FRHANCIELLY SHIRLEY SOUZA SODRÉ

**Efeitos do jejum prolongado sobre o metabolismo
do músculo cardíaco e função cardíaca em ratos**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Fisiologia Humana do Instituto de
Ciências Biomédicas da
Universidade de São Paulo, para
obtenção do Título de Mestre em
Ciências.

São Paulo
2018

FRHANCIELLY SHIRLEY SOUZA SODRÉ

**Efeitos do jejum prolongado sobre o metabolismo
do músculo cardíaco e função cardíaca em ratos**

Dissertação apresentada ao
Programa de Pós-graduação em
Fisiologia Humana do Instituto de
Ciências Biomédicas da
Universidade de São Paulo, para
obtenção do Título de Mestre em
Ciências.

Área de Concentração: Fisiologia
Humana

Orientador: Profa. Dra. Silvana
Auxiliadora Bordin da Silva

Versão original.

São Paulo
2018

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e informação Biomédica
do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Ficha Catalográfica elaborada pelo(a) autor(a)

SODRÉ, FRHANCIELLY SHIRLEY SOUZA
Efeitos do jejum prolongado sobre o metabolismo
do músculo cardíaco e função cardíaca em ratos /
FRHANCIELLY SHIRLEY SOUZA SODRÉ; orientador SILVANA
BORDIN. -- São Paulo, 2018.
96 p.

Dissertação (Mestrado)) -- Universidade de São
Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas.

1. Jejum. 2. Metabolismo. 3. Músculo cardíaco. 4.
Função cardíaca. I. BORDIN, SILVANA, orientador. II.
Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidato(a): Frhancielly Shirley Souza Sodré

Titulo da Dissertação/Tese: Efeitos do jejum prolongado sobre o metabolismo do músculo
cardíaco e função cardíaca em ratos

Orientador: Profa. Dra. Silvana Bordin

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Dissertação de Mestrado/Tese de
Doutorado, em sessão publica realizada a/...../....., considerou o(a) candidato(a):

() **Aprovado(a)** () **Reprovado(a)**

Examinador(a): Assinatura:

Nome:

Instituição:

Examinador(a): Assinatura:

Nome:

Instituição:

Examinador(a): Assinatura:

Nome:

Instituição:

Presidente: Assinatura:

Nome:

Instituição:

COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira", Butantã, São Paulo, SP - Av. Professor Lineu Prestes, 2415 - ICB III - 05508 00
CEUA-ICB/USP - Telefone (11) 3091-7733 - e-mail: cep@icb.usp.br

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "*Efeito do jejum sobre a lesão causada por isquemia-reperusão em coração de ratos*", registrado sob o protocolo nº **93/2016**, que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de *Pesquisa Científica*, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA). Ante esta conformidade, o referido projeto foi avaliado e aprovado em **12/09/2016** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (CEUA-ICB/USP), outorgando esta licença de uso de animais com validade de **4 ano(s)** a partir da data de aprovação.

- Investigador Principal: **Dr.(a.) Rui Curi**

- Departamento: *Fisiologia e Biofísica*

- Membros da Equipe: *Frhancielly Shirley Souza Sodré (Pós-graduando), Alcione Lescano de Souza Junior (Pesquisador colaborador), Tatiana Carolina Alba Loureiro (Especialista em laboratório), Gilson Masahiro Murata (Especialista em laboratório)*

Ao final do período outorgado por esta licença, o pesquisador responsável deverá encaminhar a esta comissão, até o último dia de validade da atual proposta, *relatório final* de acordo com a Resolução Normativa CONCEA nº 30/2016 - Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica (DBCA), conforme modelo constante no endereço eletrônico www.icb.usp.br/ceua. Havendo interesse na renovação do projeto, a solicitação deverá ser protocolada pela Secretaria da CEUA-ICB/USP até o último dia de validade da atual proposta. Após esta data uma nova proposta deverá ser encaminhada.

CERTIFICATE

We hereby certify that the project entitled "*Effect of fasting on the injury caused by ischemia-reperfusion in rat heart*", protocol nº **93/2016**, which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human), for *Scientific Research Purposes*, is in accordance with the provisions of the Law nº 11.794 passed on October 8th, 2008, Decree nº 6899 passed on July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control and Animal Experimentation (CONCEA). According to this legislation, the project was evaluated and approved on **9/12/2016** by the ETHICS COMMITTEE ON ANIMAL USE, Institute of Biomedical Sciences, University of Sao Paulo (CEUA-ICB/USP), and the license for animal use is valid for **4 year(s)** from the date of approval.

- Principal Investigator: **Dr.(a.) Rui Curi**

- Team members: *Frhancielly Shirley Souza Sodré (Graduate Student), Alcione Lescano de Souza Junior (Collaborator Researcher), Tatiana Carolina Alba Loureiro (Laboratory Technician), Gilson Masahiro Murata (Laboratory Technician)*.

At the end of the period granted by this license, the Principal Investigator must submit a final report of the project to this committee, according to the Rule nº 30 and the Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais em Atividades de Ensino ou de Pesquisa Científica (DBCA) issued by the CONCEA. If a renewal of the project is intended, the request must be submitted to the CEUA-ICB/USP secretary before the expiration of the current proposal. After this date, a new proposal must be prepared.

Espécie/Species	Linhagem/Strain	Sexo/Gender	Idade-Peso/ Age-Weight	Total
<i>Rattus norvegicus</i>	<i>Wistar</i>	<i>Macho/Male</i>	<i>60 dias/days</i>	<i>100</i>

São Paulo, 13 de setembro de 2016.

Prof. Dr. **Anderson de Sá Nunes**
Coordenador CEUA-ICB/USP

Eliane Aparecida Gomes de M. Nascimento
Secretária CEUA-ICB/USP

AGRADECIMENTOS

A Deus, pai amado

A professora Silvana Bordin, por quem tenho sincero respeito e admiração, não somente por ser uma brilhante cientista, mas também por ser amável, carinhosa e parceira, obrigada pela orientação e pela amizade

Ao Professor Rui Curi pela oportunidade de entrar na pós-graduação e pelo carinho

Ao professor Alcione Lescano de Souza Junior, por todo incentivo durante minha trajetória acadêmica, obrigada por me achar capaz

Ao Dr. Gilson Murata, meu melhor amigo, obrigada por me ensinar todas as técnicas necessárias para realização deste trabalho, sua ajuda e amizade foram essenciais

A professora Lisete Michelini por me oportunizar realizar parte deste trabalho em seu laboratório e por todas as contribuições

Ao Dr. Alexandre Ceroni por ensinar e realizar os procedimentos cirúrgicos necessários

Aos professores Carla e João Paulo por todas as contribuições durante os seminários do laboratório 105

Ao Zé Maria e Paloma, por esclarecer todas as dúvidas do programa da pós-graduação

Aos amigos Gilson, Takeo, Joice, Amandão, Gizela, Carolzinha, Tany, Mary, Tiff, Lais, Amanda SchuSchu, Amanda Monteiro, Bruna, Sandro, Laynane e Gabi, pelo companheirismo de sempre

A minha mãe Ione, meu porto seguro e minha maior e melhor amiga

Ao meu pai Rylton, por todo apoio

Ao meu namorado Washington por compreender minha ausência e me apoiar, mesmo com a distância

À CAPES, CNPq e FAPESP pelo apoio financeiro

Meu muito obrigada a todos!

RESUMO

SODRÉ, F. S. S. **Efeitos do jejum prolongado sobre o metabolismo do músculo cardíaco e função cardíaca em ratos.** 2018. 96 f. Dissertação (Mestrado em Fisiologia Humana) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

O presente estudo teve por objetivo investigar os efeitos do jejum de 48 h sobre o metabolismo do músculo cardíaco e sobre a função cardíaca. Para isso, ratos machos com 60 dias foram separados em dois grupos: jejuados por 48 h (grupo experimental) e alimentados (grupo controle). Após eutanásia, sangue e coração foram coletados. O coração foi excisado e a aurícula do átrio direito (AAD), a aurícula do átrio esquerdo (AAE), parede do ventrículo direito (PVD), septo interventricular (SIV) e parede do ventrículo esquerdo (PVE) foram separadas e analisadas individualmente. Análises de parâmetros bioquímicos plasmáticos, dosagem de metabólitos, atividade máxima de enzimas, assim como expressão gênica e proteica foram realizadas. O jejum promoveu alterações metabólicas em todas as regiões, sendo mais intensas na PVE. Registros ventriculares e hemodinâmicos também foram obtidos. O jejum diminuiu a força de contração ($dP/dt+$), a força de relaxamento ($dP/dt-$) e a frequência cardíaca (FC), aumentou o tempo de enchimento diastólico e o hematócrito. Apesar de observarmos aumento do potencial oxidativo e aumento da concentração disponível de ATP, é possível que 48 h de jejum comprometa a volemia e por consequência a função cardíaca.

Palavras-chave: Jejum. Metabolismo. Músculo cardíaco. Função cardíaca.

ABSTRACT

SODRÉ, F. S. S. **Effects of prolonged fasting on cardiac muscle metabolism and cardiac function in rats.** 2018. 96 f. Dissertation (Master thesis in Human Physiology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

The present study aimed to investigate the effects of 48 h fasting on cardiac muscle metabolism and cardiac function. For this, male rats with 60 days were separated into two groups: fasted for 48 h (experimental group) and fed (control group). After euthanasia, blood and heart were collected. The heart was excised and the right atrial atrium (RAA), left atrial atrium (LAA), right ventricular wall (RVW), interventricular septum (IVS) and left ventricular wall (LVW) were separated and analyzed individually. Analyzes of plasma biochemical parameters, dosage of metabolites, maximum activity of enzymes, as well as gene and protein expression were performed. Fasting promoted metabolic alterations in all regions, being more intense in PVE. Ventricular and hemodynamic records were also obtained. Fasting decreased contraction force ($dP / dt +$), relaxation force ($dP / dt -$) and heart rate (HR), increased diastolic filling time and hematocrit. Although we observed an increase in the oxidative potential and an increase in the available ATP concentration, it is possible that 48 h fasting compromises blood volume and, consequently, cardiac function.

