

ANTIGRAVIDADE SIMULADA LEVOU À TRANSFORMAÇÃO DO METABOLISMO DE GLICOLÍPIDIOS NO FÍGADO DE CAMUNDONGOS

ARTIGO DE ATUALIZAÇÃO
UPDATE ARTICLE
ACTUALIZAR ARTÍCULO

SIMULATED WEIGHTLESSNESS LED TO THE TRANSFORMATION OF GLYCOLIPID METABOLISM IN THE LIVERS OF MICE

LA ANTIGRAVEDAD SIMULADA PROVOCÓ LA TRANSFORMACIÓN DEL METABOLISMO DE LOS GLICOLÍPIDOS EN EL HÍGADO DE RATONES

Ya-Fei Chen¹ 
(Profissional de Fisiologia Esportiva)
Xing-Chen Wang¹ 
(Profissional de Fisiologia)
Zhe Wang¹ 
(Profissional de Educação em Fisiologia)
Le Chen¹ 
(Profissional de Fisiologia)
Xi-Wei Liu¹ 
(Profissional de Fisiologia)
Xin-Yi Song¹ 
(Profissional de Fisiologia)
Jing-Wen Zhang¹ 
(Profissional de Fisiologia)
Chuan-Li Wang¹ 
(Profissional de Fisiologia)
Yang-Yang Guo¹ 
(Profissional de Ecologia Fisiológica)
Jin-Hui Xu¹ 
(Profissional de Educação em Fisiologia)

1. Qufu Normal University,
Faculdade de Ciências da Vida
Qufu, Shandong, China.

Correspondência:

Zhe Wang
Qufu Normal University, Faculdade
de Ciências da Vida Qufu,
Shandong, China. 273165.
qfwz@qfnu.edu.cn

RESUMO

Objetivos: Os efeitos da antigravidade no fígado foram estudados usando um modelo de camundongo macho com a suspensão pela cauda (TS, *tail suspension*). **Métodos:** Foram examinados os efeitos da TS em 0, 2 e 4 semanas (grupos CON, TS2 e TS4) sobre o conteúdo de glicogênio e lipídios, bem como nos processos moleculares das vias de síntese e degradação. **Resultados:** (1) O número de glicogenossomos ultraestruturais e o teor de glicogênio foram expressivamente maiores no grupo TS4 do que nos outros dois grupos. (2) No grupo TS4, a atividade de glicogênio sintase permaneceu constante, enquanto a atividade de glicogênio fosforilase caiu, indicando que a degradação do glicogênio foi reduzida. (3) Os fígados do grupo TS2 tiveram o maior teor lipídico e de triglicérides, indicando acúmulo de lipídios no fígado no momento. (4) No grupo TS2, a atividade dos fatores relacionados com a síntese de ácidos graxos acetil-CoA carboxilase e ácido graxo sintase aumentaram, enquanto a lipase hepática diminuiu, indicando que a síntese de lipídios aumentou, enquanto a decomposição diminuiu. (5) No grupo TS2, a expressão proteica dos transportadores de glicose 1 e 2 aumentou. **Conclusões:** De TS2 semanas para TS4 semanas, o principal modo de consumo de energia no fígado de camundongos passou do metabolismo da glicose para o metabolismo lipídico, à medida que o uso de glicose diminuiu. **Nível de evidência II, Estudo retrospectivo comparativo.**

Descritores: Microgravidade; Elevação dos membros posteriores; Glicogênio; Lipídios.

ABSTRACT

Objectives: The effects of weightlessness on the liver were studied using a tail suspension (TS) male mouse model. **Methods:** The effects of 0-, 2- and 4-week TS (CON, TS2 and TS4 groups) on glycogen and lipid content, as well as on the molecular processes of the synthesis and degradation pathways, were examined. **Results:** (1) The number of glycogenosomes under ultrastructure and the glycogen content were considerably larger in the TS4 group than in the other two groups. (2) In the TS4 group, glycogen synthase activity remained constant while glycogen phosphorylase activity dropped, indicating that glycogen breakdown was reduced. (3) The livers of the TS2 group had the highest lipid and triglyceride content, indicating lipid buildup in the liver at this time. (4) In the TS2 group, the activities of the fatty acid synthesis-related factors acetyl-CoA carboxylase and fatty acid synthase increased, while hepatic lipase decreased, indicating that lipid synthesis increased, while decomposition decreased. (5) In the TS2 group, the protein expression of glucose transporters 1 and 2 increased. **Conclusions:** From TS2 weeks to TS4 weeks, the main energy consumption mode in the livers of mice transitioned from glucose metabolism to lipid metabolism as glucose use decreased. **Level of evidence II; Comparative prospective study.**

Keywords: Microgravity; Hindlimb suspension; Glycogen; Lipids.

