

EFEITO DO ISOLAMENTO SOCIAL AGUDO SOBRE A POPULAÇÃO DE NEURÔNIOS NITRÉRGICOS DO JEJUNO DE RATOS ADOLESCENTES

Matheus Ferreira Zambonini (PIBIC/UEM), André Luiz R. G. Sevilha, Maysa Pacheco Alvarez da Silva, Jacqueline Nelisis Zanoni, Juliana Vanessa Colombo Martins Perles (Orientadora)
E-mail: jvcmpertes@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências Morfológicas, Maringá, PR.

Área e Subárea do conhecimento: Ciências Biológicas / Morfologia / Histologia

Palavras-chave: Imuno-histoquímica; Intestino; Plexo mioentérico.

RESUMO

O presente estudo investigou os efeitos do isolamento social sobre a morfometria de neurônios nitrérgicos do plexo mioentérico do jejuno de ratos fêmeas em fase púber. Foram utilizados 12 ratos Wistar, divididos em dois grupos: controle (C) e isolamento social (IS). Os animais do grupo IS foram submetidos ao isolamento por 18 dias, iniciando aos 21 dias pós-natal. Após a eutanásia, os segmentos do jejuno foram processados por técnicas de imuno-histoquímica utilizando anticorpo anti-nNOS, e as imagens obtidas foram analisadas para mensuração da área neuronal. Resultados preliminares indicam que o isolamento social promove alterações morfométricas nos neurônios nitrérgicos, possivelmente relacionadas a mecanismos inflamatórios e ao estresse crônico, refletindo o impacto do ambiente social sobre o sistema nervoso entérico. Esses achados sugerem que a privação social durante a puberdade pode interferir na estrutura neuronal intestinal, demandando estudos adicionais para elucidar os mecanismos envolvidos.

INTRODUÇÃO

O isolamento social é um modelo experimental clássico de estresse crônico em roedores, promovendo alterações comportamentais, neuroendócrinas e imunológicas, incluindo ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal e liberação prolongada de glicocorticoides (Calcia *et al.*, 2016). No trato gastrointestinal, o estresse pode alterar a motilidade, permeabilidade e perfil de neurotransmissores, afetando a comunicação microbiota-intestino-cérebro (Dinan & Cryan, 2017). O sistema nervoso entérico (SNE), ou “segundo cérebro”, regula o músculo liso intestinal por meio de plexos neuronais, sendo o óxido nítrico (NO) um mediador-chave na modulação da motilidade, fluxo sanguíneo e integridade epitelial (Furness, 2012; Chen *et al.*, 2015). O NO é sintetizado pela óxido nítrico sintase (NOS), cujas isoformas neuronal (nNOS), endotelial (eNOS) e induzível (iNOS) respondem a estímulos inflamatórios, hipóxicos ou estressores crônicos (Han *et al.*, 2021).

Estudos recentes indicam que o isolamento social altera a produção de NO de forma dependente do tempo de exposição e da isoforma de NOS (Bijani *et al.*, 2024). Contudo, há poucas investigações sobre os efeitos de curta duração do isolamento social no SNE e nos mecanismos adaptativos de neurônios nitrérgicos no jejuno. Assim, este estudo avaliou os efeitos de 22 dias de isolamento social sobre a produção de NO e a morfometria de neurônios nNOS-IR no plexo mioentérico do jejuno, buscando compreender possíveis respostas compensatórias frente ao estresse crônico.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados dez ratos Wistar fêmeas (*Rattus norvegicus*) do Biotério Central da UEM, com aprovação do CEUA (nº 9639231121), distribuídos aleatoriamente em dois grupos: controle (C) e isolamento social (IS). O grupo IS permaneceu isolado por 18 dias a partir de 21 dias pós-natal, em caixas individuais (30 × 20 × 13 cm), sendo manipulados apenas para limpeza, enquanto todos os animais receberam fotoperíodo de 12 h, temperatura controlada (22 ± 2 °C) e alimentação ad libitum. Aos 39 dias pós-natal, os animais foram anestesiados com quetamina (80 mg/kg), xilazina (10 mg/kg) e fentanil (0,03 mg/kg) por via intraperitoneal, submetidos a punção cardíaca e celiotomia para retirada do jejuno. Os segmentos de jejuno foram fixados em paraformaldeído 4% por 18 h, lavados em PBS (0,1 M, pH 7,4) e armazenados em PBS com 0,08% de azida. Fragmentos de 1 cm² foram microdissecados para exposição da túnica muscular e submucosa, submetidos à imunomarcagem com anticorpo primário rabbit anti-nNOS (48 h) e secundário (2 h), e montados em glicerol tamponado 10% a 4 °C. As imagens foram capturadas com objetiva de 40× e câmera Moticam® 2500 acoplada a microscópio Olympus® BX40, e 100 neurônios por animal foram mensurados de forma cega no software Image Pro Plus 4.5, com resultados expressos em µm².

