åbning af K_{ATP}-kanaler via KD er endnu ikke klarlagt.

Glukoserestriktion kan efterlignes med glukoseanalog 2-deoxy-D-glukose (2DG), som inhiberer glykolyse. 2DG har antikonvulsiv virkning uden tilstedeværelse af ketoner i blodet [21]. Mekanismen for 2DG er associeret med reducere af anfaldsinduceret stigning i *brain-derived neurotrophic factor* og dennes receptor tyrosinreceptorkinase B, som menes at spille en rolle i visse former for epilepsi.

ØGET MITOKONDRIEL FUNKTION OG NEDSÆTTELSE AF NIVEAUET AF FRIE RADIKALER

Neurotransmission er en energikrævende proces, hvilket gør mitokondriel energimetabolisme essentiel for hjernens funktion. Oxidativ fosforylering af ATP danner frie radikaler (ROS), som kan resultere i oxidativt stress. Udvikling af epilepsi og andre neurodegenerative sygdomme er ofte relateret til mitokondriel dysfunktion og øget oxidativt stress.

KD øger biosyntesen af antioxidanten glutation [12]. Denne forøgelse induceres af aktivering i *nuclear factor E2-related factor 2* (Nrf-2)-*pathway*. Nrf-2 er en redoxsensitiv transkriptionsfaktor, der øger forsvaret mod oxidativt stress bl.a. ved inducere af glutamacystinlignase, der er et vigtigt enzym i glutationsyntesen [12]. Nrf-2-aktiveringen skyldes en svag stigning i ROS forårsaget af KD. Dette understøttes af, at anfaldsreducere er påvist ved øget Nrf-2-ekspression.

I et studie indikeres en direkte sammenhæng mellem ketoner og anfaldskontrol via den mitokondrielle permeabilitetstransitions-spore (mPT) [13]. mPT er et protein, der formes i mitokondriets indre membran og kan inducere apoptose under patologiske forhold. Resultaterne viser, at ketoner hæmmer mPT, og *Kim et al* mener, at ketoner virker indirekte ved reducere af ROS og øgning af ATP. Ved målrettet deletion af én *subunit* i mPT forsvandt effekten af ketonerne. Andre studier har vist, at hæmning af samme *subunit* har mindsket aktiveringen af mPT, og efterfølgende stabilisering af calcium i mitokondriet øgede ATP-dannelsen, reducerede ROS og beskyttede imod frigivelsen af apoptotiske faktorer.

KD menes derfor ad flere veje at nedsætte det oxidative stress via reducerede ROS, hvilket har god virkning på epilepsi.