Keywords: Fasting. Metabolism. Cardiac muscle. Cardiac function.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Etapas da oxidação de glicose pela via glicolítica	25
Figura 2 – Etapas da oxidação de ácidos graxos no interior da mitocôndria.....	26
Figura 3 – Representação de um canal de registro do <i>software LabChart Pro</i> (<i>ADInstruments</i>) ilustrando as diferenças entre o padrão de registro da pressão arterial e da pressão ventricular.....	40
Figura 4 – Janela de visualização do <i>software LabChart Pro</i> (<i>ADInstruments</i>).....	40
Figura 5 – Peso corporal	42
Figura 6 – Peso da gordura periepídimal, fígado e músculo cardíaco	42
Figura 7 – Concentrações de parâmetros bioquímicos no plasma e soro	43
Figura 8 – Concentração de ATP na AAD, AAE, SIV, PVD e PVE.....	44
Figura 9 – Concentração de lactato na AAD, AAE, SIV, PVD e PVE	45
Figura 10 – Concentração de glicogênio na AAD, AAE, SIV, PVD e PVE	45
Figura 11 – Concentração de piruvato, ADP e glicerol na PVE.....	46
Figura 12 – Atividade da hexoquinase (HK) na AAD, AAE, SIV, PVD e PVE	47
Figura 13 – Atividade da fosfofrutoquinase 1 (PFK1) na AAD, AAE, SIV, PVD e PVE	47
Figura 14 – Atividade da piruvato quinase (PK) na AAD, AAE, SIV, PVD e PVE..	48
Figura 15 – Atividade da citrato sintase (CS) na AAD, AAE, SIV, PVD e PVE.....	48
Figura 16 – Atividade da β -hidroxiacil-CoA desidrogenase (HOADH) na AAD, AAE, SIV, PVD e PVE	49
Figura 17 – Atividade da carnitina palmitoil transferase (CPT I) na PVE.....	49
Figura 18 – Atividade da lactato desidrogenase (LDH) na PVE	49
Figura 19 – Expressão gênica de <i>pfkm</i> na AAD, AAE, SIV, PVD e PVE.....	51
Figura 20 – Expressão gênica de <i>ldha</i> na AAD, AAE, SIV, PVD e PVE.....	51
Figura 21 – Expressão gênica de <i>cs</i> na AAD, AAE, SIV, PVD e PVE.....	52
Figura 22 – Expressão gênica de <i>cpt1a</i> na AAD, AAE, SIV, PVD e PVE e expressão de <i>cpt1b</i> na PVE.....	52
Figura 23 – Expressão gênica de <i>pdk1</i> na PVE	53
Figura 24 – Expressão gênica de <i>prkaca</i> , <i>ppargc1</i> e <i>sirt1</i> na PVE.....	53
Figura 25 – Expressão gênica de <i>gys2</i> , <i>gsk3b</i> e <i>pygm</i> na PVE	53
Figura 26 – Expressão gênica de <i>pck1</i> na PVE	54
Figura 27 – Expressão gênica de <i>myl2</i> na PVE	54

Figura 28 – Eletroforese em gel de agarose 1%. Produtos da amplificação por PCR do gene de interesse <i>ppp1r3c</i> e do gene de referência <i>hdac</i> da PVE	54
Figura 29 – Expressão proteica de p-AMPK α e p-GSK3 β na PVE	55
Figura 30 – Variáveis hemodinâmicas e ventriculares	56
Figura 31 – Hematócrito de animais do grupo controle e jejum (48 h)	57
Figura 32 – Representação esquemática dos efeitos do jejum de 48 h sobre o metabolismo de glicose e ácidos graxos nas regiões do coração de rato estudadas	67
Figura 33 – Representação esquemática do perfil metabólico da AAD, AAE, PVD, PVE e SIV após jejum de 48 h	68
Figura 34 – Representação esquemática dos efeitos do jejum de 48 h sobre as medidas hemodinâmicas e ventriculares	69
Figura 35 – Proposta do perfil metabólico da PVE durante jejum prolongado de 48 h e sugestões de vias envolvidas na síntese de glicogênio	70

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - *Primers* utilizados para avaliação da expressão gênica por RT-PCR....37

LISTA DE ABREVIATURAS

AAD	aurícula do átrio direito
AAE	aurícula do átrio esquerdo
AD	átrio direito
AE	átrio esquerdo
AG	ácido graxo
AMPK	proteína quinase ativada por AMP
AQP7	aquaporina 7
BSA	albumina sérica bovina
Ca	cálcio
CPT I	carnitina palmitoil transferase I
CPT II	carnitina palmitoil transferase II
CS	citrato sintase
CT	<i>cicle threshold</i>
DTNB	5,5'-Dithiobis (ácido 2-nitrobenzóico)
EDTA	ácido etilenodiamino tetra-acético
EER α	receptor alfa dependente de estrógeno
FATP	proteína de transporte de ácido graxo
FC	frequência cardíaca
F6P	frutose-6-fosfato
G6P	glicose-6-fosfato
G6PDH	glicose-6-fosfato desidrogenase
GS	glicogênio sintase
GLUT	transportador de glicose
HClO ₄	ácido perclórico
HK	hexoquinase
HOADH	β -hidroxiacil-CoA desidrogenase
KH ₂ PO ₄	fosfato monopotássico
KCl	cloreto de potássio
KHCO ₃	bicarbonato de potássio

LDH	lactato desidrogenase
MgCl ₂	cloreto de magnésio
MgSO ₄	sulfato de magnésio
Na	sódio
PA	pressão arterial
PAM	pressão arterial média
PDK1	piruvato desidrogenase quinase 1
pD ₁ VE	pressão diastólica inicial do ventrículo esquerdo
pD ₂ VE	pressão diastólica final do ventrículo esquerdo
PEP	fosfoenolpiruvato
PFK	fosfofrutoquinase
PGC1 α	coativador 1-alfa do receptor ativado por proliferador peroxissoma
PK	piruvato quinase
PPAR	receptores ativados por proliferador de peroxissoma
PSVE	pressão sistólica do ventrículo esquerdo
PVD	parede do ventrículo direito
PVE	parede do ventrículo esquerdo
SIRT1	sirtuína 1
SIV	septo interventricular
Tris-HCl	cloridrato de tris
VD	ventrículo direito
VE	ventrículo esquerdo

SUMÁRIO

1 REVISÃO DE LITERATURA	15
1.1 <i>Jejum.....</i>	15
1.2 <i>Sistema cardiovascular</i>	17
1.2.1 <i>Anatomia cardíaca</i>	17
1.2.2 <i>Eventos elétricos e mecânicos</i>	19
1.2.3 <i>Regulação da força de contração e relaxamento do músculo cardíaco</i>	22
1.3 <i>Metabolismo do músculo cardíaco.....</i>	23
1.3.1 <i>Oxidação de glicose</i>	24
1.3.2 <i>Oxidação de ácido graxo (AG)</i>	25
1.3.3 <i>Ciclo de Randle</i>	27
1.3.4 <i>Mecanismos envolvidos na interação ácido graxo-glicose</i>	27
2 JUSTIFICATIVA.....	29
3 OBJETIVO	30
3.1 <i>Objetivo geral</i>	30
3.2 <i>Objetivos específicos</i>	30
4 MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1 <i>Animais e protocolo experimental</i>	31
4.2 <i>Análise do peso corporal, gordura periepididimal, fígado e músculo cardíaco.....</i>	32
4.3 <i>Análise de parâmetros bioquímicos no plasma e soro</i>	32
4.4 <i>Determinação das concentrações de substratos no músculo cardíaco.....</i>	32
4.4.1 <i>Determinação das concentrações de ATP, lactato e glicogênio.....</i>	32
4.4.2 <i>Determinação das concentrações de ADP, piruvato e glicerol na PVE</i>	34
4.5 <i>Atividade máxima de enzimas de vias metabólicas</i>	34
4.6 <i>Extração de RNA total, síntese de cDNA e RT-PCR.....</i>	36
4.7 <i>Expressão proteica pela técnica Western Blot</i>	38
4.8 <i>Registros hemodinâmicos e ventriculares e hematócrito</i>	39

4.8.1 Registros hemodinâmicos e ventriculares	39
4.8.2 Hematócrito	41
4.9 <i>Análise estatística</i>	41
5 RESULTADOS	42
5.1 <i>Peso corporal e peso da gordura periepídidima, fígado e músculo cardíaco</i>	42
5.2 <i>Parâmetros bioquímicos no plasma e soro</i>	43
5.3 <i>Concentrações de ATP, lactato e glicogênio</i>	44
5.4 <i>Concentrações de piruvato, ADP e glicerol na PVE</i>	46
5.5 <i>Atividade máxima das enzimas</i>	46
5.6 <i>Expressão gênica pela técnica RT-PCR</i>	50
5.7 <i>Expressão proteica por Western Blot</i>	55
5.8 <i>Variáveis hemodinâmicas e função ventricular esquerda</i>	55
5.9 <i>Hematócrito</i>	57
6 SÍNTESE DOS RESULTADOS	58
7 DISCUSSÃO	59
8 CONCLUSÃO	71
REFERÊNCIAS	72
APÊNDICE	84

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 *Jejum*

Por definição, jejum é a abstenção total de alimentos por um determinado período de tempo, sendo frequentemente realizado por motivos culturais, de saúde e religiosos (KERNDT et al., 1982; MAUGHAN; FALLAH; COYLE, 2010).

Desde o século passado o jejum tem sido utilizado em estudos de controle de peso, prevenção e tratamento de doenças (KERNDT et al., 1982; LONGO; MATTSON, 2014). O jejum também foi instituído como um tradicional cuidado pré-operatório solicitado e realizado antes de procedimentos cirúrgicos para prevenção de aspiração do conteúdo gástrico durante a indução anestésica (MENDELSON, 1946). Porém, vários autores contestam esse tradicional cuidado e questionam a falta de respaldo científico na conduta (NYGREN; THORELL; LJUNGQVIST, 2003; FEGURI et al., 2012; MACHADO, 2012).

Em animais de experimentação o jejum também é frequentemente realizado antes de cirurgias, e geralmente precede análises de parâmetros sanguíneos, dosagem de compostos e testes comportamentais, objetivando reduzir variabilidade durante a investigação desses parâmetros (NOWLAND; HUGUNIN; ROGERS, 2011; JENSEN et al., 2013). Vale ressaltar que na maioria dos estudos o período de jejum não inclui ausência de ingestão de água, a privação é somente alimentar.

O jejum realizado em animais de experimentação pode variar de curtos (menos de 24 horas) a longos (mais de 24 horas) períodos (NOWLAND; HUGUNIN; ROGERS, 2011). Na literatura, privação de alimento por longos períodos de tempo podem desencadear várias alterações fisiológicas, metabólicas e comportamentais (ABRAHAMSEN; BERMAN; CARR, 1995; DUFFY et al., 1997; HEIDERSTADT et al., 2000; CARR, 2002; SMITH; METZ, 2005; O'MALLEY; DAMBROSIA; DAVIS, 2008). Períodos intermitentes de jejum também tem sido objeto de estudo de muitos pesquisadores, demonstrando efeitos contrários ao jejum prolongado (AHMET et al., 2005; HEILBRONN et al., 2005; SOETERS et al., 2009; WAN et al., 2010; AZEVEDO; IKEOKA; CARAMELLI, 2013).

Sabe-se que, no estado de jejum, o organismo passa a depender de substratos endógenos. Durante longos períodos de jejum as reservas de energia vão sendo aos poucos mobilizadas e tudo que é passível de metabolização é utilizado.

Nas primeiras horas de jejum, visando manter os parâmetros vitais (como a glicemia) e garantir aporte de substratos aos tecidos, as reservas de glicogênio, principalmente do fígado, são mobilizadas (CARLSON; SNEAD; CAMPBELL, 1994; AGUILAR-NASCIMENTO; PERRONE; PRADO, 2009; FEGURI et al., 2012). Porém, essas reservas são rapidamente depletadas, passando a ser necessário mobilização de outras reservas, como por exemplo as reservas de gordura (LONGO; MATTSON, 2014).

Intensa lipólise após jejum prolongado foi descrita por vários autores que em seus estudos observaram diminuição de insulina plasmática e aumento de ácidos graxos circulantes (OPIE, 1968; BOTAS, 1989; CARLSON; SNEAD; CAMPBELL, 1994; JENSEN et al., 2013). Os ácidos graxos podem ser fonte de energia para a maioria dos tecidos e, como consequência de maior oferta e oxidação, podem promover acúmulo de acetil-CoA e gerar grande quantidade de corpos cetônicos (KERNDT et al., 1982; LONGO; MATTSON, 2014). Intenso jejum também mobiliza rapidamente as reservas proteicas, pois, para manter glicose circulante, metabólitos não glicídicos, como as proteínas, podem ser utilizados para síntese *de novo* de glicose via gliconeogênese (CARLSON; SNEAD; CAMPBELL, 1994; NYGREN, 2006). Outros substratos e intermediários metabólicos também podem ser direcionados a essa via.

