

ROSA, Simone Cristina da Silva et al. Determining the role of skeletal muscle microRNA-133a in early-onset insulin resistance. Online e-poster presentation. In: Internacional Conference: Primum Non Nocere, 2, 2016. Uberaba-MG, Brazil. **LIPH Science Journal**, v.3, n.3, p.11-12, Sept./Dec., 2016. www.liphscience.com

Determining the role of skeletal muscle microRNA-133a in early-onset insulin resistance

Determinando o papel do microRNA-133 no músculo esquelético durante a resistência à insulina de início precoce

[Simone Cristina da Silva Rosa](#), [Wajihah Mughal](#), Lucas Nguyen, Carlos Lohma, [Matthew Martens](#), Jared Field, Donald Chapman, Michel Aliani, Troy J. Pereira, Vernon W. Dolinsky, [Joseph William Gordon](#)

Abstract: Insulin resistance of skeletal muscle is a key event in the development of type 2 diabetes. However the molecular mechanisms that determine insulin responsiveness in muscle remain poorly defined. We hypothesize that microRNA-133a is a regulator of mitochondrial function and insulin sensitivity in muscle cells. Insulin resistance was induced in C2C12 skeletal muscle myotubes by exposure to 200 μ M palmitate. Myotubes were also treated with clenbuterol (500 nM), or vehicle control, followed by glucose uptake assay (2NBDG) to assess insulin sensitivity. Mitochondrial membrane potential was determined by TMRM staining (n=10). Protein expression was determined by western blot. Oxygen consumption was evaluated using a metabolic flux analyzer. One-way Anova determined multiple comparisons between groups and student t-test compared mean differences. We observed that exposure to palmitate resulted in reduced microRNA-133a expression. Mechanistically, we determined that microRNA-133a regulates mitochondrial function through translational inhibition of cell death modulating protein, called Nix. Furthermore, palmitate reduced mitochondrial oxygen consumption and insulin-stimulated glucose uptake, which were reversed when cells were transfected with microRNA-133a mimicking oligonucleotides ($p < 0.05$). In addition, silencing of Nix expression with RNAi technology served to prevent palmitate-induced mitochondrial dysfunction. Finally, Nix- and palmitate-induced mitochondrial depolarization were restored by clenbuterol treatment. Our data supports the hypothesis that microRNA-133a regulates mitochondrial metabolism in differentiating skeletal muscle and suggest a possible therapeutic strategy to circumvent the mitochondrial dysfunction.

Author and rapporteur of the online e-poster presentation: [Simone Cristina da Silva Rosa](#). Review Board: [Aline Dias Paiva](#), [Cláudio Roberto Simon](#), [Cristiane Paulin Simon](#), [Cristiane Tangari Dib Finholdt](#), [Delcira Aparecida Soares](#), [Euripedes Humberto Borges](#), [Heloísa Maria Marques Lessa](#), [José Waldir de Sousa Filho](#), [Jovair Libério da Cunha](#), [Magna Aspásia da Silva Fontinele Godinho](#), [Maria Beatriz de Souza Almeida Delduque](#), [Nazaré Pellizzetti Szymaniak](#), Rachel Emma Whittaker Roberts, [Rodrigo de Andrade Sá Santos](#).

ROSA, Simone Cristina da Silva et al. Determining the role of skeletal muscle microRNA-133a in early-onset insulin resistance. Online e-poster presentation. In: Internacional Conference: Primum Non Nocere, 2, 2016. Uberaba-MG, Brazil. **LIPH Science Journal**, v.3, n.3, p.11-12, Sept./Dec., 2016. www.liphscience.com

Keywords: Skeletal muscle. MicroRNA-133a. Insulin resistance. Mitochondrial dysfunction. Type 2 diabetes.

Resumo: A resistência à insulina do músculo esquelético é um acontecimento chave no desenvolvimento da diabetes tipo 2. No entanto, os mecanismos moleculares que determinam a capacidade de resposta à insulina no músculo permanecem mal definidos. Nós hipotetizamos que o microRNA-133a é um regulador da função mitocondrial e sensibilidade à insulina em células musculares. Miotubos de células musculares C2C12 foram induzidas a resistência à insulina através da exposição à 200 μ M de palmitato. Os miotubos também foram tratados com clenbuterol (500 nM), ou veículo de controle, seguido do ensaio de absorção de glicose (2NBDG) para avaliar a sensibilidade à insulina. Determinação do potencial de membrana mitocondrial foi dado através do indicador de fluorescência TMRM (n=10). Western blot foi usado para determinar a expressão de proteínas. O consumo de oxigênio foi avaliado utilizando um analisador de fluxo metabólico. One-way Anova determinou múltiplas comparações entre grupos e teste “t” Student para comparar as diferenças entre as médias. Observamos que a exposição ao palmitato resultou em redução da expressão do microRNA-133a. Mecanicamente, determinamos que o microRNA-133a regula a função mitocondrial através da inibição da tradução da proteína de modulação de morte celular, chamada Nix. Além disso, palmitato reduziu o consumo de oxigênio mitocondrial e a absorção de glicose estimulada por insulina, os quais foram revertidos quando as células foram transfectadas com oligonucleotídeos mimetizando microRNA-133a (p <0,05). Outrossim, o silenciamento da expressão de Nix com tecnologia RNAi serviu para prevenir a disfunção mitocondrial induzida por palmitato. Finalmente, Nix- e despolarização mitocondrial induzida por palmitato foram restauradas através do tratamento com a droga clenbuterol. Nossos dados suportam a hipótese de que o microRNA-133a regula o metabolismo mitocondrial no músculo esquelético em diferenciação e sugerem uma possível estratégia terapêutica para contornar a disfunção mitocondrial.

Palavras-chave: Músculo esquelético. MicroRNA-133a. Resistência à insulina. Disfunção mitocondrial. Diabetes tipo 2.

Author and rapporteur of the online e-poster presentation: [Simone Cristina da Silva Rosa](#). Review Board: [Aline Dias Paiva](#), [Cláudio Roberto Simon](#), [Cristiane Paulin Simon](#), [Cristiane Tangari Dib Finholdt](#), [Delcira Aparecida Soares](#), [Euripedes Humberto Borges](#), [Heloísa Maria Marques Lessa](#), [José Waldir de Sousa Filho](#), [Jovair Libério da Cunha](#), [Magna Aspásia da Silva Fontinele Godinho](#), [Maria Beatriz de Souza Almeida Delduque](#), [Nazaré Pellizzetti Szymaniak](#), Rachel Emma Whittaker Roberts, [Rodrigo de Andrade Sá Santos](#).