

Zaburzenia mitochondrialnej biosyntezy acetylokoenzymu A i ich znaczenie w prewencji choroby niedokrwiennej serca

Disturbances in mitochondrial biosynthesis of acetyl-CoA and their role in the prevention of ischemic heart disease

Paweł Burchardt¹, Krzysztof Wiktorowicz¹, Anna Goździcka-Józefiak², Robert Parucki³, Henryk Wysocki⁴

¹ Katedra Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Medyczny, Poznań

² Zakład Wirusologii Molekularnej, Uniwersytet im. A. Mickiewicza, Poznań

³ Pracownia Hemodynamiki, Szpital Miejski im. J. Strusia, Poznań

⁴ Klinika Intensywnej Terapii Kardiologicznej, Uniwersytet Medyczny, Poznań

Kardiologia Pol 2008; 66: 1215-1220

Za energetykę komórek odpowiadają mitochondria, a dokładnie zlokalizowany w ich wewnętrznej błonie łańcuch oddechowy [1, 2]. Łańcuch jest zespołem ok. 40 białek pogrupowanych w pięć kompleksów enzymatycznych, które przeprowadzają reakcje fosforylacji poprzez wiązanie atomów wodoru z substratów przemian pośrednich i przenoszenie ich elektronów na cząsteczkę tlenu. Efektem końcowym tych przemian jest wytworzenie energii chemicznej w postaci ATP (adenozynotrójfosforan) [1, 3]. Donorem siły redukcyjnej dla procesów energetycznych zachodzących w mitochondriach są zatem produkty uboczne degradacji węglowodanów, lipidów czy aminokwasów. Przemiany węglowodanów, lipidów i aminokwasów łączy wspólny metabolit acetylo-CoA (acetylokoenzym A), który w zależności od zapotrzebowania ustroju może być źródłem wolnych kwasów tłuszczowych, glukozy czy po prostu dwutlenku węgla [1].

Zaburzenie metabolizmu, głównie węglowodanowo-lipidowego, w efekcie długoterminowym może doprowadzić do w pełni objawowego zespołu metabolicznego [1], czyli schorzenia, na które składają się: insulinooporność, otyłość, hiperurykemia, zaburzenia gospodarki lipidowej (hipertrójglicerydemia, hipoproteinemia alfa) i nadciśnienie tętnicze. Określenie etiologii zespołu metabolicznego jest niezwykle trudne. Niewątpliwie duże znaczenie przypisuje się uwarunkowaniom genetycznym [4, 5], chociaż zespół może być również nabyty. Należy zatem mówić raczej o pewnej skłonności lub podatności populacyjnej, która w określonych okolicznościach (zbyt duża podaż pokarmów) powoduje wystąpienie objawów zespołu metabolicznego. Nie można również wykluczyć,

że wyżej wspomnianą podatność warunkują zaburzenia mitochondrialnego DNA, co mogą ustalić badania własne autora.

Zaburzenia metabolicznej homeostazy węglowodanowej, lipidowej i aminokwasowej, które są skutkiem zespołu metabolicznego, wiążą się z ciągłym pobudzaniem śródbłonna naczyniowego, co po pewnym czasie może prowadzić do wytworzenia blaszki miażdżycowej [6, 7].

Gromadzenie nieprawidłowych frakcji lipidowych i nasilenie stresu oksydacyjnego zachodzi w wyniku wzmożonej aktywacji komórek i procesów biochemicznych w warstwie podśródbłonkowej naczyń krwionośnych. Można temu skutecznie zapobiegać poprzez właściwe postępowanie dietetyczne, ingerując w mechanizmy metabolicznej regulacji glukozy [8], aminokwasów czy kwasów tłuszczowych. Argumentem pośrednio potwierdzającym słuszność powyższej tezy mogą być wyniki dużych badań populacyjnych oceniających wpływ nawyków żywieniowych różnych kultur na występowanie chorób układu krążenia. Jest to jedynie dowód pośredni, ponieważ trudno sobie wyobrazić, by społeczność Eskimosów już kilkaset lat temu myślała o korzystnym wpływie na śródbłonek naczyniowy obecnych w ich diecie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Z drugiej strony, dopiero w dzisiejszych czasach, dzięki poznaniu reguł metabolizmu, jesteśmy w stanie zrozumieć nieprawidłowości średniowiecznej diety ludów północnej Europy. Opracowanie szerokiej naturalnej profilaktyki żywieniowej stało się obecnie możliwe dzięki znajomości biochemicznych podstaw etiologii szeregu schorzeń oraz dzięki wynikom wielu badań populacyjnych – stąd chociażby popularność tzw. diety śródziemnomorskiej. Należy jednocześnie