RESUMEN

Objetivos: Se estudiaron los efectos de la antigraedad en el hígado utilizando un modelo de ratón macho en prueba de suspensión de la cola (TS, *tail suspension*). **Métodos:** Se examinaron los efectos de la TS a las 0, 2 y 4 semanas (grupos CON, TS2 y TS4) sobre el contenido de glucógeno y lipídios, así como sobre los procesos moleculares de las vías de síntesis y degradación. **Resultados:** (1) El número de glucogenosomas ultraestructurales y el contenido de glucógeno fueron expresivamente más altos en el grupo TS4 que en los otros dos grupos. (2) En el grupo TS4, la actividad de la glucógeno sintasa se mantuvo constante, mientras que la actividad de la glucógeno fosforilasa disminuyó, lo que indica que la degradación del glucógeno se redujo. (3) Los hígados del grupo TS2 presentaron el mayor contenido de lipídios y triglicéridos, lo que indica la acumulación de lipídios en el hígado en ese momento. (4) En el grupo TS2, la actividad de los factores relacionados con la síntesis de ácidos grasos acetil-CoA carboxilasa y ácido graso sintasa aumentó, mientras que la lipasa hepática disminuyó, indicando que la síntesis de lipídios aumentó mientras que la



descomposición disminuyó. (5) En el grupo TS2, la expresión proteica de los transportadores de glucosa 1 y 2 aumentó. Conclusiones: Desde la semana TS2 hasta la semana TS4, el principal modo de consumo de energía en el hígado de los ratones pasó del metabolismo de la glucosa al metabolismo de los lípidos a medida que disminuía el uso de la glucosa. **Nivel de Evidencia II, Estudio retrospectivo comparativo.**

Descriptor: Microgravedad; Suspensión trasera; Glucógeno; Lípidos.

DOI: http://dx.doi.org/10.1590/1517-8692202329022022_0115p

Artigo recebido em 02/02/2022 aprovado em 24/05/2022

INTRODUÇÃO

Um dos desafios fundamentais da biologia e da medicina espacial é simular algumas das consequências fisiológicas da antigravidade durante as viagens espaciais.¹ A atividade de 30 enzimas envolvidas no metabolismo de glicolípídios no fígado de camundongos foi alterada pelo biossatélite Cosmos 936,² e anormalidades do metabolismo glicolípídico podem resultar em uma variedade de doenças.³ A suspensão pela cauda (TS) é um modelo animal comum para simular as consequências da antigravidade; constatou-se que ela causa danos no fígado, incluindo degeneração granular extensa, inflamação crônica e fibrose portal, depois de 10 dias e 4 semanas de TS.⁴ A quantidade de lipídios totais no fígado de camundongos aumentou significativamente depois de 10 dias de TS,⁵ enquanto a expressão de genes envolvidos no metabolismo dos triglicérides aumentou significativamente depois de 21 dias de TS.⁶ Ainda não está claro se extensões variadas de antigravidade simulada influenciam o metabolismo glicolípídico hepático, e o mecanismo por trás dessa influência ainda não foi descoberto.

A glicogênio sintase (GS), uma enzima essencial para a formação do glicogênio, polimeriza a UDP-glicose para produzir grânulos de glicogênio, e seu estado ativo é GS fosforilada (P-GS).^{7,8} A enzima limitante de velocidade, glicogênio fosforilase (GYPL), degrada os grânulos de glicogênio em glicose.⁹ O método direto de produção de glicogênio requer um ou mais transportadores de glicose para levá-la para dentro das células (GLUTs).¹⁰ Os estudos mostraram que o nível de atividade da glicogênio fosforilase no fígado de camundongos depois do voo espacial diminui, mas não está claro como o nível de síntese de glicogênio muda.¹¹ Assim, estudos sobre os fatores acima podem ajudar a revelar o mecanismo relacionado com as alterações do conteúdo de glicogênio hepático sob antigravidade simulada.

A acetil-CoA carboxilase (ACC) é uma enzima essencial limitadora de velocidade no metabolismo dos ácidos graxos.¹² A ácido graxo sintase (FASN) é uma enzima vital que catalisa a síntese de novo de ácidos graxos de cadeia longa.¹³ A lipase hepática (HL) é uma enzima produzida principalmente pelos hepatócitos e hidrolisa fosfolípídios e triglicérides das lipoproteínas plasmáticas.¹⁴ É preciso estudar os fatores relacionados com os lipídios na microgravidade.

