

Rola insuliny w miogenezie i oddychaniu mitochondrialnym a starzenie się mięśni szkieletowych

PATRYCJA PAWLIKOWSKA, ARKADIUSZ ORZECOWSKI

Katedra Nauk Fizjologicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej SGGW, ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa

Pawlikowska P., Orzechowski A.

Role of insulin in myogenesis and mitochondrial respiration in relation to the ageing of skeletal muscles

Summary

The article describes the principles of the insulin signaling pathway and the latest research results indicating the new role of insulin in modulating mitochondrial activity during muscle development. Myogenesis is considered to be an extensive energy-demanding process where mitochondria are the main source of ATP. Moreover, a number of reports emphasize that insulin is the most likely factor regulating prenatal muscle growth. Despite the fact that research into the affect of insulin onto myogenesis is incomplete, the role of mitochondria in muscle formation is thought to be essential in order to comprehend both whole-body growth and development. Insulin stimulates the expression of mitochondrial proteins in muscle cells whereas the activity of some targets of the insulin signaling pathway depends on ATP supply (e. g. mTOR). Similarly, alterations in available energy supply, resulting from the impaired function of mitochondria affect the cell's sensitivity to insulin as well as leading to myopaties in the developing muscle tissue.

Keywords: insulin resistance, skeletal muscle

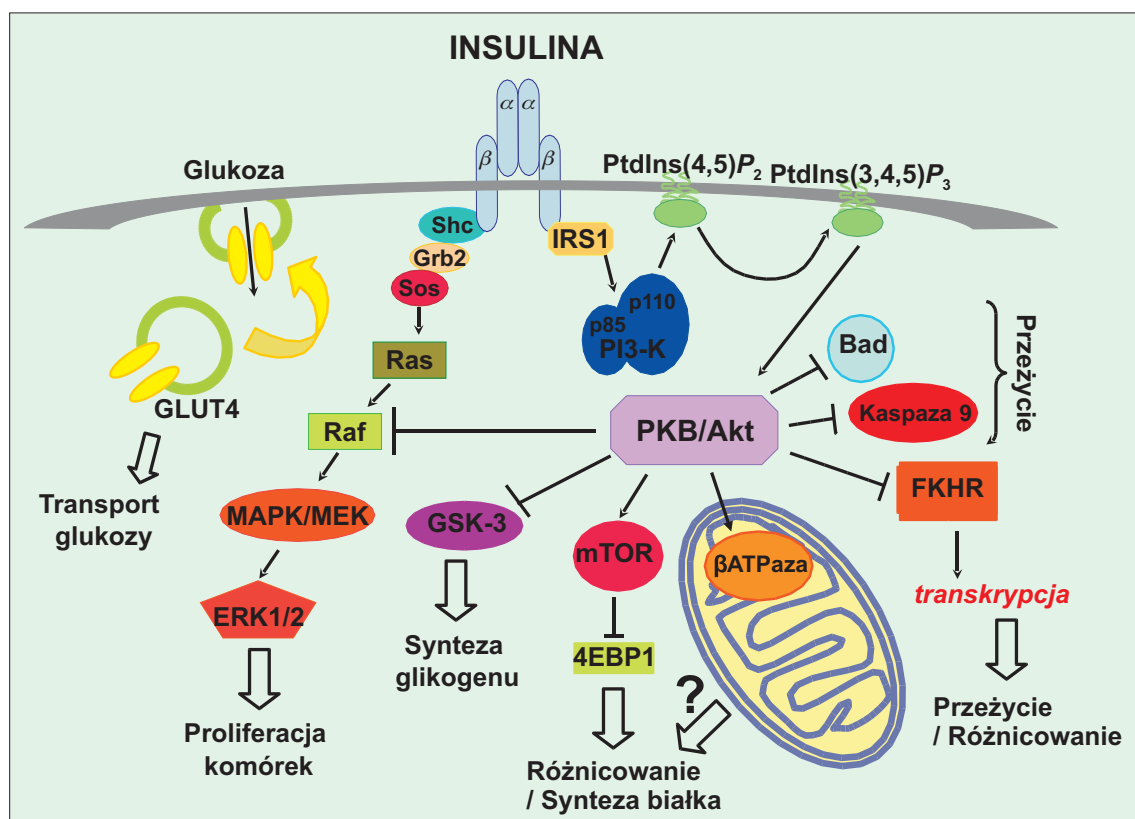
Związki funkcjonalne pomiędzy insuliną a mitochondrium