Além dessas alterações metabólicas, já foram descritas numerosas alterações fisiológicas provocadas pelo jejum. Em trabalho publicado por Kerndt et al. (1982), o jejum foi capaz de alterar parâmetros cardiovasculares, diminuindo significativamente a pressão arterial (PA) e o balanço negativo de sódio (Na). Goldhamer et al. (2002), também descreveram diminuição da PA, após jejum prolongado, de indivíduos hipertensos. Snorek et al. (2012), observaram menor incidência de arritmias pós-infarto em ratos previamente submetidos a curto período de jejum. Por outro lado, Liepinsh et al. (2014), observaram maior proteção à isquemia cardíaca em animais alimentados quando comparados a animais jejuados.

Nítidamente, implicações do jejum no sistema cardiovascular se mostram bem abrangentes e alterações significativas tem sido descrita. Assim, investigações mais detalhadas são pertinentes.

1.2 Sistema cardiovascular

O sistema cardiovascular é constituído por uma bomba percussora, o coração, e por uma rede vascular por onde o sangue circula. A principal função do sistema cardiovascular é manter a reperfusão tecidual, e para isso, o sangue contendo material nutritivo e oxigênio deve ser constantemente propelido pelo coração (VASSALO; OLIVEIRA; STEFANON, 2012; MICHELINI, 2017; SANTOS et al., 2017).

1.2.1 Anatomia cardíaca

A parede do coração é formada por várias camadas sendo elas: o pericárdio, o epicárdio, miocárdio e o endocárdio (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014). É a camada média e mais espessa do coração, chamada miocárdio, a mais envolvida na contratilidade cardíaca. Essa camada é constituída de músculo estriado cardíaco permitindo os movimentos de contração e relaxamento do coração (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

Internamente o coração possui quatro câmaras cardíacas: átrios direito e esquerdo e ventrículos direito e esquerdo. Essas câmaras cardíacas estão fixadas ao esqueleto fibroso do coração, constituído de colágeno denso, que além de manter a estrutura do coração, circunda válvulas existentes entre átrios e ventrículos e atua como isolante elétrico (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

O átrio direito (AD) é separado do átrio esquerdo (AE) pelo septo interatrial e o ventrículo direito (VD) é separado do esquerdo (VE) pelo septo interventricular (SIV). Esses dois septos são considerados parte da parede das câmaras cardíacas, possuindo também em sua estrutura fibras musculares (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014). Por outro lado, átrios são separados de ventrículos por um arcabouço fibroso constituído principalmente de tecido conjuntivo denso (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017).

Cada câmara cardíaca tem função e estrutura bem específica. O AD recebe sangue venoso da veia cava superior e inferior e do seio coronário (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014). Para isso, conta com uma bolsa cônica, constituída principalmente de fibras musculares (*músculos pectíneos*), chamada aurícula direita que amortece o sangue que chega e ainda atua como uma câmara adicional, aumentando a

capacidade do átrio (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014; NETTER, 2014). Após contração (sístole), o AD direciona o sangue recebido para o VD através da válvula atrioventricular direita, também denominada valva tricúspide (formada por três cúspides) (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014).

O ventrículo direito (VD), por sua vez, direciona o sangue recebido para o pulmão e para isso conta com várias estruturas importantes. Para que o sangue não retorne para o AD (prolapso) e siga somente para o pulmão, as três cúspides que compõem a válvula atrioventricular esquerda estão fixadas, por estruturas chamadas cordas tendíneas, em pequenas projeções musculares irregulares com bases fixadas na parede ventricular denominada músculos papilares (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014; NETTER, 2014). Antes da contração ventricular, ocorre a contração dos músculos papilares, tensionando as cordas tendíneas que por sua vez aproximam as cúspides. É desta forma que durante a contração do ventrículo (sístole ventricular) o prolapso é impedido e o sangue segue para o tronco pulmonar. Para seguir esse caminho, o sangue passa por outra válvula chamada válvula do tronco pulmonar ou válvula semilunar pulmonar (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014).

Através dos pares de veias pulmonares direita e esquerda, sangue oxigenado entra no AE (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014). Assim como o AD, o AE também possui uma aurícula muscular, porém, menor (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014; NETTER, 2014). O AE direciona o sangue oxigenado para o VE através da válvula atrioventricular esquerda, também denominada válvula bicúspide ou mitral, formada por duas cúspides (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014).

A principal função do VE é propelir o sangue oxigenado para todos os órgãos e tecidos (VASSALO; OLIVEIRA; STEFANON, 2012; MICHELINI, 2017; SANTOS et al., 2017). Assim como o VD, o VE também possui músculos papilares que tensionam cordas tendíneas aproximando as duas cúspides da válvula atrioventricular esquerda, impedindo que o sangue retorne para o AE (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014; NETTER, 2014). Assim, o sangue segue para a aorta, passando pela válvula da aorta, sendo direcionado para todo o corpo.

Por ter que enfrentar uma PA muito maior e ter que exercer mais força, a espessura da parede do VE é duas a três vezes maior que a do VD (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014). Apesar do septo interventricular ser uma divisória entre VD e VE, e formar parte da parede de ambas, a maior parte muscular do septo interventricular é parede do VE (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014).

Além das diferenças estruturais gerais e funcionais, existem diferenças celulares entre as câmaras cardíacas. Segundo Kane e Terracciano (2017), os miócito do miocárdio (cardiomiócitos) que compõe o músculo cardíaco possuem características diferentes quando comparado átrios e ventrículos. Cardiomiócitos que compõe o tecido contrátil ventricular apresentam-se maiores, mais organizadas, com estrutura tubular melhor desenvolvida, sarcômeros alinhados e maior número de mitocôndrias, quando comparados a cardiomiócitos atriais (SHIMADA et al., 2004; LUKYANENKO; CHIKANDO; LEDERER, 2009).

Outras diferenças entre átrios e ventrículos foram descritas, incluindo expressão diferencial de vários canais iônicos (RAVENS; CERBAI, 2008), ampla gama de proteínas específicas (FENG et al., 1997; GARBORIT et al., 2007) e genes expressos de forma preferencial ou única em cada câmara cardíaca (BIRD et al., 2003). O gene *MLC2V (myl2)*, por exemplo, que codifica cadeia leve de miosina, tem sido frequentemente atribuído como marcador ventricular (LEE et al., 1992; BRUNEAU et al., 2000; NG; WONG; TSANG, 2010).

1.2.2 Eventos elétricos e mecânicos

Os eventos mecânicos de contração e relaxamento do coração são precedidos de eventos elétricos. Esses eventos são gerados e transmitidos pelo complexo estimulador do coração constituído de tecido nodal (nó sinoatrial e nó atrioventricular) e fibras condutoras (His-Purkinje) (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014; NETTER, 2014).

O tecido nodal inicia os batimentos cardíacos e coordena a contração das quatro câmaras cardíacas (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014). O ritmo cardíaco é determinado pelo nó sinoatrial (marca-passo cardíaco) que após atingir limiar de despolarização desenvolve potencial de ação que se propaga célula a célula rapidamente por todo o átrio, tanto esquerdo como direito (VASSALO; OLIVEIRA; STEFANON, 2012). Essa rápida transmissão de sinal elétrico é facilitada por vias especializadas presentes nos átrios, sendo elas: os tratos intermodais anterior, médio e posterior, localizado na parede do AD, e o feixe de Bachmann, localizado no AE (SANTOS et al., 2017).

A sincronização da despolarização de todas as células atriais é possível devido a propriedade de sincício funcional do músculo cardíaco. Todas as células

miocárdicas se apresentam interconectadas por discos intercalares nos quais existem junções comunicantes, que permitem a comunicação direta entre os citoplasmas das células e facilitam a rápida propagação do potencial de ação (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2017;). Essa característica do músculo cardíaco é muito importante tendo em vista que sem sinal elétrico não há evento mecânico (contração e relaxamento).

Devido a presença do arcabouço fibroso entre átrios e ventrículos, cardiomiócitos atriais não transmitem sinal elétrico para cardiomiócitos ventriculares (MICHELINI, 2017). Porém, perfurando o arcabouço fibroso, outro tecido nodal, denominado nó atrioventricular, recebe o potencial de ação, despolariza e transmite o sinal para fibras condutoras (fibras do feixe de His e fibras de Purkinje) propagando rapidamente o impulso para todas as células ventriculares (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014; SANTOS et al., 2017). Esse sistema de condução é muito rápido e apropriado para contração simultânea dos ventrículos.

Nessa sequência de eventos, átrio e ventrículo atuam juntos como bomba. Duas bombas, portanto, podem ser consideradas: bomba direita e bomba esquerda. Cada uma das bombas ejeta sangue para um circuito específico. A bomba direita ejeta sangue para os pulmões (circulação pulmonar) enquanto que a bomba esquerda bombeia sangue para o corpo (circulação sistêmica) (SANTOS et al., 2017; MOORE; DALLEY; AGUR, 2014). É imprescindível que as duas bombas funcionem em sintonia, ejetando o mesmo volume sanguíneo na mesma unidade de tempo. As ações sincrônicas das duas bombas cardíacas constituem o clique cardíaco (VASSALO; OLIVEIRA; STEFANON, 2012; MICHELINI, 2017; SANTOS et al., 2017).

O impulso gerado pelo nó sinoatrial (marca-passo do coração) pode sofrer influência do sistema nervoso simpático, acelerando a frequência cardíaca (FC), e pelo parassimpático, cuja regulação é inibitória (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014). O simpático e o parassimpático podem ainda atuar sobre a velocidade de condução do impulso elétrico e sobre a força de contração (inotropismo), cuja ação simpática intensifica os eventos e a parassimpática atua de forma antagônica (VASSALO; OLIVEIRA; STEFANON, 2012; COOTE, 2013; GOURINE et al., 2016; MICHELINI, 2017).

Para gerar pressão necessária e permitir a circulação do sangue por todo o corpo, eventos mecânicos cardíacos como contração (sístole) e relaxamento (diástole) são essenciais.

A unidade estrutural e funcional de contração nos cardiomiócitos são os sarcômeros (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014; MICHELINI, 2017). Nos sarcômeros, miofibrilas contráteis estão simetricamente arranjadas em filamentos finos de actina e filamentos grossos de miosina (MOORE; DALLEY; AGUR, 2014; MICHELINI, 2017).

Todos os eventos contráteis são dependentes de cálcio (RINGER, 1882). Em período de repouso, a concentração de íons cálcio (Ca^{2+}) citoplasmático é pequena estando a maior parte desse íon armazenada no retículo sarcoplasmático, organela fundamental para os eventos mecânicos, ou fora da célula (VASSALO; OLIVEIRA; STEFANON, 2012; COOTE, 2013; GOURINE et al., 2016; MICHELINI, 2017). Durante a excitação do cardiomiócito, canais de Ca voltagem dependente (tipo L) abrem-se, permitindo entrada de Ca^{2+} para dentro da célula, que por sua vez, atuam sobre canais de liberação de Ca, localizados nas cisternas do retículo sarcoplasmático, liberando mais Ca^{2+} para o citoplasma (OPIE, 2005).