Com base no exposto, levantamos a hipótese de que diferentes períodos de TS levam à transformação do metabolismo da glicose e dos lipídios no fígado de camundongos. Também levantamos a hipótese de que esses efeitos estão relacionados com as vias de sinalização de síntese e decomposição. Para testar essas hipóteses, primeiro observamos a ultraestrutura e contamos o número de glicogenossomos no fígado de camundongos depois de diferentes períodos de TS (controle, 2 semanas e 4 semanas). A coloração com óleo vermelho O foi usada para quantificar o conteúdo lipídico. Também determinamos os níveis de expressão proteica da síntese de glicogênio e ácidos graxos e sinais relacionados com a degradação. Exploramos ainda mais o mecanismo molecular relacionado com os efeitos da antigravidade simulada nas mudanças no metabolismo de glicolípídios no fígado.

MÉTODOS

Animais e grupos

Camundongos machos SPF Kunming (KM) com 5 semanas de idade foram adquiridos da Pengyue Experimental Animal Breeding Co., Ltd. (Jinan, China). Dois animais foram alojados em cada gaiola (28 × 18 × 12 cm) em temperatura ambiente de 22 ± 2 °C, umidade relativa de 55% ± 5% e regime de luz de 12:12 horas claro/escuro (luz acesa das 06h00 às 18h00). A ração padrão para camundongos (Pengyue Experimental Animal Breeding Co., Ltd., China) e água foram fornecidas *ad libitum*, e aparas de madeira foram usadas como cama.

Depois de duas semanas de adaptação com movimentação livre no laboratório, os camundongos foram numerados, pesados e divididos randomicamente em três grupos (*n* = 16). Os três grupos foram: Grupo controle (CON): camundongos com movimento livre e sem TS; Grupo TS de 2 semanas (TS2): os camundongos (de 9 semanas a 11 semanas de idade) foram suspensos pela cauda em um ângulo de 30° (entre o corpo e o plano horizontal) por 2 semanas;¹⁵ Grupo TS de 4 semanas (TS4): os camundongos (de 7 semanas a 11 semanas de idade) foram suspensos pela cauda por 4 semanas. Os três grupos foram expostos às mesmas condições de luz, temperatura e umidade e tinham 11 semanas de idade ao final do tratamento.

Preparação da amostra

Todos os animais foram sacrificados por asfixia com CO₂ às 08h00 do último dia. Depois de rápida remoção, os fígados de 8 camundongos em cada grupo foram congelados com nitrogênio líquido e armazenados a -80 °C para atividade enzimática e análise de Western Blot. Os fígados dos outros 8 camundongos foram usados para microscopia eletrônica de transmissão e experimentos com cortes congelados. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com as diretrizes aprovadas.

Microscopia eletrônica de transmissão (TEM)

O fígado foi examinado por TEM (Hitachi, HT7800, Japão), conforme descrito anteriormente.¹⁶ As imagens foram processadas com NIH Image-Pro Plus 6.0 e depois analisadas usando as ferramentas de medição fornecidas por esse *software*. As densidades de glicogenossomos foram determinadas dentro de uma região definida (área de 1 μm²) em um mínimo de três locais nas imagens obtidas com ampliação de 10 000×.

Detecção do teor de glicogênio e triglicérides

A quantidade de glicogênio no fígado dos três grupos foi determinada com o kit de ensaio de glicogênio (YX-W-B603, Shanghai Hengyuan Biological Technology, Ltd., China) pelo método da antrona.¹⁷ A quantidade de triglicérides dos três grupos foi determinada com o kit de ensaio de triglicérides (YX-W-B408, Shanghai Hengyuan Biological Technology) por espectrofotometria. Os níveis de glicogênio e triglicérides foram normalizados pela concentração de proteína celular medida com o ensaio BCA.¹⁸

Coloração com óleo vermelho (ORO)

A coloração com ORO foi usada para detectar o teor de gordura no fígado.¹⁹ Em suma, o tecido congelado foi cortado em seções de 10 μm de espessura e seco à temperatura ambiente. As lâminas foram

coloridas por imersão na solução corante de ORO dissolvida em 60% de isopropanol. As lâminas foram seladas com gelatina de glicerol e examinadas ao microscópio. A análise de quantificação dos blots foi realizada com o software NIH ImageJ (Image-Pro Plus 6.0).

Atividade de GS, GYPL, ACC, FASN, HL

As amostras armazenadas a -80 °C foram usadas para detectar a atividade de fatores relacionados. A GS ativa foi determinada com kit de ensaio de GS (C3335, Solarbio, Pequim, China) pela taxa de diminuição do NADPH. A atividade da GYPL foi determinada com um kit de ensaio de GYPL (BC3345, Solarbio) pela taxa de aumento de NADPH. A atividade da ACC foi determinada com um kit de ensaio de ACC (BC0410, Solarbio) pela taxa de aumento de fósforo inorgânico. A atividade da FASN foi determinada com um kit de ensaio da atividade da ácido graxo sintetase (BC0550, Solarbio) pela taxa de diminuição da absorção de luz a 340 nm. A atividade da HL foi determinada com um kit de ensaio de HL (BC2385, Solarbio) pela taxa de diminuição de α -naftol a 595 nm.