Insulina jest głównym hormonem anabolicznym organizmu i w warunkach spoczynkowych (brak wysiłku) wydaje się decydować o kierunku i natężeniu głównych przemian metabolicznych w mięśniach szkieletowych. Nie zapominając o glikolizie, oddychające tlenem mitochondria odgrywają podstawową rolę w zapewnieniu mięśniom energii niezbędnej do przebiegu procesów zależnych od insuliny, takich jak: transport glukozy, synteza białka, glikogenu i tłuszczów czy podwyższona przeżywalność komórek (ryc. 1). Przekonujących dowodów wskazujących na kluczową rolę insuliny w utrzymaniu aktywności metabolicznej mitochondriów związanej z wykorzystaniem kwasów tłuszczowych jako źródła energii dostarczyły dane doświadczalne potwierdzające upośledzenie beta oksydacji kwasów tłuszczowych w warunkach zmniejszonej wrażliwości mięśni na insulinę (insulinooporność) (17). Dotknięte stanem insulinooporności (otyłość i/lub cukrzyca typu 2, Non-Insulin Dependent Diabetes Mellitus – NIDDM) zwierzęta towarzyszące i ludzie długo chorują bez klinicznego rozpoznania (22). Ciekawe, że w odniesieniu do mięśni szkieletowych procesy starzenia są uderzająco podobne do skutków oporności na insulinę, albowiem w obu przypadkach mięśnie charakteryzuje postępująca niewrażliwość na in-

sulinę (19). Zdumiewa jednak, że fizyczna aktywność mięśni skutecznie zapobiega oporności na insulinę i w konsekwencji chroni przed przyspieszonym starzeniem się mięśni. Jeśli wysiłek jest wymuszony to opisany fenomen ma miejsce niezależnie od wieku, natomiast przy wysiłku niewymuszonym, warunkiem utrzymania prawidłowej funkcji mięśni jest zachowanie czynności części somatycznej ośrodkowego układu nerwowego (24). Dodatkowym atutem wzmożonego wysiłku fizycznego jest pobudzanie procesów rozwoju mięśni. Analogicznie działa insulina, aczkolwiek warunkiem pobudzania przez nią przyrostu masy mięśniowej jest wystarczający dopływ niezbędnych aminokwasów, przy czym niektóre z nich (leucyna) są zdolne samodzielnie pobudzać wzrost mięśni (14).

Molekularny mechanizm oddziaływania insuliny na mięśnie szkieletowe

Pomimo prowadzonych od wielu lat badań nad molekularnym mechanizmem działania insuliny na komórkę, jej wpływ na różnicowanie komórek mięśniowych nie został w pełni wyjaśniony. W ostatnich latach wysunięto hipotezę, że wpływ insuliny na przebieg miogenezy mięśnia szkieletowego jest możliwy za pośrednictwem mitochondriów (21). Insulina jest hormonem o szerokim zakresie działania, syntetyzowanym przez komórki β wyspepek trzustki. Z wyjąt-



Ryc. 1. Schemat działania insuliny na komórkę mięśnia szkieletowego

kiem rzędu torbaczy nie obserwuje się znaczących różnic gatunkowych w budowie tego hormonu. Insulina wykazuje działanie pobudzające wzrost i różnicowanie komórek, których natężenie w dużym stopniu zależy od typu i stadium rozwoju komórki, jak również od wpływów środowiska zewnętrznego (34). Szczególnie wrażliwe na insulinę są mięśnie szkieletowe, przy czym w stanie spoczynkowym ich wrażliwość na insulinę jest mniejsza niż podczas wysiłku fizycznego. Wysiłek fizyczny ze względu na ogromne zapotrzebowanie mięśni na energię wymusza gwałtowny wzrost aktywności mitochondriów, co z kolei wydaje się skutkiem podwyższenia wrażliwości na insulinę.