Adres do korespondencji:

dr n. med. Paweł Burchardt, Katedra Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Medyczny, ul. Długa 1/2, 61-848 Poznań, tel./faks: + 48 61 853 05 71, e-mail: pab2@tlen.pl

Praca wpłynęła: 12.07.2008. Zaakceptowana do druku: 16.07.2008.

zauważyć, że dieta śródziemnomorska nie jest dietą *sensu stricto*, lecz jedynie swoistym stereotypem „zdrowego” żywienia. Dieta bowiem z definicji jest synonimem ograniczenia, które może dotyczyć ilości spożywanych kalorii lub określonych składników.

W ostatnich latach coraz większe znaczenie zyskują takie ograniczenia dietetyczne, których głównym celem jest redukcja masy ciała. Należy jednak pamiętać, że ograniczanie podaży określonych pokarmów może prowadzić do niedoborów mikro- czy makroelementów niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu, jak to się dzieje np. w przypadku diety Atkinsa [9]. Dodatkowo zastosowanie drastycznej, w sensie ilości spożywanych kalorii, diety (np. dieta skandynawska lub kopenhaska) bardzo szybko wywołuje efekt jo-jo lub odbicia, czyli efekt powrotu do wagi wyjściowej [10]. Nasuwa się więc pytanie, jak stworzyć dietę doskonałą i czy w ogóle jest to możliwe. Kluczem do tych rozważań jest zrozumienie złożonego procesu regulacji metabolizmu, głównie węglowodanów i tłuszczów, w mniejszym stopniu białek.

Wspólny mianownik – acetylo-CoA

Wspólnym substratem przemiany węglowodanów, tłuszczów i białek jest acetylo-CoA. Jest on produktem przemiany pirogronianu (proces dwukierunkowy, który katalizowany jest przez dehydrogenazę pirogronianową) powstającego w torze glikolitycznym [1]. Pirogronian jest ostatecznym produktem degradacji cząsteczki glukozy w warunkach tlenowych. Jak wiadomo, glikoliza może również zachodzić w warunkach beztlenowych z wytworzeniem kwasu mlekowego. Jedna cząsteczka glukozy rozpada się na dwie triozy (dwie cząsteczki pirogronianu). Jedna z nich ulega przemianie w acetylo-CoA, druga zaś w szczawiooctan, co katalizuje karboksylaza pirogronianowa [1]. W ten sposób substraty te są włączane w cykl kwasów trójkarboksylowych, który dostarcza znacznej ilości energii chemicznej w postaci ATP. Acetylo-CoA może oczywiście odtwarzać pulę pirogronianu [1]. Proces ten jest niezwykle złożony, ponieważ przebiega odwróconym torcem kwasu cytrynianowego w mitochondriach z wytworzeniem takich związków pośrednich, jak szczawiooctan i dalej jabłczan. Jabłczan jest następnie transportowany przez wewnętrzną błonę mitochondrialną do cytozolu, gdzie degradowany jest ponownie do szczawiooctanu i dalej pirogronianu, będącego substratem dla kinazy fosfoenolpirogronianowej, głównego enzymu glukoneogenezy. Ten skomplikowany mechanizm odtwarzania puli pirogronianu jest determinowany tylko cytozolową obecnością wspomnianego enzymu [1, 11].