Western Blot

A proteína total foi extraída de tecidos e os métodos de transferência de filme, incubação e exposição foram os mesmos de antes¹⁷ e o teor total de proteínas foi usado como referência.²⁰ A análise de quantificação dos blots foi realizada com o software NIH ImageJ (Image-Pro Plus 6.0).

Análises estatísticas

O SPSS versão 22.0 foi usado para todas as análises estatísticas. Os dados são apresentados como média \pm DP. A análise de variância unidirecional (ANOVA) foi usada para determinar as diferenças gerais, e o teste *post hoc* da diferença mínima significativa de Fisher (LSD) foi usado para determinar as diferenças dos grupos. O método T2 de ANOVA-Dunnett foi usado quando não se detectou nenhuma homogeneidade. Os resultados foram significativos em $P < 0,05$.

RESULTADOS

Coefficiente do fígado de camundongos

Não foram observadas diferenças significativas do peso vivo (PV) entre os três grupos antes do experimento. Após 4 semanas de diferentes tratamentos, o PV, o comprimento corporal (CC) e o peso da carcaça (PC) dos camundongos foram maiores no grupo CON do que nos dois grupos TS ($P < 0,05$). Contudo, a relação de massa hepática (MH) para PV (MH/PV) e a razão de MH para PC (MH/PC) foram maiores no grupo TS2 ($P < 0,05$) (Tabela 1).

Os valores são médias \pm DP. $n = 16$. CON, grupo controle; TS2, grupo de suspensão pela cauda de 2 semanas; TS4, grupo de suspensão pela cauda de 4 semanas. Letras diferentes (como a e b) indicam diferenças significativas entre os grupos tratados com TS ($P < 0,05$).

Alterações ultraestruturais do fígado

Os glicogenossomos foram distribuídos em aglomerados, e o número de glicogenossomos em cada aglomerado foi diferente, variando

Tabela 1. Efeitos da TS sobre peso vivo (PV), comprimento corporal (CC), peso da carcaça (PC), massa hepática (MH), a razão MH para PV (MH/PV) e a razão MH para PC (MH/PC) em camundongos.

	COM	TS2	TS4
PV antes do tratamento (g)	31,22 \pm 1,61	31,02 \pm 1,59	31,32 \pm 1,63
PV depois do tratamento (g)	45,67 \pm 3,89 ^a	41,65 \pm 2,87 ^b	40,45 \pm 2,39 ^b
CC depois do tratamento (g)	11,21 \pm 0,49 ^a	10,38 \pm 0,49 ^b	10,50 \pm 0,71 ^b
PC depois do tratamento (g)	31,12 \pm 2,89 ^a	27,34 \pm 2,20 ^b	27,42 \pm 2,74 ^b
MH (g)	2,51 \pm 0,31 ^a	2,49 \pm 0,79 ^a	2,22 \pm 0,33 ^b
MH/PV (mg/g)	55,27 \pm 5,31 ^b	59,39 \pm 5,26 ^a	54,97 \pm 4,53 ^b
MH/PC (mg/g)	81,63 \pm 10,40 ^b	90,76 \pm 21,85 ^a	81,47 \pm 10,22 ^b

de 3 a 30. Aglomerados de glicogenossomos e mitocôndrias foram distribuídos aleatoriamente no citoplasma (Figura 1A e B). No grupo TS4, o número de glicogenossomos foi maior do que nos grupos CON e TS2 ($P < 0,05$) (Figura 1C).

(A) Ultraestrutura das células hepáticas. Barra de escala = 10 μ m. (B) Ultraestrutura do glicogenossomo. Barra de escala = 1 μ m. # mostra o núcleo e * mostra as mitocôndrias com cristas claras e membranas intactas. Nos grupos CON e TS4, a distribuição de glicogenossomos (seta) em aglomeração foi mais óbvia, enquanto no grupo TS2, os glicogenossomos pareciam ser menos abundantes por aglomeração. (C) Gráfico de barras do número de glicogenossomos. Seis figuras foram analisadas em cada amostra; quatro amostras foram analisadas em cada grupo. (D) Teor de glicogênio no fígado pelo método de antrona. Os valores são médias \pm DP. $n = 8$. CON, grupo controle; TS2, grupo de suspensão pela cauda de 2 semanas; TS4, grupo de suspensão pela cauda de 4 semanas. Letras diferentes (como a e b) indicam diferenças significativas entre os grupos tratados com TS ($P < 0,05$).

Quantificação do glicogênio

A quantificação de glicogênio mostrou tendências semelhantes ao número de glicogenossomos, com acúmulo significativo no grupo TS4 ($P < 0,05$) (Figura 1D).

Teor lipídico no fígado

Tanto a distribuição lipídica corada com óleo vermelho O quanto o teor de triglicérides no fígado mostraram que o grupo TS2 foi o mais alto ($P < 0,05$) (Figura 2).