O aumento da concentração de Ca^{2+} no citoplasma desencadeia o processo contrátil. Esse processo ainda é alvo de estudos, porém, é sabido que esse íon interage com uma proteína do complexo troponina, a troponina C, existente no filamento fino de actina, movimentando moléculas de tropomiosina, liberando sítios específicos do filamento fino e permitindo assim interação entre o filamento fino e grosso (OPIE, 2005).

Segundo Rayment, Holden e Whittaker (1993), o contato entre os filamentos se dá pelo encaixe da cabeça da miosina, presente no filamento grosso de miosina, com a região descoberta do filamento fino de actina. O movimento entre os filamentos é possível devido a mudanças conformacionais que ocorrem na base da cabeça (RAYMENT; HOLDEN; WHITTAKER, 1993). Esse evento necessita de ATP e de seus produtos de degradação para acontecer. O ATP também é importante para separação da cabeça da miosina da região descoberta do filamento fino de actina, permitindo repetição do ciclo. Ainda segundo Rayment, Holden e Whittaker (1993), enquanto houver Ca^{2+} suficiente para continuar ligado a troponina C, vários ciclos podem ocorrer. Esses ciclos deslocam ativamente os filamentos finos de actina em direção ao centro do sarcômero, encurtando-o. A soma do encurtamento dos sarcômeros leva a contração, promovendo a sístole cardíaca (OPIE, 2005).

A fase diastólica, por sua vez, tem início com o sequestro de Ca^{2+} citoplasmático por bombas localizadas no retículo sarcoplasmático (tipo SERCA, cujo funcionamento requer ATP), e pela saída de Ca^{2+} para o meio extracelular (OPIE,

2005). Assim, a diminuição de Ca^{2+} citoplasmático promove o relaxamento das fibras cardíacas.

1.2.3 Regulação da força de contração e relaxamento do músculo cardíaco

Muitos mecanismos podem regular a força de contração (inotropismo) e a força de relaxamento (lusitropismo) do músculo cardíaco. Essa regulação pode ser intrínseca, realizada pelo próprio músculo cardíaco, ou extrínseca, através do controle neural e hormonal (VASSALO; OLIVEIRA; STEFANON, 2012; COOTE, 2013; GOURINE et al., 2016; MICHELINI, 2017).

De duas formas o próprio músculo cardíaco regula sua força contrátil. Ele possui a capacidade de alterar a disponibilidade de Ca^{2+} e também o tamanho inicial do sarcômero, em decorrência de alterações no enchimento da câmara cardíaca na diástole (MICHELINI, 2017).

O tamanho inicial do sarcômero é muito importante para determinar a força de contração. Quanto maior a distensão do sarcômero na diástole, melhor a sobreposição ideal dos filamentos de actina e miosina e maior a força de contração na sístole cardíaca. Redução do tamanho inicial do sarcômero, por sua vez, diminui parcialmente a força contrátil. Essas relações foram propostas por Frank e Starling, sendo hoje conhecida como mecanismo de Frank-Starling (OPIE, 2005). A distensão do sarcômero também aumenta a sensibilidade das miofibrilas contráteis ao Ca^{2+} , sendo seu efeito inotrópico maior quanto maior o tamanho inicial do sarcômero na diástole (OPIE, 2005).

Como dito anteriormente, o principal determinante da contração e do relaxamento é a concentração citoplasmática de Ca^{2+} . Tanto a estimulação simpática quanto aumento de catecolaminas circulantes podem modular essas concentrações, interferindo no processo contrátil (VASSALO; OLIVEIRA; STEFANON, 2012; COOTE, 2013; GOURINE et al., 2016; MICHELINI, 2017). A estimulação simpática também regula de outras formas a contratilidade cardíaca, podendo, por exemplo, estimular o metabolismo celular e estimular a fosforilação de canais de Ca^{2+} , via AMP cíclico, aumentando a força contrátil (OPIE, 2005). O AMPc cíclico gerado nesse processo pode ainda atuar sobre a fosfolamban, uma proteína moduladora localizada no retículo sarcoplasmático que aumenta a recaptação de Ca^{2+} citoplasmático pela SERCA e, por consequência, aumenta a velocidade de relaxamento cardíaco (OPIE, 2005).

O efeito regulatório hormonal sobre a força de contração pelas catecolaminas secretadas pelas glândulas adrenais também é conhecido; estas atuam de forma muito semelhantes aos efeitos do sistema nervoso simpático (MICHELINI, 2017). Porém, os efeitos persistem por mais tempo, sendo muito importantes em situações crônicas como hipotensão, hipovolemia e até mesmo insuficiência cardíaca (OPIE, 2005).

Além dos mecanismos de regulação citados, alterações hemodinâmicas também podem alterar a força de contração do músculo cardíaco (MURRAY; KORY; CLARKSON, 1969; TRABER; MEYER; TRABER, 1993). Os eventos envolvendo essa modulação estão muito associados com o mecanismo de Frank-Starling.

1.3 Metabolismo do músculo cardíaco

Para realizar o trabalho mecânico contínuo, exercer função de bomba e garantir perfusão tecidual, o coração necessita de oferta contínua de substratos para produção de moléculas energéticas. O ATP é a principal molécula energética do coração e perturbações na sua produção interferem diretamente no trabalho cardíaco (OPIE, 1968; DOENST et al., 2013). Além da contratilidade cardíaca, o ATP é também importante na manutenção da homeostase iônica, garantindo o funcionamento das bombas (GIBBS, 1978; GERTZ et al., 1988; SUGA, 1990). A quantidade de ATP requerida pelo coração é grande e contínua (DOENST et al., 2013). Além do ATP, o coração tem fosfocreatina, que constitui um sistema de vai e vem, transportando ligação fosfato de alta energia da mitocôndria para o citoplasma e contribuindo para suprir as necessidades energéticas (COOK et al., 2001; BEER et al., 2002).

O músculo cardíaco é o tecido que apresenta o maior consumo de oxigênio por grama de tecido do organismo (OPIE, 1968; ALLEN; ORCHAND, 1987; GLATZ; LUIKEN; BONEN, 2001). Para atender o intenso metabolismo aeróbio, o miocárdio apresenta em suas células mioglobinas e numerosas mitocôndrias (GIBBS, 1978). Grande parte do ATP do coração é produzido pela oxidação de ácido graxo (AG), sendo a β -oxidação (via aeróbia) a principal fonte geradora deste (OPIE, 1968).

Outros metabólitos como glicose, lactato, corpos cetônicos e aminoácidos também são usados pelo músculo cardíaco para produção de ATP (OPIE, 1968; WISNESKI et al., 1985; GERTZ et al., 1988). A escolha do substrato energético a ser metabolizado pelo coração pode ser influenciada pela disponibilidade de substratos

na corrente sanguínea (OPIE, 1968). Durante o exercício físico, por exemplo, o aumento da produção de lactato o torna substrato de escolha do músculo cardíaco, o mesmo ocorre com corpos cetônicos durante o jejum e com a glicose no período pós-prandial (OPIE, 1968).

O músculo cardíaco também apresenta modulação na seleção do substrato e na atividade metabólica. Interações entre substratos, ação hormonal, expressão gênica de enzimas do metabolismo energético e modificações pós-transcricionais são alguns exemplos (DOENST et al., 2013). A elucidação dessas interações é de grande relevância, principalmente em situações patológicas.

1.3.1 Oxidação de glicose

A glicose é transportada, para o interior do cardiomiócito, por transportadores de glicose (GLUTs), tais como GLUT 1 e GLUT 4 (transportadores clássicos de glicose no músculo cardíaco), sendo este último predominante no coração do adulto (ABEL, 2004; AERNI-FLESSNER et al., 2012). No citoplasma, a glicose é oxidada pela via glicolítica gerando, ao final de sua oxidação, NADH, ATP e piruvato (Figura 1) (NELSON; COX, 2014).

O piruvato gerado na via glicolítica pode ser convertido em lactato, por ação da enzima lactato desidrogenase (LDH), ou ser oxidado, pelo complexo da desidrogenase pirúvica, durante transporte para a matriz mitocondrial, para formar acetil-CoA (BOTAS, 1989; DOENST et al., 2013). Quando a concentração de glicose se eleva na circulação esta pode seguir para a síntese de glicogênio, que constitui uma reserva energética importante para o miocárdio, principalmente em situações de hipóxia (OPIE, 1968; HENNING et al., 1996).

Figura 1 – Etapas da oxidação de glicose pela via glicolítica (adaptado de NELSON; COX, 2014)

1.3.2 Oxidação de ácido graxo (AG)

Apesar de ser uma molécula lipossolúvel, podendo por definição passar livremente pela membrana plasmática, o transporte de AG da corrente sanguínea para o interior das células, principalmente AG de cadeia longa, é facilitado por proteínas de transporte de ácido graxo (FATP) (van der VUSSE; van BILSEN; GLATZ, 2000; GLATZ; LUIKEN; BONEN, 2001). No coração, a principal FATP é a FATP6 (GIMERO et al., 2003).

No citosol, o AG é esterificado em acil-CoA graxo, que pode seguir para a mitocôndria ou ser esterificado em triglicérides (BOTAS, 1989). O transporte para o interior da mitocôndria envolve conversão do acil-CoA graxo em acil-graxo-carnitina pela enzima carnitina palmitoil transferase I (CPT I), enzima localizada na membrana mitocondrial externa. Vale ressaltar que essa etapa, realizada pela CPT I, representa uma etapa reguladora da oxidação de AG (DOENST et al., 2013). Após a entrada na mitocôndria, e por ação da enzima carnitina palmitoil transferase II (CPT II), o grupo acil se desliga da carnitina e volta a se associar com uma molécula de Coenzima A mitocondrial formando novamente o acil-CoA graxo.

Dentro da mitocôndria o acil-CoA graxo sofre oxidação, pela via da β -oxidação, e gera como produto várias moléculas redutoras (NADH e FADH_2) e acetil-CoA (LOPASCHUK et al., 2010; NELSON; COX, 2014). Tanto o acetil-CoA gerado pela glicólise quanto o acetil-CoA gerado pela β -oxidação podem seguir para o ciclo de Krebs (OPIE, 1968). Os redutores, NADH e FADH_2 , gerados no ciclo de Krebs e na β -oxidação seguem para as cristas mitocondriais onde sofrem fosforilação oxidativa (na cadeia respiratória), gerando grande quantidade de ATP (Figura 2) (COOK et al., 2001).

Figura 2 – Etapas da oxidação de ácidos graxos no interior da mitocôndria (adaptado de NELSON; COX, 2014)

1.3.3 Ciclo de Randle

Como dito anteriormente, a utilização do substrato pelo tecido cardíaco pode ser modulada por diversos fatores, incluindo interações entre os substratos (DOENST et al., 2013).

Em 1963, Randle e colaboradores propuseram o “ciclo ácido graxo-glicose”, ou ciclo de Randle, descrevendo a interação entre esses substratos no músculo cardíaco. Randle propôs que, como consequência da maior disponibilidade de AG, há redução na oxidação de glicose, ou seja, a maior utilização de um substrato pode inibir a utilização do outro. Esse mecanismo foi considerado um ajuste fino na seleção de substrato a ser metabolizado (HUE; TAEGTMEYER, 2009).

O ciclo de Randle foi confirmado e contestado por muitos pesquisadores. No músculo esquelético, por exemplo, o ciclo de Randle parece explicar a preferência desse tecido por AG durante atividade moderada de longa duração, porém, o princípio é falho durante exercício intenso (SILVEIRA et al., 2011).