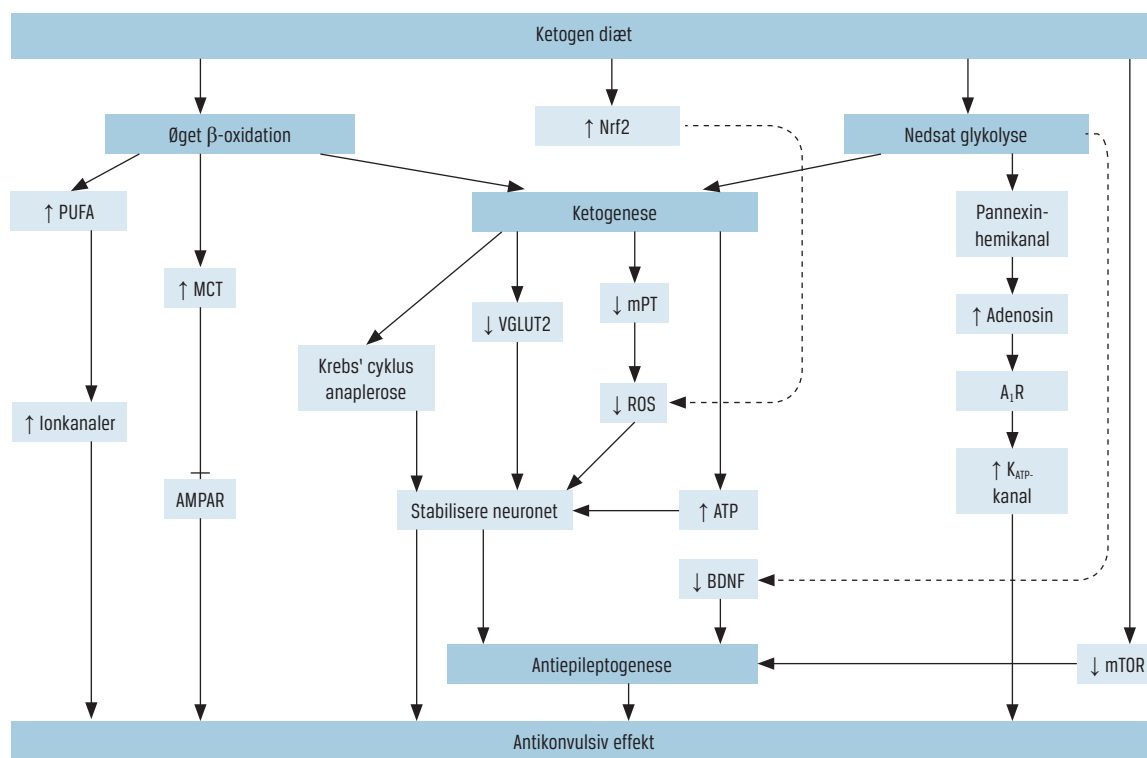
EFFEKT AF FEDTSYRER

Klassisk KD består primært af langkædede mættede fedtsyrer, men hos børn på KD er der målt forhøjede niveauer af flerumættede fedtsyrer (PUFA). PUFA kan åbne spændingsstyrede K⁺-kanaler og derved nedsætte den neurale excitabilitet [14].

Mellemkædede triglycerid (MCT)-KD er en type, hvor den primære fedtkilde er MCT og medfører stigning i P-octansyre (C:8) og P-decansyre (C:10). *Chang et al* sammenlignede octan- og decansyre med det hypypigt brugte antiepileptika valproat. Det viste sig, at decansyre var mere potent som antiepileptika end valproat og samtidig reducerede bivirkninger både in vitro og in vivo [15]. I et andet studie har man fundet, at decansyre, foruden at have en god antikonvulsiv effekt, virker antioxiderende og øger den mitokondrielle funk-

FIGUR 1

Model over ketogen diæts virkningsmekanismer. Genprintet og modificeret med tilladelse fra [30].



A₁R = adenosin A₁-receptor; AMPAR = alfa-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-propionsyre-receptorer; BDNF = brain-derived neurotrophic factor; MCT = mellemkædede triglycerider; mPT = mitokondriel permeabilitetstransitions-pore; mTOR = mammalian target of rapamycin; Nrf2 = nuclear factor E2-related factor 2; PUFA = flerumættede fedtsyrer; ROS = reaktive iltforbindelser; VGLUT2 = vesikulær glutamattransporter 2.

tion, uafhængig af øget ketonplasmakoncentration [16]. Decansyre nedsætter den neurale excitabilitet ved at virke som en nonkompetitiv antagonist til den glutaminerge alfa-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazol-4-propionsyre (AMPA)-receptor [17]. Disse fund tyder på en klar antikonvulsiv mekanisme for MCT-KD. Der foreligger ingen studier af, om langkædede fedtsyrer metaboliseres til MCT under klassisk KD, men det kunne være en mulig mekanisme [17].

Fedtsyrerne må derfor være et vigtigt element i KD, da de i sig selv kan virke antikonvulsivt og nedsættende på oxidativt stress.