(A) Distribuição lipídica no fígado por coloração com óleo vermelho O. Barra de escala = 50 μ m. (B) Distribuição de lipídios e núcleos no fígado por coloração com Óleo vermelho O e hematoxilina. O vermelho representa os lipídios e o azul, os núcleos. Barra de escala = 50 μ m. (C) Estatísticas de teor lipídico da coloração com óleo vermelho O. (D) Teor de triglicérides no fígado por espectrofotometria. Os valores são médias \pm DP. $n = 8$. CON, grupo controle; TS2, grupo de suspensão pela cauda de 2 semanas; TS4, grupo de suspensão pela cauda de 4 semanas. Letras diferentes (como a e b) indicam diferenças significativas entre os grupos tratados com TS ($P < 0,05$).

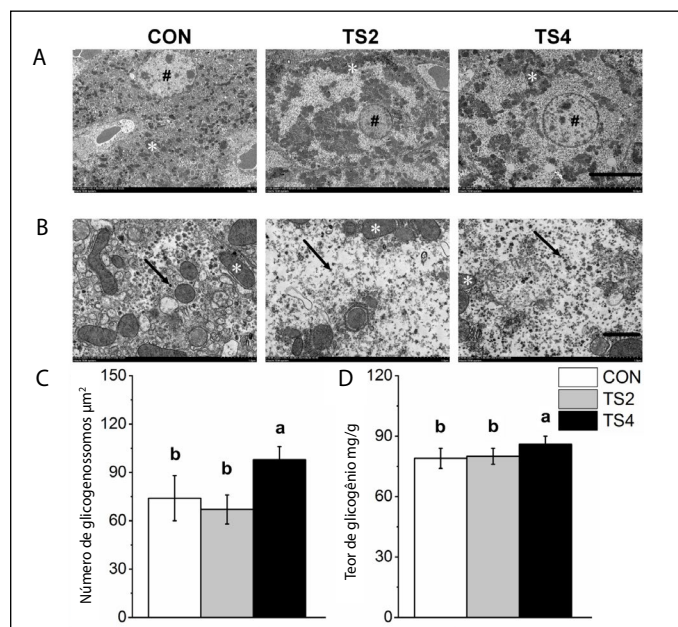


Figura 1. Ultraestrutura de glicogenossomos e teor de glicogênio no fígado de camundongos.

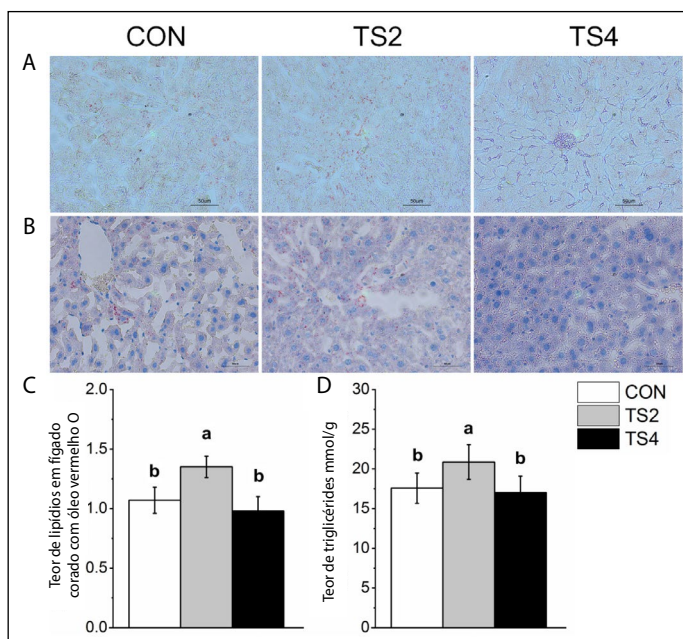


Figura 2. Distribuição lipídica e teor de triglicérides no fígado de camundongos.

Alterações dos fatores relacionados com o metabolismo do glicogênio

Os resultados mostraram que a atividade da GS no grupo CON foi significativamente maior do que no grupo TS2 ($P < 0,05$), mas o grupo TS4 não foi significativamente diferente dos grupos CON e TS2. Além disso, a atividade da GYPL mostrou uma tendência de $CON > TS2 > TS4$ ($P < 0,05$) (Figura 3).

Os valores são médias \pm DP. $n = 8$. CON, grupo controle; TS2, grupo de suspensão pela cauda de 2 semanas; TS4, grupo de suspensão pela cauda de 4 semanas. Letras diferentes (como a e b) indicam diferenças significativas entre os grupos tratados com TS ($P < 0,05$).

Alterações dos fatores relacionados com o transportador de glicose

Entre os três grupos, a expressão das proteínas GLUT1 e GLUT2 foi maior no grupo TS2 ($P < 0,05$) (Figura 4).