Stany obniżonej wrażliwości na insulinę w okresie prenatalnym i ich skutki dla mięśni szkieletowych

Samice w ciąży, u których rozpoznano odwracalną cukrzycę ciążową, rodzą noworodki o znacznie wyższej masie pourodzeniowej niż samice zdrowe. Z badań rezonansowych składu ciała noworodków wynika, że ponadprzeciętna masa ciała jest w znacznej mierze skutkiem przyrostu masy mięśniowej. Uważa się, że hiperglikemia towarzysząca cukrzycy matek powoduje wzrost stężenia insuliny krążącej, która niezależnie od pochodzenia (matki lub potomstwa) oddziałuje w głównej mierze na wrażliwe na insulinę tkanki płodu, w tym przede wszystkim pobudza do wzrostu rozwijające się mięśnie szkieletowe. O istotności działania anabolicznego insuliny na mięśnie szkieletowe świadczą również obserwacje zebrane od pacjentów

insulinę, będących z kolei skutkiem zaburzeń w przekaznictwie sygnału w komórkach (28). Noworodki, u których wykryto mutacje w genie kodującym białko glukokinazę ($Gck^{+/-}$) charakteryzowały się niższą masą pourodzeniową oraz hiperglikemią w okresie okołopłodowym. Zjawisko to tłumaczy się zaburzeniami wydzielania insuliny płodowej w odpowiedzi na zwiększenie poziomu glukozy we krwi matki. Niska masa pourodzeniowa może być również wynikiem genetycznie uwarunkowanej oporności na insulinę. Zaburzeniom wzrostu płodów stwierdzono u myszy z nokautem genu *irs-1* ($Irs-1^{-/-}$) kodującym główne białko dokujące w przekaznictwie sygnału insulinowego. Zaburzeniom tym towarzyszyła insulinooporność w tkankach mięśni szkieletowych. Pomimo że myszy $Gck^{+/-}$ i $Irs-1^{-/-}$ charakteryzują się dwoma zupełnie odmiennymi defektami genetycznymi, obie grupy zwierząt odznaczały się niską masą pourodzeniową, wynikającą bezpośrednio z upośledzonego działania insuliny podczas rozwoju płodowego. Reasumując, jeśli w zdrowym organizmie płodu insulina oddziałuje w nadmiarze na wrażliwe na nią tkanki, to wzrost płodu ulega przyspieszeniu, natomiast jeśli organizm płodu dotknięty jest zaburzeniami na tle wydzielania i/lub nieprawidłowym przekaznictwem insulinowym (m.in. na tle genetycznym) – skutkiem jest zahamowanie wzrostu i zwiększona podatność na cukrzycę typu 2 w życiu dorosłym (28). Insulina w okresie prenatalnym spełnia zatem funkcję hormonu wzrostu i determinuje w przyszłości wrażliwość tkanek na jej działanie.

z obniżonym poziomem insuliny lub zmutowanym receptorem insulinowym (leprechaunizm i syndrom Rabson-Mendenhalla), u których obserwuje się wyraźny spadek masy mięśniowej (18).

U ludzi i zwierząt rosnących oporność na insulinę przyczynia się do zahamowania wzrostu. W przeciwieństwie do odwracalnej cukrzycy ciążowej niska masa pourodzeniowa (masa ciała) płodu może być spowodowana zahamowaniem wydzielania insuliny lub opornością na

Molekularny mechanizm działania insuliny na komórki z uwzględnieniem białek sygnałowych

Insulina oddziałuje na komórkę poprzez receptor błonowy, który posiada domenę kinazy tyrozynowej. Receptor dla insuliny (IR) jest tetramerem złożonym z 2 podjednostek α i 2 β połączonych mostkami dwusiarczkowymi. Podjednostki β receptora insulinowego obecne po wewnątrzcytoplazmatycznej stronie błony komórkowej pełnią funkcje kinaz tyrozynowych, które fosforylują białka docelowe (ryc. 1). Domena kinazy tyrozynowej IR zawiera rejon wiążący ATP, a zastąpienie lizyny w tym rejonie przez inny aminokwas powoduje inaktywację kinazy i utratę zdolności receptora do przenoszenia (transdukcji) sygnału (16). Związanie insuliny i autofosforylacja receptora prowadzą do jego aktywacji i fosforylacji białek z rodziny IRS (insulin receptor substrate), nazywanych białkami dokującymi.

Wydaje się, że istotny jest fakt, iż wszystkie białka z rodziny białek dokujących (IRS-1, IRS-2, IRS-3, IRS-4 – uważane za najbardziej swoiste dla insuliny, oraz Gab-1, trzy izoformy Shc i p62^{dok}) łączą się z IR na bardzo krótki czas, po czym szybko się odłączają i mogą być rozpoznane przez specyficzne domeny SH2 (src homology domain 2) wielu innych białek regulacyjnych. Utrata zdolności odłączania może być przyczyną utraty wrażliwości na insulinę (9). Różnorodność interakcji, w jakie wchodzi białka IRS decyduje o pleiotropowym charakterze działania insuliny na organizm.