Acetylo-CoA jest także substratem do syntezy długołańcuchowych kwasów tłuszczowych (WKT) [11, 12]. W tym celu (ze względu na nieprzepuszczalność wewnętrznej błony mitochondrialnej) wraz z szczawiooctanem przekształcane są w cytrynian. Cytrynian jest przenoszony do cytozolu. Tam dzięki liazie cytrynianowej z udziałem ATP zostaje

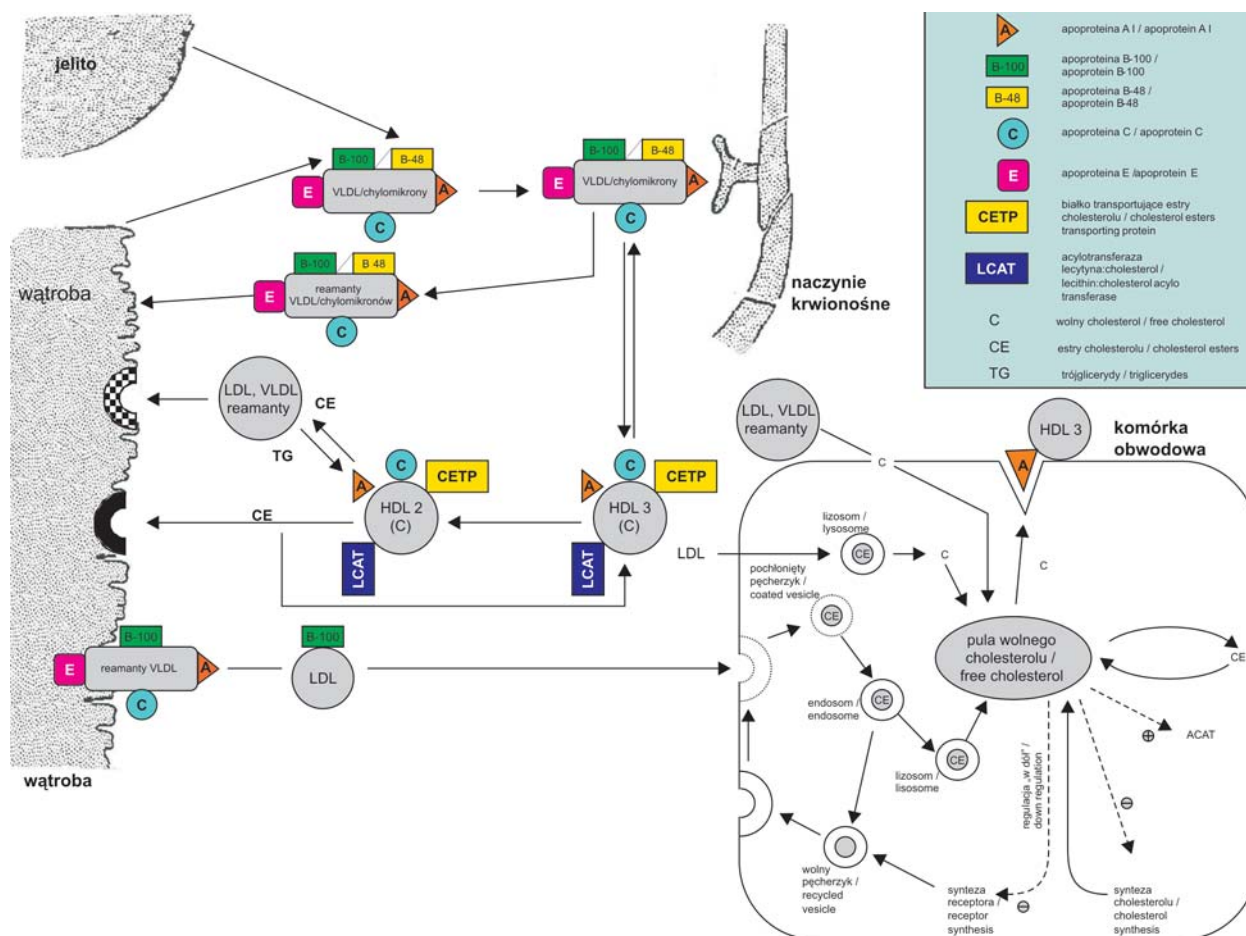
odtworzony szczawiooctan i acetylo-CoA. Acetylo-CoA stanowi substrat dla krytycznej w procesie lipogenezy reakcji karboksylacji. Reakcja katalizowana jest dwuetapowo przez karboksylazę acetylo-CoA (aktywowana poziomem cytrynianu) z wytworzeniem malonylo-CoA, który jest następnie wielokrotnie poddawany działaniu syntetazy kwasów tłuszczowych z wytworzeniem wolnych kwasów tłuszczowych (Rycina 1.) [1].