MAMMALIAN TARGET OF RAPAMYCIN

mTOR er en proteinkinase, som aktiveres af en række metaboliske input såsom aktivering af insulinreceptoren, faste, lav ATP samt hypoglykæmi og udøver forskellige ændringer i energimetabolismen. Hyperaktivitet af denne *pathway* kan være patologisk og føre til epileptogenese [23]. Niveaulet af markører for mTOR-aktivering var nedsat i leveren og hippocampus hos rotter, der var fodret med KD, hvilket indikerer, at KD hæmmer mTOR [18]. Farmakologisk inhibering af mTOR-*pathway* er påvist at hindre epileptogenesen [23]. KD's hæmning af mTOR er en mulig antiepilep-

tisk virkningsmekanisme, da mTOR-signalering indgår i epileptogenesen.

KETOGENDIÆT VED SVÆRE BØRNEPILEPTISKE ENCEFALOPATIER

Tuberøs sklerose

Tuberøs sklerose (TS) er en genetisk sygdom, hvor mere end 80% af patienterne får epilepsi [24]. Epileptogenesen sker typisk i barndommen og er ofte medicinsk intractabel. TS skyldes i de fleste tilfælde en mutation i hamartin (Tsc1) eller tuberin (Tsc2), hvilket medfører utilstrækkelig hæmning af mTOR-*pathway*. Et mindre, retrospektivt studie blandt flere i litteraturen viste, at mere end 90% af patienterne med TS fik over 50% anfaldsreduktion af KD [24]. Det er nærliggende at tro, at den antikonvulsive virkning skyldes inhibering af mTOR. Der findes dog p.t. ingen studier, som kan understøtte denne teori.

Glukosetransporter 1-defektsyndrom

Glukosetransporter (GLUT)1-defektsyndrom er en autosomal recessiv sygdom, der manifesterer sig som epilepsi og andre neurologiske symptomer [25]. Det skyldes en mutation i *SLC2A1*-genet, som resulterer i en defekt i GLUT1-proteinet, der faciliterer den pri-

mære glukosetransport over blod-hjerne-barrieren. GLUT1-defektsyndrom kan ikke helbredes, men standardbehandlingen er KD, hvorved tæt på 70% bliver anfaldsfrie [25]. KD giver hjernen en alternativ energikilde (ketoner), som transporteres over blod-hjerne-barrieren uden brug af GLUT1-proteinet, og sikrer dermed energitilførsel til hjernen og dens udvikling med samtidig nedsættelse af antallet af anfald.

Epilepsi med myoklone-atone anfald

Myoklon astatisk epilepsi (MAE) er ofte medicinsk intractabel. Det er påvist, at KD er en effektiv behandling af MAE. I et retrospektivt studie blev mere end 50% af patienterne anfaldsfrie, og næsten 90% oplevede en anfaldsreduktion på 70% ved KD [26]. Patofysiologien bag MAE kendes ikke, men i nyere studier forslås, at det skyldes genetiske fejl i en transporter, som fjerner GABA fra den synaptiske kløft [27]. En afklaring af patofysiologien bag MAE vil kunne give bedre indsigt i KD's virkningsmekanisme.

De nævnte sygdomme er blot eksempler, hvor indikationen er oplagt. Der findes mange flere epileptiske indikationer for KD, og den bør overvejes i de fleste tilfælde af medicinsk intractabel epilepsi hos patienter i alle aldre, men særligt hos børn. Samtidig med KD bør mulighederne for epilepsikirurgi overvejes.

FREMTIDIGE PERSPEKTIVER VED ANDRE NEUROLOGISKE SYGDOMME

KD har en veldokumenterede effekt på epilepsi, men anvendelsen begrænses ikke kun hertil. KD er en potentielt gavnlig tillægsbehandling ved andre neurologiske sygdomme [28]. KD forsøges anvendt som behandling ved tumorer i centralnervesystemet [29], da cancerceller er metabolisk sårbare, bl.a. pga. deres hyppige celledeling, som er afhængig af glykolyse. Patienter med Parkinsons og Alzheimers sygdom kunne drage fordel af KD, da KD kan bypasse de mitokondrielle defekter, der ses ved disse sygdomme [28]. Den essentielle patologiske proces i Alzheimers sygdom og amyotrofisk lateral sklerose er neurodegeneration [28]. KD menes at have en effekt på neuroners aldringsproces, hvilket kunne gavne disse patienter. Disse hypoteser er kun testet i enkeltstater og små studier, men med resultater som viser et potentielt forsknings- og behandlingsområde.