Oslabienie sygnałów przekazywanych za pośrednictwem IRS może prowadzić do stanu diabetogennego, z kolei zbyt silne wzmocnienie tych sygnałów sprzyja rozwojowi guzów (mięsaki – sarcoma), których wzrost zależy od insuliny (34). Dzięki licznym miejscom fosforylacji oraz interakcji z IR białka IRS umożliwiają połączenie z licznymi docelowymi białkami cytoplazmatycznymi, białkami adaptorowymi i enzymami ważnymi w metabolizmie komórki. Należą do nich: regulatorowa podjednostka 3-kinazy fosfatydyloinozytolu (PI-3K), białkowa fosfataza tyrozynowa 2 (PTP2, SHP2) oraz białko Grb-2 i kinazy tyrozynowe cytosolowe: Nck, Fyn i Crk. Sygnał pochodzący od insuliny przekazywany może być również przez bezpośrednią interakcję IR z PI-3K, bez udziału białek z rodziny IRS (15).

Insulina potrafi aktywować dwa najważniejsze tor sygnałowe w komórce. Pierwszym z nich jest tor przekazywania sygnału zależny od Ras/MAPK, który odpowiada za proliferację komórek, drugim zaś tor zależny od 3-kinazy fosfatydyloinozytolu (PI-3K), który decyduje o wzroście komórek, przeżywalności, różnicowaniu oraz homeostazie metabolicznej (32). PI-3K jest enzymem składającym się z podjednostki regulatorowej (p85) i katalitycznej (110 kDa). Ta ostatnia odpowiada za fosforylację fosfatydyloinozytolu znajdujących się w błonach komórki (31). Aktywność enzymu

wzrasta, jeśli obie domeny SH2 jednostki p85 zostaną zajęte przez IRS-1. Wewnątrzkomórkowa kaskada przekazywania sygnału insulinowego katalizowana jest dalej przez białkowe kinazy serynowo-treoninowe wśród nich PKB (protein kinase B) zależną od PI-3K (1) oraz ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1, 2) zależne od Ras, Raf i kinazę o podwójnej swoistości MEK-1, zarazem hierarchicznie nadrzędną dla ERK1/2 (MAPKK) (25).

Insulina, mitochondria a wzrost, rozwój i czynność mięśni szkieletowych

W kulturach *in vitro* komórek miogennych sygnał pochodzący od insuliny pobudza metabolizm komórki, mitogenezę, jak również w sprzyjających warunkach różnicowanie komórek. Wykazano, że w hodowlach komórek satelitowych myszy linii C2C12, które osiągnęły stan jednowarstwy, insulina stymuluje miogenezę (27). Po wykształceniu włókien mięśniowych dalsze różnicowanie mięśni polega m.in. na zmianie ekspresji izoform ciężkiego łańcucha miozyny (MyHC), co jest ściśle związane z aerobowym lub anaerobowym typem metabolizmu włókien mięśniowych. Płodowe mięśnie o typie glikolitycznym przekształcają się w typ oksydacyjny, co wiąże się z biogenezą mitochondriów oraz modyfikacjami ich aparatu enzymatycznego (wzrost natężenia fosforylacji oksydacyjnej) (10). Wzrost aktywności enzymów cyklu Krebsa towarzyszący dojrzewaniu włókien mięśni szkieletowych w czasie rozwoju płodowego sugeruje istotny udział mitochondrium w różnicowaniu komórek miogennych. Aktywność enzymów oksydacyjnych w mięśniach szybkich utrzymuje się na niskim poziomie, ponieważ głównym źródłem energii dla tego typu włókien są procesy glikolizy, natomiast metabolizm mięśni poddawanych cyklicznie regularnemu, długotrwałemu treningowi ulega przekształceniu w typ bardziej oksydacyjny, czemu towarzyszy wzrost aktywności mitochondrialnych enzymów oksydacyjnych oraz wzrost masy mięśniowej. Przeprowadzono badania, w których w mięśniach glikolitycznych wywołano nadekspresję miogeniny – czynnika transkrypcyjnego warunkującego terminalne różnicowanie mięśni. Zaobserwowano charakterystyczny dla mięśni oksydacyjnych wzrost aktywności enzymów dehydrogenazy bursztynianowej SDH i dehydrogenazy NADH, mimo braku zmian w ekspresji izoformy łańcucha ciężkiego miozyny (MyHC). Jednocześnie komórki transfekowane miogeniną były cieńsze i fenotypowo przypominały włókna mięśni długotrwale trenowanych fizycznie (8).

