

ROSA, Simone Cristina da Silva et al. Online e-poster presentation: Therapeutic Targeting of Skeletal Muscle Nix on Early-Onset Insulin Resistance. In: 2017 International Conference: *Primum Non Nocere*. **LIPH Science Journal**, v.4, n.3, p. 19, Sept./Dec., 2017. <www.liphscience.com>

Therapeutic Targeting of Skeletal Muscle Nix in Early-Onset Insulin Resistance

Proteína Nix do músculo esquelético alvo terapêutico durante resistência à insulina precoce

[Simone Cristina da Silva Rosa](#), [Lucas Nguyen*](#), [Donald Chapman*](#), [Yan Hai*](#), [Christof Rampitsch*](#), [Vernon Dolinsky*](#), [Joseph William Gordon](#)

Abstract: Fetal exposure to diabetes during pregnancy increases the risk for early-onset insulin resistance in the offspring. However, the key molecular regulators responsible for fetal metabolic programming have not been characterized in muscle tissue. Previously, we demonstrated that the expression of a mitochondrial death gene, named Nix, was elevated in the skeletal muscle of rats exposed to gestational diabetes. Here, through a detailed phospho-peptide mapping of Nix, we identify a novel phosphorylation residue within the transmembrane domain, activated by clenbuterol treatment that serves to prevent Nix-induced mitochondrial dysfunction in muscle cells. Inhibition of Nix through PKA phosphorylation reverses mitochondrial depolarization and insulin resistance in cultured muscle cells exposed to a lipotoxic environment. Furthermore, mitochondrial depolarization was prevented by PKA-activating drug clenbuterol and cilomilast, and muscle glucose uptake levels were restored when Nix was knocked down using ShRNA targeting Nix plasmid transfection. Consistent with these findings, phosphorylation of Nix (by PKA) activated by clenbuterol could also be detected by our custom made antibody, which only recognizes Nix phosphorylation at S212 site. Finally, our data supports the hypothesis that Nix regulates mitochondrial metabolism in differentiating skeletal muscle and suggest a possible therapeutic strategy to circumvent the mitochondrial dysfunction characteristic of insulin resistance.

Keywords: NIX. Insulin resistance. Skeletal muscle. Type 2 Diabetes. PKA. Clenbuterol. Mitochondrial dysfunction.

Resumo: A exposição do feto ao diabetes gestacional aumenta o risco de resistência à insulina de início precoce na prole. No entanto, os principais reguladores moleculares responsáveis pela programação metabólica fetal ainda não foram caracterizados no tecido muscular esquelético. Anteriormente, demonstramos que a expressão de um gene mitocondrial associado à morte celular, chamado Nix, estava elevada no músculo esquelético de ratos expostos à diabetes gestacional. Através de um mapeamento detalhado do fósfo-peptídeo Nix, identificamos um novo resíduo de fosforilação no domínio transmembranar, ativado pelo tratamento com clenbuterol que serve para prevenir a disfunção mitocondrial induzida por Nix nas células musculares. A inibição de Nix através da fosforilação por proteína quinase A (PKA) inverte a despolarização mitocondrial e a resistência à insulina em células musculares cultivadas expostas a um ambiente lipotóxico. Além disso, a despolarização mitocondrial foi prevenida pelo fármaco ativador de PKA clenbuterol e cilomilast, e os níveis de absorção de glicose muscular foram restaurados quando Nix foi inibido usando-se ShRNA Nix via transfecção celular. De acordo com esses achados, a fosforilação de Nix (por PKA) ativada por clenbuterol também pode ser detectada pelo nosso anticorpo customizado chamado Fósfo-Nix (p-Nix), que somente reconhece a fosforilação de Nix no site S212. Finalmente, nossos dados suportam a hipótese de que Nix regula o metabolismo mitocondrial na diferenciação do músculo esquelético e sugere uma possível estratégia terapêutica para contornar a disfunção mitocondrial característica da resistência à insulina.

Palavras-chave: NIX. Resistência à insulina. Músculo esquelético. Diabetes tipo 2. PKA. Clenbuterol. Disfunção mitocondrial.

Rapporteur: [Simone Cristina da Silva Rosa](#); e-poster Review Board: [Maria Emília Soares Martins dos Santos](#), [Aldo Rogelias Aquiles Rodrigues](#), [André Luiz Pedrosa](#), [Igor de Oliveira Loss](#), [José Bento de Oliveira Neto](#), [Magna Aspásia da Silva Fontinele Godinho](#), [Nilza Consuelo Alves Pinheiro](#), [Vicente de Paula Antunes Teixeira](#) * Children's Hospital Research Institute of Manitoba, Department of Human Anatomy and Cell Science, Rady Faculty of Health Sciences, College of Medicine, University of Manitoba (UofM), Canada.