

EFEITOS DA RESTRIÇÃO DE SONO EM NEURÔNIOS E CÉLULAS DA GLIA ENTÉRICA DO JEJUNO DE *RATTUS NOVERGICUS*

Gabriella Leticia Bonone (PIBIC/CNPq), Lainy Leiny de Lima (Participante), Lucas Casagrande (Participante), Débora de Mello Gonçalves Sant'Ana (Orientadora), e-mail: gabriella.bonone@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Área do conhecimento: Ciências Biológicas

Subárea: Morfologia

Palavras-chave: Sistema Nervoso Entérico, Células da glia, Restrição de Sono

Resumo:

A restrição de sono está associada a diversos distúrbios como cardiovasculares, metabólicos, imunológicos e intestinais. Desta forma, o objetivo deste estudo foi analisar os efeitos da restrição a seis horas de sono por dia, durante 21 dias, sobre o número de células da glia entérica e neurônios do plexo submucoso do jejuno de *Rattus norvegicus*. Foi utilizado o jejuno de 10 *Rattus norvegicus* com 30 dias de idade. Estes foram distribuídos aleatoriamente em grupo controle (GC), sem restrição de sono, e com restrição de sono (RS). O método de plataforma múltipla modificada foi utilizado para manter os ratos em vigília 18 horas por dia, durante 21 dias consecutivos. Após esse período, foi realizada a eutanásia, o jejuno de cada rato foi coletado, lavado e fixado. Preparados totais da tela submucosa foram obtidos através de microdissecção. Foram marcados pela histoquímica de S100 e HuC/HuD que evidencia população pangliar e neuronal. A análise quantitativa foi realizada através da contagem total das células da glia entérica e de neurônios, presentes em 32 campos microscópicos na objetiva de 16X. A análise estatística foi realizada no programa GraphPad Prisma® 5.0, aplicando teste t de Student, considerando um nível de significância de 5% ($p < 0,05$) e os resultados foram apresentados por média \pm desvio padrão. A restrição de sono a 6 horas a cada dia durante 21 dias promoveu diminuição na quantidade de CGE periganglionar de ratos Wistar se comparado ao GC.

Introdução

A restrição de sono é caracterizada por alteração no ciclo sono-vigília. Pode desencadear mudanças metabólicas que estão associadas a diversas doenças, sendo um importante problema de saúde pública (ALVARENGA et al., 2015). Além disso, alterações no ciclo circadiano levam a perda da homeostase neuroendócrina.

O Sistema Nervoso Entérico (SNE) é formado pelos plexos mientérico, entre os extratos das túnicas musculares, e submucoso quando localizado na tela submucosa. O plexo submucoso coordena o fluxo sanguíneo e a secreção na túnica mucosa, suas funções dependem de neuromediadores que atuam em conjunto e buscam a homeostase do trato gastrointestinal (TGI) (FURNESS, 2012).

São escassos os estudos que avaliam a relação da restrição de sono e o SNE. Portanto, nosso objetivo foi avaliar os efeitos da restrição do sono no plexo submucoso do jejuno de *Rattus norvegicus*.

Materiais e métodos

O protocolo experimental foi previamente aprovado pelo Comitê de Conduta Ética no uso de Animais em Experimentação Animal da Universidade Estadual de Londrina – UEL sob o nº3467.2014.86.

Delineamento Experimental

Foram utilizados 10 *Rattus norvegicus*, da linhagem Wistar com 30 dias de idade, que foram distribuídos aleatoriamente em dois grupos; o grupo controle (GC) e o grupo com restrição de sono (RS). Foi utilizado o método de plataforma múltipla modificada durante 21 dias consecutivos. Os ratos pertencentes ao RS foram mantidos nas plataformas por 18 horas por dia. Eles podiam dormir durante 6 horas todos os dias. Após esse período foi realizada a eutanásia e o jejuno foi coletado e fixado em paraformaldeído 4%.

Técnica de Imunohistoquímica

Um segmento de um centímetro do jejuno de cada animal foi submetido a microdissecção, com auxílio de um estereomicroscópio, para obtenção do plexo submucoso. Posteriormente foi realizada a imunohistoquímica com a marcação pelos anticorpos primários anti-S-100 (marcador pan-glial) e anti-HuC/HuD (marcador pan-neuronal), após 48h foram incubados com anticorpo secundário. Foram contados todos os neurônios e células da glia entérica presentes em 32 campos microscópicos de cada animal em imagens capturadas por câmera de alta resolução acoplada a microscópio de luz com filtros para imunofluorescência e lente objetiva de 16x. As imagens analisadas com o software para análise de imagens Image Pro-Plus e os resultados expressos em mm².

Análise Estatística

Para teste de normalidade utilizamos o teste de Shapiro-Wilk, que foi considerado normal, então os resultados foram apresentados por média \pm desvio padrão. A análise estatística foi realizada no programa GraphPad Prisma® 5.0, aplicando teste t de Student, considerando um nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

A quantidade total de neurônios do plexo submucoso, não apresentou diferença significativa no grupo RS se comparado ao GC, em todos os âmbitos analisados, neurônios totais, periganglionares e intraganglionares (Figura 1).

