



CONSUMO DE MACA PERUANA (*Lepidium meyenii* Walp) NÃO ALTERA A RESPOSTA AO ESTRESSE CELULAR NO TECIDO HEPÁTICO DE RATAS OVARIECTOMIZADAS¹

Elisângela De Fátima Balzan Valentini², Anna Karolina Kretschmann Florencio de Souza Bagetti³, Lucas Machado Sulzbacher⁴, Paula Taís Friske⁴, Giuseppe Potrick Stefani⁵, Mirna Stela Ludwig⁶

¹ Pesquisa Institucional desenvolvida no Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF) da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul (UNIJUI).

² Estudante do curso de Medicina da UNIJUI. Bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica, financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - PIBIC/CNPq.

³ Estudante do curso de Medicina da UNIJUI. Bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica e Tecnológica financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul - PROBIC/PROBITI-FAPERGS.

⁴ Mestrando(a) do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde - PPGAIS.

⁵ Nutricionista. Pós-Doutorando no Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde - PPGAIS (UNICRUZ/UNIJUI/URI). Professor da PUCRS.

⁶ Professora do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde - PPGAIS (UNICRUZ/UNIJUI/URI). E-mail: ludwig@unijui.edu.br.

INTRODUÇÃO

O climatério é a fase de transição entre o período reprodutivo e o não reprodutivo da mulher, que inicia-se por volta dos 40 anos, cumprindo-se até por volta dos 65 anos. Ele é caracterizado por modificações endócrinas, biológicas e clínicas, sendo essas alterações fisiológicas e não patológicas. A menopausa é definida como o último período menstrual, identificado retrospectivamente após 12 meses de amenorreia (Febrasgo, 2018).

Tendo em vista o período de climatério e seus efeitos na mulher, cada vez mais procura-se alternativas terapêuticas para amenizar os sintomas dessa fase transicional. A suplementação com maca peruana (*Lepidium meyenii* Walp) tem sido estudada como uma terapia potencial. Oriunda dos Andes Centrais do Peru, a maca é muito utilizada na alimentação dos povos nativos. Estudos demonstram que o consumo dessa planta promove benefícios em diversos órgãos e sistemas, por exemplo, no tecido hepático, pode diminuir a infiltração de células inflamatórias, melhorar a atividade de enzimas antioxidantes e aliviar o dano oxidativo lipídico através da antioxição (Fei et al., 2022).

Considerando as alterações fisiológicas resultantes da ovariectomia, como a redução da concentração de 17 β -estradiol (E2) e o aumento de citocinas pró-inflamatórias (Abu-Taha et al., 2009), faz-se importante e pertinente estudar as condições de estresse celular no tecido hepático por meio de biomarcadores como as proteínas do choque térmico (HSP, do inglês

Heat Shock Proteins). Uma das famílias mais estudadas e conhecidas, é a família de 70kDa, HSP70.

Sabe-se que essas proteínas atuam no dobramento de proteínas, orientando a renaturação e prevenindo a agregação proteica (Castro et al., 2013). Elas são localizadas no meio intracelular (iHSP70) mas em condições estressantes, pode haver liberação HSP70 para o meio extracelular (eHSP70), onde ela atua como um mediador inflamatório (Costa-Beber et al., 2022). Estudos realizados com mulheres pós-menopáusicas e com síndrome metabólica, indicam que os níveis de HSP70 aumentaram no sangue, conforme o acréscimo de parâmetros definidores dessa condição (Nahas et al., 2014). Portanto, o objetivo deste estudo é analisar o efeito da suplementação de maca peruana (*Lepidium meyenii* Walp) sobre a expressão da iHSP70 no fígado de ratas ovariectomizadas.

METODOLOGIA

O presente estudo integra parte de um estudo desenvolvido por mestrando do Programa de Pós - Graduação Stricto Sensu em Atenção Integral à Saúde, avaliado e aprovado pelo CEUA Parecer N. 023/21, desenvolvido no Laboratório de Ensaio Biológicos da UNIJUI.

Foram utilizadas 12 ratas Wistar (*Rattus Norvegicus Albinus*) com 5 meses de vida, divididos em 4 grupos: 1) Controle (n=3; ratas submetidas à falsa cirurgia); 2)OVX (n=3; ratas que foram ovariectomizadas); 3)MACA (n=3; animais que receberam doses de maca e que foram submetidos à falsa cirurgia); 4)MACA + OVX (n=3; ratas ovariectomizadas que receberam suplementação com a maca).