W przeciwieństwie do procesów glikolizy i glukoneogenezy, degradacja długołańcuchowych WKT zachodzi w cytozolu oraz mitochondriach i chociażby dlatego nie przebiega po odwróconym torze lipogenezy [1]. Podstawowe znaczenie dla zrozumienia procesu lipodegradacji ma fakt, że wolne kwasy tłuszczowe w organizmie mogą być dwójakiego pochodzenia. Po pierwsze, mogą być dostarczane z dietą (powstające z trawienia TG przez sole kwasów żółciowych i enzymy lipolityczne) i wtedy są wchłaniane do naczyń limfatycznych w postaci chylomikronów (lipoproteiny) (Rycina 2.). W wyniku działania lipaz osoczowych i tkankowych transportowane przez chylomikrony trójglicerydy odtwarzają pulę wolnych kwasów tłuszczowych, docelowo internalizujących do komórek tkanki tłuszczowej. Należy zauważyć, że w tym miejscu łączą się tory egzogenne (pochodzących z diety) i endogenne (pochodzących z syntezy *de novo*, z acetylo-CoA) wolnych kwasów tłuszczowych. Czynnikiem sprzyjającym lipogenezie jest oczywiście wzmożenie intensywności glikolizy. Ustrój w ten sposób wykorzystuje nadmierną ilość powstającego acetylo-CoA [1, 13, 14].

W warunkach sytości, gdy komórki ustroju dysponują wystarczającymi zasobami energii pochodzącej z glikolizy, WKT ulegają w tkance tłuszczowej ponownej estryfikacji [1, 15]. Procesowi temu dodatkowo sprzyja dostępność pochodzącego z glikolizy glicerolu. W warunkach głodu dochodzi do uwalniania z komórek tłuszczowych WKT, które stanowią alternatywne źródło nie tylko energii, ale i substratów dla procesu odtwarzania cząsteczek glukozy [15]. Endogenne wolne kwasy tłuszczowe transportowane są do wątroby, gdzie mogą być przenoszone dalej do tkanek przez lipoproteiny o bardzo małej gęstości (ang. *very low density lipoproteins*, VLDL). Lipoproteiny o bardzo małej gęstości i chylomikrony, ulegając osoczowej degradacji, tworzą lipoproteiny o większej gęstości (IDL, LDL, HDL), które odgrywają główną rolę w transporcie różnych frakcji lipidowych do wątroby i do innych tkanek (Rycina 2.) [16].

Zainicjowanie szlaku utleniania wolnych kwasów tłuszczowych wymaga ich aktywacji przez dołączenie koenzymu A (CoA) przez swoistą dla danego kwasu tłuszczowego syntetazę, a następnie pokonania błony mitochondrialnej przez przenośnik karnitynowy. Produktem beta-oksydacji są acetylo-CoA i acylo-CoA. Reakcja może zachodzić wielokrotnie do momentu całkowitej degradacji WKT (Rycina 1.) [17].