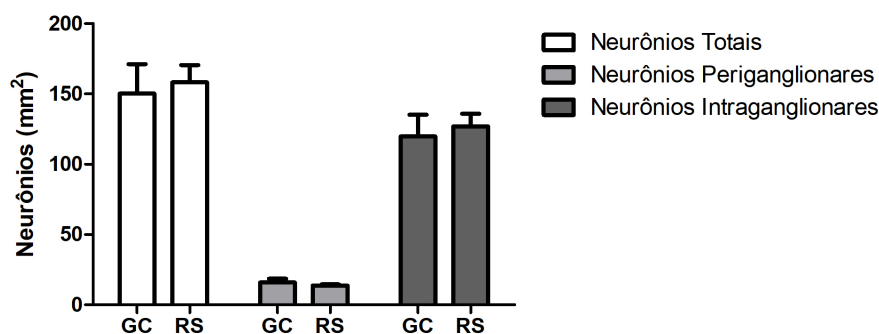


Figura 1: Quantidade de neurônios totais, periganglionar e intraganglionar, presentes em 1 mm² do plexo submucoso do jejuno de ratos, submetidos a restrição de sono (RS) em relação ao grupo controle, não restrito (GC).

O SNE é um plexo ganglionar constituído do plexo mientérico e submucoso. A principal função do plexo submucoso é controlar o fluxo sanguíneo, secreção mucosa e absorção de nutrientes (FURNESS, 2012). Nosso estudo não demonstrou alterações nos neurônios do plexo submucoso em animais com restrição de sono.

Os neurônios são células altamente especializadas que possuem diversos mecanismos de sobrevivência (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2013).

O número de CGE totais e intraganglionar não apresentou diferença entre os grupos. Porém, as CGE periganglionares do grupo RS apresentaram diminuição significativa ($p < 0,05$) se comparada ao grupo não restrito (Figura 2).

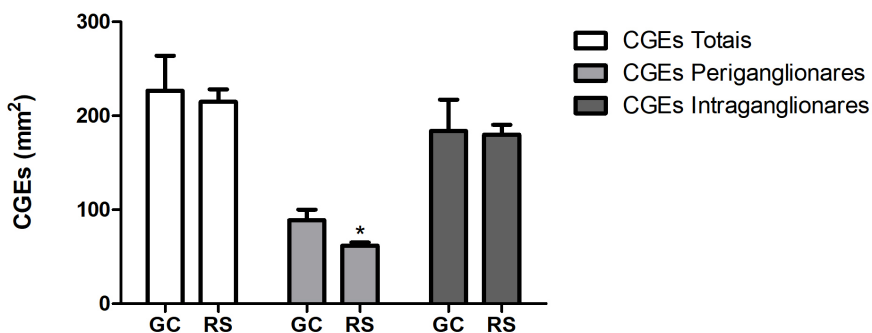


Figura 2: Quantidade de CGEs, totais, periganglionar e intraganglionar, presentes em 1 mm² do plexo submucoso do jejuno de ratos, submetidos a restrição de sono (RS) em relação ao grupo controle, não restrito (GC). * representa $p > 0,05$.

As CGEs têm a função de proteção, nutrição e suporte para os neurônios do SNE e estão localizadas dentro e fora dos gânglios do plexo submucoso

(GRUBIŠIĆ; GULBRANSEN, 2017). A restrição de sono intensifica processos inflamatórios que afetam o SNE (TENORIO et al., 2013). Neste sentido, as CGEs periganglionares não estão protegidas pela parede do gânglio sendo mais susceptível a inflamação intestinal.

Conclusões

A restrição de sono por 21 dias promoveu diminuição no número de CGEs periganglionares de ratos Wistar.

Agradecimentos

Ao CNPq, agencia de fomento para este projeto de iniciação científica e ao Departamento de Ciências Morfológicas da UEM onde o trabalho foi desenvolvido.

Referências

ALVARENGA, T. A. et al. Impairment of male reproductive function after sleep deprivation. **Fertility and Sterility**, v. 103, n. 5, p. 1355–1362.e1, maio 2015.

FURNESS, J. B. The enteric nervous system and neurogastroenterology. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, v. 9, n. 5, p. 286–294, 6 maio 2012.

GRUBIŠIĆ, V.; GULBRANSEN, B. D. Enteric glia: the most alimentary of all glia. **The Journal of physiology**, v. 595, n. 2, p. 557–570, 15 jan. 2017.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica Texto e Atlas**. 12º ed, 2013.

TENORIO, N. M. et al. The influence of sleep deprivation and obesity on DNA damage in female Zucker rats. **Clinics**, v. 68, n. 3, p. 385–389, 2013.