

**Evento:** XXXIII Seminário de Iniciação Científica ▾**O CONSUMO DE MACA PERUANA (*Lepidium meyenii* Walp) NÃO ALTERA A EXPRESSÃO DA iHSP70 NO MÚSCULO DE RATAS OVARECTOMIZADAS¹****Elisângela De Fátima Balzan Valentini², Mirna Stela Ludwig^{2,3}, Anna Karolina Kretschmann Florencio de Souza Bagetti⁴, Lucas Machado Sulzbacher⁵, Paula Taís Friske⁶, Giuseppe Potrick Stefani⁷**

¹ Pesquisa desenvolvida na Unijuí; financiado pelo Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico- PIBIC/CNPq.

² Bolsista; estudante do curso de Medicina; Bolsista do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - PIBIC/CNPq

³ Professor (a) Dr. orientador(a) do projeto Efeitos da Maca Peruana (*Lepidium Meyenii* Walp) sobre a Resposta Celular ao Estresse e sua Relação com Consumo Alimentar, Parâmetros Comportamentais, Bioquímicos e Hematológicos, em Ratas Ovariectomizadas. Professora do Programa de Pós-Graduação em Atenção Integral à Saúde- PPGAIS (UNICRUZ/UNIJUÍ/URI). Doutora em Fisiologia Humana pela UFRGS.

⁴ Bolsista; estudante do curso de Medicina; Bolsista PIBIC/UNIJUÍ.

⁵ Enfermeiro. Mestre pelo PPGAIS. Doutorando pelo PPGAIS.

⁶ Nutricionista no Hospital Vida & Saúde. Mestre pelo PPGAIS.

⁷ Nutricionista. Pós-Doutorando no PPGAIS (UNICRUZ/UNIJUÍ/URI). Professor da PUCRS.

INTRODUÇÃO

Climatério pode ser definido como uma fase de transição em que ocorre esgotamento folicular e, em consequência, diminuição progressiva da capacidade reprodutiva (Silva et al, 2015). Seu principal marco é a menopausa, em que há a cessação dos ciclos menstruais por, no mínimo, 12 meses (Febrasgo, 2019).

A menopausa está associada à sarcopenia, isto é, uma diminuição da massa muscular e força (Maltais et al, 2009). Essa degeneração ocorre pela menor proliferação de células-tronco musculares, pelo aumento de citocinas inflamatórias e pela queda dos níveis de estrogênio. Sabe-se que o estradiol age sobre receptores nas células musculares, estimulando sua proliferação, além de limitar os danos oxidativos nesse tecido (Geraci et al, 2021). Além disso, essa fase também se associa ao aumento de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, IL-1 em consequência ao hipostrogenismo (Cioffi et al, 2002).

O músculo esquelético produz espécies reativas de oxigênio (EROs) quando em contração (Dimauro et al, 2016). Entretanto, suas células são ricas em enzimas antioxidantes que promovem proteção e regulam a regeneração muscular. Esse tecido também apresenta células-tronco musculares adultas quiescentes (MuSCs) que regulam a expressão de variados genes codificadores de proteínas como das proteínas do choque térmico (Dimauro et al, 2016).



As proteínas do choque térmico (HSPs) protegem e auxiliam na manutenção da homeostase celular, além de atuarem como um grande sistema de defesa e resposta ao estresse oxidativo (Geiger e Gupte, 2011),(Dimauro et al, 2016). As HSP70 (proteínas do choque térmico de 70 kDa) são uma família de proteínas que auxiliam no transporte de substâncias, dobramento de proteínas e na prevenção de agregações proteicas, facilitando a reestruturação, atuando, assim, como chaperona (Henstridge et al, 2016). São consideradas proteínas citoprotetoras e de resposta ao estresse celular, pois são induzidas e ativadas rapidamente quando as células são expostas a estressores como irradiação, isquemia, infecções e estresse oxidativo (Thakur et al, 2019).

Tendo em vista o climatério e suas alterações, cada vez mais estuda-se terapias alternativas para amenizar os efeitos dessa fase transicional. Assim, a maca peruana (*Lepidium meyenii* Walp) vem sendo pesquisada. Cultivada nos Andes centrais do Peru, é utilizada pelos povos nativos por apresentar propriedades afrodisíacas, nutricionais e exercer efeitos sobre a fertilidade (Gonzales et al, 2003). Já foi evidenciado que essa planta apresenta efeitos sobre a memória, disfunções sexuais e metabolismo glicêmico (Gonzales et al, 2013).