1.3.4 Mecanismos envolvidos na interação ácido graxo-glicose

Antes de Randle e colaboradores (1963) descreverem o ciclo ácido graxo-glicose como mecanismo regulador da utilização desses substratos, os efeitos de hormônios sobre o metabolismo já eram conhecidos (HUE; TAEGTMEYER, 2009). Era sabido, por exemplo, que a diminuição da insulina, que ocorre durante o jejum, estimula a lipólise aumentando assim a oferta de AG para os tecidos e como consequência maior oxidação deste (FRAYN; ARNE; YKI-JARVINEN, 2006).

Randle e colaboradores introduziram um novo mecanismo no controle da utilização de substratos energéticos. O controle do metabolismo, até então assumido ser mediado somente por hormônios, passou também a considerar as interações entre os próprios substratos. A oferta aumentada de AG, causa inibição de várias etapas da via glicolítica tais como: captação de glicose e atividade da hexoquinase e do complexo da desidrogenase pirúvica (RANDLE, 1998).

Após a publicação dos trabalhos de Randle, outros mecanismos relacionados ao controle da utilização de glicose e ácidos graxo foram descobertos. Os receptores ativados por proliferador de peroxissoma (PPAR), por exemplo, foram descritos como sendo importantes reguladores transcricionais do metabolismo lipídico (LOPASCHUK

et al., 2010). No coração, o aumento da expressão de PPAR α , membro da família PPAR, modula o metabolismo induzindo oxidação de AGs (FINCK et al., 2002). A deleção de PPAR α , por sua vez, não somente reduz a oxidação de AG como também aumenta a oxidação de glicose (CAMPBELL et al., 2002). O metabolismo da glicose também pode ser estimulado por ERR α (receptor alfa dependente de estrógeno) por meio da estimulação da transcrição de genes envolvidos no metabolismo desse substrato (HUSS et al., 2004). Tanto PPAR α como ERR α podem ainda ser co-ativados pelo coativador 1-alfa do receptor ativado por proliferador de peroxissoma (PGC1 α), e, como consequência, estimular captação de AG e sua oxidação (ROWE; JIANG; ARANY, 2010).

Outro mecanismo de regulação do metabolismo de glicose e AG envolve a proteína quinase ativada por AMP (AMPK). A diminuição de substratos energéticos e o aumento da demanda por ATP podem ativar a AMPK (HARDIE; CARLING; CARLSON, 1998; HARDIE, 2007). Uma vez ativada, a AMPK estimula a oxidação de AG e glicose, vias geradores de ATP (HARDIE; CARLING; CARLSON, 1998; HUE; RIDER, 2007; NAGOSHI et al., 2011). A AMPK pode ainda ativar o PGC1 α (ZAHA; YOUNG, 2012).

Também já foi descrito forte regulação pós-transcricional de enzimas do metabolismo de glicose e AGs. Vários miRNAs parecem participar deste tipo de regulação (TSUKAMOTO et al., 2010; SANG et al., 2013).

Em vista do exposto, fica claro que os mecanismos envolvidos na utilização de substratos energéticos e no metabolismo são mais complexos do que parecem. Entendê-los se torna muito relevante, principalmente em condições específicas como o jejum.

2 JUSTIFICATIVA

Em trabalho publicado pelo nosso grupo foi observado redução na área de infarto no coração de ratos submetidos a 48 h de jejum. Esse efeito protetor foi associado a alterações no metabolismo energético do músculo cardíaco, tais como acúmulo de glicogênio e de ATP. Como observado no estudo de Souza Junior et al. (2015), o conteúdo de glicogênio, acumulado no VE do coração de ratos durante o jejum, compensaria a baixa oxidação de AGs na vigência de baixo suprimento de oxigênio, o que manteria a síntese de ATP e consequentemente a viabilidade celular. Em 2009, Kokubun e colaboradores também haviam descrito mudanças induzidas pelo jejum de 48 h, identificando o mesmo aumento do conteúdo de glicogênio no ventrículo esquerdo de ratos.

Como descrito acima, mesmo em situação de jejum prolongado (48h), o músculo cardíaco mantém a produção de ATP e o trabalho cardíaco contínuo. Esse período de jejum deve promover alterações importantes no metabolismo do ventrículo esquerdo que, porém, são pouco conhecidas. Também permanecem desconhecidas as alterações provocadas por esse período de jejum em outras câmaras cardíacas e no septo interventricular. Ademais, não se sabe se existe influência dessas alterações metabólicas, provocadas pelo jejum, na função cardíaca. Frente a isso, a motivação deste estudo foi elucidar as alterações metabólicas provocados pelo jejum de 48h de modo sistemático e detalhado no coração de ratos, assim como alterações causadas por esse mesmo tempo de jejum na função cardíaca.

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

O presente estudo teve por objetivo investigar os efeitos do jejum de 48 h no metabolismo e na função cardíaca.

3.2 Objetivos específicos

Investigar no coração de ratos as alterações metabólicas provocadas pelo jejum de 48 h. Para isso, a aurícula do átrio direito (AAD), a aurícula do átrio esquerdo (AAE), parede do ventrículo direito (PVD), septo interventricular (SIV) e parede do ventrículo esquerdo (PVE) foram separados e estudados;

Investigar os efeitos do jejum de 48 h no metabolismo de glicose e AG nas diferentes regiões do coração;

Investigar as alterações provocadas pelo jejum de 48 h na função cardíaca;

8 CONCLUSÃO

O jejum de 48 h promove alterações metabólicas no músculo cardíaco e aumenta a concentração de ATP. Porém, esse período de jejum diminui a força de contração ($dP/dt+$) e a força de relaxamento ($dP/dt-$) cardíaco e adaptações fisiológicas, como aumento do tempo de enchimento diastólico e diminuição da FC, são requeridas para tentar manter a função cardíaca.

REFERÊNCIAS

- ABEL, E. D. Glucose transport in the heart. **Front. Biosci.**, v. 1, n. 9, p. 201-215, 2004.
- ABRAHAMSEN, G. C.; BERMAN, Y.; CARR, K. Curve-shift analysis of self-stimulation in food-restricted rats: relationship between daily meal, plasma corticosterone, and reward sensitization. **Brain Res.**, v. 695, p. 186-194, 1995.
- ADAM, H. Adenosine-5'-diphosphate and adenosine-5'-monophosphate. In: BERGMEYER, H. U. **Methods of Enzymatic Analyses**. 2 ed. New York: Academic Press, 1965. p. 573-577.
- AERNI-FLESSNER, L.; ABI-JAOUDE, M.; KOENIG, A.; PAYNE, M.; HRUZ, P. W. Glut4, glut1, and glut8 are the dominant glut transcripts expressed in the murine left ventricle. **Cardiovasc. Diabetol.**, v. 11, n. 63, 2012.
- AGUILAR-NASCIMENTO, J. E.; PERRONE, F.; PRADO, L. I. A. Jejum pré-operatório de 8 horas ou de 2 horas: o que revela a evidência. **Rev. Col. Bras. Cir.**, v. 36, n. 4, p. 350-352, 2009.
- AHMET, I.; WAN, R.; MATTSON, M. P.; LAKATTA, E. G.; TALAN, M. Cardioprotection by intermitente fasting in rats. **Circulation.**, v. 112, n. 20, p. 3115-3121, 2005.
- ALLEN, D. G.; ORCHAND, C. H. Myocardial contractite function during ischemia and hypoxia. **Circul. Res.**, v. 60, n. 2, p. 153-168, 1987.
- ALP, P. R.; NEWSHOLME, E. A.; ZAMMIT, V. A. Activities of citrate synthase and NAD⁺-linked and NADP⁺-linked isocitrate dehydrogenase in muscle from vertebrates and invertebrates. **Biochem. J.**, v. 154, n. 3, p. 689-700, 1976.
- ARAD, M.; SEIDMAN, C. E.; SEIDMAN, J. G. AMP-activated protein kinase in the heart: role during health and disease. **Circ. Res.**, v. 100, p. 474-488, 2007.
- ATTIA, R. R.; CONNNAUGHTON, S.; BOONE, L. R.; WANG, F.; ELAM, M. B.; NESS, G. C.; COOK, G. A.; PARK, E. A. Regulation of pyruvate dehydrogenase kinase 4 (PDK4) by thyroid hormone: role of the peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator (PGC-1 alpha). **J. Biol. Chem.**, v. 285, p. 2375-2385, 2010.
- AYALA, J. E.; BRACY, D. P.; MCGUINNESS, O. P.; WASSERMAN, D. H. Considerations in the design of hyperinsulinemic-euglycemic clamps in the conscious mouse. **Diabetes**, v. 55, p. 390-397, 2006.
- AZEVEDO, F. R.; IKEOKA, D.; CARAMELLI, B. Efeitos do jejum intermitente no metabolismo em homens. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 59, n. 2, 2013.
- BEER, M.; SEYFARTH, T.; SANDSTEDT, J.; LANDSCHUTZ, W.; LIPKE, C.; KOSTLER, H.; VON KIENLIN, M.; HARRE, K.; HAHN, D.; NEUBAUER, S. Absolute concentrations of high-energy phosphate metabolites in normal, hypertrophied, and

failing human myocardium measured noninvasively with p-sloop magnetic resonance spectroscopy. **J. Am. Coll. Cardiol.**, v. 40, n. 7, p. 1267-1274, 2002.

BIEBER, L. L.; ABRAHAM, T.; HELMRATH, T. A rapid spectrophotometric assay for carnitine palmitoyltransferase. **Anal Biochem.**, v. 50, n. 2, p. 509-518, 1972.

BIRD, S. D.; DOEVENDANS, P. A.; van ROOIJEN, M. A.; BRUTEL de la RIVIERE, A.; HASSINK, R. J.; PASSIER, R.; MUMMERY, C. L. The human adult cardiomyocyte phenotype. **Cardiovasc. Res.**, v. 58, p. 423-434, 2003.

BOTAS, L. Metabolismo energético da célula muscular cardíaca. **Actas. Bioq.**, v. 1, p. 207-219, 1989.

BRONSON, F. H. Susceptibility of the fat reserves of mice to natural challenges. **J. Comp. Physiol. B.**, v. 157, p. 551-554, 1987.

BRUNEAU, B. G.; BAO, Z. Z.; TANAKA, M.; SCHOTT, J. J.; IZUMO, S.; CEPKO, C. L.; SEIDMAN, J. G.; SEIDMAN, C. E. Cardiac expression of the ventricle-specific homeobox gene *Irx4* is modulated by *Nkx2-5* and *dHand*. **Dev. Biol.**, v. 217, p. 266-277, 2000.

BUCHER, T.; CZOK, R.; LAMPRECHT, W.; LATZKO, E. Pyruvate. In: BERGMAYER, H. U. **Methods of Enzymatic Analyses**. 2 ed. New York: Academic Press, 1965. p. 253-259.

BUTLER, T. L.; AU, C. G.; YANG, B.; EGAN, J. R.; TAN, Y. M.; HARDEMAN, E. C.; NORTH, K. N.; VERHMAN, A. S.; WINLAW, D. S. Cardiac aquaporin expression in humans, rats, and mice. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, v. 291, p. H705-H713, 2006.