Miogeneza pobudzana hormonami tarczycy jest uzależniona od aktywności i stanu energetycznego mitochondriów (5, 33). Badania mające na celu wyjaśnienie przyczyn zaburzeń czynności mięśni szkieletowych coraz częściej wskazują na różnego rodzaju zaburzenia funkcji mitochondriów. Zmiany patologiczne będące wynikiem defektów mitochondrialnego łańcucha

oddechowego są najlepiej widoczne w mięśniach i OUN. Nie dziwi zatem, że encefalopatie są często skutkiem mutacji w mitochondrialnym DNA lub sekwencjach genomowego DNA kodujących białka mitochondrialne. W dostępnym piśmiennictwie coraz częściej napotkać można opisy chorób spowodowanych mutacjami w obrębie mitochondrialnego DNA, w których obrazie klinicznym nierzadko występują zmiany degeneracyjne tkanki mięśniowej (11, 12, 20, 26).

Insulina stanowi prawdopodobnie jeden z zasadniczych czynników regulacyjnych wpływających na zmiany zachodzące w mitochondriach podczas różnicowania mięśni. Na przykład u ludzi insulina pobudza w sposób selektywny syntezę białek mitochondrialnych w mięśniach szkieletowych i jest w stanie aktywować niektóre enzymy mitochondrialne (4). Różnicowanie mięśni jest procesem energochłonnym wymagającym od komórek szeregu przekształceń strukturalnych. Wspomniana już i zależna od PI-3K kinaza PKB/Akt działa jako regulator zależnych od insuliny procesów, takich jak: transport glukozy, glikoliza, glikogeneza, synteza białek, lipogeneza, hamowanie glukoneogenezy, przeżywalność komórek. Kinaza PKB/Akt w odpowiedzi na ufosforylowanie przez klasę I PI-3K pierścienia 4,5-difosforanu fosfatydyloinozytolu w pozycji 3' (PIP3) ulega translokacji do błony komórkowej, gdzie pod wpływem PDK1 podlega najpierw fosforylacji (czytaj aktywacji) w pozycji Thr308, a następnie pod wpływem PDK2 lub autofosforylacji również w pozycji Ser473. Udowodniono, że aktywna PKB/Akt przedostaje się do mitochondriów, gdzie fosforyluje β -podjednostkę ATP syntazy (ATP syntazy/ATP-azy mitochondrialnej) oraz kinazę syntazy glikogenu (glycogen synthase kinase-3 β , GSK3 β) (3). Po stymulacji insuliną stwierdzono występowanie PKB/Akt we wszystkich frakcjach mitochondrium (w zewnętrznej i wewnętrznej błonie mitochondrialnej oraz w macierzy), potwierdzając wpływ insuliny za pośrednictwem PKB/Akt na funkcje mitochondrium (3).

PKB/Akt jako regulator miogenezy i aktywności mitochondriów. Rola sensorów energetycznych

Wykazano, że wzrost ekspresji PKB β /Akt2 przyczynia się do zainicjowania transkrypcji genów miogeniny i MCK (muscle creatine kinase) w hodowli komórek linii C2C12 (27). Vandromme i wsp. (30) w przeprowadzonych wcześniej badaniach na liniach mioblastów C2.7 i L6D2 wykazali zwiększenie poziomu białka PKB β /Akt2 po zainicjowaniu miogenezy i utrzymujący się jego wysoki poziom podczas różnicowania. Ekspresja PKB α /Akt1 utrzymywała się na stałym poziomie podczas całego procesu różnicowania. Kolejnym białkiem należącym do szlaku sygnałowego zależnego od PI-3K, biorącym udział w prawidłowym różnicowaniu mięśni jest kinaza mTOR (mammalian target of rapamycin). Wykazano zależność pomiędzy aktywnością PI-3K i mTOR w indukowanej insuliną miogenezie z komórek C2C12 (27). Aktywna forma