Trazendo à tona o 3º Objetivo do Desenvolvimento Sustentável, Saúde e Bem-Estar (ONU), e considerando os efeitos do hipoestrogenismo no músculo esquelético, o uso de maca peruana por mulheres pós-menopáusicas e a carência de estudos relacionando o efeito da maca peruana sobre o músculo esquelético e seu estado redox, é pertinente avaliar os efeitos da suplementação de maca peruana (*Lepidium meyenii* Walp) sobre a expressão de iHSP70 no encéfalo de ratas ovariectomizadas.

METODOLOGIA

Trata-se de um estudo pré-clínico, experimental em modelo animal, *in vivo* e prospectivo, aprovado pelo CEUA parecer nº 023/21. Este resumo está vinculado ao projeto de pesquisa desenvolvido por um pós-graduando do Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Atenção Integral à Saúde (PPGAIS) da UNIJUÍ.

Para seu desenvolvimento foram utilizadas 32 ratas Wistar (*Rattus norvegicus* albinus), divididas em 4 grupos experimentais: **1. Controle (Sham-C, n=8):** ratas submetidas a falsa cirurgia (sham), para exposição dos animais às mesmas condições de estresse promovidas pela ovariectomia e à gavagem com água destilada (veículo para administração do pó de maca). **2. Ovariectomia (OVX, n=8):** ratas submetidas a remoção bilateral dos



ovários e à gavagem com água destilada (veículo para administração do pó de maca). **3. Dieta suplementada com Maca (Sham-Maca, n=8):** ratas submetidas a falsa cirurgia (sham) e à gavagem solução aquosa de maca. **4. Ovariectomia + Dieta suplementada com Maca (OVX-Maca, n=8):** ratas submetidas a remoção bilateral dos ovários e à gavagem com solução aquosa de maca.

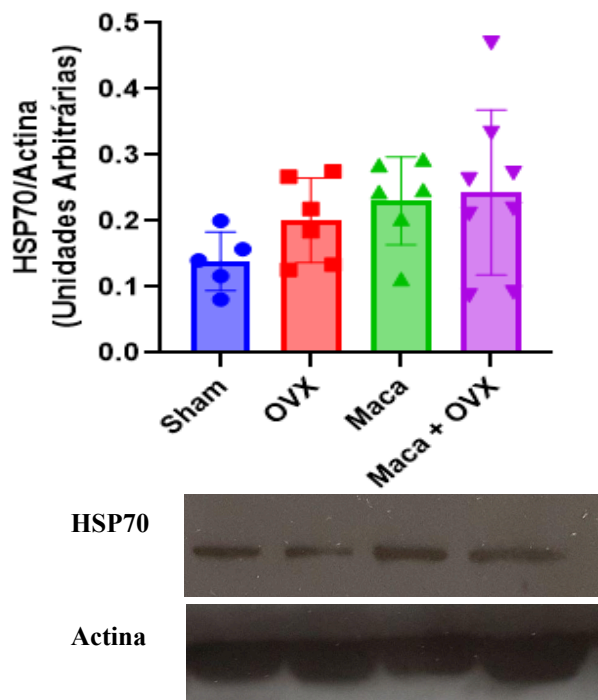
Após a cirurgia e recuperação, os animais foram submetidos a um período de *washout* de 30 dias (fase 1) para permitir desenvolvimento de alterações de peso e/ou resposta glicêmica em razão da falta de estrogênio circulante (nas ratas ovariectomizadas). Após, as ratas do grupo Maca e OVX-Maca foram tratadas com solução aquosa (água destilada) enriquecida com maca peruana na dose de 1g/kg de peso, uma vez ao dia, às 19h, por gavagem. As ratas do grupo Sham-C e OVX receberam apenas o veículo (água destilada) no mesmo horário e via. A fase 2 (suplementação) teve duração de 4 semanas. Ao final do período experimental (8 semanas), aconteceu a coleta do material biológico para estudo.

A determinação da expressão da HSP70 nos tecidos de interesse foi realizada por Western Blotting. As amostras são pipetadas e suas proteínas fracionadas em um gel de 10% de poliacrilamida. Posteriormente, transferidas para uma membrana de nitrocelulose e esta, corada com Red Ponceau 3% (Sigma-Aldrich). Em seguida, lavada com uma solução de TEN-Tween e bloqueada com uma solução de bloto a 1%. Após, foi incubada por 12 horas em um anticorpo anti-HSP70 (Sigma-Aldrich H5147,1:1000) seguido de anticorpo secundário (Sigma-Aldrich A9044,1:15.000). Para normalização da concentração, foi utilizado o anticorpo Anti-actina A2103 (Sigma-Aldrich, 1:5000) e o anticorpo secundário contendo peroxidase anti-rabbit IgG A9169 (Sigma-Aldrich,1:80.000). A visualização das bandas ocorreu com o uso do reagente de detecção de blotting ECLPrime. As bandas proteicas foram quantificadas através do software ImageJ®. Para análise dos dados foi realizado teste de Shapiro Wilk, seguido de ANOVA de uma via no software GraphPad Prism 9.0, considerando $P<0,05$. Os resultados foram expressos em Unidades Arbitrárias de HSP70/ β -actina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados, apresentados na figura 1, demonstram que o tratamento com *Lepidium Meyenii* Walp, isoladamente ou associado à ovariectomia, não modificou a concentração da iHSP70 no tecido muscular esquelético.