CAMPBELL, F. M.; KOZAK, R.; WAGNER, A.; ALTAREJOS, J. Y.; DYCK, J. R.; BELKE, D. D.; SEVERSON, D. L.; KELLY, D. P.; LOPASCHUK, G. D. A role for peroxisome proliferator-activated receptor alpha (PPARalpha) in the control of cardiac malonyl-CoA levels: reduced fatty acid oxidation rates and increased glucose oxidation rates in the hearts of mice lacking PPARalpha are associated with higher concentrations of malonyl-CoA and reduced expression of malonyl-CoA decarboxylase. **J. Biol. Chem.**, v. 277, p. 4098-4103, 2002.

CARLSON, M. G.; SNEAD, W. L.; CAMPBELL, P. J. Fuel and energy metabolism in fasting humans. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 60, n. 1, p. 29-36, 1994.

CARR, K. D. Augmentation of drug reward by chronic food restriction: behavioral evidence and underlying mechanisms. **Physiol. Behav.**, v. 76, p. 353-364, 2002.

COOK, G. A.; EDWARDS, T. L.; JANSEN, M. S.; BAHOUTH, S. W.; WILCOX, H. G.; PARK, E. A. Differential regulation of carnitine palmitoyltransferase-I gene isoforms (cpt-I alpha and cpt-I beta) in the rat heart. **J. Mol. Cell. Cardiol.**, v. 33, n. 2, p. 317-329, 2001.

COOTE, J. H. Myths and realities of the cardiac vagus. **J. Physiol.**, v. 591, n. 17, p. 4073-4085, 2013.

CRABTREE, B.; NEWSHOLME, E. A. The activities of phosphorylase, hexokinase, phosphofructokinase, lactate dehydrogenase and the glycerol 3-phosphate dehydrogenases in muscles from vertebrates and invertebrates. **Biochem. J.**, v. 126, n. 1, p. 49-58, 1972.

CURI, R. Integração do Metabolismo. In: CURI, R.; PROCOPIO, J. **Fisiologia Básica**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. cap. 54, p. 754-769.

DACIE, J. V.; LEWIS, S. M. **Practical haematology**. 10 ed. New York: Churchill Livingstone, 2008.

de SOUZA JUNIOR, A. L.; MALFITANO, C.; FIGUEROA, D.; SOUZA, L. E.; IGNOTTI, E.; IRIGOYEN, M. C.; CURI, R. Effect of fasting and refeeding on the consequences of myocardial infarction in rats. **Integr. Mol. Med.**, v. 3, n. 1, p. 478-483, 2015.

DOENST, T.; NGUYEN, D.; ABEL, D.; PHIL, D. Cardiac metabolism in heart failure : implications beyond ATP production. **Circ. Res.**, v. 113, n. 6, p. 709-724, 2013.

DUFFY, P. H.; LEAKEY, J.; PIPKIN, J.; TURTURRO, A.; HART, R. The hysiological, neurologic, and behavioral effects of caloric restriction related to aging, disease, and environmental factors. **Environ. Res.**, v. 73, p. 242-248, 1997.

EGAN, J. R.; BUTLER, T. L.; AU, C. G.; TAN, Y. M.; NORTH, K. N.; WINLAW, D. S. Myocardial water handling and the role of aquaporins. **Biochim. Biophys. Acta.**, v. 1758, p. 1043-1052, 2006.

FEGURI, G. R.; LIMA, P. R. L.; LOPES, A. M.; ROLEDO, A.; MIRIAM, M.; TREVISAN, M.; AHMAD, H.; FREITAS, B. B; AGUILAR-NASCIMENTO, J. E. Resultados clínicos e metabólicos da abreviação do jejum com carboidratos na revascularização cirúrgica do miocárdio. **Rev. Bras. Cir. Cardiovasc.**, v. 27, n. 1, p. 7-17, 2012.

FENG, J.; WIBLE, B.; LI, G-R.; WANG, Z.; NATTEL, S. Antisense oligodeoxynucleotides directed against Kv1.5 mRNA specifically inhibit ultrarapid delayed rectifier K1 current in cultured adult human atrial myocytes. **Circ. Res.**, v. 80, p. 572-579, 1997.

FINCK, B. N.; LEHMAN, J. J.; LEONE, T. C.; WELCH, M. J.; BENNETT, M. J.; KOVACS, A.; HAN, X.; GROSS, R. W.; KOZAK, R.; LOPASCHUK, G. D.; KELLY, D. P. The cardiac phenotype induced by PPARalpha overexpression mimics that caused by diabetes mellitus. **J. Clin. Invest.**, v. 109, n. 1, p. 121-130, 2002.

FRAYN, K. N.; ARNER, P.; YKI-JARVINEN, H. Fatty acid metabolism in adipose tissue, muscle and liver in health and disease. **Essays Biochem.**, v. 42, p. 89-103, 2006.

FURNER, R. L.; FELLER, D. D. Influence of starvation upon hepatic drug metabolism in rats, mice, and guinea pigs. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, 137: 816-819, 1971.

GABORIT, N.; LE BOUTER, S.; SZUTS, V.; VARRO, A.; ESCANDE, D.; NATTEL, S.; DEMOLOMBE, S. Regional and tissue specific transcript signatures of ion channel genes in the nondiseased human heart. **J. Physiol.**, v. 582, p. 675-693, 2007.

GAMBERT, S.; HELIES-TOUSSAINT, C.; GRYNBERG, A. Regulation of intermediary metabolism in rat cardiac myocyte by extracellular glycerol. **Biochim. Biophys. Acta.**, v. 1736, p. 152-162, 2005.

GERHART-HINES, Z.; RODGERS, J. T.; BARE, O.; LERIN, C.; KIM, S. H.; MOSTOSLAVSKY, R.; ALT, F. W.; PUIGSERVER, P. Metabolic control of muscle mitochondrial function and fatty acid oxidation through SIRT1/PGC-1 α . **EMBO J.**, v. 26, p. 1913-1923, 2007.

GERTZ, E. W.; WISNESKI, J. A.; STANLEY, W. C.; NEESE, R. A. Myocardial substrate utilization during exercise in humans. Dual carbon-labeled carbohydrate isotope experiments. **J. Clin. Invest.**, v. 82, n. 6, p. 2017-2025, 1988.

GIBBS, C. L. Cardiac energetics. **Physiol. Rev.**, v. 58, n. 1, p. 174-254, 1978.

GILDA, J. E.; GOMES, A. V. Stains-Free total protein staining is a superior loading control to β -actin for Western blots. **Anal Biochem.**, v. 440, n. 2, p. 186-188, 2013.

GIMENO, R. E.; ORTEGON, A. M.; PATEL, S.; PUNREDDY, S.; GE, P.; SUN, Y.; LODISH, H. F.; STAHL, A. Characterization of a Heart-specific Fatty Acid Transport Protein. **J. Biol. Chem.**, v. 278, n. 18, p. 16039-16044, 2003.

GLATZ, J. F.; LUIKEN, J. J.; BONEN, A. Involvement of membrane-associated proteins in the acute regulation of cellular fatty acid uptake. **J. Mol. Neurosci.**, v. 16, n. 2-3, p. 123-132, 2001.

GOLDHAMER, A.C.; LISLE, D. J.; SULTANA, P.; ANDERSON, S. V.; PARPIA, B.; HUGHES, B.; CAMPBELL, T. C. Medically supervised water-only fasting in the treatment of borderline hypertension. **J. Altern. Complement. Med.**, v. 8, n. 5, p. 643-650, 2002.

GOURINE, A. V.; MACHHADA, A.; TRAPP, S.; SPYER, K. M. Cardiac vagal preganglionic neurones: An update. **Auton. Neurosci.**, v. 199, p. 24-28, 2016.

GURSOY, E.; CARDOUNEL, A.; HU, Y.; MUHAMMED, K. Biological effects of long-term caloric restriction: adaptation with simultaneous administration of caloric stress plus repeated immobilization stress in rats. **Exp. Biol. Med.**, v. 226, p. 97-102, 2001.

HABETS, D. D.; COUMANS, W. A.; EL HASNAOUI, M.; ZARRINPASHNEH, E.; BERTRAND, L.; VIOLLET, B.; KIENS, B.; JENSEN, T. E.; RICHTER, E. A.; BONEN, A.; GLATZ, J. F.; LUIKEN, J. J. Crucial role for LKB1 to AMPK α 2 axis in the regulation of CD36-mediated long-chain fatty acid uptake into cardiomyocytes. **Biochim. Biophys. Acta.**, v.1791, n. 3, p. 212-219, 2009.

HARDIE, D. G. AMP-activated/SNF1 protein kinases: conserved guardians of cellular energy. **Nat. Rev. Mol. Cell. Biol.**, v. 8, p. 774-785, 2007.

HARDIE, D. G.; CARLING, D.; CARLSON, M. The AMP-activated/SNF1 protein kinase subfamily: metabolic sensors of the eukaryotic cell? **Annu. Rev. Biochem.**, v. 67, p. 821-855, 1998.

HARDIE, D. G.; SCOTT, J. W.; PAN, D. A.; HUDSON, E. R. Management of cellular energy by the AMP-activated protein kinase system. **FEBS Lett.**, v. 546, p. 113-120, 2003.

HARDIE, D.; HAWLEY, S. AMP-activated protein kinase: the energy charge hypothesis revisited. **Bioessays**, v. 23, p. 1112-1119, 2001.

HASHIMOTO, T.; COOK, W. S.; QI, C.; YELDANDI, A. V.; REDDY, J. K.; RAO, M. S. Defect in peroxisome proliferator-activated receptor alpha-inducible fatty acid oxidation determinesthe severity of hepatic steatosis in response to fasting. **J. Biol. Chem.**, v. 275, p. 28918-28928, 2000.

HEIDERSTADT, K. M.; MCLAUGHLIN, R.; WRIGHT, D.; WALKER, S.; GOMEZ-SANCHES, C. The effect of chronic food and water restriction on open-field ehaviour and serum corticosterone levels in rats. **Lab. Anim.**, v. 34, p. 20-28, 2000.

HEILBRONN, L. K.; SMITH, S. R.; MARTIN, C. K.; ANTON, S. D.; RAVUSSIN, E. Alternate-day fasting in nonobese subjects: effects on body weight, body composition, and energy metabolismo. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 81, n. 1, p. 69-73, 2005.

HENNING, S. L.; WAMBOLT, R. B.; SCHONEKESS, B. O.; LOPASCHUK, G. D.; ALLARD, M. F. Contribution of glycogen to aerobic myocardial glucose utilization. **Circulation**, v. 93, p. 1549-1555, 1996.

HIBUSE, T.; MAEDA, N.; NAKATSUJI, H.; TOCHINO, Y.; FUJITA, K.; KIHARA, S.; FUNAHASHI, T.; SHIMOMURA, I. The heart requires glycerol as an energy substrate through aquaporin 7, a glycerol facilitator. **Cardiovasc. Res.**, v. 83, p. 34-41, 2009.

HUE, L.; RIDER, M. H. The AMP-activated protein kinase: more than an energy sensor. **Essays Biochem.**, v. 43, p. 121-137, 2007.

HUE, L.; TAEGTMEYER, H. The Randle cycle revisited: a new head for an old hat. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 297, n. 3, p. 578-591, 2009.

HUNTER, R. W.; TREEBAK, J.T.; WOJTASZEWSKI, J. F. P.; SAKAMOTO, K. Molecular mechanism by which AMP-activated protein kinase activation promotes glycogen accumulation in muscle. **Diabetes**, v. 60, p. 766-774, 2011.