Os valores são médias \pm DP. $n = 8$. CON, grupo controle; TS2, grupo de suspensão pela cauda de 2 semanas; TS4, grupo de suspensão pela cauda de 4 semanas. Letras diferentes (como a e b) indicam diferenças significativas entre os grupos tratados com TS ($P < 0,05$).

Alterações nos fatores relacionados com o metabolismo lipídico

ACC e FASN, dois fatores-chave da síntese de ácidos graxos, mostraram que os níveis de atividade enzimática do grupo TS2 foram os mais altos ($P < 0,05$) entre os três grupos. A tendência do nível de atividade da enzima HL foi oposta à de ACC e FASN, que foi a mais baixa no grupo TS2 ($P < 0,05$) (Figura 5).

(A) Imunoblots representativos de GLUT1 e GLUT2. (B) Gel de poli-acrilamida representativo de proteína total. (C) Expressão proteica relativa de GLUT1. (D) Expressão proteica relativa de GLUT2. Os valores são médias \pm DP. $n = 8$. CON, grupo controle; TS2, grupo de suspensão pela cauda de 2 semanas; TS4, grupo de suspensão pela cauda de 4 semanas. Letras diferentes (como a e b) indicam diferenças significativas entre os grupos tratados com TS ($P < 0,05$).

DISCUSSÃO

Constatamos que MH/PV e MH/PC do grupo TS2 aumentaram significativamente, o que pode significar que a TS causou hipertrofia hepática em camundongos. Isso é semelhante a um estudo anterior,

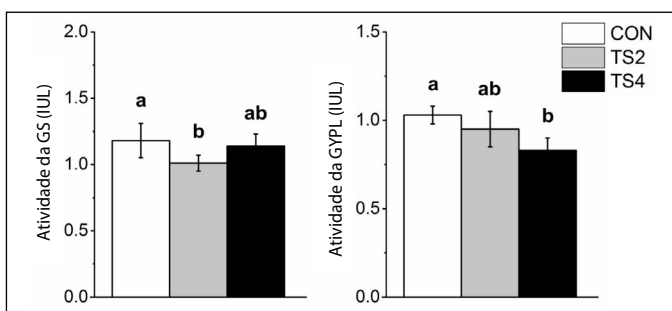


Figura 3. Atividade de GS e GYPL no fígado dos camundongos.

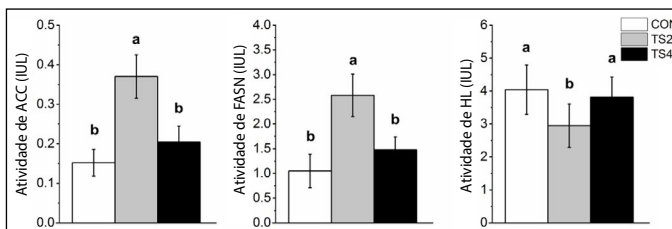


Figura 4. Atividade de ACC, FASN e HL no fígado dos camundongos.

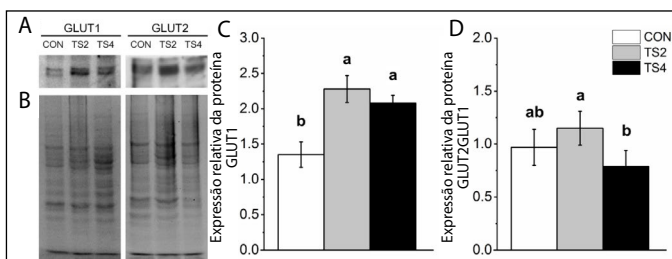


Figura 5. Expressão das proteínas GLUT1 e GLUT2 no fígado de camundongos.

que mostrou que dois meses de suspensão pela cauda resultaram em aumento significativo na razão fígado/peso vivo de camundongos,⁴ o que pode ser principalmente devido à taxa de aumento do peso do animal ser menor que a da massa hepática. A MH/PV e a MH/PC do grupo TS4 voltaram ao nível do grupo CON. Estudos demonstraram que a TS pode levar à remodelação estrutural dos músculos esqueléticos de camundongos,⁶ pressupondo, assim, que a recuperação da razão da massa hepática pode ser causada pela antigravidade simulada.

Um achado importante neste estudo é que o nível de glicogênio no fígado permaneceu inalterado no grupo TS2 e aumentou significativamente no grupo TS4. A estabilidade do metabolismo da glicose no fígado é a base da manutenção da função fisiológica normal.^{11,21} A ultraestrutura mostrou que o número de glicogenossomos no fígado de camundongos do grupo TS4 foi significativamente maior do que nos outros dois grupos, e o grau de agregação de partículas de glicogênio parecia ser maior, o que era condizente com o teor de glicogênio, indicando que a antigravidade simulada a longo prazo levou ao acúmulo de glicogênio no fígado de camundongos. A agregação de partículas de glicogênio no fígado dos camundongos do grupo TS2 parecia estar enfraquecida, o que pode sugerir que o nível de metabolismo da glicose no grupo TS2 foi maior do que no grupo TS4.