mTOR odpowiada pośrednio za regulację biogenezy rybosomów oraz wzrost komórki, przy czym pamiętać należy, że synteza białek należy do procesów najbardziej energochłonnych. W komórkach bakteryjnych synteza białek i wzrost komórki są związane z biogenezą rybosomów i regulowane niezależnie przez dostęp wolnych aminokwasów i energii w postaci ATP. W odpowiedzi na mitogeny mTOR fosforyluje dwa kluczowe regulatory translacji w komórce: kinazę p70^{S6K} (S6 kinase 1) oraz białko 4E-BP1 (initiation factor 4E binding protein). Badania przeprowadzone przez zespół Dennisa (7) dowodzą, że indukowane przez 2-DG (2 dezoksyglukoza, inhibitor glikolizy) zmniejszenie dostępności ATP w komórce wpływa hamująco na aktywność p70^{S6K} oraz blokuje uwolnienie czynnika IF4E (initiation factor 4E) z połączeń z 4E-BP1 zależnych od kinazy mTOR. Aktywność mTOR zależy zatem od wewnątrzkomórkowego poziomu ATP (7). Wiele prac sugeruje istnienie związku pomiędzy działaniem mTOR a funkcjonowaniem mitochondriów. Wykazano, że rotenon – inhibitor oddychania mitochondrialnego, hamuje aktywność kinazy p70^{S6K}. Również zmniejszenie poziomu ATP hamuje aktywność tej kinazy. Dodatkowo dowiedziono, że znaczna część białka mTOR w żywych komórkach związana jest z zewnętrzną błoną mitochondrialną. Tokunaga i wsp. (29) sugerują, że niekorzystne zmiany w funkcjonowaniu mitochondriów powodują uaktywnienie AMPK (AMP-activated protein kinase), która z kolei prowadzi do zahamowania aktywności toru sygnałowego mTOR – p70^{S6K}. Związek pomiędzy mTOR i ścieżką sygnałową AMPK może być powodem, dla którego mTOR wykazuje dużą wrażliwość na zmiany stężenia ATP (29). Udowodniono również, że oddychanie mitochondrialne ulega zahamowaniu w warunkach deficytu czynników wzrostu (13) m.in. insuliny. W przypadku otyłości i cukrzycy typu 2 objawiających się opornością na insulinę obserwuje się spadek aktywności enzymów mitochondrialnych, co jest wynikiem przestawienia na tryb beztlenowy toru pozyskiwania energii przez komórki mięśni (6).

Insulinooporność w obrębie mięśni szkieletowych a zmiany w mitochondriach

Mechanizmy modulujące przekaznictwo sygnału insulinowego mogą wywołać zjawisko oporności na insulinę obserwowane w przypadkach otyłości, starzenia się organizmu czy cukrzycy typu 2 (31). Cukrzyca typu 2 charakteryzuje się rozwiniętą opornością na insulinę, której towarzyszą, jak wskazuje coraz więcej doniesień, zmiany w wyglądzie i działaniu mitochondriów. Szczególnie w obrębie tkanki mięśniowej u chorych na cukrzycę i osobników z rozwiniętą opornością na insulinę na tle starzenia się organizmu dowiedziono istnienia licznych nieprawidłowości w mitochondriach (4). Oporność na insulinę u ludzi starszych ma związek z obniżoną aktywnością oddechową mitochondriów oraz wzrostem zawartości tłuszczu

czu w wątrobie i mięśniach szkieletowych (23). Dotychczas nie udowodniono bezpośredniego związku przyczynowo-skutkowego pomiędzy insuliną a wytwarzaniem ATP w różnicujących się komórkach mięśni. Ostatnie doniesienia wskazują jednak, iż insulina pobudza syntezę białek mitochondrialnych i produkcję ATP w mięśniach organizmów dorosłych. Działanie to jest upośledzone u pacjentów z cukrzycą insulino-niezależną (typ 2) i u ludzi starszych, u których występuje zjawisko insulinooporności. Zahamowanie syntezy białek mitochondrialnych w komórkach starzejących się organizmów tłumaczy się uszkodzeniami na skutek działania wolnych rodników powstających z reaktywnych form tlenu (RFT) przy okazji niepełnej redukcji tlenu w mitochondrialnym łańcuchu oddechowym. Jednoniciowe DNA mitochondrialne w odróżnieniu od dwuniciowego DNA genomowego jest znacznie bardziej podatne na wszelkiego rodzaju uszkodzenia, szczególnie mutacje punktowe i delecje będące wynikiem szkodliwego wpływu RFT. Zmiany prowadzące do obniżenia syntezy białek mitochondrialnych powodują z kolei upośledzenie formowania ATP w mitochondriach. W ostatnich latach dowiedziano, że insulina podwyższa ekspresję genów mitochondrialnych, syntezę białek i aktywność mitochondriów w mięśniach szkieletowych u zdrowych świń, przy czym działanie insuliny było swoiste tkankowo, albowiem nie zaobserwowano podobnego wpływu insuliny na mięsień sercowy ani wątrobę (2). Wydaje się, że poznanie relacji pomiędzy insuliną, wrażliwością mięśni szkieletowych na jej działanie, aktywnością mitochondriów a masą mięśniową zwierząt i ludzi może mieć podstawowe znaczenie dla zrozumienia mechanizmów regulujących wzrost mięśni w okresie pre- i okołонатelnym, a w konsekwencji na udział mięśni w całkowitej masie ciała. Z kolei w przyszłości może pomóc w prognozowaniu stopnia ryzyka wystąpienia kacheksji mięśniowej na tle diabetogennym (zachorowalność na cukrzycę typu 2) i skutków starzenia się w mięśniach szkieletowych.