Acetylo-CoA jest zatem uniwersalnym związkiem, który łączy tory glikolizy, lipogenezy, glukoneogenezy oraz li-



Rycina 2. Metabolizm lipidów

nie torowana jest lipogeneza [23, 24]. Insulina oraz niski poziom cytrynianu dodatkowo potęgują ten efekt, prowadząc do wzmożonego powstawania acylo-CoA. Pośrednio zatem hamują beta-oksydację [1]. Odwrotnie działają glukagon i adrenalina, wysoki poziom acylo-CoA oraz gład. Dodatkowym czynnikiem regulacyjnym jest stężenie wolnych kwasów tłuszczowych.

Długoterminowym skutkiem nadmiernej podaży pokarmów jest aktywacja alternatywnych szlaków degradacji glukozy, która może następować m.in. poprzez szlak pentozofosforanowy, będący źródłem czynnika redukcyjnego w postaci NADH oraz D-fruktozy, niezbędnej do syntezy kwasów rybonukleinowych [1, 25].

Cząsteczka glukozy poprzez glukozy-1-fosforan może ulegać przemianom w sorbitol, a następnie w fruktozę, co ma miejsce szczególnie w tkankach insulinoopornych [26]. Niekorzystnym skutkiem tej transformacji jest zużywanie komórkowych zasobów [27] NADH, który jest koenzymem reduktazy glutationowej, niezbędnej do redukcji reaktywnych form tlenu. Zjawisko to może być potęgowane przez nadmierną aktywność cyklu Krebsa i przyczyniać się do zaburzenia homeostazy oksydoredukcyjnej ustroju. W następstwie dochodzi do oksydacji i peroksydacji lipidów,

fragmentacji kwasów nukleinowych i białek, aktywacji komórek immunokompetentnych oraz syntezy cytokin prozapalnych [28, 29].

Nadmiar glukozy może w końcu nasilać aktywację szeregu przemian z wytworzeniem UDP N-acetylglukozaminy. Przyłączenie seryny lub treoniny do tego związku powoduje powstawanie nowych cząstek sygnałowych, które są ważnymi czynnikami transkrypcyjnymi wpływającymi na regulację ekspresji białek transportera GLUT4, kluczowych w komórkowej internalizacji glukozy. Taki może być mechanizm postreceptorowej insulinooporności [1, 30].

W stanie głodu lub w cukrzycy (spowodowanej brakiem insuliny lub insulinoopornością) podaż glukozy do komórek jest obniżona. Zaczyna dominować proces glukoneogenezy, a zatem poziom wolnych kwasów tłuszczowych w osoczu zwiększa się i stają się one bardziej dostępne dla komórek wątrobowych, gdzie mogłyby ulegać estryfikacji. Ze względu jednak na brak pochodnych 3-fosfoglicerynianu (nie zachodzi glikoliza) proces ten nie może nastąpić. Zachodzi zatem intensywna beta-oksydacja WKT, ale powstający acetylo-CoA nie może być włączony do cyklu Krebsa. Jest to następstwem braku równoważnej puli szczawiooctanu, niezbędnej do zainicjowania syntezy cy-

trynianu. Acetylo-CoA zostaje wówczas wykorzystany jako substrat do ketogenezy [23, 24]. Reasumując, poziom WKT w osoczu zwiększa się nie tylko w stanie nadmiernej podaży pokarmów (kwasy tłuszczowe egzogenne), ale również w przebiegu „zbyt” intensywnej glikolizy (synteza *de novo* – endogenna) oraz w warunkach głodu. W przeciwieństwie jednak do warunków głodu, nadmierna podaż endo- i egzogennych WKT sprzyja wzmożonej wakuolizacji komórek tkanki tłuszczowej oraz powstawaniu nowych komórek, co staje się przyczyną otyłości. Wtórnie do powyższych procesów rozwija się insulinooporność prerceptorowa, związana z niewystarczającą ilością wydzielanej insuliny wobec zwiększonej ilości komórek, głównie tkanki tłuszczowej [1].

Jak powinna wyglądać dieta idealna?

