

## Ectopic BAT mUCP-1 overexpression in SKM by delivering a BMP7/PRDM16/PGC-1a gene cocktail or single PRMD16 using non-viral UTMD gene therapy.

Shuyuan, Chen; Bastarrachea, Raul A.; Shen, Jin-Song; Laviada-Nage, Antonio; Rodriguez-Ayala, Ernesto; Nava-Gonzalez, Edna J.; Huang, Pintong; De Fronzo, Ralph A.; Kent Jr., Jack W.; Grayburn, Paul A.

### **Resumen.**

Presentamos aquí nuestro progreso en la inducción de un fenotipo de tejido adiposo marrón ectópico (TAM) en el músculo esquelético (ME) como una potencial terapia genética para la obesidad y sus comorbilidades. Utilizamos la destrucción de microburbujas dirigida mediante ultrasonido (DMDU), un enfoque novedoso no viral de la terapia génica para administrar genes en la vía de diferenciación del fenotipo de TAM en el ME del roedor para diseñar un fenotipo de TAM termogénico con sobreexpresión ectópica mUCP-1. De forma paralela, realizamos un segundo protocolo utilizando ratones knockout silvestres UCP-1 nulo para probar si los efectos de la terapia genética son dependientes de UCP-1. Nuestros principales

hallazgos fueron una fuerte presencia celular de inmunotinción (IHQ) con mUCP-1, niveles de expresión de mUCP-1 significativamente más elevados medidos por qRT-PCR y elevación de la temperatura más alta medida por termografía infrarroja en el muslo tratado, el cual se logró en ratas luego de administrarles un cóctel de los genes UTMD-PRDM16/PGC-1a/BMP7/hyPB. Curiosamente, la pérdida de peso alcanzada en las ratas tratadas con la administración del triple gen, nunca recuperó los niveles observados en los controles a pesar de la recuperación en la ingesta de alimentos. Nuestros resultados establecen la factibilidad de la administración de la terapia basada en el gen DMDU mínimamente invasiva en el ME para inducir la sobreexpresión del ectópico mUCP-1 después del suministro del programa genético de TAM y describir los efectos sistémicos de esta intervención en la ingesta de alimentos, la pérdida de peso y la termogénesis.

### **Abstract.**

Here we present our progress in inducing an ectopic brown adipose tissue (BAT) phenotype in skeletal muscle (SKM) as a potential gene therapy for obesity and its comorbidities. We used ultrasound-targeted microbubble destruction (UTMD), a novel targeted, non-viral approach to gene therapy, to deliver genes in the BAT differentiation pathway into rodent SKM to engineer a thermogenic BAT phenotype with ectopic mUCP-1 overexpression. In parallel, we

performed a second protocol using wild-type Ucp-1-null knockout mice to test whether the effects of the gene therapy are UCP-1 dependent. Our main findings were a robust cellular presence of mUCP-1 immunostaining (IHC), significantly higher expression levels of mUCP-1 measured by qRT-PCR, and highest temperature elevation measured by infrared thermography in the treated thigh, achieved in rats after delivering the UTMD-PRDM16/PGC-1a/BMP7/hyPB gene cocktail. Interestingly, the weight loss obtained in the treated rats with the triple gene delivery, never recovered the levels observed in the controls in spite of food intake recovery. Our results establish the feasibility of minimally invasive UTMD gene-based therapy administration in SKM, to induce overexpression of ectopic mUCP-1 after delivery of the thermogenic BAT gene program, and describe systemic effects of this intervention on food intake, weight loss, and thermogenesis.

### **Bibliografía.**

Shuyuan, C., Bastarrachea, R., Shen, J., Laviada, A., Rodriguez, E., Nava, E., Huang, P., De Fronzo, R., Kent, J., & Grayburn, P. (2018). Ectopic BAT mUCP-1 overexpression in SKM by delivering a BMP7/PRDM16/PGC-1a gene cocktail or single PRMD16 using non-viral UTMD gene therapy. *Gene therapy*, 25(7), 497-509. Disponible en [10.1038/s41434-018-0036-5](https://doi.org/10.1038/s41434-018-0036-5).