A GS é a enzima limitante da síntese de glicogênio e GYPL é o fator chave da decomposição do glicogênio.^{8,22} A detecção de seus níveis de atividade enzimática revelou que o nível de atividade da GS diminuiu e a GYPL permaneceu estável no grupo TS2, sugerindo que o nível de síntese de glicogênio diminuiu e o nível de decomposição de glicogênio permaneceu basicamente estável no fígado dos camundongos suspensos por duas semanas, o que pode ser a razão para a ligeira diminuição do número de partículas de glicogênio na ultraestrutura. Deve-se ressaltar que o nível de atividade de GS no fígado do grupo TS4 permaneceu

inalterado, enquanto GYPL diminuiu, sugerindo a manutenção dos níveis de síntese de glicogênio e a redução dos níveis de decomposição de glicogênio no fígado de camundongos ao redor das suspensões pela cauda. Portanto, de 2 semanas para 4 semanas, descobrimos que a diminuição dos níveis de decomposição do glicogênio pode significar a diminuição nos níveis de metabolismo da glicose. Isso foi verificado pelo estudo de GLUT. Os resultados da expressão proteica mostraram que GLUT1 e GLUT2 no grupo TS4 foram significativamente menores do que no grupo TS2, sugerindo que a capacidade de transporte de glicose diminuiu de 2 semanas para 4 semanas, o que pode significar uma diminuição nos níveis de metabolismo da glicose.

Outro achado importante foi o acúmulo de conteúdo lipídico no fígado no grupo TS2 e a recuperação do grupo TS4. O fígado é o órgão mais importante para a síntese de lipídios (principalmente triglicérides), mas não é um órgão de armazenamento.²³ O aumento do conteúdo lipídico no fígado no grupo TS2 pode significar que a utilização de gordura pelo organismo é reduzida. Nesse momento, a hipertrofia hepática também pode ser causada pelo acúmulo de lipídios. A síntese de ácidos graxos é a base do acúmulo de lipídios. Neste estudo, as atividades de ACC e FASN, dois fatores-chave relacionados com a síntese de ácidos graxos, foram aumentadas expressivamente no grupo TS2, indicando aumento nos níveis de síntese de ácidos graxos. A diminuição da atividade da HL indica diminuição nos níveis de decomposição de ácidos graxos, que pode ser a principal razão

para o acúmulo de lipídios no fígado. Além disso, combinado com a tendência de mudança do conteúdo de glicogênio, descobrimos que o acúmulo de lipídios e glicogênio foram estáveis no grupo TS2, enquanto a recuperação dos lipídios e o acúmulo de glicogênio foram estáveis no grupo TS4. Isso pode significar que, com a extensão do tempo de suspensão pela cauda, o principal modo de metabolismo do material energético no fígado foi transformado do metabolismo da glicose para o metabolismo dos lipídios.

Declaração de ética

Todos os procedimentos seguiram as Diretrizes para Animais de Laboratório para a Revisão Ética do Bem-Estar Animal (GB/T 35892-2018) e foram aprovados pelo Comitê de Ética Biomédica da Qufu Normal University (Número: dwsc 2021050). Os autores declaram que o estudo foi realizado de acordo com as diretrizes da ARRIVE.

Apoio financeiro

Este trabalho foi financiado por fundos da National Natural Science Foundation da China (Nº 31770455) e do Young Talents Invitation Program das Faculdades e Universidades da Província de Shandong (20190601).

Todos os autores declaram não haver qualquer potencial conflito de interesses referente a este artigo.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES: Cada autor contribuiu individual e significativamente para o desenvolvimento deste artigo. ZW e JHX: conceito e desenho da pesquisa; YFC, ZW, XCW, LC, XWL e YYS: realização dos experimentos; YFC, ZW, JWZ e CLW: análise dos dados; ZW: interpretação dos resultados experimentais; YFC e XCW: preparação das imagens; YFC, ZW e YYG: versão preliminar do texto; JHX e ZW: revisão do artigo e aprovação da versão final.