Biorąc pod uwagę przebieg i mechanizmy regulacyjne metabolizmu ustrojowego, dietetyczna prewencja kardiometaboliczna powinna polegać na ograniczeniu ilości spożywanych tłuszczów przy jednoczesnym zwiększeniu ilości węglowodanów z tzw. niskim indeksem glikemicznym. Indeks glikemiczny definiujemy jako średni stosunek glikemii w osoczu uzyskany po spożyciu 50 g danego produktu w porównaniu z poziomem glikemii, który wywołuje podanie 50 g czystej glukozy. Wartości indeksu dzielimy na 3 przedziały (<50, 50–75, >75). Im wyższy indeks glikemiczny danego składnika diety, tym większy powoduje on wyrzut insuliny. Insulina z kolei aktywuje ośrodek głodu. Dlatego pierwszą reakcją na bodziec pokarmowy jest brak uczucia sytości, co dodatkowo wzmacnia apetyt. Tracimy przez to kontrolę nad ilością spożywanych kalorii. Zjawisku temu można zapobiegać poprzez stosowanie węglowodanów z niskim indeksem glikemicznym oraz spożywanie kilku niewielkich posiłków dziennie, przez co uzyskuje się poczucie względnej sytości i małą amplitudę szczytowych stężeń insuliny.

Dodatkowo niekorzystne zjawisko wchłaniania cukrów prostych można ograniczyć poprzez suplementację błonnika (zwiększenie szybkości pasażu węglowodanów w przewodzie pokarmowym).

Zasady te, wynikające ze znajomości regulacji biochemicznej przemian metabolicznych, stały się przewodnią ideą diety Montignaca oraz *South Beach* [31]. Obydwie diety są bardzo proste, ponieważ opierają się na odpowiednim doborze produktów spożywczych, jednak w przeciwieństwie do innych zaleceń żywieniowych nie wymagają ograniczenia ilości pokarmów, a tym bardziej „liczenia kalorii”. Ważnym elementem jest uzyskiwanie efektu sytości, który pośrednio umożliwi redukcję masy ciała. Pierwszym etapem każdej z diet jest przyzwyczajenie ustroju do dyscypliny w odżywianiu oraz odpowiednia redukcja ilości spożywanych kalorii. Obydwie diety łączy dodatkowo fakt, że pokrywają one wszystkie podstawowe zapotrzebowania organizmu i mogą być stosowane przewlekłe. Dieta *South Beach*, zaproponowana przez dr. Agathsona, może być amerykańskim odpowiednikiem filozofii Montignaca.

Nie możemy zapominać, że zaleceniom żywieniowym musi towarzyszyć aktywność fizyczna, dzięki której dojdzie do uwrażliwienia tkanek na insulinę. Aktywność fizyczna pozwala przede wszystkim na redukcję tzw. „tłuszczowej” masy ciała (wysięk fizyczny i dieta w przeciwieństwie do stosowania tylko samej diety prowadzi do wzmożonej komórkowej lizy TG i beta-oksydacji).

Kolejnym ważnym etapem diet zapobiegającym rozwojowi otyłości jest redukcja spożycia cholesterolu oraz zmniejszenie w nich udziału nasyconych kwasów tłuszczowych na rzecz kwasów tłuszczowych jedno- i wielonienasyconych [32]. Ustrój człowieka nie potrafi syntetyzować niektórych nienasyconych kwasów tłuszczowych i muszą być one dostarczane w diecie. Należą do nich kwas alfa-linolenowy (omega-3) (tłoczone na zimno oleje: lniany i rzepakowy, nasiona lnu i rzepaku, siemię lniane, orzechy włoskie, kielki pszenicy), kwas linolowy omega-6 (tłoczone na zimno oleje: sojowy i kukurydziany, nasiona słonecznika, dyni, sezamu i większość orzechów). Rodzina omega-3 to także kwas dokozaheksaenowy i kwas eikozapentaenowy, zawarte w żywności pochodzenia morskiego (w rybach – makrela, łosoś, halibut, dorsz, śledź, sardynka). Prawidłowy stosunek kwasów tłuszczowych z rodziny omega-6 do kwasów z rodziny omega-3 powinien wynosić <5:1.