HUSS, J. M.; TORRA, I.P.; STAELS, B.; GIGUERE, V.; KELLY, D. P. Estrogen-related receptor alpha directs peroxisome proliferator-activated receptor alpha signaling in the transcriptional control of energy metabolism in cardiac and skeletal muscle. **Mol. Cell. Biol.**, v. 24, n. 20, p. 9079-9091, 2004.

IDELL-WENGER, J. A.; GROTYOHANN, L. W.; NELLY, J. R. Coenzyme A and carnitine distribution in normal and ischaemic hearts. **J. Biol. Chem.**, v. 253, n. 12, p. 4310-4318, 1978.

JENSEN, T. L.; KIERSGAARD, M.K.; SORENSEN, D. B.; MIKKELSEN, L. F. Fasting of mice: a review. **Lab. Anim.**, v. 47, n. 4, p. 225-240, 2013.

JIN, E. S.; SHERRY, A. D.; MALLOY, C. R. Evidence for Transaldolase Activity in the Isolated Heart Supplied with [U-13C3]Glycerol. **J. Biol. Chem.**, v. 288, n. 5, p. 2914-2922, 2013.

JUNQUEIRA, L. C. U.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 13 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. p. 200-216.

KANE, C.; TERRACCIANO, C. M. N. Concise Review: Criteria for Chamber-Specific Categorization of Human Cardiac Myocytes Derived from Pluripotent Stem Cells. **Stem Cells.**, v. 35, p. 1881-1897, 2017.

KEPLER D.; DECKER K. Glycogen Determination with Amyloglucosidase. In: BERGMEYER, H. U. **Methods of Enzymatic Analyses**. 4 ed. Weinheim: Verlag Chemie, 1974. p. 1127-1131.

KERNDT, P. R.; NAUGHTON, J. L.; DRISCOLL, C.E.; LOXTERKAMP, D. A. Fasting: the history, pathophysiology and complications. **West. J. Med.**, v. 137, n. 5, p. 379-399, 1982.

KOKUBUN E.; HIRABARA, S. M.; FIAMONCINI, J.; CURI, R.; HAEBISCH, H. et al. Changes of glycogen content in liver, skeletal muscle, and heart from fasted rats. **Cell Biochem. Funct.**, v. 27, p. 488-495, 2009.

LAMPRECHT W.; TRAUTSHOLD I. Determination with Hexokinase and Glucose-6-phosphate Dehydrogenase. In: BERGMEYER, H. U. **Methods of Enzymatic Analyses**. 2 ed. Weinheim: Verlag Chemie, 1965. p. 543-551.

LAN, F.; CACICEDO, J. M.; RUDERMAN, N.; IDO, Y. SIRT1 modulation of the acetylation status, cytosolic localization, and activity of LKB1. Possible role in AMP-activated protein kinase activation. **J. Biol. Chem.**, v. 283, p. 27628-27635, 2008.

LANCHA JR, A. H.; RECCO, A. B.; CURI, R. Piruvate carboxylase activity in the heart and skeletal muscles of the rat. **Biochem. and Mol. Biol. International.**, v. 32, n. 3, p. 483-489, 1994.

LEE, D.; MARTINEZ, B.; CROCKER, D. E.; ORTIZ, R. M. Fasting increases the phosphorylation of AMPK and expression of sirtuin 1 in muscle of adult male northern elephant seals (*Mirounga angustirostris*). **Physiol. Rep.**, v. 5, n. 4, p. 1-13, 2017.

LEE, K.; ROSS, R. S.; ROCKMAN, H. A.; HARRIS, A. N.; O'BRIEN, T. X.; van BILSEN, M.; SHUBEITA, H. E.; KANDOLF, R.; BREM, G.; PRICE, J. Myosin light chain-2

luciferase transgenic mice reveal distinct regulatory programs for cardiac and skeletal musclespecific expression of a single contractile protein gene. **J. Biol. Chem.**, v. 267, p. 15875-15885, 1992.

LIEPINSH, E.; MAKRECKA, M.; KUKA, J.; MAKAROVA, E.; VILSKERSTS, R.; CIRULE, H.; SEVOSTJANOUS, E.; GRINBERGA, S.; PUGOVICS, O.; DAMBROVA, M. The heart is better protect against myocardial infarction in the fed state compared to the fasted state. **Metabolism**, v. 63, p. 127-136, 2014.

LIN, J.; HANDSCHIN, C.; SPIEGELMAN, B. M. Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators. **Cell. Metab.**, v. 1, p. 361–370, 2005.

LIVAK, K. J.; SCHMITTGEN, T. D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. **Methods**, v. 25, n. 4, p. 402-408, 2001.

LONGO, V. D.; MATTSON, M. P. Fasting: molecular mechanisms and clinical applications. **Cell. Metab.**, v. 19, n. 2, p. 181-192, 2014.

LOPASCHUK, G. D.; USSHER, J. R.; FOLMES, C. D.; JASWAL, J. S.; STANLEY, W. C. Myocardial fatty acid metabolism in health and disease. **Physiol. Rev.**, v. 90, p. 207-258, 2010.

LUKYANENKO, V.; CHIKANDO, A.; LEDERER, W. J. Mitochondria in cardiomyocyte Ca²⁺ signaling. **Int. J. Biochem. Cell. Biol.**, v. 41, p. 1957–1971, 2009.

LYNEN, L.; WIELAND, O. **Methods in Enzymology**. Academic Press, v. 1, p. 566-567, 1955.

MACHADO, M. N. Jejum pré-operatório: revendo conceitos e condutas. **Rev. Bras. Cir. Cardiovasc.**, v. 27, n. 1, p. 4-5, 2012.

MARSIN, A. S.; BERTRAND, L.; RIDER, M. H.; DEPREZ, J.; BEAULOYE, C.; VINCENT, M. F.; Van den BERGHE, G.; CARLING, D.; HUE, L. Phosphorylation and activation of heart PFK-2 by AMPK has a role in the stimulation of glycolysis during ischaemia. **Curr. Biol.**, v. 10, p. 1247–1255, 2000.

MARSIN, A. S.; BOUZIN, C.; BERTRAND, L.; HUE, L. The stimulation of glycolysis by hypoxia in activated monocytes is mediated by AMP-activated protein kinase and inducible 6-phosphofructo-2-kinase. **J. Biol. Chem.**, v. 277, p. 30778–30783, 2002.

MAUGHAN, R. J.; FALLAH, J.; COYLE, E. F. The effects of fasting on metabolism and performance. **Br. J. Sports Med.**, v. 44, n. 7, p. 490-494, 2010.

MENDELSON, C. L. The aspiration of stomach contents into the lungs during obstetric anesthesia. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v. 52, p. 191- 205, 1946.

MICHELINI, L. C. Músculo Cardíaco/ Acoplamento Excitação-Contração e Contratilidade. In: CURI, R.; PROCOPIO, J. **Fisiologia Básica**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. cap. 26, p. 350-359.

MINOKOSHI, Y.; ALQUIER, T.; FURUKAWA, N.; KIM, Y.-B.; LEE, A.; XUE, B.; UM, J.; FOUFELLE, F.; FERRÉ, P.; BIRNBAUM, M. J.; STUCK, B. J.; KAHN, B. B. AMP-kinase regulates food intake by responding to hormonal and nutrient signals in the hypothalamus. **NATURE**, v. 428, p. 569-574, 2004.

MOORE, K. L.; DALLEY, F. A.; AGUR, A. M. R. **Anatomia orientada para a clínica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

MORTON, S. R. Torpor and nest-sharing in free-living *Sminthopsis crassicaudata* (Marsupialia) and *Mus musculus* (Rodentia). **J. Mammal.**, v. 59, p. 569-575, 1978.

MURPHY, B. A.; FIORAMONTI, X.; JOCHNOWITZ, N.; FAKIRA, K.; GAGEN, K.; CONTIE, S.; LORSIGNOL, A.; PENICAUD, L.; MARTIN, W. J.; ROUTH, V. H. Fasting enhances the response of arcuate neuropeptide Y-glucose-inhibited neurons to decreased extracellular glucose. **Am. J. Physiol. Cell. Physiol.**, v. 296, p. C746-C756, 2009.

MURRAY, M. P.; KORY, R. C.; CLARKSON, B. H. Walking patterns in healthy old men. **Journal of Gerontology**, v. 24, p. 169-178, 1969.

NAGOSHI, T.; YOSHIMURA, M.; ROSANO, G. M.; LOPASCHUK, G. D.; MOCHIZUKI, S. Optimization of cardiac metabolism in heart failure. **Curr. Pharm. Des.**, v. 17, p. 3846-3853, 2011.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2014. p. 544-580.

NETTER, F. H. **Atlas de Anatomia Humana**. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

NG, S. Y.; WONG, C. K.; TSANG, S. Y. Differential gene expressions in atrial and ventricular myocytes: insights into the road of applying embryonic stem cell-derived cardiomyocytes for future therapies. **Am. J. Physiol.**, v. 199, p. C1234-1249, 2010.

NOWLAND, M. H.; HUGUNIN, K. M. S.; ROGERS, K. L. Effect of Short-Term Fasting in Male Sprague-Dawley Rats. **Comparative Med.**, v. 61, n. 2, p. 138-143, 2011.

NYGREN, J. The metabolic effects of fasting and surgery. **Best. Pract. Res. Clin. Anaesthesiol.**, v. 20, n. 3, p. 429-38, 2006.

NYGREN, J.; THORELL, A. M.; LJUNGQVIST, O. New developments facilitating nutritional intake after gastrointestinal surgery. **Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care**, v. 6, n. 5, p. 593-597, 2003.

O'MALLEY, J.; DAMBROSIA, J. M.; DAVIS, J. A. Effect of housing density on reproductive parameters and corticosterone levels in nursing mice. **J. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci.**, v. 47, p. 9-15, 2008.

O'NEILL, H. M.; MAARBJERG, S. J.; CRANE, J. D.; JEPPESEN, J.; JORGENSEN, S. B.; SCHERTZER, J. D.; SHYROKA, O.; KIENS, B.; van DENDEREN, B. J.;

TARNOPOLSKY, M. A.; KEMP, B. E.; RICHTER, E. A.; STEINBERG, G. R. AMP-activated protein kinase (AMPK) beta1beta2 muscle null mice reveal an essential role for AMPK in maintaining mitochondrial content and glucose uptake during exercise. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v. 108, p. 16092-16097, 2011.

OPIE, L. H. Mechanisms of Contraction and Relaxation. In: ZIPES, D. P. **Braunwald's heart disease: a textbook of cardiovascular medicine**. 7 ed. Philadelphia: Saunders, 2005. cap. 19, p. 457-487.

OPIE, L. H. Metabolism of the heart in health and disease (parte I). **Am. Heart J.**, v. 76, n. 5, p. 685-698, 1968.

OPIE, L. H.; NEWSHOLME, E. A. The activities of fructose 1,6-diphosphatase, phosphofructokinase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in white muscle and red muscle. **Biochem. J.**, v. 103, n. 2, p. 391-399, 1967.

PRIESTMAN, D. A.; ORFALI, K. A.; SUGDEN, M. C. Pyruvate inhibition of pyruvate dehydrogenase kinase. Effects of progressive starvation and hyperthyroidism in vivo, and of dibutyryl cyclic AMP and fatty acids in cultured cardiac myocytes. **FEBS Lett.**, v. 393, p. 174-178, 1996.