Primeiramente, os animais foram avaliados quanto ao perfil biométrico e tolerância à glicose (48 horas antes da cirurgia). Após, foram submetidos a cirurgia de ovariectomia (retirada bilateral dos ovários) ou à falsa cirurgia (exposição dos ovários, com posterior reposicionamento e sutura) e mantidos na fase I, fase de pós-cirúrgica sem suplementação com maca, por quatro (04) semanas. Após, as ratas passaram para a fase II, pós-ovariectomia (ou falsa cirurgia), com suplementação diária de maca, na dose de 1g/Kg de peso corporal, diariamente, entre 18h e 19h, durante 28 dias, por gavagem. Ao final do estudo os animais foram eutanasiados, para obtenção do material biológico de interesse.

A avaliação da expressão de HSP70 no tecido hepático foi realizada pela técnica de Western Blotting. As amostras foram pipetadas e suas proteínas fracionadas em um gel de 10% de poliacrilamida. Após o procedimento, foram transferidas para uma membrana de nitrocelulose por eletrotransferência, sendo então esta membrana corada com Red Ponceau 3% (Sigma-Aldrich). A membrana foi lavada com uma solução de TEN-Tween e depois bloqueada com uma solução de bloto a 5% (composto de leite em pó desnatado e TEN-Tween). Posteriormente, a membrana foi incubada por 12 horas em um anticorpo específico monoclonal anti-HSP70 (Sigma-Aldrich H5147, 1:1000) para que a proteína de interesse pudesse ser visualizada, seguido de anticorpo secundário (Sigma-Aldrich A9044, 1:15.000). Para avaliar a quantidade total de proteínas do gel, como normalizador, foi utilizado o anticorpo anti- β -actina contendo peroxidase (Sigma-Aldrich A3854, 1: 50000). A visualização das bandas ocorreu com o uso do reagente de transferência Western da ECLPrime (GE Healthcare) e a respectiva quantificação se deu através do software Image J®. Os resultados foram expressos em Unidades Arbitrárias de HSP70/ β -actina.

Para a análise estatística dos dados foi utilizado o teste de Shapiro-Wilk para testar a normalidade dos dados e, em seguida, análise por Kruskal Wallis, pós-teste de Dunns, no programa GraphPad Prism 9.0, com $P < 0,05$.

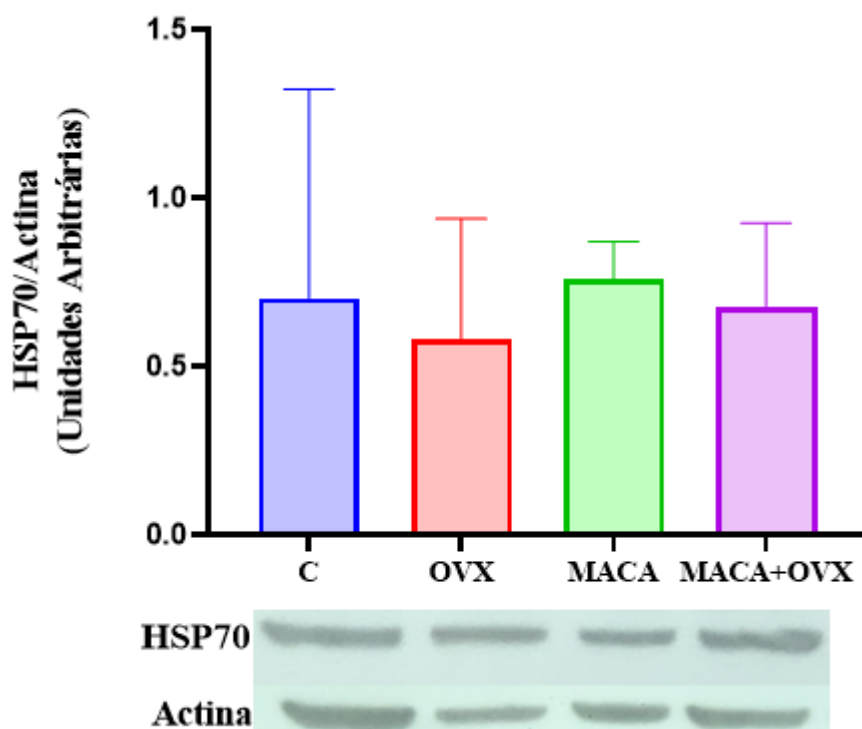
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados, apresentados na figura 1, demonstram que o tratamento com *Lepidium Meyenii* Walp, isoladamente ou associado à ovariectomia, não provocou alteração na concentração da iHSP70 no tecido hepático. Não há, portanto, evidência de que a maca, em ratas ovariectomizadas ou não (grupo controle), altere o nível de estresse celular no referido tecido. Em relação ao efeito da ovariectomia, nossos resultados corroboram com outros estudos nos quais também foi demonstrado que a remoção dos ovários, não foi capaz de alterar os níveis de iHSP70 hepática (Goettems-Fiorin et al., 2019).