Piśmiennictwo

1. *Adi S., Wu N., Rosenthal S. M.*: Growth factor-stimulated phosphorylation of Akt and p70^{S6K} is differentially inhibited by LY294002 and wortmannin. *Endocrinol.* 2001, 142, 498-501.
2. *Barazzoni R.*: Skeletal muscle mitochondrial protein metabolism and function in ageing and type 2 diabetes. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* 2004, 7, 97-102.
3. *Bijur G. N., Jope R. S.*: Rapid accumulation of Akt in mitochondria following phosphatidylinositol 3-kinase activation. *J. Neurochem.* 2003, 87, 1427-1435.
4. *Boirie Y.*: Insulin regulation of mitochondrial proteins and oxidative phosphorylation in human muscle. *Trends Endocrinol. Metabol.* 2003, 14, 393-394.
5. *Casas F., Rochard P., Rodier A., Cassar-Malek I., Marchal-Victorin S., Wiesner R. J., Cabello G., Wrutniak C.*: A variant form of the nuclear triiodothyronine receptor c-ErbA α 1 plays a direct role in regulation of mitochondrial RNA synthesis. *Mol. Cell. Biol.* 1999, 19, 7913-7924.
6. *Crowther G. J., Milstein J. M., Jubrias S. A., Kushmerick M. J., Gronka R. K., Conley K. E.*: Altered energetic properties in skeletal muscle of men with well-controlled insulin-dependent (type 1) diabetes. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2003, 284, E655-E662.
7. *Dennis P. B., Jaeschke A., Saitoh M., Fowler B., Kozma S. C., Thomas G.*: Mammalian TOR: a homeostatic ATP sensor. *Science* 2001, 294, 1102-1105.
8. *Ekmark M., Grønevik E., Schjerling P., Gundersen K.*: Myogenin induces higher oxidative capacity in pre-existing mouse muscle fibres somatic DNA transfer. *J. Physiol.* 2003, 548, 1, 259-269.
9. *Fucini R. V., Okada S., Pessin J. E.*: Insulin-induced desensitization of extracellular signal-regulated kinase activation results from an inhibition of Raf activity independent of Ras activation and dissociation of the Grb2-Sos complex. *J. Biol. Chem.* 1999, 26, 18651-18658.
10. *Garniere H., Picard B., Jurie C., Geay Y.*: Comparison of foetal metabolic differentiation in three cattle muscles. *Reprod. Nutr. Dev.* 1999, 39, 105-112.
11. *Gellerich F. N., Deschauer M., Chen Y., Müller T., Neudecker S., Zierz S.*: Mitochondrial respiratory rates and activities of respiratory chain complexes correlate linearly with heteroplasmy of deleted mtDNA without threshold and independently of deletion size. *Biochem. Biophys. Acta* 2002, 1556, 41-52.
12. *Gellerich F. N., Trumbeckaite S., Müller T., Deschauer M., Chen Y., Gizatul-lina Z., Zierz S.*: Energetic depression caused by mitochondrial dysfunction. *Mol. Cell. Biochem.* 2004, 256/257, 391-405.
13. *Gottlieb E., Armour S. M., Thompson C. B.*: Mitochondrial respiratory control is lost during growth factor deprivation. *PNAS* 2002, 99, 12801-12806.
14. *Grizard J., Dardevet D., Papet I., Mosoni L., Patureau Mirand P., Attaix D.*: Nutrient regulation of skeletal muscle protein metabolism in animals. The involvement of hormones and substrates. *Nutr. Res. Rev.* 1995, 53, 132-156.
15. *Hill R. A., Strat A. L., Hughes N. J., Kokta T. J., Dodson M. V., Gertler A.*: Early insulin signaling cascade in a model of oxidative skeletal muscle: mouse Sol8 cell line. *Biochim. Biophys. Acta* 2004, 1693, 205-211.
16. *Holman G. D., Kasuga M.*: From receptor to transporter: insulin signalling to glucose transport. *Diabetologia* 1997, 40, 991-1003.
17. *Kelley D. E., He J., Menshikova E. V., Ritov V. B.*: Dysfunction of mitochondria in human skeletal muscle in type 2 diabetes. *Diabetes* 2002, 51, 2944-2950.