REFERÊNCIAS

- Perhonen MA, Franco F, Lane LD, Buckley JC, Blomqvist CG, Zerwekh JE, et al. Cardiac atrophy after bed rest and spaceflight. *J Appl Physiol*. 2001;91(2):645-53.
- Abraham S, Klein HP, Lin CY, Volkmann C. The effects of space flight on some rat liver enzymes regulating carbohydrate and lipid metabolism. *COSPAR*. 1981;1(14):199-217.
- Wang X, Liu J, Yang Y, Zhang X. An update on the potential role of advanced glycation end products in glycolipid metabolism. *Life Sci*. 2020;245:117344.
- Du F, Ding Y, Zou J, Li Z, Tian J, She R, et al. Morphology and Molecular Mechanisms of Hepatic Injury in Rats under Simulated Weightlessness and the Protective Effects of Resistance Training. *PLoS One*. 2015;10(5):e0127047.
- Goda T, Takase S, Yokogoshi H, Mita T, Isemura M, Hoshi T. Changes in hepatic metabolism through simulated weightlessness: decrease of glycogen and increase of lipids following prolonged immobilization in the rat. *Res Exp Med*. 1991;191(3):189-99.
- Stein TP, Schluter MD, Galante AT, Soteropoulos P, Ramirez M, Bigbee A, et al. Effect of hind limb muscle unloading on liver metabolism of rats. *J Nutr Biochem*. 2005;16(1):9-16.
- Palm DC, Rohwer JM, Hofmeyr JH. Regulation of glycogen synthase from mammalian skeletal muscle—a unifying view of allosteric and covalent regulation. *FEBS J*. 2013;280(1):2-27.
- Zeqiraj E, Sicheri F. Getting a handle on glycogen synthase - Its interaction with glycogenin. *Mol Aspects Med*. 2015;46:63-9.
- Agius L. Physiological control of liver glycogen metabolism: lessons from novel glycogen phosphorylase inhibitors. *Mini Rev Med Chem*. 2010;10(12):1175-87.
- Roach PJ, Depaoli-Roach AA, Hurley TD, Tagliabraci VS. Glycogen and its metabolism: some new developments and old themes. *Biochem J*. 2012;441(3):763-87.
- Ellingwood SS, Cheng A. Biochemical and clinical aspects of glycogen storage diseases. *J Endocrinol*. 2018;238(3):R131-41.
- Brownsey RW, Boone AN, Elliott JE, Kulpa JE, Lee WM. Regulation of acetyl-CoA carboxylase. *Biochem Soc Trans*. 2006;34(Pt 2):223-7.
- Jones SF, Infante JR. Molecular Pathways: Fatty Acid Synthase. *Clin Cancer Res*. 2015;21(24):5434-8.
- Connelly PW, Hegele RA. Hepatic lipase deficiency. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 1998;35(6):547-72.
- Hu NF, Chang H, Du B, Zhang QW, Arfat Y, Dang K, et al. Tetramethylpyrazine ameliorated disuse-induced gastrocnemius muscle atrophy in hindlimb unloading rats through suppression of Ca(2+)/ROS-mediated apoptosis. *Appl Physiol Nutr Metab*. 2017;42(2):117-27.
- Wang Z, Jiang SF, Cao J, Liu K, Xu SH, Arfat Y, et al. Novel findings on ultrastructural protection of skeletal muscle fibers during hibernation of Daurian ground squirrels: Mitochondria, nuclei, cytoskeleton, glycogen. *J Cell Physiol*. 2019;234(8):13318-31.
- Xu JH, Wang Z, Mou JJ, Wang CL, Huang WM, Xue HL, et al. Up-Regulation of Glycogen Synthesis and Degradation Enzyme Level Maintained Myocardial Glycogen in Huddling Brandt's Voles Under Cool Environments. *Front Physiol*. 2021;12:593129.
- Zhao X, Sun K, Lan Z, Song W, Cheng L, Chi W, et al. Tenofovir and adefovir down-regulate mitochondrial chaperone TRAP1 and succinate dehydrogenase subunit B to metabolically reprogram glucose metabolism and induce nephrotoxicity. *Sci Rep*. 2017;7:46344.
- Riva G, Villanova M, Cima L, Ghimenton C, Bronzoni C, Colombari R, et al. Oil Red O Is a Useful Tool to Assess Donor Liver Steatosis on Frozen Sections During Transplantation. *Transplant Proc*. 2018;50(10):3539-43.
- Wang Z, Xu JH, Mou JJ, Kong XT, Zou JW, Xue HL, et al. Novel ultrastructural findings on cardiac mitochondria of huddling Brandt's voles in mild cold environment. *Comp Biochem Physiol Part A Mol Integr Physiol*. 2020;249:110766.
- Gonzalez JT, Fuchs CJ, Betts JA, van Loon LJ. Glucose Plus Fructose Ingestion for Post-Exercise Recovery—Greater than the Sum of Its Parts? *Nutrients*. 2017;9(4):344.
- Agius L. Role of glycogen phosphorylase in liver glycogen metabolism. *Mol Aspects Med*. 2015;46:34-45.
- Alves-Bezerra M, Cohen DE. Triglyceride Metabolism in the Liver. *Compr Physiol*. 2017;8(1):1-8.