Nienasycone kwasy tłuszczowe są ważnym składnikiem budulcowym błon komórkowych, biorą udział w metabolizmie (arachidonowy) i transporcie cholesterolu (przeszło połowa estrów cholesterolu występuje w postaci połączeń z kwasem linolowym, co ułatwia ich rozprowadzenie w organizmie). Hamują one agregację płytek krwi, są prekursorami biosyntezy prostaglandyn i prostacykliny, biorą udział w transporcie wody i elektrolitów przez błony biologiczne, regulują wydalanie jonów sodu z organizmu. Należy również pamiętać, że istnieją dowody na udział niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych (NNKT) w nowotworzeniu (kwas linolowy należący do serii n-6 NNKT indukuje powstawanie raków sutka, jelita grubego i prostaty) [33, 34].

Badania ostatnich lat wskazują na niezwykle pożądanym efekt redukcji wolnych rodników tlenowych przez polifenole zawarte w czerwonym winie [35]. Dane z literatury sugerują, że powyższy efekt wywołuje niestety zaledwie jeden kieliszek wina dziennie.

Podsumowując rozważania biochemiczne i przekładając je na język praktyczny, należy pamiętać, że integralną funkcję w regulacji metabolizmu pełni mitochondria, które sprzęgają procesy przemian glukozy, wolnych kwasów tłuszczowych oraz aminokwasów z wytwarzaniem energii chemicznej w postaci ATP. Jednocześnie prawidłowa mitochondrialna homeostaza metaboliczno-oddechowa jest tak długo zachowana, dopóki co do ilości, rodzaju i jakości spożywanego jedzenia kierujemy się zasadą godnego umiaru.