Sabe-se que as HSPs, em condições fisiológicas, auxiliam no transporte, enovelamento e montagem de proteínas. A iHSP70 pode estar aumentada em respostas iniciais a condições não fisiológicas, como inflamação e citotoxicidade (Nahas et al., 2014). Para que haja um aumento da expressão dessa proteína do estresse, é necessário que ocorram estímulos estressores suficientemente intensos para desencadear a formação e ativação do

HSF-1 (heat shock factor 1) (Whitesell; Lindquist, 2009). Assim, podemos entender que a suplementação com maca peruana, não representa risco maior de estresse no tecido hepático, visto não ter causado alteração da concentração dessa proteína citoprotetora no tecido mencionado.

Figura 1- Efeitos da Maca e da ovariectomia nos níveis de iHSP70 no tecido hepático de ratas ovariectomizadas.



Fonte: elaborado pelos próprios autores. C: Controle (n=3); OVX (n=3); MACA: maca peruana (n=3); MACA+OVX: maca peruana + ovariectomia(n=3). ANOVA de uma via seguida de pós teste de Tukey, P = 0,947. Dados expressos como média \pm desvio padrão.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos até o momento indicam que a maca peruana não altera a resposta ao estresse celular hepático, independentemente da produção ou não de estrogênio.

Palavras-chave: HSP70; Menopausa; ovariectomia; *Lepidium Meyenii* Walp; Fígado.

AGRADECIMENTOS

Agradecimento ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica e Tecnológica (PIBIC CNPq, PIBIC UNIJUI, PROBIC FAPERGS, PIBIT CNPq, PIBIT UNIJUI, PROBIT FAPERGS) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, pela concessão de bolsas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABU-TAHA et al. Menopause and Ovariectomy Cause a Low Grade of Systemic Inflammation that May Be Prevented by Chronic Treatment with Low Doses of Estrogen or Losartan. **The Journal of Immunology**, v. 183, n. 2, p. 1393-1402, 2009.

CANGERI DI NASO, F. et al. Obesity depresses the anti-inflammatory HSP70 pathway, contributing to NAFLD progression: Obesity Depresses HSP70 in NAFLD. **Obesity**, v. 23, n. 1, p. 120–129, 2015.

COSTA-BEBER, L. C. et al. Chaperone duality: the role of extracellular and intracellular HSP70 as a biomarker of endothelial dysfunction in the development of atherosclerosis. **Archives of Physiology and Biochemistry**, v. 128, n. 4, p. 1016–1023, 2022.

FEI, W. et al. Antioxidative and Energy Metabolism-Improving Effects of Maca Polysaccharide on Cyclophosphamide-Induced Hepatotoxicity Mice via Metabolomic Analysis and Keap1-Nrf2 Pathway. **Nutrients**, v. 14, n. 20, p. 4264, 2022.

GOETTEMS-FIORIN, P. B. et al. A ooforectomia predispõe ratas aos efeitos da exposição ao material particulado fino, alterando os níveis metabólicos, oxidativos, pró-inflamatórios e de proteínas de choque térmico. **Ciência Ambiental e Pesquisa em Poluição**, v. 26, n. 20, p. 20581–20594, 2019.

GONZALES, G. F. et al. Maca (*Lepidium meyenii* Walp), a review of its biological properties. **Revista Peruana De Medicina Experimental Y Salud Publica**, v. 31, n. 1, p. 100–110, 2014.

KRAUSE, M. et al. The Chaperone Balance Hypothesis: The Importance of the Extracellular to Intracellular HSP70 Ratio to Inflammation-Driven Type 2 Diabetes, the Effect of Exercise, and the Implications for Clinical Management. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, p. e249205, 2015.

NAHAS, E. A. P. et al. The 60- and 70-kDa heat-shock proteins and their correlation with cardiovascular risk factors in postmenopausal women with metabolic syndrome. **Cell Stress and Chaperones**, v. 19, n. 4, p. 559–568, 2014.

VIEIRA, C. et al. Proteínas do choque térmico HSP70: Estrutura e atuação em resposta ao estresse celular. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 7, n. 4, p. 261-271, 2013.

WHITESELL, Luke; LINDQUIST, Susan. Inhibiting the transcription factor HSF1 as an anticancer strategy. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, [s. l.], v. 13, n. 4, p. 469–478, 2009.