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1 é possível visualizar o gráfico dos grupos analisados sobre os tamanhos da população de neurônios imunorreativos à nNOS-IR no plexo mioentérico de ratas Wistar e na figura 2 a quantificação do mesmo.

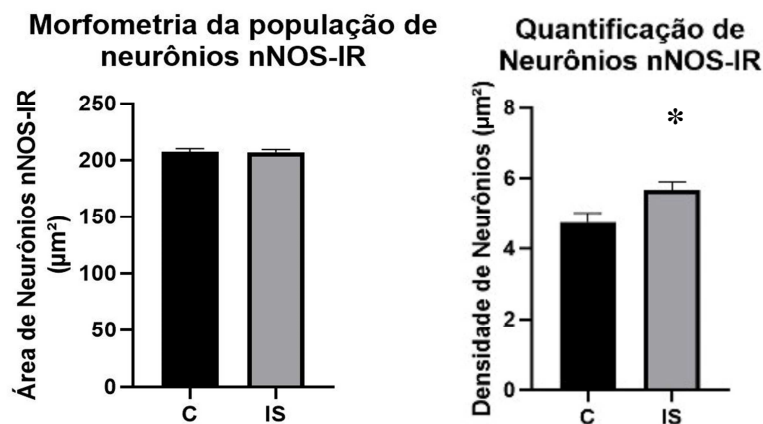


Figura 1. Morfometria e densidade de neurônios nitrérgicos imunorreativos a nNOS no plexo mioentérico. Morfometria (área, em μm^2) e densidade de neurônios nNOS-IR nos grupos experimentais: (C) Grupo Controle e (IS) Grupo em Isolamento Social. Valores expressos como média $\pm$ erro padrão da média ($n = 5$ por grupo). a $*p < 0,05$ em relação ao grupo C.

Ao comparar os grupos, observou-se que a área dos neurônios nNOS-IR permaneceu inalterada entre os grupos. No entanto, a densidade de neurônios nitrérgicos apresentou aumento significativo de 15,69% no grupo isolado em relação ao controle. O isolamento social, portanto, induziu plasticidade na população neuronal sem alterar o tamanho das células. Esse aumento na expressão de nNOS pode indicar uma redução da motilidade intestinal visto que o NO é um neurotransmissor inibitório (Furness, 2012). Mais estudos são necessários para compreender os mecanismos que regulam essa adaptação e suas implicações funcionais para o trato gastrointestinal.

CONCLUSÕES

O isolamento social induziu um aumento significativo na densidade de neurônios nitrérgicos no plexo mioentérico, sem alterar o tamanho das células. Esse aumento na expressão da enzima nNOS pode representar um mecanismo adaptativo do sistema nervoso entérico frente ao estresse social, evidenciando sua plasticidade em condições adversas. Esses achados reforçam a importância de estudos futuros para investigar os mecanismos moleculares subjacentes a essa resposta compensatória, bem como suas implicações para a função intestinal e a homeostase do trato gastrointestinal.

AGRADECIMENTOS

À Profª Drª Juliana Vanessa Colombo Martins Perles pela excelente orientação e ensinamentos. À equipe do Laboratório de Plasticidade Neural Entérica pelo auxílio ao longo do desenvolvimento e pesquisa. E ao Museu Dinâmico Multidisciplinar onde o espaço físico do laboratório está inserido. Por fim, ao CNPq pelo fomento de bolsa.

REFERÊNCIAS

BIJANI, S. et al. The role of gender differences in the outcome of juvenile social isolation: emphasis on changes in behavioral, biochemical and expression of nitric oxide synthase genes alteration. *Heliyon*, v. 10, n. 7, e28964, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e28964>

CALCIA, M. A. et al. Stress and neuroinflammation: a systematic review of the effects of stress on microglia and the implications for mental illness. *Psychopharmacology*, v. 233, n. 9, p. 1637-1650, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00213-016-4218-9>

CHEN, H. J. C. et al. Response of the nitroergic system to activation of the neuroendocrine stress axis. *Frontiers in Neuroscience*, v. 9, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3389/fnins.2015.00003>

DINAN, T. G.; CRYAN, J. F. The microbiome-gut-brain axis in health and disease. *Gastroenterology Clinics of North America*, v. 46, n. 1, p. 77-89, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2016.09.007>

FURNESS, J. B. The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, v. 9, n. 5, p. 286-294, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2012.32>

HAN, J. P. et al. Positive correlation between nNOS and stress-activated bowel motility is confirmed by in vivo HiBiT system. *Cells*, v. 10, n. 5, p. 1028, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/cells10051028>