KONKLUSION

Den seneste forskning, som er opsummeret i denne artikel (Figur 1), viser, at flere virkningsmekanismer medierer KD's effekt på epilepsi og epileptogenese via neurotransmitterregulering, glukoserestriktion, øget mitokondriel funktion, fedtsyreniveau og hæmning af mTOR-pathway, hvilket gør KD til en mangefacetteret behandling ved epilepsi. Det faktum, at KD har god ef-

fekt på mange former for epilepsi trods vidt forskellig patofysiologi, understøtter denne konklusion. Indsigt i KD's virkningsmekanismer giver en større forståelse af patofysiologien bag epilepsi og kan lede til nye behandlingsmål for antiepileptika samt nye behandlinger for andre neurologiske lidelser. Dette er belæg for videre forskning i KD's virkningsmekanismer.

SUMMARY

Thomas Møhl & Maria J. Miranda:

The effects of ketogenic diet are numerous
Ugeskr Læger 2018;180:V05170345

Ketogenic diet (KD) has for a long time been known as an effective treatment for medically intractable epilepsy. However, the underlying mechanism is still unknown. Recent work indicates, that several mechanisms exist for KD, including neurotransmitter regulation, glucose restriction, effects of fatty acids, altered mitochondrial function and mammalian target of rapamycin pathway. Revealing the mechanisms of KD provides a better insight in the pathophysiology of epilepsy and helps the development of new treatments of epilepsy and other neurological disorders.

KORRESPONDANCE: Thomas Møhl. E-mail: Thomasmohl@hotmail.com

ANTAGET: 26. oktober 2017

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 5. marts 2018

INTERESSEKONFLIKTER: ingen. Forfatterens ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

TAKSIGELSE: Jong M. Rho takkes for gennemgang af Figur 1.

LITTERATUR

- Christensen J, Vestergaard M, Pedersen MG et al. Incidence and prevalence of epilepsy in Denmark. *Epilepsy Res* 2007;76:60-5.
- Nair DR. Management of drug-resistant epilepsy. *Continuum* 2016;22:157-72.
- Kossoff EH, Rho JM. Ketogenic diets: evidence for short- and long-term efficacy. *Neurotherapeutics* 2009;6:406-14.
- Naima C, Luis B, Luis H et al. A ketogenic diet modifies glutamate, gamma-aminobutyric acid and agmatine levels in the hippocampus of rats: a microdialysis study. *Neurosci* 2017;642:158-62.
- Zhang Y, Zhang S, Marin-Valencia I et al. Decreased carbon shunting from glucose toward oxidative metabolism in diet-induced ketotic rat brain. *J Neurochem* 2015;132:301-12.
- Kovac S, Abramov AY, Walker MC. Energy depletion in seizures: anaplerosis as a strategy for future therapies. *Neuropharmacology* 2013;69:96-104.
- Juge N, Gray JA, Omote H et al. Metabolic control of vesicular glutamate transport and release. *Neuron* 2010;68:99-112.
- Lusardi TA, Akula KK, Coffman SQ et al. Ketogenic diet prevents epileptogenesis and disease progression in adult mice and rats. *Neuropharmacology* 2015;99:500-9.
- Masino SA, Li T, Theofilas P et al. A ketogenic diet suppresses seizures in mice through adenosine A1 receptors. *J Clin Invest* 2011;121:2679-83.
- Kawamura M, Ruskin DN, Masino S. Metabolic autocrine regulation of neurons involves cooperation among pannexin hemichannels, adenosine receptors, and KATP channels. *J Neurosci* 2010;30:3886-95.
- Ma W, Berg J, Yellen G. Ketogenic diet metabolites reduce firing in central neurons by opening K(ATP) channels. *J Neurosci* 2007;27:3618-25.
- Milder JB, Liang LP, Patel M. Acute oxidative stress and systemic Nrf2 activation by the ketogenic diet. *Neurobiol Dis* 2010;40:238-44.
- Kim DY, Simeone K, Simeone T et al. Ketone bodies mediate antiseizure effects through mitochondrial permeability transition. *Ann Neurol* 2015;78:77-87.
- Yazdi S, Stein M, Elinder F et al. The molecular basis of polyunsaturated fatty acid interactions with the shaker voltage-gated potassium channel. *PLoS Comput Biol* 2016;12:e1004704.
- Chang P, Terbach N, Plant N et al. Seizure control by ketogenic diet-associated medium chain fatty acids. *Neuropharmacology* 2013;69:105-14.
- Tan KN, Carrasco-Pozo C, McDonald TS et al. Tridecanoic acid is anticonvul-