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



Fonte: elaborado pelos próprios autores. Sham (n=5); OVX (n=6); Maca: maca peruana (n=6); Maca+OVX: maca peruana + ovariectomia (n=8). ANOVA de uma via seguida de pós teste de Tukey, P = 0,2146. Dados expressos em média $\pm$ desvio padrão.

A concentração de HSP70 nos tecidos está relacionada à intensidade do estresse celular (Liu et al, 2006), de modo que, para haver um aumento da expressão dessa proteína, é necessário que ocorram estímulos estressores suficientemente intensos para desencadear a formação e ativação do HSF-1 (*heat shock factor 1*, ligado a resposta ao estresse oxidativo) e HSF-4 (predominante no tecido muscular esquelético e cardíaco) (Whitesell; Lindquist, 2009; Liu et al, 2006). Deste modo, entende-se que a suplementação com maca peruana não representa risco maior de estresse no tecido muscular esquelético, visto que nossos resultados demonstram não haver alteração da concentração de iHSP70 no tecido mencionado.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados obtidos até o momento indicam que a maca peruana não altera a resposta ao estresse celular no músculo estriado esquelético, independentemente da produção ou não de estrogênio.

Palavras-chave: HSP70. *Lepidium Meyenii* Walp. Menopausa. Músculo esquelético. Ovariectomia.



AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica e Tecnológica (PIBIC CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior- CAPES, pela concessão de bolsas. Agradeço também à minha orientadora, aos colegas e professores do GPeF pelo apoio e à UNIJUÍ.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CIOFFI, M. et al. Cytokine pattern in postmenopause. **Maturitas**, v. 41, n. 3, p. 187–192, 2002.
- DIMAURO, I.; MERCATELLI, N.; CAPOROSSI, D. Exercise-induced ROS in heat shock proteins response. **Free radical biology & medicine**, v. 98, p. 46–55, 2016.
- FEBRASGO. **Coleção Febrasgo - Climatério e Menopausa**. Rio de Janeiro: GEN Guanabara Koogan, 2019. E-book. p.12. ISBN 9788595154810.
- GEIGER, P. C.; GUPTE, A. A. Heat shock proteins are important mediators of skeletal muscle insulin sensitivity. **Exercise and sport sciences reviews**, v. 39, n. 1, p. 34–42, 2011.
- GERACI, A. et al. Sarcopenia and menopause: The role of estradiol. **Frontiers in endocrinology**, v. 12, 2021.
- GONZALES, G. F. et al. Effect of *Lepidium meyenii* (Maca), a root with aphrodisiac and fertility-enhancing properties, on serum reproductive hormone levels in adult healthy men. **The journal of endocrinology**, v. 176, n. 1, p. 163–168, 2003.
- GONZALES, G. F.; GASCO, M.; LOZADA-REQUENA, I. Role of maca (*Lepidium meyenii*) consumption on serum interleukin-6 levels and health status in populations living in the Peruvian central Andes over 4000 m of altitude. **Plant foods for human nutrition** (Dordrecht, Netherlands), v. 68, n. 4, p. 347–351, 2013.
- HENSTRIDGE, D. C.; FEBBRAIO, M. A.; HARGREAVES, M. Heat shock proteins and exercise adaptations. Our knowledge thus far and the road still ahead. **Journal of applied physiology** (Bethesda, Md.: 1985), v. 120, n. 6, p. 683–691, 2016.
- LIU, Y. Response and function of skeletal muscle heat shock protein 70. **Frontiers in bioscience**, v. 11, n. 1, p. 2802, 2006.
- MALTAIS, M. L.; DESROCHES, J.; DIONNE, I. J. Changes in muscle mass and strength after menopause. **Journal of musculoskeletal & neuronal interactions**, v. 9, n. 4, p. 186–197, 2009.
- SILVA, Carlos Henrique M.; VALADARES, Ana Lúcia R.; RODRIGUES, Márcio Alexandre H. Manual SOGIMIG – **Climatério**. Rio de Janeiro: MedBook Editora, 2018. E-book. p.68. ISBN 9786557830109.
- THAKUR, S. S. et al. Expression and localization of heat-shock proteins during skeletal muscle cell proliferation and differentiation and the impact of heat stress. **Cell stress & chaperones**, v. 24, n. 4, p. 749–761, 2019.
- 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.