Piśmiennictwo

1. Murray RK, Granner DK, Mayes PA, et al. Harper's Biochemistry. 23rd ed. *Prentice-Hall International Inc*, Londyn 1993; 197-273.
2. Nageswara AR, Madamanchi M, Runge S. Mitochondrial dysfunction in atherosclerosis. *Circ Res* 2007; 100: 460-73.
3. Zeviani M, Di Donato S. Mitochondrial disorders. *Brain* 2004; 127: 2153-72.
4. Rowe M, Bremm G, Cooper J, Perry J. Mitochondrial DNA polymorphisms in inherited increased BMI (Abstract). *Faseb J* 1991; 5: A708.
5. Rowe MJ, Willis WT, Norman RA, et al. mtDNA type is associated with differences in metabolic rate and substrate oxidation. *Obes Res* 1997; 5 (Suppl 1): S32.
6. Brand K. Activated transcription factor nuclear factor-kappa B is present in the atherosclerotic lesion. *J Clin Invest* 1996; 97: 1715-22.
7. Schaper W. Molecular mechanism of coronary collateral vessel growth. *Circ Res* 1996; 79: 911-9.
8. Wallace DC. Mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu Rev Genet* 2005; 39: 359-407.
9. Grayson E. High protein, low carbohydrate diets. http://my.webmd.com/content/article/46/2731_1666
10. Prentice AM, Jebb SA, Goldberg GR, et al. Effects of weight cycling on body composition. *Am J Clin Nutr* 1992; 56: 209S-216S.
11. Creb's citric acid cycle-half a century and still Turing. Biochemical society of London, 1987.
12. Newsholme EA, Start C. Regulation in metabolism. *Wiley*, New York 1973.
13. Randle PJ. Fuel selection in animals. *Biochem Soc Trans* 1986; 14: 799-806.
14. Randle PJ, Kerbey A, Espinal J. Mechanisms decreasing glucose oxidation in diabetes and starvation: role of lipid fuels and hormones. *Diabetes Metab Rev* 1988; 4: 623-38.
15. Alan R, Saltiel C. Ronald Kahn Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. *Nature* 2001; 414: 799-806.
16. Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu Rev Biochem* 1984; 52: 223-61.
17. Jakobs BS, Wanders RJ. Fatty acid b-oxidation in peroxisomes and mitochondria: the first, unequivocal evidence for the involvement of carnitine in shutting propionyl-CoA from peroxisomes to mitochondria. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 213: 1035-41.
18. Hers HG, Hue L. Gluconeogenesis and related aspects of glycolysis. *Annu Rev Biochem* 1983; 52: 617-53.
19. Rosa JL, Bartrons R, Tauler A. Gene expression of regulatory enzymes of glycolysis/gluconeogenesis in regenerating rat liver. *Biochem J* 1992; 1: 113-6.
20. Pilkis SJ, el-Maghrabi MR, Claus TH. Hormonal regulation of hepatic gluconeogenesis and glycolysis. *Annu Rev Biochem* 1988; 57: 755-83.
21. Pilkis SJ, el-Maghrabi MR, Claus TH. Fructose-2,6-bisphosphate in control of hepatic gluconeogenesis. From metabolites to molecular genetics. *Diabetes Care* 1990; 13: 582-99.
22. Rosa JL, Tauler A, Lange AJ, et al. Transcriptional and posttranscriptional regulation of 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-bisphosphatase during liver regeneration. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 3746-50.
23. Randle PJ, Garland PB, Hales CN, Newsholme EA. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. *Lancet* 1963; 1: 785-9.
24. Randle PJ, Newsholme EA, Garland PB. Regulation of glucose uptake by muscle. 9. Effects of fatty acids and ketone bodies, and of alloxan-diabetes and starvation, on pyruvate metabolism and on lactate-pyruvate and L-glycerol 3-phosphate-dihydroxyacetone phosphate concentration ratios in rat heart and rat diaphragm muscles. *Biochem J* 1964; 93: 652-65.
25. Kruger NJ, von Schaewen A. The oxidative pentose phosphate pathway: structure and organisation. *Curr Opin Plant Biol* 2003; 6: 236-46.
26. Williamson JR, Chang K, Allison W, Kilo C. Endoneurial blood flow changes in diabetic rats. *Diabet Med* 1993; 10 (Suppl. 2): 49S-51S.
27. Williamson JR, Chang K, Frangos M. Hyperglycaemic pseudohypoxia and diabetic complications. *Diabetes* 1993; 42: 801-13.
28. Pugliese G, Tilton RG, Williamson JR. Glucose-induced metabolic imbalances in the pathogenesis of diabetic vascular disease. *Diabetes Metab Rev* 1991; 7: 35-59.
29. Wolff BA, Williamson JR, Easom RA, et al. Diacylglycerol accumulation and microvascular abnormalities induced by elevated glucose levels. *J Clin Invest* 1991; 87: 31-8.
30. Kolterman OG, Gray RS, Griffin J, et al. Receptor and postreceptor defects contribute to the insulin resistance in noninsulin-dependent diabetes mellitus. *J Clin Invest* 1981; 68: 957-69.
31. Montignac M. The Montignac diet – eat for pleasure – stay slim forever. *Dorling Kindersley* 2005.
32. Pearson TA, Blair SN, Daniels SR, et al. AHA Guidelines for Primary Prevention of Cardiovascular Disease and Stroke: 2002 Update: Consensus Panel Guide to Comprehensive Risk Reduction for Adult Patients Without Coronary or Other Atherosclerotic Vascular Diseases. *Circulation* 2002; 106: 388-91.
33. Wolk A, Bergström R, Hunter D, et al. A prospective study of association of monounsaturated fat and other types of fat with risk of breast cancer. *Arch Intern Med* 1998; 158: 41-5.
34. Pearce ML, Dayton S. Incidence of cancer in men on a diet high in polyunsaturated fat. *Lancet* 1971; 1: 464.
35. Micallef M, Lexis L, Lewandowski P. Red wine consumption increases antioxidant status and decreases oxidative stress in the circulation of both young and old humans. *Nutr J* 2007; 6: 27.