18. *Mellis R., Pruett P. B., Wang Y., Longo N.*: Gene expression in human cells with mutant insulin receptors. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 2003, 307, 1013-1020.
19. *Morio B., Hocquette J.-F., Montaurier C., Boirie Y., Bouteloup-Demange C., McCormack C., Fellmann N., Beaufre B., Ritz P.*: Muscle fatty acid oxidative capacity is a determinant of whole body fat oxidation in elderly people. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2001, 280, E143-E149.
20. *Oldfors A., Tulinus M.*: Mitochondrial encephalomyopathies. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* 2003, 62, 217-227.
21. *Orzechowski A., Grizard J., Jank M., Gajkowska B., Łokociejewska M., Zaron-Teperek M., Godlewski M.*: Dexamethasone-mediated regulation of death and differentiation of muscle cells. Is hydrogen peroxide involved in the process? *Repr. Nutr. Dev.* 2002, 42, 197-216.
22. *Orzechowski A.*: Justification for antioxidant preconditioning (or how to protect insulin-mediated actions under oxidative stress). *J. Biosci.* 2003, 28, 39-49.
23. *Petersen K. F., Belfoy D., Dufour S., Dziura J., Ariyan C., Rothman D. L., DiPietro L., Cline G. W., Shulman G. I.*: Mitochondrial dysfunction in the elderly: possible role in insulin resistance. *Science* 2003, 300, 1140-1142.
24. *Rimbert V., Boirie Y., Bedu M., Hocquette J.-F., Ritz P., Morio B.*: Muscle fat oxidative capacity is not impaired by age but physical activity: association with insulin sensitivity. *FASEB J.* 2004, 18, 737-739.
25. *Schlessinger J.*: Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* 2000, 103, 211-225.
26. *Smeitink J. A. M.*: Mitochondrial disorders: clinical presentation and diagnostic dilemmas. *J. Inher. Metab.* 2003, 26, 199-207.
27. *Sumitani S., Goya K., Testa J. R., Kouhara H., Kasayama S.*: Akt1 and Akt2 differently regulate muscle creatine kinase and myogenin gene transcription in insulin-induced differentiation of C2C12 myoblasts. *Endocrinol.* 2002, 143, 820-828.
28. *Terauchi Y., Kubota N., Tamemoto H., Sakura H., Nagai R., Akanuma Y., Kimura S., Kadowaki T.*: Insulin effect during embryogenesis determines fetal growth. A possible molecular link between birth weight and susceptibility to type 2 diabetes. *Diabetes* 2000, 49, 82-86.
29. *Tokunaga C., Yoshino K., Yonezawa K.*: mTOR integrates amino acid- and energy-sensing pathways. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 2003, 313, 443-446.
30. *Vandromme M., Rochat A., Meier R., Carnac G., Besser D., Hemmings B. A., Fernandez A., Lamb N. J. C.*: Proein kinase B β /Akt2 plays a specific role in muscle differentiation. *J. Biol. Chem.* 2001, 276, 8173-8179.
31. *Virkamäki A., Ueki K., Kahn C. R.*: Protein-protein interaction in insulin signaling and the molecular mechanisms of insulin resistance. *J. Clin. Invest.* 1999, 7, 931-943.
32. *White M. F.*: The IRS-signaling system: a network of docking proteins that mediate insulin and cytokine action. *Recent Progress Horm. Res.* 1998, 53, 119-138.
33. *Wrutniak-Cabello C., Casas F., Cabello G.*: Thyroid hormone action in mitochondria. *J. Mol. Endocrinol.* 2001, 26, 67-77.
34. *Yemush L., White M. F.*: The IRS-signaling system during insulin and cytokine action. *BioEssays* 1997, 19, 491-500.

Adres autora: dr hab. Arkadiusz Orzechowski, prof. SGGW; ul. Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa; e-mail: orzechowski@alpha.sggw.waw.pl