RANDLE, P. J. Regulatory interactions between lipids and carbohydrates: the glucose fatty acid cycle after 35 years. **Diabetes Metab. Rev.**, v. 14, n. 4, p. 263-283, 1998.

RANDLE, P. J.; GARLAND P. B.; HALES, C. N.; NEWSHOLME, E. A. The glucose fatty-acid cycle. Its role in insulin sensitivity and the metabolic disturbances of diabetes mellitus. **Lancet**, v. 1, p. 785-789, 1963.

RAVENS, U.; CERBAI, E. Role of potassium currents in cardiac arrhythmias. **Europace.**, v. 10, p. 1133-1137, 2008.

RAYMENT, I.; HOLDEN, H. M.; WHITTAKER, M. Structure of the actin-myosin complex and its implications for muscle contraction. **Science**, v. 261, p. 58-65, 1993.

RINGER, S. Concerning the influence exerted by each of the constituents of the blood on the contraction of the ventricle. **J. Physiol.**, v. 3, p. 380-393, 1882.

RODGERS, J. T.; PUIGSERVER, P. Fasting-dependent glucose and lipid metabolic response through hepatic sirtuin 1. **Proc. Natl Acad. Sci. USA.**, v. 104, p. 12861-12866, 2007.

ROMERO-CALVO, I.; OCÓN, B.; MARTINEZ-MOYA, P.; SUÁREZ, M. D.; ZARZUELO, A.; MARTÍNEZ-AUGUSTIN, O.; MEDINA, F. S. Reversible ponceau staining as a loading control alternative to actin in Western blots. **Anal Biochem.**, v. 401, n. 2, p. 318-320, 2010.

ROWE, G. C.; JIANG, A.; ARANY, Z. Pgc-1 coactivators in cardiac development and disease. **Circ. Res.**, v. 107, n. 7, p. 825-838, 2010.

RUSSELL, R. R.; TAEGTMEYER, H. Pyruvate carboxylation prevents the decline in contractile function of rat hearts oxidizing acetoacetate. **American Journal of Physiology**, v. 261, p. H1756-H1762, 1991.

SANG, Q.; YAO, Z.; WANG, H.; FENG, R.; ZHAO, X.; XING, Q.; JIN, L.; HE, L.; WU, L.; WANG, L. Identification of microRNAs in human follicular fluid: characterization of microRNAs that govern steroidogenesis in vitro and are associated with polycystic ovary syndrome in vivo. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 98, n. 7, p. 3068-3079, 2013.

SANTOS, R. A. S.; CAMPAGNOLE-SANTOS, M. J.; FERREIRA, A. J.; SAMPAIO, W. O. Visão Integrada da Circulação. In: CURI, R.; PROCOPIO, J. **Fisiologia Básica**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. cap. 23, p. 319-327.

SHAPIRO, A. L.; VIÑUELA, E.; MAIZEL, J. V. JR. Molecular weight estimation of polypeptide chains by electrophoresis in SDS-polyacrylamide gels. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 28, n. 5, p. 815-820, 1967.

SHIMADA, T.; KAWAZATO, H.; YASUDA, A.; ONO, N.; SUEDA, K. Cytoarchitecture and intercalated disks of the working myocardium and the conduction system in the mammalian heart. **Anat. Rec. A. Discov. Mol. Cell. Evol. Biol.**, v. 280, n. 2, p. 940-951, 2004.

SILVEIRA, L. R.; PINHEIRO, C. H. J.; ZOPPI, C. C.; HIRABARA, S. M.; VITZEL, K. F.; BASSIT, R.; LEANDRO, C. G.; BARBOSA, M. R.; SAMPAIO, I. H.; MELO, I. H. P.; FIAMONCINI, J.; CARNEIRO, E. M.; CURI, R. Regulação do metabolismo de glicose e ácido graxo no músculo esquelético durante exercício físico. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 55, n. 5, p. 303-313, 2011.

SMITH, L. K.; METZ, G. A. Dietary restriction alters fine motor function in rats. **Physiol. Behav.**, v. 85, p. 581-592, 2005.

SNOREK, M.; HODYC, D.; SEDIVÝ, V.; DURISOVÁ, J.; SKOUMALOVÁ, A.; WILHELM, J.; NECKÁR, J.; KOLÁR, F.; HERGET, J. Short-term fasting reduces the extent of myocardial infarction and incidence of reperfusion arrhythmias in rats. **Physiol. Res.**, v. 61, n. 6, p. 567-574, 2012.

SOETERS, M. R.; LAMMERS, N. M.; DUBBELHUIS, P.F.; ACKERMANS, M.; JONKERS-SCHUITEMA, C. F. FILIERS, E.; SAUERWEIN, H. P.; AERTS, J.M.; SERLIE, M. J. Intermittent fasting does not affect whole-body glucose, lipid or protein metabolism. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 90, n. 5, p. 1244-1251, 2009.

STOPPANI, J.; HILDEBRANDT, A. L.; SAKAMOTO, K.; CAMERON-SMITH, D.; GOODYEAR, L. J.; NEUFER, P. D. AMP-activated protein kinase activates transcription of the UCP3 and HKII genes in rat skeletal muscle. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 283, p. E1239-E1248, 2002.

SUGA, H. Ventricular energetics. **Physiol. Rev.**, v. 70, n. 2, p. 47-277, 1990.

SUNDQVIST, K. E.; HILTUNEN, J. K.; HASSINEN, I. E. Pyruvate carboxylation in the rat heart. Role of biotin-dependent enzymes. **Biochemical Journal**, v. 257, p. 913-916, 1989.

TOWBIN, H.; STAEBELIN, T.; GORDON, J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.**, v. 76, n. 9, p.145-149, 1979.

TRABER, D. L.; MEYER, J.; TRABER, L. D. Cardiac Function During Hypovolemia. In: SCHLAG, G.; REDL, H. **Pathophysiology of Shock, Sepsis, and Organ Failure**. Berlin: Heidelberg, 1993.

TSUKAMOTO, Y.; NAKADA, C.; NOGUCHI, T.; TANIGAWA, M.; NGUYEN, L.T.; UCHIDA, T.; HIJIA, N.; MATSUURA, K.; FUJIOKA, T.; SETO, M.; MORIYAMA, M. MicroRNA-375 is downregulated in gastric carcinomas and regulates cell survival by targeting PDK1 and 14-3-3zeta. **Cancer. Res.**, v. 70, p. 2339-2349, 2010.

UTTER, M. F.; KEECH, D. B. Pyruvate Carboxylase. **J. Biol. Chem.**, v. 238, n. 8, p. 2603-2608, 1963.

van der LEE, K. A. J. M.; WILLEMSSEN, P. H. M.; SAMEC, S.; SEYDOUX, J.; ABDUL, G. D.; PELSERS, M. M. A. L.; GLATZ, J. F. C.; van der VUSSE, G. J.; BILSEN, M. V. Fasting-induced changes in the expression of genes controlling substrate metabolism in the rat heart. **Journal of Lipid Research**, v. 42, p. 1753-1758, 2001.

van der VUSSE, G. J.; van BILSEN, M.; GLATZ, J. F. Cardiac fatty acid uptake and transport in health and disease. **Cardiovasc. Res.**, v. 45, n. 2, p. 279-293, 2000.

VARY, T. C.; REIBEL, D. K.; NEELY, J. R. Control of energy metabolism of heart muscle. **Ann. Rev. Physiol.**, v. 43, p. 419-430, 1981.

VASSALO, D. V.; OLIVEIRA, E. M.; STEFANON, I. Contratilidade miocárdica. In: AIRES, M. M. **Fisiologia**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012. cap. 30, p. 435-464.

WALLACE, J.C.; JITRAPAKDEE, S.; CHAPMAN-SMITH, A. Pyruvate carboxylase. **Int. J. Biochem. Cell. Biol.**, v. 30, n. 1, p. 1-5, 1998.

WAN, R.; AHMET, I.; BROWN, M.; CHENG, A.; KAMIMURA, N.; TALAN, M.; MATTSON, M. P. Cardioprotective effect of intermitente fasting is associated with na elevation of adiponectin levels in rats. **J. Nutr. Biochem.**, v. 21, n. 5, p. 413-417, 2010.

WARWICK, R. O.; SMITH, M. P.; GRAFFY, M. A.; LAGE, G. L. Altered distribution and toxicity of digitoxigenin in fasted mice. **Life Sci.**, v. 37, p. 775-782, 1985.

WILLIAMS, T. D.; CHAMBERS, J. B.; HENDERSON, R. P.; RASHOTTE, M. E.; OVERTON, J. M. Cardiovascular responses to caloric restriction and thermoneutrality in C57BL/6J mice. **Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.**, v. 282, p. R1459-R1467, 2002.

WILLIAMSON, J. R. Mitochondrial function in the heart. **Ann. Rev. Physiol.**, v. 41, p. 485-506, 1979.

WISNESKI, J. A.; GERTZ, E. W.; NEESE, R. A.; GRUENKE, L. D.; CRAIG, J. C. Dual carbon-labeled isotope experiments using d-[6-14c] glucose and l-[1,2,3-13c3] lactate: A new approach for investigating human myocardial metabolism during ischemia. **J Am. Coll. Cardiol.**, v. 5, n. 5, p. 1138-1146, 1985.

WU, C-Y.; SATAPATI, S.; GUI, W.; WYNN, R. M.; SHARMA, G.; LOU, M.; QI, X.; BURGESS, S. C.; MALLOY, C.; KHEMTONG, C.; SHERRY, A. D.; CHUANG, D.; MERRITTS, M. E. A Novel Inhibitor of Pyruvate Dehydrogenase Kinase Stimulates Myocardial Carbohydrate Oxidation in Diet-Induced Obesity. **J. Biol. Chem.**, v. 293, p. 9604-9624, 2018.

WU, P.; INSKEEP, K.; BOWKER-KINLEY, M. M.; POPOV, K. M. HARRIS, R. A. Mechanism responsible for inactivation of skeletal muscle pyruvate dehydrogenase complex in starvation and diabetes. **Diabetes.**, v. 48, p. 1593-1599, 1999.

WU, P.; SATO, J.; ZHAO, Y.; JASKIEWICZ, J.; POPOV, K. M.; HARRIS, R. A. Starvation and diabetes increase the amount of pyruvate dehydrogenase kinase isoenzyme 4 in rat heart. **Biochem. J.**, v. 329, p. 197-201, 1998.

WRIGHT, J. W.; O'KELLY, L. I. Deviations in body fluids during fasting in rats: Failure of ADH treatment and nonnutritive bulk in preventing the occurrence of plasma hypovolemia. **Physiology & Behavior**, v. 11, n. 6, p. 791-800, 1973.

ZAHA, V. G.; YOUNG, L. H. AMP-activated protein kinase regulation and biological actions in the heart. **Circ. Res.**, v. 111, n. 6, p. 800-814, 2012.

ZAMMIT, V. A.; NEWSHOLME, E. A. Properties of pyruvate kinase and phosphoenolpyruvate carboxykinase in relation to the direction and regulation of phosphoenolpyruvate metabolism in muscles of the frog and marine invertebrates. **Biochem. J.**, v. 174, n. 3, p. 979-987, 1978.

ZHENG, D.; MACLEAN, P. S.; POHNERT, S. C.; KNIGHT, J. B.; OLSON, A. L.; WINDER, W. W.; DOHM, G. L. Regulation of muscle GLUT-4 transcription by AMP-activated protein kinase. **J. Appl. Physiol.**, v. 91, p. 1073-1083, 1985.