- sant, antioxidant, and improves mitochondrial function. *J Cereb Blood Flow Metab* 2017;37:2035-48.
17. Chang P, Augustin K, Boddum K et al. Seizure control by decanoic acid through direct AMPA receptor inhibition. *Brain* 2016;139:431-43.
 18. McDaniel SS, Rensing NR, Thio LL et al. The ketogenic diet inhibits the mammalian target of rapamycin (mTOR) pathway. *Epilepsia* 2011;52:e7-e11.
 19. Qureshi IA, Mehler MF. Epigenetic mechanisms underlying human epileptic disorders and the process of epileptogenesis. *Neurobiol Dis* 2010;39:53-60.
 20. Williams-Karnesky RL, Sandau U, Lusardi T et al. Epigenetic changes induced by adenosine augmentation therapy prevent epileptogenesis. *J Clin Invest* 2013;123:3552-63.
 21. Stafstrom CE, Ockuly JC, Murphree L et al. Anticonvulsant and antiepileptic actions of 2-deoxy-D-glucose in epilepsy models. *Ann Neurol* 2009;65:435-48.
 22. Giménez-Cassina A, Martínez-Francois J, Fisher J et al. BAD-dependent regulation of fuel metabolism and KATP channel activity confers resistance to epileptic seizures. *Neuron* 2012;74:719-30.
 23. Wong M. Mammalian target of rapamycin (mTOR) pathways in neurological diseases. *Biomed J* 2013;36:40-50.
 24. Kossoff EH, Thiele EA, Pfeifer HH et al. Tuberous sclerosis complex and the ketogenic diet. *Epilepsia* 2005;46:1684-6.
 25. Kass HR, Winesett SP, Bessone SK et al. Use of dietary therapies amongst patients with GLUT1 deficiency syndrome. *Seizure* 2016;35:83-7.
 26. Stenger E, Schaeffer M, Cances C et al. Efficacy of a ketogenic diet in resistant myoclonic-astatic epilepsy: a French multicenter retrospective study. *Epilepsy Res* 2017;131:64-9.
 27. Carvill GL, McMahon JM, Schneider A et al. Mutations in the GABA transporter SLC6A1 cause epilepsy with myoclonic-atonic seizures. *Am J Hum Genet* 2015;96:808-15.
 28. Stafstrom CE, Rho JM. The ketogenic diet as a treatment paradigm for diverse neurological disorders. *Front Pharmacol* 2012;3:59.
 29. Seyfried TN, Kiebish M, Mukherjee P et al. Targeting energy metabolism in brain cancer with calorically restricted ketogenic diets. *Epilepsia* 2008;49:114-6.
 30. Masino S, Rho J. Mechanism of ketogenic diet action. In: Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA et al, red. *Jasper's basic mechanisms of the epilepsies*. 4th ed. Bethesda, National Center for Biotechnology Information 2012:1-28.